

Opinnäytetyö (AMK)

Bioanalytikkokoulutus

2022

Nenna Korventausta & Janika Salonen

**QUANTIFERON® -TB GOLD
PLUS – IGRA-testin verifiointi ja
käyttöönotto**

Opinnäytetyö AMK | Tiivistelmä

Turun ammattikorkeakoulu

Bioanalytikkokoulutus

2022 | 38 sivua, 3 liitesivua

Nenna Korventausta & Janika Salonen

QUANTIFERON® -TB GOLD PLUS – IGRA-testin verifiointi ja käyttöönotto

Tuberkuloosi (TB) on kaikkialla maailmassa esiintyvä tartuntavaarallinen infektio tauti, jonka aiheuttaa *Mycobacterium tuberculosis*. Bakteeria esiintyy tavallisimmin keuhkoissa, mutta se voi ilmetä missä tahansa elimessä. Tuberkuloosi voi olla joko aktiivisessa tai latentissa muodossa. Latentissa muodossa henkilöllä on tuberkuloosibakteereita elimistössään, mutta ne eivät aiheuta oireita eivätkä leviä muihin.

Latentin tuberkuloosin sekä keuhkojen ulkopuolisten tuberkuloosimuotojen diagnosointiin käytetään IGRA-testiä. Testauksen avulla mitataan kokoverinäytteestä tuberkuloosibakteerille ominaisten peptidien aiheuttaman interferonigamman määrää. Tämän opinnäytetyön tarkoituksena oli suorittaa IGRA-testin (QFT-Plus) verifiointi, jonka ansiosta voitiin osoittaa uutta tutkimusta käyttöön otettaessa laitteen toimivuus ja varmistua, että kaikki asetetut vaatimukset täyttyvät.

Verifioitu IGRA-testi siirrettiin immunogenetiikan laboratorion Tyks Kliinisen mikrobiologian laboratorioon. Verifiointi tehtiin DiaSorin LIAISON® XL –analysointilaitteella QuantiFERON® -TB Gold Plus -menetelmällä. Tämän opinnäytetyön tavoitteena on nopeuttaa analysointilaitteen avulla potilaiden testitulosten valmistumista, jolloin mahdollisen hoidon aloitus nopeutuu eikä tuberkuloosi leviä muihin. Automatisoidun IGRA-testauksen ansiosta myös laboratoriotyöskentely helpottuu.

Verifiointissa käytetyt näytteet ja niiden tulokset saatiin immunogenetiikan laboratoriolta, jossa näytteet oli ensin analysoitu ELISA-menetelmällä. LIAISON® XL –analysointilaitteella saatuja tuloksia tarkasteltiin tilastollisin menetelmin ja verrattiin ELISA-menetelmällä saatuihin tuloksiin. Tulokset vastasivat erinomaisesti ELISA-menetelmän tuloksia ja verifioitu analyysimenetelmä voitiin ottaa käyttöön Tyks Kliinisen mikrobiologian laboratoriossa.

Asiasanat:

Mykobakteeri, Tuberkuloosi, IGRA-testi, Verifiointi

Bachelor's Thesis | Abstract

Turku University of Applied Sciences

Biomedical Laboratory Science

2022 | 38 pages, 3 pages in appendices

Nenna Korventausta & Janika Salonen

QUANTIFERON® –TB GOLD PLUS - Verification and commissioning of IGRA test

Tuberculosis (TB) is a worldwide infectious disease caused by bacteria called *Mycobacterium tuberculosis*. The bacteria is located more commonly in the lungs, but it can be found in any organ. Tuberculosis can be active or latent. Latent tuberculosis means that the person has *M. Tuberculosis* bacteria in their body, but it does not cause any symptoms or that they do not spread the disease to others.

Latent and extrapulmonary tuberculosis can be diagnosed with the IGRA test. Testing measures the amount of interferon-gamma caused by tuberculosis-specific peptides in a whole blood sample. The purpose of this thesis was to verify IGRA test (QFT-Plus). The verification shows that the device performing the tests is working and that all requirements are met.

Verified IGRA test was transferred from the Immunogenetics Laboratory to the Tyks Clinical Microbiology Laboratory. Verification was performed with the QuantiFERON® -TB Gold Plus method of the DiaSorin LIAISON® XL analyzer. The aim of this thesis was to accelerate the patients results with the analyzer. When patients get results faster, the treatment can be started quickly, and the spread of tuberculosis can be prevented. Automated IGRA testing also makes laboratory work easier.

The samples which used in verification and their results were obtained from the Laboratory of Immunogenetics where the samples were first analyzed by ELISA-method. The results obtained with the LIAISON® XL analyzer were analyzed by statistical methods and compared with the results obtained by ELISA. The results were in excellent agreement with the results of the ELISA. That means that the verified method of analysis can be introduced in the Tyks Clinical Microbiology Laboratory.

Keywords:

Mycobacterium, Tuberculosis, IGRA test, Verification

SISÄLTÖ

1 JOHDANTO	6
2 MYKOKAKTEERIT	7
2.1 Ympäristömykobakteerit	8
3 TUBERKULOOSI	9
3.1 Tuberkuloosin tartuntatavat	9
3.2 Tuberkuloosin diagnostiikka	10
3.3 Tuberkuloosin lääkehoito	11
4 DIASORIN LIAISON® XL -ANALYSAATTORI	13
4.1 Immunokemiluminometrinen menetelmä	13
4.2 Verifiointi	14
5 IGRA-TESTI	16
5.1 QuantiFERON® -TB Gold Plus -menetelmä	16
5.2 T-SPOT.TB -menetelmä	18
6 OPINNÄYTETYÖN TAVOITE JA TARKOITUS	19
7 OPINNÄYTETYÖN KÄYTÄNNÖN TOTEUTUS	20
7.1 Opinnäytetyön metodologiset lähtökohdat	21
7.2 Opinnäytetyön eettiset lähtökohdat	22
8 TULOKSET JA NIIDEN TARKASTELU	24
8.1 Potilasnäytevertailu	24
8.2 Tulosten korrelaatio	26
8.3 Menetelmän toistettavuus	28
9 MENETELMÄTYÖOHJE	32
10 POHDINTA	33
LÄHTEET	35

LIITTEET

Liite 1. Verifioidun LIAISON® XL -analysointimenetelmän tulokset

KUVAT

Kuva 1. DiaSorin LIAISON® XL-analysointimenetelmä	13
Kuva 2. Kaksoisvasta-ainemenetelmän periaate	14
Kuva 3. QuantiFERON® -TB Gold Plus -menetelmän näytteenotto	17

KUVIOT

Kuvio 1. LIAISON® XL -analysointimenetelmän ja ELISA-menetelmän TB1-NT -tulosten korrelaatiokuvaaja	27
Kuvio 2. LIAISON® XL -analysointimenetelmän ja ELISA-menetelmän TB2-NT -tulosten korrelaatiokuvaaja	27

TAULUKOT

Taulukko 1. LIAISON® XL -analysointimenetelmällä saadut kvalitatiiviset tulokset verrattuna ELISA-menetelmällä saatuihin tuloksiin	25
Taulukko 2. Sarjan sisäinen toistettavuus ensimmäisellä analysointikerralla	29
Taulukko 3. Sarjan sisäinen toistettavuus toisella analysointikerralla	30
Taulukko 4. Sarjan sisäinen toistettavuus kolmannella analysointikerralla	30
Taulukko 5. Sarjan sisäinen toistettavuus neljännellä analysointikerralla	30
Taulukko 6. Sarjojen välinen toistettavuus	31

1 JOHDANTO

Tässä opinnäytetyössä käsitellään tuberkuloosin diagnostiikassa käytettävää IGRA-testiä. Opinnäytetyö tehtiin Varsinais-Suomen Sairaanhoidopiirin Kliinisen mikrobiologian laboratorioon immunoserologian prosessille.

Tuberkuloosi on merkittävä tartuntatauti, sillä siihen kuolee vuosittain jopa 1,5 miljoonaa ihmistä ympäri maailmaa (WHO n.d.). Tuberkuloosi on sauvamaisen *Mycobacterium tuberculosis* -bakteerin aiheuttama sairaus, joka esiintyy useimmiten keuhkoissa. Bakteeri leviää henkilöstä toiseen ilmateitse, jolloin aktiivista muotoa sairastavat tartuttavat tautia esimerkiksi yskiessään. (Vuento 2020.) Tuberkuloosi-infektion latentissa muodossa (LTBI) eläviä *Mycobacterium tuberculosis* -bakteereita on ihmisen elimistössä lepotilassa, jolloin henkilöllä ei ole oireita eikä tauti kykene leviämään. Latentti tuberkuloosi voidaan osoittaa IGRA-testin avulla. Altistuneita on tärkeää seurata, sillä LTBI voi myöhemmässä vaiheessa kehittyä aktiiviseksi tuberkuloositaudiksi, jolloin tartunnan saaneelle kehittyä oireita ja tauti leviää muihin. (THL 2019b.)

Tämän opinnäytetyön tavoitteena on nopeuttaa DiaSorin LIAISON® XL – analysaattorin avulla potilaiden testitulosten valmistumista, jolloin mahdollinen tuberkuloosin hoito voidaan aloittaa ja leviäminen estää. Automatisoidun IGRA-testin ansiosta myös laboratoriotyöskentely nopeutuu ja helpottuu. Opinnäytetyön tarkoitus on verifioida tuberkuloosin diagnostiikassa käytettävä IGRA-testi sekä suunnitella sen käyttöönotto Tyks Kliinisen mikrobiologian laboratorioon.

2 MYKOBAKTEERIT

Mykobakteerit ovat mikroskooppisen pieniä, aerobisissa olosuhteissa viihtyviä itiöttömiä ja liikkumattomia sauvabakteereita. Soluseinän rasvapitoisuuden ansiosta ne kestävät hyvin happoa ja alkoholia, näitä ominaisuuksia hyödynnetäänkin mykobakteerien diagnostiikassa. Gramvärjäytyvyydeltään mykobakteerit ovat yleensä positiivisia. (Soini ym. 2020, 144; Bonamonte ym. 2017, 1–2.)

Eri mykobakteerilajeja tunnetaan nykyisin noin 200 ja uusia löydetään edelleen (THL 2019c). *Mycobacterium tuberculosis* –kompleksin (mm. *M. tuberculosis*, *M. bovis* ja *M. africanum*) aiheuttama tuberkuloosi ja *Mycobacterium leprae*:n aiheuttama lepra ovat merkittävimmät mykobakteerien aiheuttamat infektioaudit. *M. tuberculosis* aiheuttaa infektion useimmiten henkilön keuhkoissa. *M. leprae* taas aiheuttaa pitkäkestoista sairautta iholla, limakalvoilla ja ääreishermoissa. (Soini ym. 2020, 143–144, 146.)

Kaikki mykobakteerit eivät aiheuta tautia, kun taas joidenkin lajien taudinaiheuttamiskykyyn vaikuttaa potilaan vastustuskyky (Uibu ym. 2005; Rajalahti ym. 2021, 190). Alttiutta mykobakteeri-infektioille lisää muun muassa alkoholismi, diabetes, aliravitsemus ja HIV-infektio (Soini ym. 2010, 145). Mykobakteerien aiheuttamien infektioiden oireet ovat hyvin vaihtelevia (Vuento 2020).

Ympäristömykobakteerin löytyminen potilasnäytteestä viittaa usein kolonisaatioon. Tästä syystä näytteitä tulee ottaa useampia kuin yksi, sillä jos sama mykobakteeri kasvaa näytteissä toistuvasti, on kyseessä todennäköisesti ympäristömykobakteerin aiheuttama sairaus. (Rajalahti ym. 2021, 190.)

Mykobakteeri-infektioita voidaan diagnosoida mm. värjäyksellä, viljelyllä ja geenimonistusmenetelmällä. Tautia hoidetaan monen eri lääkkeen avulla ja hoito kestää yleensä useita kuukausia. Vaikeimmissa tapauksissa voidaan käyttää myös kirurgista hoitoa. (THL 2019c.)

2.1 Ympäristömykobakteerit

Mykobakteereita, jotka eivät aiheuta tuberkuloosia, kutsutaan ei-tuberkuloottisiksi mykobakteereiksi, ympäristömykobakteereiksi tai atyyppisiksi mykobakteereiksi (Falkinham 2002, 259; Bonamonte ym. 2017, 277). Tavanomaisimpia ympäristömykobakteereita ovat esimerkiksi *M. gordonae*, *M. avium*, *M. intrasellulare* ja *M. lentiflavum* (THL 2019c).

Myös ei-tuberkuloottinen mykobakteeri-infektio voi esiintyä keuhkoissa, mutta se on harvinainen ja vaikeasti hoidettavissa, sillä lääkehoidot eivät tehoa tautiin yhtä tehokkaasti kuin tuberkuloosiin. *M. tuberculosis* -bakteeria esiintyy vain ihmisissä, kun taas muita mykobakteereita yleisimmin luonnon maaperissä ja vesissä. (Uibu ym. 2005.)

Ympäristömykobakteerit eivät pääsääntöisesti aiheuta infektioita terveille henkilöille. On kuitenkin mahdollista, että ne tarttuvat ihmiseen, jolloin tartunta tapahtuu ympäristön, vesistöjen tai ilman kautta. Yleensä tartuntaa ei siis voi saada toiselta ihmiseltä. (Rajalahti ym. 2021, 190.) Ympäristömykobakteeri-infektiota kutsutaan mykobakterioosiksi. Ympäristömykobakteerit pääsevät ihmisen elimistöön iholla olevien haavojen tai ruuansulatuskanavan kautta. Kuitenkin terve iho ja suolisto pystyvät tehokkaasti torjumaan bakteereita. (THL 2019c.) Mykobakteerit aiheuttavat infektioita myös monille eläimille. Eläinlajien välillä on suuria eroja mykobakteerien tartunta-alttiudessa, esimerkiksi marsut ovat erittäin alttiita mykobakteeri-infektioille. (Soini ym. 2020, 146.)

3 TUBERKULOOSI

Tuberkuloosi (TB) on tartuntavaarallinen infektio tauti, jonka aiheuttaa *Mycobacterium tuberculosis* –bakteeri. Tavallisimmin bakteeria esiintyy keuhkoissa, mutta se voi ilmetä missä tahansa elimessä, kuten imusolmukkeissa tai luustossa. (Rajalahti ym. 2021, 180; Vaara ym. 1991, 127–128.)

Tuberkuloosia esiintyy kaikkialla maailmassa, yleisimmin kuitenkin kehitysmaissa. Maailman terveysjärjestö WHO:n mukaan maailman väestöstä noin neljäsosan arvioidaan saaneen tuberkuloosibakteeri, mutta vain pieni osa tartunnan saaneista sairastuu aktiiviseen tuberkuloosiin. (WHO 2020.) Aktiivista tuberkuloosia sairastavilla voi olla monia oireita. Riippumatta siitä, missä elimessä tuberkuloosibakteeria esiintyy, voi ilmetä yleisoireita. Yleisoireita ovat esimerkiksi pitkään kestänyt lämpöily, yöhikoilu, uupumuksen tunne, ruokahaluttomuus sekä laihtuminen. Keuhkotuberkuloosissa yleisoireiden lisäksi voi esiintyä pitkään jatkunutta yskää, limaisuutta, hengenahdistusta ja rintakipua. Imusolmuketuberkuloosissa saattaa imusolmuketulehduksen lisäksi olla vain lämpöilyä tai väsymyksen tunnetta. (Vuento 2020.) Oireet voivat olla pitkään lieviä, jolloin tutkimuksiin ei hakeuduta. Tällöin hoidon aloitus viivästyy ja riski tartunnan leviämisestä muihin kasvaa. (WHO 2020.)

M. tuberculosis –bakteerille altistunut henkilö voi saada myös latentin tuberkuloosi-infektion (LTBI). Tällöin hänelle ei tule tuberkuloosin oireita eikä bakteeri leviä muihin. Latentissa tuberkuloosissa henkilöllä on keuhkoissaan *M. tuberculosis* –bakteereita, mutta ne eivät ole aktiivisessa muodossa. (Rajalahti ym. 2021, 189; Keckich & Buchwald 2013.) Latentin tuberkuloosin saaneilla on lisääntynyt riski sairastua aktiiviseen tuberkuloosiin (DiaSorin 2021).

3.1 Tuberkuloosin tartuntatavat

Tuberkuloosi tarttuu muihin pääsääntöisesti keuhkotuberkuloosia sairastavien ihmisten kautta, jotka levittävät bakteeria ympäristöön esimerkiksi yskiessään tai puhuessaan (Mims ym. 1993, 22.15; Rajalahti ym. 2021, 180). Aktiivista

tuberkuloosia sairastavalla henkilöllä puheen, yskimisen tai aivastamisen seurauksena syntyneet pienet pisarat ovat kaikkein tartuntavaarallisimpia. Mitä enemmän ysköksen värjäyksessä on *M. tuberculosis* -bakteereita, sen tartuttavampi tauti on. Pienet pisarat kuivuvat ilmassa nopeasti ytimiksi ja näin ollen ne pysyvät ilmassa pitkään, kulkeutuvat kauas ja tunkeutuvat muiden ihmisten keuhkorakkuloihin saakka. Tuberkuloosin muut muodot eivät tavallisesti ole tartuttavia. (Soini ym. 2020, 146.)

3.2 Tuberkuloosin diagnostiikka

Mykobakteerin aiheuttama tuberkuloosi-infektio voidaan todeta ysköksen värjäyksellä, viljelyllä ja geenimonistusmenetelmällä. Yskös värjätään pääsääntöisesti Ziehl-Neelsen (ZN) värjäyksellä, joka perustuu mykobakteerien haponkestävyyteen. Siinä väriaine värjää ensin kaikki näytteessä olevat bakteerit, jonka jälkeen se käsitellään happoa ja alkoholia sisältävällä liuoksella. Happo ja alkoholi poistavat värin kaikista muista bakteereista paitsi haponkestävistä mykobakteereista. Värjätty yskös mikroskopoidaan. Mikäli näyte on positiivinen, havaitaan mikroskoopissa hoikkia, pitkiä ja hieman kaareutuvia grampositiivisia sauvabakteereita. (Soini ym. 2020, 148; Sastry & Bhat 2018, 16.) Värjäys voidaan tehdä myös fluoresoivilla väriaineilla, esimerkiksi auramiinilla. Fluoresoivia väriaineita käytettäessä näytteet mikroskopoidaan LED-fluoresenssimikroskoopilla, jolloin sauvabakteerit näyttävät hohtavan kellertäviltä tummaa taustaa vasten. (Sastry & Bhat 2018, 286.)

Bakteeriviljely on värjäystä spesifisempi. Tuberkuloosibakteerit kasvavat viljelmässä useimmiten hitaasti ja ne tarvitsevatkin ravintorikkaan kasvualustan. Ravintorikkaassa kasvualustassa ihmisen normaalifloora jättää mykobakteerit helposti alleen ja tästä syystä esimerkiksi yskökset dekontaminoidaan ennen bakteeriviljelyä. (Soini ym. 2020, 148–149.) Viljelmässä positiiviseen tulokseen riittää 10–100 bakteeria. Jos bakteerit kasvavat viljelmässä, se kertoo niiden olevan elinkykyisiä. Bakteeriviljelyn etuna on, että kasvaville maljoille voidaan tehdä heti lääkeherkkyystestit. (Sastry & Bhat 2018, 286.)

Geenimonistus ja hybridisaatio-menetelmien avulla tunnistetaan mykobakteerin laji. Menetelmien avulla voidaan siis selvittää, onko kyseessä esimerkiksi tuberkuloosibakteeri vai ei-tuberkuloottinen mykobakteeri. (Soini ym. 2020, 149.)

Kvantamistutkimuksilla havaitaan tuberkuloosin aiheuttamat keuhkojen ja muiden elinten muutokset. Kvantamistutkimuksissa käytetään rintakehän Thorax-kuvausta. Sen avulla pystytään näkemään muutosten laajuus ja keuhkotuberkuloosin tartuntavaarallisuus. (Rajalahti ym. 2021, 184.)

Latentti tuberkuloosi-infektio voidaan osoittaa IGRA-testillä tai tuberkuliinikokeella. Testeillä havaitaan, mikäli testattava on ollut kontaktissa sellaisen henkilön kanssa, jolla on aktiivinen tuberkuloosibakteeri elimistössään. (Rajalahti ym. 2021, 189–190.) Aktiivisen tuberkuloosin diagnoosi vaatii aina mykobakteeriviljelyn ja -värjäyksen (Vuento 2020).

3.3 Tuberkuloosin lääkehoito

Tuberkuloosin hoito on pitkäjänteisyyttä vaativa prosessi. Hoidon toteutusta valvotaan tarkasti erikoissairaanhoidossa. Kaikki tutkimuskäynnit sekä lääkkeet ovat potilaalle ilmaisia. Keuhkotuberkuloosipotilaita, joilla ysköksen värjäys on positiivinen, hoidetaan erikoissairaanhoidon osastolla ilmaeristyksessä niin kauan, kunnes potilas ei enää voi tartuttaa keuhkotuberkuloosia muihin. (Rajalahti ym. 2021, 185.)

Tuberkuloosihoidossa käytettävä lääkehoito on vaativa ja pitkäkestoinen. Siksi se vaatiikin potilaalta ja hoitavalta yksiköltä sitoutumista. Lääkityksen kesto on vähintään kuusi kuukautta ja hoidossa käytetään useita mikrobilääkkeitä samanaikaisesti. Peruslääkehoidossa ensimmäiset kaksi kuukautta ovat intensiivistä alkuvaihetta, jolloin lääkitymisenä käytetään samanaikaisesti neljää eri lääkeainetta, joita ovat isoniatsidi, rifampisiini, pyratsiiniamidi ja etambuoli. Seuraavat neljä kuukautta ovat jatkohoitovaihetta, jolloin käytössä on enää kaksi lääkettä, isoniatsidi ja rifampisiini. (Liippo 2010.)

Tuberkuloosin lääkeresistentit kannat ovat yleistyneet ympäri maailmaa. MDR-bakteerit eli monilääkeresistentit tuberkuloosibakteerit ovat kehittäneet vastustuskyvyn joillekin tuberkuloosin hoidossa käytettäville peruslääkkeille, kuitenkin vähintään rifampisiinille sekä isoniatsidille. On olemassa myös laajasti lääkeresistenttejä bakteereita (XDR), jotka ovat kehittäneet vastustuskyvyn edellä mainittujen lisäksi myös vähintään kahdelle muulle lääkkeelle. (Liippo 2010; Bonamonte ym. 2017, 15.) Resistentit kannat voidaan osoittaa lääkeherkkyyshmääritysten avulla. Lääkeresistentin tuberkuloosin hoito on vieläkin haasteellisempaa ja pitkäkestoisempaa, kuin peruslääkkeillä hoidettava lääkeherkkä tuberkuloosi. Hoidossa ei voida käyttää niitä lääkkeitä, joita kohtaan vastustuskyky on syntynyt. Resistentin tuberkuloosin hoidossa käytetään vähintään viiden eri lääkeaineen yhdistelmää. (Soini & Vasankari 2014.)

4 DIASORIN LIAISON® XL -ANALYSAATTORI

LIAISON® XL on DiaSorinin valmistama automatisoitu analysaattori, jolla voidaan analysoida laajasti eri testejä (DiaSorin n.d). Analysaattori käyttää emittoituneen valon havaitsemiseen immunokemiluminometristä (CLIA) menetelmää (DiaSorin 2021). Menetelmää voidaan käyttää esimerkiksi lääkeaineiden, vitamiinien, hormonien sekä proteiinien pitoisuuksien määrittämisissä (Halonen 2003, 98).

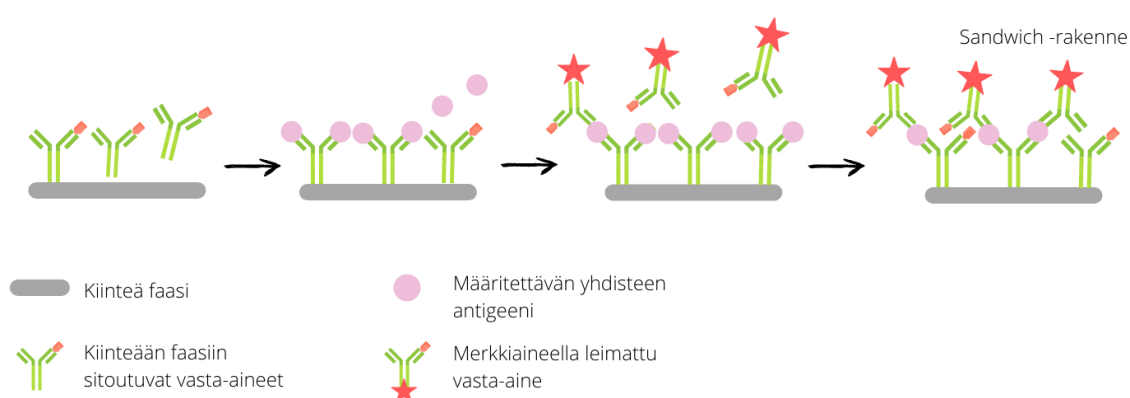


Kuva 1. DiaSorin LIAISON® XL -analysaattori

4.1 Immunokemiluminometrinen menetelmä

LIAISON® XL –analysaattori käyttää interferonigamman havaitsemiseen immunokemiluminometristä (CLIA) -kaksoisvasta-ainemenetelmää (DiaSorin 2021). Kaksoisvasta-ainemenetelmällä tarkoitetaan menetelmää, jossa hyödynnetään kahta vasta-ainetta. Ensimmäinen vasta-aine sitoutuu kiinteään faasiin, jonka jälkeen näyte lisätään ja määritettävän yhdisteen antigeeni

kiinnittyy kiinteässä faasissa olevaan vasta-aineeseen. Vasta-aineet, jotka eivät ole sitoutuneet kiinteään faasiin, pestään pois. Pesun jälkeen lisätään kemiluminisovalle merkkiaineella leimattu vasta-aine, joka sitoutuu antigeeniin eli määritettävään yhdisteeseen. Kiinteän faasin pinnalle sitoutunut vasta-aine, määritettävän yhdisteen antigeeni sekä merkkiaineella leimattu vasta-aine muodostavat sandwich-rakenteen (Kuva 2). Ennen mittauksen suoritusta tehdään vielä yksi pesu, joka poistaa vapaat leimatut vasta-aineet. (Halonen 2003, 92; DiaSorin 2021, 2.)



Kuva 2. Kaksoisvasta-ainemenetelmän periaate

Mittaus perustuu merkkiaineina käytettäviin kemiluminisoiiviin yhdisteisiin, kuten akridiumestereihin tai isoluminoleihin. Kemiluminisoiivat yhdisteet emittoivat eli lähettävät valoa mittauksessa tapahtuvan kemiallisen reaktion aikana. (Wild & Kusnezow 2005, 197.) Emittoitunut valo mitataan esimerkiksi valomonistinputken avulla (Halonen 2003, 98). Mittauksessa tulee käyttää automatisoitua analysaattoria reagenssien lisäämiseen sekä emittoituneen valon määrittämiseen, sillä kemiallinen reaktio tapahtuu lähes välittömästi reagenssin lisäämisen jälkeen (Wild & Kusnezow 2005, 203).

4.2 Verifiointi

Verifiointi on tärkeää laitteiden käyttöönotossa. Sen tarkoituksena on osoittaa laitteen toimivuus ja varmistua siitä, että laitteelle asetetut vaatimukset täyttyvät.

Verifiointissa esimerkiksi potilasnäytteiden tuloksia voidaan verrata eri menetelmällä saatuihin tuloksiin. (Labquality 2020.)

On tärkeää ymmärtää validoinnin ja verifiointin ero, sillä usein käsitteet sekoitetaan keskenään. Validointi tehdään, kun uusi testaus otetaan käyttöön ensimmäistä kertaa. Validoinnilla varmennetaan, että testaus sopii haluttuun käyttötarkoitukseen, tulokset ovat luotettavia ja täyttävät lain ja säännöksiin vaatimukset. Verifiointi taas on validointia pienimuotoisempi ja se tehdään, mikäli validointi on jo aiemmin tehty toisaalla. Verifiointi tulee tehdä kaikissa tilanteissa, joissa vanhaan, jo ennalta validoituun menetelmään tehdään joitain muutoksia. Verifiointin avulla voidaan varmistua siitä, että laite toimii niin kuin validoinnissa on jo aiemmin osoitettu. (Hägg 2016, 7–8.)

Organisaation tulee itse määrittää, kuinka laaja validointi tai verifiointi on, sillä kyseiset tiedot eivät ilmene standardeista. Määritettäviä asioita ovat laitteen suoritustaso, tavoite ja tarkoituksenmukaisuus. (Laitinen 2017, 33–34.) Kaikki validointi- ja verifiointitoimenpiteet tulee huolellisesti dokumentoida (Labquality 2020).

5 IGRA-TESTI

Interferon gamma release assay (IGRA) on tuberkuloosin diagnostiikassa käytettävä testaus (DiaSorin 2021). IGRA-testin menetelmiä ovat QuantiFERON® -TB Gold Plus (QFT-Plus) ja T-SPOT.TB (TSPOT). Testit soveltuvat latentin tuberkuloosin sekä keuhkojen ulkopuolisten tuberkuloosi-infektioiden diagnostiikkaan, sillä ne havaitsevat, mikäli henkilö on altistunut elävälle *M. tuberculosis* -bakteerille. Testit eivät kuitenkaan erota toisistaan positiivista aktiivista ja positiivista latenttia infektiota. Tästä syystä aktiivista tuberkuloosia epäiltäessä tarvitaankin aina lisätutkimuksia. (Rajalahti ym. 2021, 183–184, 189.)

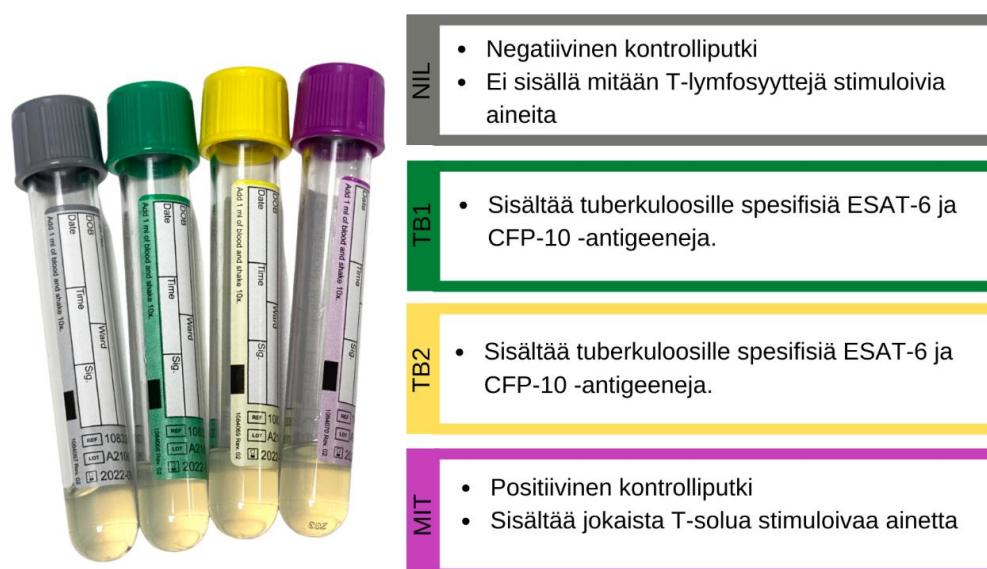
IGRA-testissä mitataan T-lymfosyyttiviljelyn avulla antigeenien tuottamaa interferonigammaa (THL 2019a). Mikäli potilas on altistunut aktiiviselle tuberkuloosille, T-solut aktivoituvat ja havaitsevat *M.tuberculosis* -bakteerien antigeenit. Kun muistisolut aktivoituvat, alkavat ne tuottaa interferonigammaa. (Rajalahti ym. 2021, 183–184; Keckich & Buchwald 2013, 106.)

IGRA-testin tulos on positiivinen, negatiivinen tai raja-arvoinen (DiaSorin 2021). Tuberkuloosin ehkäisyssä käytettävä BCG-rokote ei vaikuta tulokseen, sillä IGRA:ssa ei käytetä sellaisia valkuaisaineita, joita esiintyy BCG-rokotteessa tai suurimmassa osassa atyyppisistä mykobakteereista (Rajalahti ym. 2021, 184).

5.1 QuantiFERON® -TB Gold Plus -menetelmä

QuantiFERON® -TB Gold Plus (QFT-Plus) on tuberkuloosialtistuksen diagnostiikassa yleisimmin käytettävä menetelmä, jolla mitataan interferonigamman (IFN γ) määrää. Kokoverestä tehtävä B-TbIFN γ -tutkimus määritetään QFT-Plus -menetelmän avulla. Tutkimuksen etuna on, että se on edullinen ja helposti tehtävissä, mutta haittana kuitenkin, ettei sitä voi käyttää lymfopeenille potilaille. (Marttila 2019; THL 2019a.)

Tutkimuksessa potilaalta otetaan verta neljään erikoisnäyteputkeen (Kuva 3). Putket täytetään seuraavassa järjestyksessä: Nil- (harmaa), TB1- (vihreä), TB2- (keltainen) ja Mitogen-putki (violetti). Näytteen voi ottaa myös Li-hepariiniputkeen, josta se jaetaan QFT-Plus -erikoisnäyteputkiin. Nil-putki on negatiivinen kontrolliputki, joten se ei sisällä mitään T-lymfosyyttejä stimuloivia aineita. Erikoisnäyteputki TB1 sisältää peptidejä, jotka kykenevät muodostamaan CD4+ T-soluvastetta. TB2-putken sisältämät peptidit pystyvät stimuloimaan sekä CD4+ että CD8+ T-soluvasteita. Mitogen-putki sisältää jokaista T-solua stimuloivaa polyhydroksialkanoaattia ja näin ollen se toimii positiivisena kontrolliputkena. (Tykslab 2021.)



Kuva 3. QuantiFERON® -TB Gold Plus -menetelmän näytteenottoputket

Verinäytteet lähetetään tutkittavaksi kliiniseen laboratorioon, jossa näyteputkia inkuboidaan 16–24 tuntia 37°C:ssa ennen analysointia. Mikäli näyteputkia ei pystytä lähettämään näytteenotto paikasta laboratorioon 16 tunnin sisällä näytteenotosta, putket inkuboidaan ennen lähetystä näytteen ottavassa yksikössä. Inkuboinnin jälkeen näyteputket sentrifugoidaan ja analysoidaan LIAISON® XL –analysointilaitteella. (DiaSorin 2020.)

5.2 T-SPOT.TB -menetelmä

T-SPOT.TB (TSPOT) -menetelmällä määritettävä B-LyTbIFNg –tutkimus tehdään plasmasta eristettyjen lymfosyyttien avulla. Näyte otetaan Li-hepariiniputkeen. Tutkimusta käytetään vain erityistapauksissa, sillä se on vaihtoehtoista tutkimusta huomattavasti kalliimpi. Tutkimus soveltuu henkilöille, joilla veren lymfosyyttimäärä on matala tai QuantiFERON® -TB Gold Plus -menetelmällä saatu testitulos epäselvä. (Marttila 2019; THL 2019a.)

TSPOT käyttää interferonigamman havaitsemiseen immunologista Elispot-menetelmää. B-LyTbIFNg –tutkimuksessa eristettyjä lymfosyyttejä stimuloidaan *M. tuberculosis* -bakteerille tyypillisten peptidien kanssa (ESAT-6, CFP-10). Peptideille herkistyneet lymfosyytit alkavat erittää interferonigammaa. Kun tunnistusreagenssi lisätään, se reagoi entsyymileimatun vasta-aineen kanssa, jolloin muodostuu värillisiä spotteja. Spottien eli reaktiivisten lymfosyyttien määrä lasketaan mikroskoopin avulla. (Huslab 2021; T-SPOT.TB Package Insert 2021.)

6 OPINNÄYTETYÖN TAVOITE JA TARKOITUS

Tämän opinnäytetyön tavoitteena on nopeuttaa LIAISON® XL –analysaattorin avulla potilaiden testitulosten valmistumista, jolloin mahdollinen tuberkuloosin hoito voidaan aloittaa nopeammin ja *M. tuberculosis* -bakteerin leviäminen estää. Automatisoidun IGRA-testauksen ansiosta myös laboratoriotyöskentely helpottuu, kun käsin tehtävä työ vähenee.

Tämän opinnäytetyön tarkoitus on verifioida tuberkuloosin diagnostiikassa käytettävän IGRA-testin QuantiFERON® -TB Gold Plus -menetelmä LIAISON® XL –analysaattorille. Lisäksi tarkoituksena on suunnitella uuden analyysimenetelmän käyttöönotto sekä laatia menetelmätyöohje asioista, jotka tulee huomioida käyttöönottoprosessissa. Opinnäytetyön ansiosta IGRA-testi voidaan siirtää immunogenetiikan laboratorion käyttämältä ELISA-menetelmältä Tyks Kliinisen mikrobiologian laboratorion analysaattorin CLIA-menetelmälle.

7 OPINNÄYTETYÖN KÄYTÄNNÖN TOTEUTUS

Tämä opinnäytetyö toteutettiin osana Työelämäyhteistyön ja opetusmenetelmien kehittäminen bioanalytikkokoulutuksessa -hanketta (TurkuCRC T12/022/19). Opinnäytetyön toimeksiantajana oli Tyks Kliininen mikrobiologia. Opinnäytetyösuunnitelma ja -sopimus laadittiin syksyllä 2021.

Opinnäytetyön käytännön toteutus alkoi verifiointisuunnitelman laatimisella toimeksiantajan antamia ohjeita hyödyntäen. Suunnitelmassa käsiteltiin muun muassa verifiointin suoritustapaa, aikataulua, käytettäviä reagensseja, näytelaatuja ja -määriä sekä mahdollisia verifiointissa ilmeneviä virhelähteitä. Verifiointisuunnitelma hyväksyttiin toimeksiantajalla.

Verifiointissa käytettävät tuberkuloosinäytteet ja niistä saadut tulokset hankittiin immunogenetiikan laboratoriolta, missä IGRA-testaus tehtiin ennen sen siirtoa Kliinisen mikrobiologian laboratorioon. Immunogenetiikan laboratorion työntekijät olivat analysoineet näytteet ensin ELISA-menetelmällä. Tämän jälkeen opinnäytetyön tekijät analysoivat samat näytteet uudelleen LIAISON® XL –analysointilaitteella. Verifiointi suoritettiin sadan henkilön näytteillä, joista 30 oli positiivisia, 64 negatiivisia, kolme raja-arvoisia ja kolme määrittelemättömiä. Jokaisesta henkilöstä oli neljä näyteputkea (Nil, TB1, TB2 ja Mitogen), joten verifiointissa analysoitiin yhteensä 400 verinäytettä. Alkuperäisissä IGRA-putkissa olevia tuoreita näytteitä oli 20, jotka oli kerätty viikon sisällä analysoinnista ja säilytetty jääkaapissa. Loput verifiointissa käytetyistä näytteistä olivat eppendorf-putkiin siirrettyjä pakastettuja näytteitä, joita immunogenetiikan laboratorio oli säilyttänyt verifiointia varten. Näytemateriaalina oli kokoverestä eroteltu plasma.

Ennen varsinaista IGRA-testin verifiointia laitevalmistajan edustaja perehdytti opinnäytetyön tekijät analysointilaitteen käyttöön ja suoritettiin testiajo. Testiajossa saatuja tuloksia ei käytetty verifiointissa. Varsinainen verifiointi suoritettiin kolmena muuna päivänä verifiointisuunnitelmaa apuna käyttäen. Kartiopohjaiset eppendorf-putket, joihin näytteet oli immunogenetiikan laboratoriossa siirretty, eivät sopineet LIAISON® XL –analysointilaitteeseen. Opinnäytetyön tekijät siirsivät

ennen analysointia näytteet sopiviin putkiin pipetoimalla. Erotetuissa verifiointiin valituissa näytteissä todettiin paljon hyytymiä, joten näytteet sentrifugoitiin ennen pipetointia. LIAISON® XL –analysointilaitteen hyödyntämällä CLIA-menetelmällä saatuja tuloksia verrattiin ELISA-menetelmällä saatuihin tuloksiin.

Verifioinnin yhteydessä selvitettiin myös menetelmän toistettavuutta poolaamalla positiivisia näytteitä keskenään ja analysoimalla syntynyt näyte. Näytteitä yhdistettiin, jotta näytemäärä olisi riittävä 20 ajoon. Toistettavuusnäyte ajettiin kahtena verifiointipäivänä niin, että sama näyte ajettiin viisi kertaa sekä aamu-että iltapäivällä. Sarjan sisäisen ajon sekä sarjojen välisten ajon tuloksia tarkasteltiin tilastollisin menetelmin. Tuloksista laskettiin keskiarvo, keskihajonta ja variaatiokerroin.

Kaikista verifioinnissa saaduista tuloksista laadittiin verifiointiraportti. Osana opinnäytetyötä tehtiin myös menetelmätyöohje, joka lisättiin vastuualueen intranet-sivustolle. Sivusto on kaikille laboratorion työntekijöille avoin. Ohje tulostettiin myös analysointilaitteille, jotta sillä työskentelevä henkilö voi käyttää sitä apunaan.

Menetelmätyöohje ja verifiointiraportti hyväksyttiin toimeksiantajalla. Verifiointisuunnitelmaa, verifiointiraporttia, laadittuja ohjeita tai ELISA-menetelmällä saatuja tuloksia ei julkaistu opinnäytetyössä.

7.1 Opinnäytetyön metodologiset lähtökohdat

Toiminnallisessa opinnäytetyössä tavoitteena on laatia erilaisia ohjeistuksia ja opastuksia sekä selventää käytännön toimintaa. Toiminnallisessa opinnäytetyössä tehdään toiminnallinen osuus sekä raportti, joka sisältää työn kulun ja arvioinnin tutkimusviestintää apuna käyttäen. (Saastamoinen ym. 2018; Salonen 2013, 25.) Tämä opinnäytetyö on toiminnallinen opinnäytetyö, sillä opinnäytetyön tekijät toteuttivat analyysimenetelmän verifioinnin, suunnittelivat sen käyttöönoton ja laativat menetelmätyöohjeen Kliinisen mikrobiologian laboratoriolle. Toiminnallisen osuuden tuotoksena syntyi opinnäytetyön raportti.

Toiminnallinen opinnäytetyö alkaa aina suunnitelman laatimisella, jossa aihe rajataan sekä määritetään työn tavoite ja tarkoitus. Suunnitelmaan kootaan viitekehys, jossa avataan työn keskeiset käsitteet. Suunnitelman valmistuttua tehdään työn toiminnallinen osuus, kuten työohje. Lopuksi kirjoitetaan varsinainen opinnäytetyön raportti, jossa käsitellään laajasti ja monesta näkökulmasta kaikki toiminnallisen opinnäytetyön vaiheet sekä täydennetään jo suunnitelmavaiheessa aloitettua teoriaosuutta. (Saastamoinen ym. 2018.) Tämä opinnäytetyö alkoi suunnitelman laatimisella, johon määritettiin muun muassa tarkasti työn tavoite ja tarkoitus. Suunnitelman valmistuttua tehtiin työn toiminnallinen osuus ja samalla koottiin opinnäytetyöraportti suunnitelman pohjalta. Tämän toiminnallisen opinnäytetyön tuotoksena syntyi opinnäytetyön raportin lisäksi verifiointiraportti sekä QuantiFERON® -TB Gold Plus -menetelmän työohje.

Merkittävä osa toiminnallisen opinnäytetyön arvioinnissa on laadittujen tavoitteiden toteutuminen. Raportissa tulisikin pohtia, mitkä tavoitteet jäivät toteuttamatta ja miksi. Toiminnallisen opinnäytetyön raporttiin kannattaa sisällyttää myös esimerkiksi pohdinta omasta ammatillisesta kasvusta ja onnistumisesta. (Vilkkä & Airaksinen 2003, 154–155, 160.) Tässä opinnäytetyössä pohdittiin opinnäytetyön tekijöiden omaa ammatillista kasvua sekä opinnäytetyön kokonaisuuden onnistumista. Lisäksi kuvattiin opinnäytetyölle ja verifiointille asetettujen tavoitteiden täyttymistä.

7.2 Opinnäytetyön eettiset lähtökohdat

Tämän opinnäytetyön aihe on tärkeä, sillä tuberkuloosidiagnostiikan automatisoiminen nopeuttaa potilaiden tulosten saantia ja hoidon aloittamista sekä helpottaa bioanalyttikoiden työtä. Analysaattorin avulla voidaan vähentää esimerkiksi toistuvasta pipetoinnista aiheutuvaa kuormitusta.

Hyvän tieteellisen käytännön (HTK) mukaan tutkimus tehdään rehellisyyttä, huolellisuutta ja tarkkuutta noudattaen (TENK n.d.b). Käytännön mukaan tulee pitää huolta, että tutkittavat, esimerkiksi henkilöt, paikkakunnat tai ryhmät pysyvät

anonyyminä. Lisäksi tekijänoikeuksia tulee kunnioittaa. (Vilkkä 2007, 164–165.) Tutkimukselle ja sen suorittamiselle on hankittava tarvittavat luvat. Jokainen tutkimukseen liittyvä jäsen on vastuussa hyvän tieteellisen käytännön noudattamisesta. (TENK n.d.b.) Tässä opinnäytetyössä on noudatettu hyvän tieteellisen käytännön toimintaperiaatteita. Opinnäytetyö toteutettiin osana bioanalytikkokoulutuksen hanketta (TurkuCRC T12/022719) ja työlle laadittiin opinnäytetyösopimus. Verifioinnissa käytetyt näytteet käsiteltiin anonyymisti. Tutkittavien tietosuojan takaamiseksi niistä oli poistettu henkilötiedot ja näytteet oli merkitty juoksevalla sarjanumerolla immunogenetiikan laboratorion toimesta. Tässä opinnäytetyössä lähteinä käytettäviä ulkopuolisia materiaaleja käytettiin asiallisesti ja ne merkittiin oikeaoppisesti lähdeluetteloon ja tekstiviitteisiin.

Ennen tutkimuksen aloitusta tehdään eettistä ennakoarviointia. Sillä tarkoitetaan tutkimussuunnitelman tarkastelua ja arviointia tieteenalakohtaisia eettisiä ohjeita apuna käyttäen. Eettisen ennakoarvioinnin tekeminen on tärkeää, jotta voidaan ennakoida tutkimuksesta tai siitä saaduista tuloksista mahdollisesti aiheutuvaa haittaa tutkittavaa kohtaan. (TENK n.d.a.) Tässä opinnäytetyössä suoritettua verifioinnissa käytetyt näytteet oli ennalta analysoitu ja niiden tulokset oli vastattu potilaille, joten näytteiden käytöstä ei aiheutunut minkäänlaista haittaa.

Raportoidessa sanallisesti tutkittavien tietoja tulee miettiä huolellisesti, kuinka asiat esitetään. Tutkittavalle voi aiheutua haittaa, mikäli tutkimustulokset ilmaistaan loukkaavasti tai epäkunnioittavasti, tai jos henkilön voi tunnistaa tutkimuksesta. Tutkijan tulee käsitellä tietoja tutkijan näkökulmasta, eikä omat mielipiteet tai arvot saa vaikuttaa tutkimukseen. (Vilkkä 2007, 164–165.) Tämän opinnäytetyön raportista ei voi tunnistaa henkilöitä, sillä tutkittavat näytteet olivat anonyymejä. Kaikki raportoidut tutkimustulokset käsiteltiin tutkijan näkökulmasta.

8 TULOKSET JA NIIDEN TARKASTELU

Tässä opinnäytetyössä tehtiin DiaSorin LIAISON® XL –analysaattorin QuantiFERON® -TB Gold Plus -menetelmän verifiointi. Verifiointi tehtiin sadan potilaan näytteillä ja tuloksia verrattiin immunogenetiikan laboratoriossa saatuihin tuloksiin. Potilasnäytevertailussa käytettiin kaikkien neljän IGRA-putken tuloksia, jotta voitiin määrittää DiaSorinin oman tulkintataulukon avulla näytteille kvalitatiivinen tulos. Tilastollista analyysiä tehdessä huomioon otettiin ainoastaan TB1-Nil ja TB2-Nil –tulokset, jotka ovat diagnoosin kannalta merkittävimpiä. Lisäksi verifiointissa tarkasteltiin menetelmän sarjan sisäistä sekä sarjojen välistä toistettavuutta analysoimalla näytepooli useaan kertaan kahtena eri päivänä.

Verifiointin tavoitteeksi asetettiin, että potilasnäytevertailussa analysoitujen näytteiden tulosten tulee vastata immunogenetiikan laboratoriossa saatuja kvalitatiivisia tuloksia. Saatuja tuloksia esitellään ja tarkastellaan tarkemmin seuraavissa kappaleissa.

8.1 Potilasnäytevertailu

LIAISON® XL –analysaattorin verifiointi tehtiin kolmena eri päivänä. Verifiointissa käytettiin sadan henkilön verinäytteitä, joista kaikista oli neljä näyteputkea eli näytteitä oli yhteensä 400. 64:n henkilön näytteet olivat negatiivisia, 30:n positiivisia, kolmen raja-arvoisia ja kolmen määrittelemättömiä. Positiivista tulosta kutsutaan raja-arvoiseksi, kun se on vain hieman yli positiivisen rajan, eli TB1-Nil tai TB2-Nil -tulos on 0,36–0,49 IU/mL. Määrittelemätön tulos taas tarkoittaa, ettei luotettavaa tulosta voi saada, sillä positiivisen kontrolliputken (Mit-Nil) tulos jää liian alhaiseksi (<0,5 IU/mL). LIAISON® XL –analysaattori antaa tulokset kvantitatiivisesti, mutta ne tulkitaan QuantiFERON® -TB Gold Plus -menetelmän tulkintaan laaditun taulukon avulla kvalitatiiviseksi.

Taulukossa 1. on esitetty LIAISON® XL -analysointilaitteella saadut IGRA-testin (QFT-Plus) tulokset suhteessa immunogenetiikan laboratorion ELISA-menetelmällä saatuihin tuloksiin. Verifiointissa saadut kvantitatiiviset tulokset on esitetty erikseen liitteessä 1.

		LIAISON® XL				
		Negatiivinen	Positiivinen	Raja-arvoinen	Määrittelemätön	Yht.
ELISA	Negatiivinen	61	1	0	2	64
	Positiivinen	0	30	0	0	30
	Raja-arvoinen	0	0	3	0	3
	Määrittelemätön	0	0	0	3	3
	Yht.	61	31	3	5	100

Taulukko 1. LIAISON® XL -analysointilaitteella saadut kvalitatiiviset tulokset verrattuna ELISA-menetelmällä saatuihin tuloksiin

Verifiointissa saatujen negatiivisten näytteiden tulokset olivat hyvin yhteneväisiä verrattaviin tuloksiin, eikä yhtään väärää negatiivista tulosta saatu. Kahden näytteen kohdalla (näytteet nro. 1530 ja 1534) LIAISON® XL -analysointilaitteella saadut Mit-Nil tulokset jäivät alle hyväksytyyn viiterajaan (<0,5 IU/mL) ja näin ollen tulokset ovat määrittelemättömiä. Samoissa näytteissä myös ELISA-menetelmällä saadut Mit-Nil -tulokset olivat matalahkot, mutta kuitenkin yli viiterajan, jolloin tulokseksi oli saatu negatiivinen.

Verifiointissa saatiin yksi väärä positiivinen tulos (näyte nro. 1438). ELISA-menetelmällä tulokseksi oli saatu negatiivinen, mutta LIAISON® XL -analysointilaitteella saatiin positiivisen tuloksen. ELISA-menetelmällä kyseisen näytteen TB1-Nil -tulos oli 0,34 IU/mL, eli hyvin lähellä positiivisen rajaa, joka on $\geq 0,35$ IU/mL. Kaikki testatut raja-arvoiset näytteet olivat yhteneväisiä verrattaviin ELISA-tuloksiin, eikä yhtään poikkeavaa tulosta saatu.

LIAISON® XL -analysointilaitteella saadut kvalitatiiviset tulokset olivat pääsääntöisesti yhteneväisiä immunogenetiikan laboratorion saamiin tuloksiin. Verifiointissa käytetyistä sadan potilaan näytteistä 97 vastasi immunogenetiikan laboratorion tulosta. Tuloksista ilmeni, että LIAISON® XL -analysointilaitteen CLIA-menetelmä havaitsee interferonigamman erityksen herkemmin kuin ELISA-

menetelmä. Tästä syystä LIAISON® XL:n kvantitatiiviset tulokset ovat jonkin verran korkeampia kuin ELISA:lla saadut. Vaikka LIAISON® XL havaitsi interferonigammatasot herkemmin, pysyivät jopa raja-arvoiset tulokset raja-arvoisina. Herkempi interferonigamman havaitseminen ei siis vaikuttanut kvalitatiiviseen tulokseen muissa, kuin näytteessä nro. 1438, jossa immunogenetiikan laboratorion saamasta negatiivisesta tuloksesta saatiin CLIA:lla positiivinen.

Bisognin ym. (2020) ovat tutkineet aikaisemmin QuantiFERON® -TB Gold Plus -menetelmän yhteensopivuutta ELISA-menetelmän ja DiaSorin LIAISON® XL -analysointilaitteen hyödyntämisen CLIA-menetelmän välillä. Tutkimuksesta selvisi, että ELISA ja CLIA korreloivat merkittävästi keskenään kahdesta eri mittausmenetelmästä huolimatta. Tutkijat kuitenkin havaitsivat, että CLIA-menetelmä tuotti ELISA-menetelmää huomattavasti korkeammat arvot sekä TB1-antigeenille että TB2-antigeenille. Tämä on havaittu myös aiemmissa CLIA:n suorituskykyä koskevilla tutkimuksilla, vaikka tutkimukset on suoritettu pienemmällä tutkimusjoukoilla. Tutkijoiden mielestä korkeammat tulokset eivät johdu preanalyttisistä tekijöistä, vaan siitä, että kemiluminesenssiteknologiaan perustuva määrittäminen mahdollistaa erittäin vähäisten interferonigammatasojen havaitsemisen.

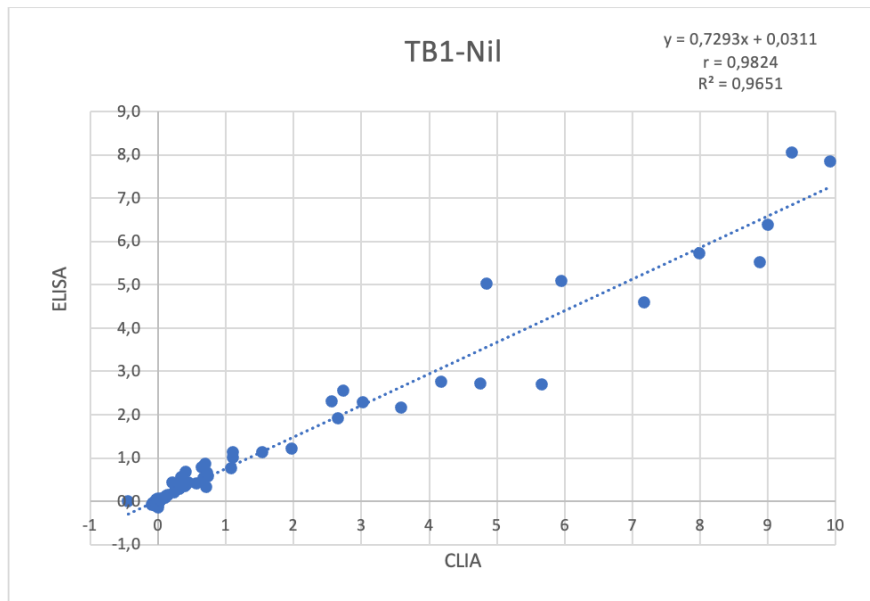
8.2 Tulosten korrelaatio

LIAISON® XL –analysointilaitteen ja immunogenetiikan laboratorion saamia TB1-NT ja TB2-NT -tuloksia verrattiin Pearsonin tulomomenttikorrelaatiokerroimen (r) avulla ja määritettiin selityskerroin (R^2). Tulosten lineaarisuutta havainnollistettiin sirontakuviolla.

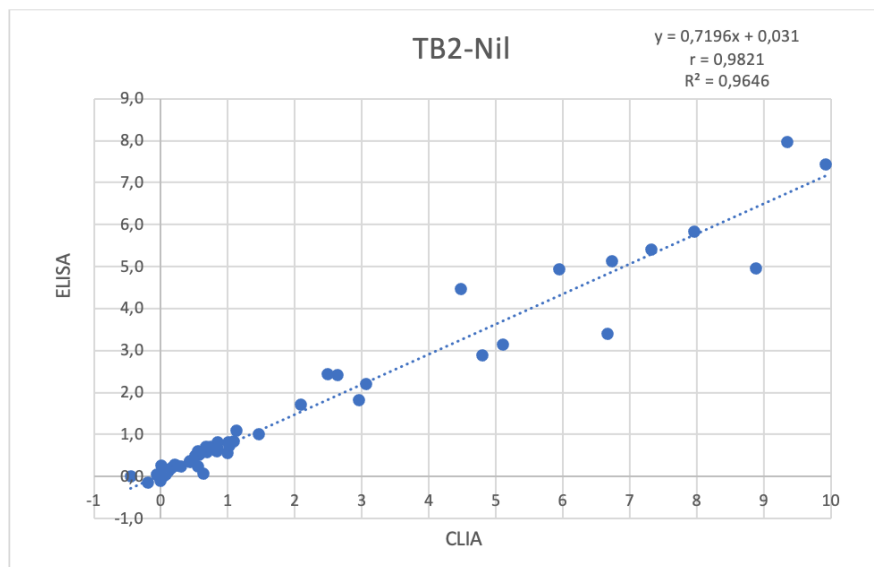
Korrelaation avulla voidaan arvioida kahden muuttujan välistä yhteyttä. Korrelaatiokerroin on luku, joka osuu -1 :n ja $+1$:n välille. Korrelaatiota voidaan kutsua positiiviseksi, jolloin pisteet osuvat nousevalle suoralle tai negatiiviseksi, jolloin pisteet osuvat laskevalle suoralle. Mitä lähempänä korrelaatiokerroin on arvoa $+1$ tai -1 , sen voimakkaampi on muuttujien välinen yhteys. Mikäli kahden

muuttujan välillä ei havaita lineaarista yhteyttä, korrelaatiokertoimen lukuarvo on lähellä nollaa. (Nummenmaa ym. 2014, 214–216.)

Selityskerroin ilmaisee, miten suuri osa y-akselilla olevista muuttujista voidaan selittää x-akselilla olevien muuttujien avulla. Selityskerroin ilmaistaan usein prosentteina. (Nummenmaa ym. 2014, 250.)



Kuvio 1. LIAISON® XL -analysointilaitteen ja ELISA-menetelmän TB1-Nil -tulosten korrelaatiokuvaaja



Kuvio 2. LIAISON® XL -analysointilaitteen ja ELISA-menetelmän TB2-Nil -tulosten korrelaatiokuvaaja

TB1-Nil –tulosten korrelaatiokertoimeksi saatiin 0,9824 ja selityskertoimeksi 0,9651 eli 96% (Kuvio 1). TB2-Nil –tulosten korrelaatiokertoimeksi saatiin 0,9821 ja selityskertoimeksi 0,9646 eli myös 96% (Kuvio 2). Tämä tarkoittaa, että molemmissa tapauksissa tulosten y:n vaihtelu voidaan 96 prosenttisesti selittää x:n vaihteluiden avulla. Kuvioista voidaan havaita, että LIAISON® XL -analysointilaitteella saadut tulokset sekä ELISA-menetelmän tulokset korreloivat positiivisesti keskenään ja ovat lineaarisesti yhteneväisiä. Selityskertoimet ovat myös melko hyvät, mikä tarkoittaa, että analysointilaitteella saadut tulokset vastaavat hyvin verrattavan ELISA-menetelmän tuloksia.

Verifiointille asetetut tavoitteet täyttyivät erinomaisesti. Saatujen tulosten perusteella B-TbIFNg -tutkimus sopii hyvin testattavaksi DiaSorin LIAISON® XL -analysointilaitteen QuantiFERON® -TB Gold Plus -menetelmälle.

8.3 Menetelmän toistettavuus

Menetelmän toistettavuutta testattiin poolaamalla positiivisia tuberkuloosinäytteitä keskenään ja analysoimalla näytepooli. Toistettavuutta arvioitiin sarjan sisäisenä toistettavuutena, jolloin sama näytepooli analysoitiin useasti yhden mittausarjan aikana. Lisäksi tarkasteltiin sarjojen välistä toistettavuutta, jolloin sama näytepooli analysoitiin eri ajankohtina tehtävissä mittausarjoissa. Näytepooli analysoitiin kahden eri analysointipäivän aamu- ja iltapäivällä. Näytepooli pakastettiin ensimmäisen analysointipäivän jälkeen, sillä eri päivinä suoritettujen analysointien välillä oli kaksi viikkoa.

Toistettavuutta arvioitiin tarkastelemalla saatujen tulosten variaatiokerrointa, joka muutettiin prosenteiksi (CV%). Sarjan sisäinen toistettavuus kuvaa saman näytteen yhden mittausarjan sisällä tapahtuvaa tulosten hajontaa. Sarjan välinen toistettavuus taas kuvaa eri mittausarjoissa tehtävää mittausta joko eri ajankohtana tai eri henkilön tekemänä. Sekä sarjan sisäisten että sarjojen välisten toistettavuusnäytteiden tulosten variaatioprosentti saa olla korkeintaan 15%. (Hägg 2016, 44.)

Tässä kappaleessa on esitelty sarjojen sisäisen toistettavuuden tulokset analysointikertojen mukaan (Taulukot 2–5) sekä yhteenvetona sarjojen välinen toistettavuus (Taulukko 6). Sarjojen sisäistä toistettavuutta tarkasteltiin laskemalla saaduista tuloksista keskiarvo, keskihajonta, variaatiokerroin (CV) sekä variaatioprosentti (CV%). Sarjojen välistä toistettavuutta taas arvioitiin laskemalla eri analysointikerroilla saatujen tulosten keskiarvojen keskiarvo, keskiarvojen keskihajonta, variaatiokerroin ja variaatioprosentti.

Aritmeettisella keskiarvolla (\bar{x}) kuvataan, kuinka suurina saadut lukuarvot olisivat, mikäli mitattu ominaisuus jakautuisi kaikkien saatujen lukuarvojen kesken tasan. Keskiarvo saadaan laskemalla kaikkien saatujen lukuarvojen summa (Σ) ja jakamalla tulos kaikkien mitattujen arvojen lukumäärällä (n). Keskihajonnalla (s) kuvataan lukuarvojen keskimääräistä hajontaa. Keskihajontaa käytetään yhdessä keskiarvon kanssa ja se saadaankin laskemalla jokaisen havaintoarvon erotus jakauman keskiarvosta. Variaatiokerroin (CV) puolestaan kuvastaa, kuinka monen keskiarvon päässä muuttuvan tekijän lukuarvot keskimäärin ovat keskiarvosta. Variaatiokerroin kuvataan usein prosentteina, jolloin voidaan havaita, kuinka monta prosenttia muuttuvan tekijän lukuarvot keskimäärin eroavat saadusta keskiarvosta. (Nummenmaa ym. 2014, 74, 82, 84.)

Analysointikerta	Näyte	Tulos
1	Näytepooli	8,91
2	Näytepooli	8,85
3	Näytepooli	7,97
4	Näytepooli	7,71
5	Näytepooli	7,44
Keskiarvo		8,18
Keskihajonta		0,67
Variaatiokerroin (CV)		0,08
Variaatioprosentti (CV%)		8 %

Taulukko 2. Sarjan sisäinen toistettavuus ensimmäisellä analysointikerralla

Analysointikerta	Näyte	Tulos
6	Näytepooli	9,84
7	Näytepooli	7,97
8	Näytepooli	7,78
9	Näytepooli	8,18
10	Näytepooli	8,10
Keskiarvo		8,37
Keskihajonta		0,83
Variaatiokerroin (CV)		0,10
Variaatioprosentti (CV%)		10 %

Taulukko 3. Sarjan sisäinen toistettavuus toisella analysointikerralla

Analysointikerta	Näyte	Tulos
11	Näytepooli	9,43
12	Näytepooli	9,79
13	Näytepooli	8,67
14	Näytepooli	9,60
15	Näytepooli	9,08
Keskiarvo		9,31
Keskihajonta		0,44
Variaatiokerroin (CV)		0,05
Variaatioprosentti (CV%)		5 %

Taulukko 4. Sarjan sisäinen toistettavuus kolmannella analysointikerralla

Analysointikerta	Näyte	Tulos
16	Näytepooli	9,94
17	Näytepooli	9,57
18	Näytepooli	9,43
19	Näytepooli	9,05
20	Näytepooli	8,84
Keskiarvo		9,37
Keskihajonta		0,43
Variaatiokerroin (CV)		0,05
Variaatioprosentti (CV%)		5 %

Taulukko 5. Sarjan sisäinen toistettavuus neljännellä analysointikerralla

Sarjojen välinen toistettavuus	Tulos
Toistojen keskiarvojen keskiarvo	8,81
Toistojen keskiarvojen keskihajonta	0,62
Variaatiokerroin (CV)	0,07
Variaatioprosentti (CV%)	7 %

Taulukko 6. Sarjojen välinen toistettavuus

Sekä sarjojen sisäisten että sarjojen välisten toistettavuuksien tulosten välinen keskihajonta sekä variaatioprosentti olivat melko pieniä, eli tulokset poikkesivat toisistaan vain vähän. Tarkastelemalla eri analysointikertojen välisiä taulukoita (Taulukot 2–5) voidaan kuitenkin havaita, että kahtena eri päivänä saaduissa tuloksissa tapahtuu pieni tason nousu, joka näkyy myös keskiarvojen nousuna. On mahdollista, että tason nousu johtuu näytepoolin pakastamisesta analysointipäivien väliseksi ajaksi, sillä samana analysointipäivänä tehdyissä aamu- ja iltapäivän analysointikerroissa ei havaittu suuria poikkeamia.

Toistettavuutta tarkasteltaessa havaitaan, että tulosten variaatioprosentti pysyi selvästi alle hyväksytyyn rajan (15%). Voidaan siis todeta, että menetelmän toistettavuus oli erinomaista sekä sarjan sisäisesti että sarjojen välisesti.

9 MENETELMÄTYÖOHJE

Osana opinnäytetyötä tehtiin verifioitavalle LIAISON® XL –analysaattorille QuantiFERON® -TB Gold Plus -menetelmän työohje. Ohje laadittiin ELISA:n menetelmätyöohjeen pohjalta analysaattorille sopivaksi. Pohja ohjeelle saatiin opinnäytetyön toimeksiantajalta.

Opinnäytetyön tuotoksena syntyneestä menetelmätyöohjeesta selviää IGRA-testiä käyttöön otettaessa huomioitavia asioita, kuten tarvittavat laitteet ja välineet sekä tiedot näytteistä ja reagensseista. Lisäksi käsitellään menetelmän periaatetta ja tarkoitusta, laaduntarkkailua, mahdollisia virhelähteitä sekä työturvallisuutta. Ohjeeseen sisällytettiin myös työohje potilasnäytteiden analysoimiseen sekä liitettiin vuokaavio, josta selviää yksityiskohtaisesti työn kulku laboratoriossa.

Opinnäytetyön tekijät suunnittelivat työohjetta yhdessä laboratorion työntekijöiden ja vastuuhenkilöiden kanssa. Työntekijät kertoivat mielipiteitään esimerkiksi työn etenemisestä laboratoriossa ja laitteiden, kuten lämpökaapin, sijoituspaikoista. Neuvottelujen pohjalta opinnäytetyön tekijät laativat lopullisen ohjeen. Menetelmätyöohje hyväksyttiin toimeksiantajalla ja lisättiin vastualueen intranet-sivustolle, joka on avoin kaikille laboratorion työntekijöille. Ohje tulostettiin myös analysaattorille, jotta sillä työskentelevä henkilö voi käyttää sitä apunaan.

10 POHDINTA

Tämän opinnäytetyön tarkoituksena oli verifioida QuantiFERON® -TB Gold Plus -menetelmä, suunnitella sen käyttöönotto ja laatia menetelmätyöohje. Suoritettu verifiointi onnistui erinomaisesti ja kaikki verifiointille asetetut tavoitteet täyttyivät. Saadut tulokset korreloivat positiivisesti verrattaviin tuloksiin ja menetelmän toistettavuus oli hyvä. Menetelmä saatiin sopimaan osaksi laboratorion arkea ja sille laadittiin menetelmätyöohje helpottamaan laboratoriotyöskentelyä.

Ennen verifiointia tehtiin verifiointisuunnitelma, jota oli tarkoitus noudattaa. Ensimmäisenä analysointipäivänä kuitenkin huomattiin, että suunnitelmaa joudutaan muuttamaan, sillä immunogenetiikan laboratoriolta saadut eppendorf-putket eivät sopineet analysaattoriin. Kaikki 400 näytettä pipetoitiin ennen analysointia uusiin putkiin, jotka numeroitiin käsin. Lisäksi näytteissä oli paljon pakastuksesta johtuvia hyytymiä, minkä vuoksi ne tuli sentrifugoida ennen pipetointia. Verifiointia varten oli myös tilattu liian vähän reagensseja, joten ne loppuivat kesken ja niitä jouduttiin tilaamaan lisää. Alkuperäisen suunnitelman mukaan verifiointi oli tarkoitus suorittaa yhden päivän aikana, mutta lisääntyneen työmäärän sekä reagenssien toimituksen keston vuoksi analysointipäiviä oli lopulta kolme.

Menetelmälle ei saatu laiteliitäntää ennen verifiointia, joten verifiointi tehtiin ilman sitä. Analysaattorin antamat kvantitatiiviset tulokset tulkittiin siis itse kvalitatiivisiksi tulkintataulukon avulla. Kun laiteliitäntä valmistuu, analysaattori tulkitsee tulokset suoraan kvalitatiivisiksi. Työohjeeseen oli tarkoitus sisällyttää ohje tulosten vastaamiseen, mutta tämä jäi opinnäytetyön tekijöiltä tekemättä, sillä toimeksiantaja ei saanut laiteliitäntää valmiiksi. Yhdessä toimeksiantajan kanssa päätettiin, että he lisäävät ohjeistuksen myöhemmin itse opinnäytetyön tekijöiden tekemään ohjeeseen.

Näytteet olivat anonyymejä eli niissä ei ollut viivakoodeja, joten ne kirjattiin käsin analysaattorille. Näytteiden kirjaaminen analysaattorille sekä Exceliin oli tarkkaa työtä ja sitä tehdessä tuli olla erityisen huolellinen. On kuitenkin olemassa teoreettinen mahdollisuus, että tietoja käsin kirjatessa on voinut tapahtua

inhimillinen kirjoitusvirhe. Verifioinnin aikana tuloksia tarkasteltiin useaan kertaan ja laskettiin, että suunniteltu näytemäärä toteutuu. Saadut tulokset käsiteltiin tilastollisin menetelmin, mikä tuntui haastavalta. Kuitenkin lähdemateriaalien ja opetusvideoiden avulla saatiin tulokset esitettyä selkeästi ja ymmärrettävästi.

Tässä opinnäytetyössä tehtyä tutkimusta voidaan pitää luotettavana, sillä kaikkia materiaaleja käsiteltiin huolellisesti ja oikeaoppisesti. Luotettavia lähteitä käytettiin monipuolisesti ja niiden tueksi etsittiin kansainvälisiä lähteitä. Saatuja tuloksia tuki samasta aiheesta aiemmin tehty tutkimus (Bisognin ym. 2020). Kaikki opinnäytetyön kuvat ja taulukot ovat itse otettuja ja laadittuja. Luotettavuutta parantaa lisäksi tutkimuksessa käytetty suuri näytemäärä. Verifioinnissa saadut tulokset annettiin myös toimeksiantajan arvioitavaksi.

Opinnäytetyön tekijöiden henkilökohtaisena tavoitteena oli kehittää ammatillista osaamista ja ymmärtää kokonaisvaltaisemmin laboratorioprosessin vaiheita. Opinnäytetyön tekeminen syvensikin osaamista toimia bioanalytikoina, kehitti ongelmanratkaisutaitoja ja tarkkuutta sekä auttoi ymmärtämään opinnäytetyöprosessia tarkemmin. Aihe oli mielenkiintoinen ja työtä oli mukava tehdä, vaikka laadittu aikataulu oli tiukka. Toiminnallisen opinnäytetyön prosessi oli mieleinen, sillä tutkimuksen avulla voitiin kehittää laboratoriotoimintaa. Prosessin aikana opinnäytetyön tekijät tapasivat usein ja päivät venyivät pitkiksi, jotta aikataulussa ja tavoitteissa pysyttiin. Työmäärää ei jaettu, vaan kaikki työ tehtiin tiiviisti yhdessä ja toiselta opittiin paljon.

Tälle opinnäytetyölle voitaisiin ehdottaa jatkotutkimusaiheeksi tutkimusta, jossa pohdittaisiin, tarvitseeko LIAISON® XL –analysointilaitteen viiterajoja muuttaa tulevaisuudessa herkemmän interferonigammatason havaitsemisen vuoksi. Myös IGRA-putkien säilymistä jääkaappilämpötilassa voisi tutkia lisää ja selvittää, kuinka kauan putkia voidaan inkubaation jälkeen säilöä jääkaapissa ennen, kuin se vaikuttaa tuloksiin.

LÄHTEET

Bisognin, F., Lombardi, G., Carla Re, M., Dal Monte, P. 2020. QuantiFERON®-TB Gold Plus with Chemiluminescence Immunoassay: Do We Need a Higher Cutoff? *Journal of Clinical Microbiology*, vol. 58 (10). Viitattu 13.12.2021
<https://journals.asm.org/doi/full/10.1128/JCM.00780-20>

Bonamonte, D., Romita, P., Verni, P., Angelini, G. 2017. *Mycobacteria. Teoksessa Mycobacterial Skin Infections*. Cham: Springer International Publishing.

DiaSorin n.d. LIAISON® XL. Viitattu 24.10.2021
<https://www.diasorin.com/en/immunodiagnostic-solutions/systems/clia-systems/liaisonr-xl>

DiaSorin 2021. LIAISON® QuantiFERON® -TB Gold Plus ([REF] 311010). Laitemanuaali.

DiaSorin 2020. LIAISON® QuantiFERON® -TB Gold Plus. The world's leading IGRA technology, now with unique workflow efficiency.

Falkinham, J. 2002. Nontuberculous Mycobacteria in the Environment. *Clinics in chest medicine* 23.3: 529–551.

Halonen, T. 2003. Immunokemiallisten menetelmien periaatteet. Teoksessa *Kliiniset Laboratoriotutkimukset*. 1. painos. Toim. Penttilä, I. Helsinki: WSOY.

Huslab 2021. B-LyTbIFN. Huslab tutkimusohjekirja. Viitattu 22.10.2021
<https://huslab.fi/ohjekirja/6174.html>

Hägg, M. 2016. Validoinnin suunnittelun opas. Teknologian tutkimuskeskus VTT Oy. Viitattu 14.9.2021
<https://www.vttresearch.com/sites/default/files/pdf/technology/2016/T276.pdf>

Keckich, D. & Buchwald, K. 2013. Tuberculosis. Teoksessa *Essentials of Clinical Infectious Diseases*. Toim. Wright, W. New York: Demos Medical.

Labquality 2020. Validointi ja verifiointi. Viitattu 12.9.2021
https://www.labquality.fi/vieritestisuositus/luotettava_vieritesti/validointi_verifiointi/

- Laitinen, H. 2017. Validointi ja verifiointi tehokkaasti. MOODI 2/2017. Viitattu 22.10.2021
https://digiplus.fi/www/Moodi/2017Moodi_2/pubData/mobile/index.htm#/35/
- Liippo, K. 2010. Tuberkuloosi. Lääketieteellinen aikakauskirja Duodecim, vol. 126 (1), 65–73. Viitattu 14.10.2021 <https://www.duodecimlehti.fi/duo98529>
- Marttila, H. 2019. Altistuneiden LTBI:n tutkimukset ja hoito. Filha. Viitattu 18.10.2021 <https://www.filha.fi/wp-content/uploads/2019/10/Marttila-Altistuneiden-LTBIn-tutkimukset-ja-hoito.pdf>
- Mims, C., Playfair, J., Roitt, I., Wakelin, D., Williams, R. 1993. Medical Microbiology. Mosby.
- Nummenmaa, L., Holopainen, M., Pulkkinen, P. 2014. Tilastollisten menetelmien perusteet. Helsinki: Sanoma Pro Oy.
- Rajalahti, I., Kreivi, H-R., Vasankari, T. 2021. Tuberkuloosi ja ympäristömykobakteerien aiheuttamat sairaudet. Teoksessa Keuhkosairaudet. 2. uudistettu painos. Toim: Kaarteenaho, R., Halme, M., Koskela, H. & Saaresranta, T. Helsinki: Duodecim.
- Saastamoinen, M., Vähä, T., Ypyä, J., Alahuhta, M. & Päätaalo, K. 2018. Toiminnallisen opinnäytetyön oppimiskokemukset. ePooki. Oulun ammattikorkeakoulun tutkimus- ja kehitystyön julkaisut 45. Viitattu 16.9.2021 <http://urn.fi/urn:nbn:fi-fe2018060625407>
- Salonen, K. 2013. Näkökulmia tutkimukselliseen ja toiminnalliseen opinnäytetyöhön - Opas opiskelijoille, opettajille ja TKI-henkilöstölle. Turun ammattikorkeakoulu. Tampere: Juvenes Print Oy.
- Sastry, A. & Bhat, S. 2018. Essentials of Medical Microbiology. Second edition. Delhi: Jaypee Brothers Medical Publishers.
- Soini, H., Järvinen, A., Vasankari, T. 2020. Mykobakteerit. Teoksessa Mikrobiologia: Mikrobiologia, immunologia ja infektiosairaudet 1. 4. uudistettu painos. Toim. Heikkinen, T., Järvinen, A., Meri, S., Vapalahti, O. & Vuopio, J. Helsinki: Duodecim.
- Soini, H. & Vasankari, T. 2014. Monilääkeresistentti tuberkuloosi. Lääketieteellinen aikakauskirja Duodecim, vol. 130 (16), 1599–1605. Viitattu 14.10.2021 <https://www.duodecimlehti.fi/duo11782>

Soini, H., Liippo, K. & Vasankari, T. 2010. Mykobakteerit ja nokardiat. Teoksessa Mikrobiologia: Kirja 1, Mikrobiologia, immunologia ja infektiosairaudet. Toim. Hedman, K., Heikkinen, T., Huovinen, P., Järvinen, A., Meri, S. & Vaara, M. Helsinki: Duodecim.

Terveyden ja hyvinvoinnin laitos 2019a. IGRA-testit. Viitattu 7.9.2021 <https://thl.fi/fi/web/infektiotaudit-ja-rokotukset/taudit-ja-torjunta/taudit-ja-taudinaiheuttajat-a-o/tuberkuloosi/suositus-tuberkuloosin-tartunnanjaljityksesta/igra-testit>

Terveyden ja hyvinvoinnin laitos 2019b. Latentti tuberkuloosi-infektio. Viitattu 12.9.2021 <https://thl.fi/fi/web/infektiotaudit-ja-rokotukset/taudit-ja-torjunta/taudit-ja-taudinaiheuttajat-a-o/tuberkuloosi/latentti-tuberkuloosi-infektio>

Terveyden ja hyvinvoinnin laitos 2019c. Mykobakteeri. Viitattu 9.9.2021 <https://thl.fi/fi/web/infektiotaudit-ja-rokotukset/taudit-ja-torjunta/taudit-ja-taudinaiheuttajat-a-o/mykobakteeri>

Tutkimuseettinen neuvottelukunta (TENK) n.d.a. Eettinen ennakoarviointi. Viitattu 19.11.2021 <https://tenk.fi/fi/eettinen-ennakoarviointi>

Tutkimuseettinen neuvottelukunta (TENK) n.d.b. Hyvä tieteellinen käytäntö (HTK). Viitattu 19.11.2021 <https://tenk.fi/fi/tiedevilppi/hyva-tieteellinen-kaytanta-htk>

Tykslab 2021. B-TbIFNg. Tykslab tutkimusohjekirja. Viitattu 13.9.2021 <https://webohjekirja.mylabservices.fi/TYKS/index.php?test=6173>

T-SPOT.TB 2021. The T-SPOT.TB test technology. Oxford Immunotec. Viitattu 24.10.2021 <https://www.tspot.com/why-the-t-spot-tb-test/technology/>

Uibu, T., Kellomäki, L., Järvenpää, R., Vuento, R. & Lumio, J. 2005. Ei-tuberkuloottinen mykobakteeritauti; vaikea diagnoosi ja hankala hoito. Lääketieteellinen aikakauskirja Duodecim, vol. 121 (11), 1176–1183. Viitattu 12.9.2021 <https://www.duodecimlehti.fi/duo95004>

Vaara, M., Sivonen, A., Renkonen, O-V. 1991. Bakteerioppi. Teoksessa Mikrobiologiaa terveydenhuoltohenkilöstölle. Toinen painos. Toim: Mäkelä, O., Vaara, M., Vaheeri, A. Porvoo: WSOY

Vilkka, H. 2007. Tutki ja mittaa. Määrällisen tutkimuksen perusteet. Helsinki: Tammi.

Vilkkä, H. & Airaksinen, T. 2003. Toiminnallinen opinnäytetyö. Helsinki: Tammi.

Vuento, R. 2020. Tuberkuloosi. Terveyskirjasto. Lääkärikirja Duodecim. Viitattu 7.9.2021 <https://www.terveyskirjasto.fi/dlk00611>

WHO 2020. Tuberculosis. Viitattu 12.9.2021 <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/tuberculosis>

WHO n.d. Tuberculosis. Viitattu 13.9.2021 https://www.who.int/health-topics/tuberculosis#tab=tab_1

Wild, D. & Kusnezow, W. 2005. Separation Systems. Teoksessa The Immunoassay Handbook. 3. painos. Toim. Wild, D. Oxford: Elsevier.

Verifioidun LIAISON® XL -analysaattorin QFT-Plus - menetelmän tulokset

CLIA	TB1-Nil	TB2-Nil	Mit-Nil	
545	1,1022	1,1322	9,962	Positiivinen
560	7,178	7,318	9,868	Positiivinen
577	1,102	0,747	9,842	Positiivinen
598	0,672	0,687	9,76	Positiivinen
653	0,414	0,851	9,957	Positiivinen
678	2,567	2,487	9,937	Positiivinen
726	3,023	2,093	9,953	Positiivinen
730	0,411	1,458	1,748	Positiivinen
758	9,922	9,922	3,442	Positiivinen
794	7,991	7,961	9,891	Positiivinen
813	0,445	0,52	9,956	Raja-arvo
834	9,00	6,73	9,93	Positiivinen
920	0,696	0,846	9,786	Positiivinen
929	2,734	2,634	9,974	Positiivinen
940	9,347	9,347	5,487	Positiivinen
1012	4,76	4,79	9,78	Positiivinen
1041	1,072	1,002	9,812	Positiivinen
1130	0,387	0,428	9,91	Raja-arvo
1148	0,2175	0,9975	9,9275	Positiivinen
1173	0,7294	0,5614	9,9544	Positiivinen
1186	1,543	1,093	7,523	Positiivinen
1189	2,648	3,058	9,818	Positiivinen
1244	4,1808	5,1008	9,9308	Positiivinen
1246	0,568	0,84	9,859	Positiivinen
1308	-0,0023	-0,0024	9,9211	Negatiivinen
1309	0,395	0,435	9,855	Raja-arvo
1310	0,017	0,0406	9,9598	Negatiivinen
1314	0,0119	0,0096	8,4729	Negatiivinen
1317	0,0304	0,0156	9,9406	Negatiivinen
1318	0,0666	0,0446	9,9266	Negatiivinen
1319	0,0138	0,011	9,9758	Negatiivinen
1321	0,1073	0,0746	9,9883	Negatiivinen
1324	-0,093	-0,1978	9,719	Negatiivinen
1325	-0,0082	-0,0057	9,9701	Negatiivinen
1327	0,0086	-0,0016	6,6164	Negatiivinen

1329	0,0566	-0,0006	9,9366	Negatiivinen
1332	-0,0059	-0,0088	0,04	Määrittelemätön
1334	-0,002	-0,0074	1,455	Negatiivinen
1338	0,0203	0,0246	9,9843	Negatiivinen
1339	0,3151	0,2091	9,9731	Negatiivinen
1343	-0,0055	-0,0036	9,5654	Negatiivinen
1347	0,0636	0,0615	1,9161	Negatiivinen
1349	-0,0129	-0,0054	9,9746	Negatiivinen
1357	0,0011	0,0048	4,7907	Negatiivinen
1368	0,0269	0,0421	9,9351	Negatiivinen
1370	0,1152	0,1112	9,9792	Negatiivinen
1373	5,66	6,67	9,73	Positiivinen
1374	0,003	0,014	2,232	Negatiivinen
1375	0,023	0,0324	8,7038	Negatiivinen
1376	0,737	0,584	9,896	Positiivinen
1377	0,0008	0,0128	9,9826	Negatiivinen
1379	1,9661	1,0161	9,9561	Positiivinen
1381	-0,0049	0,0021	9,9664	Negatiivinen
1384	0,0039	0,0025	0,125	Määrittelemätön
1387	0,0102	0,0084	1,5206	Negatiivinen
1388	-0,0002	0,028	1,0427	Negatiivinen
1391	0,0067	-0,0029	9,9517	Negatiivinen
1394	0,0026	-0,0006	0,962	Negatiivinen
1395	-0,0104	-0,0104	9,89	Negatiivinen
1397	0,005	0,0054	1,7427	Negatiivinen
1398	-0,00551	-0,0007	9,988	Negatiivinen
1400	0,151	0,298	9,865	Negatiivinen
1404	0,006	0,0094	4,0067	Negatiivinen
1405	0,0062	0,0062	4,2506	Negatiivinen
1408	-0,0048	-0,006	4,8644	Negatiivinen
1409	-0,0057	-0,02371	9,968	Negatiivinen
1410	-0,442	-0,4517	2,79	Negatiivinen
1415	0,0185	0,0108	1,7226	Negatiivinen
1418	0,0022	-0,0121	9,9287	Negatiivinen
1419	0,0009	-0,0009	9,9707	Negatiivinen
1420	8,88	8,88	8,88	Positiivinen
1421	-0,0034	-0,0045	9,9712	Negatiivinen
1423	0,639	0,673	9,815	Positiivinen
1429	0,0074	0,0091	9,97	Negatiivinen
1430	0,243	0,155	9,874	Negatiivinen
1438	0,708	0,557	9,752	Positiivinen

1447	0,0027	0,0024	9,9756	Negatiivinen
1448	-0,0065	-0,0004	8,9014	Negatiivinen
1449	0,0069	0,0011	9,9603	Negatiivinen
1478	3,5872	2,9572	9,9472	Positiivinen
1499	0,343	0,553	9,133	Positiivinen
1529	0,297	0,24	9,731	Negatiivinen
1530	0,016	0,008	0,261	Määrittelemätön
1531	0,005	0,022	9,971	Negatiivinen
1532	0,0012	0,0026	9,979	Negatiivinen
1533	0,017	0,02	9,961	Negatiivinen
1534	0,0001	0,002	0,015	Määrittelemätön
1535	0,007	0,009	9,978	Negatiivinen
1536	-0,006	-0,005	9,943	Negatiivinen
1537	4,849	4,479	1,049	Positiivinen
1538	0,008	0,016	9,96	Negatiivinen
1539	-0,006	-0,012	9,887	Negatiivinen
1540	-0,08	0,63	3,99	Määrittelemätön
1542	0,01	0,026	9,879	Negatiivinen
1543	0,002	0,008	4,231	Negatiivinen
1544	-0,036	0,014	9,815	Negatiivinen
1545	0,002	0,016	9,874	Negatiivinen
1546	-0,001	0,005	0,642	Negatiivinen
1547	0,003	0,01	9,899	Negatiivinen
1548	-0,03	-0,064	9,504	Negatiivinen