

Opinnäytetyö AMK

Bioanalytikkokoulutus

2018

Aapo Alhokankare ja Sami Luomansuu

# COBAS C311 - ANALYSAATTORIEN VERIFIOINTI

– K, Na, Krea, Gluk ja ALAT -tutkimukset

Aapo Alhokankare ja Sami Luomansuu

## COBAS C311 -ANALYSAATTORIEN VERIFIOINTI

- K, Na, Krea, Gluk ja ALAT -tutkimukset

Roche Cobas c311 on kliinisen kemian analysaattori, jonka menetelmät ja laitteiston on valmistaja validoinut ilmoitettuun käyttötarkoitukseen. Verifiointilla laboratorio todentaa laitteen suorituskyvyn vastaavan valmistajan sille ilmoittamia arvoja.

Tämän opinnäytetyön tavoitteena oli verifioida K, Na, Krea, Gluk sekä ALAT -tutkimusten osalta kolme Roche Cobas c311 kliinisen kemian analysaattoria Turun ammattikorkeakoulun bioanalytiikkokoulutuksen opetus- ja tutkimuskäyttöön. Verifiointissa analysaattoreiden suorituskykyä testattiin tekemällä potilas- ja kontrollinäytteillä toistettavuusajoja. Toistettavuusajoissa testattiin sarjojen sisäistä ja sarjojen välistä toistettavuutta. Analysaattoreiden suorituskykyä testattiin lisäksi potilasnäytevertailulla, jossa tulostasoa vertailtiin Tykslabin analysaattorilinjaston saamiin tuloksiin.

Saatuja tuloksia käsiteltiin tilastollisin menetelmin. Sarjojen sisäiset ja sarjojen väliset toistettavuudet todettiin yhteneväiseksi valmistajan omissa mittauksissa saamiin tuloksiin. Potilasnäytevertailussa korrelaatio referenssiin todettiin hyväksi. Tulostasooero referenssinä toimivaan laitteistoon oli säännönmukaista.

Laitteiston ja menetelmien suorituskyvyn osoitettiin vastaavan valmistajan ilmoittamaa tulostasoa.

### ASIASANAT:

Verifiointi, Cobas c311, toistettavuus, täsmällisyys, tulostasoverailu, kliininen kemia, analysaattori

BACHELOR'S THESIS | ABSTRACT

TURKU UNIVERSITY OF APPLIED SCIENCES

Degree programme in Biomedical laboratory science

2018 | 42

Aapo Alhokankare & Sami Luomansuu

## VERIFICATION OF COBAS C311 ANALYZERS

- K, Na, Creatinine, Gluc & ALT assays

The Roche Cobas c311 is a clinical chemistry analyzer which methods and assays have been validated for intended purpose by the manufacturer. Manufacturers validate diagnostic analyzers before they enter the market. With verification laboratory verifies analyzer performance to correspond manufacturers reported performance characteristics for the analyzer.

The purpose of this thesis was to verify the performance of three Roche Cobas c311 analyzers for Potassium, Sodium, Creatinine, Glucose and Alanine Aminotransferase assays. Analyzers are intended for teaching and research use of Turku University of Applied Sciences. Verification was performed by repeatability runs and performing a comparison study with a reference laboratory. Repeatability was tested with within-run and between-run repeatability runs. Comparison study was performed using 100 specimens.

The obtained results were processed with statistical methods. Within-run and between-run repeatability were found to be consistent with the manufacturer's own measurements. In comparison study, correlation to another laboratory was found to be good.

Performance of the analyzers and their methods were demonstrated to correspond manufacturer's reported performance characteristics.

### KEYWORDS:

Verification, Cobas c311, repeatability, precision, comparison study, clinical chemistry, analyzer

# SISÄLTÖ

<b>1 JOHDANTO</b>	<b>1</b>
<b>2 VALIDOINTI JA VERIFIOINTI</b>	<b>2</b>
2.1 Validointi	2
2.2 Verifiointi	2
<b>3 TULOSTEN LAATUA KUVAAVAT KÄSITTEET</b>	<b>4</b>
3.1 Oikeellisuus ja mittauspoikkeama	5
3.2 Tarkkuus ja mittausepävarmuus	5
3.3 Täsmällisyys, toistettavuus ja uusittavuus	6
<b>4 TUTKIMUKSET JA ANALYYTIT</b>	<b>7</b>
4.1 Kalium	7
4.2 Natrium	8
4.3 Kreatiniini	8
4.4 Glukoosi	10
4.5 Alaniiniaminotransferaasi	11
<b>5 TEKNIikka JA MENETELMÄT</b>	<b>12</b>
5.1 Cobas c311 -analysointilaitteisto	12
5.2 Spektrofotometria	13
5.3 Ioniselektiivinen elektrodi	14
<b>6 OPINNÄYTETYÖN TARKOITUS, TAVOITTEET JA TEHTÄVÄT</b>	<b>15</b>
<b>7 OPINNÄYTETYÖN TOTEUTUS</b>	<b>16</b>
7.1 Käytännön toteutus	16
7.2 Saatujen tulosten tilastollinen käsittely	17
7.2.1 Keskiarvo, keskihajonta ja variaatiokerroin	17
7.2.2 Korrelaatiokerroin, lineaarinen regressio ja hajontakuviot	18
7.3 Metodologiset lähtökohdat	19
7.4 Eettiset lähtökohdat	19
<b>8 TULOKSET JA TULOSTEN TARKASTELU</b>	<b>21</b>
8.1 Toistettavuus	21

8.2 Potilasnäytevertailu	29
--------------------------	----

<b>9 TULOSTEN ARVIOINTI JA POHDINTA</b>	<b>38</b>
-----------------------------------------	-----------

<b>LÄHTEET</b>	<b>41</b>
----------------	-----------

## KUVAT

Kuva 1. Mittaustulosten laatua kuvaavien käsitteiden yhteys toisiinsa (Magnusson ym. 2007, 3; Hägg 2016, 16).	4
Kuva 2. Spektrofotometrin peruskomponentit (McPherson ym. 2011, 41).	14

## TAULUKOT

Taulukko 1: Cobas 1 sarjan sisäinen toistettavuus näytepoolilla (n=10).	21
Taulukko 2: Cobas 2 sarjan sisäinen toistettavuus näytepoolilla (n =10).	22
Taulukko 3: Cobas 3 sarjan sisäinen toistettavuus näytepoolilla (n=10).	22
Taulukko 4: Cobas 1 sarjan sisäinen toistettavuus PreciControl ClinChem Multi 1 -kontrollilla (n=10).	23
Taulukko 5: Cobas 2 sarjan sisäinen toistettavuus PreciControl ClinChem Multi 1 -kontrollilla (n=10).	23
Taulukko 6: Cobas 3 sarjan sisäinen toistettavuus PreciControl ClinChem Multi 1 -kontrollilla (n=10).	23
Taulukko 7: Cobas 1 sarjan sisäisen toistettavuuden tulokset ja tavoite Thermo Fisherin kontrolleille (n=10).	24
Taulukko 8: Cobas 2 sarjan sisäisen toistettavuuden tulokset ja tavoite Thermo Fisherin kontrolleille (n=10).	24
Taulukko 9: Cobas 3 sarjan sisäisen toistettavuuden tulokset ja tavoite Thermo Fisherin kontrolleille (n=10).	25
Taulukko 10: Cobas 1 sarjojen välinen toistettavuus näytepoolilla (n=10).	25
Taulukko 11: Cobas 2 sarjojen välinen toistettavuus näytepoolilla (n=10).	26
Taulukko 12: Cobas 3 sarjojen välinen toistettavuus näytepoolilla (n=10).	26
Taulukko 13: Cobas 1 sarjojen välinen toistettavuus PreciControl ClinChem Multi 1 -kontrollilla (n=10).	26
Taulukko 14: Cobas 2 sarjojen välinen toistettavuus PreciControl ClinChem Multi 1 -kontrollilla (n=10).	27
Taulukko 15: Cobas 3 sarjojen välinen toistettavuus PreciControl ClinChem Multi 1 -kontrollilla (n=10).	27
Taulukko 16: Cobas 1 sarjojen välisten toistettavuuksien tulokset ja tavoite Thermo Fisherin kontrolleille (n=10).	28
Taulukko 17: Cobas 2 sarjojen välisten toistettavuuksien tulokset ja tavoite Thermo Fisherin kontrolleille (n=10).	28
Taulukko 18: Cobas 3 sarjojen välisten toistettavuuksien tulokset ja tavoite Thermo Fisherin kontrolleille (n=10).	29
Taulukko 19: ALATille lasketut tulokset Cobas-analysaattoreille.	30

Taulukko 20: Glukoosille lasketut tulokset Cobas-analysaattoreille.	31
Taulukko 21: Kaliumille lasketut tulokset Cobas-analysaattoreille.	33
Taulukko 22: Kreatiniinin lasketut tulokset Cobas-analysaattoreille.	34
Taulukko 23: Natriumille lasketut tulokset Cobas-analysaattoreille.	36
Taulukko 24: Yksilön sisäinen biologinen vaihtelu tutkimuksittain ja maksimi vaihtelu toistettavuudelle.	38

## KUVIOT

Kuvio 1: ALATin hajonta ja lineaarinen regressio.....	30
Kuvio 2: ALATin prosentuaalinen ero referenssiin.....	31
Kuvio 3: Glukoosin hajonta ja lineaarinen regressio.....	32
Kuvio 4: Glukoosin prosentuaalinen ero referenssiin.....	32
Kuvio 5: Kaliumin hajonta ja lineaarinen regressio.....	33
Kuvio 6: Kaliumin prosentuaalinen ero referenssiin.....	34
Kuvio 7: Kreatiniinin hajonta ja lineaarinen regressio.....	35
Kuvio 8: Kreatiniinin prosentuaalinen ero referenssiin.....	35
Kuvio 9: Natriumin hajonta ja lineaarinen regressio.....	36
Kuvio 10: Natriumin prosentuaalinen ero referenssiin.....	37

# 1 JOHDANTO

Laboratorioiden laadun parantumiseen vuosien mittaan ovat vaikuttaneet analyttisten menetelmien teknologinen kehitys sekä lisääntynyt automaatio, myös laboratorioiden akkreditoinnilla on tärkeä rooli laboratorioiden laadun paranemisessa. Vaikka akkreditointi perustuu vapaaehtoisuuteen, on lähes kaikilla laboratorioilla akkreditointi. Akkreditoidut laboratoriot noudattavat toiminnassaan sairaalalaboratorioille suunnattua standardia EN ISO 15189. (Laitinen 2018, 8–9.) Standardin SFS-EN ISO 15189 mukaan käyttöönotettaessa valmistajan jo validoimaa tutkimusmenetelmää on laboratorion verifioitava se ennen käyttöönottamista. Verifiointilla varmistetaan käyttöönotettavan menetelmän vastaavaan sille ilmoitettua suorituskykyä. (SFS 2013, 35.)

Turun ammattikorkeakoulun bioanalytikkokoulutus muutti syksyllä 2018 uusiin tiloihin Turun Kupittaaalle Medisiina D -rakennukseen. Koulutuksen käyttöön tuli kolme Roche Cobas c311 kliinisen kemian analysaattoria. Tämän opinnäytetyön tarkoituksena on verifioida uudet Cobas c311 analysaattorit K, Na, Krea, Gluk sekä ALAT -tutkimusten osalta.

Tutkimustehtävinä tässä opinnäytetyössä on tutkia analysaattoreiden sarjojen sisäistä ja sarjojen välistä toistettavuutta, sekä tutkia analysaattoreiden tulostasoa potilasnäytevertailulla. Verifiointissa analysaattoreiden sisäistä toistettavuutta ja sarjojen välistä toistettavuutta testataan ajamalla useita määrityksiä samoista analyyteistä. Potilasnäytevertailu suoritetaan vertaamalla analysaattoreiden tulostasoa Tykslabin analysaattorilinjan ton tulostasoon. Saatu aineisto käsitellään tilastollisilla menetelmillä.

Tämän opinnäytetyön tavoitteena on varmistaa verifioitavien tutkimusten osalta analyysien laadukkuus bioanalytikkokoulutuksen palvelutoiminnassa, sekä opetus- ja tutkimuskäytössä.

## 2 VALIDOINTI JA VERIFIOINTI

Validointi ja verifiointi käsitteiden käytössä on usein epäselvyyttä ja niitä käytetään ristiin. Verifiointi on validointia suppeampaa, verifiointi suoritetaan esimerkiksi käyttöönotettaessa laitevalmistajan validoimaa menetelmää tai jos jo validoidun menetelmän käyttöaluetta laajennetaan toiselle näytematriisille. (Hägg 2016, 7–8.)

### 2.1 Validointi

Joint Committee for Guides in Metrology (JCGM 2012, 31) määrittelee validoinnin ” jossa määritetyt vaatimukset ovat riittävät käyttötarkoitukseen”. Validointi on menettely, jolla osoitetaan analyttisen menetelmän sopivuus aiottuun käyttötarkoitukseen (Nuotio ym. 2005).

Kliinisessä kemiassa validointia käytetään osoittamaan, että menetelmällä mitattavan analyytin pitoisuus biologisessa näytemateriaalissa on tarkka ja sopiva käyttötarkoitukseen. Tärkeimpiä konsepteja validoinnissa ovat erilaiset laatua kuvaavat käsitteet kuten mittausvirheet, mittausepävarmuus ja niiden osat. (Theodorsson 2012.)

Validoinnissa asetettavat vaatimukset riippuvat menetelmän ja käyttötarkoituksen mukaan. Validoinnilla tulee varmentaa, että mittauksien tulokset täyttävät lain ja eri säädöksiin vaatimukset. Validoinnin laajuus riippuu analyysimenetelmästä ja käyttötarkoituksesta. Laboratorion itsensä kehittämä menetelmä on validoitava täydellisesti. (Hägg 2016, 7.)

### 2.2 Verifiointi

JCGM:n (2012, 31) mukaan verifiointi on ”objektiivista näyttöä siitä, että tietty kohde täyttää tietyt vaatimukset”. Suomeksi voidaan käyttää myös sanaa varmentaminen (Hiltunen ym. 2011, 116).

Laboratorio voi ottaa käyttöön validoidun menetelmän esimerkiksi standardimenetelmän tai kaupallisen laitteen. Tällöin validointityö on jo tehty. Loppukäyttäjälle riittää näyttää, että menetelmä toimii myös laboratoriossa, jossa menetelmää käytetään. (Magnusson & Örnemark 2014, 11.)



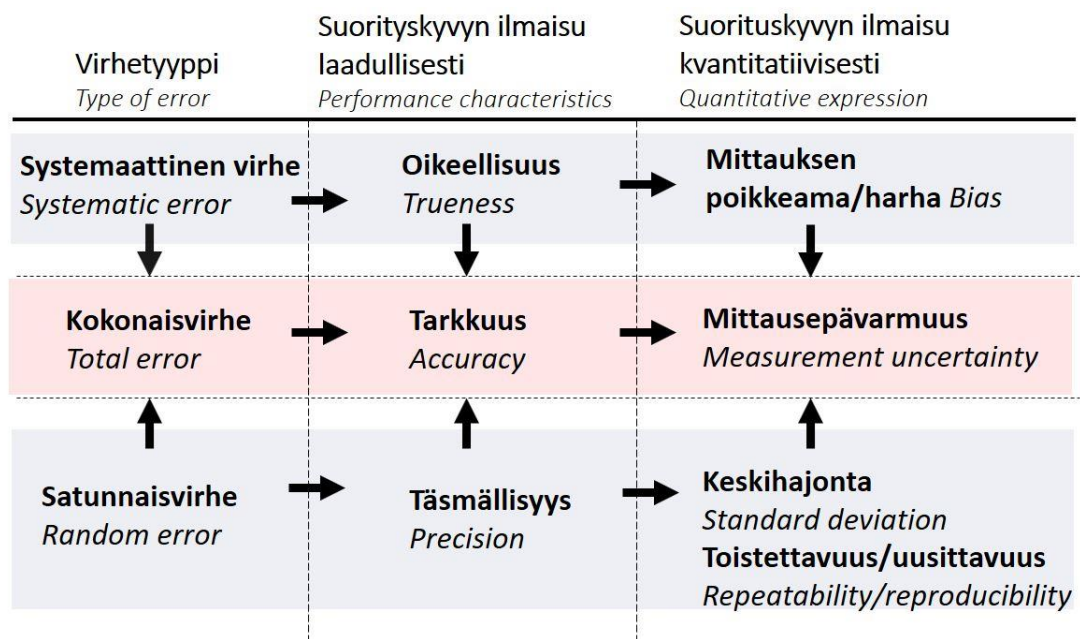
Paikallisia käytänteitä verifiointiin on yleisesti vakiintuneet ajan myötä, joihin usein vaikuttavat akkreditointien ja sertifiointien myöntäjät (Theodorsson 2012). Menetelmien arviointiin vaikuttavat myös eri suositukset kuten CLSI-instituutin ja ISO-standardoimisjärjestön julkaisemat suositukset (Burtis ym. 2015, 7).

Suomessa klinisiä laboratorioita akkreditoi FINAS. FINASin akkreditointivaatimuksena on klinisille laboratorioille suunnattu standardi SFS-EN ISO 15189:2013, sekä testauslaboratorioiden yleinen standardi SFS-EN ISO/IEC 17025:2005. (FINAS 2016.)

### 3 TULOSTEN LAATUA KUVAAVAT KÄSITTEET

Mittaustulosten laatua kuvaavien käsitteiden merkitykset ovat epäselvyyksien välttämiseksi selvennetty organisaatioiden, kuten ISO/IEC ja IUPAC toimesta (UNODC 2009, 2). Kuva 1 selventää millä termeillä mittaustulokseen vaikuttavien eri virhetyyppien vaikutusta suorituskykyyn kuvataan laadullisesti ja kvantitatiivisesti (Magnusson ym. 2007, 2–3).

Virhetyypit voidaan jaotella satunnaisvirheeseen ja systemaattiseen virheeseen, joista muodostuu kokonaisvirhe. Systemaattinen virhe tarkoittaa vakiona pysyvää tai ennustettavalla tavalla vaihtelevaa mittausvirheen osaa. Systemaattinen virhe voi olla riippuvainen olosuhteista säännönmukaisella tavalla. Satunnaisvirhe on ennustamattomalla tavalla vaihteleva mittausvirheen osa. (JCGM 2012, 20–23; Hägg 2016, 34–35.)



Kuva 1. Mittaustulosten laatua kuvaavien käsitteiden yhteys toisiinsa (Magnusson ym. 2007, 3; Hägg 2016, 16).

### 3.1 Oikeellisuus ja mittauspoikkeama

Oikeellisuus eli todenmukaisuus (trueness) on hyvin monen toiston tuloksena saatujen tulosten keskiarvon ja vertailuarvon yhtäpitävyys (JCGM 2012, 21; Hägg 2016, 27). Vertailuarvolla tarkoitetaan tuloksen 'oikeaa arvoa' eli esimerkiksi tarkoin tunnetulla referenssimenetelmällä referenssilaboratorion saamaa tulosta. Tuloksen oikea arvo on ideaalinen käsite ja oikeaa arvoa ei voida tarkasti tietää, tämän vuoksi voidaan käyttää esimerkiksi termiä hyväksytty vertailuarvo (accepted reference value). (UNODC 2009, 36.) Oikeellisuus on kvalitatiivinen käsite, jota voidaan ilmaista sanallisesti esimerkiksi termeillä matala tai korkea (Burtis ym. 2012, 13). Oikeellisuutta voidaan kvantitatiivisesti ilmaista suhteellisen poikkeaman eli bias avulla. Mittauksen oikeellisuus on käänteisessä suhteessa systemaattiseen mittausvirheeseen. (Hägg 2016, 27.)

Mittauksen poikkeama eli mittauksen harha (bias) ilmoittaa määrällisesti systemaattisen mittausvirheen (JCGM 2012, 23; Hägg 2016, 22). Menetelmän kokonaispoikkeama muodostuu laboratorion omista systemaattisista virheistä sekä menetelmään liittyvistä laboratorion riippumattomista systemaattisista virheistä. Kokonaispoikkeama menetelmälle on tuloksen ja laskennallisen teoreettisen arvon tai tuloksen ja standardimenetelmälle sovitun arvon välinen ero. Poikkeama voidaan ilmoittaa absoluuttisena arvona tai suhteellisesti prosentteina. (Hägg 2016, 22–23.)

### 3.2 Tarkkuus ja mittausepävarmuus

Tarkkuus eli mittaustarkkuus (accuracy) tarkoittaa suureen mitatun arvon ja mittaussuureen todellisen arvon yhtäpitävyyttä (JCGM 2012, 21). Tarkkuus on kvalitatiivinen käsite, joka voidaan määrittää kvantitatiivisesti mittauksen poikkeaman ja toistettavuuden summana. Tarkkuus termiä ei pitäisi käyttää mittauksen oikeellisuudesta eikä termiä mittauksen täsmällisyys tulisi käyttää mittaustarkkuudesta, joka kuitenkin liittyy näihin molempiin käsitteisiin. (Hägg 2016, 31.)

Mittausepävarmuus (measurement uncertainty) kuvaa käytössä olevien tietojen perusteella mittaussuureelle saatujen arvojen oletettua vaihtelua (JCGM 2012, 25; Hägg 2016, 23). Mittausepävarmuus on määritelty virherajojen avulla ja se kuvaa mittaustulosten

vaihteluväliä. Vaihteluväliä voidaan soveltaa kaikkiin saman mittausmenetelmän tuloksiin. Mittausepävarmuus ottaa huomioon systemaattisen ja satunnaisen virheen, jota havainnollistettu kuvassa 1. (Hägg 2016, 23–25.)

### 3.3 Täsmällisyys, toistettavuus ja uusittavuus

Täsmällisyys (precision) on mitattujen arvojen vastaavuus, jotka on saatu samalla tai samankaltaiselle kohteelle tietyissä olosuhteissa tehdyillä toistuvilla mittauksilla. Menetelmän täsmällisyys määritetään tekemällä erilaisia toistokokeita. (Hägg 2016, 32.) Täsmällisyys ilmoitetaan kvantitatiivisesti epätäsmällisyytenä (imprecision) käyttäen keskihajontaa tai variaatiokerrointa (Burtis ym. 2012, 14).

Toistettavuus (repeatability) kertoo analysoijan kyvystä tuottaa sama tulos peräkkäisissä mittauksissa (Dasgupta ym. 2014, 48). Toistettavuus on saatujen tulosten välinen yhtäpitävyys, kun määritykset tehdään samoissa olosuhteissa, samasta näytteestä, samalla menetelmällä, saman tekijän toimesta, samalla laitteella samassa laboratoriossa, lyhyen aikavälin sisällä. Toistettavuus määritetään tekemällä useita rinnakkaismäärittäyksiä erityyppisistä näytteistä eri pitoisuusalueilla. (Hiltunen ym. 2011, 19; Hägg 2016, 31–32.)

Uusittavuus (reproducibility) on tulosten välinen yhtäpitävyys, kun määritykset tehdään samalla menetelmällä muuttaen yhtä tai useampaa seuraavista: mittauslaite, suorituspaikka, suorittaja tai muu oleellinen tekijä tai tehden mittaukset pitkin aikaväleihin (Hägg 2016, 32). Kahta uusittavuuden sovellusta käytetään useimmin: kokonaistoistettavuutta, sekä sarjojen välistä toistettavuutta (intermediate precision) (Burtis ym. 2012, 14). Laboratorion käyttämän menetelmän sisäistä uusittavuutta voidaan tutkia tekemällä samasta näytteestä useita määrittäyksiä pitkän ajan kuluessa (Hiltunen ym. 2011, 20). Kokonaistoistettavuuden määrittämistä varten on määritettävä sarjan sisäinen toistettavuus (within-run) ja sarjojen välinen toistettavuus (between-run) (Burtis ym. 2012, 14).

## 4 TUTKIMUKSET JA ANALYYTIT

Analyytilä tarkoitetaan ainetta, joka on analyysin kohteena (Burtis ym. 2015, 6). Laboratoriotutkimus käsittää analyysin lisäksi yleensä muun muassa näytteen ottamisen, esikäsittelyn ja tulosten vastaamisen (Halonen ym. 2004, 20). Tutkimusnimike ja analyytti ovat kuitenkin tässä opinnäytetyössä samoja, joten termejä analyytti ja tutkimus käytetään toisiaan vastaavina.

### 4.1 Kalium

Kalium on tärkeä veren suola (Eskelinen 2016). Kalium esiintyy elimistössä pääsääntöisesti vapaana ionina ja on merkittävä solunsisäinen kationi (Burtis ym. 2015, 414). Kudoksien soluissa kaliumin tyypillinen konsentraatio on 150 mmol/l ja punasoluissa 105 mmol/l (Burtis ym. 2015, 414). Monet solujen toiminnot vaativat matalan solun ulkopuolisen nesteen kaliumpitoisuuden, ja vain 2% elimistön kaliumista on vapaana plasmassa (Bishop ym. 2018, 886).

Ruuasta saatu kaliumin määrä ei vaikuta veren kaliumpitoisuuteen (Eskelinen 2016). Ruuasta saatu kalium imeytyy nopeasti solujen sisälle, ja poistuu munuaisten toimesta vähitellen (Bishop ym. 2018, 892). Keskimääräisestä ruokavaliosta saadaan tarvittava määrä kaliumia, joka on noin 2.4 - 4.4 g/dl (Burtis ym. 2015, 414). Kaliumin puute ei johdu koskaan ruokaperäisistä syistä, vaan puutteet johtuvat munuaisten säätelyjärjestelmän häiriöstä (Eskelinen 2016).

Verinäytteissä pitäisi välttää hemolyysiä, koska jo puolen prosentin punasolujen hemolyysi kokoveressä aiheuttaa kaliumin konsentraation 0.5 mmol/l nousun seerumissa tai plasmassa. Toisaalta liian alhaisessa lämpötilassa säilyttäminen ennen erottelua aiheuttaa kaliumin konsentraation laskun. (Burtis ym. 2015, 414.)

Tyypillisesti kaliumia mitataan plasmasta tai seerumista, mutta jotkin Point of Care -laitteet on suunniteltu kokoverestä mittaamiseen. Mittaustekniikkana yleisin on ioniselektiiviset elektrodit. Myös spektrofotometrisiä tekniikoita, kuten entsyymiaktivaatioon perustuvia menetelmiä käytetään. (Burtis ym. 2015, 414.)

Tykslabin käyttämät kaliumin viitearvot ovat aikuisille 3,3 – 4,8 mmol/l. (Tykslab 2018a)

## 4.2 Natrium

Kaliumin tavoin natrium on elimistön tärkeä suola. Natrium on solun ulkopuolisen nesteiden yleisin kationi. Plasman epäorgaanisista kationeista 90% on natriumia, jonka seurauksena natrium vastaa puolesta plasman osmolaliteetista. (Burtis ym. 2015, 414; Bishop ym. 2018, 873.)

Natriumin pitoisuus solujen ulkopuolisessa nesteessä on paljon suurempi kuin soluissa. Natrium kykenee diffundoitumaan solukalvon läpi, jolloin solujen tarvitsee aktiivisesti siirtää natriumia ulos soluista. Solut ylläpitävät pitoisuuseroa mm. natrium-kaliumpumpun avulla. (Bruns ym. 2018, 873.)

Elimistö vaatii 1-2 mmol natriumia päivässä, mikä saadaan tyypillisellä ruokavaliolla. Ylimääräinen natrium poistuu munuaisten kautta (Burtis ym. 2015, 414). Natriumin pitoisuus määräytyy suurimmaksi osaksi veden sisäänotosta ja erityksestä. Munuaisten säätelyllä on vähemmän merkitystä natriumin pitoisuudessa (Bruns ym. 2018, 873).

Natriumia voidaan mitata kaliumin tavoin ioniselektiivisillä elektrodeilla, spektrofotometrialla tai atomiabsorptiospektrometrialla. Ioniselektiiviset elektrodit ovat nykyään yleisin tapa mitata natriumia. (Burtis ym. 2015, 414.)

Tyypillisiä näytemateriaaleja natriumin mittaamiselle ovat seerumi, plasma ja virtsa. Punasolut sisältävät vain 10% plasman natriumpitoisuudesta, joten hemolyysi ei vaikuta suuresti plasman tai seerumin natrium arvoon. (Burtis ym. 2015, 414.) Näkyvä hemolyysi saattaa alentaa natrium arvoa laimentamalla näytettä (Bruns ym. 2018, 883).

Tykslabin käyttämän natriumin viitearvot 137 - 144 mmol/l (Tykslab 2018b).

## 4.3 Kreatiniini

Kreatiniini on kreatiinin aineenvaihduntatuote. Kreatiinia muodostuu maksassa, munuaisissa sekä haimassa. Kreatiini kulkeutuu veren mukana lihaksiin ja aivoihin, jossa kreatiinifosfaatti toimii energian siirtäjänä. Lihaksissa oleva vapaa kreatiini (n.1–2%) metaboloituu kreatiniiniksi, kreatiinin määrä on riippuvainen lihasmassan määrästä. Lihaksista vapautuu päivittäin suhteellisen vakiomäärä kreatiniinia, joka poistuu elimistöstä munuaisten kautta virtsaan. (Burtis ym. 2012, 679–680.)

Kreatiniinipitoisuuden määrittäminen on keskeinen tutkimus munuaissairauksien seulonnassa sekä munuaispotilaan tilan seurannassa. Kreatiniinipitoisuuden avulla voidaan arvioida laskennallinen glomerulusten suodatusnopeus (glomerulusfiltraatio: GFR), jonka laskemiseen käytetään nykyisin CKD-EPI-kaavaa. (Saha 2016.) Glomerulusten suodatusnopeus kertoo munuaisten toimintakyvystä ja terveellä aikuisella se on noin 140ml/min. Suodatusnopeus vaihtelee ihmisen painon mukaan, joten tuloksen laskemisessa otetaan huomioon kehon pinta-ala. (Cowan ym. 2013, 28.)

Kreatiniinin määrittäminen tehdään yleensä fotometrisesti entsyymattisten tai pelkkien kemiallisten reaktioiden perusteella. Kemiallisista menetelmistä yleisimmin on käytössä Jaffen reaktio. Menetelmässä emäksisessä liuoksessa kreatiniini ja pikraatti muodostavat värillisen kompleksin, jonka intensiteettiä mitataan fotometrisesti. Jaffen reaktio ei ole täysin spesifi kreatiniinille, esimerkiksi korkea glukoosi tai ketoaineet voivat vaikuttaa tulokseen. (Dasgupta ym. 2014, 207; Burtis ym. 2012, 680.) Jaffen reaktion spesifisyyttä kreatiniinille voidaan parantaa kineettisellä mittaamisella (Burtis ym. 2012, 680).

Entsyymattiset kreatiniinin mittaamismenetelmät käyttävät yleisimmin entsyymeinä kreatininaasia ja kreatiniini-aminohydrolaasia. Kreatiniinin referenssimäärittäminen perustuu massaspektrometriaan. (Dasgupta ym. 2014, 207–208.)

Cobas c311 verifiointissa käytetty kreatiniinin pitoisuusmäärittäminen edustaa valmistajan toista sukupolvea. Tämä entsyymattinen menetelmä perustuu kreatiniinin muuntamiseen glysiiniksi, formaldehydiksi ja vetyperoksidiksi. Vetyperoksidi reagoi peroksidaasin avulla 4-aminofenatsolin ja HTIB:n kanssa muodostaen värillisen kinoni-imiinikromogeenin. Kinoni-imiinikromogeenin määrää mitataan fotometrisesti ja sen värin intensiteetti on suoraan verrannollinen kreatiniinipitoisuuteen. (Roche 2016, 1–2.)

Kreatiniinin tutkimusnimike Tykslabilla on P-Krea, yksikkö:  $\mu\text{mol/l}$ . Viiterajat naisilla: 50-90 $\mu\text{mol/l}$  ja miehillä: 60-100 $\mu\text{mol/l}$ , lapsilla arvot ovat pienemmät. Tutkimuksen indikaationa on munuaisinsuffiensienssin toteaminen ja seuranta. (Tykslab 2016a.)

Kreatiniinin määrittäminen tehdään veren plasman lisäksi myös virtsasta. Pt-Krea-CI on kreatiniinin poistumasta kertova keräysvirtsatutkimus, jossa määritetään kreatiniini sekä veren plasmasta että vuorokauden ajan kerätystä virtsasta. Virtsaan erittyvän kreatiniinimäärän ja plasman kreatiniinimäärästä lasketaan suhde, josta lasketaan kreatiniinin poistuma. (Tykslab 2016b.)

#### 4.4 Glukoosi

Glukoosi (C<sub>6</sub>H<sub>12</sub>O<sub>6</sub>) on ihmiselle elintärkeä energianlähde. Elimistön tarvitsema glukoosi on peräisin ravinnosta saatavista hiilihydraateista, maksaan ja lihaksiin varastoidusta glykogeenista sekä glukoneogeneesin avulla tuotetusta glukoosista. Hiilihydraatit jaetaan kolmeen pääluokkaan: mono-, di- ja polysakkarideihin, glukoosi on luokittelussa rakenteeltaan yksinkertainen monosakkaridi. Glukoosin hajotuksessa eli glykolyysissä glukoosista vapautuva energia saadaan adenosiinitrifosfaatin eli ATP:n muotoon. (Burtis ym. 2012, 709–711.)

Glukoosin määrittäminen on yksi yleisimmistä laboratoriotutkimuksista. Yleisin häiriö hiilihydraattien aineenvaihdunnassa on diabeteksesta johtuva korkea verensokeri. Alhainen verensokeri eli hypoglykemia voi johtua puolestaan esimerkiksi insuliinin yliannostuksesta. Niin sanottua piilevää diabetesta tutkitaan glukoosikokeella, jolloin potilas nauttii glukosia ja veren sokeritasoa seurataan ottamalla useampi verinäyte. Glukoosia voidaan mitata myös virtsasta, jolloin tutkimuksen käyttöindikaationa on munuaisperäisen glukosivuodon toteaminen. (Halonen ym. 2004, 123–125.)

Glukoosin määrittäminen voidaan tehdä veren seerumista, plasmasta tai kokoverestä. Paastonäytteessä kokoveressä glukoosipitoisuus on 10–12% alhaisempi mitä veren plasmassa tai seerumissa. Glykolyysi laskee tunnissa 5–10mg/dl sentrifugoimattoman näytteen glukoosipitoisuutta, käyttämällä fluoridioksalaattiputkea voidaan glykolyysi estää. (Dasgupta ym. 2014, 119.)

Yleisimmät glukoosin määrittämenetelmät ovat entsyymaattisia, joko heksokinaasiin tai glukoosioksidaasiin perustuvia menetelmiä, joiden lopputuotteita mitataan fotometrisesti. Heksokinaasi-menetelmää pidetään glukoosin määrittäksen referenssimenetelmänä. (Dasgupta ym. 2014, 119–120.) Glukoosia voidaan määrittää myös ioniselektiivisen elektrodin avulla, joka mittaa glukoosi-oksidaasissa kuluvan hapen määrää (Burtis ym. 2012, 721).

Cobas c311 verifiointissa käytetty heksokinaasiin perustuva glukoosin määrittämenetelmä edustaa valmistajan toista sukupolvea. Menetelmässä heksokinaasi katalysoi glukoosin muuttumista glykolyysissä glukoosi-6-fosfaatiksi (Roche 2017a, 1–2).

Tykslabin tutkimusnimikkeenä plasmasta tehtävällä glukoosin paastomäärityksellä: fP-Gluk, yksikkö mmol/l ja viiteraja 4-6mmol/l (Tykslab 2016c).



#### 4.5 Alaniiniaminotransferaasi

Aminotransferaasit muodostavat entsyymiryhmiä, jotka katalysoivat aminohappoihin liittyviä reaktioita, alaniiniaminotransferaasi (ALAT) katalysoi aminoryhmän siirtoa L-alaniinista alfaketoglutaarihappoon. ALAT:a esiintyy pääosin maksassa, mutta pienempiä määriä myös muissa kudoksissa, kuten sydämessä ja keuhkoissa. (Burtis ym. 2012, 573.) Maksasolujen hajotessa ALAT:a ja ASAT:a eli aspartaattiaminotransferaasia pääsee verenkiertoon. ALAT on ASAT:a spesifimpi maksasoluvaurion osoittaja ja sen puoliintumisaika on noin puolet ASAT:n puoliintumisajasta. (Dasgupta ym. 2014, 179–180.)

ALAT -tutkimusta käytetään maksasairauksien diagnostiikassa. ALAT voi kohota satakertaiseksi viitealueesta, mutta tyypillisesti kohoaa noin kymmenen tai neljäkymmenkertaiseksi. ALAT-arvo nousee ennen kliinisten maksasairauden oireiden esiintymistä. Aktiivisuus on korkeimmillaan 7 - 12 päivän kuluttua. Mikäli taudista toipuminen etenee hyvin, laskee ALAT normaalille tasolle noin 3–5 viikossa taudin alkamisesta. (Burtis ym. 2012, 574.)

Entsyymien aktiivisuusmittauksissa käytetään pääosin kineettistä fotometristä mittaamista. IFCC (International Federation of Clinical Chemistry) on vakioinut alaniiniaminotransferaasin määrittämenetelmän. ALAT-määrittäyksessä mitataan kineettisesti laskevaa reaktiota, kun NADH hapettuu NAD:ksi. Reaktionopeuteen vaikuttaa pyridoksaali-fosfaatin määrä, joka on vakioitu menetelmään. (Halonen ym. 2004, 82.)

Cobas c311 verifiointissa käytetty menetelmä on IFCC:n vakioinnin mukainen, jota valmistaja on optimoinut tarpeidensa mukaiseksi (Roche 2017b, 1). Näytteen säilytysolosuhteiksi Roche ilmoittaa: 3 päivää 15-25 °C, 7 päivää 2-8 °C, > 7 päivää [-60] – [-80] °C (Roche 2017b, 2).

Tykslabilla tutkimusnimikkeenä: P-ALAT, yksikkö: U/l, viiterajat: naiset: <35U/l, miehet: <55U/l, lapsilla omat viiterajansa (Tykslab 2016d).

## 5 TEKNIikka JA MENETELMÄT

Analysoitavien testien määrä on lisääntynyt ja näytteiden määrä on moninkertaistunut laboratorioissa, samalla lisääntynyt automaatio ja analyttisten menetelmien teknologinen kehitys ovat vähentäneet laboratoriovirheitä ja parantaneet tuottavuutta. Menetelmäkehityksessä ovat mukana menetelmä- ja laitevalmistajat, sekä alan kansainvälinen tieteellinen kattojärjestö IFCC (International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine). Useille menetelmille on IFCC:n tieteellisen työn ansiosta kehitetty referenssimenetelmät ja -vakiot. (Laitinen 2018, 8–9.)

Kliiniset laboratoriot käyttävät näytteiden analysointiin automatisoituja analysaattoreita niiden nopeuden, helppokäyttöisyyden sekä automatisaation vuoksi. Automatisaatio nopeuttaa laboratoriovastausten saantia sekä vähentää ihmisen tekemän virheiden määrää. (Dasgupta ym. 2014, 14–15.)

### 5.1 Cobas c311 -analysaattori

Cobas c311 on Roche Diagnostics:n valmistama kliinisen kemian analysaattori, joka toimii random access -periaatteella (Roche 2018). Random access -periaate tarkoittaa, että analysaattori voi tehdä useista näytteistä samanaikaisesti monia eri määrittämiä (Dasgupta ym. 2014, 15). Cobas c311 -analysaattoriin on saatavilla syksyllä 2018 yli 130 testiä ja menetelmää. Analysaattorissa on paikka kolmelle ioniselektiiviselle elektrodille; kaliumin, natriumin ja kloridin määrittämiseen (Roche 2018).

Cobas c311 osaa tunnistaa näytteen määrän ja siinä olevat mahdolliset hyytymät, sekä määrittää näytteestä HIL-indeksin eli mahdollisen hemolysin, ikterian tai lipemian määrän. Kontaminaation minimoiseksi reagenssien ja analyttin sekoittamisessa hyödynnetään ultraääntä. Laitteen maksimikapasiteetti fotometriaan perustuvien testien osalta on 300 testiä tunnissa. ISE-yksikön maksimikapasiteetti on puolestaan 450 testiä tunnissa. (Roche 2018.)

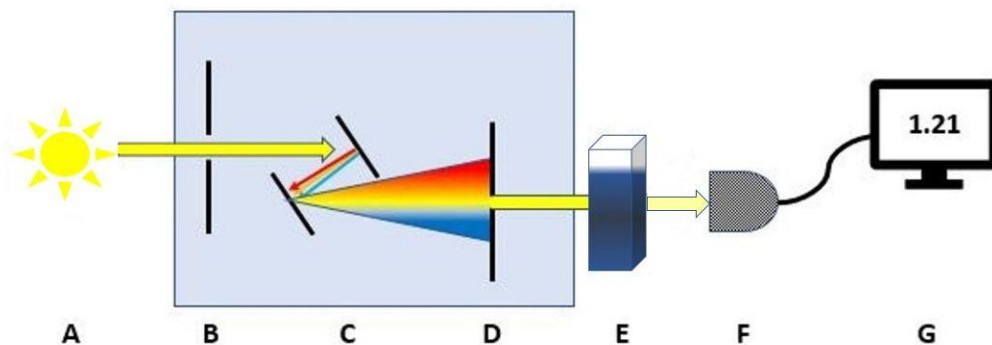
## 5.2 Spektrofotometria

Fotometrialla tarkoitetaan valon mittaamista, laitetta joka mittaa absorboitunutta tai transmittoitunutta valoa sanotaan fotometriksi. Valo on aaltomaisesti etenevä sähkömagneettisen energian muoto, monet laboratorioiden käytössä olevista menetelmistä perustuvatkin valon säteilyenergian mittaamiseen. Fotometriaan perustuvia menetelmiä on useita: emittoituneen, transmittoituneen, absorboituneen, siroutuneen, fluorosoituneen tai heijastuneen valon määrää voidaan mitata. Spektrofotometrillä mitataan valon intensiteettiä säädettävän monokromaattorin avulla yleensä UV-alueelta infrapuna-alueelle saakka (190 - 1000nm). (Halonen ym. 2004, 66–67.)

Spektrofotometriset tutkimusmenetelmät perustuvat Beer'n lain hyödyntämiseen. Kun näytekyvetin läpi johdetaan tietyn aallonpituista valoa, osa valosta absorboituu näytteeseen ja loppuosa valosta transmittoituu detektorille. Transmittoitunutta valoa kuvataan yhtälöllä  $T = I_s/I_o$ , jossa  $I_o$  on näytteeseen osuvan valon voimakkuus ja  $I_s$  näytteen läpäisseen valon voimakkuus. Absorboituneen valon määrä on kääntäen verrannollinen läpäisseen valon logaritmiin eli  $A = -\log T$ ,  $A$  = absorbanssi ja  $T$  = transmittoitunut valo. (Dasgupta ym. 2014, 2–3; Halonen ym. 2004, 66–67.)

Absorbanssin avulla voidaan laskea yhdisteen pitoisuus vertaamalla sitä tunnetun vakion absorbanssiin. Määritettävän yhdisteen pitoisuus  $C_u$  voidaan laskea kaavalla  $C_u = A_u/A_c * C_c$ , jossa  $A_u$  on määritettävän yhdisteen absorbanssi,  $A_c$  = vakion absorbanssi ja  $C_c$  = vakion pitoisuus. (Halonen ym. 2004, 67.)

Kuvassa 2 esitetty spektrofotometrin peruskomponentit: A: valonlähde, B: valon sisään-tulorako, C: monokromaattori, D: valon ulosmenorako, E: näytekyvetti, F: detektori, G: lukulaite. Valonlähteen eli lampun valintaan vaikuttaa mitä aallonpituuksia halutaan käyttää, käytössä on ainakin xenon-, deuterium- ja halogeenilamppuja. Monokromaattorilla erotetaan haluttu aallonpituus valosta. Detektori muuttaa valon sähköiseksi signaaliksi, valomonistinputki on esimerkki yleisesti käytössä olevasta detektorista. (McPherson ym. 2011, 40–44.)



Kuva 2. Spektrofotometrin peruskomponentit (McPherson ym. 2011, 41).

### 5.3 Ioniselektiivinen elektrodi

Ioniselektiivinen elektrodi (ISE) käyttää puoliläpäisevää kalvoa tuottamaan jännitepotentiaalia, kun kalvon kummallakin puolella on eri konsentraation ioneja. ISE-järjestelmissä käytetään kahden tyypistä eri elektrodiä. Toinen elektrodi on referenssielektrodi, jolla on vakio potentiaali. Toisena tyypinä on mittauselektrodit, joiden potentiaalierotuksesta referenssielektrodiin voidaan liuksesta määrittää ionin aktiivisuus, jonka perusteella voidaan määrittää konsentraatio. (Bishop ym. 2018, 884.)

ISE mittausmenetelmiä on kahden tyypistä: suora ja epäsuora. Menetelmien erona on, että suorassa menetelmässä näytettä ei laimenneta ja epäsuorassa näyte laimennetaan. Tyypillisesti menetelmien mittaustuloksissa ei ole eroja, mutta hyvin lipeemisissä tai proteiinipitoisissa näytteissä laimentaminen laskee mitattua ionien aktiivisuutta. (Bishop ym. 2018, 884.)

## 6 OPINNÄYTETYÖN TARKOITUS, TAVOITTEET JA TEHTÄVÄT

Tämän opinnäytetyön tavoitteena on, että analysaattoreita voidaan käyttää verifiointin jälkeen Turun ammattikorkeakoulun opetus- ja tutkimustyössä. Opinnäytetyöstä seuraava hyvä on analysaattoreiden saaminen opetus- ja tutkimuskäyttöön. Analysaattorit edesauttavat opetuslaboratorion analyysitason pitämistä korkealla, sillä ne tulevat osaksi bioanalytikkokoulutuksen palvelutoimintaa, johon kuuluu oleellisena osana näytteiden analysointi.

Uudet laajasti laboratorioden käyttämät analysaattorit parantavat opiskelijoiden työelämävalmiuksia. Käytännön analysaattoriharjoitteissa opiskelijat pääsevät tekemään konkreettisesti opetuslaboratoriossa päivittäin tehtäviä toimia, kuten kalibrointia, kontrollointia, näytteiden ajamista sekä huoltotoimia.

Tämän opinnäytetyön tarkoituksena on verifioida uudet Cobas c311 analysaattorit K, Na, Krea, Gluk ja ALAT -tutkimusten osalta. Verifiointi suoritetaan potilasnäytevertailulla vertaamalla analysaattoreiden tulostasoa Tykslabin tulostason, sekä analysaattoreiden sisäistä toistettavuutta ja sarjojen välistä toistettavuutta testataan ajamalla useita määrittäjätyksiä samoista analyyteistä.

Tämän opinnäytetyön tutkimustehtävinä ovat:

1. Selvittää Roche Cobas c311 -analysaattoreiden sarjan sisäistä toistettavuutta ja verrata sitä valmistajan ilmoittamiin suorituskykytuloksiin.
2. Selvittää Roche Cobas c311 -analysaattoreiden sarjojen välistä toistettavuutta ja verrata sitä valmistajan ilmoittamiin suorituskykytuloksiin.
3. Selvittää ovatko Roche Cobas c311 -analysaattoreiden tulostaso ja referenssilaitteena toimivan Tykslabin Cobas 8000 -linjaston tulostaso yhteneväisiä.

## 7 OPINNÄYTETYÖN TOTEUTUS

### 7.1 Käytännön toteutus

Verifioinnin vastuuhenkilönä toimivan kemistin tapaaminen oli keväällä 2018. Tapaamisen pohjalta aloitettiin verifiointisuunnitelman tekemisen. Myöhemmin keväällä oli vielä opinnäytetyön ohjaajan tapaaminen, jonka kanssa sovittiin tarkemmasta aikataulusta sekä verifioinnissa tarvittavien päivittäistarvikkeiden tilaamisesta. Verifiointisuunnitelma sekä opinnäytetyön suunnitelma olivat valmiit toukokuussa 2018. Toukokuussa 2018 al-lekirjoitettiin myös opinnäytetyön toimeksiantosopimus.

Verifioinnin toteuttajat osallistuivat Rochen edustajan pitämään kolmipäiväiseen analysaattoreiden käyttäjäkoulutukseen 16–18.5.2018. Tykslabilta ohjaaja tilasi 100 kpl näytteitä potilasnäytevertailua varten. Näytteiden hävittämisestä ja käyttämisestä vain tämän tutkimuksen käyttöön sovittiin kirjallisesti.

Maanantaina 28.05.2018 jaettiin tarvittavat kontrollit, kalibraattorit ja toistettavuusnäytteet tarkoituksenmukaisen kokosiin eriin, ja ne pakastettiin  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Käytössä ollut pakastin jouduttiin vaihtamaan ajopäivien välissä, sillä lämpötilan seurannan mukaan alkupe-  
räinen pakastimen lämpötila oli ollut n.  $-11\text{ }^{\circ}\text{C}$ .

Näytepooli valmistettiin verifioinnin toteuttajien verinäytteistä. Näytepoolia varten verta otettiin litiumhepariiniputkiin, jotka sentrifugoitiin ja saatu plasma yhdistettiin yhteen isompaan putkeen, joka jaettiin edelleen pienempiin eriin ja pakastettiin  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$  pakka-  
seen.

Analysaattoreille tehtiin verifioinnin ajan joka aamu aamuhuolto, kaikkien tutkimusten kontrollointi sekä ISE-yksikön kalibrointi. Ensimmäisenä verifiointipäivänä 28.5.2018 kalibroitiin kaikki tutkimukset. Analysointipäivistä pidettiin konekohtaisesti ajopäiväkirjaa ja saadut tulokset tallennettiin sekä paperille että sähköisesti.

Ensimmäisenä näytteiden analyysipäivänä 28.5.2018 analysoitiin suurimman osan sisäisen toistettavuuden näytteistä. Sarjan sisäistä toistettavuutta testattiin analysoimalla josta tutkimusta kohden neljää analyyttiä yhteensä kymmenen toistoa. Näytteet jaettiin kahteen alikvoottiin eli alaerään. Cobas 1 -analysaattorilla Nortrollin sisäisen toistettavuuden mittaukset tehtiin myöhempänä ajankohtana. Cobas 3 -analysaattorilla loppui näytepooli -toistettavuusnäyte kesken, joten se uusittiin toisena päivänä.

Sarjojen välistä toistettavuutta testattiin ajamalla jokaisesta tutkimuksesta samaa neljää analyyttilä, joita käytettiin myös sarjojen sisäisen toistettavuuden määrittämiseksi. Jokaisesta analyyttilä analysoitiin jokaisella koneella yksi toisto kymmenen päivän ajan.

Potilasnäytevertailun näytteet analysoitiin 29.5–1.6.2018 välisenä aikana. Näinä neljänä päivänä haettiin jokaisena päivänä Tykslabin päivystys- ja automaatiolaboratoriosta 25 kpl eroteltuja plasmanäytteitä, joista jokaisesta oli analysoitu kaikki tutkimukset. Tuloksissa tai näyteputkissa ei ollut henkilötietoja vaan putkissa oli yksilöivät numerot. Näytteet analysoitiin jokaisella analysaattorilla kerran. Potilasnäytteitä säilytettiin jääkaapissa ja näytteet ajettiin saman päivän aikana, jona ne oli noudettu. Analysoinnin jälkeen näytteet säilöttiin  $-20\text{ °C}$  pakkaseen.

Verifoinnin käytännön analysointityö saatiin valmiiksi 6.6.2018. Potilasnäytteet hävitettiin sopimuksen mukaisesti 14.6.2018. Referenssinä toimivan Tykslabin tulokset potilasnäytevertailua varten olivat paperitulosteita, joten nämä tulokset taulukoitiin. Analysointituloksista tulokset tallennettiin muistitikulle ASCII -muotoon, tulokset konvertoitiin Microsoft Exceliin taulukoihin. Tulosten tilastollinen käsittely suoritettiin Microsoft Excelillä.

## 7.2 Saatujen tulosten tilastollinen käsittely

### 7.2.1 Keskiarvo, keskihajonta ja variaatiokerroin

Osasta saatuja tuloksia laskettiin aritmeettinen keskiarvo ( $\bar{x}$ ). Aritmeettinen keskiarvo lasketaan laskemalla yhteen joukko lukuja ja jakamalla tulos lukujen määrällä. Keskiarvo kuvaa kuinka suurilla havaintoarvoilla olisivat, jos mitattava ominaisuus jaettaisiin tasan kaikkien havaintoarvojen kesken. (Holopainen ym. 2014, 54–55.)

Toistettavuustuloksista laskettiin keskihajonta ( $s$ ), joka kuvaa lukujen keskimääräistä hajontaa. Keskihajonnan laskemiseen tarvitaan aritmeettinen keskiarvo. Keskihajonta saadaan, kun ensin lasketaan havaintoarvojen ero aritmeettisestä keskiarvosta. Saadut tulokset neliöidään, lasketaan neliöityjen erotuksien summa, jaetaan se havaintoarvojen lukumäärällä ( $n-1$ ) ja saadusta tuloksesta lasketaan neliöjuuri. Neliöinti tehdään, jottei negatiiviset ja positiiviset arvot kumoa toisiaan. (Holopainen ym. 2014, 84–85.)

Tuloksien tilastollisessa käsittelemisessä hyödynnettiin myös variaatiokerrointa (V). Variaatiokerroin on keskihajonnan ja keskiarvon osamäärä:  $V = s/x$ . Variaatiokerroin ilmoittaa kuinka monen keskiarvon päässä muuttujat ovat keskiarvosta. Variaatiokerroin voidaan esittää prosentteina ( $CV\% = V \cdot 100\%$ ). (Holopainen ym. 2014, 84.)

### 7.2.2 Korrelaatiokerroin, lineaarinen regressio ja hajontakuviot

Korrelaatiokertoimella (R) mitataan muuttujien välistä lineaarista yhteyttä. Yleisimmin käytetty korrelaatiokerroin on Pearsonin tulomomenttikorrelaatiokerroin. Pearsonin korrelaatiokerroin on standardoitu muuttujien välisen lineaarisen yhteyden estimaatti, eli kaikkien mahdollisten muuttujaparien välinen korrelaatio on aina välillä [-1,1]. (Holopainen ym. 2014, 214–215.) Arvo 0 tarkoittaa ettei muuttujien välillä ole korrelaatiota, arvo 1 puolestaan tarkoittaa korrelaation olevan täydellinen ja arvo [-1] puolestaan korrelaation olevan negatiivinen (McPherson ym. 2011, 129). Korrelaatiokertoimen ideaaliarvo on 1, mutta arvoa  $>0,95$  pidetään hyvänä ja  $>0,99$  erinomaisena (Dasgupta ym. 2014, 60).

Regressioanalyysissä pyritään löytämään matemaattinen malli, joka kuvaisi kahden muuttujan välistä yhteyttä. Regressiosuoran peruskaava:  $y = a + bx$ , jossa: a = vakio-termi, b = kulmakerroin, y ja x ovat muuttujia, joiden välinen yhteys lasketaan. (McPherson ym. 2011, 129.) Ideaalitalanteessa:  $y = x$ , a = 0, b = 1 (Dasgupta ym. 2014, 59). Regressio-mallinnuksen varsinaisen ongelman eli vakiotermin ja kulmakertoimen määrittämiseen on monta tapaa, mutta matemaattisesti yksinkertaisin on pienimmän neliosumman menetelmä, menetelmä perustuu regressioanalyysin jäännöstermien tarkastelemiseen (Holopainen ym. 2014, 238).

Tulosten havainnoimisessa voidaan käyttää sironta- eli hajontakuviota. Tällaisissa kuvaajissa yksi piste kuvaa muuttujien X ja Y arvot yhdeltä tilastoyksiköltä. Muuttujien X ja Y yhteyden suuruutta voidaan tarkastella hajontakuvoista tarkastelemalla, miten pisteet sijoittuvat toisiinsa nähden, sirontakuvoista käy ilmi pisteiden mahdollisen yhteyden voimakkuus, muoto ja suunta. (Holopainen ym. 2014, 211.)



### 7.3 Metodologiset lähtökohdat

Tämä opinnäytetyö on kvantitatiivinen eli kerättävä aineisto on määrällistä. Saadut tulokset ovat numeerisia ja niitä käsitellään tilastollisin menetelmin. Kvantitatiivinen tutkimus kohdentuu muuttujien mittaamiseen, tilastollisten menetelmien käyttöön ja muuttujien välisten yhteyksien tarkasteluun. Ennen tulosten julkistamista arvioidaan käytettyjä menetelmiä ja tuloksia. (Kankkunen & Vehviläinen-Julkunen 2013, 54–56.)

Tulosten käsittelyssä hyödynnetään tilastotieteellisiä menetelmiä. Tilastotiede on menetelmätiede, joka tutkii miten erilaisiin havaintoihin perustuva tutkimus tulisi suorittaa. Tilastotiedettä sovelletaan tutkimusten suunnittelemisessa sekä toteuttamisessa, päätelmien tekemiseen mittaustulosten perusteella sekä kerätyn aineiston kuvaamisessa ja analysoinnissa. (Holopainen ym. 2014, 9.)

### 7.4 Eettiset lähtökohdat

Opinnäytetyöstä tehtiin toimeksiantosopimus, jolla työ liitettiin käynnissä olevaan hankkeeseen: Työelämäyhteistyön ja opetusmenetelmien kehittäminen bioanalytikkokoulutuksessa (TurkuCRC T163/2017). Tykslabille tehtiin lisäksi erillinen hakemus tarvittavista näytteistä, sekä asianmukainen sopimus näytteiden hävittämisestä. Näytemateriaali kerättiin anonymisti, eikä opinnäytetyössä käsitelty henkilötietoja. Näytteitä käytettiin vain tässä työssä, eikä niitä luovutettu ulkopuolisille. Näytteet hävitettiin sopimuksen mukaisesti kesäkuussa 2018. Tykslabilta hankittujen tutkimusnäytteiden (100kpl) kustannuksista huolehti Turun ammattikorkeakoulu, potilasnäytteet maksoivat 7€/kpl eli yhteensä 700€.

Tässä opinnäytetyössä noudatettiin Tutkimuseettisen neuvottelukunnan määrittelemää hyvää tieteellistä käytäntöä. Tarvittavat luvat hankittiin ja tutkimusnäytteiden kustannuspaikka on ilmoitettu. Tutkimuksessa noudatettiin toimintatapoina rehellisyyttä, huolellisuutta ja tarkkuutta tutkimustyössä, tulosten tallentamisessa ja esittämisessä sekä tutkimusten ja niiden tulosten arvioinnissa. (Tutkimuseettinen neuvottelukunta 2012, 6.)

Tässä opinnäytetyössä noudatettiin Bioanalytikkoliitto ry:n eettisiä ohjeita. Kliinisen laboratoriotyön eettisiin periaatteisiin kuuluu käyttää hyväksytyjä menettelytapoja ja laboratoriotutkimusten laadusta ja luotettavuudesta vastataan laboratoriotutkimusprosessin

kaikissa vaiheissa. Näytemateriaalia tulee käsitellä näytteen luovuttajan yksityisyyttä ja oikeuksia kunnioittaen. (Suomen Bioanalytikkoliitto 2017, 2–3.)

## 8 TULOKSET JA TULOSTEN TARKASTELU

### 8.1 Toistettavuus

Toistettavuudessa näytteinä olivat omista näytteistä valmistettu pooli, Rochen valmistama päivittäiskontrolli PreciControl ClinChem Multi 1 sekä Thermo Fisherin valmistamat kontrollit Nortrol ja Abtrol. Toistettavuutta arvioitiin sarjan sisäisenä toistettavuutena ja sarjojen välisenä toistettavuutena. Analysointituloksista laskettiin kummassakin toistettavuustyypissä keskiarvo, keskihajonta sekä variaatiokerroin.

Tavoitteeksi tuloksille otettiin valmistajan omissa toistettavuuden mittauksissa saadut tulokset. Potilasnäytteessä variaatiokertoimen tavoitteiksi tarkasteluun valittiin valmistajan omista mittauksista ne, jotka vastasivat pitoisuudeltaan mitattua keskiarvoa. PreciControl ClinChem Multi 1 -kontrollin arviointiin valittiin analysoidun erän tavoitearvo sekä variaatiokerroin.

Thermo Fisherin kontrolleille laskettiin tavoitteeksi variaatiokerroin valmistajan määritelmästä keskihajonnasta. Thermo Fisherin kontrolleille ei ole määriteltä tavoitearvoa Cobas c311 -analysointoreille.

Sarjan sisäisessä toistettavuudessa näytepoolilla cobas 1:llä (Tauluko 1) on nähtävissä, että tulokset ovat valmistajan tuloksiin verrattuna ALAT:ia lukuunottamatta hieman suurempaa. Cobas 2:lla (Taulukko 2) tulokset ovat kreatiniinia lukuunottamatta paremmat. Cobas 3:lla (Taulukko 3) tulokset ovat parempia tai yhtä hyviä.

Taulukko 1: Cobas 1 sarjan sisäinen toistettavuus näytepoolilla (n=10).

Tutkimus	Keskiarvo	SD	CV%	Valmistajan vastaava CV%
<b>ALAT U/L</b>	35,2	0,92	2,6	12,9
<b>Gluk mmol/L</b>	5,3	0,05	1,0	0,8
<b>K mmol/L</b>	4,0	0,04	1,0	0,7
<b>Krea µmol/L</b>	87,0	1,05	1,2	1,1
<b>Na mmol/L</b>	145,0	0,82	0,6	0,3

Taulukko 2: Cobas 2 sarjan sisäinen toistettavuus näytepoolilla (n =10).

Tutkimus	Keskiarvo	SD	CV%	Valmistajan vastaava CV%
ALAT U/L	34,3	1,06	3,1	12,9
Gluk mmol/L	5,3	0,05	1,0	0,8
K mmol/L	3,9	0,03	0,8	0,7
Krea $\mu$ mol/L	86,4	0,70	0,8	1,1
Na mmol/L	142,0	0,00	0,0	0,3

Taulukko 3: Cobas 3 sarjan sisäinen toistettavuus näytepoolilla (n=10).

Tutkimus	Keskiarvo	SD	CV%	Valmistajan vastaava CV%
ALAT U/L	32,2	0,63	2,0	12,9
Gluk mmol/L	5,3	0,04	0,8	0,8
K mmol/L	3,9	0,00	0,0	0,7
Krea $\mu$ mol/L	86,8	0,63	0,7	1,1
Na mmol/L	141,3	0,48	0,3	0,3

Roche omalla kontrollilla sarjan sisäinen toistettavuus on kaikilla analyyteillä tavoitteesaan (Taulukot 4, 5 ja 6). Kaikilla analysaattoreilla on havaittavissa kreatiniinille poikkeamaa tavoitearvosta. Suurinta poikkeamaan tavoitearvosta oli Cobas 3 -analysaattorilla, mutta toistettavuuden tavoitteeseen päästiin.

Taulukko 4: Cobas 1 sarjan sisäinen toistettavuus PreciControl ClinChem Multi 1 -kontrollilla (n=10).

Tutkimus	Keskiarvo	Tavoitearvo	SD	CV%	Tavoite CV%
ALAT U/L	47,2	46,3	0,92	1,9	6,0
Gluk mmol/L	5,7	5,63	0,03	0,6	5,0
K mmol/L	3,9	3,77	0,03	0,8	2,9
Krea µmol/L	88,4	93,1	0,84	1,0	6,0
Na mmol/L	114,8	111	0,63	0,6	2,7

Taulukko 5: Cobas 2 sarjan sisäinen toistettavuus PreciControl ClinChem Multi 1 -kontrollilla (n=10).

Tutkimus	Keskiarvo	Tavoitearvo	SD	CV%	Tavoite CV%
ALAT U/L	46,3	46,3	1,06	2,3	6,0
Gluk mmol/L	5,7	5,63	0,05	0,8	5,0
K mmol/L	3,8	3,77	0,00	0,0	2,9
Krea µmol/L	89,2	93,1	0,63	0,7	6,0
Na mmol/L	113,1	111	0,32	0,3	2,7

Taulukko 6: Cobas 3 sarjan sisäinen toistettavuus PreciControl ClinChem Multi 1 -kontrollilla (n=10).

Tutkimus	Keskiarvo	Tavoitearvo	SD	CV%	Tavoite CV%
ALAT U/L	47,9	46,3	0,57	1,2	6,0
Gluk mmol/L	6,0	5,63	0,05	0,9	5,0
K mmol/L	3,9	3,77	0,05	1,3	2,9
Krea µmol/L	91,4	93,1	0,52	0,6	6,0
Na mmol/L	117,8	111	0,63	0,5	2,7

Thermo Fisherin kontrolleilla laskettuihin tavoitevariaatiokertoimien (Taulukot **Virhe. Kirjanmerkin viittaus itseensä ei kelpaa.**, 8 ja 9) alle päästiin pääsääntöisesti kaikilla analysaattoreilla ja tutkimuksilla. Vain Cobas 1:llä saatiin Nortrol-kontrollilla ALATin tavoitteen ylittävä tulos.

Taulukko 7: Cobas 1 sarjan sisäisen toistettavuuden tulokset ja tavoite Thermo Fisherin kontrolleille (n=10).

Tutkimus	Näyte	Keskiarvo	SD	CV%	Tavoite CV%
ALAT U/L	Nortrol	33,3	2,21	6,6	5,9
	Abtrol	101,0	3,02	3,0	6,0
Gluk mmol/L	Nortrol	5,5	0,09	1,6	5,4
	Abtrol	15,3	0,16	1,1	5,5
K mmol/L	Nortrol	4,4	0,06	1,3	3,1
	Abtrol	6,8	0,07	1,1	3,0
Krea µmol/L	Nortrol	174,5	1,72	1,0	6,0
	Abtrol	425,0	3,16	0,7	6,0
Na mmol/L	Nortrol	146,1	1,66	1,1	3,0
	Abtrol	168,2	2,20	1,3	2,0

Taulukko 8: Cobas 2 sarjan sisäisen toistettavuuden tulokset ja tavoite Thermo Fisherin kontrolleille (n=10).

Tutkimus	Näyte	Keskiarvo	SD	CV%	Tavoite CV%
ALAT U/L	Nortrol	32,5	1,58	4,9	5,9
	Abtrol	102,0	2,31	2,3	6,0
Gluk mmol/L	Nortrol	5,6	0,06	1,0	5,4
	Abtrol	15,4	0,06	0,4	5,5
K mmol/L	Nortrol	4,5	0,05	1,2	3,1
	Abtrol	6,8	0,04	0,6	3,0
Krea µmol/L	Nortrol	177,0	1,41	0,8	6,0
	Abtrol	430,3	2,26	0,5	6,0
Na mmol/L	Nortrol	147,2	0,63	0,4	3,0

	Abtrol	170,3	0,48	0,3	2,0
--	--------	-------	------	-----	-----

Taulukko 9: Cobas 3 sarjan sisäisen toistettavuuden tulokset ja tavoite Thermo Fisherin kontrolleille (n=10).

Tutkimus	Näyte	Keskiarvo	SD	CV%	Tavoite CV%
ALAT U/L	Nortrol	33,8	1,40	4,1	5,9
	Abtrol	101,3	0,82	0,8	6,0
Gluk mmol/L	Nortrol	5,5	0,03	0,6	5,4
	Abtrol	15,3	0,05	0,3	5,5
K mmol/L	Nortrol	4,4	0,05	1,1	3,1
	Abtrol	6,8	0,00	0,0	3,0
Krea µmol/L	Nortrol	173,9	0,57	0,3	6,0
	Abtrol	422,9	2,02	0,5	6,0
Na mmol/L	Nortrol	146,5	0,53	0,4	3,0
	Abtrol	168,5	0,53	0,3	2,0

Näytepoolin osalta sarjojen välisen toistettavuuden tulokset Cobas 1:llä (Taulukko 10) tulokset olivat valmistajan vastaavia tuloksiin verrattuna hieman huonompia glukoosia lukuun ottamatta. Cobas 2:lla (Taulukko 11) tulokset olivat kaliumia lukuun ottamatta hieman huonompia. Cobas 3:lla (Taulukko 12) kaikki tulokset olivat valmistajan tuloksiin verrattuna hieman huonompia. ALAT-tulokset olivat kaikilla analysointilaitteilla systemaattisesti laskevia. Säilytyslämpötila näytteillä oli -20 °C, joka ei ole soveltuva analyysille, vaan säilytyksen lämpötilan olisi pitänyt olla -60...-80 °C.

Taulukko 10: Cobas 1 sarjojen välinen toistettavuus näytepoolilla (n=10).

Tutkimus	Keskiarvo	SD	CV%	Valmistajan vastaava CV%
ALAT U/L	28,0	4,35	15,5	2,9
Gluk mmol/L	5,2	0,05	0,9	1,2
K mmol/L	3,9	0,07	1,7	1,6
Krea µmol/L	86,5	1,43	1,7	1,1

<b>Na mmol/L</b>	142,0	1,33	0,9	0,6
------------------	-------	------	-----	-----

Taulukko 11: Cobas 2 sarjojen välinen toistettavuus näytepoolilla (n=10).

<b>Tutkimus</b>	<b>Keskiarvo</b>	<b>SD</b>	<b>CV%</b>	<b>Valmistajan vastaava CV%</b>
<b>ALAT U/L</b>	25,9	4,89	18,9	2,9
<b>Gluk mmol/L</b>	5,2	0,08	1,6	1,2
<b>K mmol/L</b>	3,9	0,00	0,0	1,6
<b>Krea µmol/L</b>	87,7	1,64	1,9	1,1
<b>Na mmol/L</b>	141,2	0,92	0,7	0,6

Taulukko 12: Cobas 3 sarjojen välinen toistettavuus näytepoolilla (n=10).

<b>Tutkimus</b>	<b>Keskiarvo</b>	<b>SD</b>	<b>CV%</b>	<b>Valmistajan vastaava CV%</b>
<b>ALAT U/L</b>	27,8	3,74	13,4	2,9
<b>Gluk mmol/L</b>	5,2	0,11	2,2	1,2
<b>K mmol/L</b>	3,9	0,07	1,8	1,6
<b>Krea µmol/L</b>	86,9	2,23	2,6	1,1
<b>Na mmol/L</b>	142,3	2,45	1,7	0,6

Rochen omalla kontrollilla sarjojen välinen toistettavuus on kaikilla analyteillä tavoitteessaan (Taulukot 13, 14 ja 15). Kuten sarjan sisäisessä toistettavuudessa, poikkesi kreatiniinin keskiarvo kontrollin tavoitearvosta huomattavasti.

Taulukko 13: Cobas 1 sarjojen välinen toistettavuus PreciControl ClinChem Multi 1 -kontrollilla (n=10).

<b>Tutkimus</b>	<b>Keskiarvo</b>	<b>Tavoitearvo</b>	<b>SD</b>	<b>CV%</b>	<b>Tavoite CV%</b>
<b>ALAT U/L</b>	46,2	46,3	1,69	3,7	6,0
<b>Gluk mmol/L</b>	5,8	5,63	0,06	1,1	5,0
<b>K mmol/L</b>	3,9	3,77	0,09	2,3	2,9



<b>Krea <math>\mu\text{mol/L}</math></b>	89,7	93,1	0,82	0,9	6,0
<b>Na mmol/L</b>	115,0	111	1,76	1,5	2,7

Taulukko 14: Cobas 2 sarjojen välinen toistettavuus PreciControl ClinChem Multi 1 -kontrollilla (n=10).

<b>Tutkimus</b>	<b>Keskiarvo</b>	<b>Tavoitearvo</b>	<b>SD</b>	<b>CV%</b>	<b>Tavoite CV%</b>
<b>ALAT U/L</b>	45,2	46,3	1,93	4,3	6,0
<b>Gluk mmol/L</b>	5,8	5,63	0,09	1,6	5,0
<b>K mmol/L</b>	3,8	3,77	0,05	1,3	2,9
<b>Krea <math>\mu\text{mol/L}</math></b>	90,7	93,1	1,06	1,2	6,0
<b>Na mmol/L</b>	114,0	111	1,15	1,0	2,7

Taulukko 15: Cobas 3 sarjojen välinen toistettavuus PreciControl ClinChem Multi 1 -kontrollilla (n=10).

<b>Tutkimus</b>	<b>Keskiarvo</b>	<b>Tavoitearvo</b>	<b>SD</b>	<b>CV%</b>	<b>Tavoite CV%</b>
<b>ALAT U/L</b>	45,9	46,3	1,29	2,8	6,0
<b>Gluk mmol/L</b>	5,8	5,63	0,08	1,5	5,0
<b>K mmol/L</b>	3,9	3,77	0,05	1,2	2,9
<b>Krea <math>\mu\text{mol/L}</math></b>	88,6	93,1	1,17	1,3	6,0
<b>Na mmol/L</b>	114,5	111	1,35	1,2	2,7

Thermo Fisherin kontrolleilla laskettuihin tavoitevariaatiokertoimien (Taulukot 16, 17 ja 18) alle päästiin pääsääntöisesti kaikilla analysaattoreilla. ALATin tavoitevariaatiokertoimeen ei päästy Cobas 1 ja 2 -analysaattoreilla Nortrol-kontrollilla. Cobas 3 analysaattorilla Abtrol-kontrollilla kaliumin osalta ei myöskään päästy tavoitevariaatiokertoimeen.

Taulukko 16: Cobas 1 sarjojen välisten toistettavuuksien tulokset ja tavoite Thermo Fisherin kontrolleille (n=10).

Tutkimus	Näyte	Keskiarvo	SD	CV%	Tavoite CV%
<b>ALAT U/L</b>	Nortrol	33,3	2,21	6,6	5,9
	Abtrol	101,0	3,02	3,0	6,0
<b>Gluk mmol/L</b>	Nortrol	5,5	0,09	1,6	5,4
	Abtrol	15,3	0,16	1,1	5,5
<b>K mmol/L</b>	Nortrol	4,4	0,06	1,3	3,1
	Abtrol	6,8	0,07	1,1	3,0
<b>Krea µmol/L</b>	Nortrol	174,5	1,72	1,0	6,0
	Abtrol	425,0	3,16	0,7	6,0
<b>Na mmol/L</b>	Nortrol	146,1	1,66	1,1	3,0
	Abtrol	168,2	2,20	1,3	2,0

Taulukko 17: Cobas 2 sarjojen välisten toistettavuuksien tulokset ja tavoite Thermo Fisherin kontrolleille (n=10).

Tutkimus	Näyte	Keskiarvo	SD	CV%	Tavoite CV%
<b>ALAT U/L</b>	Nortrol	32,8	2,25	6,9	5,9
	Abtrol	100,9	3,25	3,2	6,0
<b>Gluk mmol/L</b>	Nortrol	5,8	0,09	1,6	5,4
	Abtrol	5,2	0,08	1,6	5,5
<b>K mmol/L</b>	Nortrol	4,4	0,07	1,7	3,1
	Abtrol	6,7	0,04	0,6	3,0
<b>Krea µmol/L</b>	Nortrol	176,9	2,02	1,1	6,0
	Abtrol	425,4	4,20	1,0	6,0
<b>Na mmol/L</b>	Nortrol	145,3	1,06	0,7	3,0
	Abtrol	166,8	1,40	0,8	2,0

Taulukko 18: Cobas 3 sarjojen välisten toistettavuuksien tulokset ja tavoite Thermo Fisherin kontrolleille (n=10).

Tutkimus	Näyte	Keskiarvo	SD	CV%	Tavoite CV%
<b>ALAT U/L</b>	Nortrol	32,7	1,57	4,8	5,9
	Abtrol	102,2	1,87	1,8	6,0
<b>Gluk mmol/L</b>	Nortrol	5,5	0,07	1,2	5,4
	Abtrol	15,3	0,30	2,0	5,5
<b>K mmol/L</b>	Nortrol	4,4	0,03	0,7	3,1
	Abtrol	6,9	0,32	4,6	3,0
<b>Krea µmol/L</b>	Nortrol	175,2	1,14	0,6	6,0
	Abtrol	425,2	7,52	1,8	6,0
<b>Na mmol/L</b>	Nortrol	145,6	0,84	0,6	3,0
	Abtrol	167,8	2,97	1,8	2,0

## 8.2 Potilasnäytevertailu

Tykslabin toimittamia potilasnäytteitä oli 100 kpl, joista jokaisesta oli analysoitu referenssianalysointilinjalla mitattavat analyytit. Tykslab käytti analysointiin Rochem valmistamaa Cobas 8000-analysointilinjastoa. Jokaisesta potilasnäytteestä mitattiin kaikilla Cobas c311 -analysointilinjalla analyytit kerran, jolloin harhaa ei voitu laskea. Cobas c311 -analysointilinjoiden ja referenssianalysointilinjoiden tuloksista laskettiin analyyteille korrelaatiokerroimet sekä lineaariset regressiot, joista piirrettiin kuvaajat. Mittaustuloksista laskettiin prosentuaaliset erot, joista piirrettiin hajontakuviot.

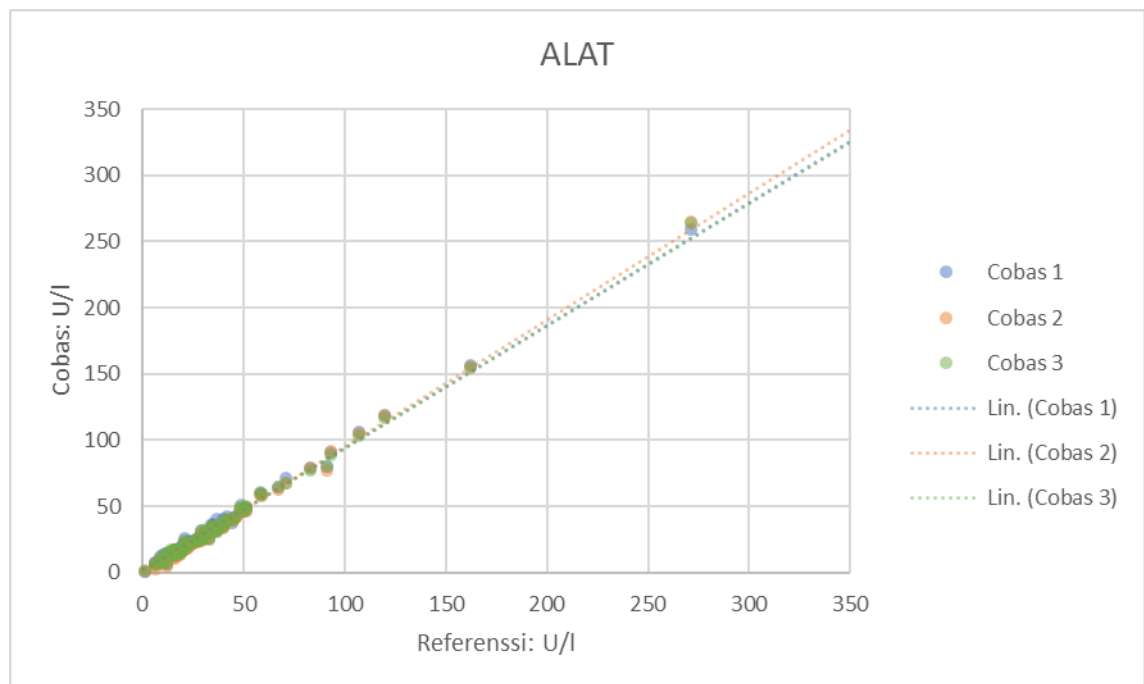
Potilasnäytevertailun toisena ajopäivänä Na -tutkimuksella nähtävissä selkeästi muista näytteiden ajopäivistä eroava tulostaso referenssiin. Nämä tulokset ovat jätetty pois vertailusta. Selkeää yksittäistä syytä yhden näytteiden ajopäivän poikkeavaan tulostasoon Na -tutkimuksella ei ole osoitettavissa. Muiden analyyttien tulostasossa ei ollut selkeästi havaittavissa tältä päivältä poikkeamaa.

Tavoitteeksi tuloksille asetettiin hyvä korrelaatio referenssianalysointilinjoiden suhteen. Prosentuaalista eroa tarkasteltiin Labqualityn ulkoisen laadunarvioinnin tavoiteväliin.

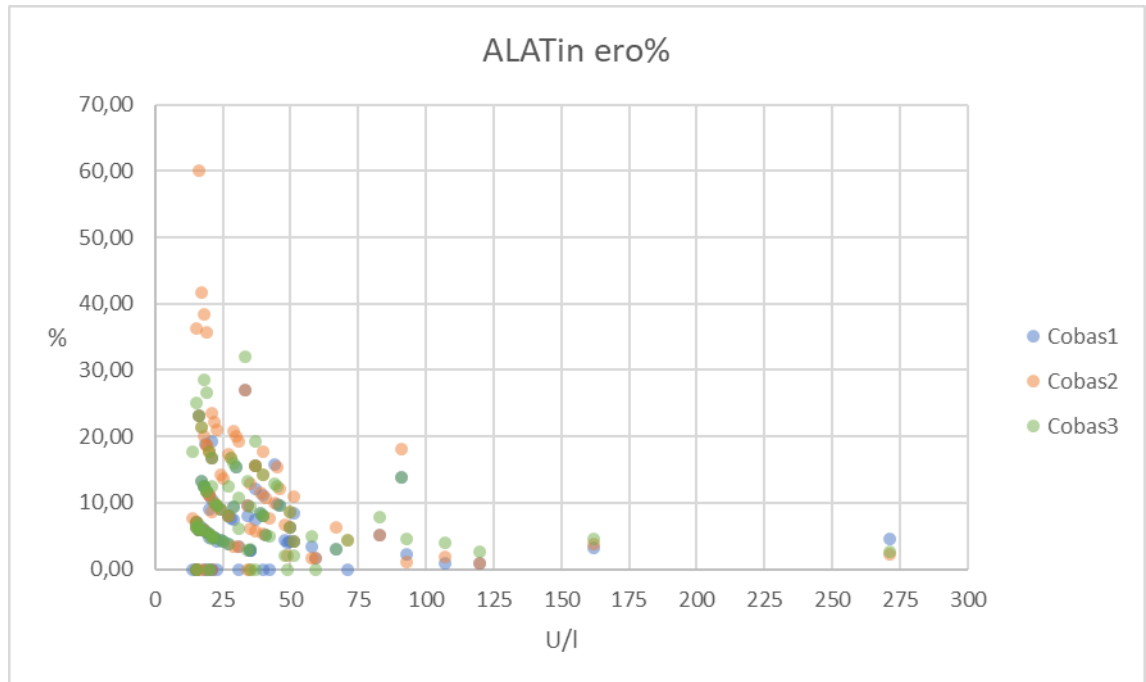
ALATille lasketuista korrelaatiokerroimista (Taulukko 19) huomataan, että korrelaatio on kaikilla Cobas c311 -analysointilaitteilla erinomaista ( $R > 0,95$ ). Lineaarisen regressioon kulmakertoimet ovat analysointilaitteilla selkeästi alle yksi, jolloin saadut tulokset ovat referenssianalysointilaitteeseen nähden matalammat (Kuvio 1). Pienillä pitoisuuksilla suhteellinen ero on suurimmillaan, joka voidaan havaita prosentuaalisen eron kuvaajasta (Kuvio 2). Labqualityn ulkoisen laaduntarkkailun tavoiteväli on ALATille  $\pm 12\%$ , johon suuresta osasta matalista ( $< 50$  U/l) mittaustuloksista ei päästä.

Taulukko 19: ALATille lasketut tulokset Cobas-analysointilaitteille.

Analysointilaitte	Korrelaatiokerroin (R)	Lineaarinen regressio
<b>Cobas 1</b>	1,000	$y = 0,927x + 1,664$
<b>Cobas 2</b>	1,000	$y = 0,957x - 0,956$
<b>Cobas 3</b>	1,000	$y = 0,924x + 0,960$



Kuvio 1: ALATin hajonta ja lineaarinen regressio.

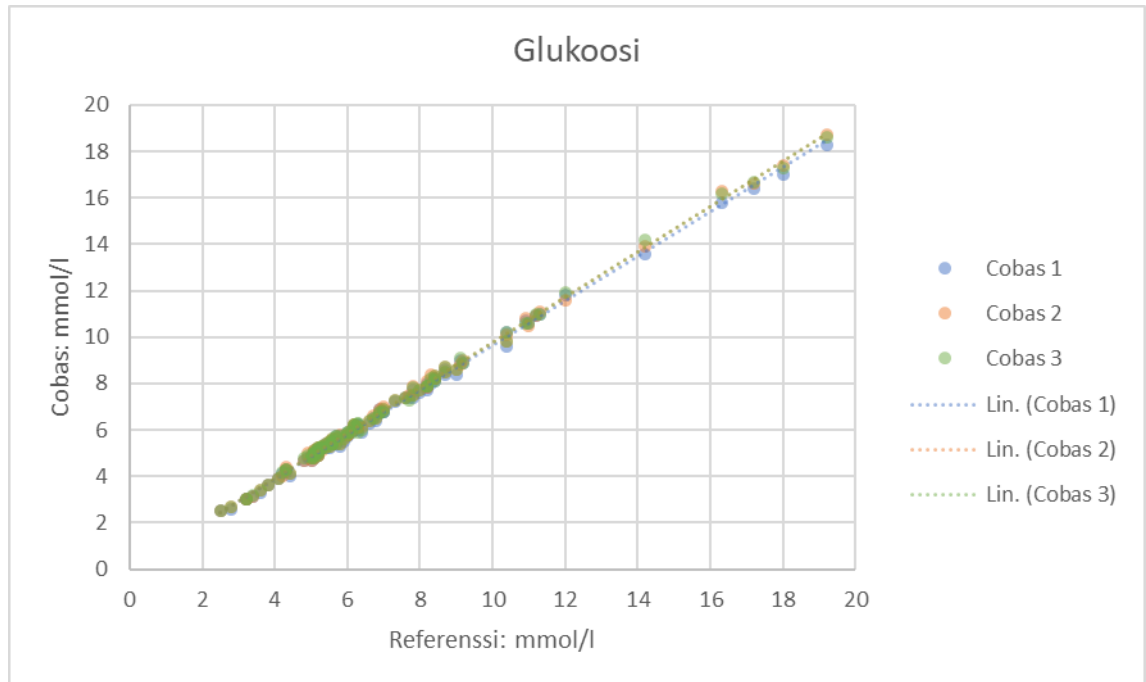


Kuvio 2: ALATin prosentuaalinen ero referenssiin.

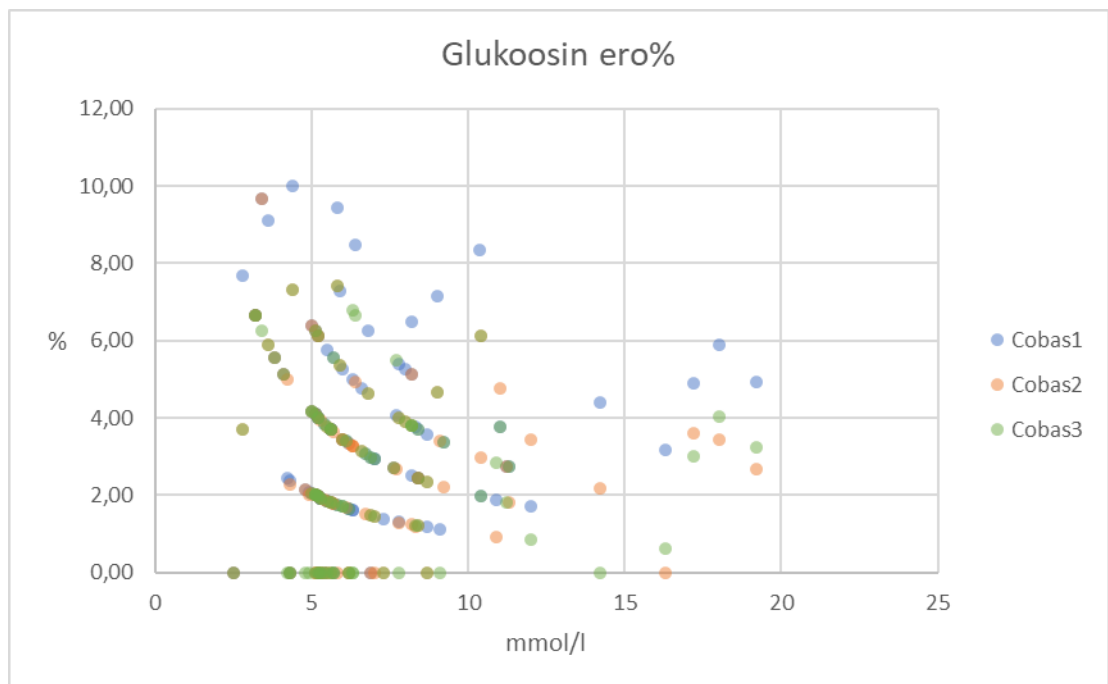
Lasketuista tuloksista glukoosille (**Virhe. Kirjanmerkin viittaus itseensä ei kelpaa.**) huomataan, että korrelaatio on erinomaista. Lineaarisen regression kulmakerroin on hieman alle yksi, jonka perusteella saadut tulokset ovat kaikilla Cobas-analysaattoreilla hieman matalammat kuin referenssianalysaattorilla. Labqualityn ulkoisen laaduntarkkailun tavoiteväli on  $\pm 6\%$ , johon suurimmalla osalla näytteistä päästiin. Prosentuaalisen eron (Kuvio 74) sekä hajonnan kuviosta (Kuvio 3**Virhe. Viitteen lähdeä ei löytynyt.**) on nähtävissä, että Cobas 1:llä erot olivat hieman suuremmat kuin kahdella muulla analyysaattorilla.

Taulukko 20: Glukoosille lasketut tulokset Cobas-analysaattoreille.

Analysaattori	Korrelaatiokerroin (R)	Lineaarinen regressio
<b>Cobas 1</b>	0,999	$y = 0,958x + 0,047$
<b>Cobas 2</b>	0,999	$y = 0,976x - 0,005$
<b>Cobas 3</b>	0,999	$y = 0,976x - 0,006$



Kuvio 3: Glukoosin hajonta ja lineaarinen regressio.



Kuvio 4: Glukoosin prosentuaalinen ero referenssiin.

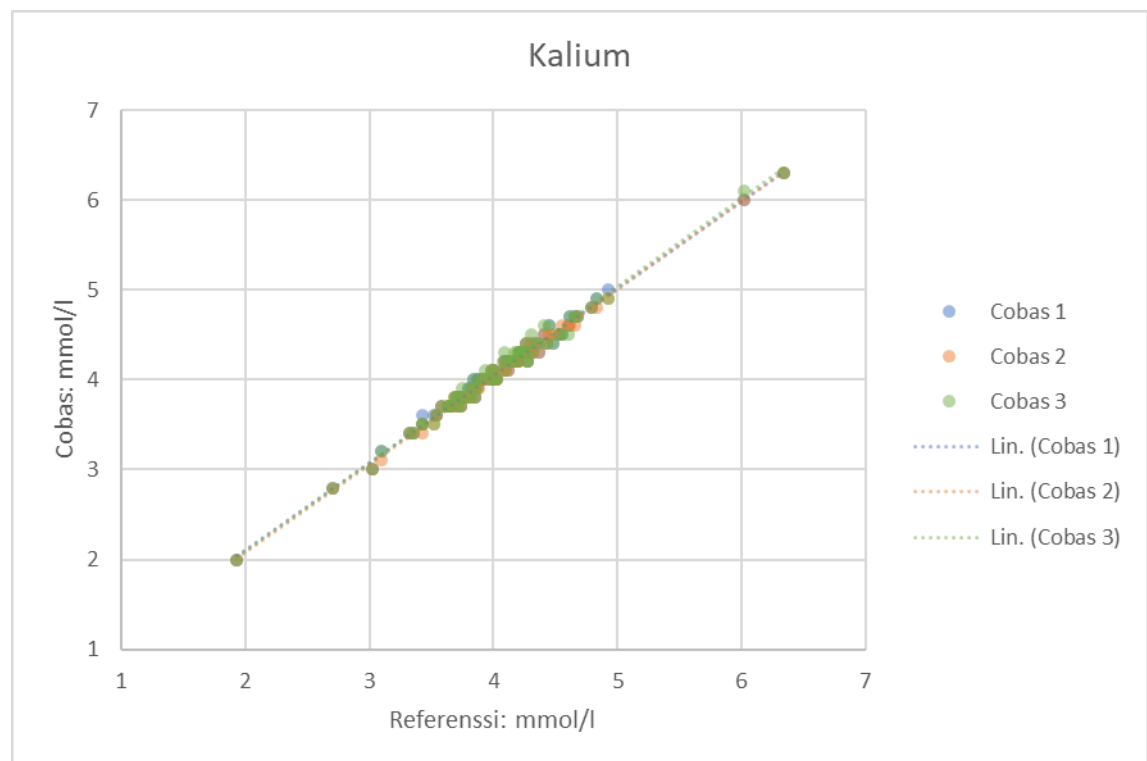
Lasketuista tuloksista kaliumille (**Virhe. Kirjanmerkin viittaus itseensä ei kelpaa.**) huomataan, että korrelaatio on erinomaista. Tulostason selkeää poikkeamaa suuntaan tai

toiseen ei ole havaittavissa hajontakuviosta (Kuvio 5) tai lineaarisen regression kaavasta.

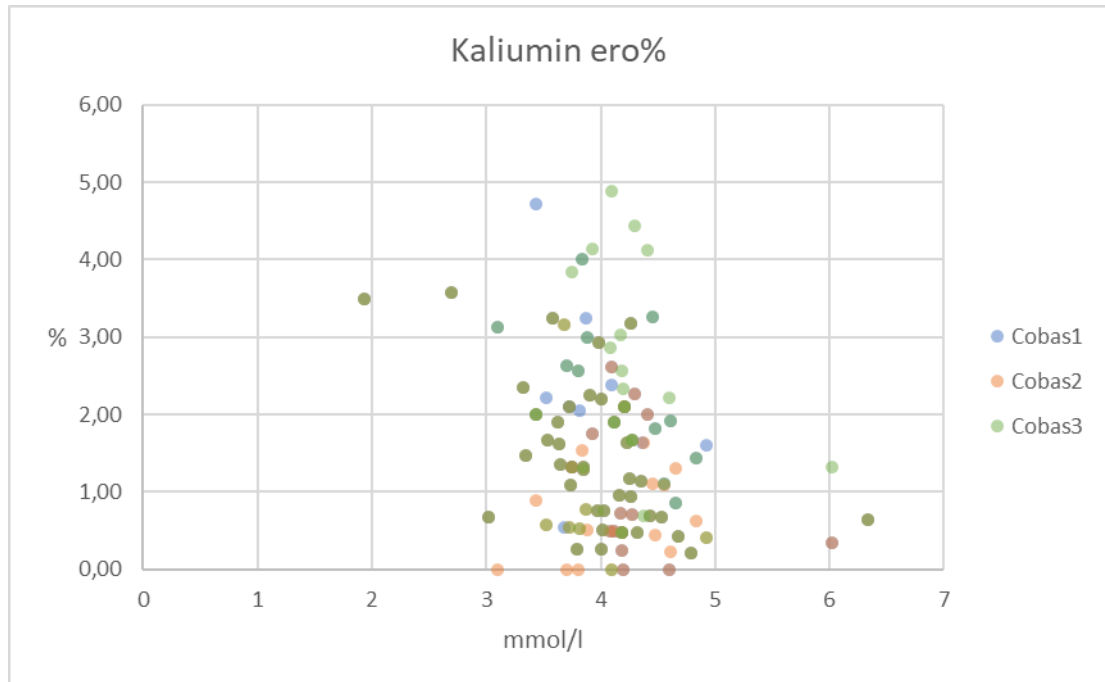
Labqualityn ulkoisen laaduntarkkailun tavoiteväli on kaliumille  $\pm 4\%$ , johon pääsääntöisesti kaikilla analysaattorien prosentuaaliset erot referenssiin olivat alle (Kuvio 6). Cobas 3 -analysaattorilla noin  $\sim 5\%$  tuloksista ei päässyt tähän tavoiteväliin.

Taulukko 21: Kaliumille lasketut tulokset Cobas-analysaattoreille.

Analysaattori	Korrelaatiokerroin (R)	Lineaarinen regressio
<b>Cobas 1</b>	0,996	$y = 0,968x + 0,176$
<b>Cobas 2</b>	0,997	$y = 0,975x + 0,132$
<b>Cobas 3</b>	0,993	$y = 0,978x + 0,138$



Kuvio 5: Kaliumin hajonta ja lineaarinen regressio.



Kuvio 6: Kaliumin prosentuaalinen ero referenssiin.

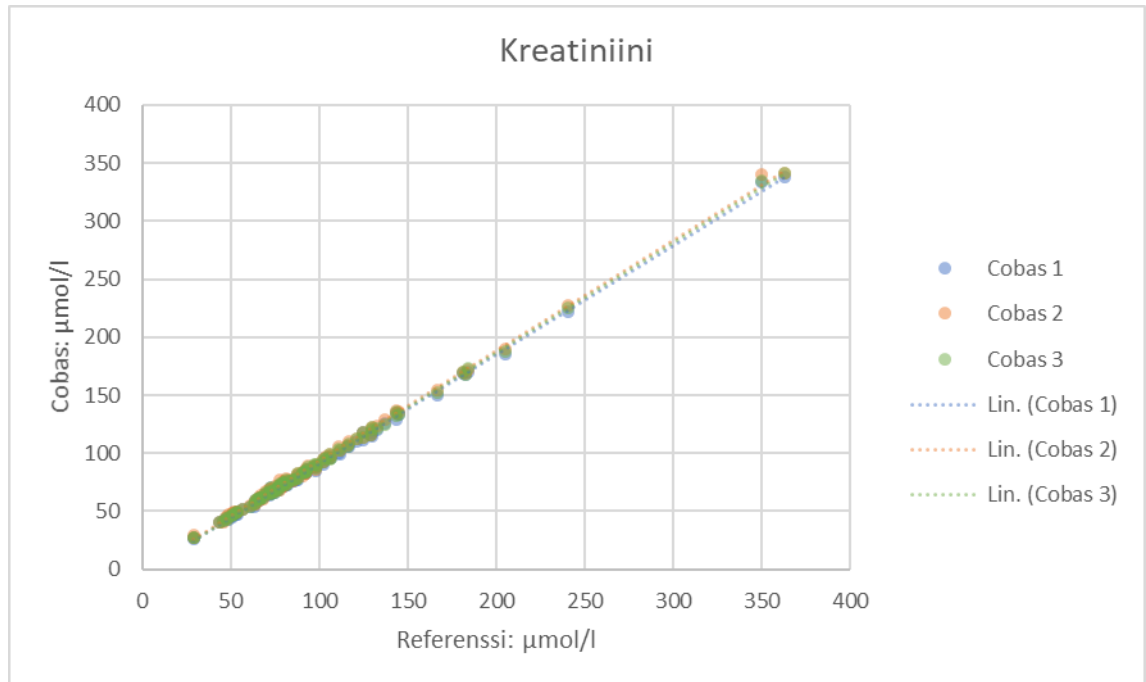
Lasketuista tuloksista kreatiniinille (**Virhe. Kirjanmerkin viittaus itseensä ei kelpaa.**) huomataan, että korrelaatio on erinomaista. Lineaarisen regression kulmakertoimen ja korkean negatiivisen vakion perusteella tulostason on matalampi referenssiin nähden (Kuvio 7). Kreatiniinin määrittämisessä Rochen pienillä kemian analysaattoreilla tulostason tiedetään olevan matalampi noin neljä yksikköä.

Labqualityn ulkoisen laaduntarkkailun tavoiteväliksi kreatiniinille on  $\pm 8\%$ , jonka ulkopuolelle suuri osa prosentuaalisista eroista sijoittuu (Kuvio 78). Tuloskorjattuna neljällä yksiköllä Cobas 1 prosentuaalinen ero ei osassa näytteissä pääse tavoiteväliin.

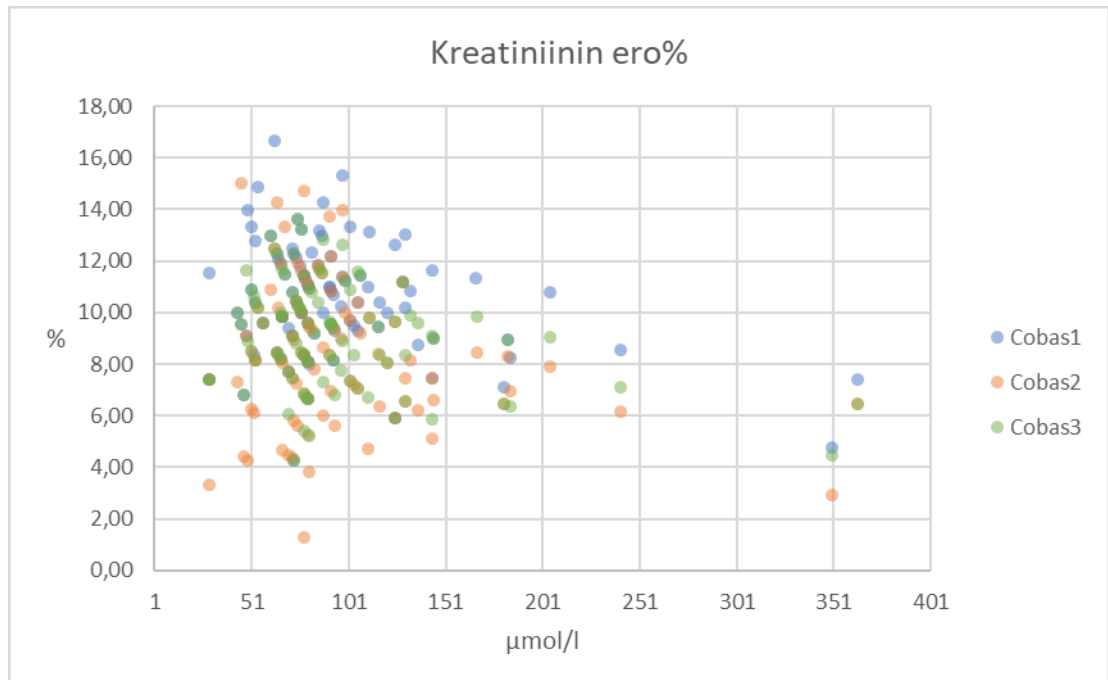
Taulukko 22: Kreatiniinin lasketut tulokset Cobas-analysointilaitteille.

Analysointilaitte	Korrelaatiokerroin (R)	Lineaarinen regressio
<b>Cobas 1</b>	0,999	$y = 0,937x - 2,710$
<b>Cobas 2</b>	0,999	$y = 0,951x - 2,465$
<b>Cobas 3</b>	0,999	$y = 0,945x - 2,415$





Kuvio 7: Kreatiniinin hajonta ja lineaarinen regressio.

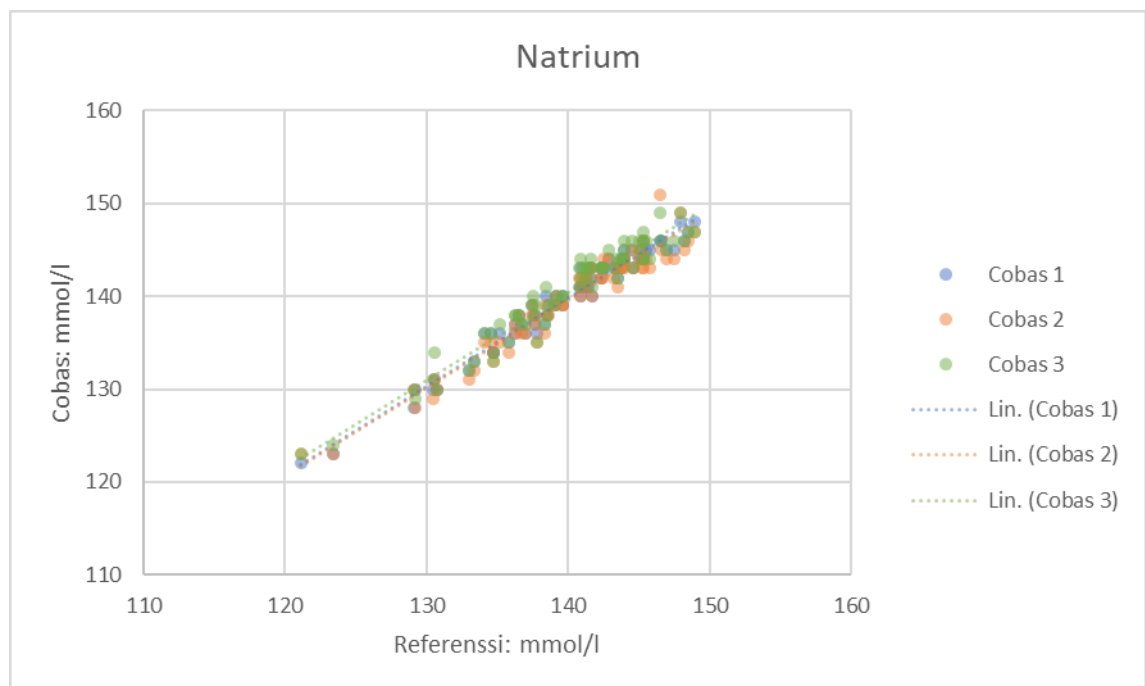


Kuvio 8: Kreatiniinin prosentuaalinen ero referenssiin.

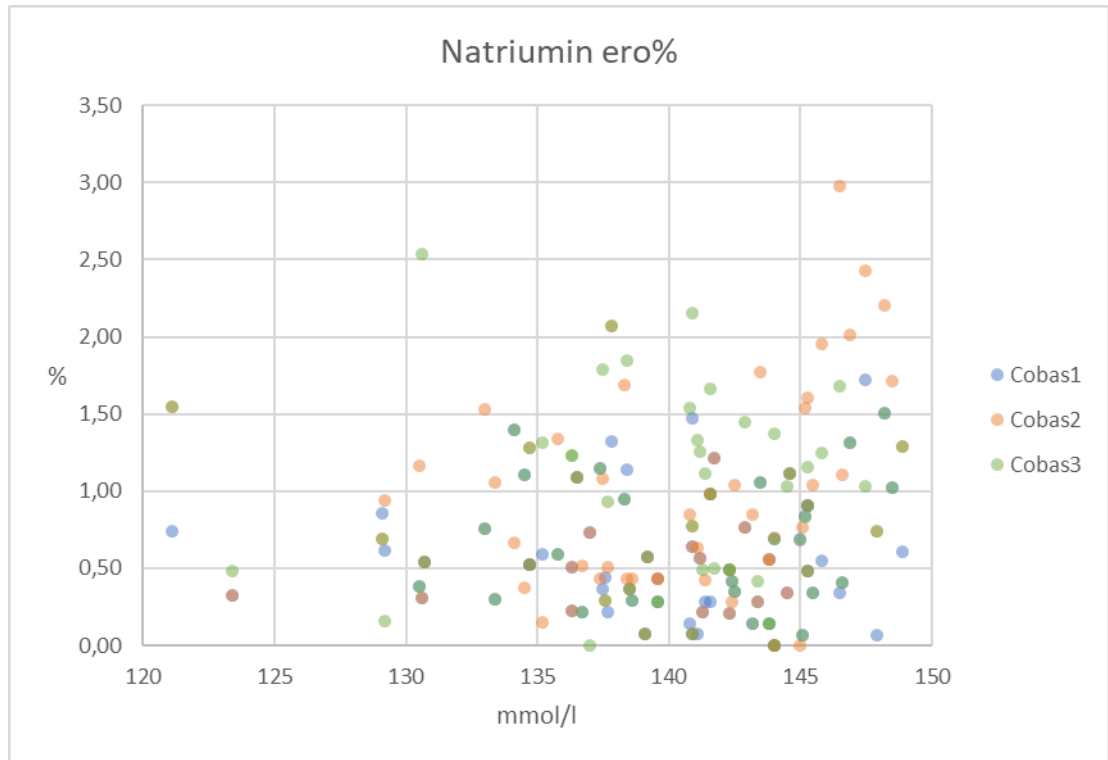
Natriumille laskutuista tuloksista nähdään, että korrelaatio referenssianalysointilaitteen mitaustuloksiin on hyvä ( $>0,95$ ). Lineaarisen regression kulmakerroin on alle yksi, mutta vakio-termi nostaa mitatulla alueella (120-150 U/l) tulostason samaan luokkaan (Kuvio 9). Ero prosentteina referenssiin on kaikilla analysointilaitteilla alle 3% (Kuvio 10).

Taulukko 23: Natriumille lasketut tulokset Cobas-analysointilaitteille.

Analysointilaitte	Korrelaatiokerroin (R)	Lineaarinen regressio
<b>Cobas 1</b>	0,985	$y = 0,951x + 6,724$
<b>Cobas 2</b>	0,968	$y = 0,948x + 6,923$
<b>Cobas 3</b>	0,970	$y = 0,945x + 8,172$



Kuvio 9: Natriumin hajonta ja lineaarinen regressio.



Kuvio 10: Natriumin prosentuaalinen ero referenssiin.

## 9 TULOSTEN ARVIOINTI JA POHDINTA

Valmistajan omissa mittauksissa toistettavuuksien hajonta vaihtelee suurestikin riippuen pitoisuudesta, joten saadut tulokset ovat yllättävän samanlaisia. Sarjan sisäisen toistettavuuden tuloksissa variaatiokertoimet olivat alhaisia ja valmistajan omien mittausten kanssa samalla tasolla. Sarjojen välisessä toistettavuudessa variaatiokertoimet olivat hieman suurempia valmistajan vastaaviin, mutta ei merkittävästi. ALATin mittauksen poikkeama sarjojen välisessä toistettavuudessa on selitettävissä. Myös yksi selittävä tekijä suurempaan variaatioon on pieni toistojen määrä.

Variaatiokertoimien ollessa alhaisia ja suuruusluokaltaan valmistajan vastaavilla pitoisuuksilla samankaltaisia voidaan sarjan sisäisen ja sarjojen välisen toistettavuuksien suorituskykyä tässä verifiointissa pitää yhtenevänä valmistajan mittauksiin.

Sarjojen sisäisen toistettavuuden osalta kontrolleilla päästiin tavoitteisiin, variaatiokertoimien ollessa huomattavan paljon pienempiä kuin kontrollien tavoitteet niin Rochen kuin Thermo Fisherin kontrolleilla. Toisaalta näin pitäisi ollakin, koska kontrollit ovat päivittäistoiminnan laadukkuuden ehto, johon analysointia pitäisi toistettavuudeltaan vähintäänkin kyetä.

Westgard QC ylläpitää tietokantaa ihmisten sisäisestä ja ihmisten välisestä vaihtelusta eri analyteille (Westgard QC 2014). Hajonnan laatutavoitteeksi on vakiintunut puolet yksilön sisäisestä biologisesta vaihtelusta (Kouri ym. 2005). Cobas c311 -analysointireilla päästiin suurimmaksi osaksi näihin laatutavoitteisiin sarjan sisäisessä ja sarjojen välisessä toistettavuudessa (Taulukko 24).

Tutkimus	Yksilön sisäinen biologinen vaihtelu (CV%)	Maksimi laskettu toistettavuus (CV%)
<b>ALAT</b>	19,4	9,70
<b>Gluk</b>	4,5	2,3
<b>K</b>	4,6	2,3
<b>Krea</b>	5,95	2,98
<b>Na</b>	0,6	0,3

Taulukko 24: Yksilön sisäinen biologinen vaihtelu tutkimuksittain ja maksimi vaihtelu toistettavuudelle.

Potilasnäytevertailussa kaikilla analyyteillä saavutettiin analysaattoreilla vähintäänkin hyvä korrelaatio ( $R > 0,95$ ) referenssianalysaattoriin nähden. Tulokset ovat suurimmalta osin Labqualityn ulkoisen laaduntarkkailun tavoiterajoissa. Suurimmat erot liittyivät kreatiniiniin, jonka matalampi tulostaso oli tiedossa. Näiden tuloksien perusteella voidaan todeta Cobas c311 -analysaattoreiden ja referenssianalysaattorin tulostason olevan yhteneväinen.

Tämän opinnäytetyön tuloksista laadittiin erillinen verifiointiraportti analysaattoreiden kelpoisuudesta potilasnäytetyöhön. Raportti käsittelee tässä opinnäytetyössä tarkasteltujen tutkimuksien lisäksi myös lipidit. Tässä opinnäytetyössä päädyttiin johtopäätöksiin on vastaava kemisti ottanut kantaa, ja hyväksynyt johtopäätökset.

Suurimmat ongelmat verifiointissa liittyivät säilytykseen tai olosuhteisiin. ALATin säilyvyys oli tiedossa, mutta siitä huolimatta säilytykseen ei kiinnitetty tarpeeksi huomiota. Ongelmallinen näyte oli näytepooli, jonka olisi voinut tehdä uusiksi. Näin ei kuitenkaan tehty ajanpuutteen ja alkuperäisen aikataulun vuoksi, jossa verifiointiraportti haluttiin valmistuvan alkusyksyksi.

Na -tutkimuksen toisen päivän tulosten poikkeavuus huomattiin sattumalta. Lasketuista tuloksista tai kuvaajista ei ole nähtävissä suoraan syytä tämän kaltaisiin poikkeamiin. Tässäkin säilytys on luultavasti ollut avainasemassa tuloksien poikkeavuuteen, mutta tätä ei varmistettu Tykslabista. Myös tulosten tarkempi läpikäyminen heti mittauksen jälkeen olisi ollut suotavaa. Tässä työssä tuloksia oli paljon, joten työn olisi voinut jakaa pienempiin osiin eikä käsitellä kaikkia tuloksia kerralla.

Jatkossa vastaavissa verifiointitöissä kannattaa kiinnittää huomiota säilytykseen sekä varmistaa olosuhteet potilasnäytteiden analysointien välissä. Työn jakamista pienempiin osiin voisi olla paikallaan.

Lähdemateriaali valittiin huolellisesti. Alan perustietoutta on etsitty lähinnä isojen kustantamoiden kliinisen kemian teoksista. Termien määrittelemisessä puolestaan hyödynnettiin kansainvälisiä ja VTT:n julkaisemia sanastoja. Suurimmat hankaluudet lähdemateriaalin etsimisessä aiheutti verifiointi -käsitteen vakiintumattomuus, eli verifiointista saatettiin puhua muilla nimikkeillä.

Tästä jatkettavia opinnäytetöitä voisi olla mittauksen oikeellisuuden arvioiminen eli mittauksen poikkeaman (harhan) laskeminen referenssiin nähden. Tällöin voitaisiin yhdessä näiden tulosten kanssa arvioida analysaattoreiden tarkkuutta tutkimuksissa.

Kreatiniinin osalta saattaa olla paikallaan tarkempi tutkiminen, koska toistettavuudessa valmistajan oman kontrollin tavoitearvosta poikkeaminen oli suurta.

## LÄHTEET

Bishop, M. L.; Fody, E. P.; Schoeff, L. E. 2018. Clinical Chemistry: Principles, Techniques, Correlations Eighth Edition. Philadelphia, Pennsylvania: Wolters Kluwer.

Burtis, C. A.; Bruns, D. E. 2015. Tietz Fundamentals of Clinical Chemistry and Molecular Diagnostics Seventh Edition. St. Louis, Missouri: Elsevier Saunders.

Burtis, A.; Ashwood, E. & Bruns, E. 2012. Tietz Textbook of Clinical Chemistry and Molecular Diagnostics. Fifth edition. Elsevier. St. Louis Missouri: Elsevier Saunders.

Cowan, R.; Gaw, A.; Murphy, M.; O'Reilly, D. & Srivastava, R. 2013. Clinical Biochemistry – An Illustrated Colour Text, 5. painos. Elsevier. Edinburgh: Elsevier Ltd.

Dasgupta, A. & Wahed, A. 2014. Clinical Chemistry, Immunology and Laboratory Quality Control A Comprehensive Review for Board Preparation, Certification and Clinical Practice. USA: Elsevier inc.

Eskelinen, S. 2016. Laboratoriotutkimusten tulkinta. Kalium (P-K). Viitattu 10.11.2018. [https://www.terveyskirjasto.fi/kotisivut/tk.koti?p\\_artikkeli=snk03062](https://www.terveyskirjasto.fi/kotisivut/tk.koti?p_artikkeli=snk03062)

FINAS. 2016. Kliiniset laboratoriot. Viitattu 10.11.2018. <https://www.finas.fi/akkreditointi/Akkreditointialueet/Sivut/Kliiniset-laboratoriot.aspx>

Halonen, T.; Hänninen, A.; Katila, M-L.; Laatikainen, A.; Laitinen, M.; Länsimies, E.; Mahlamäki, E.; Penttilä, I.; Tapola, H. & Vanninen, E. 2004. Kliiniset Laboratoriotutkimukset. Porvoo: WSOY.

Hiltunen, E.; Linko, L.; Hemminki, S.; Hägg, M; Järvenpää, E.; Saarinen, P.; Simonen, S.; Kärhä, P. 2011; Laadukkaan mittaamisen perusteet. Espoo: Metrologian neuvottelukunta ja Mittatekniikan keskus.

Holopainen, M.; Nummenmaa, L. & Pulkkinen, P. 2014. Tilastollisten menetelmien perusteet. Helsinki: Sanoma Pro Oy.

Hägg, M. 2016. Validoinnin suunnittelun opas. VTT Technology. Viitattu 07.10.18 <https://www.vtt.fi/inf/pdf/technology/2016/T276.pdf>

JCGM. 2012. International vocabulary of metrology – Basic and general concepts and associated terms (VIM). 3. painos. Viitattu 18.9.2018. [https://www.bipm.org/utis/common/documents/jcgm/JCGM\\_200\\_2012.pdf](https://www.bipm.org/utis/common/documents/jcgm/JCGM_200_2012.pdf)

Kankkunen, P. & Vehviläinen-Julkunen, K. 2013. Tutkimus hoitotieteessä. Helsinki: Sanoma Pro Oy.

Kouri T., Laitinen P. Sajanti E. 2005. Laadun rajat - 2s, 3s vain 6s. Kliinlab 6/2005.

Laitinen, P. 2018. Moodi 3/2018: Tulevaisuuden laadulliset haasteet laboratoriossa. Viitattu 29.10.2018. [http://portfolio-web.ess.fi/www/Moodi/2018\\_Moodi\\_03/pubData/source/Moodi\\_2018\\_3\\_UUSI\\_IISI.pdf](http://portfolio-web.ess.fi/www/Moodi/2018_Moodi_03/pubData/source/Moodi_2018_3_UUSI_IISI.pdf)

Magnusson, B.; Menditto, A. & Patriarca, M. 2007. Accreditation and quality assurance october 2007: Understanding the meaning of accuracy, trueness and precision. Viitattu 13.10.18. [https://www.researchgate.net/publication/226202473\\_Understanding\\_the\\_meaning\\_of\\_accuracy\\_trueness\\_and\\_precision](https://www.researchgate.net/publication/226202473_Understanding_the_meaning_of_accuracy_trueness_and_precision)

Magnusson, B. & Örnemark, U. 2014. Eurachem Guide: The Fitness for Purpose of Analytical Methods – A Laboratory Guide to Method Validation and Related Topics. Second edition. Viitattu 19.9.2018. [https://www.eurachem.org/images/stories/Guides/pdf/MV\\_guide\\_2nd\\_ed\\_EN.pdf](https://www.eurachem.org/images/stories/Guides/pdf/MV_guide_2nd_ed_EN.pdf)

Matveinen, K., Isotalo, H., Kantanen, M-L., Nuotio, K., Pohjola, V., Riutta, O., Venäläinen, E-R., Ehder, T. 2005. Kemian metrologian opas. Espoo: Metrologian neuvottelukunta ja Mittatekniikan keskus.

McPherson, A. & Pincus, M. 2011. HENRY'S Clinical Diagnosis and Management by Laboratory Methods 22:th edition. Philadelphia: Elsevier Saunders.

Roche. 2016. CREP2: creatinine plus ver. 2 reagent insert. Versio 13.0. Roche Diagnostics GmbH. Viitattu 09.09.2018. [https://pim-eservices.roche.com/eLD\\_SF/gb/en/Documents/GetDocument?documentId=ff7a9f50-e0ba-e611-b5a9-00215a9b3428](https://pim-eservices.roche.com/eLD_SF/gb/en/Documents/GetDocument?documentId=ff7a9f50-e0ba-e611-b5a9-00215a9b3428)

Roche. 2017a. GLUC2: Glucose HK ver. 2 reagent insert. Versio 14.0. Roche Diagnostics GmbH. Viitattu 09.09.2018. [https://pim-eservices.roche.com/eLD\\_SF/gb/en/Documents/GetDocument?documentId=5a37fc54-fb3f-e711-acb2-00215a9b3428](https://pim-eservices.roche.com/eLD_SF/gb/en/Documents/GetDocument?documentId=5a37fc54-fb3f-e711-acb2-00215a9b3428)

Roche. 2017b. ALTLP V13.0 reagent insert. Roche Diagnostics GmbH. Viitattu 15.09.2018. [https://pim-eservices.roche.com/eLD\\_SF/gb/en/Documents/GetDocument?documentId=f5391334-efd7-e611-83a7-00215a9b3428](https://pim-eservices.roche.com/eLD_SF/gb/en/Documents/GetDocument?documentId=f5391334-efd7-e611-83a7-00215a9b3428)

Roche. 2018. Viitattu 15.09.2018. <https://diagnostics.roche.com/global/en/products/instruments/cobas-c-311.html>

Saha, H. 2016. Suurentunut kreatiniiniarvo, eGFR ja munuaisten toiminnan tutkiminen. Kustannus Oy Duodecim. Viitattu 09.09.2018 [www.Terveysportti.fi](http://www.Terveysportti.fi) Artikkelin tunnus: ykt00272

SFS. 2017. SFS-EN ISO 15189. Lääketieteelliset laboratoriot. Laatua ja pätevyyttä koskevat vaatimukset. Helsinki: Suomen standardisoimisliitto.

Suomen Bioanalytikkoliitto ry. 2017. Eettiset periaatteet. Viitattu 16.09.2018. [https://www.bioanalytikkoliitto.fi/@Bin/659271/Eettiset+periaatteet\\_FI\\_print\\_2017.pdf](https://www.bioanalytikkoliitto.fi/@Bin/659271/Eettiset+periaatteet_FI_print_2017.pdf).

Theodorsson, E. 2012. Validation and verification of measurement methods in clinical chemistry. Bioanalysis. Vol. 4, No. 3.

Tutkimuseettinen neuvottelukunta. 2014. Hyvä tieteellinen käytäntö. Viitattu 16.09.2018. [http://www.tenk.fi/sites/tenk.fi/files/HTK\\_ohje\\_2012.pdf](http://www.tenk.fi/sites/tenk.fi/files/HTK_ohje_2012.pdf)

Tykslab Tutkimusohjekirja. 2018a. P-K. Viitattu 01.11.2018. <https://webohjekirja.mylabservices.fi/TYKS/index.php?test=1999>

Tykslab Tutkimusohjekirja. 2018b. P-Na. Viitattu 01.11.2018. <https://webohjekirja.mylabservices.fi/TYKS/index.php?test=3622>

Tykslab Tutkimusohjekirja. 2016a. P-Krea. Viitattu 15.09.2018 <http://webohjekirja.mylabservices.fi/TYKS/index.php?test=2142>

Tykslab Tutkimusohjekirja. 2016b. Pt-Krea-CI. Viitattu 15.09.2018 <http://webohjekirja.mylabservices.fi/TYKS/index.php?test=2146>

Tykslab Tutkimusohjekirja. 2016c. fP-Gluk. Viitattu 15.09.2018 <http://webohjekirja.mylabservices.fi/TYKS/index.php?test=1468>

Tykslab Tutkimusohjekirja. 2016d. P-ALAT. Viitattu 15.09.2018 <http://webohjekirja.mylabservices.fi/TYKS/index.php?test=1024>

UNODC. 2009. Glossary of Terms for Quality Assurance and Good Laboratory Practices. New York, USA: United Nations Publications.