

POHJOIS-KARJALAN AMMATTIKORKEAKOULU
Bioanalytiikan koulutusohjelma

Anne-Mari Salo

NÄYTTEEN VALOLLE ALTISTUMISEN VAIKUTUS PLASMAN KO-
KONASBILIRUBIINIPITOISUUTEEN

Opinnäytetyö
Lokakuu 2012



POHJOIS-KARJALAN
AMMATTIKORKEAKOULU

OPINNÄYTETYÖ
Lokakuu 2012
Bioanalytiikan koulutusohjelma

Tikkarinne 9
80200 JOENSUU
p. (013) 260 6600

Tekijä
Anne-Mari Salo

Nimeke
Näytteen valolle altistumisen vaikutus plasman kokonaisbilirubiinipitoisuuteen

Toimeksiantaja
Itä-Suomen laboratoriokeskuksen liikelaitoskuntayhtymä, Mikkelin aluelaboratorio

Tiivistelmä

Bilirubiini on sapsen väriaine, joka muodostuu pääosin hajooneiden punasolujen hemi-osista. Bilirubiinin pitoisuutta elimistössä tutkitaan yleensä epäiltäessä maksan toimintahäiriötä tai -sairautta. Bilirubiini hajoaa valkeassa ja UV-valossa. Tutkimuksen tarkoituksena oli selvittää bilirubiininäytteen valolta suojaamistarvetta laboratorioympäristössä. Tutkimuksessa käytettiin kvantitatiivista, kokeellista tutkimusmenetelmää.

Tutkimusmateriaali kerättiin kolmeltakymmeneltä (30) Mikkelin aluesairaalan asiakkaalta, jotka osallistuivat tutkimukseen vapaaehtoisesti. Jokaiselta vapaaehtoiselta otettiin neljä (4) putkea litium-hepariini-verta. Jokaista näytettä altistettiin valolle eripituisia aikoja. Altistusajat olivat 0, 2, 4 ja 24 tuntia. Näytteet analysoitiin Cobas-c-501-analysaattorilla.

Näytteistä saadut mittaustulokset analysoitiin Microsoft Excel 2007-ohjelmalla. Tuloksia analysoitiin tilastollisilla testeillä. Testien tulosten mukaan kokonaisbilirubiinin pitoisuudessa ei tapahdu tilastollisesti merkittävää muutosta näytteen altistuksessa valolle kaksi tai neljä tuntia. 24 tunnin altistuminen valolle muutti pitoisuutta huomattavasti.

Jatkotutkimusehdotuksena saman tutkimuksen voisi tehdä altistamalla näytteitä erittäin aurinkoisena päivänä ja eripituisilla altistusajoilla. Olisi käytännöllistä tietää, milloin pitoisuuden muutos vaihtuu tilastollisesti merkittäväksi.

Kieli
suomi

Sivuja 35
Liitteet 7
Liitesivumäärä 13

Asiasanat
bilirubiini, valolta suojaaminen, valolle altistaminen,



THESIS
October 2012
Degree Programme in Biomedical Sciences
Tikkariinne 9
FIN 80200 JOENSUU
FINLAND
Tel +358-13-260 6600

Author

Anne-Mari Salo

Title

The Effect of Light Exposure on the Concentration of Bilirubin in Plasma Samples

Commissioned by

Eastern Finland Laboratory Centre Joint Authority Enterprise (ISLAB), Regional Laboratory of Mikkeli

Abstract

Bilirubin is the pile pigment, which is formed mainly from the breakdown of heme groups in red blood cells. Bilirubin concentration in plasma is usually tested when a liver disease or failure is suspected. Bilirubin breaks down in ultraviolet or white light. The purpose of this study was to find out if it is necessary to protect bilirubin samples from light in a laboratory environment. The study was carried out using a quantitative research method.

The study material was collected from 30 volunteer clients visiting the District Hospital of Mikkeli. Four tubes of lithium heparin blood were collected from every volunteer. Samples were exposed to light for zero, two, four and twenty-four hours. Samples were analysed by Cobas-c-501-analyser.

Results were analysed with the Microsoft Excel 2007 Program. Results were tested with correlation and the two-tailed t-test. Test results revealed that if a sample was exposed to light for two or four hours, the bilirubin concentration did not change significantly. In the case of 24-hour exposure, the concentration changed significantly.

In a follow-up study, samples could be exposed to a very strong sunlight and the length of exposure could vary. It would be useful to know how long it takes for the bilirubin concentration to change significantly in extreme conditions

Language
Finnish

Pages 35
Appendices 7
Pages of Appendices 13

Keywords:

bilirubin, protection from light, exposure to light

Sisältö

Tiivistelmä

Abstract

| | | |
|-----|---|----|
| 1 | Johdanto..... | 5 |
| 2 | Bilirubiini | 6 |
| 2.1 | Bilirubiinin metabolia | 8 |
| 2.2 | Elimistön poikkeavat bilirubiiniarvot..... | 9 |
| 2.3 | Bilirubiiniarvoihin vaikuttavat perinnölliset sairaudet | 10 |
| 3 | Bilirubiininäytteen laboratoriotutkimusprosessi | 11 |
| 3.1 | Preanalyttinen vaihe..... | 12 |
| 3.2 | Analyttinen vaihe | 14 |
| 3.3 | Postanalyttinen vaihe | 15 |
| 3.4 | Laadunvarmistus..... | 15 |
| 4 | Tutkimuksen tarkoitus ja tutkimusongelmat..... | 17 |
| 5 | Toimintaympäristö ja tutkimuksen toteutus..... | 18 |
| 5.1 | Tutkimusmenetelmä..... | 19 |
| 5.2 | Tutkimusmateriaalin hankinta | 20 |
| 5.3 | Näytteiden altistaminen valolle..... | 22 |
| 5.4 | Näytteiden analysointi | 23 |
| 6 | Tilastolliset tunnusluvut | 25 |
| 6.1 | Korrelaatiokerroin..... | 25 |
| 6.2 | Parittainen t-testi | 26 |
| 7 | Tulokset..... | 26 |
| 7.1 | Kahden tunnin altistus..... | 27 |
| 7.2 | Neljän tunnin altistus | 28 |
| 7.3 | Kahdenkymmenenneljän tunnin altistus..... | 29 |
| 8 | Johtopäätökset | 29 |
| 9 | Pohdinta | 30 |
| 9.1 | Tutkimuksen luotettavuus | 31 |
| 9.2 | Tutkimuksen eettisyys..... | 32 |
| 9.3 | Jatkotutkimusaiheita..... | 33 |
| | Lähteet..... | 34 |

Liitteet

| | |
|---------|--|
| Liite 1 | Toimeksiantosopimus |
| Liite 2 | Islab:n tutkimuslupahakemus |
| Liite 3 | Näytteenotto-ohjeistus Mikkelin aluelaboratorioon |
| Liite 4 | PreciControl ClinChem Multi-kontrollien käyttö- ja valmistusohjeet |
| Liite 5 | Precibil-kontrollin käyttö- ja valmistusohjeet |
| Liite 6 | Näytteiden bilirubiini-pitoisuudet |
| Liite 7 | Parittaisten t-testien tulostaulukot |

1 Johdanto

Bilirubiini on elimistössä muodostuva yhdiste. Hemoglobiinin hemi on happea sitova rakenneosia, joka vapautuu punasolun hajoamisessa. Elimistössä hemistä muokataan entsyymaattisesti bilirubiinia. Bilirubiini poistetaan elimistöstä maksassa, joka muuttaa sen osaksi sappia. Sappien mukana bilirubiini päätyy ruuansulatuskanavaan ja sitä kautta pois elimistöstä. (Kaukua & Mustajoki 2008.)

Laboratoriotutkimuksissa on tärkeää, että näyte on laadukas. Preanalyttiset tekijät vaikuttavat myös bilirubiinin tuloksiin. Näyte on hyvä ottaa aamulla, koska pitoisuus on silloin korkeimmillaan. Näytteen hemolyysillä ja lipeemisyydellä on myös vaikutusta tuloksiin. (Matikainen, Miettinen & Wasström 2010, 19-20.) Bilirubiinin kannalta näytteen valolta suojaaminen on tärkeää, koska se hajoaa valkoisessa ja UV-valossa (Ashwood & Burtis 1999, 1136).

Nykyisin useimpien laboratorioden työohjeissa kehoitetaan suojaamaan valolta näyte, josta määritetään bilirubiinin pitoisuus. Valon vaikutusta bilirubiiniin laboratorioympäristössä ja myös näytteen suojaamistarvetta ryhdyttiin epäilemään. Tutkimuksen tuloksia voidaan käyttää laboratorion toiminnan kehittämiseen. (Islab 2012.) Tämän opinnäytetyön tarkoituksena oli tutkia valolta suojauksen merkitystä laskimoverinäytteen plasmasta määritettävän kokonaisbilirubiinin pitoisuuteen. Toimeksiantajana toimi Itä-Suomen laboratoriokeskuksen liikelaitoskuntayhtymä, Mikkelin aluelaboratorion kliinisen kemian laboratorio. Liitteessä 1 on esitetty toimeksiantosopimus työstä. Näyttemateriaali oli kerätty aluelaboratorion asiakkailta. Työ ja mittaukset suoritettiin myös aluelaboratorion tiloissa.

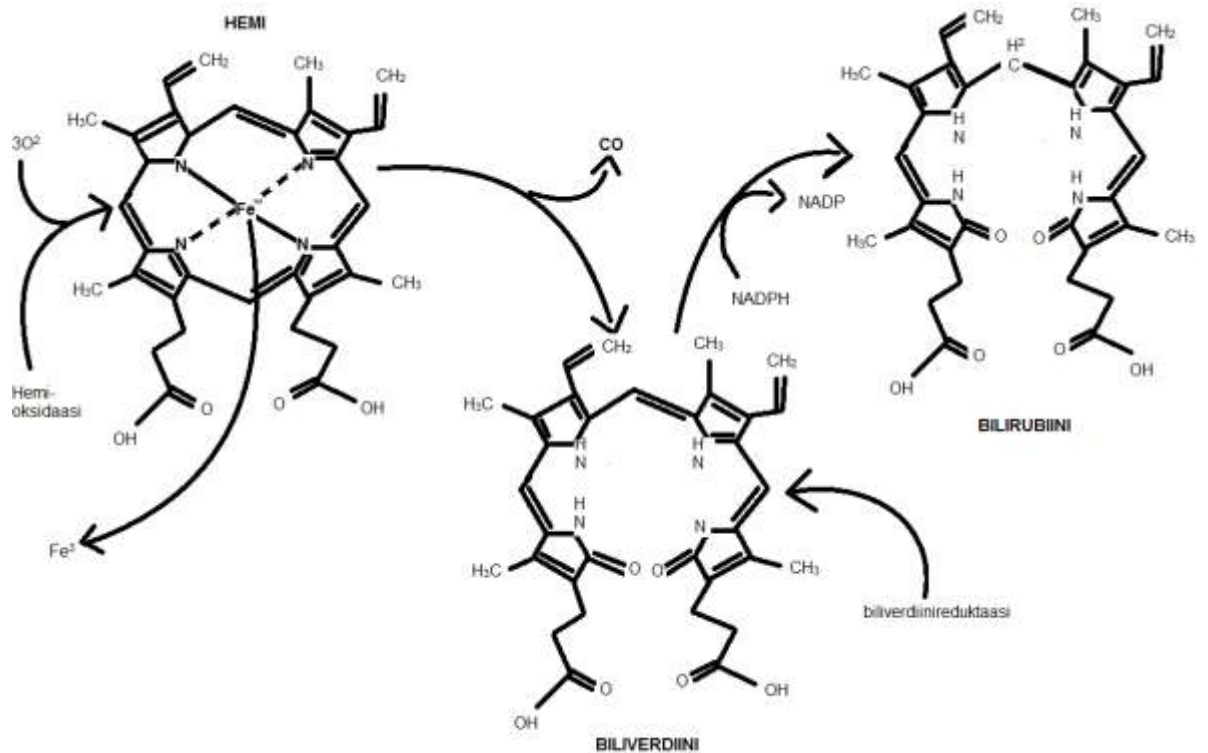
2 Bilirubiini

Bilirubiini on sappinesteen oranssin-keltainen väripigmentti, jota syntyy hemoproteiinien hajoamisessa. Noin 85 prosenttia päivittäin muodostuvasta bilirubiinista on peräisin hajoaneiden punasolujen hemi-osasta. Bilirubiinia muodostuu elimistössä noin 250 - 300 mg päivässä. (Ashwood & Burtis 1999, 1133 - 1134.) Terve maksa pystyy metaboloimaan bilirubiinia kymmenkertaisen määrän päivittäisen muodostumismäärään nähden. Bilirubiinipitoisuutta plasmassa käytetään yleensä maksan toiminnasta kertovana laboratoriomäärityksenä. (Marshall 1995, 74.)

Punasolun elinikä terveellä ihmisellä on keskimäärin 120 vuorokautta. Punasolun hajotessa hemoglobiini siirtyy elimistön retikuloendoteliaalijärjestelmään (RES), jossa hemoglobiinin rauta ja proteiinosien aminohapot saadaan talteen ja uudelleen käyttöön. Hemi-osa katabolisoidaan bilirubiiniksi. (Penttilä 2004, 233.)

Retikuloendoteliaalijärjestelmä toimii pääasiassa elimistön maksassa, pernassa ja luuytimessä. Näiden elinten sinusoidirakenteissa toimii 40–50% solukannasta koostuva makrofagi-ryhmä. Pernan makrofagit ja maksan Kupffer-solut sekä maksasolut määräävät nopeuden, jolla hemiä muunnetaan bilirubiiniksi. (Jandl 1987, 89 - 90.)

Hemiä hajotetaan ihmiselimistössä mikrosomaalientsyymisellä menetelmällä, johon tarvitaan NADPH:ta ja O₂:ta. Ensimmäinen tapahtuva reaktio on hapetusreaktio, jossa hemioksideasi-entsyymi hapettaa hemin. Näin saadaan avattua hemin rakenne ketjumaiseksi ja irrotettua rautaa. Reaktiossa muodostuu myös CO:ta. Tähän reaktioon vaaditaan O₂:ta. Ilman sitä reaktiota ei tapahdu. Uuden yhdisteen nimi on nyt biliverdiini. Biliverdiini pelkistyy bilirubiiniksi, jos reaktioon on saatavilla NADPH:ta. Biliverdiinin pelkistää biliverdiinireduktaasi, ja lopputuloksena on bilirubiini (kuva 1). Bilirubiinia muodostuu myös myoglobiinista ja sytokromista. (Ashwood & Burtis 1999, 1134.)



Kuva 1. Hemin hajoaminen bilirubiiniksi mukailten Benhamou, Blei, Reichen, Rizzetto & Rodés 2007.

Tämän vaiheen bilirubiinia kutsutaan vapaaksi bilirubiiniksi. Vapaa bilirubiini on rasvaliukoinen ja liukenee siis huonosti veteen, eikä sitä siksi pystytä erittämään esimerkiksi virtsaan. Rasvaliukoisuutensa ansiosta vapaa bilirubiini pystyy läpäisemään elimistön solukalvoja. (Mayne, Pannall & Zilva 1990, 289.)

Sisällä solussa bilirubiini pystyy mahdollisesti olemaan elimistölle toksinen ja aiheuttamaan vahinkoa jopa aivoille. Jotta vältettäisiin vapaan bilirubiinin pääsy soluihin ja aivoihin, se sidotaan plasman albumiiniin proteiinisidoksella kuljetusta varten. Sidottu bilirubiini ei ole vaarallista, koska proteiini-sidos estää solukalvojen läpäisyä. Vapaan bilirubiinin määrä plasmassa voi kuitenkin nousta, jos sen määrä ylittää plasman albumiinin konsentraation. (Mayne ym. 1990, 289.)

2.1 Bilirubiinin metabolia

Albumiinin tehtävänä on siis kuljettaa bilirubiinia metaboloitavaksi maksaan. Maksassa albumiinin ja bilirubiinin välinen sidos puretaan ja bilirubiini ohjataan maksasoluun. Bilirubiini sitoutuu solukalvon ligandiin päästäkseen sisään maksasoluun. (Mayne ym. 1990, 289 - 290.)

Sisällä solussa bilirubiini kuljetetaan sileään solulimakalvostoon, jossa siihen liitetään glukuronihappo. Kun bilirubiinimonoglukuroni poistuu maksasolusta, liitetään tähän usein toinenkin glukuronihappo. Nämä tapahtumat voivat tapahtua vain, jos paikalla on vapaasti virtaavaa sappea. Glukuronihappojen liittäminen bilirubiiniin vaatii energiaa. Juuri nämä reaktiot jäävät puuttumaan normaalista kierrosta bilirubiinin kertyessä elimistöön maksavaurion seurauksena. (Mayne ym. 1990, 289 - 290.)

Muodostuneesta bilirubiinin ja glukuronihapon, tai – happojen, yhdisteestä käytetään nimeä konjugoitunut bilirubiini. Konjugoitunut bilirubiini, joka on vesiliukoinen, pystytään turvallisesti erittämään sappeen ja sapen mukana ohutsuoleen. Sapen bilirubiinista 90 prosenttia on bilirubiinidiglukuroni-muodossa. (Ashwood & Burtis 1999, 1135.)

Konjugoitunut bilirubiini erittyy sapen mukana suolistoon. Suolistossa bakteerit hajottavat bilirubiinia urobilinogeeniksi ja muiksi hajoamistuotteiksi, kuten sterkobiliiniksi (ulosteen ruskea pigmentti). Urobilinogeenia imeytyy suolistosta myös takaisin elimistöön, mutta tämä erittyy elimistöstä taas takaisin sappeen. Ulosteeeseen erittyy bilirubiinia päivässä noin 170-300 µmol. Pieniä määriä urobilinogeenia voi erittyä myös virtsaan. Normaali raja on alle 7 µmol/päivässä. Virtsaan erittyessään urobilinogeeni voi hapettua urobiliiniksi, joka on värillinen yhdiste. (Mayne ym. 1990, 290 - 291.)

2.2 Elimistön poikkeavat bilirubiiniarvot

Normaalitilanteessa veren plasmassa on bilirubiinia alle 20 $\mu\text{mol/l}$. Veren korkeaa bilirubiinipitoisuutta kutsutaan hyperbilirubinemiaksi. (Niemelä & Pulkki 2010, 168.) Kun bilirubiini kerääntyy elimistöön, se aiheuttaa keltaisuutta eli ikterusta. Ikterus on silminnähtävää vasta, kun pitoisuus veressä ylittää 35 $\mu\text{mol/l}$. Pitoisuus voi ylittyä bilirubiinituotannon kasvaessa korkeammaksi, kuin mitä maksa pystyy erittämään pois elimistöstä. (Mayne ym. 1990, 287 - 289.) Ikterus alkaa näkyä myös iholla, kun bilirubiinia on plasmassa yli 50 $\mu\text{mol/l}$ (Niemelä & Pulkki 2010, 168). Ihmisen alkavan keltaisuuden havaitsee parhaiten silmän valkuaisista (Penttilä 2004, 234).

Bilirubiinin elimistöön kertymisen syynä voivat olla erilaiset erittymisen esteet. Esteitä voivat aiheuttaa esimerkiksi tukos sappiteissä, sappikivet, jolloin sapen erityys suoleen estyy. Maksassa voi ilmetä bilirubiinin kuljetushäiriö tai maksan-solujen vaurioita. Vaikka bilirubiinin erityksikin normaalisti, voi elimistö tuottaa sitä liikaa. Liikatuotanto johtuu yleensä punasolujen nopeutuneesta hajoamisesta eli hemolyysistä. Myös useat lääkeaineet voivat aiheuttaa vapaan bilirubiinin pitoisuuden nousun veressä (Penttilä 2004, 234 - 235.)

Hemolyyttinen keltaisuus ei johdu maksasairaudesta. Hemolyysistä johtuvassa keltaisuudessa bilirubiinipitoisuus ei nouse kovin korkeaksi, koska terve maksa pystyy erittämään suuriakin määriä bilirubiinia päivässä. Yleensä vapaan bilirubiinin pitoisuus pysyy alle 70 $\mu\text{mol/l}$:ssa. (Mayne ym. 1990, 298 - 299.)

Aikuisilla maksavauriosta tai hemolyysistä johtuvaan keltaisuuteen liittyvät yleensä sekä vapaan että konjugoituneen bilirubiinin nousset pitoisuudet plasmassa. Konjugoituneen bilirubiinin pitoisuus ei nouse niin paljon kuin vapaan bilirubiinin. Konjugoitunut muunnos on vesiliukoinen, joten se pystytään erittämään vaihtoehtoisesti virtsaan. Korkeiden bilirubiinitulosten kohdalla tulee siis tutkia myös virtsan bilirubiinipitoisuus. (Mayne ym. 1990, 290.)

Virtsan urobilinogeenipitoisuus on yleensä kohonnut merkittävässä hemolyysitiloissa. Hemolyysissä bilirubiinia eritetään toimivaan suolistoreittiin suuria määriä. Suolistossa tapahtuu kuitenkin paljon takaisin imeytymistä. Maksan kapasiteetti ei enää riitä erittämään kaikkea bilirubiinia sappeen, vaan erityisesti tapahtuu virtsan kautta. (Mayne ym. 1990, 290.)

Tumman värinen virtsa voi olla myös ensimmäinen merkki mahdollisesta maksa- tai sappiteiden sairaudesta. Virtsasta löytyy tällöin konjugoitunutta bilirubiinia, joka ei ole päässyt erittymään normaalia reittiään. Konjugoitunut bilirubiini pääsee tällöin erittymään pelkästään virtsan kautta. (Mayne ym. 1990, 290.)

Kun vapaa bilirubiinipitoisuus ylittää plasman albumiinin kyvyn sitoa sitä kaikkea itseensä pääsee tämä elimistön soluihin ja jopa aivoihin. Tila, jossa bilirubiini on päässyt aivoihin, kutsutaan kernikerukseksi. Tila on vakava ja voi johtaa pysyviin aivovaurioihin ja jopa kuolemaan. Näissä tapauksissa bilirubiinia hajotetaan ultraviolettivalolla ihon läpi. (Mayne ym. 1990, 299, 352 - 353.)

Keskosilla muodostuu elämän alkuvaiheessa enemmän vapaata bilirubiinia, koska heillä punasolujen elinkaari on lyhyempi ja hemoglobiinipitoisuus romahuttaa ensimmäisen elinviikon aikana. Myös synnytyksestä johtuvat mustelmat nostavat bilirubiinin pitoisuutta. Vähäinenkin bilirubiinin tuotannon nousu aiheuttaa vastasyntyneille keltaisuutta, koska maksan entsyymit eivät ole vielä täysin kehittyneet. Vastasyntyneellä vapaan bilirubiinin pitoisuus voi nousta 400 - 500 $\mu\text{mol/l}$:iin. (Mayne ym. 1990, 299, 352-353.)

2.3 Bilirubiiniarvoihin vaikuttavat perinnölliset sairaudet

On olemassa perinnöllisiä sairauksia, joissa hyperbilirubinemia on ainoa löytyvä poikkeavuus. Vapaan bilirubiinin hyperbilirubinemiaa esiintyy Gilbertin taudissa ja Crigler-Najjar-oireyhtymässä. Konjugoituneen bilirubiinin hyperbilirubinemiaa havaitaan Dubin-Johnson- sekä Rotor-oireyhtymässä. (Mayne ym. 1990, 299-300.)

Gilbertin taudissa plasman bilirubiinipitoisuus on 20-40 $\mu\text{mol/l}$ ja harvemmin pitoisuus saattaa nousta jopa 80 $\mu\text{mol/l}$:iin. Pitoisuus siis heittelee ja nousee yleensä paastotessa tai sairauksissa. Tauti voidaan löytää minkä ikäisenä tahansa, mutta yleensä se ilmenee toisen vuosikymmenen jälkeen. Taudin laukaisee yleisimmin lievä sairastuminen, esimerkiksi flunssa, jonka jälkeen bilirubiinipitoisuus ei enää laske normaalille tasolle. Keltaisuudesta ja korkeasta bilirubiinipitoisuudesta johtuen tauti voidaan helposti diagnosoida hepatiitiksi. Tauti on harmiton, mutta aina on varmistuttava, ettei kyseessä ole hepatiitti tai hemolyysi. (Mayne ym. 1990, 299.)

Crigler-Najjar-oireyhtymä havaintaan yleensä jo lapsen syntyessä. Kyseessä on vakavampi sairaus kuin Gilbertin tauti. Oireyhtymässä on maksan glukuronitransferaasien vajaustila. Vapaan bilirubiinin määrä plasmassa kasvaa, kun albumiinia ei enää riitä sitomaan sitä. Oireyhtymästä tiedetään olevan kahta eri tyyppiä; resessiivinen ja dominoiva. Sairauteen on olemassa lääkkeitä, jotka alentavat veren vapaan bilirubiinin pitoisuutta. (Mayne ym. 1990, 300.)

Dubin-Johnson-oireyhtymässä konjugoituneen bilirubiinin erityis on puutteellinen, mutta sapen erityis on normaali. Plasman konjugoitunut bilirubiinipitoisuus on hiukan kohonnut, ja sillä on taipumusta heilahdella. Ylimääräisen bilirubiinin ollessa konjugoituneessa muodossa on mahdollista, että se erittyy virtsaan. Maksa on muuttunut tumman ruskeaksi. Oireyhtymä on harmiton, ja diagnoosi voidaan varmistaa maksabiopsialla. Rotor-oireyhtymä on Dubin-Johnson-oireyhtymän kanssa samantyyppinen sairaus, mutta Rotorissa ei tapahdu maksan pigmentin muutosta. (Mayne ym. 1990, 300.)

3 Bilirubiininäytteen laborioritutkimusprosessi

Laborioritutkimusprosessi koostuu kolmesta vaiheesta: preanalyttisestä, analyttisestä ja postanalyttisestä vaiheesta. Prosessin käynnistää tarve laborioritutkimukseen asiakkaan terveydentilan arvioimiseksi. (Matikainen ym. 2010, 10.)

3.1 Preanalyttinen vaihe

Preanalyttinen vaihe luo perustan laboratoriotutkimuksen luotettavuudella. Tekijöitä, jotka vaikuttavat näytteeseen ennen sen analysointia, kutsutaan preanalyttisiksi tekijöiksi. Osaan tekijöistä pystytään vaikuttamaan, kuten asentoon, ravitsemustilaan ja vuorokaudenaikaan. Toisiin tekijöihin ei voida vaikuttaa, kuten asiakkaan ikään tai sukupuoleen. (Matikainen ym. 2010, 12.)

Vuorokauden ajalla on merkitystä elimistön bilirubiinipitoisuuteen. Elimistössä bilirubiinin määrä on korkeimmillaan aamulla. Näytteen bilirubiinimäärä voi vaihdella oikeasta arvosta jopa 20 prosenttia, jos näyte on otettu muuna vuorokaudenaikana. (Lehto, Rautajoki & Tuokko 2008, 27.)

Ravinnon nauttiminen ennen näytteenottoa vaikeuttaa bilirubiinin määrittämistä. Valon imeytymiseen perustuvassa tutkimuksessa ravinnosta vereen imeytyvä rasva, lipemisyys, häiritsee bilirubiinin määrittämistä plasmasta. Kirkas näyte imee valoa eri tavalla kuin lipeminen. (Matikainen ym. 2010, 19 - 20.) Lipemisyys aiheuttaa mittaustuloksen laskemista (Islab 2010). Lipemiassa tapahtuu vesitiilan syrjäytymistä, joka johtuu näytteen epähomogeenisyydestä. Lipemia aiheuttaa näytteessä siis sameutta, joka häiritsee yhdisteiden pitoisuuden määrittämiseen käytettäviä kolorimetri-, fluorometri- tai kemiluminesenssi-menetelmiä. Näytteen bilirubiini aiheuttaa näytteessä keltaisuutta, ikteruksen. (Leino 2008, 68.)

Näytteenotosta johtuvaa hemolyysiä tulisi välttää, koska hemolyyttisen näytteen vapautunut hemoglobiini antaa diatso-menetelmällä vääriä matalia pitoisuuksia bilirubiinista (Tietz 1987, 737). Auringonvalo hajottaa bilirubiinia, joten näyte tulee suojata valolta näytteenoton jälkeen (Matikainen ym. 2010, 42). Hemolyysin aiheuttaa näytteenotossa hajonneiden punasolujen hemoglobiini. Hajoamisessa myös muita verisolujen yhdisteitä vapautuu plasmaan tai seerumiin. Hemolyysi vaikuttaa mitattavien yhdisteiden pitoisuuksiin nostattavasti, jos pitoisuus on korkeampi punasoluissa kuin plasmassa. Näitä ovat esimerkiksi ent-

syymit, magnesium, rauta, folaatti ja ferritiini. Hemolyysillä voi olla myös pitoisuutta laskeva vaikutus. Solujen hajotessa vapautuu hajottavia entsyymejä ja muita yhdisteitä, jotka pääsevät pilkkomaan plasman yhdisteitä, kuten insuliinia. (Leino 2008, 68.)

Näyte vaatii useimmiten jonkinlaisen esikäsittelyn, ennen kuin se pystytään analysoimaan. Plasma- ja seerumi-verinäytteet erotellaan verisoluista sentrifugoilla, koska ilman erottelua tapahtuu aineiden vaihtoa plasman ja solujen välillä. (Matikainen ym. 2010, 42 - 43.) Bilirubiini analysoidaan plasmasta. Laskimoverinäyte otetaan antikoagulanttia sisältävään hepariiniputkeen ja sekoitetaan huolellisesti heti, kun näyte on saatu putkeen. Näytteen annetaan jäähtyä huoneenlämpöiseksi. Plasma saadaan erotettua verensoluista sentrifugoimalla näyteputkenvalmistajan suosittelmalla kierrosnopeudella. (Lehto ym. 2008, 11.)

Näytteen säilytys varmistetaan laboratorion ohjekirjasta, jos se aiheuttaa epärointiä. Säilytys voi vaikuttaa näytteen tuloksiin. Säilytys ei saa muuttaa tutkittavan analyysin koostumusta tai pitoisuutta näytteessä. Väärä säilytys voi pilata koko näytteen. Säilymisen kannalta tärkeä on säilytyslämpötila. Toiset näytteet säilyvät huoneenlämmössä yönkin yli, toiset vaativat säilytystä jääkaapissa. (Lehto ym. 2008, 11.) Näytteessä voi tapahtua kemiallisia reaktioita, aineet voivat muuttaa muotoaan, niitä voi tulla lisää tai ne voivat hajota näytteenoton jälkeen. Näyte tulee aina säilyttää astiassa, joka on suljettu, ettei näytteeseen kulkeudu ulkopuolisia aineita kuten bakteereita. Näytelle ei saa tapahtua haihtumista ja muuta koostumuksen muutosta. (Matikainen ym. 2010, 42.)

Bilirubiinille tapahtuu foto-hapettumista eli hajoamista valkoisessa ja UV-valossa. Näyte tulee suojata suoralta altistumiselta keinotekoiselle tai auringonvalolle heti näytteenoton jälkeen. Näytettä on hyvä säilyttää pimeässä ja alhaisessa lämpötilassa. Näyte säilyy jääkaappilämpötilassa kolme päivää ja pakastettuna -70 °C:ssa kolme kuukautta. (Ashwood & Burtis 1999, 1136.)

3.2 Analyyttinen vaihe

Analyttisessä vaiheessa näytteestä määritetään halutun analyytin pitoisuus, esiintyvyys tai osuus. Analysointiin käytetään jokaiselle kliiniselle tutkimukselle omaa menetelmää, joka on testattu ja hyväksytty. Laitteiston antamien tulosten oikeellisuus pitää pystyä jäljittämään ja varmentamaan. Koneellistuneet analyttisen vaiheen toimet on helppo varmentaa ja jäljittää. Tästä syystä analyttisessä vaiheessa sattuu laboratoriotutkimusprosessissa vähiten virheitä. (Lehto ym. 2008, 11.)

Ennen näytteen analysointia sille tehdään visuaalinen arviointi. Tarkoitus on havaita näytteessä olevat analyysia häiritsevät tekijät. Häiritsevilla tekijöillä on vaikutusta määrittämisen tuloksen luotettavuuteen. Tavallisimmat häiriötekijät ovat hemolyysi, ikterus ja lipemia. Automaattianalysointilaitteet pystyvät nykyisin havaitsemaan näytteistä nämä häiriötekijät. Tulosten oikeellisuutta tulee kuitenkin aina arvioida analysointilaitteen antamien huomautusten lisäksi. Kyseenalaisissa tuloksissa on hyvä määrittää näytteen pitoisuus uudelleen. Näytteestä on saatava poistettua häiriötekijät esimerkiksi voidaan käyttää jotakin käsittelytekniikkaa. Vaihtoehtoinen mittausmenetelmä voi myös auttaa. Jos näyte on analyysikelvoton kaikissa näissä tapauksissa, asiakkaalta pyydetään yleensä uutta näytettä. (Leino 2008, 68.)

Bilirubiinimäärityksessä käytetään yleisimmin diatsoreaktiota. Diatsoreagenssin diatsonium-ioni reagoi plasman bilirubiinin kanssa muodostaen atsobilirubiinia. Näytteen väri muuttuu punertavan violetiksi neutraalissa pH:ssa ja happamassa tai emäksisessä näytteessä siniseksi. (Ashwood & Burtis 1999, 1136.) Näytteen kokonaisbilirubiinin määrä on suoraan verrannollinen näytteen atso-värin intensiivisyyteen, joka mitataan aallonpituudella 564 nm. Viitearvot kokonaisbilirubiinista plasmasta määritettynä on kaikilla ikäryhmillä 5-25 µmol/l. Kokonaisbilirubiinin pystyy määrittämään myös seerumista tai EDTA-kokoverestä. (Islab 2010.)

3.3 Postanalyytinen vaihe

Postanalyytisessä vaiheessa mietitään analyysin onnistumista ja tulosten luotettavuutta. Tarkastellaan siis analyytisen vaiheen virheraportit sekä löytyykö itse näytteestä joitakin häiriötekijöitä, kuten hemolyysiä. Tulosten luotettavuutta voidaan arvioida myös kontrollinäytteiden avulla, joita analysoidaan laitteella tietyn väliajoin. (Lehto ym. 2008, 11.) Bilirubiinin pitoisuus kontrolloidaan kerran päivässä.

Postanalyytisessä vaiheessa virheitä tapahtuu enemmän kuin analyytisessä vaiheessa. Analyytinen vaihe on nykyisin koneellistunut ja virheitä tapahtuu silloin vähemmän. Preanalyytisessä vaiheessa virheitä tapahtuu eniten, koska tämä koostuu monesta osasta ja useampi ihminen on vuorovaikutuksessa tilanteessa. Postanalyytisessä vaiheessa virhetekijöitä kuten hemolyysi tai lipeemisyys ja sen aste, saatetaan unohtaa mainita eteenpäin hoidosta päättävälle henkilölle. Tulosten luotettavuus tulee myös varmistaa ennen tulosten eteenpäin lähettämistä. (Lehto ym. 2008, 11.)

3.4 Laadunvarmistus

Usein diagnosointiin ja päätösten tekoon tarvitaan laboratoriotutkimuksia ja niiden tuloksia. Laboratorion antamiin tuloksiin on pystyttävä luottamaan, joten laboratorion on vastuu tutkimusten laadusta. Laboratorion on pystyttävä tuottamaan tietyn tarkkuusasteen mukaisia tuloksia. Myös tutkimusten suorituksen jälkeen on pystyttävä todistamaan annettujen tulosten laadukkuus. Laboratoriotutkimuksia tuottavan laboratorion toiminnan perustana on käyttää validoituja analyysimenetelmiä. Validoinnilla halutaan osoittaa, että analyysimenetelmällä pystytään tuottamaan oikeellisia tuloksia. Tämä osoitetaan tekemällä suunniteltujen mittausten sarja. (Jaarinen & Niiranen 2005, 8 - 14.)

Yhdistettäessä validoinnista saadut tulokset sekä tausta-aineisto, joka on jo olemassa, pystytään toteamaan menetelmän luotettavuus. Validoinnissa arvioidaan myös menetelmän soveltuvuus aiottuun käyttötarkoitukseen. Menetelmä-

ohje tehdään validoinnista saadun tiedon perusteella niin, että validoinnin yhteydessä määrätyt kriteerit tulosten luotettavuudesta toteutuvat. (Jaarinen & Niiranen 2005, 11-14.)

Kemiallisessa analyysitekniikassa määritetään näytteiden mitattavien ominaisuuksien ja analyysin pitoisuuden välinen suhde vakioinnilla. Jotta pystyttäisiin luotettavasti määrittämään näytteiden eri pitoisuuksia, mittausjärjestelmässä on oltava mittaukseen riittävä vaste. Mittaussignaalin on siis tapahduttava luotettava muutos näytteen pitoisuuden muuttuessa. Vakiointiliuoksiin perustuvat analyysitulokset ovat oikeellisia vain, jos vakiointiliuoksen pitoisuus on tarkka. On tärkeää tuntea vakiointiliuoksen oikea säilytys, koska liuosten tarkkuus saattaa heiketä säilytyksessä tapahtuvissa muutoksissa. Liuos valmistetaan huolellisesti ohjeiden mukaisesti tarkan pitoisuuden säilyttämiseksi. (Jaarinen & Niiranen 2005, 18 - 23.)

Noin 10 – 20 prosenttia rutiinianalytiikan työajasta käytetään kontrollinäytteisiin, joilla seurataan sisäistä laadunvalvontaa. Kontrollinäyte on näyte, jonka pitoisuus tunnetaan. Kontrollinäytteen on oltava eri alkuperää kuin vakiointiliuos. Kontrollinäyte analysoidaan tietyin väliajoin. Mittaustulos tulee tarkistaa ja verrata aiempiin tuloksiin välittömästi analyysin jälkeen. Kontrollien on oltava tietyissä viiterajoissa, että rutiininäytteiden analysointia voidaan jatkaa. Jos kontrollitulokset ei mene asetettuihin raja-arvojen sisälle, suoritetaan uudelleenvakiointi. (Jaarinen & Niiranen 2005, 37-38.) Nykyisin laboratorioissa käytetään yleensä yhtä tai kahta yleiskontrollia, joille voidaan kontrolloida melkein kaikki kemian analysointien yleisimmät tutkimukset. Bilirubiini kuuluu myös näihin yleisiin kemian tutkimuksiin, mutta sille on saatavissa myös omia kaupallisia kontrolliliuoksia.

Ulkoisessa laadunarvioinnissa laboratorio voi osallistua laboratorioden välisiin vertailututkimuksiin. Laboratorioille lähetetään näytemateriaali, joka analysoidaan ja analyysistä saadut tulokset raportoidaan ja lähetetään materiaalin lähettäjälle. Tuloksista tehdään yhteenveto, johtopäätös sekä ehdotuksia toimenpiteisiin. (Jaarinen & Niiranen 1997, 38.) Suomessa ulkoisesta laadunarvioinnista vastaa Labquality Oy, joka toimii puolueettomana organisaationa. Kokonaisbili-

rubiini kuuluu Labqualityn yleiskemian analyytteihin, jota voidaan testata Kliininen kemia 1- ja 2-näyttemateriaali paketeilla. (Labquality Oy 2012a.)

Kliininen kemia 1-näyttemateriaali toimitetaan kerran vuodessa, aina joulukuussa, kierrokselle osallistuvaan laboratorioon. Näyttemateriaali on DayTrol-humaaniseerumia. Tarkoituksena on kemian analysaattorin tulostason pitkäaikaisseuranta. Näyttemateriaalista saadut tulokset raportoidaan Labqualitylle kuukausittain. (Labquality Oy 2012b.)

Labqualityn Kliininen kemia 2-paketilla voidaan osallistua lyhyelle ulkoiselle laadunarviointikierrokselle. Kierroksia järjestetään kerran kuukaudessa. Näyttemateriaali on tunnetun pitoisuuden omaavaa seerumia. Näyttemateriaalia toimitetaan neljästi vuodessa: tammi-, maaliskuu-, touko ja syyskuussa. Näyttemateriaalin saa ilmoittautumalla laadunvarmistuskierrokselle. (Labquality Oy 2012c.)

4 Tutkimuksen tarkoitus ja tutkimusongelmat

Tutkimuksen tarkoituksena oli tutkia, vaikuttaako näytteen valolle altistuminen plasman kokonaisbilirubiinin pitoisuuteen. Bilirubiinia koskevien näytteiden ohjeistuksissa neuvotaan suojaamaan näyte valolta välittömästi näytteenoton jälkeen. Mikkelissä oli kuitenkin siirrytty pois näytteiden suojaamisesta, siksi haluttiin tutkia eripituisten aikojen avulla, oliko valolla vaikutusta plasman kokonaisbilirubiinipitoisuuteen.

1. Tapahtuiko plasman kokonaisbilirubiinipitoisuudessa muutosta näytteen altistuessa valolle kaksi (2) tuntia?
2. Tapahtuiko plasman kokonaisbilirubiinipitoisuudessa muutosta näytteen altistuessa valolle neljä (4) tuntia?
3. Tapahtuiko plasman kokonaisbilirubiinipitoisuudessa muutosta näytteen altistuessa valolle 24 tuntia?

5 Toimintaympäristö ja tutkimuksen toteutus

Islab on vuodesta 2008 toiminut Itä-Suomen laboratoriokeskuksen kuntayhtymä. Omistajia ja jäseniä ovat Pohjois-Karjalan sairaanhoito- ja sosiaalipalvelujen kuntayhtymä, Pohjois-Savon sairaanhoitopiiri, Etelä-Savon sairaanhoitopiiri ja Itä-Savon sairaanhoitopiiri. Toimipaikkoja Islab:lla on 70 ympäri Itä-Suomea ja työntekijöitä noin 600. Islab:n alue on jaettu hallinnollisesti neljään pääpistealuelaboratorioon: Mikkeliin, Savonlinnaan, Joensuuhun ja Kuopioon. Yhtymän tuotantotoimintaa on myös jaoteltu osaamisalueisiin. Osaamisalueiden asiantuntijoina toimivat lääkärit ja kemisti. Heidän tehtävänä on sopia Islab:n tasolla oman alueensa toiminnasta, käytettävistä ohjeistuksista sekä suunniteltavista hankinnoista. (Islab 2012.)

Tutkimus toteutettiin Mikkelin aluelaboratorion klinisen kemian laboratoriossa. Näyttemateriaali saatiin aluelaboratorion asiakkailta. Tutkimukseen käytettiin Islab:n tarvikkeita, analysaattoreita, reagensseja ja työtiloja. Ennen työn aloittamista toimeksiantaja hyväksytti opinnäytetyön suunnitelman ja tutkimuslupahakemuksen (liite 2) Etelä-Savon sairaanhoitopiirin kuntayhtymän johtajaylilääkäriltä.

Alun perin varauduttiin suunnitelman lähettämiseen Islab:n eettiselle toimikunnalle, mutta toimeksiantaja ilmoitti johtajaylilääkärin luvan riittävän tähän tutkimukseen. Kriteereinä oli, ettei asiakkailta kerätty taustatietoa, sosiaaliturvatunnuksia tai valmistettu tutkimusrekisteriä. Tutkimus ei myöskään ollut henkilötietoihin kajoava. (Ylikangas 2012.)

Suunnitelmavaiheessa selvitettiin lainsäädännön kriteerit tutkimukselle. Koko tutkimuksen ajan kunnioitettiin ihmisarvon loukkaamattomuutta. Tutkimukseen osallistuneelle, tutkimusmateriaalia luovuttavalle vapaaehtoiselle henkilölle, ei koitunut tutkimuksesta liiallista haittaa tai riskiä hänen terveydelleen. Vapaaeht-

toiselta henkilöltä kysyttiin aina lupa näytteiden ottamisesta tutkimusta varten. (Laki lääketieteellisestä tutkimuksesta 9.4.488/1999.)

Henkilölle kerrottiin hänen oikeuksistaan, tutkimuksen luonteesta ja sen tarkoituksesta. Osallistujalla oli mahdollisuus perua osallistumisensa tutkimukseen ennen näytteiden analysointia. (Laki lääketieteellisestä tutkimuksesta 9.4.488/1999.)

5.1 Tutkimusmenetelmä

Työ suoritettiin kvantitatiivisella kokeellisella tutkimusmenetelmällä. Kvantitatiivinen tutkimus tarkoittaa määrällistä tutkimusta, eli tutkitaan eri asioiden välisiä riippuvuuksia, muutoksia tai lukumääriin ja prosentteihin liittyviä kysymyksiä. Tutkimuksen edellytys oli riittävän suuri ja mahdollisimman edustava otanta. Tutkimuksen tulokset ilmoitettiin numerollisina suureina ja tuloksia pystyttiin havainnollistamaan parhaiten kuvioiden tai taulukoiden avulla. Ilmiön kuvaus pohjautui siis tutkimuksesta saatuihin numeraalisiin tietoihin. (Heikkilä 2005, 16.)

Kun haluttiin tietää jonkin olettamuksen paikkaansa pitävyyttä tietyssä koetilanteessa, kokeellinen tutkimus oli paras vaihtoehto kvantitatiivisen tutkimuksen osa-alueista. Kokeellisessa tutkimuksessa tutkitaan vain tiettyä muuttujaa sekä pyritään vakioimaan kaikki muut tutkimukseen vaikuttavat tekijät. (Heikkilä 2005, 21.) Kokeellisessa tutkimuksessa mitattiin tietyn muuttujan vaikutusta toiseen muuttajaan. Populaatiosta valitusta näytteestä saadusta tutkimusmateriaalista muunneltiin kokeellisesti haluttua olosuhdetta. Koetilanteessa muut olosuhteet pyrittiin vakioimaan. Näin yhden muuttujan antama tulos pysyi luotettavana. Muutos mitattiin numeerisesti. (Hirvijärvi, Remes & Sajavaara 2008, 130.)

Tutkimukseen asetettiin kokeellinen tilanne, jossa bilirubiinin muutosta haluttiin selvittää. Muuttujina olivat kokonaisbilirubiinin pitoisuus ja valolle altistumisaika. Muut muuttujat pyrittiin poistamaan työstä. Kvantitatiivisen tutkimuksen mukaisesti mittaustulokset olivat numeraalisia. Tutkimuksessa seurattiin muutosta ja riippuvuutta.

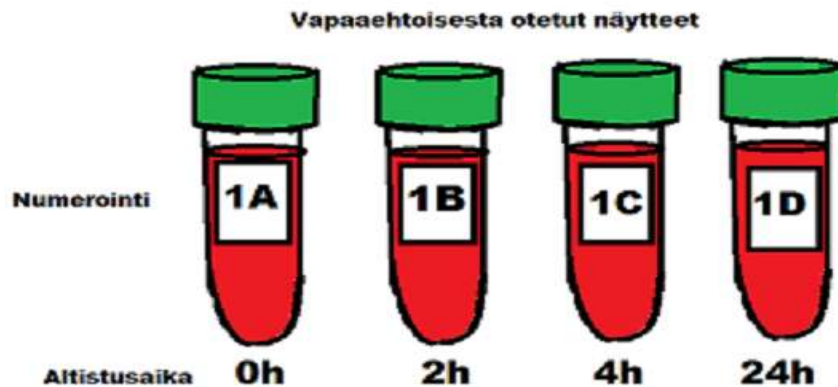
5.2 Tutkimusmateriaalin hankinta

Näytemateriaali tutkimukseen saatiin Mikkelin aluelaboratorion asiakkailta, jotka osallistuivat tutkimukseen vapaaehtoisesti. Näytteitä otettiin 30 vapaaehtoiselta. Vapaaehtoisten määrä sovittiin yhdessä ohjaavien opettajien ja toimeksiantajan kanssa. Tästä näytemäärästä pystyttiin varmemmin toteamaan muutoksen tai muuttumattomuuden todellisuus. Suurempi näytemäärä kasvatti siis luotettavuutta.

Näytteenotosta vastasi Mikkelin aluelaboratorion henkilökunta. Heille lähetettiin ohjeistus näytteenotosta ja näytteiden merkitsemisestä (liite 3). Myös asiakkaan oikeuksista kerrottiin ohjeistuksessa. Kaikilta tutkimusmateriaalia luovuttaneilta henkilöiltä kysyttiin suostumus tutkimukseen osallistumiseen. Vapaaehtoinen sai myös kirjallisesti laboratorion puhelinnumeron ja osallistumisnumeron. Näiden avulla henkilö olisi pystynyt peruuttamaan osallistumisensa tutkimukseen ennen tutkimuksen loppumista. Yhtään peruutusta ei tullut. Näytteisiin ei merkitty vapaaehtoisten nimiä tai minkäänlaisia henkilötietoja. Asiakkaiden näytteet numeroitiin näytteenottojärjestyksen mukaan numeroin 1-30. Putkien merkintöjen perusteella ei pystytty jäljittämään näytteen antanutta henkilöä. Vain asiakas tiesi oman numeronsa.

Jokaiselta vapaaehtoiselta henkilöltä otettiin neljä (4) näyteputkea litium-hepariiniverta. Putkiin kirjattiin asiakkaan numero (1-30) sekä ryhmä kirjain A, B, C ja D. Numero kirjattiin kaikkiin henkilön neljään putkeen ja jokaiseen näistä putkista kirjattiin myös yksi ryhmäkirjain. Esimerkiksi henkilön numero 1 putkiin kirjattiin 1A, 1B, 1C ja 1D. Tutkimuksessa käytettiin omaa näyteputkea jokaiselle altistusajalle, koska toimeksiantaja halusi, että näytteitä käsiteltiin mahdollisimman käytännönläheisesti. Näytteet käsiteltiin kuten mikä tahansa bilirubiini-näyte aluelaboratoriossa käsiteltäisiin. Ainoana muuttujana näytteille toimi valolle altistumisaika.

Ryhmäkirjaimen mukaan näytteitä altistettiin valolle eripituisia aikoja (kuva 2). A oli nolla-näyte, joka pysyi valolta suojattuna koko tutkimuksen ajan. B-näytteitä altistettiin valolle kaksi (2) tuntia, C-näytteitä neljä (4) tuntia ja D-näytteitä 24 tuntia. Näytteet säilytettiin kirjainten määräämissä ryhmissään säilytyksen ja altistuksen ajan. Näin oli helppo käsitellä aina tiettyä näyteryhmää kerrallaan.



Kuva 2. Potilaan numero 1 putket ja niiden valolle altistusajat.

Näytteiden altistusajat sovittiin toimeksiantajan kanssa. Toimeksiantajan ohjeistusten mukaan kemiannäytteet saivat odottaa enintään kaksi tuntia ennen analysointia. Kahden tunnin altistusaika kiinnosti toimeksiantajaa tästä syystä eniten. Neljän ja 24 tunnin altistusaikaa oli jo käytetty Islabille tehdyssä tutkimuksessa, jossa valolle altistettiin B₁₂-vitamiinia, 25-Oh-D-vitamiinia ja folaattia (Heikkinen & Salo 2011). Tähän tutkimukseen haluttiin käyttää samoja altistusajoja.

Kokonaisbilirubiini määritettiin plasmasta. Kaikki näytteet suojattiin valolta välittömästi näytteenoton jälkeen oransseilla suojaputkillla. Siten tutkimuksessa kontrolloitiin valolle altistumisaikaa. Näytteet sentrifugoitiin suojaputkissaan näytteenoton jälkeen. Sentrifugoituneista näytteistä eroteltiin plasma erillisiin putkiin pakastusta varten. Erotteluun käytetyt putket pidettiin suojaputkissa koko prosessiin ajan. Näyttemateriaalin pakastus mahdollisti materiaalin keräämiseen enemmän aikaa.

5.3 Näytteiden altistaminen valolle

Ennen valolle altistamista näytteet sulatettiin suojaputkissa huoneenlämmössä. Kaikki näytteet säilytettiin samassa paikassa kemian laboratorion varastokappissa sulamisen ajan tutkimukseen kuulumattomien muuttujien poistamiseksi. Näytteet sentrifugoitiin uudestaan sulamisen jälkeen suojaputkissaan, jonka jälkeen voitiin aloittaa valolle altistus.

Valolle altistus tehtiin käytännönläheisesti kemian laboratorion säilytuspöydällä, jossa tavanomaisesti kaikki laboratorioon tulevat näytteet odottavat analysointia. Altistuksen ajan kaikki näytteet säilytettiin samalla pöydällä, altistuivat ne sitten valolle tai eivät. Näin ympäristöolosuhteet, paitsi valo, olivat samat kaikille näytteille. Muiden muuttujien ei haluttu vaikuttavan tuloksiin. Altistus ja mittaukset tehtiin viikonloppuna, jolloin normaali asiakasnäytemäärä oli pienempi. Säilytuspöytää ei siis tällöin tarvittu muille näytteille, joten tutkimuksen näytteet saivat olla rauhassa valolle altistuksen ja odottelun ajan.

Näytteitä pidettiin koeputkitalineissa limittäin aseteltuina. Jokaisella ryhmällä oli oma telineensä. Myös suojaputket säilytettiin samalla pöydällä, jolloin altistusajan umpeuduttua oli helppo siirtää näytteet takaisin suojiinsa. Altistumisaikaa seurattiin sekuntikellolla, laboratorion analogisella kellolla, sekä kännykkään asetettiin hälytykset. Näin voitiin varmistaa, että jokin näistä toimi varmasti ja näytteet suojattiin oikealla ajalla. Näytteiden edessä oli myös paperi, jossa luki kaikkien näytteiden suojausajat sekä ”Näytteisiin ei saa koskea. Testi menossa”. Näin ulkopuoliset eivät koskeneet näytteisiin tutkimuksen aikana.

Tutkimus suoritettiin 12 - 13.5.2012. Ajankohta sovittiin toimeksiantajan kanssa siten, että se sopi kummallekin osapuolelle. Tutkimuksen aikana näytteet altistuivat eniten keinotekoiselle valolle. Myös luonnonvaloa pääsi ikkunoista sisään. Päivä oli pilvinen, joten auringonvaloa ei ollut paljon. Laboratorion valaistus pidettiin samana tavalliseen työskentelyolosuhteisiin nähden.

5.4 Näytteiden analysointi

Kaikille näytteille tehtiin ennen analysointia omat viivakoodit, joiden avulla analysaattori tunnisti näytteen. Näytteen tulos saatiin samalla viivakoodi-nimellä analysaattorin atk-järjestelmältä. Viivakoodi-nimenä käytettiin samaa numero-kirjain-yhdistelmää kuin näyteputkiin oli merkitty. Jotta tulos ei siirtynyt laboratorion tulosten vastausohjelmaan ja eteenpäin, viivakoodi aloitettiin kirjaimella W. Esimerkiksi asiakkaan 5 näyte, jota altistettiin valolle 4 tuntia, viivakoodi tehtiin nimellä W5C.

Jokaiselle näytteelle tehtiin pyynnöt ennen analysointia. Ilman pyyntöjä analysaattori ei olisi tiennyt, mitä tutkimusta näytteestä haluttiin mitata. Pyyntöt tehtiin analysaattorin atk-ohjelmalla, johon kirjattiin viivakoodi ja pyydettiin kokonaisbilirubiinimääritys. Pyyntöt kirjattiin samaan tapaan kuin viivakoodit.

Ennen näytteiden laittoa analysaattorille tarkistettiin vielä reagenssin määrä ja riittävyys sekä näytteiden että kontrollien analysointiin. Kontrollit analysoitiin juuri ennen näytteitä. Näin oltiin varmoja analysaattorin toimivuudesta. Näytteet analysoitiin Mikkelin Cobas-c-501-yksiköllä. Mikkelisissä Cobas-analysaattoreita oli kaksi, joten ne toimivat toistensa varalaitteina ongelmatilanteissa. Mittaukset suoritettiin pelkästään Cobas-2-analysaattorilla, jotta mittausolosuhteet olisivat kaikille näytteille samat ja luotettavat.

Reagenssina käytettiin Bilirubin Total DPD Gen.2. Oikein säilytettynä +2-8 °C:ssa reagenssi säilyi pakkauksessa mainittuun viimeiseen käyttöpäivään saakka. Sisällä analysaattorissa reagenssi säilyi kuusi viikkoa. (Islab 2010.)

Vakiointiin käytössä oli Calibrator f.a.s. (CFAS). Ennen vakiointiliuosta telineeseen tuli laittaa aquaa toimivuuden varmistamiseksi. Vakiointi tehdään yleensä tarvittaessa ja reagenssierän vaihtuessa. Cobas-c-501-yksiköllä käytettiin 2-pisteen vakiointia. Vakiointiliuos oli kylmäkuivattu valmiste, joka liuotettiin laboratoriossa. Liuotettu vakiointiliuos säilyi huoneenlämmössä kahdeksan tuntia, jääkaapissa kaksi päivää ja pakastimessa kaksi viikkoa. Liuos piti suojata valolta. (Islab 2010.)

Kontrolleina olivat: PreciControlClinChem Multi 1 ja 2, jotka olivat kemiaan yleiskontrollit, sekä bilirubiinin oma kontrolli Precibil. PCCC 1 ja 2 olivat kylmäkuivattuja kontrolleita, jotka liuotettiin laboratoriossa (liite 4). Kontrollipulloon pipetoitiin aquaa 5,0 ml ja annettiin seisoa 30 minuuttia. Seisotuksen jälkeen kontrolli sekoitettiin, välttämällä kuitenkin vaahtoamista ja jaettiin 400 µl:n eriin eppendorfeihin. Kontrollit säilytettiin pakastimessa, ja ne suojattiin valolta. Liuotuksen tai avaamisen jälkeen kontrolli säilyi -20 °C:ssa yhden kuukauden, +2 – 8 °C:ssa viisi vuorokautta ja +15-25 °C:ssa 12 tuntia.

Precibil oli myös kylmäkuivattu kontrolli (liite 5), joka liuotettiin laboratoriossa pipetoimalla kontrollipulloon 2 ml aquaa. Kontrollia seisotettiin aquan lisäyksen jälkeen 30 minuuttia. Tämän jälkeen sekoitettiin, välttämällä kuitenkin vaahtoamista. Valmis liuos jaettiin eppendorfeihin 250 µl:n erissä ja pakastettiin. Tämäkin kontrolli suojattiin valolta. Avaamisen tai liuottamisen jälkeen kontrolli säilyi -20 °C:ssa neljä viikkoa, +2-8 °C:ssa kaksi vuorokautta ja +15-25 °C:ssa kahdeksan (8) tuntia.

Reagenssin riittävyyden ja kontrollien onnistuneen analysoinnin jälkeen aloitettiin näytteiden siirto analysaattorille. Näytteet siirrettiin kirjainryhmä kerrallaan putkissaan analysaattorin telineisiin. Analysointi aloitettiin vasta, kun kaikki ryhmän näytteet olivat telineissä ja analysaattorin aloituslinjastolla. Pienet näytemäärät pipetoitiin telineisiin sopiviin mikrokyvetteihin, jotta analysaattori sai riittävästi näytettä määrittystä varten.

Putkiin ja kyvetteihin liimattiin aiemmin valmistetut viivakoodit. Putkista poistettiin korkit käsin ennen analysointia. Seuraavan kirjainryhmän näytteitä siirrettiin telineisiin vasta, kun edellisen ryhmän näytteet olivat saapuneet analysaattorin palautuslinjastolle. Mittausten suoritusta seurattiin analysaattorin läheisyydessä koko analysoinnin ajan. Ongelmatilanteen sattuessa olisi pystytty huomaamaan ja korjaamaan mahdolliset laitteiston ongelmat mahdollisimman nopeasti.

Aloitusvaiheessa näytteitä oli tarkoitus mitata Cobas-1-laitteella, mutta ennen tutkimusta suoritettuja kaikki bilirubiinin kontrollit eivät menneet läpi, joten joudut-

tiin vaihtamaan analysointia. Cobas-2:lla kontrollit menivät hyvin läpi. Näytteiden mittauksessa ei esiintynyt ongelmia. Mittaustulokset saatiin tulostettua papereille analysointin atk-ohjelmasta.

6 Tilastolliset tunnusluvut

Tilastollisessa testaamisessa valitusta perusjoukosta halutaan selvittää jonkin ennakkokäsityksen paikkaansa pitävyyttä. Tilastolliseen testaamiseen on kehitetty erilaisia testausmenetelmiä, joilla pystytään tutkimaan perusjoukosta saaduissa tuloksissa tapahtuvien erojen johtuvuutta sattumanvaraisuudesta tai tilastollisesta merkityksellisyydestä. Menetelmä valitaan tutkittavan ennakkolettamuksen ja aineiston ominaisuuksien perusteella. (Karjalainen 2010, 219.)

6.1 Korrelaatiokerroin

Korrelaatiolla pystytään tutkimaan kahden muuttujan välistä riippuvuutta. Yleisin näistä on Pearsonin korrelaatiokerroin. Tällä saadaan selville kuitenkin vain muuttujan lineaarisen riippuvuuden suuruutta. Muuttujien täytyy olla välimatkat tai suhteasteikkotasoisia. (Heikkilä 2005, 203.) Korrelaatiokertoimen tulos on $-1:n$ ja $+1:n$ välissä oleva reaaliluku. Arvo -1 saavutetaan, kun havaintokuvion pisteet asettuvat samalle laskevalle suoralle. Arvo $+1$ kuvaa taas pisteiden sijaintia nousevalle suoralle. Arvo 0 tarkoittaa, että muuttujat ovat lineaarisesti riippumattomia toisistaan. (Holopainen & Pulkkinen 2002, 199 - 200.)

Muuttujien lineaarinen yhteys on sitä voimakkaampi, mitä lähempänä se on lukua 1 . Suoran kulmakertointa ei voida saada korrelaatiokertoimella selville, siksi siihen ei ole liitetty tiettyä mittayksikköä. Käytettävien muuttujien mittayksiköllä ei ole merkitystä korrelaatiokertoimen tekemiseen. (Holopainen & Pulkkinen 2002, 199 - 200.)

6.2 Parittainen t-testi

T-testissä tarkoituksena on tutkia, eroavatko otosten keskiarvot toisistaan. Toisistaan riippuvien otosten tarkasteluun käytetään parittaista t-testiä. Edellytyksenä testin käytölle ovat riittävän suuret ja satunnaiset otokset sekä määrälliset muuttujat eli suhde- tai välimatka-asteikon muuttujat. Testin avulla saadaan selville aineiston hypoteesit. (Karjalainen 2010, 230.)

Ennako-olettamusta nimitetään hypoteesiksi. On olemassa nollahypoteesi (H_0) ja vastahypoteesi (H_1). Nollahypoteesi tarkoittaa, ettei ryhmien välillä ole eroja tai riippuvuuksia. Vastahypoteesi osoittaa erot ja riippuvuudet tuloksissa. Tarkoituksena on selvittää, kumpi hypoteeseista on tutkimustuloksien testauksessa oikea. Testeissä lasketaan myös virhepäätelmän todennäköisyys. (Karjalainen 2010, 219.)

Täyttä varmuutta tutkimuksen tuloksista ei voida saada, koska testaukseen on käytetty pelkkää otosta perusjoukosta. P-arvolla saadaan selville testien tulosten riskitaso ja sen merkityksellisyys sekä hylkäämisvirheen todennäköisyys. P-arvo kertoo, kuinka suuri mahdollisuus on valita testituloksista väärä hypoteesi. (Karjalainen 2010, 220-221.)

Pieni P-arvo tarkoittaa, että H_0 pystytään hylkäämään ja vastahypoteesi on saatu luotettavasti osoitettua. Tällöin testin ryhmien tulosten välillä on riippuvuutta tai eroa. Yleisimmin P-arvon riskirajana on käytetty 5 prosenttia eli $p < 0,05$. Tätä pienempi arvo siis hylkää nollahypoteesin. (Karjalainen 2010, 221.)

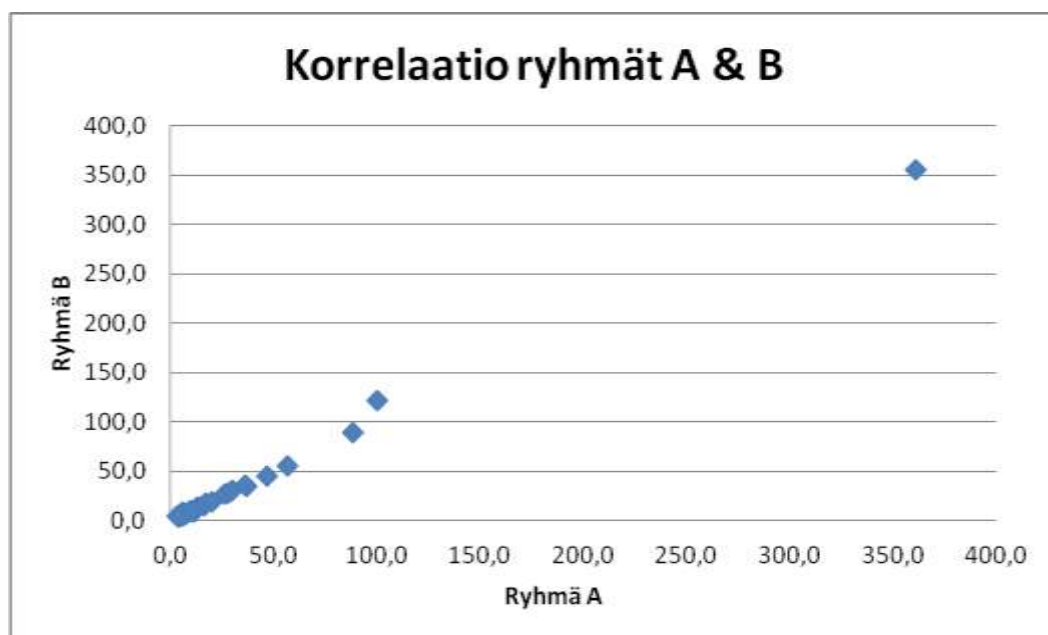
7 Tulokset

Mittaustulokset analysoitiin Windows Excel 2007-ohjelmalla ja ohjelman tarjoamilla työkaluilla. Kaikkien näytteiden tulokset taulukoitiin ryhmittäin A, B, C ja D. Analysointiin käytettiin Excel-järjestelmän korrelaatiokerrointa ja parittaista kahden otoksen t-testiä keskiarvolle. Vertailu tehtiin ryhmien perusteella. Vertai-

lun perustana käytettiin kaikissa testeissä nollanäytteiden (ryhmä A) tuloksia. Parittaisten t-testien taulukot löytyvät liitteestä 7.

7.1 Kahden tunnin altistus

Kahden tunnin valolle altistuksen läpi käyneiden näytteiden (ryhmä B) tuloksia verrattiin nollanäytteiden tuloksiin (ryhmä A). Korrelaatiokerroin ryhmien välillä oli 0,998. Näytteiden mittaustuloksista piirrettiin myös hajontakuviot (kuvio 1).



Kuvio 1. Ryhmien A ja B näytteiden mittaustulosten hajontakuviot.

Parittaisen t-testin avulla määritettiin nollanäytteiden ja 2 tunnin altistusnäytteiden välisiä tilastollisia eroavaisuuksia. Parittaisessa t-testissä tarkasteltiin Excel-ohjelman antamasta tulostaulukosta ” P(T<=t) kaksisuuntainen”-tulosta. Tämä oli testin p-arvo. Rajana H_0 hypoteesin hylkäykselle pidettiin 5 prosentin allittavaa tulosta, eli p-arvona $p < 0,05$.

Hypoteesit:

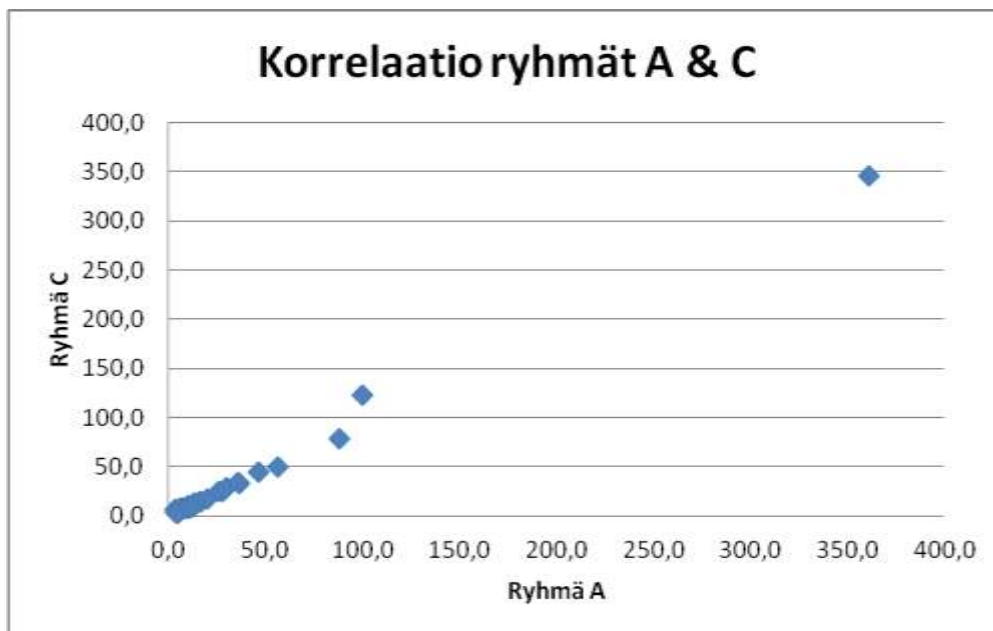
H_0 = Kahden tunnin altistumisella valolle ei ollut vaikutusta näytteen kokonaisbilirubiinin pitoisuuteen.

H_1 =Kahden tunnin altistumisella valolle oli vaikutusta näytteen kokonaisbilirubiini pitoisuuteen.

P-arvon tulos oli 0,621. Näin ollen nollahypoteesi jäi voimaan.

7.2 Neljän tunnin altistus

Neljä tuntia valolle altistuneiden näytteiden (Ryhmä C) tuloksia verrattiin myös nollanäytteisiin. Korrelaatiokerroin oli ryhmien välillä 0,996. Kummankin näytteiden mittaustuloksista piirrettiin hajontakuviota (kuviota 2).



Kuvio 2. Ryhmien A ja C näytteiden hajontakuviota.

Parittaisen t-testin hypoteesit:

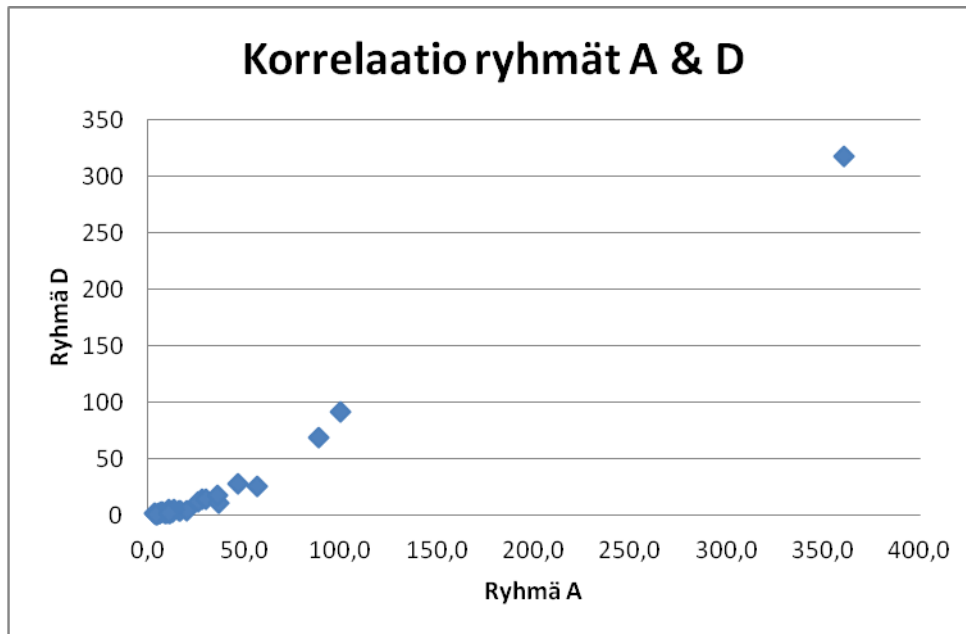
H_0 = Neljän tunnin altistumisella valolle ei ollut vaikutusta näytteen kokonaisbilirubiinin pitoisuuteen.

H_1 =Neljän tunnin altistumisella valolle oli vaikutusta näytteen kokonaisbilirubiinipitoisuuteen.

P-arvo vertailussa oli 0,244. Tässäkin tapauksessa nollahypoteesi jäi voimaan.

7.3 Kahdenkymmenen neljän tunnin altistus

Kahdenkymmenen neljän tunnin altistusnäytteiden (Ryhmä D) ja nollanäytteiden välinen korrelaatio oli 0,995. Hajontakuviota on esitetty kuviossa 3.



Kuvio 3. Ryhmien A ja D näytteiden tulosten hajontakuviota.

Parittaisen t-testin hypoteesit:

H_0 = 24 tunnin altistumisella valolle ei ollut vaikutusta näytteen kokonaisbilirubiinin pitoisuuteen.

H_1 = 24 tunnin altistumisella valolle oli vaikutusta näytteen kokonaisbilirubiinipitoisuuteen.

P-arvoksi saatiin $2,275 \times 10^{-07}$. Vertailussa 5% raja-arvo alitettiin, joten nollahypoteesi voitiin hylätä. Vastahypoteesi astui tuloksissa voimaan.

8 Johtopäätökset

Kaikissa vertailuryhmissä korrelaatiokerroin on erittäin lähellä +1-arvoa. Tästä voitiin päätellä erittäin voimakasta lineaarista nousavaa riippuvuutta näytteiden

välillä. Näytteiden välillä säilyi siis riippuvuutta kaikissa valolle altistusajoissa verrattuna nollanäytteisiin.

Parittaisessa t-testissä saatiin enemmän eroa. P-arvojen perusteella 2 ja 4 tunnin valolle altistuksessa nollahypoteesi jäi voimaan, eli altistuksella ei saatu aikaan tilastollisesti merkittävää muutosta mittaustulosten välille. Valolle altistus ei siis vaikuttanut kokonaisbilirubiinin hajoamiseen merkittävästi.

24 tunnin näytteessä p-arvo oli kymmenpotenssikertoimen poiston jälkeen 0,000000227506, jolloin nollapotenssi voitiin luotettavasti hylätä. Tällöin 24 tunnin valolle altistuksessa kokonaisbilirubiinin pitoisuudessa tapahtui tilastollisesti merkittävä muutos.

Tuloksista voitiin päätellä, että 2 tai 4 tuntia valolle altistuneen näytteen voi analysoida normaalisti sekä sen tulokseen voitiin luottaa. Pidempiaikainen altistuminen valolle ei ole suotavaa.

9 Pohdinta

Bilirubiinista löytynyt lähdemateriaali oli enimmäkseen 1980-1990-luvuilla julkaistua kirjallisuutta. Uudemmasta kirjallisuudesta saatava tieto oli erittäin yleisellä tasolla selitettyä ja esim. bilirubiinin yksityiskohtaisesta muodostumisesta, rakenteesta ja hajoamisesta ei löytynyt tietoa vuoden 1999 jälkeen.

Voidaan olettaa, että näistä asioista ei ole löytynyt uutta tietoa tuon aikakauden jälkeen. Myös suomenkielisistä lähteistä oli vaikeaa löytää tarkempaa perehtymistä bilirubiinin reaktioihin elimistössä. Englanninkieliset lähteet olivat paljon yksityiskohtaisempia. Kaikki bilirubiiniin liittyvät reaktiot elimistössä oli selvitetty tarkasti auki. Tähän opinnäytetyöhön saatiin näistä lähteistä selitettyä bilirubiinin reaktiot elimistössä että laboratoriossa tarkasti auki. Siksi teoreettisessa viitekehyksessä käytettiin vanhempaa kirjallisuutta.

Tutkimuksen tulos vaikuttaa työelämän Mikkelissä tietopohjaisesti. He voivat jatkaa käytäntöään jättää bilirubiininäytteet suojaamatta valolta. Kemian tutkimuspaketin tarroihin ei tarvitse lisätä erillisiä huomautuksia bilirubiinimäärityksestä. Näytteenotto helpottuu, koska tarroista ei tarvitse etsiä suojausmerkintää. Ohjeistuksia pystytään muuttamaan muissakin kemian laboratorioissa, jos tietoa halutaan jakaa. On kuitenkin hyvä vielä testata kokonaisbilirubiinin käyttäytymistä ääriolosuhteissa.

9.1 Tutkimuksen luotettavuus

Kvantitatiivisen tutkimuksen laatua arvioidaan reliabiliteetilla ja valideetilla. Reliabiliteetti on tutkimuksen kyky antaa pysyviä mittaustuloksia, eli tutkimus ei saa antaa sattumanvaraisia tuloksia. Tarkan ja luotettavan tutkimuksen määrittää se, että tutkimuksen mittauksista saadaan sama tulos tutkijasta riippumatta. Jo tutkimuksen aikana arvioidaan reliabiliteettia. (Vilka 2007, 149.)

Tässä tutkimuksessa pyrittiin kirjaamaan tarkasti toiminnot jo suunnitteluvaiheessa, jolloin toiminta oli johdonmukaista ja luotettavaa. Kaikista tutkimuksen vaiheista tehtiin tarkat suunnitelmat. Työtä toteuttaessa ei tapahtunut mitään vaikeuttavia tai häiritseviä yllätyksiä. Yllätyksiin oli kuitenkin myös varauduttu ja tehty vaihtoehtoiset toimintasuunnitelmat. Vaikka työssä käytettiin apuvoimia näytteenottoon, pystyttiin kuitenkin kontrolloimaan tilannetta hyvän ohjeistuksen avulla (liite 3). Tutkimuksen pystyy tämän raportoinnin perusteella toteuttamaan samankaltaisesti ja saamaan samoja tuloksia kuin mitä on tähän raporttiin saatu.

Valideetti kertoo, miten hyvin tutkimuksessa saatiin mitattua sitä, mitä oli tarkoitus mitata. Jos tutkimuksessa ei tapahtunut systemaattisia virheitä, eikä harhaututtu aiheesta käsitteiden tasolla, tutkimuksen validius on hyvä. (Vilka 2007, 150.) Työssä mitattiin valon vaikutusta bilirubiiniin. Muut muuttujat pyrittiin poistamaan antamalla kaikille näytteille samat olosuhteet tutkimuksen eri tilanteissa. Esimerkiksi valolle altistus tapahtui kaikille näytteille samassa paikassa. Näytteet pysyivät tässä samassa määrätyspaikassa koko tutkimuksen ajan,

vaikka niiden valolle altistus olikin jo suoritettu. Ympäristö- ja lämpötilaolosuhteet saatiin siis vakioitua kaikille näytteille. Koko tutkimuksen ajan tiedettiin, mitä tutkittiin ja mihin keskityttiin. Aihetta ei ole laajennettu tai supistettu tutkimuksen kuluessa. Tutkimus eteni määrätietoisesti ja suunnitellusti aina loppuun asti.

9.2 Tutkimuksen eettisyys

Etiikka on määritelmä hyvästä ja pahasta tai oikeasta ja väärästä. Tutkimuksessa eettisyys on määritelty tarkemmin, koska ihmisten mielipiteet oikeasta ja väärästä ovat eritasoisia ja niihin suhtaudutaan eri tavoin. (Hirsjärvi ym. 2008, 23.)

Tutkijalla on vastuu tuntea ja toimia tutkimuksessaan eettisten periaatteiden mukaisesti. Edellytyksenä on toimia hyvän tieteellisen käytännön mukaisesti. Opetusministeriön asettama tutkimuseettinen neuvottelukunta on määrittänyt hyvän tieteellisen käytännön ohjeet. (Hirsjärvi ym. 2008, 23.)

Tutkimuksesta tehtiin tutkimuslupahakemus ja mukaan lähetettiin myös työsuunnitelma. Näiden pohjalta organisaation johtajalääkäri hyväksyi tutkimuksen ja antoi luvan sen suorittamiseen. Eettisyyttä noudattaen tutkimukseen ei kehtää pakotettu osallistumaan tutkimukseen. Tutkimukseen osallistuminen oli vapaaehtoista. Vapaaehtoisella oli mahdollisuus myös peruuttaa osallistumisensa. Peruutus tuli ilmoittaa laboratorioon ennen näytteiden analysointia. Yhtään peruutusta ei tullut. Koko tutkimusprosessin ajan oltiin rehellisiä, huolellisia ja tarkkaavaisia. Tutkimukseen käytettiin kriteerien mukaisia ja eettisiä tiedonhankintamenetelmiä, tutkimuskäytäntöjä ja arviointia.

Tieteellisessä kirjoittamisessa lähdeviitteet ovat tärkeitä. Viittausten perusteella voidaan erottaa, mikä on kirjoittajan omaa uutta tekstiä ja mikä aikaisemmin julkaistua ja toisten tekemää. Viittauksilla annetaan siis oikeutettu arvo ja kunnia tekstin oikealle kirjoittajalle. Toisen kirjoittamaa tekstiä esiteltäessä omana tuotoksena kutsutaan plagioinniksi, eli tietojen varastamiseksi. Plagiointi on rikos, josta on säädöksiä tekijänoikeus- ja plagiointia koskevassa lainsäädännössä. Kirjoitettaessa toisen tekstin pohjalta on aina muistettava tekijän oikeus omaan

työhönsä, eli alkuperäinen kirjoittaja on mainittava tekstissä ja lähteissä. (Kniivilä, Lindblom-Yläne & Mäntynen 2007, 104 - 105.)

Tässä tutkimuksessa toisen kirjoittamaa tai antamaa tietoa ei plagioitu. Toisen kirjoittamalle tekstille annettiin sille kuuluva kunnia ja lähteet sekä viittaukset merkittiin huolellisesti. Muiden tutkimukset ja heidän saavutuksensa huomioitiin ja annettiin niille kuuluva arvo. Tutkimus suunniteltiin mahdollisimman tarkasti ja vaatimusten mukaisesti. Se suoritettiin myös tarkasti suunnitelmassa kuvatulla tavalla. Raportointi tehtiin samoja kriteerejä noudattaen harhaanjohtamatta ja tietoa pois jättämättä. Tutkimustulokset julkistettiin avoimella luonteella. Tulokset kerrottiin sellaisina kuin ne oli saatu ilman vääristämistä, kaunistelua, sepittämistä tai harhauttamista todellisuudesta.

9.3 Jatkotutkimusaiheita

Tämä tutkimus toteutettiin oman aikataulun ehdoilla, joten näytteiden analysointi suoritettiin toukokuussa. Jatkotutkimuksena voitaisiin tutkia näytteiden käyttäytymistä ääriolosuhteissa eli voimakkaassa auringonvalossa. Voitaisiin myös käyttää eripituisia altistusaikoja, jolloin saataisiin selville, minkä ajan ylittäessä kokonaisbilirubiinin hajoaminen on tilastollisesti merkittävää. Tutkimus voitaisiin myös tehdä muusta näyttemateriaalista, esimerkiksi kokoverestä.

Lähteet

- Ashwood, E. R. & Burtis, C. A. 1999. Tietz Textbook of Clinical Chemistry. Philadelphia: W. B. Saunders company.
- Benhamou, J.P., Blei, A., Reichen, J., Rizzetto, M. & Rodés, J. 2007. The Textbook of Hepatology. John Wiley & Sons.
- Heikkilä, T. 2005. Tilastollinen tutkimus. Helsinki: Edita Prima Oy.
- Heikkinen, M. & Salo, I. 2011. Valoaltistuksen vaikutus B12-vitamiinin, 25-OH-D-vitamiinin ja folaatin pitoisuuksiin plasma-, seerumi- tai kokoverinäytteissä. Savonia.
- Hirvijärvi, S., Remes, P. & Sajavaara, P. 2008. Tutki ja kirjoita. Helsinki: Tammi.
- Holopainen, M. & Pulkkinen, P. 2002. Tilastolliset menetelmät. Helsinki: Werner Söderström Oy.
- Islab. 2010. Bilirubiinin määrittäminen cobas-analysointilaitteilla. Työohje.
- Islab. 2012. Esittely. <http://www.islab.fi/index.asp?tz=-3>. 17.8.2012.
- Jaarinen, S. & Niiranen, J. 1997. Laboratorion analyysitekniikka. Helsinki: Oy Edita Ab.
- Jaarinen, S. & Niiranen, J. 2005. Laboratorion analyysitekniikka. Helsinki: Oy Edita Ab.
- Jandl, J. H. 1987. Blood Textbook of Hematology. Little, Brown and Company.
- Karjalainen, L. 2010. Tilastotieteen perusteet. Keuruu. Otavan kirjapaino Oy.
- Kaukua, J. & Mustajoki, P. 2008. Bilirubiini (P-Bil). http://www.terveyskirjasto.fi/terveyskirjasto/tk.koti?p_artikkeli=snk03074. 11.1.2012.
- Kniivilä, S., Lindblom-Yläne, S. & Mäntynen, A. Tiede ja teksti – Tehoa ja taitoa tutkielman kirjoittamiseen. Helsinki: WSOY Opetusmateriaalit Oy.
- Labquality Oy. 2012a. Yleiskemian analyytit. <http://www.labquality.fi/laatu-ulkoinen-laadunarviointi/yleiskemian-analyytit/>. 20.9.2012.
- Labquality Oy. 2012b. Yleiskemia, DayTrol. <http://www.labquality.fi/laatu-ulkoinen-laadunarviointi/kierroskuvaukset/kliininen-kemia-1-pitoisuuksilta/1031-daytrol-kliininen-kemia/>. 20.9.2012.
- Labquality Oy. 2012c. Yleiskemia, A-seerumi. <http://www.labquality.fi/laatu-ulkoinen-laadunarviointi/kierroskuvaukset/kliininen-kemia-2-pitoisuuksilta/1072-a-seerumi-kliininen-kemia/>. 20.9.2012.
- Laki lääketieteellisestä tutkimuksesta 9.4.1999/488.
- Lehto, L., Rautajoki, A. & Tuokko, S. 2008. Kliiniset laboratorionäytteet – opas näytteiden ottoa varten. Helsinki: Tammi.
- Leino, A. 2008. Ikteerinen, lipeeminen tai hemolyyttinen näyte kemian analyysissä. Moodi 2008 (1), 68-69.
- Niemelä, O. & Pulkki, K. 2010. Laboratoriolääketiede – Kliininen kemia ja hematologia. Helsinki: Kandidaattikustannus Oy.
- Matikainen, A.M., Miettinen, M. & Wasström, K. 2010. Näytteenottajan käsikirja. Helsinki: Edita Prima Oy.
- Marshall, W. J. 1995. Clinical Chemistry. London: Mosby.
- Mayne, P. D., Pannall P. R. & Zilva J. F. 1990. Clinical chemistry in diagnosis and treatment. Lloyd-Luke Ltd.
- Penttilä, I. 2004. Kliiniset Laboratoriotutkimukset. Helsinki: WSOY.

- Tietz, N. W. 1987. Fundamentals of Clinical Chemistry. Philadelphia: W. B. Saunders company.
- Vilka, H. 2007. Tutki ja mittaa. Määrällisen tutkimuksen perusteet. Helsinki: Tammi.
- Ylikangas, P. 2012. Aluelaboratorion johtaja. Islab. Haastattelu 2.3.2012.

Toimeksiantosopimus



OPINNÄYTETYÖN TOIMEKSIANTO

SOPLAOSAPUOLET:

TOIMEKSIANTAJA Mikkelin aluelaboratorio, IslabYhteystiedot: Parrasalmenselän 35-37, Kotka MIKKELI

Sähköpostiosoite: _____

OPISKELIJA Anne-Mari WarisYhteystiedot: Korttimestie 10736, Kotka 310 044-5650434

TOIMEKSIANTOSOPIMUS:

Islab rahoittaa tutkimuksen reagenssit, näytteet, välineet ja työtilojen käytön.

Osapuolet ovat tänään sopineet toimeksiannosta seuraavaa: (esim. rahoitus, aikarajat, tekijänoikeudet)

Toimeksiantaja
Mikkelin Aluelaboratorio, Islab
yhteyshenkilö: Marja Riihanen

Opiskelija
Anne-Mari Waris

Opinnäytetyön ohjaajana PKAMK:ssa toimii _____

Päiväys ja allekirjoitukset

MIKKELI 22.11.11

Taru Zenges
Toimeksiantajan ohjaaja
TARU YLIKANGAS
ALUELABORATORION
JOHTAJA
ISLAB/MIKKELIN ALUELABORATORIO

Anne-Mari Waris
Opiskelija
ANNE-MARI WARIS

Islab:n tutkimuslupahakemus


 ITÄ-SUOMEN LABORATORIOKESKUKSEN
 LIIKELAITOSKUNTAYHTYMÄ

 HOITOTIETEEN JA MUIDEN TERVEYS-
 TIETEIDEN TUTKIMUSLUPAHAKEMUS

Nro / 20

Hakemuksen käsittely on kuvattu hallinnollisessa ohjeessa "Hoitotieteen ja muiden terveystieteiden tutkimuksen ohjeet Kuopion yliopistollisessa sairaalassa". Hakemukseen liitetään tutkimussuunnitelma aineiston keruulomakkeineen ja saatteineen, rahoitussuunnitelma.

HAKIJA

Vastuullinen tutkija

Anne-Mari Waris

Pyörretie 1 B12, 80260 Joensuu

Nimi

Osoite, puh, s-posti

Muut tutkijat

044-5650434

amwaris88@gmail.com

Työ- tai opiskelupaikka

Pohjois-Karjalan ammattikorkeakoulu

Virka/toimi (ei koske opiskelijoita)

Opiskelupaikka

 AMK mikä

PKAMK

 yliopisto mikä muu mikä

Suoritettava tutkinto

Bioanalytiikka

TUTKIMUS

Tutkimuksen nimi

NÄYTTEEN VALOLLE ALTISTUMISEN VAIKUTUS PLASMAN KOKONAIS-BILIRUBIINI PITOISUUTEEN

Tutkimuksen lyhyt kuvaus (mm. tutkimuksen tarkoitus, kohderyhmä ja tutkimusmenetelmät) sekä julkaisuunselite (maksimissaan 300 sanaa)

Tutkimuksen tarkoituksena on kehittää Mikkelin aluelaboratorion toimintaa. Tarkoituksena on tutkia plasman bilirubiinin hajoamista laboratorio-olosuhteissa. Laboratorion ohjekirjassa on määrätty suojaamaan bilirubiini näytteet valolta, koska se hajoaa UV-valossa. Mikkelissä käytännössä on luovuttu tutkimuksen siirryttyä Cobas-paketin sisälle. Tutkimus antaisi tietoa, onko suojaamis-käytäntöön palattava, vai tapahtuuko näytteessä valolle altistuessaan laboratorio-olosuhteissa kliinisesti merkittäviä muutoksia. Tiedolla saataisiin myös asiakkaiden näytteiden analysointiin lisää luotettavuutta. Tutkimus suoritetaan kvantitatiivisella menetelmällä. Vapaaehtoisilta laboratorion asiakailta otetaan neljä (4) putkea litium-hepariini-verä. Näytteisiin ei kirjata vapaaehtoisen henkilötietoja, vaan näytteet numeroidaan juoksevilla numeroinnilla, tietyn henkilön näytteitä ei siis pystytä jäljittämään. Asiakas pystyy perumaan osallistumisensa, koska hänelle annetaan näyteenotto-tilanteessa kirjallisena hänen numeronsa ja puhelinnumero laboratorioon. Osallistuminen pystyy perumaan niin kauan, kun tutkimus on käynnissä. Näytteitä tarvitaan noin 30 henkilöstä. Opinnäytetyön valmistuminen tapahtuu viimeistään joulukuussa 2012.

Tutkimus on

 amk-tutkinto ylempi amk-tutkinto pro gradu lisensiaattityö väitöskirja muu, mikä

Monikeskustutkimus

 ei kyllä kansallinen kansainvälinen

Tutkimuksen kokonaisaikataulu

toukokuu 2011-joulukuu 2012

Aikataulu KYSissä/islabissa

maaliskuu-toukokuu 2012

Kustannukset

 Arvio KYSille ja Islabille koituvista kustannuksista 82,20 €

Tarkempi kustannuserittely esitettävä erillisellä liitteellä.

 Ei aiheuta kustannuksia KYSille/islabille

ISLAB 210-1.



Islab:n tutkimuslupahakemus

| | |
|--|------------------------------|
| Tutkimuseettisen toimikunnan lausunto | |
| <input type="checkbox"/> annettu <input type="checkbox"/> käsitellyssä <input type="checkbox"/> ei ole haettu | |
| Toimikunta _____ | Lausunto nro _____ pvm _____ |
| Johtajayliääkärin lupa rekisteritutkimuksia varten | |
| <input type="checkbox"/> annettu <input checked="" type="checkbox"/> käsitellyssä <input type="checkbox"/> ei ole haettu | |
| | pvm _____ |
| STM:n lupa rekisteritutkimuksia varten | |
| <input type="checkbox"/> annettu <input type="checkbox"/> käsitellyssä <input type="checkbox"/> ei ole haettu | |
| | pvm _____ |
| Henkilöstöpaalikon lupa henkilökuntaa koskevia tutkimuksia varten | |
| <input type="checkbox"/> annettu <input type="checkbox"/> käsitellyssä <input type="checkbox"/> ei ole haettu | |
| | pvm _____ |
| Muu lupa (mikä) | |
| <input type="checkbox"/> annettu <input type="checkbox"/> käsitellyssä | |
| | pvm _____ |
| ALLEKIRJOITUS JA SITOUMUS | |
| Allekirjoittaneet tutkijat sitouvat noudattamaan tulosyksikön esimiesten antamia ohjeita, sairaalan yleisiä sääntöjä sekä salassapito- ja vaitiolovelvollisuutta ja lähettämään tutkimusraportin yksikköön jossa tutkimus on tehty sekä luvan myöntäjälle. | |
| 15 / 3_ 2012 | |
| _____ | _____ |
| Tutkijan allekirjoitus | Tutkijan allekirjoitus |
| _____ | _____ |
| Nimen selvennys | Nimen selvennys |
| _____ | _____ |
| Tutkijan allekirjoitus | Tutkijan allekirjoitus |
| _____ | _____ |
| Nimen selvennys | Nimen selvennys |
| OPINNAYTETYÖN OHJAAJAT | |
| _____ | _____ |
| Ohjaajan allekirjoitus | Ohjaajan allekirjoitus |
| _____ | _____ |
| Nimen selvennys | Nimen selvennys |
| _____ | _____ |
| Osoite, puhelin, s-posti | Osoite, puhelin, s-posti |
| PUOLTO Potilastutkimuksissa puolto tarvitaan joko tulosyksikön ylläkääriltä (yksi tulosyksikkö) tai johtajayliääkäriltä (useita tulosyksiköitä). | |
| <input type="checkbox"/> Puollan hakemusta | |
| <input type="checkbox"/> En puolla, perustelut | |
| ___ / ___ 20__ | |
| _____ | |
| Allekirjoitus | |
| _____ | |
| Nimen selvennys, virka-asema | |

Islab:n tutkimuslupahakemus



ITÄ-SUOMEN LABORATORIOKESKUKSEN
LIIKELAITOSKUNTAYHTYMÄ

HOITOTIETEEN JA MUIDEN TERVEYS-
TIETEIDEN TUTKIMUSLUPAHAKEMUS

| | |
|---|--|
| PÄÄTÖS | |
| <input type="checkbox"/> | Myönän tutkimusluvan |
| <input type="checkbox"/> | Myönän tutkimusluvan, mutta ennen tutkimuksen aloittamista tutkimukselle tulee hakea tutkimuseettisen toimikunnan lausunto / johtajayliääkärin lupa rekisteritutkimuksia varten / STM:n lupa rekisteritutkimuksia varten / KYS:n henkilöstöpäällikön lupa henkilökuntaa koskevia tutkimuksia varten / muu lupa, mikä |
| _____ | |
| <input type="checkbox"/> | Tulosyksikön / -alueen ylihoitajan / hallintoylihoitajan päätös nro _____ |
| <input type="checkbox"/> | Islabin aluelaboratorion johtajan päätös _____ |
| __ / __ 20 __ | |
| Ailekirjoitus _____ | |
| Nimen selvennys _____ | |
| Yhteyshenkilö Islabissa/KYSissä (Tulosyksikön /-alueen ylihoitaja tai hallintoylihoitaja nimeää) | |
| _____ | |
| Nimi _____ | Työyksikkö _____ |
| S-posti _____ | Puhelin _____ |

LIITTEET

- Tutkimussuunnitelma _____ sivua
 Rahoitussuunnitelma _____ sivua
 Muita liitteitä _____ sivua

Näytteenotto-ohjeistus Mikkelin aluelaboratorioon

| | |
|--|-------------|
| Pohjois-Karjalan ammattikorkeakoulu | Ohje |
| Bioanalytiikan koulutusohjelma | |
| Anne-Mari Waris, TBNS09 | 15.2.2012 |

Islab, Mikkelin aluelaboratorio

Näytteenotto-ohje opinnäytetyön materiaalin keräämiseen

Näyte materiaalia kerätään vapaaehtoisilta potilailta. Näytteitä käytetään opinnäytetyössä, "Näytteen valolta altistuksen vaikutus plasman kokonais-bilirubiini pitoisuuteen". Tutkimuksen tarkoituksena on mitata bilirubiinin hajoamista valolle altistuessaan. Tarkoituksena on kehittää laboratorion toimintaa. Materiaalia tulisi saada kolmestakymmenestä (30) vapaaehtoisesta potilaasta. Jokaisesta vapaaehtoisesta tarvitaan neljä (4) putkea litium-hepariini-verta. Putkiin ei merkitä mitään henkilötietoja vaan potilaan näytteet erotellaan toisten näytteistä juoksevalla numeroinnilla (ensimmäinen potilas on numero 1, seuraava on numero 2 jne.) Potilaan kaikkiin putkiin merkitään hänen numeronsa. Potilaan numeron perään kirjoitetaan kirjain A, B, C tai D. Jokaiselta potilaalta pitää löytyä A-, B-, C- ja D-putki, esim. 1A, 1B, 1C ja 1D. Potilaalla on oikeus perua tutkimukseen osallistuminen ennen tutkimuksen loppumista.

Näytteenotto

Näytteenotto-tilanteessa on oltava näytteenotto-välineiden lisäksi oransseja suojaputkia näytteiden valolta suojaamista varten.

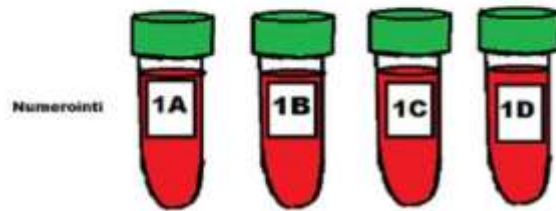
1. Kysytään potilaalta suullinen lupa ylimääräisten näytteiden ottamiseen ja halukkuus osallistua tutkimukseen. Potilaalle selitetään tutkimuksen kehittävän laboratorion toimintaa.
2. Potilaalle annetaan lappu, jossa on laboratorion puhelinnumero ja potilaan tutkimusnumero. Potilalle kerrotaan hänen oikeudestaan perua osallistumisensa tutkimukseen, jos hän tulee toisiin ajatuksiin tutkimukseen osallistumisestaan.
3. Potilaasta otetaan neljä putkea litium-hepariini-verta tutkimusta varten.
4. Kaikkiin putkiin kirjataan potilaan numero. Jokaiseen putkeen merkitään myös yksi kirjain A,B,C ja D. Kurvassa 1 on kuvattu potilaan numero 1 näytteiden merkitsemismalli.
5. Näytteet suojataan valolta oransseilla suojaputkilla merkitsemisen jälkeen.

Näytteenotto-ohjeistus Mikkelin aluelaboratorioon

6. Laboratoriossa näytteet sentrifugoidaan ilman suojaputkia.

7. Näytteet laitetaan takaisin suojaputkiin sentrifugoinnin jälkeen ja pakastetaan mahdollisimman pian sentrifugoinnista.

Kuva 1.



PreciControl ClinChem Multi-kontrollien käyttö- ja valmistusohjeet

0511720001V2

PreciControl ClinChem Multi 1

05947626 190
05117003 190
05117208 922

for 4 x 5 mL
for 20 x 5 mL
for 20 x 5 mL (QCS)

English

System information

For use on Roche/Hitachi MODULAR and **cobas c** analyzers the control code is 391 (PCCC1).
For use on COBAS INTEGRA analyzers the system ID is 07 7469 3.

Intended use

PreciControl ClinChem Multi 1 is for use in quality control by monitoring accuracy and precision for the quantitative methods as specified in the value sheets.

Summary

PreciControl ClinChem Multi 1 is a lyophilized control based on human serum. The adjusted concentrations and activities of the control components are in the normal range or at the normal/pathological threshold. Some of the methods as specified in the value sheets may not be available in all countries.

Reagents – working solutions

Reactive components in the lyophilizate:

Human serum with chemical additives and material of biological origin as specified.

The origin of the biological additives is as follows:

| Analyte | Origin |
|----------------------|---|
| ALT (GPT) | human, recombinant |
| AST (GOT) | human, recombinant |
| Aldolase | rabbit muscle |
| Alkaline phosphatase | human placenta (recombinant) |
| Amylase, total | human saliva / porcine pancreas |
| Amylase, pancreatic | porcine pancreas |
| Creatine kinase | human CK-MM / human CK-MB (recombinant) |
| CK-MB | human CK-MB (recombinant) |
| γ-GT | human, recombinant |
| GLDH | bacterial, recombinant |
| LDH | porcine heart |
| Lipase | human pancreas (recombinant) |
| Acid phosphatase | human prostate / potato |
| ASLO | human |
| CRP | human |
| Transferrin | human |

Non-reactive components in the lyophilizate:

Preservatives and stabilizers

The concentrations and activities of the components are lot-specific. The exact target values are given in the enclosed (or respective electronically available) value sheets.

The values are also encoded in the enclosed control barcode sheets for Roche/Hitachi 912/917 (not for USA), Roche/Hitachi MODULAR and COBAS INTEGRA analyzers.

For the **cobas c** analyzers the values are encoded in electronic files sent via **cobas** link to the analyzers.

Target values and ranges

The target values were determined using the method stated in the enclosed (or respective electronically available) value sheets. Determinations for Roche methods were performed under strictly standardized conditions on Roche analyzers using Roche system reagents and the Roche master calibrator. The target value specified is the mean of all values obtained. The corresponding control range is calculated as the target value \pm 3 standard deviations (with the standard deviation being the value obtained from several target value determinations). Results should be within the defined ranges. Each laboratory should establish corrective measures to be taken if values fall outside the range.

The traceability of the target values is given in the respective instructions for use of the system reagents to be used in combination with the recommended calibrator.

Precautions and warnings

For in vitro diagnostic use.

Exercise the normal precautions required for handling all laboratory reagents.

All human material should be considered potentially infectious. All products derived from human blood are prepared exclusively from the blood of donors tested individually and shown to be free from HBsAg and antibodies to HCV and HIV. The testing methods applied were FDA-approved or cleared in compliance with the European Directive 98/79/EC, Annex II, List A. However, as no testing method can rule out the potential risk of infection with absolute certainty, the material should be treated just as carefully as a patient specimen. In the event of exposure the directives of the responsible health authorities should be followed.^{1,2}

Disposal of all waste material should be in accordance with local guidelines. Safety data sheet for professional user available on request.

Handling

Carefully open one bottle, avoiding the loss of lyophilizate, and pipette in exactly 5.0 mL of distilled/deionized water. Carefully close the bottle and dissolve the contents completely by occasional gentle swirling within 30 minutes. Avoid the formation of foam.

The enclosed barcoded labels are intended exclusively for the Roche/Hitachi 912/917 and Roche/Hitachi MODULAR analyzers and **cobas c** systems to identify the control. Attach the barcoded labels to the tubes carrying the sample cups containing the control material.

Storage and stability

Store at 2–8 °C.

Criterion for the stability data stated by Roche:

Recovery within \pm 10 % of initial value.

Stability of the lyophilized control serum:

Up to the stated expiration date at 2–8 °C.

Stability of components after reconstitution*:

at 15–25 °C 12 hours

at 2–8 °C 5 days

at (-15)–(-25) °C 28 days (when frozen once)

*Exceptions: see below

Stability of total bilirubin, direct bilirubin, acid phosphatase, prostatic acid phosphatase and UIBC in reconstituted control serum (stored protected from light):

at 15–25 °C 8 hours

at 2–8 °C 24 hours

at (-15)–(-25) °C 14 days (when frozen once)

Stability of ALT in reconstituted control serum:

at 15–25 °C 12 hours

at 2–8 °C 5 days

at (-15)–(-25) °C 14 days (when frozen once)

The possible appearance of a slight green coloration has no effect on the recovery of the values.

Store control tightly capped and protected from light when not in use.

Materials provided

- See "Reagents - working solutions" section
- Barcoded labels

Materials required (but not provided)

- Roche system reagents and clinical chemistry analyzer
- General laboratory equipment

Assay

Dispense the required volume into a sample cup and analyze in the same way as patient samples.

The control should be run daily in parallel with the patient samples and after every calibration. The control intervals should be adapted to each laboratory's individual requirements.



Follow the applicable government regulations and local guidelines for quality control.



PreciControl ClinChem Multi-kontrollien käyttö- ja valmistusohjeet

PreciControl ClinChem Multi 1

MS/CBC 2010-08-05947626 - 2 - 07

05947626 190, 05117003 190, 05117208 922 (Q.C.S.)  158563 Ver.1  2012-01

Roche/Hitachi analyzers

Value sheet Ver.1

| Short name / component | Methods | ACN ¹ | Value | Range | 1s | Unit |
|--|----------------------------------|------------------|------------------------|---|-----------------------|-------------------------|
| AMY-L Amylase alpha | IFCC liquid | 570 | 82.2 1.37 | 67.5 - 96.9 1.13 - 1.61 | 4.9 0.08 | U/L µkat/L |
| AMY-L Amylase alpha | IFCC liquid STAT | 566 | 82.2 1.37 | 67.5 - 96.9 1.13 - 1.61 | 4.9 0.08 | U/L µkat/L |
| P-AMY Amylase alpha pancreatic | EPS liquid | 571 | 42.5 0.710 | 34.7 - 50.3 0.581 - 0.839 | 2.6 0.043 | U/L µkat/L |
| ASLO Antistreptolysin O | immunoturbidimetric | 37 | 116 | 89 - 143 | 9 | IU/mL |
| ATRYP Antitrypsin alpha 1 | immunoturbidimetric | 48 | 93.4 0.934 17.2 | 70.9 - 115.9 0.709 - 1.159 13.0 - 21.4 | 7.5 0.075 1.4 | mg/dL g/L µmol/L |
| APOAT Apolipoprotein A-I | immunoturbidimetric ver:2 | 168 | 102 1.02 36.4 | 78 - 126 0.78 - 1.26 27.7 - 45.1 | 8 0.08 2.9 | mg/dL g/L µmol/L |
| APOBT Apolipoprotein B | immunoturbidimetric ver:2 | 151 | 43.1 0.431 0.840 | 32.9 - 53.3 0.329 - 0.533 0.639 - 1.041 | 3.4 0.034 0.067 | mg/dL g/L µmol/L |
| AST Aspartate aminotransferase | IFCC with pyridoxal phosphate | 686 | 46.4 0.775 | 38.0 - 54.8 0.634 - 0.916 | 2.8 0.047 | U/L µkat/L |
| AST Aspartate aminotransferase | IFCC without pyridoxal phosphate | 687 | 45.8 0.765 | 37.7 - 53.9 0.627 - 0.903 | 2.7 0.046 | U/L µkat/L |
| BIL-D Bilirubin direct | Jendrassik-Grof | 294 | 0.854 14.6 8.54 | 0.650 - 1.058 11.0 - 18.2 6.50 - 10.58 | 0.068 1.2 0.68 | mg/dL µmol/L mg/L |
| BIL-T Bilirubin total | DPD | 101 | 0.983 16.8 9.83 | 0.806 - 1.160 13.8 - 19.8 8.06 - 11.60 | 0.059 1.0 0.59 | mg/dL µmol/L mg/L |
| TBILI Bilirubin total | liquid STAT | 18 | 1.03 17.6 10.3 | 0.85 - 1.21 14.3 - 20.9 8.5 - 12.1 | 0.06 1.1 0.6 | mg/dL µmol/L mg/L |
| BUN Blood urea nitrogen | kinetic UV | 421 | 18.9 6.75 0.189 | 16.2 - 21.6 5.73 - 7.77 0.162 - 0.216 | 0.9 0.34 0.009 | mg/dL mmol/L g/L |
| BUN Blood urea nitrogen | kinetic UV STAT | 427 | 18.9 6.75 0.189 | 16.2 - 21.6 5.73 - 7.77 0.162 - 0.216 | 0.9 0.34 0.009 | mg/dL mmol/L g/L |



PreciControl ClinChem Multi-kontrollien käyttö- ja valmistusohjeet

PreciControl ClinChem Multi 2 cobas®

05947774 190, 05117216 190, 05117291 922 (Q.C.S.) LOT 158573 Ver.1 2012-01

VAS/OCB 2010-08-05947774 - 2 - 05

Roche/Hitachi analyzers

Value sheet Ver.1

| Short name / component | Methods | ACN ¹ | Value | Range | 1s | Unit |
|--|----------------------------------|------------------|-----------------------|---|----------------------|-------------------------|
| AMY-L Amylase alpha | IFCC liquid | 570 | 183 3.06 | 150 - 216 2.52 - 3.60 | 11 0.18 | U/L µkat/L |
| AMY-L Amylase alpha | IFCC liquid STAT | 566 | 183 3.06 | 150 - 216 2.52 - 3.60 | 11 0.18 | U/L µkat/L |
| P-AMY Amylase alpha pancreatic | EPS liquid | 571 | 99.8 1.67 | 81.8 - 117.8 1.37 - 1.97 | 6.0 0.10 | U/L µkat/L |
| ASLO Antistreptolysin O | immunoturbidimetric | 37 | 231 | 177 - 285 | 18 | IU/mL |
| ATRYP Antitrypsin alpha 1 | immunoturbidimetric | 48 | 145 1.45 26.7 | 109 - 181 1.09 - 1.81 20.4 - 33.0 | 12 0.12 2.1 | mg/dL g/L µmol/L |
| APOAT Apolipoprotein A-I | immunoturbidimetric ver.2 | 168 | 139 1.39 49.6 | 106 - 172 1.06 - 1.72 37.6 - 61.6 | 11 0.11 4.0 | mg/dL g/L µmol/L |
| APOBT Apolipoprotein B | immunoturbidimetric ver.2 | 151 | 53.5 0.535 1.04 | 40.6 - 66.4 0.406 - 0.664 0.80 - 1.28 | 4.3 0.043 0.08 | mg/dL g/L µmol/L |
| AST Aspartate aminotransferase | IFCC with pyridoxal phosphate | 686 | 133 2.22 | 109 - 157 1.83 - 2.61 | 8 0.13 | U/L µkat/L |
| AST Aspartate aminotransferase | IFCC without pyridoxal phosphate | 687 | 127 2.12 | 103 - 151 1.73 - 2.51 | 8 0.13 | U/L µkat/L |
| BIL-D Bilirubin direct | Jendrassik-Grof | 294 | 2.01 34.4 20.1 | 1.53 - 2.49 26.0 - 42.8 15.3 - 24.9 | 0.16 2.8 1.6 | mg/dL µmol/L mg/L |
| BIL-T Bilirubin total | DPD | 101 | 3.23 55.2 32.3 | 2.66 - 3.80 45.3 - 65.1 26.6 - 38.0 | 0.19 3.3 1.9 | mg/dL µmol/L mg/L |
| TBILI Bilirubin total | liquid STAT | 18 | 3.31 56.6 33.1 | 2.71 - 3.91 46.4 - 66.8 27.1 - 39.1 | 0.20 3.4 2.0 | mg/dL µmol/L mg/L |
| BUN Blood urea nitrogen | kinetic UV | 421 | 69.2 24.7 0.692 | 58.7 - 79.7 21.1 - 28.3 0.587 - 0.797 | 3.5 1.2 0.035 | mg/dL mmol/L g/L |
| BUN Blood urea nitrogen | kinetic UV STAT | 427 | 69.2 24.7 0.692 | 58.7 - 79.7 21.1 - 28.3 0.587 - 0.797 | 3.5 1.2 0.035 | mg/dL mmol/L g/L |



Precibil-kontrollin käyttö- ja valmistusohjeet

1210639901177

Precibil

cobas®

10158046 122

for 4 x 2 mL Control

English

System information

For use on Roche/Hitachi MODULAR and cobas c analyzers the control code is 306.

For use on COBAS INTEGRA analyzers the system ID is 07 6604 6.

Intended use

Precibil is for use in quality control by monitoring accuracy and precision in the range up to 20 mg bilirubin/dL (342 µmol/L) for the quantitative methods as specified in the value sheets.

Summary

Precibil is a lyophilized control based on human serum with the addition of highly purified bilirubin. It is formulated according to the recommendations of the appropriate expert committees.^{1,2,3} Some of the methods as specified in the value sheets may not be available in all countries.

Reagents – working solutions

Reactive components in the lyophilizate:

Bilirubin in a human serum matrix

Non-reactive components:

Preservatives and stabilizers

The concentrations of the components are lot-specific. The exact target values are given in the enclosed (or respective electronically available) value sheets.

The values are also encoded in the enclosed control barcode sheets for Roche/Hitachi 912/917 (not for USA), Roche/Hitachi MODULAR and COBAS INTEGRA analyzers.

For the cobas c 501 system the values are encoded in electronic files sent via cobas link to the analyzer.

Target values and ranges

The target values were determined using the method stated in the value sheets. Determinations for Roche methods were performed under strictly standardized conditions on Roche analyzers using Roche system reagents and the Roche master calibrator. The target value is the median of all values obtained. The corresponding control range is calculated as the target value \pm 3 standard deviations (with the standard deviation being the value obtained from several target value determinations).

Results should be within the defined ranges. Each laboratory should establish guidelines for corrective measures to be taken if values fall outside the range.

The traceability of the target values is given in the respective instructions for use of the system reagents to be used in combination with the recommended calibrator.

Precautions and warnings

For in vitro diagnostic use.

Exercise the normal precautions required for handling all laboratory reagents.

All human material should be considered potentially infectious. All products derived from human blood are prepared exclusively from the blood of donors tested individually and shown to be free from HBsAg and antibodies to HCV and HIV. The testing methods applied were FDA-approved or cleared in compliance with the European Directive 98/79/EC, Annex II, List A.

However, as no testing method can rule out the potential risk of infection with absolute certainty, the material should be treated just as carefully as a patient specimen. In the event of exposure the directives of the responsible health authorities should be followed.^{4,5}

Safety data sheet for professional user available on request.

Disposal of all waste material should be in accordance with local guidelines.

Handling

Carefully open one bottle, avoiding the loss of lyophilizate, and pipette in exactly 2.0 mL of distilled/deionized water. Carefully close the bottle and dissolve the contents completely by occasional gently swirling within 30 minutes. Avoid the formation of foam.

The enclosed barcoded labels are intended exclusively for the Roche/Hitachi 912/917/MODULAR analyzers and cobas c systems to

identify the control. Attach the barcoded labels to the tubes carrying the sample cups containing the control material.

Storage and stability

Store at 2–8°C.

Criterion for the stability data stated by Roche:

Recovery within \pm 10% of initial value.

Stability of the lyophilized control serum at 2–8°C:

Up to the stated expiration date.

Stability of bilirubin in the reconstituted control (when stored protected from light):

at 15–25°C 8 hours

at 2–8°C 2 days

at (-15)–(-25)°C 4 weeks (when frozen once)

Store control tightly capped and protected from light when not in use.

Materials provided

- Precibil
- Barcoded labels

Materials required (but not provided)

- Distilled or deionized water
- Roche system reagents and clinical chemistry analyzer
- General laboratory equipment

Assay

Dispense the required volume into a sample cup and analyze in the same way as with patient samples.

The control should be run daily in parallel with the patient samples and after every calibration. The control intervals should be adapted to each laboratory's individual requirements. Each laboratory should establish QC procedures that conform with pertinent regulations or accreditation requirements.

References

1. American Association of Clinical Chemists: Recommendations on a uniform bilirubin standard. Clin Chem 1962;8:405.
2. College of American Pathologists: A uniform bilirubin standard. Amer J Clin Path 1963;39:90.
3. American Academy of Pediatrics, Committee on Fetus and Newborn: Recommendations on a uniform bilirubin standard. Pediatrics 1963;31:878.
4. Occupational Safety and Health Standards: bloodborne pathogens. (29 CFR Part 1910.1030). Fed. Register. July 1, 2001;17:260–273.
5. Directive 2000/54/EC. Official Journal of the European Communities No. L262 from October 17, 2000.

COBAS, COBAS C, COBAS INTEGRA, MODULAR and PRECIBIL are trademarks of Roche.

Significant additions or changes are indicated by a change bar in the margin.

©2007 Roche Diagnostics



Roche Diagnostics GmbH, D-68296 Mannheim



Precibil-kontrollin käyttö- ja valmistusohjeet

Precibil

cobas®

VSI/C9AC 2011-05-10158046 - 1 - 24

10158046 122

LOT 162488 Ver.1 2013-05

Roche/Hitachi analyzers

Value sheet Ver.1

| Short name / component | Methods | ACN ¹ | Value | Range | 1s | Unit |
|------------------------------------|-----------------|------------------|-------|--------------|------|--------|
| BIL-D Bilirubin direct | Jendrassik-Grof | 294 | 5.06 | 3.86 - 6.26 | 0.40 | mg/dL |
| | | | 86.5 | 65.8 - 107.2 | 6.9 | µmol/L |
| | | | 50.6 | 38.6 - 62.6 | 4.0 | mg/L |
| BILD2 * Bilirubin direct | Dialzo Gen.2 | 734 | 89.9 | 68.3 - 111.5 | 7.2 | µmol/L |
| | | | 5.26 | 4.00 - 6.52 | 0.42 | mg/dL |
| | | | 52.6 | 40.0 - 65.2 | 4.2 | mg/L |
| BIL-T Bilirubin total | DPD | 101 | 12.5 | 10.1 - 14.9 | 0.8 | mg/dL |
| | | | 214 | 175 - 253 | 13 | µmol/L |
| | | | 125 | 101 - 149 | 8 | mg/L |
| TBILI Bilirubin total | liquid STAT | 18 | 13.4 | 11.0 - 15.8 | 0.8 | mg/dL |
| | | | 229 | 187 - 271 | 14 | µmol/L |
| | | | 134 | 110 - 158 | 8 | mg/L |

* not for use in the US

¹ Roche/Hitachi MODULAR analyzer

For translations, see glossary at the end of this document. Übersetzungen sind im Glossar am Ende des Dokuments. Voir traductions en fin de document. Las traducciones pueden consultarse en el glosario al final del documento. Per le traduzioni, vedere il glossario alla fine di questo documento. As traduções encontram-se no glossário ao fim deste documento. För översättningar, se glosförteckning i slutet av detta dokument. For oversættelse henvises til ordlisten sidst i dette dokument. Pro překlad viz. slovníček na konci tohoto dokumentu. Na konci dokumentu je uvedený glosár ako pomôcka k prekladu. Tłumaczenia znajdują się w słowniku na końcu niniejszego dokumentu. A fordításokat lásd a dokumentum végén található szójegyzékben (Glossary). Για μεταφράσεις, δείτε το γλωσσάριο στο τέλος του αρχείου.



Näytteiden bilirubiini-pitoisuudet

| Näyttenumero | 0-näyte (umol/l) | 2h näyte (umol/l) | 4h näyte (umol/l) | 24h näyte (umol/l) |
|--------------|------------------|-------------------|-------------------|--------------------|
| 1 | 7,0 | 6,8 | 7,2 | 3,5 |
| 2 | 3,6 | 4,5 | 3,8 | 2,0 |
| 3 | 6,0 | 9,4 | 8,7 | 2,5 |
| 4 | 88,2 | 89,5 | 78,1 | 69,0 |
| 5 | 3,8 | 5,6 | 6,6 | 1,9 |
| 6 | 360,9 | 355,8 | 345,9 | 318 |
| 7 | 56,8 | 55,8 | 49,4 | 26,1 |
| 8 | 28,0 | 28,0 | 25,4 | 14,4 |
| 9 | 16,2 | 15,2 | 14,4 | 4,1 |
| 10 | 26,3 | 26,4 | 25,1 | 12,6 |
| 11 | 46,9 | 45,7 | 44,6 | 28,0 |
| 12 | 30,3 | 30,4 | 28,7 | 14,2 |
| 13 | 4,7 | 4,6 | 3,5 | 1,3 |
| 14 | 17,0 | 17,3 | 14,8 | 4,2 |
| 15 | 6,0 | 5,4 | 5,3 | 1,8 |
| 16 | 5,5 | 6,0 | 5,4 | 1,8 |
| 17 | 10,5 | 10,0 | 11,4 | 5,3 |
| 18 | 7,7 | 8,1 | 8,2 | 2,9 |
| 19 | 20,1 | 19,4 | 16,7 | 4,8 |
| 20 | 9,8 | 9,6 | 8,1 | 2,4 |
| 21 | 100,1 | 121,7 | 123,4 | 91,4 |
| 22 | 11,5 | 9,3 | 9,2 | 2,7 |
| 23 | 13,6 | 13,7 | 13,2 | 5,5 |
| 24 | 37,0 | 35,3 | 32,9 | 11,1 |
| 25 | 12,9 | 12,2 | 10,0 | 3,6 |
| 26 | 9,0 | 8,5 | 8,4 | 2,3 |
| 27 | 11,3 | 10,2 | 9,6 | 1,7 |
| 28 | 36,3 | 35,5 | 34,3 | 18,0 |
| 29 | 4,0 | 3,5 | 3,2 | 0,8 |
| 30 | 10,7 | 9,9 | 8,4 | 2,0 |

Parittaisten t-testien tulostaulukot

Parittainen kahden otoksen t-testi keskiarvoille
ryhmät A&B

| | <i>Muuttuja 1</i> | <i>Muuttuja 2</i> |
|---------------------------------|-------------------|-------------------|
| Keskiarvo | 33,39 | 33,77666667 |
| Varianssi | 4391,454724 | 4394,794264 |
| Havainnot | 30 | 30 |
| Pearsonin korrelaatio | 0,997952379 | |
| Arvioitu keskiarvojen ero va | 0 29 | |
| t Tunnusluvut | -0,499301867 | |
| P(T<=t) yksisuuntainen | 0,310666851 | |
| t-kriittinen yksisuuntainen | 1,699127027 | |
| P(T<=t) kaksisuuntainen | 0,621333702 | |
| t-kriittinen kaksisuuntainen | 2,045229642 | |

Parittainen kahden otoksen t-testi keskiarvoille
ryhmät A&C

| | <i>Muuttuja 1</i> | <i>Muuttuja 2</i> |
|---------------------------------|-------------------|-------------------|
| Keskiarvo | 33,39 | 32,13 |
| Varianssi | 4391,454724 | 4159,195966 |
| Havainnot | 30 | 30 |
| Pearsonin korrelaatio | 0,996424934 | |
| Arvioitu keskiarvojen ero va | 0 29 | |
| t Tunnusluvut | 1,188594134 | |
| P(T<=t) yksisuuntainen | 0,122120993 | |
| t-kriittinen yksisuuntainen | 1,699127027 | |
| P(T<=t) kaksisuuntainen | 0,244241985 | |
| t-kriittinen kaksisuuntainen | 2,045229642 | |

Parittainen kahden otoksen t-testi keskiarvoille
ryhmät A&D

| | <i>Muuttuja 1</i> | <i>Muuttuja 2</i> |
|---------------------------------|-------------------|-------------------|
| Keskiarvo | 33,39 | 21,99666667 |
| Varianssi | 4391,454724 | 3531,065161 |
| Havainnot | 30 | 30 |
| Pearsonin korrelaatio | 0,99499051 | |
| Arvioitu keskiarvojen ero va | 0 29 | |
| t Tunnusluvut | 6,717046979 | |
| P(T<=t) yksisuuntainen | 1,13753E-07 | |
| t-kriittinen yksisuuntainen | 1,699127027 | |
| P(T<=t) kaksisuuntainen | 2,27506E-07 | |
| t-kriittinen kaksisuuntainen | 2,045229642 | |