

Jaakko Puistola & Piia Määttä

IDS-iSYS MULTI-DISCIPLINE AUTOMATED SYSTEM

SOP:in (Standard Operating Procedure) mukainen käyttöohje

IDS-iSYS MULTI-DISCIPLINE AUTOMATED SYSTEM

SOP:in (Standard Operating Procedure) mukainen käyttöohje

Jaakko Puistola & Piia Määttä
Opinnäytetyö
Kevät 2018
Bioanalytiikan tutkinto-ohjelma
Oulun ammattikorkeakoulu

TIIVISTELMÄ

Oulun ammattikorkeakoulu
Bioanalytiikan tutkinto-ohjelma

Tekijä(t): Jaakko Puistola & Piia Määttä

Opinnäytetyön nimi: IDS-iSYS Multi-Discipline Automated System – SOP:n (Standard Operating Procedure) mukainen käyttöohje

Työn ohjaaja: Jani Salmivaara & Mika Paldanius

Työn valmistusluku ja -vuosi: Kevät 2018

Sivumäärä: 26

Opinnäytetyön tarkoituksena oli tehdä SOP:in (Standard Operating Procedure) mukainen käyttöohje IDS-iSYS-analysaattorin D-vitamiinimäärityksille. IDS-iSYS on analysaattori, jonka analysointimenetelmä perustuu kemiluminesenssiin. Analysaattorilla on mahdollista suorittaa erilaisia immunotutkimuksia ja biokemiallisia tutkimuksia. Sillä tehtävät D-vitamiinimääritykset ovat pääasiassa 25-hydroksi-D-vitamiini (25-OH D) -määritystutkimuksia.

Tavoitteena oli kirjoittaa selkeä ja kattava englanninkielinen käyttöohje ValiFinn terveyslaboratorion käyttöön. Terveyslaboratorion henkilökunta käyttää analysaattoria tutkimusnäytteiden määrityksissä ja pääasiassa laitteella tehtävät analyysit koostuvat D-vitamiinimäärityksistä. ValiFinn tarvitsi analysaattorille ajantasaisen ja standardien mukaisen SOP-pohjaisen käyttöohjeen.

Menetelmältään opinnäytetyö oli toiminnallinen. Opinnäytetyön teoreettisen pohjan kirjoittamisessa käytimme erilaisia mahdollisimman ajantasaisia artikkeleita, kirjallisuutta ja Internet-sivustoja. Käyttöohjeen kirjoittamiseksi perehdyimme analysaattorin toimintaan ja käytimme apuna IDS-iSYS:n laajaa käyttöopasta, sekä analysaattorin kontrollien ja reagenssien käyttöohjeita.

Opinnäytetyön tuotteena syntyi 14-sivuinen, englanninkielinen SOP-käyttöohje IDS-iSYS-analysaattorille. Se sisältää selkeät ja kattavat ohjeet, joiden avulla kuka tahansa pystyy suorittamaan laitteella tehtävät D-vitamiinimääritykset asianmukaisesti. Ohjetta voidaan käyttää pohjana muille analyyseille mahdollisesti tehtävistä käyttöohjeista tai uuden työntekijän perehdytyksessä. Käyttöohje säilytetään omassa kansiossaan analysaattorin läheisyydessä sekä PDF-tiedostona analysaattorin yhteydessä olevalla tietokoneella.

Asiasanat: D-vitamiini, IDS-iSYS, käyttöohje, SOP

ABSTRACT

Oulu University of Applied Sciences
Degree Programme in Biomedical Laboratory Science

Author(s): Jaakko Puistola & Piia Määttä

Title of thesis: IDS-iSYS Multi-Discipline Automated System – SOP:n (Standard Operating Procedure) mukainen käyttöohje

Supervisor(s): Jani Salmivaara & Mika Paldanius

Term and year when the thesis was submitted: Spring 2018 Number of pages: 26

The purpose of this thesis was to make a SOP (Standard Operating Procedure) manual for the IDS-iSYS analyzer for vitamin D assays. IDS-iSYS is an analyzer of which method of analysis is based on chemiluminescence. The analyzer is able to perform various immunoassays and biochemical assays. Vitamin D assays performed on the analyzer are mainly 25-hydroxy vitamin D (25-OH D) assays.

The aim of the thesis was to write a clear and comprehensive manual in English for the ValiFinn Health laboratory. The staff of the Health laboratory uses the analyzer for research assays and essentially analyses consist of vitamin D assays. ValiFinn needed an up-to-date SOP-based manual for the analyzer.

In writing the theoretical background of the thesis we used a variety of up-to-date articles, literature and Internet sites. To write the manual, we learned about the analyzer's operation and used the extensive operating manual of IDS-iSYS as well as the analyzer's control and reagent instructions.

The product of the thesis was a 14-page SOP manual for the IDS-iSYS analyzer. It contains clear and comprehensive guidelines that will enable anyone to properly perform vitamin D assays on the analyzer. The tutorial can be used as a basis for any other analyses that might need an instruction manual, or for orienting a new employee. The manual is stored in its own folder near the analyzer and as a PDF file on the computer connected to the analyzer.

Keywords: vitamin D, IDS-iSYS, manual, SOP

SISÄLLYS

1	JOHDANTO	6
2	D-VITAMIINI	7
2.1	D-vitamiini ja sen eri muodot.....	7
2.2	D-vitamiinin merkitys terveydelle	8
2.3	D-vitamiinin saantisuositukset.....	9
2.4	D-vitamiinimääritysten laboratorimenetelmät.....	9
3	IDS-ISYS-ANALYSAATTORI.....	11
3.1	Immunotutkimukset ja biokemialliset tutkimukset.....	17
3.2	Analysaattorin toimintaan perehtyminen	17
4	D-VITAMIINITUTKIMUKSET IDS-ISYS-ANALYSAATTORILLA	18
4.1	Tutkimuspaketin sisältö	18
4.1.1	Menetelmän periaate.....	19
5	SOP-KÄYTTÖOHJE.....	20
5.1	Käyttöohjeen kirjoittaminen	20
6	D-VITAMIINIMÄÄRITYSTEN KÄYTTÖOHJEEN TOTEUTUS.....	22
6.1	ValiFinn terveyslaboratorio.....	22
6.2	Tarkoitus ja tavoitteet	22
6.3	Työn toteutus ja eteneminen.....	22
6.4	Viimeistely ja käyttöönotto.....	23
7	POHDINTA	24
	LÄHTEET	25

1 JOHDANTO

Opinnäytetyön tarkoituksena oli tehdä selkeä ja kattava SOP:n (Standard Operating Procedure) mukainen käyttöohje D-vitamiinimääritysprosessille IDS-iSYS-analysaattorilla. SOP:it ovat yhdenmukaisia (standardisoituja) toimintamalleja. Ne kuuluvat olennaisena osana onnistuneeseen laatu järjestelmään. SOP:it antavat käyttäjille tarvittavan tiedon, jolla he pystyvät suoriutumaan tehtävästään asianmukaisesti. SOP sisältää kaikki tarvittavat ohjeet prosessin suorittamisesta sekä ohjeistuksen prosessin kannalta tärkeiden työkalujen ja järjestelmien käytöstä.

Toive IDS-iSYS-analysaattorille tehtävästä englanninkielisestä SOP:in (Standard Operating Procedure) mukaisesta käyttöohjeesta tuli ValiFinn terveyslaboratorion henkilökunnalta, sillä heillä ei ollut ajantasasta SOP-pohjaista käyttöohjetta laitteella tehtäviä D-vitamiinimäärityksiä varten. ValiFinn käyttää IDS-iSYS-analysaattoria erilaisten tutkimusnäytteiden määrityksissä. Laitteella tehtävät analyysit koostuvat pääasiassa D-vitamiiniarvojen määrityksistä, mutta laitetta voidaan käyttää myös mm. tartraatti-resistentti hapan fosfataasin eli TRAcP:n määrityksiin.

Opinnäytetyön tuotteena valmistui IDS-iSYS-analysaattorille 14-sivuinen, englanninkielinen SOP-käyttöohje, jossa on mahdollisimman selkeät ja kattavat, vaihe vaiheelta etenevät ohjeet D-vitamiinimääritysten tekoa varten. Käyttöohjeessa käydään läpi kaikki tarvittavat työvaiheet analyysin onnistuneeseen suorittamiseen mahdollisimman selkokielellisesti ja yksityiskohtaisesti. Käyttöohjeeseen lisättiin kuvia selkeyttämään ohjetta. Tavoitteena oli, että kuka tahansa pystyisi ohjeen avulla tekemään D-vitamiinimäärityksiä analysaattorilla. Ohjetta voidaan käyttää apuna esimerkiksi uuden työntekijän perehdytyksessä tai pohjana muille analyyseille mahdollisesti tehtävistä SOP-käyttöohjeista.

2 D-VITAMIINI

D-vitamiinin löytämistä ja sen puutteesta johtuvan riisitaudin selättämistä pidetään yhtenä lääketieteen merkittävimmistä saavutuksista. D-vitamiinia ja sen terveysvaikutuksia on tutkittu jo vuosia siitä lähtien kun sen keksi lääkäri Edward Mellanby vuonna 1919. (DeLuca 2004, 1689-1690.) D-vitamiinilla tiedetään olevan tärkeitä tehtäviä elimistössä, mm. kalsiumaineenvaihdunnan säätely ja luuston terveyden ylläpito. Uusimmat tutkimukset ovat osoittaneet, että D-vitamiinilla voi olla hyvinkin moninaiset vaikutukset monien erilaisten sairauksien, esim. syöpien, ehkäisyssä.

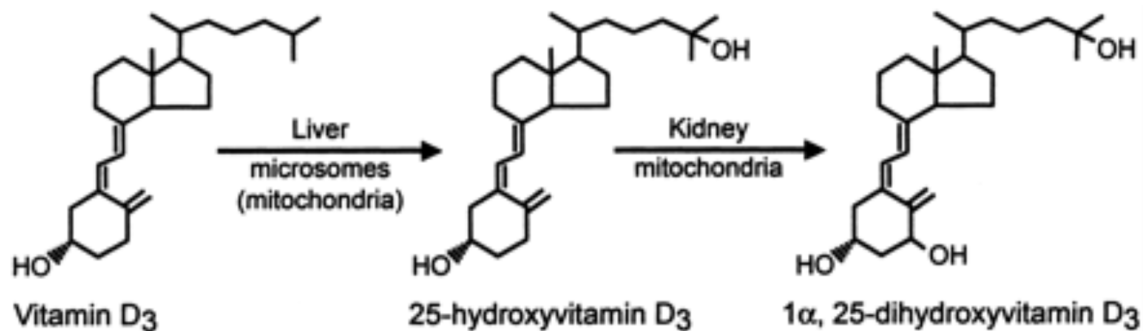
2.1 D-vitamiini ja sen eri muodot

D-vitamiini on tärkeä elimistön rasvaliukoinen vitamiini. Se on prohormoni, jota elimistö pystyy tuottamaan auringon UVB-valon vaikutuksesta iholla 7-dehydrokolesterolista. Molekyyli rakenteeltaan se voidaan luokitella sekosteroidiksi. D-vitamiini on rakenteeltaan lähellä steroidihormoneja, esimerkiksi kortisolia ja estradiolia, koska sen steroidirunko on hajonnut avoketjuiseksi. (Norman 2008, 491.)

D-vitamiinilla on viisi eri muotoa, joista tärkeimpänä pidetään D3-vitamiinia eli kolikalsiferolia. Sitä muodostuu auringon UVB-valon vaikutuksesta iholla 7-dehydrokolesterolista. D3-vitamiinia saadaan ruoassa merkittäviä määriä vain kalasta. Toista pääasiallista D-vitamiinin muotoa, D2-vitamiinia eli ergokalsiferolia, on pieniä määriä kasvikunnan tuotteissa, kuten joissain sienissä. Yleisesti sitä kuitenkin valmistetaan synteettisesti hiivan ergosterolista UV-säteilytyksen avulla. (Paakkari 2016, viitattu 28.1.2018; Aro 2005, 1749.)

Iholla muodostuneita ja ravinnosta saatavia D3- ja D2-vitamiinia ei pidetä biologisesti aktiivisina, ennen kuin ne käyvät läpi kaksi entsyymaattista hydroksylaatioreaktiota, jotka on esitetty kuvassa 1. Ne hydroksyloituvat aluksi maksassa, jossa niistä muodostuu 25-hydroksi-D-vitamiinia eli kalsidiolia, joka on D-vitamiinin varastomuoto. Se pystyy sitoutumaan omiin kantajaproteiineihinsa (VDBP eli Vitamin D Binding Protein), joita on muun muassa plasmassa. Munuaisissa tämä varastomuoto muuttuu D-vitamiinin aktiiviseksi kalsiumaineenvaihduntaa sääteleväksi muodoksi 1,25-dihydroksi-D-vitamiiksi eli kalsitrioliksi. Aktivoitu kalsitrioli kulkeutuu tiettyihin kohdekudoksiin,

joissa se vaikuttaa omien reseptoreidensa (Vitamin D Receptor eli VDR) kautta. (Norman 2008, 491-492; DeLuca 2014, 3.)



KUVA 1. D-vitamiinin metabolinen aktivaatio D₃-vitamiinista 1,25-dihydroksi-D-vitamiiniksi. (Lähde: BoneKEy Reports 3 (479)).

2.2 D-vitamiinin merkitys terveydelle

D-vitamiinilla on useita keskeisiä tehtäviä elimistössä. Se säätelee elimistön kalsiumaineenvaihduntaa ja yhdessä lisäkilpirauhashormonin kanssa se lisää kalsiumin takaisin imeytymistä munuaisten distalisesta tubuluksesta estäen sen uloserittymisen virtsan mukana. D-vitamiini huolehtii luun mineralisaatiosta ja vapauttaa kalsiumia luustosta seerumiin tarvittaessa. Se myös stimuloi kalsiumin ja fosfaatin imeytymistä ohutsuolessa (Aro 2005, 1749; Toriola 2010, 39.)

D-vitamiinin riittävä saanti on tärkeää ihmisille ja se vaikuttaa useilla eri tavoilla ihmisen terveyteen. Tutkimukset ovat osoittaneet, että D-vitamiinin riittävä saanti ehkäisee osteoporoosia ja siihen liittyviä luunmurtumia. D-vitamiinin puutteellinen saanti aiheuttaa luustoa pehmentäviä sairauksia, lapsilla riisitautia ja aikuisilla osteomalasiaa, koska luun solunulkoisen väliaineen mineraalistuminen on häiriintynyt D-vitamiinin tai fosfaatin puutteesta johtuen. D-vitamiini on tärkeä myös lihasten toiminnalle. (Valtion ravitsemusneuvottelukunta 2014, viitattu 22.2.2018; Välimäki & Voutilainen & Katila & Tuomi 2001, 2171.)

Myös muita sairauksia on yhdistetty D-vitamiinin puutteeseen, mm. diabetes, erilaiset syövät sekä infektioaudit. Immuunipuolustuksen ensilinjassa vaikuttavien antimikrobisten peptidien synteesi on riippuvainen D-vitamiinista ja osa näistä antimikrobisista peptideista estää muun muassa influenssaviruksen toimintaa. D-vitamiinin puutteesta kärsivät voivat olla alttiimpia saamaan oireisen infektioaudin. (Alitalo 2010, 1127; Paakkari 2016, viitattu 28.1.2018.)

Tutkimuksissa on osoitettu, että D-vitamiini voi olla osana joidenkin syöpien ehkäisyssä. Tutkimusta on tehty muun muassa D-vitamiinin rintasyövältä suojaavasta vaikutuksesta, sekä sen tärkeydestä eturauhassyövän etenemisen estämiseksi. D-vitamiinin kaikista terveysvaikutuksista ei kuitenkaan ole tarpeeksi kokeellista näyttöä. (Toriola 2010, 39; Paakkari 2016, viitattu 28.1.2018.)

2.3 D-vitamiinin saantisuositukset

D-vitamiinin tärkeimpiä lähteitä ovat kala, sekä vitaminoidut maitovalmisteet ja ravintorasvat. Kesäisin auringon UV-säteilyn vaikutuksesta iholla muodostuu myös D-vitamiinia, jolloin kesäisin D-vitamiinin saanti on huomattavasti suurempaa, kuin talvisin. Kesällä muodostuneet D-vitamiinivarastot loppuvat noin 1-2 kuukaudessa, minkä takia Suomen oloissa pimeinä talvikuukausina suositellaan suun kautta otettavaksi D-vitamiinilisää. D-vitamiinilisää on suositeltu pikkulapsille 1950-luvulta lähtien. (Paakkari 2016, viitattu 28.1.2018; Aro 2005, 1751-1752.)

D-vitamiinipitoisuutta mitataan sen varastomuodon, 25-hydroksi-D-vitamiinin, kokonaispitoisuutta määrittämällä. 25-hydroksi-D-vitamiinin määrittäminen seerumista kuvastaa parhaiten ihmisen elimistön D-vitamiinivarastoja. (Kennel, Drake & Hurley 2010, 754.) Terveystasolta riittävänä pidetään yli 50 nmol/l-pitoisuutta. Aikuiset pystyvät yleensä saavuttamaan tavoitetasot ilman vitamiinilisää, koska Suomessa D-vitamiinia lisätään tiettyihin elintarvikkeisiin. Ilman päivittäistä D-vitamiinivalmisteiden tai kalan käyttöä, pimeimpänä vuodenaikana suositellaan 18-74-vuotiaille 10 ug vitamiinilisää. (Valtion ravitsemusneuvottelukunta 2014, viitattu 22.2.2018.)

Uusimmat saantisuositukset D-vitamiinille ovat yli 2-vuotiaille, nuorille ja aikuisille 10 ug/vrk joko ravinnosta tai vitamiinilisänä. Lapsille suositellaan kahden viikon ikäisestä 2-vuotiaaksi annettavaksi vitamiinilisänä 10 ug/vrk. 2-18-vuotiaille suositus on käyttää ympäri vuoden D-vitamiinivalmistetta 7,5 ug/vrk. Iäkkäille, yli 75-vuotiaille, suositus on 20 ug/vrk ympäri vuoden. Uusien ravitsemussuositusten tarkoituksena on varmistaa D-vitamiinin riittävä saanti. (Valtion ravitsemusneuvottelukunta 2014, viitattu 22.2.2018; Elintarviketurvallisuusvirasto 2017, viitattu 16.3.2018.)

2.4 D-vitamiinimäärittysten laboratoriomenetelmät

Laboratorioissa D-vitamiinimäärittäksiä voidaan tehdä erilaisilla menetelmillä, muun muassa kemiluminesenssiä hyödyntäen kuten IDS-iSYS:llä. Myös kromatografisia menetelmiä, sekä erilaisia

immunomäärityksiä (yleisimpinä ELISA ja RIA), voidaan käyttää D-vitamiinipitoisuuksien määrittämiseen.

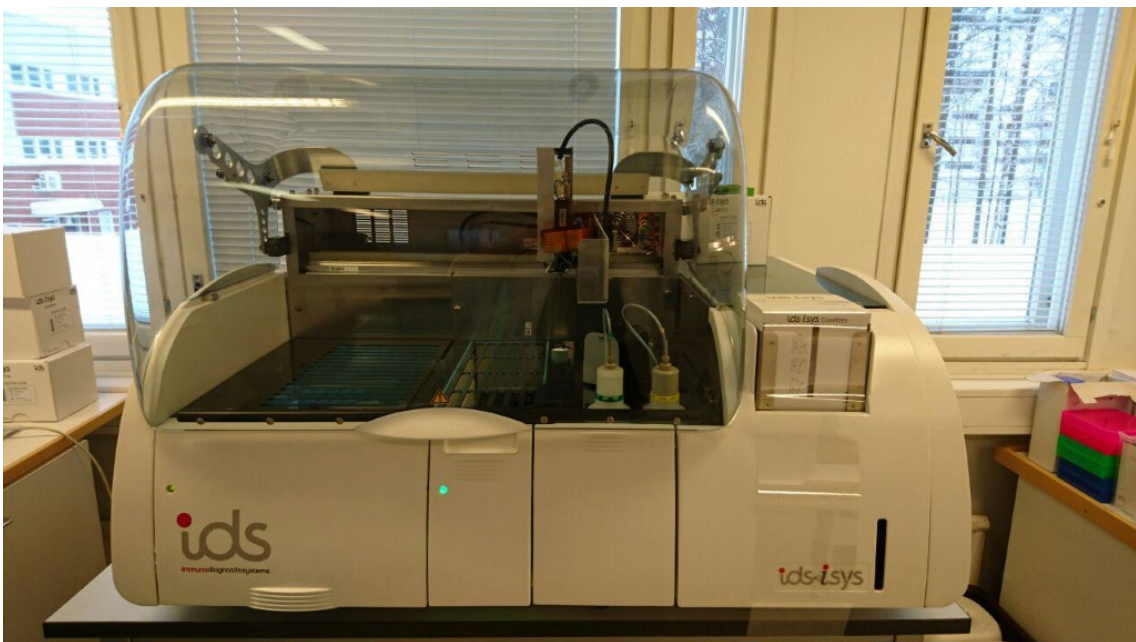
Immunomäärityksissä mitataan yleensä joko yhdisteen, eli antigeenin, tai vasta-aineen pitoisuutta. RIA eli radioimmunomääritys on menetelmä, joka mittaa antigeenin tai vasta-aineen määrää näytteessä tarkasti ja herkästi. Antigeeni tai vasta-aine leimataan käyttämällä radioaktiivista merkkiainetta. Uusien immunomääritysmenetelmien kehittämisen myötä RIA:n käyttö on kuitenkin huomattavasti vähentynyt. (Halonen 2004, 90-95.)

EIA-menetelmissä leimoina ovat käytössä entsyymit. ELISA on heterogeeninen EIA-menetelmä, joka on yleisesti käytössä kliinisessä kemiassa. Siitä on kaksi menetelmämuotoa, joista toinen perustuu kaksoisvasta-ainetekniikkaan ja toinen kilpailevaan sitoutumiseen. Myös RIA-menetelmä perustuu kilpailevaan sitoutumiseen. Siinä tietty määrä leimattua antigeenia ja näytteessä olevaa leimaamatonta antigeenia kilpailee sitoutumisesta kiinteään faasiin sidottuun vasta-aineeseen, jota on vakiomäärä. (Halonen 2004, 90-95.)

Kromatografisista menetelmistä käytetyin on ollut nestekromatografia. Uusimmissa menetelmissä on hyödynnetty nestekromatografiaa yhdistettynä massaspektrometriin, joka lisää menetelmän herkkyyttä, ja jolla pystytään mittaamaan kaikkia D-vitamiinin muotoja. Nestekromatografia on yleensä spesifisempi menetelmä D-vitamiinin eri muotojen määrittämiseen kuin esimerkiksi immunomääritykset. (Arneson & Arneson 2013, 39-40.) Immunomääritykset ovat kuitenkin luonnostaan herkkiä menetelmiä ja vaativat usein pienemmän määrän näytettä kromatografisiin menetelmiin verrattuna. Kliinisen kemian laboratorioissa immunomäärityksiä suositetaan usein sen takia, että ne on helppo integroida täysin automatisoituihin ja nopeisiin määrittämenetelmiin. (Couchman & Moniz 2017, 98-99.)

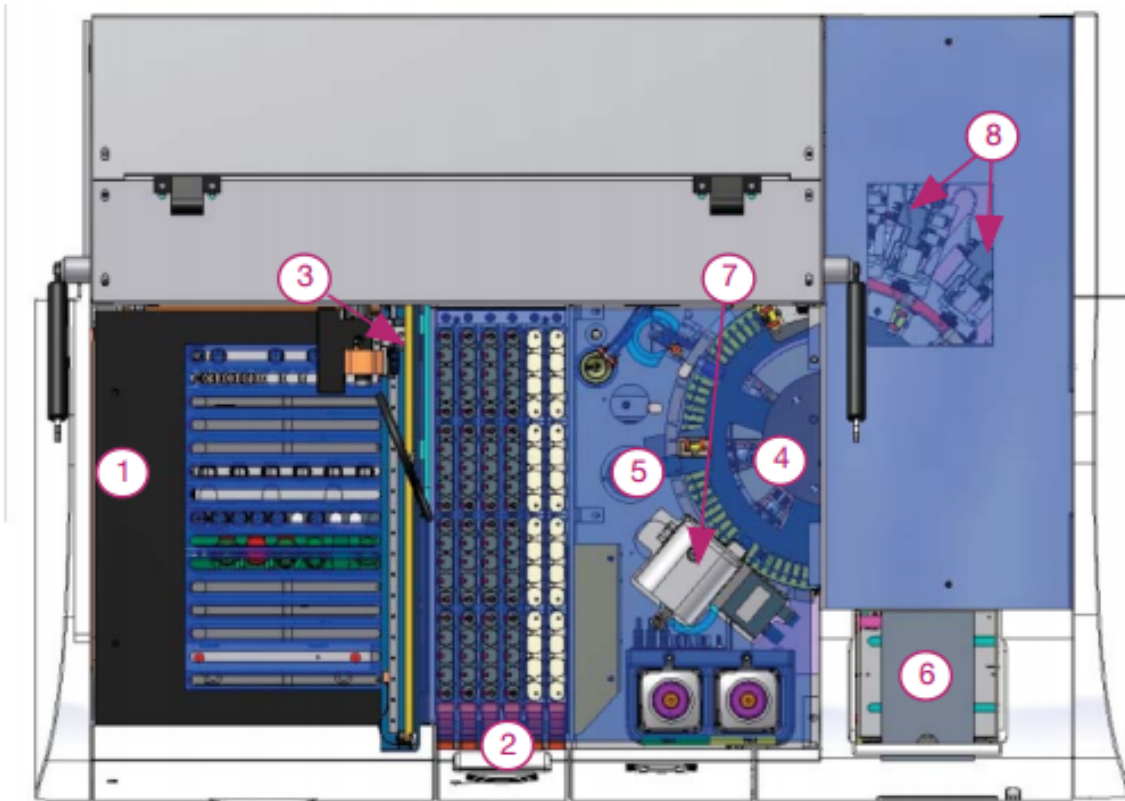
3 IDS-ISYS-ANALYSAATTORI

IDS-ISYS on analysointilaitteisto, jonka analysointimenetelmä perustuu kemiluminesenssiin. IDS-iSYS mahdollistaa immunotutkimusten ja biokemiallisten tutkimusten suorittamisen yhdellä analysointilaitteistolla. Tutkimuksiin kuuluvat immunotutkimusten osalta luun rakenteet ja kasvu, infektiosairauksien määritykset, hypertensio sekä autoimmuunimääritykset. Biokemian osalta tutkimuksia ovat muun muassa substraatti-, entsyymi-, elektrolyytti-, sekä proteiinimääritykset. Kuvassa 2 IDS-iSYS analysointilaitteisto. (IDS 2015, viitattu 28.1.2018.)



KUVA 2. IDS-ISYS edestä kuvattuna

IDS-analysointilaitteistolla luminisenssimääritykset sekä spektrofotometriset määritykset ovat mahdollisia. Analysointilaitteisto tukee sekä kemiluminesenssiin perustuvia immunotutkimuksia, että entsyymillä tehtäviä tutkimuksia. ISYS mahdollistaa immunotutkimusten ja biokemiallisten testien suorittamisen täysin automatisoidusti. Yksittäiset tutkimukset suoritetaan kertakäyttöisissä kyvetteissä, jotka syötetään automaattisesti kyvettikelkkaan. Asynkroninen toiminta mahdollistaa jokaisen kyvetin yksittäisen käsittelyn ja siirron asianmukaiseen reaktiokammioon kyvettikelkan ympärillä. Mittaukset suoritetaan suoraan kyvetin sisällä. Kuva 3 havainnollistaa analysointilaitteiston sisällön ylhäältä käsin. (IDS 2015, viitattu 28.1.2018.)



KUVA 3. IDS-ISYS läpileikkaus ylhäältä (Lähde: IDS 2015.)

1. Jäähdytetty reagenssikelkka, jossa 15 paikkaa immunotutkimuksille tai biokemiallisille tutkimuksille sekä lisäksi erikoispaikka kronometrisille reagensseille.
2. Kelkka näytteille, kalibraattoreille ja kontrolleille. Riippuen analysaattorin konfiguraatiosta tämä koostuu integroidusta 64 paikan näytealustasta tai vaihdettavista 20 näytepaikan kelkoista, joita sisään mahtuu yhteensä kuusi kappaletta.
3. Neula, joka pipetoi sekä reagenssit, että näytteet.
4. Lämpösäädely 37 celsius-asteessa pidettävä kyvettikelkka, jossa paikat 90 kertakäyttöiselle kyvetille. Integroituna kelkassa on laitteen käyttämä spektrofotometri, jota käytetään absorbanssimittauksissa immunotutkimusten, biokemiallisten sekä turbidometrinen mitausten yhteydessä.
5. Sedimentointimoduuli magneettisille partikkeleille.
6. Automaattinen kyvettien syöttäjä, johon mahtuu 960 kyvettä kerrallaan.
7. Luminometri, joka mittaa luminesenssia immunotutkimusten reaktioissa.
8. Neljä pesuria magneettisten partikkeleiden puhdistukseen.

Reagenssikammio sisältää viivakoodinlukijan, joka tunnistaa kammioon syötettävät reagenssipatruunat. Toinen analysaattorin etuosassa sijaitseva viivakoodinlukija tunnistaa toissijaiset reagenssit. Toissijaisia reagensseja käytetään kemiluminesenssia hyödyntävissä määrityksissä tuottamaan luminesenssi. Näytteet, kalibraattorit ja kontrollit tunnistetaan joko analysaattorin etuosassa sijaitsevalla lukijalla, mikäli kyseessä on laite, jossa on integroitu näytealusta tai näytekammiossa sijaitsevalla lukijalla, mikäli kyseessä on analysaattori, johon näytteet syötetään kelkoittain. Kuvassa 4 analysaattorin etuosassa sijaitseva viivakoodinlukija. (IDS 2015, viitattu 28.1.2018.)



KUVA 4. Viivakoodinlukija laitteen edessä

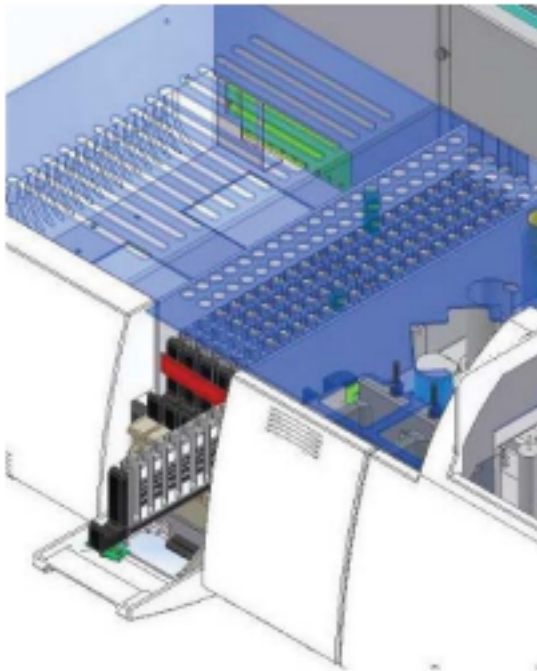
ValiFinnin analysaattorissa näytteet syötetään kelkoittain, jolloin viivakoodinlukija tunnistaa syötettävässä kelmassa sijaitsevan viivakoodin sekä näyteputkissa sijaitsevat viivakoodit. Kuvassa 5 analysaattorin vasemmassa laidassa sijaitseva reagenssikammio ja analysaattorin keskellä sijaitseva tyhjä näytekammio.



KUVA 5. Vasemmalla reagenssikammio sekä oikealla tyhjä näytekammio

Reagenssipatruunat säilytetään jäädytetyssä reagenssikammiossa 12-15 °C lämpötilassa ja analysaattori toimii 8-10 asteessa tai 12-15 asteessa, mikäli analysaattori on valmiustilassa.

Analysaattorin konfiguraatiosta riippuen maksimissaan 15 immunotutkimusta tai 36 biokemiallista tutkimusta, tai haluttu yhdistelmä voidaan suorittaa yhtä aikaa täyttämällä kaikki kelkkapaikat kammioiden sisällä ja kuvassa 7 on tyhjiä näytekelloja säilytystelineessään. (IDS 2015, viitattu 28.1.2018.)

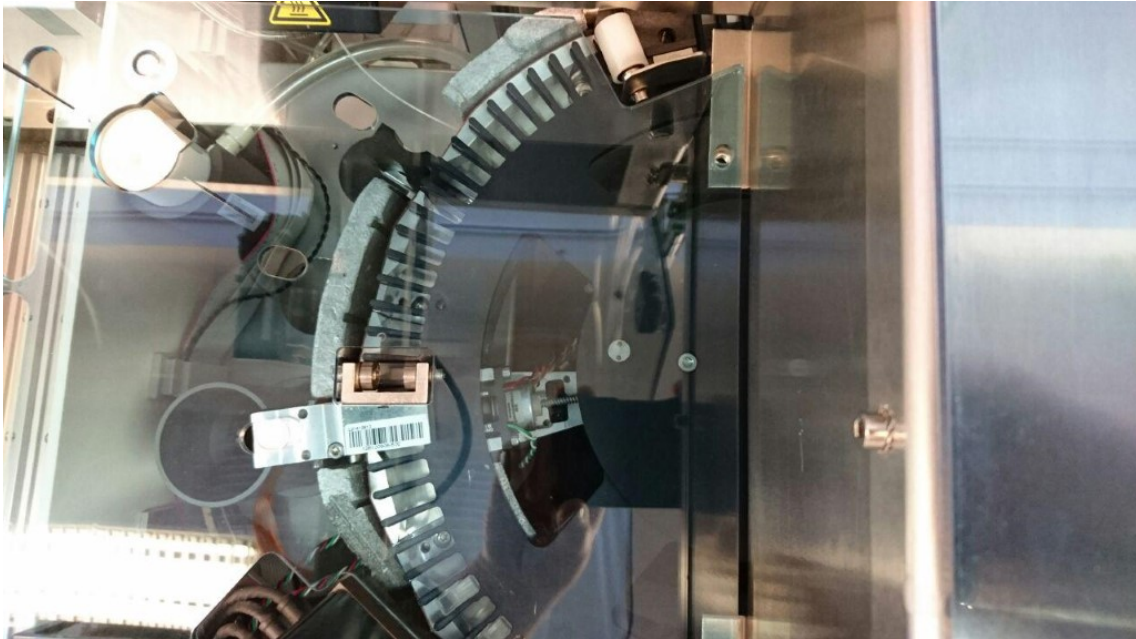


KUVA 6. Näytekelkka ulkona kammiosta (Lähde: IDS 2015.)



KUVA 7. Tyhjiä näytekelkkoja

Immunotutkimuksia varten analysaattorissa voidaan käyttää vain IDS:ltä tai heidän yhteistyökumppaneiltaan saatuja reagensseja. Biokemiallisissa tutkimuksissa on mahdollista käyttää kolmannen osapuolen reagensseja, mutta näitä syötettäessä viivakoodinlukijaa ei voida käyttää, jolloin käyttäjän vastuulla on ohjelmoida tarvittavat reagenssitiedot manuaalisesti analysaattoriin. Kuvassa 8 analysaattorin oikeassa laidassa sijaitseva kyvettikelkka on kuvattu ylhäältä päin. (IDS 2015, viitattu 28.1.2018.)



KUVA 8. Kyvettikelkka ylhäältä kuvattuna

Näytteet ja reagenssit aspiroidaan käyttämällä anturia, joka havaitsee nestetason käyttämällä kapasitanssia. Näyte ja reagenssit pipetoidaan automaattisesti tutkimuksen protokollassa määriteltujen parametrien mukaisesti ja siirretään kyvetteihin, missä reaktiot tapahtuvat. Jokaisen näytteen välissä anturi huuhdellaan sisäisesti ja ulkoisesti kontaminaatoriskin eliminoimiseksi. Kuvassa 9 yleisnäkökulma analysaattorin toimintatasosta. (IDS 2015, viitattu 28.1.2018.)



KUVA 9. Keskellä vasemmalla pipetointineula, suojapleksin alapuolella kyvettikelkka

3.1 Immunotutkimukset ja biokemialliset tutkimukset

Kyvetit siirretään pesumoduuliin, missä magneetit pitävät magneettiset partikkelit paikallaan pesutapahtuman ajan. Kun reaktio on ohi, riippuen minkälaisesta tutkimuksesta on kyse, kyvetit siirretään joko luminometriin kemiluminesenssitutkimuksia varten tai se pysyy kyvettikelkassa entsyymaattisia tutkimuksia varten. Kemiluminesenssitutkimuksia varten toissijaisia reagensseja lisätään luminesenssin tuottamiseksi. Entsyymaattisissa tutkimuksissa lisätään substraattia ja spektrofotometri mittaa jatkuvasti fotometrisiä muutoksia. Kun mittaukset ovat valmiit, kyvetit syötetään automaattisesti jäteastiaan. (IDS 2015, viitattu 28.1.2018)

Spektrofotometri mittaa jatkuvasti reaktiossa tapahtuvia fotometrisiä muutoksia. Analysaattori on yhdistettynä tietokoneeseen ethernet-kaapelilla. Käyttöliittymä pystyy ohjelmoimaan analysaattorin työmäärää ja tekemään seuraavat toimenpiteet:

- Reagenssien, kalibraattoreiden ja kontrollien eränumeroiden seuraaminen
- Laaduntarkkailu
- Toissijaisten reagenssien säätely
- Operaattorin seuranta (Käyttäjävirheiden määrittäminen)
- Tulosten siirtäminen palvelimelle
- Tulosten tulostaminen, säilytys ja jäljitettävyys. (IDS 2015, viitattu 28.1.2018.)

3.2 Analysaattorin toimintaan perehtyminen

iSYS-analysaattorin toimintaan perehdyttiin terveyslaboratorio ValiFinnin ohjauksessa. Perehdytykseen kuului analysaattorin uudelleen käynnistäminen kesän jälkeen analysaattorin ollessa samuneena pitkän aikaa. Perehdytykseen kuuluivat huoltotoimenpiteet; päivähuolto, viikkohuolto sekä kuukausihuolto. Tärkeä osa perehdytystä oli myös itse analyysien ajaminen. Tämä koostui potilaiden verinäytteistä tehtävistä D-vitamiinianalyseista. Syksyn 2016 aikana iSYS:n D-vitamiinianalyseissa käytettävät reagenssit olivat vanhentumassa, joten ValiFinn järjesti kampanjoita D-vitamiinimäärityksille. Myös oppilailta otettiin lukuisia verinäytteitä analysoitavaksi. Analysaattorin toimintaan perehtymisessä tärkeintä oli, että saimme selkeän kuvan sen toiminnasta ja pystyimme tämän pohjalta kirjoittamaan käyttöohjeen laitteelle.

4 D-VITAMIINITUTKIMUKSET IDS-ISYS-ANALYSAATTORILLA

Analysaattorilla ajamissamme D-vitamiininäytteissä käytettiin IDS-iSYS 25-Hydroxy Vitamin D-tutkimuspakettia. Se on tarkoitettu 25-hydroksi-D-vitamiini (25-OH D) -määritystutkimuksiin ja muiden hydroksyloituneiden metaboliittien tutkimiseen IDS-iSYS-analysaattorilla. Tutkimustuloksia käytetään yhdessä muun kliinisen ja laboratoriodatan kanssa arvioitaessa D-vitamiinin tarvetta aikuisväestössä. Tutkimuspaketin lisäksi on erikseen tilattava kontrollisetti, joka on tarkoitettu käytettäväksi laaduntarkkailunäytteinä seurattaessa analysaattorilla ajettavien näytteiden tarkkuutta ja paikkaansa pitävyyttä. (FDA 2010, viitattu 28.1.2018.)

4.1 Tutkimuspaketin sisältö

Paketti sisältää reagenssipatruunoiden lisäksi kalibraattorisetin (kalibraattorit A ja B). Reagenssipatruunat sisältävät seuraavia reagensseja:

- MPV1 (Magneettiset partikkelit, jotka ovat päällystetty 25-OH D:llä, eli fosfaattipuskurilla, joka sisältää metanolia ja natriumatsidia säilyvyyden parantamiseksi).
- CONJ (Anti-25-OH D akridiiniesteri-johdannaisella merkittyjä lampaan polyklonaalisia vasta-aineita nautaa, lammasta, jänistä ja hiirien proteiineja sisältävässä puskurissa, jossa natriumatsidia säilyvyyden vuoksi lisättynä).
- NaOH (Natriumhydroksidi-liuosta < 0,5M) ja BUF (Tutkimuspuskuriliuos, joka sisältää alkuperäisiä syrjäyttämateriaaleja, metanolia ja natriumatsidia säilytysaineena).
- Kalibraattorit A ja B sisältävät hevosen seerumia puskurimatriisissa kahdessa määrittelyssä eri 25-OH D pitoisuudessa ja natriumatsidia säilyvyyden vuoksi.

Kontrollipaketti sisältää hevosen seerumia puskurimatriisissa kolmessa määrittelyssä eri 25-OH-D pitoisuudessa ja natriumatsidia säilyvyyden vuoksi. (FDA 2010, viitattu 28.1.2018.)

4.1.1 Menetelmän periaate

D-vitamiinitutkimukset IDS-iSYS-analysaattorilla perustuvat kemiluminesenssiin. Näytteet esikäsitellään D-vitamiinin kantajaproteiinin (VDBP) denaturoimiseksi. Käsitellyt näytteet neutralisoidaan tämän jälkeen tutkimuspuskurissa, jonka jälkeen lisätään spesifistä akridiniumilla merkittyä anti-25OH D:tä. Inkubaatiovaiheen jälkeen näytteeseen lisätään 25-OH D:hen linkitettyjä magneettisia partikkeleita. Näiden partikkeleiden avulla saadaan näkymään sandwich-menetelmässä käytettävän analyytin sitoutuminen vasta-aineisiin. Seuraavan inkubaatiovaiheen jälkeen magneettiset partikkelit ”kaapataan” magneettia käyttäen. Pesuvaiheen ja trigger-reagenssien lisäämisen jälkeen akridiniumimerkin erittämä valo on käänteisesti suhteellinen alkuperäisen näytteen 25-OH D-konentraatioon. (FDA 2010, viitattu 28.1.2018.)

5 SOP-KÄYTTÖOHJE

SOP eli Standard Operating Procedure tarkoittaa yhdenmukaista (standardisoitua) toimintamallia. SOP on kirjallinen ohje, joka dokumentoi toimintoja ja rutiineja, joita organisaatiossa tapahtuu. Sillä pyritään yhdenmukaistamaan esimerkiksi tiettyjä tehtäviä tai toimenpiteitä. Niitä on otettu käyttöön alun perin korkean riskin työtehtävissä, kuten ydinteollisuudessa, ja ne ovat myöhemmin siirtyneet sieltä myös esimerkiksi terveydenhuollon pariin. (Hiltunen 2016, 96-97; EPA 2007, viitattu 28.1.2018.)

SOP:ien käyttö ja kehittäminen on olennainen osa onnistunutta laatujärjestelmää, sillä se antaa käyttäjille tarvittavan tiedon, jolla he pystyvät suoriutumaan tehtävästään asianmukaisesti. SOP sisältää olennaiset ohjeet prosessin suorittamiseen sekä ohjeistuksen prosessin kannalta tärkeiden työkalujen ja järjestelmien käyttöön. Hyvin laadittu, ajan tasalla oleva ja oikein käytetty SOP ylläpitää organisaation laatujärjestelmää ja minimoi muun muassa inhimillisten tekijöiden aiheuttamia virheitä. SOP laaditaan vain tietyn organisaation käyttöön. Ajan tasalla olevan SOP:in tulee olla helposti saatavilla prosessia suorittaville henkilöille. Esimies tai prosessin parissa aktiivisesti työskentelevä henkilö hyväksyy ja päivittää SOP:ia säännöllisesti, jotta se pysyy ajantasaisena myös mahdollisten organisaatiossa tapahtuvien muutosten jälkeen. (EPA 2007, viitattu 28.1.2018.)

5.1 Käyttöohjeen kirjoittaminen

Käyttöohjeen kirjoittamisen lähtökohtana ovat käyttäjän tarpeet ja esitiedot. Hyvä käyttöohje auttaa käyttäjää ymmärtämään tuotteen toimintaperiaatteen sekä ohjaa tuotteen asianmukaiseen, turvalliseen ja miellyttävään käyttöön. Usein paras tulos saavutetaan niin, että peruskäyttöä varten tehdään oma ohjeensa ja erityisosaamista vaativia ylläpito-, huolto- ja korjaustoimia varten omansa. (Nykänen 2002, 50-51.)

Rakenteeltaan käyttöohje on selkeä, kieleltään yksiselitteinen ja helppotajuinen sekä etenee loogisesti. Käyttöohjeessa on hyvä puhutella lukijaa ja käyttää suoria käskymuotoja. Selkeät kuvat ovat yleensä keskeinen osa käyttöohjetta. Kuvien ja tekstin tulee yhdessä muodostaa eheä ja ristiriidaton kokonaisuus. (Nykänen 2002, 51-52.)

Käyttöohje tulee testata ennen käyttöönottoa lopulliseen käyttäjäkuntaan kuuluvien tai heihin rinnastettavien henkilöiden kanssa. Näin voidaan havaita mahdolliset puutteet käyttöohjeessa, jotka kirjoittajilta voivat muuten jäädä huomaamatta. (Nykänen 2002, 51.)

6 D-VITAMIINIMÄÄRITYSTEN KÄYTTÖOHJEEN TOTEUTUS

6.1 ValiFinn terveyslaboratorio

Oulun ammattikorkeakoulun sosiaali- ja terveysalan yksikön yhteydessä toimiva ValiFinn terveyslaboratorio on yksityisen terveydenhuollon palvelujen tuottaja. Se tarjoaa asiakkaille kaksi kertaa viikossa laboratoriopalveluja verinäyteanalyysien muodossa yhteistyössä Oulun ammattikorkeakoulun ja sen bioanalyttikko-opiskelijoiden kanssa. Oulun ammattikorkeakoulun bioanalyttikko-opiskelijat ottavat näytteet ja analysoivat ne ohjatussa harjoittelussa ValiFinnin terveyslaboratoriossa. (ValiFinn 2018, viitattu 29.4.2018.)

Osa näytteistä analysoidaan ammattikorkeakoulun tiloissa Konelab- ja Sysmex-analysaattoreilla. Lisäksi laboratorion tiloista löytyy IDS-iSYS-analysaattori, jota käytetään tutkimusnäytteiden määrittämisessä. Analysaattori on vain henkilökunnan käytössä, eikä se ole tulossa oppilaskäyttöön lähivuosina johtuen laitteen käytössä tarvittavien reagenssien kalliista hinnasta sekä laitteen huoltoimenpiteistä kertyvistä kustannuksista.

6.2 Tarkoitus ja tavoitteet

Opinnäytetyön tarkoituksena oli tehdä ValiFinn terveyslaboratorion IDS-iSYS-analysaattorille SOP:n mukainen, englanninkielinen käyttöohje D-vitamiinimäärityksille. Työn tavoitteena oli kirjoittaa selkeä ja kattava SOP-käyttöohje, josta olisi ValiFinnille mahdollisimman paljon hyötyä. Työn ohjaajana toimi kemisti Jani Salmivaara ValiFinn terveyslaboratoriosta sekä yliopettaja Mika Paldanius.

6.3 Työn toteutus ja eteneminen

Opinnäytetyön tekeminen aloitettiin tietoperustan ja suunnitelman kirjoittamisella. Tietoperustan kokoamiseen käytettiin lähteinä IDS-iSYS:in laajaa käyttöopasta ja sen kontrollien ja reagenssien käyttöohjeita sekä erilaisia mahdollisimman ajantasaisia artikkeleita, kirjallisuutta ja Internet-sivustoja. Lisäksi tärkeimpänä tietoperustan osana oli perehdytysjakso, jossa perehdyimme IDS-iSYS-

analysaattorin toimintaan, jotta saisimme selkeän kuvan analysaattorin toiminnasta käyttöohjeen kirjoittamiseksi.

Käyttöohjeen tuli olla sellainen, jota kuka tahansa alan ammattilainen tai opiskelija voi käyttää määritysten tekemiseen. Käyttöohjeeseen kirjoitettiin kaikki tarvittavat työvaiheet. Ohjeen alussa käydään läpi tarvittavat materiaalit ja selitetään yleisesti IDS-iSYS-analysaattorin toiminnasta sekä käytössä oleva menetelmä. Alkuun lisättiin myös teoriapohjaa D-vitamiiniin liittyen. Kontrollien, kalibraattorien ja potilasnäytteiden ajaminen kirjoitettiin vaihe vaiheelta ylös mahdollisimman loogisesti ja ymmärrettävästi. Ohjeessa käydään läpi myös tulosten tallentaminen sekä päivittäiset huoltotoimenpiteet. Tarvittavien reagenssien lisäämisen laitteeseen kirjoitettiin omaksi osuudekseen käyttöohjeen loppuun. Laitoimme käyttöohjeeseen myös sopivan määrän kuvia selkeyttämään ohjetta. Käyttöohje kirjoitettiin ValiFinnin vaatimalle SOP-pohjalle englanniksi.

6.4 Viimeistely ja käyttöönotto

Kirjoitusprosessin aikana lähetimme useamman eri version ohjeesta Jani Salmivaaran tarkastettavaksi ja muokkasimme ohjetta hänen kommenttien ja korjausten perusteella. Alun perin käyttöohjetta oli tarkoitus vielä testata koehenkilöllä, joka ei ole analysaattoria aikaisemmin käyttänyt. Näin olisimme voineet varmistaa käyttöohjeen olevan laadukas ja luotettava. Testaamisella olisimme saaneet tärkeää palautetta, jonka avulla olisimme pystyneet vielä muokkaamaan ohjetta tarvittaessa selkeämmäksi ja korjaamaan mahdolliset puutteet. Valitettavasti analysaattori ehdittiin sulkea kokonaan käyttöohjeen kirjoituksen aikana, joten ohjetta ei ollut mahdollista enää testata kenelläkään.

Ohje kirjoitetaan omaan kansioonsa, joka sijoitetaan analysaattorin välittömään läheisyyteen. Ohje voidaan lisäksi tarvittaessa säilyttää PDF-muodossa analysaattorin yhteydessä olevalla tietokoneella ja muistitikulla ValiFinnin toimitiloissa. ValiFinn terveyslaboratorion henkilökunta päivittää käyttöohjetta aina tarpeen niin vaatiessa.

7 POHDINTA

Tavoitteenamme oli kirjoittaa SOP-käyttöohje IDS-iSYS-analysaattorille. Kyseinen analysaattori on ollut käytössä ValiFinnin omissa projekteissa sekä terveyslaboratorion kautta tilattujen D-vitamiinitutkimusten analysoinnissa. Tavoitteena oli tehdä ohje, jonka avulla D-vitamiinianalyyseiden suorittaminen kyseisellä analysaattorilla onnistuisi keneltä tahansa, joka ei ole käyttänyt analysaattoria aiemmin.

Halusimme tehdä kattavan ja helppolukuisen SOP-pohjaisen käyttöohjeen, joka antaisi tarvittavan ohjeistuksen D-vitamiinimääritysten suorittamiseen analysaattorilla, ja josta olisi ValiFinnin henkilökunnalle mahdollisimman paljon hyötyä. Ohjetta voidaan käyttää pohjana muille analyyseille tehtävissä mahdollisissa ohjeissa tai uuden työntekijän perehdytyksessä. Ohje sisältää kaikki tarvittavat työvaiheet D-vitamiinimääritysten onnistuneeseen suorittamiseen. Siitä tuli mielestämme selkeä ja kattava, sillä siinä on selitetty selkeästi laitteen käyttö, eritelty tarkasti kaikki työvaiheet sekä käyty läpi kaikki yleisimmät vikatilanteet ja niissä toimiminen.

Yhteistyömme on sujunut hyvin koko opinnäytetyöprosessin ajan ja pyrimme jakamaan työt tasaisesti kummankin vahvuuksien mukaan. Käytimme hyvin aikaa suunnitelman ja tietoperustan hioamiseen ennen varsinaisen käyttöohjeen kirjoittamista. Käyttöohjeen kirjoittaminen eteni sujuvasti ja mielestämme olemme ehtineet hyvin panostaa siihen, että ohje olisi kriteerien ja tavoitteidemme mukainen.

Käyttöohjeen kirjoittaminen opetti meille IDS-iSYS-analysaattorin käyttöä syvemmillä tasolla. SOP oli meille entuudestaan melko tuntematon käsite, joten projektin aikana saimme myös enemmän tietoa siitä. Kaiken kaikkiaan koko opinnäytetyöprosessi oli meille opettavainen kokemus, joka on vaatinut paljon kriittistä tarkastelua omaan työhön sekä ongelmanratkaisutaitoja.

LÄHTEET

Alitalo, Antti 2010. Ihmisen infektiopuolustus voi tehostua D-vitamiinista. Lääketieteellinen aikakauskirja Duodecim 126 (10). 1127-1134.

Aro, Antti 2005. D-vitamiini – monivaikutteinen hormoni. Duodecim 121 (16), 1749-1755.

Arneson, Wendy L & Arneson, Dean L 2013. Current Methods for Routine Clinical laboratory Testing of Vitamin D Levels. Laboratory Medicine 44 (1). 39-40.

Couchman, Lewis & Moniz, Cajetan F 2017. Analytical considerations for the biochemical assessment of vitamin D status. Therapeutic Advances in Musculoskeletal Disease 9 (4). 98-99.

DeLuca, Hector F 2004. Overview of general physiologic features and functions of vitamin D. The American Journal of Clinical Nutrition 80 (6). 1689-1690.

DeLuca, Hector F 2014. History of the discovery of vitamin D and its active metabolites. BoneKEY Reports 3 (479). 2-4.

Elintarviketurvallisuusvirasto Evira 2017. D-vitamiini. Viitattu 16.3.2018, <https://www.evira.fi/elintarvikkeet/terveytta-edistava-ruokavalio/ravintoaineet/d-vitamiini/>

Halonen, Toivo 2004. Immunokemiallisten menetelmien periaatteet. Teoksessa Penttilä, Ilkka (toim.) Kliiniset laboratoriotutkimukset. Porvoo: Werner Söderström Osakeyhtiö. 90-95.

Hiltunen, Pamela 2016. SOP:t ensihoidossa. Finnanest 49 (2). 97-98.

Immunodiagnostic Systems (IDS) 2015. IDS-ISYS Multi-discipline Automated System. User Manual. Viitattu 28.1.2018, http://www.peramed.com/peramed/docs/IS-310400_EN.pdf

Kennel, Kurt A & Drake, Matthew T & Hurley, Daniel L 2010. Vitamin D Deficiency in Adults: When to Test and How to Treat. Mayo Clinic Proceedings 85 (8). 754.

Norman, Anthony W 2008. From vitamin D to hormone D: fundamentals of the vitamin D endocrine system essential for good health. The American Journal of Clinical Nutrition 88 (2). 491-492.

Nykänen, Olli 2002. Toimivaa tekstiä. Helsinki: Tekniikan Akateemisten Liitto TEK. 50-52.

Toriola, Adetunji T 2010. Epidemiological study of the role of vitamin D in the aetiology of ovarian cancer. Helsinki: National Institute for Health and Welfare, University print. 39-40.

United States Environmental Protection Agency 2007. Guidance for Preparing Standard Operating Procedures (SOPs). Viitattu 28.1.2018, <http://www.epa.gov/QUALITY/qs-docs/g6-final.pdf>

U.S Food and Drug Administration 2010. Substantial equivalence determination decision summary. Viitattu 28.1.2018, https://www.accessdata.fda.gov/cdrh_docs/reviews/K091849.pdf

Paakkari, Ilari 2016. D-vitamiini. Lääkärikirja Duodecim. Viitattu 28.1.2018, https://www.terveyskirjasto.fi/terveyskirjasto/tk.koti?p_artikkeli=dlk01044

Valfinn 2018. Terveyslaboratorio. Viitattu 29.4.2018.

Valtion ravitsemusneuvottelukunta 2014. Suomalaiset ravitsemussuositukset. Viitattu 22.2.2018 https://www.evira.fi/globalassets/vrn/pdf/ravitsemussuositukset_2014_fi_web.3_es-1.pdf

Välimäki, Matti & Voutilainen, Raimo & Kaitila, Ilkka & Tuomi, Tiinamajja. 2001. Lasten riisitaudista aikuisten osteomalasiaan. Lääketieteellinen aikakauskirja Duodecim 117 (21). 2171.