

Opinnäytetyö (AMK)

Bioanalytikkokoulutus

2018

Annamari Salminen

# COBAS C 311 ANALYSAATTORIEN VERIFIOINTI

– Kol, Kol-HDL, Kol-LDL & Trigly -tutkimukset

Annamari Salminen

## COBAS C 311 ANALYSAATTORIEN VERIFIOINTI

- Kol, Kol-HDL, Kol-LDL & Trigly -tutkimukset

Cobas c 311 on kliinisen kemian analysaattori, jonka valmistaja on Roche Diagnostics. Analysaattorin mittausperiaate lipiditutkimuksille on fotometrinen. Valmistaja on suorittanut menetelmän validoinnin, eli määrittänyt menetelmän ja laitteiston suorituskykyominaisuudet. Laboratorion on todennettava verifiointilla, että nämä laitevalmistajan määrittämät suorituskykyominaisuudet toteutuvat ja analysaattorit ovat sopivat laboratorion käyttötarkoituksiin.

Kolesteroli on tärkeä solukalvojen rakenneosa. Kolesterolipitoisuutta nostaa runsas eläinperäinen ravinto. HDL-kolesteroli koostuu apolipoproteiineista ja fosfolipideistä. Sitä sanotaan hyväksi kolesteroliiksi, sillä se kuljettaa pahaa kolesterolia pois verisuonten seinästä ja kudoksista. HDL-kolesterolin matala pitoisuus lisää riskiä sairastua verisuonisairauksiin. Matalaa pitoisuutta aiheuttaa vyötärölihavuus. LDL-kolesteroli koostuu suurimmaksi osaksi kolesteroliesteristä sekä apolipoproteiini B:stä. LDL-kolesteroli kuljettaa kolesterolia kudoksiin muuttamalla sen vesiliukoiseen muotoon. LDL-kolesterolipitoisuuden nousu aiheuttaa kolesterolin kertymistä verisuonten seinämiin. Triglyseridit ovat glyserolista ja rasvahapoista muodostuneita rasvoja, joita elimistön solut tarvitsevat energianlähteeksi. Triglyseridipitoisuuden nousu altistaa sydän- ja verisuonisairauksille.

Tämän opinnäytetyön tarkoituksena oli suorittaa näiden tutkimusten verifiointi Cobas c311 analysaattoreille. Tavoitteena oli varmistaa, että analysaattorit tuottavat luotettavia ja laadukkaita tuloksia potilaille. Tehtävänä oli toistettavuuden testaaminen sarjojen sisäisesti sekä sarjojen välisesti ja potilasnäytevertailun toteuttaminen.

Tulokset analysoitiin tilastollisin menetelmin ja niiden perusteella todettiin analysaattorien vastaavan menetelmälle määritettyjä suorituskykyominaisuuksia riittävän hyvin. Cobas c 311 -analysaattorien väliset korrelaatiot, ja korrelaatiot referenssilaitteeseen, olivat erinomaiset.

### ASIASANAT:

verifiointi, kolesteroli, HDL-kolesteroli, LDL-kolesteroli, triglyseridit

BACHELOR'S THESIS | ABSTRACT

TURKU UNIVERSITY OF APPLIED SCIENCES

Degree programme in Biomedical laboratory science

2018 | 41 pages, 10 pages in appendices

Annamari Salminen

## VERIFICATION OF COBAS C 311 ANALYSERS

- For Chol, HDL-Chol, LDL-Chol and Triglycerides assays

The Cobas c 311 is a clinical chemistry analyser manufactured by Roche Diagnostics. The method used for lipid assays is photometric. The manufacturer has validated the analyser, which means that the analytical performance has been defined. All laboratories must prove that the analytical performance lives up to these qualities defined by the manufacturer and that the analyser is suitable for the aimed purpose.

Cholesterol is an important structural component of cell membranes. The concentration of cholesterol is elevated by heavy consumption of animal products in one's diet. HDL-cholesterol is composed of apolipoproteins and phospholipids. It's called the good cholesterol due to its ability to remove harmful bad cholesterol from tissue and the surface of blood vessels. Low concentration increases the risk of cardiovascular disease. LDL-cholesterol transports cholesterol into tissue by making it soluble. High concentration of LDL leads to cholesterol build up on the surface of blood vessels. Triglycerides are fats composed of glycerol and fatty acids. It is an important source of energy for cells in the body. High concentration leads to an increased risk of cardiovascular disease.

The purpose of this thesis was to perform the verification of the Cobas c 311 analysers. The aim was to ensure that the analytical performance is equivalent to that defined by the manufacturer and thus the results are reliable and of good quality. The task was to measure repeatability within-run, reproducibility between-run and to compare result levels between Cobas c 311 analysers and the reference analyser using patient samples.

The results were analysed statistically and based on these results the analytical performance of the Cobas c 311 analysers was found equivalent to the defined qualities. All three analysers correlated well compared to each other and with the reference analyser.

### KEYWORDS:

verification, cholesterol, HDL cholesterol, LDL cholesterol, triglycerides

# SISÄLTÖ

<b>1 JOHDANTO</b>	<b>6</b>
<b>2 LIPIDITUTKIMUSTEN VERIFIOINTI</b>	<b>7</b>
2.1 Kolesterolit	7
2.2 Kol-HDL	7
2.3 Kol-LDL	8
2.4 Triglyseridit	9
2.5 Lipiditutkimukset	9
2.6 Cobas c 311 analysaattori	12
2.7 Verifiointi	13
<b>3 OPINNÄYTETYÖN TARKOITUS, TAVOITTEET JA TEHTÄVÄ</b>	<b>16</b>
<b>4 OPINNÄYTETYÖN TOTEUTUS</b>	<b>17</b>
4.1 Opinnäytetyön toteutus	17
4.2 Tulosten tilastollinen analyysi	19
4.3 Opinnäytetyön metodologiset lähtökohdat	20
4.4 Opinnäytetyön eettiset lähtökohdat	21
<b>5 TULOKSET JA NIIDEN TARKASTELU</b>	<b>23</b>
5.1 Sarjan sisäinen toistettavuus	23
5.2 Sarjojen välinen toistettavuus	26
5.3 Potilasnäytevertailun tulokset	28
<b>6 POHDINTAA</b>	<b>36</b>
<b>LÄHTEET</b>	<b>39</b>

## LIITTEET

Liite 1. Verifiointisuunnitelma

## KAAVAT

Kaava 1 Friedewaldin kaava (Lehtimäki 2014).	8
Kaava 2 Keskihajonnan laskeminen (Nummenmaa ym. 2018).	23
Kaava 3 Variaatiokerroin (Nummenmaa ym. 2018).	24

## KUVIOT

Kuvio 1. Referenssi - Cobas1 HDL.....	31
Kuvio 2. Referenssi - Cobas2 HDL.....	31
Kuvio 3. Referenssi - Cobas3 HDL.....	31
Kuvio 4. Referenssi - Cobas1 KOL.....	31
Kuvio 5. Referenssi - Cobas2 KOL.....	31
Kuvio 6. Referenssi - Cobas3 KOL.....	31
Kuvio 7. Referenssi - Cobas1 LDL .....	32
Kuvio 8. Referenssi - Cobas2 LDL .....	32
Kuvio 9. Referenssi - Cobas3 LDL .....	32
Kuvio 10. Referenssi - Cobas1 Trigly .....	32
Kuvio 11. Referenssi - Cobas2 Trigly .....	32
Kuvio 12. Referenssi - Cobas3 Trigly .....	32
Kuvio 13. HDL ero% referenssiin.....	33
Kuvio 14. KOL ero% referenssiin.....	34
Kuvio 15. LDL ero% referenssiin .....	34
Kuvio 16. Triglyseridi, ero% referenssiin .....	35

## TAULUKOT

Taulukko 1. Tavoitearvot lipiditutkimuksille (Tykslab 2017). .....	11
Taulukko 2. PreciControl ClinChem Multi 1 -kontrolli, sarj. sis. toistettavuus.....	24
Taulukko 3. Näytepooli, sarj. sis. toistettavuus. ....	24
Taulukko 4. Thermo Fisherin kontrollit, sarj. sis. toistettavuus. ....	25
Taulukko 5. PreciControl ClinChem Multi 1 -kontrolli, sarj. väl. toistettavuus. ....	26
Taulukko 6. Näytepooli, sarj. väl. toistettavuus. ....	27
Taulukko 7. Thermo Fisherin kontrollit, sarj. väl. toistettavuus. ....	27
Taulukko 8. T-testin tulokset.....	29
Taulukko 9. Labqualityn tavoitevälit ulkoiselle laaduntarkkailulle. ....	33

# 1 JOHDANTO

Kohonnut kolesterolipitoisuus veressä on merkittävä sepelvaltimotaudin riskitekijä. Tästä syystä veren rasva-arvoja mitataan usein. (Mustajoki 2018.) Jos plasman LDL-kolesterolipitoisuus tai triglyseridipitoisuus on kohonnut, tai kun HDL-kolesterolipitoisuus on matala suhteessa kokonaiskolesterolipitoisuuteen (yleensä alle 1.0 mmol/l), on kyseessä dyslipidemia (Vanhanen & Strandberg 2017). Dyslipidemat aiheuttavat ateroskleroosia, eli valtimoiden ahtautumista (Lehtimäki 2014). Ateroskleroottista valtimotautia pyritään ennaltaehkäisemään dyslipidemioiden hoidolla (Käypä hoito -suositus 2017).

Yksi veren lipidiarvojen mittaaminen ei anna tarpeeksi luotettavaa kuvaa lipidipitoisuudesta. Siksi ennen hoitoa arvot tutkitaan vähintään 2-3 kertaa ja jokaisella kerralla eri näytteestä. Lipidiarvot mitataan aina paastonäytteistä, jotka on otettu potilaasta 8-12h paaston jälkeen, sillä aterian sisältämät rasvat nostavat lipidipitoisuutta veressä. (Vanhanen & Strandberg 2017.)

Laboratorion on verifioitava sellaiset tutkimusmenetelmät, jotka menetelmän kehittäjä on validoinut ja joita sovelletaan sellaisenaan ennen käyttöönottoa. Menetelmän kehittäjä tai laitevalmistaja on siis jo määritellyt menetelmän suorituskykyominaisuudet. Laboratorio todistaa verifiointilla, että nämä ilmoitetut suorituskykyominaisuudet toteutuvat ja vastaavat käyttötarkoitusta. (SFS-EN ISO 15189 2013.)

Tämän opinnäytetyön tarkoituksena on verifioida lipiditutkimukset Turun ammattikorkeakoulun (Turun AMK) opetuslaboratorioon saapuvilla uusilla kliinisen kemian analysaattoreilla (3kpl). Tavoitteena on opinnäytetyön lopputuloksen perusteella arvioida, voidaanko analysaattoreilla saatuja tuloksia pitää luotettavina. Verifiointi toteutetaan testaamalla menetelmän toistettavuutta sekä vertailemalla tulostasoa eri tavoin.

## 2 LIPIDITUTKIMUSTEN VERIFIOINTI

### 2.1 Kolesterolin

Kolesterolin on tärkeä solukalvojen rakenneosana (Remaley ym. 2015). Koska kolesterolin on sterolinen, se ei liukene veteen, vaan se on rasvaliukoinen. Sen tehtävänä elimistössä on solukalvojen liukoisuuden ylläpito. Sukurauhaset tarvitsevat kolesterolia sterolihormonien esimerkiksi kortisolin, testosteronin ja estrogeenien tuotantoon. Maksassa kolesterolin osallistuu rasvahappojen imeytymiselle tärkeiden sappihappojen tuotantoon. Jotta kudokset saavat tarpeeksi kolesterolia, tarvitsee se pakata vesiliukoiseen muotoon lipoproteiinien avulla. Kolesterolia muodostuu maksassa, mutta sitä saadaan lisäksi runsaasti eläinperäisestä ravinnosta. (Aro 2015.)

Laboratoriossa voidaan mitata henkilön kokonaiskolesterolin, eli fP-Kol. Kokonaiskolesterolin noustessa ja HDL-kolesterolin pitoisuuden alentuessa, riski sepelvaltimotautiin kasvaa. Kokonaiskolesterolipitoisuuteen vaikuttavia tekijöitä ovat geneettisen alttiuden lisäksi ylipaino, ruokailutottumukset ja muut elämäntavat, kuten fyysinen aktiivisuus. (Tykslab 2018.) Tavallisen hyperkolesterolemian taustalla on yleensä runsas eläinperäisen rasvan ja kolesterolin saaminen ruokavaliosta, sekä kuitujen vähyyden. Lisäksi tällaisilla henkilöillä on usein kolesterolipitoisuuden nousulle altistavia geenejä. Perinnöllinen LDL-reseptorin geenivirhe aiheuttaa perinnöllisen hyperkolesterolemian, joka aiheuttaa korkean kolesterolipitoisuuden. Perinnöllistä hyperkolesterolemiaa sairastavilla on suurempi riski sairastua sepelvaltimotautiin varhaisella iällä. (Lehtimäki 2014.)

### 2.2 HDL

HDL eli englanniksi high density lipoprotein on ominaispainoltaan suurempi kuin LDL. Se koostuu pääasiassa apolipoproteiini A-I:stä sekä fosfolipideistä. (Hortin 2015.) HDL on niin sanottu hyvä kolesterolin, sillä se kuljettaa kolesterolia pois valtimoiden seinämistä sekä muista kudoksista. HDL-kolesterolin matala pitoisuus lisää riskiä sairastua valtimosairauksiin. HDL-kolesterolipitoisuuteen alentavasti vaikuttaa vyötärölihavuus. (Eskelinen 2016.) HDL-kolesterolipitoisuutta lisäävät aktiivinen liikunta sekä estrogeeni (Penttilä 2004).

Henkilöllä, jolla on matala HDL-kolesterolipitoisuus, voi olla perinnöllinen pienen HDL-arvon oireyhtymä. Tässä oireyhtymässä lipidiaineenvaihdunta on häiriintynyt. HDL-pitoisuutta sääteleviä tekijöitä ovat esim. LPL-entsyymi, apoA1:n ja apoA2:n synteesi- ja poistumisnopeus sekä HDL:n sitoutuminen HDL -reseptoriin. Oireyhtymää on syytä epäillä, kun HDL-kolesterolipitoisuus on toistuvasti 0,7mmol/l tai sen alle ja ollaan varmistettu siitä, ettei syynä ole jokin sekundaarinen HDL-pitoisuutta madaltava tekijä. Tällaisia tekijöitä ovat esim. ylipaino, vähäinen fyysinen aktiivisuus ja tupakointi sekä aikuisiän diabetes. (Lehtimäki 2014.)

### 2.3 Kol-LDL

LDL eli englanniksi low density lipoprotein on ominaispainoltaan matalampi kuin HDL. Se koostuu suurimmaksi osaksi kolesteroliesteristä sekä apolipoproteiini B:stä. Toisin kuin HDL kolesterolissa, LDL-kolesterolissa on suurin osa rasvakomponentteja, kun taas HDL-kolesteroli koostuu suuremmaksi osaksi apolipoproteiinista. (Hortin 2015.) Veren kolesteroli pakkautuu vesiliukoiseksi LDL:n avulla. Näin kolesterolia pystytään kuljettamaan elimistön kudoksiin. Kun LDL-kolesterolipitoisuus veressä on suuri, kertyy kolesterolia kudoksiin entistä enemmän. Eläinperäisten eli tyydyttyneiden rasvojen runsaus ruokavaliossa lisää LDL-kolesterolin määrää veressä. (Eskelinen 2016.)

LDL-kolesterolipitoisuuden tärkeimpinä säätelijöinä toimivat maksassa sijaitsevat LDL-reseptorit (Kovanen ym. 2009). Kol-LDL pitoisuus voidaan määrittää laskennallisesti Friedewaldin kaavalla, jos triglyseridiarvo on alle 4,0 mmol/l (Lehtimäki 2014). Nykyään useat laboratoriot ovat ottaneet LDL-kolesterolin suoran mittauksen käyttöön. Siitä on yleensä hyötyä sellaisissa tilanteissa, joissa Friedewaldin kaavaa ei voida käyttää. (Käypä hoito -suositus 2017.)

Kaava 1 Friedewaldin kaava (Lehtimäki 2014).

$$fS\text{-Kol-LDL} = fS\text{-Kol} - 0,45 \times fS\text{-Trigly} - fS\text{-Kol-HDL}$$



## 2.4 Triglyseridit

Triglyseridit ovat glyserolista ja kolmesta siihen liittyneestä rasvahaposta muodostuneita rasvoja, jotka kiertävät elimistössä ja joita elimistön solut tarvitsevat energianlähteeksi. Ihminen saa triglyseridejä ravinnosta, mutta elimistö pystyy myös tuottamaan niitä itse. Koska triglyseridejä on runsaasti ravinnossa, tulee noudattaa paastoa ennen näytteiden ottamista veren triglyseridipitoisuuden luotettavaksi mittaamiseksi. Triglyseridipitoisuuden kohoaminen lisää riskiä sairastua sydän- ja verisuonitauteihin. (Mustajoki 2016.)

Suolistosta peräisin olevat kylomikronit kuljettavat sisällään suuria määriä triglyseridejä. Kylomikronit ovat suuria ja kevyitä lipoproteiinihiukkasia. Insuliini aktivoi rasvasolujen triglyseridien varastointia, kun taas katekoliamiinien vaikutuksesta niiden varastointi soluihin vähenee. (Kovanen ym. 2009.) Tavallinen hypertriglyseridemia on yleinen suomalaisten keskuudessa. Hypertriglyseridemiaa on myös perinnöllistä. Siinä triglyseridipitoisuutta nostaa VLDL:n kertyminen plasmaan tai sen liikatuotanto. (Lehtimäki 2014.)

## 2.5 Lipiditutkimukset

Lipiditutkimuksilla tarkoitetaan tässä opinnäytetyössä seuraavia rasva-aineenvaihdunnasta tietoa antavia laboratoriotutkimuksia; kokonaiskolesteroli eli kolesteroli, HDL-kolesteroli, LDL-kolesteroli ja triglyseridit. Nämä ovat dyslipidemioiden diagnostiikassa käytettyjä perustutkimuksia. Useimmiten määritykset tehdään yhä paastonäytteistä, vaikka keskustelua käydäänkin paastosta luopumiseksi. (Käypä hoito-suositus 2017.)

Vartiainen, Laatikainen, Sundvall, Jula, Jousilahti ja Niiranen kirjoittavat FinTerveys 2017 -tutkimuksessa (2018) suomalaisten kolesteroliarvoissa tapahtuneista muutoksista vuosien 2011 ja 2017 välillä. Tutkimuksessa on mitattu vähintään neljän tunnin paaston jälkeen osallistujista otetuista seeruminäytteistä kokonais- ja HDL-kolesteroli, sekä triglyseridit entsyymaattisilla menetelmillä. LDL-kolesteroli laskettiin käyttäen Friedewaldin kaavaa. Osallistujilta kysyttiin heidän aikaisemmista kolesteroliarvojen määrityksistä. ¼ ei ollut käynyt kolesterolimittauksissa kuluneen viiden vuoden aikana. 39-40- vuotiaiden ikäryhmässä vain noin 50%:lta oli mitattu kolesteroliarvot kuluneen

viiden vuoden aikana ja kolmasosalta kolesteroliarvoja ei ollut mitattu koskaan. Yli 50-vuotiailta oli lähes 80%:lta mitattu kolesteroliarvot kuluneen viiden vuoden aikana. Aiemmin toteamattomia kohonneita kolesteroliarvoja todettiin eniten 30-39-vuotiailla miehillä ja naisilla, mistä tutkijat tekivät johtopäätöksen, että kolesterolimittauksia nuorilla aikuisilla pitäisi erityisesti tehostaa nykyisestä. Keski-ikäisillä tavattiin eniten koholla olevia kolesteroliarvoja. Vuoteen 2011 verrattuna kokonaiskolesteroli oli kuitenkin laskenut. HDL-kolesterolissa ei ollut tapahtunut tilastollisesti merkittäviä muutoksia.

Penttilä, Eklund ja Väisänen arvioivat tutkimuksessaan (2017) lipidimääritysten laatua ja käytettävyyttä Labquality Oy:n 23 vuoden laadunarviointikierrosten pohjalta. Tutkimuksessa on analysoitu tilastollisesti yhteensä 70:n laadunarviointikierroksen tuloksia. Tulokset on jaettu analyyttien ja määrittymenetelmien mukaisiin ryhmiin ja niistä on jokaiselle laskettu määrittymenetelmäkohtaisesti keskiarvot, keskihajonnat ja variaatiot. Tulokset on laskettu käyttäen apuna MS Excel 2010 (Microsoft Co. Cambridge, MA, USA) ohjelmaa sekä parametrisia tilastollisia ohjelmia. Tutkimuksen tuloksena kaikkien lipidimääritysten tulostasojen kokonaisvariaatio on alentunut. Lipiditutkimuksista kokonaiskolesterolin osalta ollaan päästy jo kansainvälisesti hyväksyttävälle matalalle tasolle (CV% alle 3,0) ja triglyseridin osalta hyvin lähelle sitä, CV% alle 4,5. Tulostason parantuminen on ollut hyvin paljolti seurausta uusien menetelmien käyttöönotosta, sekä vanhojen menetelmien kehittymisestä. Tutkimuksessa esiin nousi myös apolipoproteiinien määritykset, sekä niiden mahdollinen käyttöönotto perinteisten lipiditutkimusten rinnalla tai jopa tilalla, niiden edullisuuden vuoksi. Apolipoproteiinimääritykset perustuvat immunokemiallisiin menetelmiin ja ne ovat myös helposti automatisoitavissa.

Leiviskä, Sundvall, Jauhiainen ja Laatikainen käsittelevät katsauksessaan (2014) apolipoproteiinien (A-I ja B) määrittämisen hyötyjä dyslipidemioiden diagnostiikassa, verrattuna perinteisiin kolesterolimäärittämiin. He toteavat niiden toimivan hyvin täydentävinä tutkimuksina erityisesti tapauksissa, joissa potilaalla on ylipainoa, metabolinen oireyhtymä tai tyyppin 2 diabetes. Tällöin aterogeenisten apoB:tä sisältävien lipoproteiinien määrä voi olla matalasta tai normaalista kokonais- ja LDL-kolesterolista huolimatta lisääntynyt. Näin ollen ilman apoB:n määrittämistä todellinen sydän- ja verisuonitautien riski voi jäädä tunnistamatta tai se arvioidaan todellisuutta pienemmäksi. He toteavat myös viime vuosina tehdyissä tutkimuksissa havainneensa, että apolipoproteiinit toimivat perinteisiä kolesterolimäärittämiä paremmin sydän- ja verisuonitautien riskien arvioinnissa ja toivovatkin näiden määritysten käyttämistä

lähitulevaisuudessa laajemmin, osana päivittäistä sydän- ja verisuonitautien riskin arviointia.

Paaston tarpeellisuudesta lipiditutkimuksissa on viime aikoina ollut paljon keskustelua. Paastosta luopuminen helpottaisi laboratorioden toimintaa esim. vähentämällä aamuruuhkia ja paastoamattomuudesta johtuvia uusintakäyntejä. Tutkimuksissa, joissa on tutkittu sekä paastonneiden ja paastoamattomien potilaiden näytteitä, ilman paastoa saadut tulokset ovat kuvastaneet sydän- ja verisuonitautien riskiä yhtä hyvin tai jopa paremmin, kuin paastonäytteistä saadut tulokset. (Farukhi & Mora 2016.)

Euroopan ateroskleroosiyhdistyksen (European Atherosclerosis Society, EAS) ja Euroopan kliinisen kemian ja laboratoriolääketieteen liiton (European Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine, EFML) julkaisemassa yksimielisessä lausunnossa (Nordestgaard ym. 2016) on arvioitu kriittisesti paastosta luopumisen kliinisiä seurauksia. Laajamittaiseen aineiston, jossa verrattiin ei-paastonäytteiden lipiditutkimustuloksia paastonäytteiden tuloksiin, havainnointiin perustuen todettiin, että lipidiarvoissa tapahtuvat muutokset 1-6h tavanomaisen aterian jälkeen, eivät olleet kliinisesti merkittäviä. Paastosta todettiin olevan kuitenkin hyötyä, jos ilman paastoa mitattu triglyseridipitoisuus oli korkea (yli 5mmol/l).

Dyslipidemioiden käypähoitosuosituksessa on määritelty lipidiarvot, jotka ovat terveyden edistämisen kannalta keskeisimmät. Tällä hetkellä plasman kokonaiskolesterolipitoisuuden tulisi olla tällöin alle 5,0 mmol/l ja LDL-kolesterolipitoisuuden alle 3.0 mmol/l. (Käypä hoito -suositus 2017.) Käypä hoito -suositus määrittelee vain nämä em. tavoitearvot ja erikseen riskiryhmien tavoitearvot. Tykslabin tämänhetkiset tavoitearvot lipiditutkimuksille paastonäytteistä ovat määritelty Taulukossa 1.

Taulukko 1. Tavoitearvot lipiditutkimuksille (Tykslab 2017).

	Aikuiset: Kaikki	Aikuiset: Miehet	Aikuiset: Naiset	Lapset: 4,7,10v	Lapset: 13-17v
fP-Kol	<5 mmol/l				
fP-Kol-HDL		>1.0 mmol/l	>1.2 mmol/l		
fP-Kol-LDL	<3 mmol/l				

fP-Trigly	0.45-2.6 mmol/l			<1 mmol/l	<1.3 mmol/l
-----------	--------------------	--	--	-----------	----------------

## 2.6 Cobas c 311 analysaattori

Cobas c 311 analysaattori on kliinisen kemian analysaattori ja osa Cobas 4000 analysaattori sarjaa. Tuotesarja on suunniteltu laboratorioille, jotka prosessoivat 80-200 näytettä päivässä. Siihen on saatavissa yli 120 analyysiä. Näihin sisältyvät muun muassa peruskemian tutkimukset, sekä spesifiset proteiinimääritykset. (Roche 2009.) Turun AMK:n opetuslaboratorio omistaa jo entuudestaan tähän analysaattorisarjaan kuuluvan immunokemian analysaattorin Cobas e 411.

Cobas c 311 analysaattorin menetelmäperiaatteet lipiditutkimuksille ovat entsyymaattisia. Kaikki tulokset määritetään fotometrisesti. (Roche 2016, Roche 2017.) Fotometrinen menetelmä mittaa valon aiheuttamaa säteilyenergiaa (Halonen 2004).

Kokonaiskolesterolimäärityksessä käytetään entsyymaattista kolorimetristä menetelmäperiaatetta. Kolesteroliesterit hajotetaan kolesteroliesteraasien avulla, jotta saadaan vapaata kolesterolia ja rasvahappoja. Kolesterolioksidaasi toimii katalysaattorina hapetusreaktiossa, jossa vapautuu vetyperoksidia. Peroksidaasientsyymi saa vetyperoksidin vaikuttamaan fenolin ja 4-aminopyriinin yhdistymisreaktioon, jossa ne muodostavat punaista kinoni-imiini väriä. Värin voimakkuus on suoraan verrannollinen kolesterolin pitoisuuteen ja se mitataan absorbanssin muutoksena. (Roche 2016.)

HDL-kolesterolimäärityksessä käytetään homogeenista, entsyymaattista, ja kolorimetristä menetelmäperiaatetta. Non-HDL -lipoproteiinit, joita ovat mm. LDL ja VLDL sekä kylomikronit, yhdistyvät polyanionien ja surfaktantin vaikutuksesta muodostaen vesiliukoisia komplekseja, jotka eivät pysty osallistumaan entsyymaattiseen reaktioon. Täten vain HDL-partikkelit reagoivat kolesteroliesteraasin ja kolesterolioksidaasin kanssa. Kolesteroliesterit hajoavat kolesteroliesteraasireaktiossa. Sen jälkeen tapahtuu kolesterolioksidaasin aikaansaama hapetusreaktio, jossa syntyy delta-4-kolestenonia ja vetyperoksidia. Peroksidaasientsyymi saa vetyperoksidin reagoimaan 4-aminoantipyriinin ja N-etyyli-N-(3-metyylifenyyl)-N'-sukkinyylietyleenidiamiinin kanssa

muodostaen väriä. Värin voimakkuus on suoraan verrannollinen mitattavan analyytin pitoisuuteen ja mittaus tapahtuu fotometrisesti. (Roche 2017.)

LDL-kolesterolin menetelmäperiaate on homogeeninen, entsyymaattinen ja kolorimetrinen. Kolesteroliesterit ja LDL:n sisältämä vapaa kolesteroli mitataan entsyymaattisesti, käyttäen kolesteroliesteraasia ja kolesterolioksidaasia, sekä surfaktantteja, jotta saadaan vain LDL liukoiseen muotoon. Muiden lipoproteiinien entsyymireaktiot siis estetään sokeryhdisteen ja surfaktanttien avulla. HDL, VDL ja kylomikronit eivät siis osallistu määrittämiseen. Kolesteroliesteraasi hajottaa kolesteroliesterit vapauttaen kolesterolin ja rasvahapot. Hapen ja kolesterolioksidaasin avulla kolesterolin hapetusreaktiossa syntyy delta-4-kolestenonia ja vetyperoksidia. Peroksidaasientsyymi saa vetyperoksidin reagoimaan 4-aminoantipyriiniin ja N-etyyli-N-(3-metyylifenyyl)-N'-sukkinylietyleenidiamiiniin kanssa, jolloin muodostuu puna-violetti väriä. Värin voimakkuus on suoraan verrannollinen mitattavan analyytin pitoisuuteen ja se mitataan fotometrisesti. (Roche 2017.)

Triglyseridimäärittämisessä käytetään entsyymaattista, kolorimetristä menetelmäperiaatetta. Lipoproteiinilipaasi hydrolysoi triglyseridit glyseroliksi, tätä seuraa hapetusreaktio dihydroksiasetonifosfaatiksi ja vetyperoksidiksi. Vetyperoksidi reagoi katalyyttisesti 4-aminopyriiniin ja 4-kloorifenolin kanssa. Reaktiossa syntyy punaista väriainetta, jonka voimakkuus on suoraan verrannollinen mitattavan analyytin pitoisuuteen. Mittaus tapahtuu fotometrisesti. (Roche 2017.)

## 2.7 Verifiointi

Verifioinnilla eli todentamisella varmistetaan, että laitevalmistajan määrittämät vaatimukset menetelmälle täyttyvät. Verifiointi perustuu objektiiviseen näyttöön. Se voidaan toteuttaa eri tavoin, joista yhtenä esimerkkinä on testien ja koekäyttöjen suorittaminen. (SFS-EN ISO 15189 2013.) Menetelmä ei vaadi validointia, jos se on huolellisesti validoitu laitevalmistajan toimesta ja laitevalmistaja on toimittanut yksityiskohtaiset tulokset validoinnista. Laboratorion on todennettava menetelmän mittausepävarmuus sekä tarkkuus. Näin voidaan todistaa laitevalmistajan suorittamassa validoinnissa saatujen tulosten ja vaatimusten täyttyminen, sekä sopivuus juuri kyseessä olevan laboratorion käyttötarkoituksiin. (Theodorsson 2017.)

Kiwoong Ko, Min-Jung Kwon, Hee-Yeon Woo ja Hyosoon Park (2015) tutkivat Cobas 8000 analysointisarjaan kuuluvan e602 analysointilaitteen analysointitilaa 17 eri immunoanalyysillä. Testausmateriaalina analysoinnissa käytettiin kahden tason kontrollia PreciControl ja instituution omista näytteistä poolattua seerumia. Referenssilaitteena käytettiin Rochen Modular Analytics E170 moduulia.

Tulokset käsiteltiin ja analysoitiin tilastollisin menetelmin, Microsoft Excel 2010 ja EP Evaluator Release 10 (Data Innovations, USA) ohjelmilla. Laitteiden vertailussa saatiin vertailukelpoisia tuloksia ja kaikkien analysointitilien r-arvo oli  $>0,975$ , eli analysointilaitteiden tulosten välillä ei ollut merkittäviä eroja. Toistettavuutta ja laboratorion sisäistä tarkkuutta testattiin kontrollinäytteillä. Lisäksi testattiin lineaarisuutta ja määritettiin viitearvot. Toistettavuuden ja laboratorion sisäisen tarkkuuden tavoitearvojen ulkopuolelle jäi vain totaali D-vitamiinin 1. tason kontrolli. Tutkijat kuitenkin arvioivat tulokset hyväksyttäväksi aikaisemman tutkimustiedon pohjalta.

Ledue ja Collins ovat kehittäneet ja validoineet tutkimuksessaan (2011) 14 ihmisseerumin proteiinianalyysiä Rochen Cobas 6000 analysointisarjan c 501 -moduulilla. He toteavat tutkimuksessaan nefelometristen ja turbidimetristen menetelmien parantuneen aikojen saatossa. Edistyksiä on nähty mm. vasta-aineiden puhdistustekniikoissa, instrumenttien suunnittelussa ja toiminnoissa, sekä referenssimateriaalien tuotannossa. Tästä on seurannut vähemmän variaatiota eri laboratorioden välillä. Immunoturbidimetriset analyysit kehitettiin käyttämällä monospesifistä vuohen seerumia eri valmistajilta. Kalibraatiokuvaajan laskemiseksi käytettiin Rochen epälineaarista reaktion laskentakaavaa (RCM tai RCM2TI) ja kontrollit ja potilasnäytteet interpoloitiin. Tämän jälkeen jokaisen analyysin suorituskyky verifioitiin mittaamalla tarkkuutta, lineaarisuutta, virhelähteitä, carry-over-reaktiota, antigeeniylijäämää ja mittausaluetta, sekä vertailemalla eri menetelmiä.

Tarkkuutta testattiin kolmen tason kontrolleilla suorittaen rinnakkaisajoja 20 päivän ajan. Näistä tuloksista laskettiin ajon sisäinen tarkkuus sekä totaali tarkkuus. Lineaarisuutta arvioitiin analysoimalla eri pitoisista näytteistä (mahdollisimman lähellä mittausalueen matalimpaa ja korkeimpaa pitoisuutta) tehtyjä näytepooleja rinnakkaisajoina. Hemolyyysin, lipemian ja reumafaktorin vaikutusta tutkittiin analysoimalla eri pitoisuuksia näitä virhelähteitä sisältäviä näytteitä. Carry-over reaktion esiintyvyyttä testattiin ajamalla korkean pitoisuuden sekä matalan pitoisuuden näytepoolia vaihtelevilla sekvensseillä eri proteiineja analysoiden. Kaikki analyysit analysoitiin antigeeniylijäämän osalta. Viimeisenä suoritettiin vielä menetelmien välinen vertailu. Vertailussa käytettiin

kaupallisia menetelmiä mm. Tina-quant® (Roche Diagnostics), Behring Nephelometer II (Siemens). Analyyseissä noudatettiin kunkin menetelmän omia inserttejä. Näytteiden käsittelystä aiheutuvia virheitä pyrittiin minimoimaan suorittamalla vertailuanalyysit samaan aikaan kaikilla menetelmillä.

Tutkimuksessa todettiin kehitetyn menetelmän erinomainen tarkkuus kaikilla pitoisuuksilla (matala, normaali, korkea), totaali CV%  $\leq 3,6\%$ . Lineaarisuus oli kaikissa 5% sisällä tavoitteesta. Kaupallisten menetelmien kanssa havaittiin hyvä korrelaatio ( $r > 0,975$ ). Hemoglobiinin, bilirubiinin, lipemian tai reumafaktorin ei todettu aiheuttavan merkittävää virhelähdettä. Kalibraatio pysyi vakaana vähintään 14 päivän ajan. Hyödyiksi listattiin menetelmän hyvä tarkkuus ja täsmällisyys, sekä korkea näytteiden analysointikapasiteetti ja matalamman näyte- ja reagenssivolyymien tarve analyysiin, sekä se ettei tarvitse ostaa tähän käyttötarkoitukseen erikseen tarkoitettua analysaattoria, mikä tuottaa säästöjä kuluissa.

### 3 OPINNÄYTETYÖN TARKOITUS, TAVOITTEET JA TEHTÄVÄ

Tämän opinnäytetyön tarkoituksena on tehdä opetuslaboratorioon saapuville uusille Cobas c 311 -analysointilaitteille verifiointi lipiditutkimusten osalta. Referenssilaitteena verifiointissa toimii Tykslabin kliinisen kemian analysointilaitte, joka on osa Roche Cobas 8000 analysointilinjastoa. Opinnäytetyön tavoitteena on varmistaa, että analysointilaitteet tuottavat laadukkaita ja luotettavia tuloksia asiakkaille. Opinnäytetyössä kehitetään siis opetusta ja analytiikan laatua bioanalytiikkokoulutuksessa, sillä sen seurauksena saatujen tulosten perusteella päätetään, ovatko uudet kliinisen kemian analysointilaitteet soveltuvat niille suunniteltuun opetuskäyttöön ja tuottavatko ne laadukkaita tuloksia. Tämä opinnäytetyö toteutetaan osana Turun ammattikorkeakoulun suurempaa hanketta, Työelämäyhteistyön ja opetuksen kehittäminen bioanalytiikkokoulutuksessa (TurkuCRC T163/2017), jolloin toimeksiantajana on Turun ammattikorkeakoulu.

Opinnäytetyössä testataan toistettavuutta ja tehdään tulostasojen vertailu. Toistettavuutta testataan analysoimalla lipiditutkimukset samoista näytteistä useita kertoja. Tulostason vertailu tapahtuu vertailemalla Cobas c 311 analysointilaitteen antamia tuloksia referenssilaitteella saatuihin tuloksiin.

Opinnäytetyön tutkimustehtävät:

1. Toistettavuuden testaaminen suorittamalla näytteistä useita kertoja samoja analyysejä eli testataan sarjan sisäistä toistettavuutta, 4 näytettä, 10 rinnakkaisajoa.
2. Toistettavuuden testaaminen analysoimalla näytteitä kymmenen päivän ajan eli testataan sarjojen välistä toistettavuutta, 4 näytettä.
3. Potilasnäytevertailu, jossa verrataan Cobas c 311 -analysointilaitteen antamia tuloksia referenssilaitteella saatuihin tuloksiin, näytteet analysoidaan neljässä päivässä, kerralla 25 näytettä, yhteensä siis 100 näytettä.



## 4 OPINNÄYTETYÖN TOTEUTUS

### 4.1 Opinnäytetyön toteutus

Tämän opinnäytetyön aihe saatiin Turun ammattikorkeakoululta ja tarkoituksena oli suorittaa verifiointi Turun ammattikorkeakoulun opetuslaboratorion (TUASLab) uusille kliinisen kemian analysaattoreille lipiditutkimusten osalta. Opinnäytetyön suunnitelma ja toimeksiantosopimus kirjoitettiin ja hyväksyttiin keväällä 2018. Verifiointi suoritettiin toisen opinnäytetyön tekijöiden kanssa yhteistyössä. Toisessa opinnäytetyössä verifioitiin muut analysaattoreilla käyttöön otettavat tutkimukset.

Tämän opinnäytetyön tekeminen aloitettiin suunnittelulla ja lähdemateriaalin keräämisellä keväällä 2018. Ennen verifiointia tehtiin yhteinen verifiointisuunnitelma (liite 1), joka sisälsi yksityiskohtaisen kuvauksen kaikkien käyttöön otettavien tutkimusten verifiointin suorittamisesta, käytettävistä näytemateriaaleista ja kulutustavaroista, sekä verifiointin aikana täytettävistä dokumenteista. Verifiointisuunnitelma hyväksyttiin keväällä 2018 ja kirjoitettiin toimeksiantosopimus. Kaikki tutkijat osallistuivat ennen analyysien suorittamista (16.05.2018) kattavaan kolmen päivän pääkäyttäjäkoulutukseen, jossa oppivat käyttämään Cobas c 311 moduulia. Koulutuksessa käsiteltiin perusteellisesti mm. analysaattorin eri osat ja niiden vaihtaminen, päivittäiset ylläpito- ja huoltotoimenpiteet, kuukausihuollot, laitteen käynnistäminen ja sammuttaminen, kalibrointi ja kontrollointi, sekä tutkimuspyyntöjen syöttäminen analysaattorille ja näytteiden analysoiminen.

Tämä opinnäytetyö toteutettiin yhteistyössä kemistin ja ohjaavan opettajan kanssa. Verifiointi tehtiin Turun ammattikorkeakoulun opetuslaboratorion uusissa tiloissa Medisiina D:ssä uusien Cobas c 311 analysaattorien asentamisen ja käyttäjäkoulutuksen jälkeen, touko- kesäkuun vaihteessa. Aineistoksi hankittiin pitoisuuksiltaan erilaisia laskimoverinäytteitä Tykslabilta (n=100). Näytteet noudettiin eri päivinä 25 näytteen erissä. 25 näytteen erät oli analysoitu referenssilaitteella noutopäivänä, poikkeuksena näytteet 26-50, jotka oli ajettu referenssilaitteella samana päivänä, kuin näytteet 1-25. Niitä säilytettiin siis jääkaappilämpötilassa noin vuorokaudenajan. Näytteitä 1-25 ja 51-100 säilytettiin jääkaappilämpötilassa noutamishetkestä siihen asti, kunnes ne analysoitiin saman päivän aikana verifioitavilla

analysaattoreilla. Näytteiden kappalehinta oli seitsemän euroa. Näytteistä ja kulutustavaroista aiheutuvat kustannukset maksoi Turun ammattikorkeakoulu.

Potilasnäytevertailussa analysoitiin Tykslabilta ostettuja näytteitä 25 kpl/päivä, neljän päivän ajan, eli yhteensä 100 näytettä, jonka jälkeen saatuja tuloksia verrattiin referenssilaitteella saatuihin tuloksiin. Referenssilaitteena toimi Tykslabin kliinisen kemian analysaattori. Lipiditutkimusten toistettavuutta testattiin seuraavilla kontrolleilla; laitevalmistajan oma kontrolli PreciControl ClinChem 1, poikkeavan tason kontrolli Abtrol, lipideille tarkoitettu normaalitason kontrolli Lipotrol. Lisäksi yhtenä näytteenä toistettavuuden testaamisessa käytettiin tutkijoiden omasta plasmasta tehtyä näytepoolia. Näitä samoja näytteitä ajettiin kymmenen päivän ajan, eli testattiin analysaattoreiden kykyä tuottaa toistettavia tuloksia päivästä toiseen, eli sarjojen välistä toistettavuutta. Lisäksi testattiin toistettavuutta sarjan sisäisesti eli ajamalla samoista näytteistä rinnakkaisajaja, joiden määräksi oli valittu 10. Huolimattomuusvirheestä johtuen viisi rinnakkaisajaja Abtrol:ia jäi ajamatta.

Näytteet analysoitiin aikavälillä 28.05.2018-06.06.2018. Ennen verifiointin aloittamista tehtiin näytemateriaalien liuotukset, sekä jako kertakäyttöeriin  $-20^{\circ}\text{C}$  pakastimeen. Lisäksi koottiin oma näytepooli tutkijoiden omista plasmanäytteistä, joka myös jaettiin kertakäyttöeriin pakastimeen. Tässä vaiheessa huomattiin, että päivittäiskontrollia PreciControl ClinChem 2 (PCCC2) oli liian vähän, joten päätettiin ajaa kontrollit vain aamuisin ja luopua kontrollien ajamisesta päivän päätteeksi. Verifiointisuunnitelmassa oli suunniteltu, että kontrollit ajetaan myös päivän päätteeksi, jotta varmistutaan kalibraation stabiilina pysymisestä. Pakastimen lämpötilanseurannassa huomattiin, että lämpötila oli käynyt  $-11^{\circ}\text{C}$ :ssa verifiointin aikana. Lämpötilan lasku saattoi vaikuttaa verifiointissa käytettyihin pakastettuihin näytteisiin ja näin ollen edelleen toistettavuustuloksiin. Päivittäiskontrollina käytettiin edellä mainittua PCCC2 kontrollia. Tutkimukset kalibroitiin ennen verifiointin aloittamista ja sen puolesta välissä, sekä lisäksi tarvittaessa esim., kun reagenssit vaihtuivat.

Kun analyysien kaikki tulokset olivat valmiit, niistä muodostettiin tarvittavat taulukot ja suoritettiin tilastollinen analyysi Excel ja SPSS ohjelmien avulla. Verifiointin tulokset on kuvattu verifiointiraportissa, lisäksi se sisältää kuvauksen käytetyistä reagensseista, kontrolleista ja kalibraattoreista. Verifiointiraportti ja siinä kuvatut tulokset ovat myös kemistin arvioimia ja hyväksymiä.

## 4.2 Tulosten tilastollinen analyysi

Tässä opinnäytetyössä tutkittavan aineiston muodostavat analysaattoreilla saadut lipiditutkimustulokset, joten aineisto on numeerisessa muodossa. Tutkimustulosten ominaisuuksia voidaan kuvata esim. graafisesti sekä tunnusluvuin. Tuloksia voidaan myös taulukoida ja luokitella monella tavalla. (Nummenmaa ym. 2018.) Tulosten tarkastelu aloitettiin verifiointiraportin tekemisellä kesällä 2018, mihin muodostettiin kaikista tutkimustuloksista tarvittavat taulukot ja kuvaajat. Tässä opinnäytetyössä käsitellään vain lipiditutkimuksia koskevia tuloksia. Lipiditutkimusten tuloksista muodostettiin omat taulukot Excelillä ja tuloksia kuvattiin ensin tunnuslukujen avulla.

Tässä opinnäytetyössä saadun aineiston ominaisuuksia voidaan kuvailla seuraavien tunnuslukujen avulla; keskiarvo, keskihajonta ja suhteellinen keskihajonta eli variaatiokerroin. Keskiarvo tarkoittaa havaintoarvojen yhteenlaskun summaa jaettuna havaintoarvojen lukumäärällä. Keskihajonnalla kuvataan havaintoarvojen keskimääräistä hajontaa, eli havaintoarvojen keskimääräistä etäisyyttä jakauman keskiarvosta. Variaatiokerroin kertoo muuttujan arvon keskimääräisen eron verrattuna keskiarvoon prosentteina. (Nummenmaa ym. 2018.)

Sironta- eli hajontakuvioiden avulla voidaan kuvata graafisesti numeeristen muuttujien välistä yhteyttä. Yhteys voi olla positiivinen, negatiivinen tai epälineaarinen. Korrelaatiokerroin kuvastaa muuttujien välisen yhteyden voimakkuutta. Korrelaatiokertoimista yleisin on Pearsonin tulomomenttikorrelaatiokerroin ( $r$ ), jolla pystytään mittaamaan vain lineaarista yhteyttä. Korrelaatiokerroin voi olla negatiivinen tai positiivinen ja se on aina reaaliarvo  $-1:n$  ja  $+1:n$  välillä. Korrelaatiokertoimen ollessa lähellä nollaa, muuttujien välillä ei ole lineaarista yhteyttä. Jos korrelaatiokerroin on tasan nolla, muuttujien välillä voi silti olla epälineaarinen yhteys. (Nummenmaa ym. 2018.)

Sarjan sisäisen toistettavuuden ja sarjojen välisen toistettavuuden tuloksia tarkasteltiin kuvaamalla tuloksia tunnusluvuin ja vertailemalla saatuja tuloksia laitevalmistajan määrittämiin tuloksiin potilasnäytteille, sekä näytemateriaalina käytettyjen kontrollien tavoitearvoihin. Potilasnäytevertailussa samat näytteet oli ajettu referenssilaitteella, sekä uusilla Cobas c311-analysaattoreilla. Niistä saatuja tuloksia verrattiin keskenään laskemalla niistä korrelaatiokertoimet ja lineaariset regressiot, sekä muodostamalla sirontakuviot ja erotusprosenttikuvaajat. Lineaarisen regressioanalyysin avulla pystytään tarkastelemaan muuttujien välisiä riippuvuussuhteita, eli sitä kuinka paljon toisen

muuttujan arvoihin vaikuttaa toisen muuttujan arvojen muuttuminen tai toisin päin. Regressiosuoralla voidaan mallintaa tätä edellä mainittua muuttujien välistä yhteyttä. (Nummenmaa ym. 2018.)

Seuraavaksi aloitettiin potilasnäytevertailun tulosten tarkastelu SPSS-ohjelmalla. Tarkastelu aloitettiin selvittämällä ovatko tulokset jakautuneet normaalisti, jonka perusteella valitaan joko parametrinen tai epäparametrinen hypoteesin testausmenetelmä. Normaalijakauma, tai toisin sanoen Gaussin jakauma on symmetrinen, jossa odotusarvon lähelle keskittyy suurin osa arvoista ja puolet arvoista ovat tätä odotusarvoa suurempia tai pienempiä. Kauas odotusarvosta sijoittuvat arvot ovat tällöin harvinaisia. (Nummenmaa ym. 2018.) SPSS-ohjelmalla pystyttiin testaamaan, ovatko tulokset jakautuneet normaalisti käyttämällä epäparametrista One-Sample Kolmogorov-Smirnov -testiä.

Kun oltiin selvitetty, ovatko tulokset jakautuneet normaalisti, voitiin valita kullekin otannalle sopiva hypoteesin testausmenetelmä. Tilastollisessa analyysissä voidaan tässä tapauksessa käyttää pareittaista parametrista tai epäparametrista testausmenetelmää, riippuen siitä ovatko molemmat otannat jakautuneet likimain normaalisti vai epänormaalisti, sillä halutaan saada tietoa kahden ryhmän välisten erojen tilastollista merkittävyydestä (Nummenmaa ym. 2018). Parametrisissa testeissä vertailun kohteena ovat jakaumien keskiarvot, jolloin ne sopivat parhaiten sellaisille muuttujille, jotka ovat välimatka- tai suhdeasteikollisia (Valli 2015).

#### 4.3 Opinnäytetyön metodologiset lähtökohdat

Kvantitatiivisessa eli määrällisessä tutkimuksessa on keskeistä, että havaintoaineisto on muodoltaan sellaista, että sitä voidaan mitata määrällisesti tai numeerisesti. Tutkimusaineiston muuttujat voidaan asettaa taulukkomuotoon ja tutkimusaineistolle pystytään tekemään tilastollinen analyysi. Päätelmät tehdään perustuen tähän aineiston tilastolliseen analyysiin. (Hirsjärvi ym. 2005).

Tilastollinen tutkimus perustuu tilastotieteen menetelmien käyttöön. Siinä tutkimusaineistoa käsitellään matemaattisten toimenpiteiden avulla. Tutkijalla on nykyisin käytössään tilasto-ohjelmia ja tietotekniikka on pitkälle kehittynyt. Nykyaikana korostuukin enemmän se, että tutkijan tulee ymmärtää tilastollisten ohjelmien avulla saatuja tuloksia ja osata selostaa tuloksia ja taulukoita ymmärrettävästi lukijalle.

Laskutoimituksia ei tarvitse tehdä itse, mutta menetelmät pitää hallita, jotta ymmärtää, mistä saadut tulokset muodostuvat, ja jotta niiden ymmärrettävästi selittäminen onnistuu. Kun yksittäistapausten pohjalta pyritään löytämään säännönmukaisuuksia tai yleisiä lainalaisuuksia, tutkimus on empiirinen. Tällainen empiirinen tutkimustapa on käytössä tilastollisessa tutkimuksessa. (Valli 2015.)

Tässä opinnäytetyössä tutkimusaineisto on numeerista ja sen analyysiin on käytetty tilastollisia menetelmiä. Tämä opinnäytetyö on siis kvantitatiivinen eli määrällinen. Tilastollisen analyysin tuloksia kuvataan taulukoin ja graafisten kuvaajien ja kuvioden avulla. Tutkija on perehtynyt tilastollisiin menetelmiin ja pyrkii avaamaan tulokset lukijalle ymmärrettävästi.

#### 4.4 Opinnäytetyön eettiset lähtökohdat

Opinnäytetyössä tulee koko opinnäytetyöprosessin aikana kiinnittää huomiota tutkimuseetiikkaan eli hyvän tieteellisen käytännön noudattamiseen. Käytettyjen tutkimus- ja tiedonhankintamenetelmien tulee olla eettisesti kestäviä, eli tiedeyhteisön hyväksymiä. Eettisesti kestävässä tiedonhankinnassa tutkija hakee tietoa asianmukaisista tietolähteistä ja perustaa tiedonhaun oman alansa tieteellisen kirjallisuuden tuntemukseen, riittäviin laboratoriokokeisiin, sekä havaintoihin ja tutkimuksensa analysoimiseen. Hyvään tieteelliseen käytäntöön kuuluu myös rehellisyyden, vilpittömyyden, huolellisuuden ja tarkkuuden noudattaminen. (Vilka 2015.) Hyvään tieteelliseen käytäntöön liittyy myös yksityiskohtainen tutkimuksen suunnittelu, toteutus ja raportointi tieteellisten vaatimusten mukaisesti, tutkimusryhmän jäsenten huomioiminen, tutkimuksen kustannuksiin ja muihin sidonnaisuuksiin liittyvien asioiden selvittäminen ja raportointi asianmukaisesti, sekä avoimuus tutkimuksen tulosten julkaisemisessa ja muiden tutkijoiden työn ja saavutuksien huomioiminen asianmukaisesti (Kuula 2011).

Tutkimuseetiikkaa voidaan määritellä tutkijoiden ammattietiikaksi ja siihen sisältyvät ne eettiset periaatteet, normit ja hyveet, joita tutkijan pitää ammatiaan harjoittaessaan noudattaa. Tutkimuseiikan normeja on ammattietiikan näkökulmasta kolme pääryhmää, jotka liittyvät totuuden etsimiseen ja tiedon luotettavuuteen, tutkittavien ihmisarvoon sekä tutkijoiden keskinäisiin suhteisiin. Tiedon luotettavuuteen ja totuuden etsimiseen liittyvät normit ohjaavat tutkijaa noudattamaan sellaisia tutkimusmenetelmiä, että tiedeyhteisö pystyy tarkistamaan tiedon oikeellisuuden. Tutkittavien ihmisarvon kunnioittamiseen

liittyvät normit ohjaavat puolestaan pohtimaan tutkittavalle tutkimuksesta aiheutuvia vahinkoja ja tutkittavan itsemääräämisoikeuteen liittyviä asioita. Tutkijoiden keskinäisiin suhteisiin liittyvät normit taas liittyvät toisten tutkijoiden työn kunnioittamiseen ja huomioimiseen. Näiden normien noudattaminen on tärkeää tiedeyhteisön yhteisöllisyyden kannalta. (Kuula 2011.) Plagiointia pitää välttää. Sillä tarkoitetaan toisen ideoiden, tutkimustulosten tai sanamuotojen varastamista, eli esittämistä omassa työssään ilman asianmukaisia lähdeviitteitä. Muita muotoja tieteellisestä vilpistä ovat esimerkiksi tulosten manipulointi, sepittäminen ja väärentäminen. (Hirsjärvi ym. 2005.)

Tämä opinnäytetyö on toteutettu noudattaen näitä eettisiä lähtökohtia. Tutkimusmateriaaliksi hankittiin Tykslabilta valmiiksi analysoituja näytteitä ja niistä saatuja tutkimustuloksia. Näytteistä poistettiin ennen luovutusta kaikki henkilötiedot, joten potilaiden henkilöllisyyttä ei tiedetä, eikä pystytä jäljittämään. Näytteiden luovutuksen yhteydessä täytettiin asianmukainen luovutuslomake, joka määritteli näytteiden käyttötarkoituksen, sekä hävittämisen. Koska näytteet eivät sisältäneet henkilötietoja, ei potilailta tarvinnut kysyä lupaa näytteiden käyttämiseen tutkimusmateriaalina. Näytteet hävitettiin asianmukaisesti kaikkien analyysien suorittamisen jälkeen. Potilaille ei näin ollen katsottu olevan haittaa näytteiden käyttämisestä tutkimusmateriaalina.

## 5 TULOKSET JA NIIDEN TARKASTELU

### 5.1 Sarjan sisäinen toistettavuus

Sarjan sisäisen toistettavuuden tuloksia vertailtiin jokaisen tutkimuksen kohdalla erikseen. Jokaisen analysaattorin tuloksista muodostettiin omat taulukot, joihin laskettiin tuloksista keskiarvot, keskihajonnat ja variaatiokerroin, jonka jälkeen tuloksia verrattiin tavoitearvoihin. Tästä eteenpäin Cobas c311 analysaattoreista käytetään nimityksiä Cobas1, Cobas2 ja Cobas3. Taulukoissa 2, 3 ja 4 on kuvattu analysaattorien sarjan sisäisen toistettavuuden tuloksia tunnuslukujen avulla, sekä verrattu niitä tavoitearvoihin. Tavoitearvoina on käytetty kontrollien valmistajan niille määrittelemiä tavoitearvoja ja hajontoja. Näytepoolin tuloksia verrattiin valmistajan sarjan sisäisen toistettavuuden mittauksissa saamiin tuloksiin potilasnäytteillä.

Jokaisesta näytteestä on tehty kaikilla tutkimuksilla kymmenen rinnakkaisajoa eli  $n=10$ , paitsi Cobas2 analysaattorilla Abtrol, josta 5 toistoa jäi ajamatta. Taulukoista voi tehdä havainnon, että monen tutkimuksen ja näytteen kohdalla rinnakkaisajojen välillä ei ole lainkaan hajontaa, eli kaikkien ajojen tulokset olivat samat. Tämä näkyy siis niin, että keskihajonta ja variaatiokerroin ovat molemmat tasan 0. Tästä voidaan päätellä toistettavuuden olevan erinomaista.

Keskihajonta, eli  $s$ , saadaan laskemalla, havaintoarvojen keskiarvon, ( $\bar{x}$ ) ja lukumäärän ( $n$ ) avulla, alla olevan kaavan 2 mukaisesti. Keskihajonnan yksikkö on sama kuin muuttujan yksikkö ja se kertoo, mikä on muuttujien arvojen keskimääräinen ero jakauman keskiarvoon. (Nummenmaa ym. 2018.) Keskihajonnasta käytetään lyhennystä SD, joka tulee englannin kielestä standard deviation.

Kaava 2 Keskihajonnan laskeminen (Nummenmaa ym. 2018).

$$s = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2}{n - 1}}$$

Suurin variaatiokerroin on kolesterolilla ja LDL-kolesterolilla PCCC näytteen rinnakkaisajoilla. Variaatiokerroin saadaan laskettua keskihajonnan  $s$ , avulla (Nummenmaa ym. 2018).

Kaava 3 Variaatiokerroin (Nummenmaa ym. 2018).

$$V = \frac{s}{\bar{x}}$$

Taulukossa 3 näkyy näytepoolilla LDL -tutkimuksen tuloksissa lihavoituna kaksi variaatiokerrointa, jotka ovat laitevalmistajan saamia variaatiokertoimia korkeammat. Kaikkien muiden tulosten voidaan todeta olevan valmistajan vastaavan CV%:n tai tavoite CV%:n alle kaikilla näytteillä (ks. taulukot 2, 3 ja 4). Thermo Fisherin kontrolleille ei ole määritetty omia tavoitearvoja Cobas c 311 analysointilaitteille, joten tässä käytettiin Konelabeille tarkoitettuja tavoitearvoja. Lisäksi Abtrol kontrollille ei ole määritetty lainkaan tavoitearvoja HDL- ja LDL -tutkimusten osalta.

Taulukko 2. PreciControl ClinChem Multi 1 -kontrolli, sarj. sis. toistettavuus.

Analysaattori	Tutkimus	Näyte (n=10)	Keskiarvo (mmol/l) /tavoitearvo	Keskihajonta (SD)	CV%/Tavoite CV%
Cobas1	HDL	PCCC	0,6/ <u>0,626</u>	0	0/ <u>8,0</u>
	KOL	PCCC	1,9/ <u>1,85</u>	0,05	2,58/ <u>4,9</u>
	LDL	PCCC	1,2/ <u>1,15</u>	0	0/ <u>7,8</u>
	TRIGLY	PCCC	1,23/ <u>1,22</u>	0	0,38/ <u>4,9</u>
Cobas2	HDL	PCCC	0,6/ <u>0,626</u>	0	0/ <u>8,0</u>
	KOL	PCCC	1,9/ <u>1,85</u>	0,04	2,24/ <u>4,9</u>
	LDL	PCCC	1,2/ <u>1,15</u>	0	0/ <u>7,8</u>
	TRIGLY	PCCC	1,23/ <u>1,22</u>	0,01	0,64/ <u>4,9</u>
Cobas3	HDL	PCCC	0,7/ <u>0,626</u>	0	0/ <u>8,0</u>
	KOL	PCCC	1,9/ <u>1,85</u>	0	0/ <u>4,9</u>
	LDL	PCCC	1,3/ <u>1,15</u>	0,04	3,29/ <u>7,8</u>
	TRIGLY	PCCC	1,28/ <u>1,22</u>	0,01	0,53/ <u>4,9</u>

Taulukko 3. Näytepooli, sarj. sis. toistettavuus.



Analysaattori	Tutkimus	Näyte (n=10)	Keskiarvo (mmol/l)	Keskihajonta (SD)	CV%/ <u>laitevalmistajan vastaava CV%</u>
Cobas1	HDL	POOLI	1,6	0	0/0,5
	KOL	POOLI	4,6	0,05	1,06/1,1
	LDL	POOLI	2,8	0,04	1,52/0,7
	TRIGLY	POOLI	1,94	0,01	0,56/1,1
Cobas2	HDL	POOLI	1,6	0	0/0,5
	KOL	POOLI	4,5	0	0/1,1
	LDL	POOLI	2,8	0	0/0,7
	TRIGLY	POOLI	1,92	0,01	0,33/1,1
Cobas3	HDL	POOLI	1,6	0	0/0,5
	KOL	POOLI	4,4	0,03	0,72/1,1
	LDL	POOLI	2,8	0,03	1,13/0,7
	TRIGLY	POOLI	1,74	0,01	0,56/1,1

Taulukko 4. Thermo Fisherin kontrollit, sarj. sis. toistettavuus.

Analysaattori	Tutkimus	Näyte (n=10*)	Keskiarvo (mmol/l)	Keskihajonta (SD)	CV%/ <u>Tavoite CV%</u>
Cobas1	HDL	LIPOTROL	1,4	0	0/5,0
		ABTROL	3,3	0,03	0,96/-
	KOL	LIPOTROL	4,9	0,03	0,65/5,0
		ABTROL	6,4	0,04	0,66/5,1
	LDL	LIPOTROL	2,9	0,05	1,65/7,5
		ABTROL	3,8	0,05	1,28/-
	TRIGLY	LIPOTROL	1,34	0,01	1,07/7,5
		ABTROL	2,23	0,01	0,25/5,0
Cobas2	HDL	LIPOTROL	1,4	0	0/5,0
		ABTROL *(n=5)	3,3	0,04	1,35/-
	KOL	LIPOTROL	4,9	0,05	1,06/5,0
		ABTROL *(n=5)	6,3	0,04	0,71/5,1
	LDL	LIPOTROL	2,9	0	0/7,5
		ABTROL *(n=5)	3,7	0,04	1,2/-
	TRIGLY	LIPOTROL	1,33	0,01	0,61/7,5
		ABTROL *(n=5)	2,22	0,01	0,51/5,0
Cobas3	HDL	LIPOTROL	1,4	0,05	3,38/5,0
		ABTROL	3,3	0	0/-
	KOL	LIPOTROL	4,9	0,05	0,96/5,0
		ABTROL	6,3	0,03	0,5/5,1
	LDL	LIPOTROL	3,0	0	0/7,5
		ABTROL	3,6	0,03	0,88/-
	TRIGLY	LIPOTROL	1,35	0	0,31/7,5
		ABTROL	2,21	0,01	0,49/5,0

## 5.2 Sarjojen välinen toistettavuus

Sarjojen välistä toistettavuutta testattiin ajamalla samoja näytemateriaaleja, joita käytettiin sarjojen sisäisen toistettavuuden testaamisessa. Näytteet analysoitiin kerran päivässä, kymmenen päivän ajan. Sarjojen välistä toistettavuutta tarkasteltiin samalla tavalla, kuin sarjojen sisäistä toistettavuutta, eli tunnuslukuin, sekä vertailemalla tuloksia tavoitearvoihin. Kontrolleja verrattiin myös tässä niiden tavoitearvoihin ja hajontoihin, mutta näytepoolin tuloksia verrattiin valmistajan saamiin sarjojen välisiin toistettavuustuloksiin potilasnäytteillä. Sarjojen välisten toistettavuuksien tulokset eri näytemateriaaleilla ovat kuvattuna taulukoissa 5, 6 ja 7.

Taulukoissa voidaan havaita joitakin tuloksia, joissa keskihajonta ja variaatiokerroin ovat 0 tai hyvin lähellä sitä. Kol-HDL -tutkimuksen hajonta PCCC1 -kontrollilla on suurin, mutta yhä alle tavoitteen. PCCC1 -kontrollin kaikki tulokset ovat tavoitetta pienempiä, eli variaatiota rinnakkaisajojen välillä on sallittua vähemmän. Näytepoolin osalta saadut tulokset ovat paikoittain hieman laitevalmistajan saamia tuloksia korkeammat, mutta kuitenkin samassa linjassa laitevalmistajan saamiin tuloksiin verrattuna. Vain Trigly - tutkimuksen hajonta on selkeästi korkeampaa. Tällaista eroa ei ole havaittavissa muiden näytteiden (PCCC1, Lipotrol ja Abtrol) kohdalla, joten syyn voidaan olettaa olevan näytteen ominaisuuksissa.

Taulukko 5. PreciControl ClinChem Multi 1 -kontrolli, sarj. väl. toistettavuus.

Analysaattori	Tutkimus	Näyte (n=10)	Keskiarvo (mmol/l) /tavoitearvo	Keskihajonta (SD)	CV%/Tavoite CV%
Cobas1	HDL	PCCC	0,6/0,626	0,05	7,7/8,0
	KOL	PCCC	1,9/1,85	0	0/4,9
	LDL	PCCC	1,2/1,15	0	0/7,8
	TRIGLY	PCCC	1,24/1,22	0,02	1,3/4,9
Cobas2	HDL	PCCC	0,6/0,626	0,05	7,7/8,0
	KOL	PCCC	1,9/1,85	0,03	1,7/4,9
	LDL	PCCC	1,2/1,15	0,03	2,6/7,8
	TRIGLY	PCCC	1,25/1,22	0,02	1,5/4,9
Cobas3	HDL	PCCC	0,6/0,626	0,03	5,2/8,0
	KOL	PCCC	1,9/1,85	0,03	1,7/4,9
	LDL	PCCC	1,2/1,15	0	0/7,8
	TRIGLY	PCCC	1,25/1,22	0,01	1/4,9

Taulukko 6. Näytepooli, sarj. väl. toistettavuus.

Analysaattori	Tutkimus	Näyte (n=10)	Keskiarvo (mmol/l)	Keskihajonta (SD)	CV%/laitevalmistajan vastaava CV%
Cobas1	HDL	POOLI	1,6	0,04	<b>2,7/0,7</b>
	KOL	POOLI	4,5	0,04	0,9/ <u>1,6</u>
	LDL	POOLI	2,7	0,05	1,9/ <u>2,1</u>
	TRIGLY	POOLI	1,86	0,11	<b>6,1/1,9</b>
Cobas2	HDL	POOLI	1,6	0	0/ <u>0,7</u>
	KOL	POOLI	4,5	0,04	0,9/ <u>1,6</u>
	LDL	POOLI	2,7	0,05	1,8/ <u>2,1</u>
	TRIGLY	POOLI	1,87	0,13	<b>6,9/1,9</b>
Cobas3	HDL	POOLI	1,6	0,05	<b>2,9/0,7</b>
	KOL	POOLI	4,6	0,08	1,9/ <u>1,6</u>
	LDL	POOLI	2,8	0,07	<b>2,6/2,1</b>
	TRIGLY	POOLI	1,86	0,12	<b>6,4/1,9</b>

Taulukko 7. Thermo Fisherin kontrollit, sarj. väl. toistettavuus.

Analysaattori	Tutkimus	Näyte (n=10)	Keskiarvo (mmol/l)	Keskihajonta (SD)	CV%/tavoite CV%
Cobas1	HDL	LIPOTROL	1,4	0,03	2,3/ <u>5,0</u>
		ABTROL	3,4	0,05	1,6/-
	KOL	LIPOTROL	4,8	0,05	1,0/ <u>5,0</u>
		ABTROL	6,3	0,07	1,1/ <u>5,1</u>
	LDL	LIPOTROL	2,9	0,07	2,4/ <u>7,5</u>
		ABTROL	3,6	0,05	1,4/-
	TRIGLY	LIPOTROL	1,32	0,02	1,5/ <u>7,5</u>
		ABTROL	2,20	0,02	0,9/ <u>5,0</u>
Cobas2	HDL	LIPOTROL	1,4	0	0/ <u>5,0</u>
		ABTROL	3,4	0,05	1,4/-
	KOL	LIPOTROL	4,8	0,03	0,7/ <u>5,0</u>
		ABTROL	6,3	0,08	1,3/ <u>5,1</u>
	LDL	LIPOTROL	2,9	0,07	2,4/ <u>7,5</u>
		ABTROL	3,6	0,07	1,9/-
	TRIGLY	LIPOTROL	1,32	0,02	1,3/ <u>7,5</u>
		ABTROL	2,21	0,02	0,8/ <u>5,0</u>
Cobas3	HDL	LIPOTROL	1,4	0	0/ <u>5,0</u>
		ABTROL	3,3	0,06	1,9/-
	KOL	LIPOTROL	4,8	0,07	1,4/ <u>5,0</u>
		ABTROL	6,3	0,09	1,4/ <u>5,1</u>
	LDL	LIPOTROL	2,9	0,07	2,4/ <u>7,5</u>
		ABTROL	3,6	0,11	3/-
	TRIGLY	LIPOTROL	1,33	0,02	1,2/ <u>7,5</u>
		ABTROL	2,22	0,03	1,3/ <u>5,0</u>

### 5.3 Potilasnäytevertailun tulokset

Potilasnäytevertailussa käytettiin yhteensä 100 potilasnäytettä, jotka oli analysoitu verifioitavilla tutkimuksilla Tykslabin Cobas 8000 -analysaattorilinjastolla. Tykslabista haettiin 25 näytettä päivässä ja ne analysoitiin verifiointin kohteena olevilla Cobas c 311 -analysaattoreilla. Tulokset käsiteltiin tilastollisin menetelmin, niistä laskettiin korrelaatiokertoimet ja lineaariset regressiot ja muodostettiin sirontakuviot sekä erotusprosenttikuvaajat. Lineaarisen regressioanalyysin avulla pystyttiin tarkastelemaan analysaattorien tulosten välisiä riippuvuussuhteita. Tulosten välisiä eroja verrattiin Labqualityn ulkoiselle laaduntarkkailulle asettamiin tavoiteväleihin erotusprosenttien avulla. Tieteellisenä hypoteesina oli analysaattorien hyvä keskinäinen korrelaatio ja korrelaatio referenssiin.

Kuvioissa 1-12 on esitettyinä sirontakuviot ja lineaarisuus. Yläkulmassa on näkyvissä  $R^2$  eli selityskerroin. Selityskerroin ilmaisee, kuinka suuri osuus selitettävän muuttujan  $y$  vaihtelusta on selitettävissä selittävän muuttujan  $x$  avulla. Esim. jos selityskerroin on suuri, muuttuja  $x$  selittää suurimman osan  $y$ :n arvojen vaihtelusta. Tämä tarkoittaa, että regressiomalli kuvaa hyvin kyseistä aineistoa. (Nummenmaa ym. 2018.) Kuvioita 1-12 vertailemalla silmämääräisesti voidaan havaita pitoisuuksien osuvan hyvin regressiosuoralle ja tuloksien välillä olevan selkeä korrelaatio. Korrelaatioanalyysissä tarkastellaan kahden muuttujan välistä yhteisvaihtelua ja korrelaatiokerrointa apuna käyttäen voidaan selvittää lineaarisen yhteyden voimakkuus (Nummenmaa ym. 2018). Regressiosuora visualisoi hyvin selkeästi tämän ilmiön. Selityskertoimen voidaan havaita olevan myös erittäin hyvä ( $R^2 = > 0,99$ ), jolloin regressiomalli kuvastaa aineistossa tapahtuvaa vaihtelua hyvin. Tämä tarkoittaa siis sitä, että uusien Cobas c 311 -analysaattorien tulostasoa vastaa hyvin referenssilaitteen tulostasoa lipiditutkimusten osalta. Uudet analysaattorit korreloivat myös keskenään erinomaisesti. Kaikkien analysaattorien väliset korrelaatiokertoimet kaikilla lipiditutkimuksilla ovat  $> 0,99$ .

Analysaattorien tulostasojen välisiä eroja ja niiden tilastollista merkittävyyttä tarkasteltiin vielä testaamalla hypoteesin paikkansapitävyyttä SPSS-ohjelman avulla. Nollahypoteesina oli oletus, että analysaattorien tulosten välillä ei ole tilastollisesti merkittäviä eroja. Vastahypoteesina oli loogisesti vastakohta tälle oletukselle, eli se, että analysaattorien tulosten välillä on tilastollisesti merkittäviä eroja. Ensin testattiin, olivatko

muuttujat jakautuneet likimain normaalisti. Kolesteroli, HDL ja LDL -tutkimusten tulokset olivat jakautuneet lähestulkoon normaalisti. Vain triglyseridien jakauma oli hieman vino.

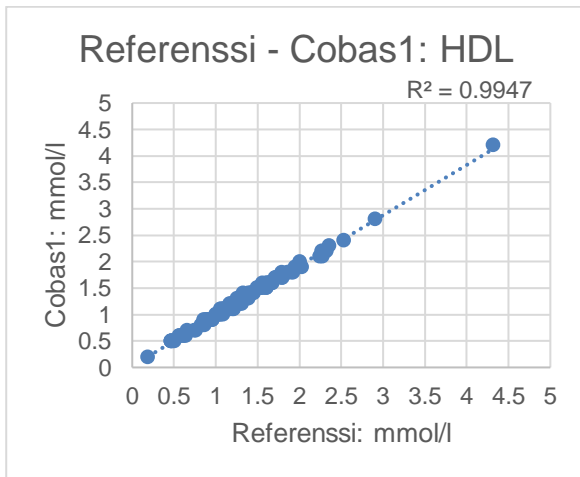
Normaalisti jakautuneille muuttujille suoritettiin kahden riippumattoman ryhmän T-testi. Myös potilasnäytteiden triglyseridituloksia vertailtiin samalla T-testillä, siitä huolimatta, että ne olivat jakautuneet hieman vinosti. T-testiä voitiin kuitenkin käyttää tässä tilanteessa, sillä vertailtavat otokset olivat riittävän suuria ( $n=100$ ) ja ryhmien voitiin olettaa olevan jakaumaltaan ja keskiarvoiltaan saman kaltaiset. Kun otoskoko on riittävän suuri ( $n \geq 30$ ), alkaa t-jakauma muistuttaa normaalijakaumaa ja T-testiä voidaan yleensä käyttää. (Nummenmaa ym. 2018, Taanila 2016.) Parametristen testin käyttäminen on kannattavaa, aina kun mahdollista, sillä ne ovat tarkempia, kuin epäparametriset testit, joissa jakaumaoletusta ei ole (Nummenmaa ym. 2018). T-testin tarkoitus on tarkistaa, että havaittu tulos ei ole vain satunnaisvaihtelun aikaansaamaa. Testi laskee käytännössä, että ovatko kahden ryhmän keskiarvot yhtä suuret. (Valli 2015.) Tuloksen tilastollisen merkittävyyden ilmaisee P-arvo, josta käytetään myös ilmaisuja significance ja sig. Merkittävyyden rajana pidetään  $P = < 0,05$ , jolloin nolla hypoteesi hylätään ja ryhmien väliset erot tulkitaan tilastollisesti melkein merkittäviksi. Toisinaan käytetään vielä tästäkin tiukempia merkittävyyden rajoja  $P = < 0,001$  ja  $P = 0,01$ . Esimerkiksi ihmisten terveyteen liittyvissä tutkimuksissa käytetään raja-arvoa  $P = < 0,001$ . Tämä tarkoittaa, että päätös nollahypoteesin hylkäämisestä on 0,1%:n todennäköisyydellä väärä. Kun P-arvo on asetettua raja-arvoa suurempi, nollahypoteesi jää voimaan. (Nummenmaa ym. 2018.) Taulukossa 8. on lueteltuna T-testin tulokset kaikilla analysoitavilla. Kaikki P-arvot ovat raja-arvoja suurempia, joten nollahypoteesi jää voimaan, ja voidaan olettaa näiden analysoitavien välisen eron tulostasoissa johtuvan satunnaisvaihtelusta. Ero ei siis ole tilastollisesti merkittävä.

Taulukko 8. T-testin tulokset

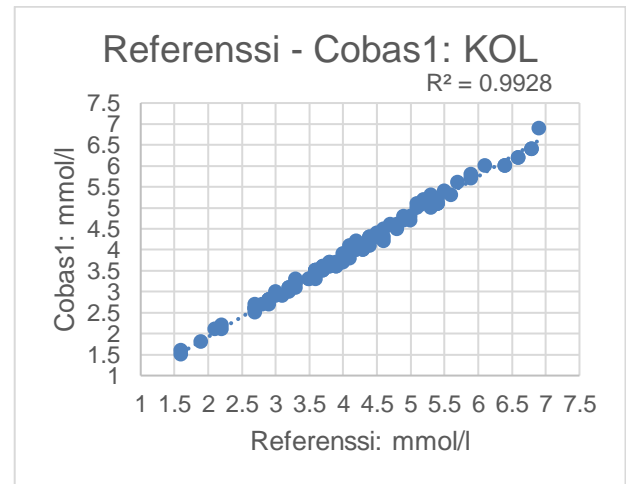
Tutkimus	Analysoitavat	P-arvo
HDL	Referenssi – Cobas1	0,632
	Referenssi – Cobas2	0,760
	Referenssi – Cobas3	0,760
	Cobas1 – Cobas2	0,862
	Cobas2 – Cobas3	1,000
	Cobas3 – Cobas1	0,863
KOL	Referenssi – Cobas1	0,302
	Referenssi – Cobas2	0,258

	Referenssi – Cobas3	0,273
	Cobas1 – Cobas2	0,925
	Cobas2 – Cobas3	0,970
	Cobas3 – Cobas1	0,955
<b>LDL</b>	Referenssi – Cobas1	0,713
	Referenssi – Cobas2	0,646
	Referenssi – Cobas3	0,611
	Cobas1 – Cobas2	0,927
	Cobas2 – Cobas3	0,961
	Cobas3 – Cobas1	0,888
<b>TRIGLY</b>	Referenssi – Cobas1	0,919
	Referenssi – Cobas2	0,990
	Referenssi – Cobas3	0,968
	Cobas1 – Cobas2	0,907
	Cobas2 – Cobas3	0,978
	Cobas3 – Cobas1	0,886

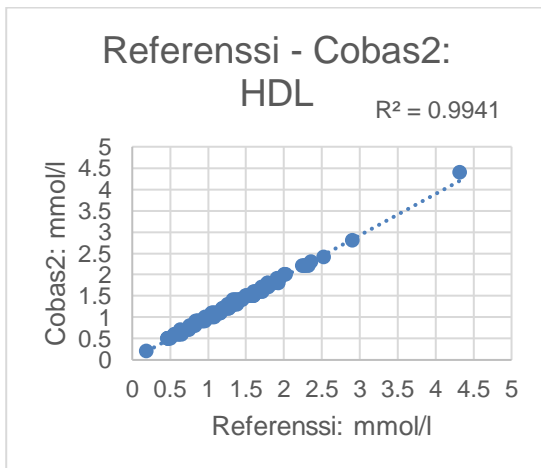
Kuvio 1. Referenssi - Cobas1 HDL



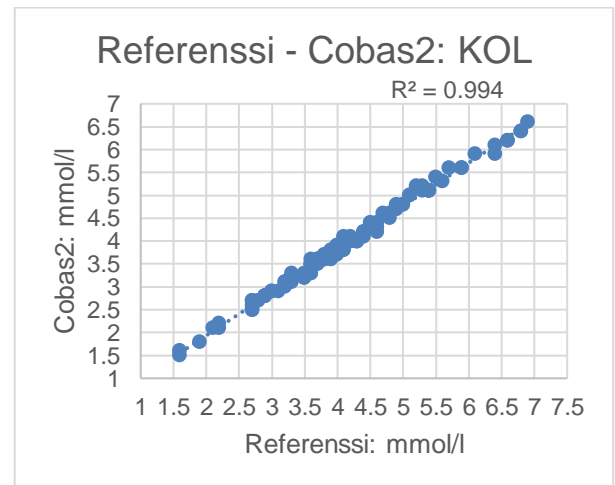
Kuvio 4. Referenssi - Cobas1 KOL



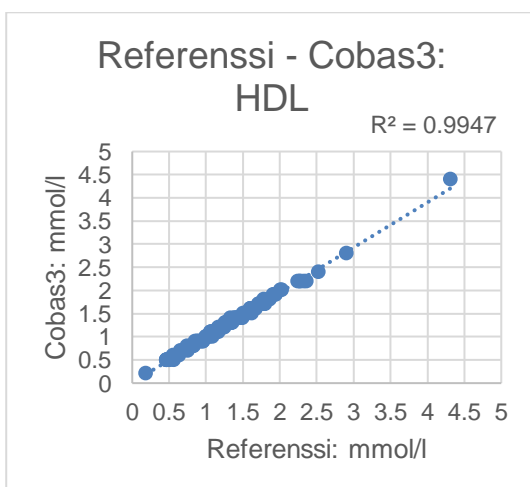
Kuvio 2. Referenssi - Cobas2 HDL



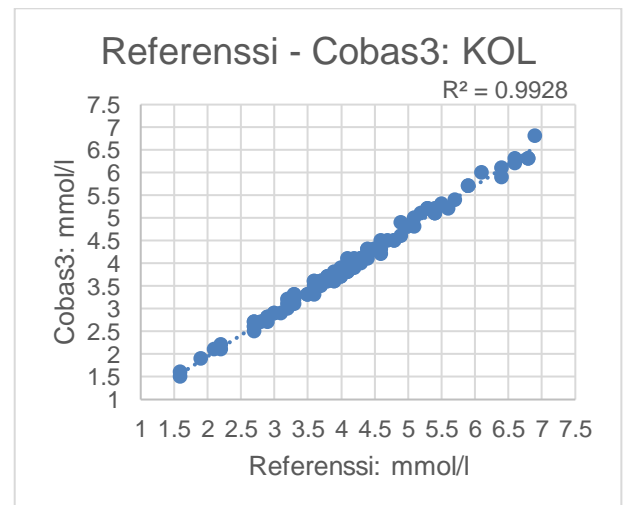
Kuvio 5. Referenssi - Cobas2 KOL



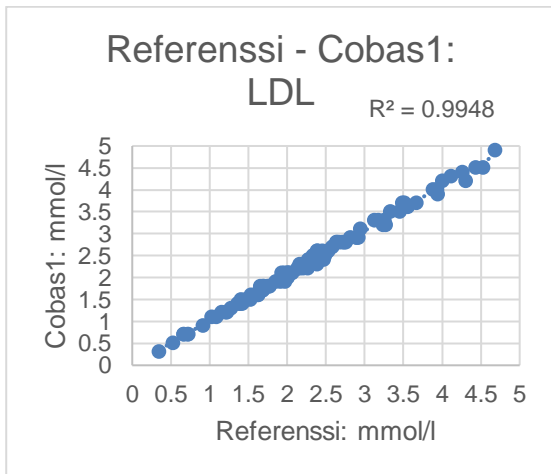
Kuvio 3. Referenssi - Cobas3 HDL



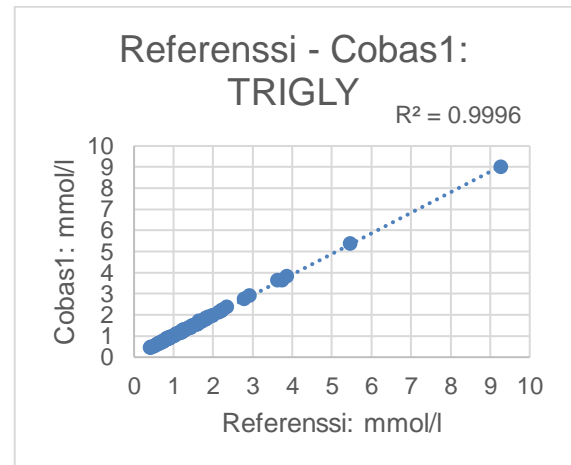
Kuvio 6. Referenssi - Cobas3 KOL



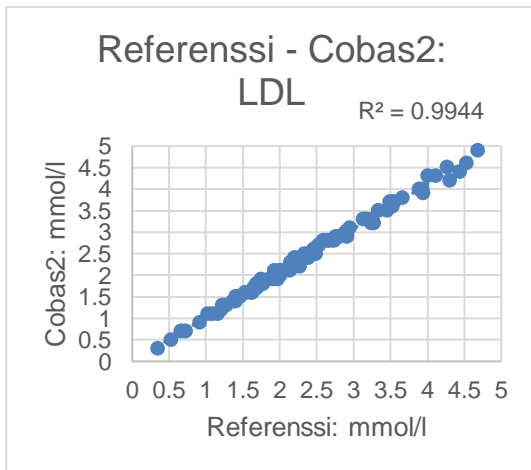
Kuvio 7. Referenssi - Cobas1 LDL



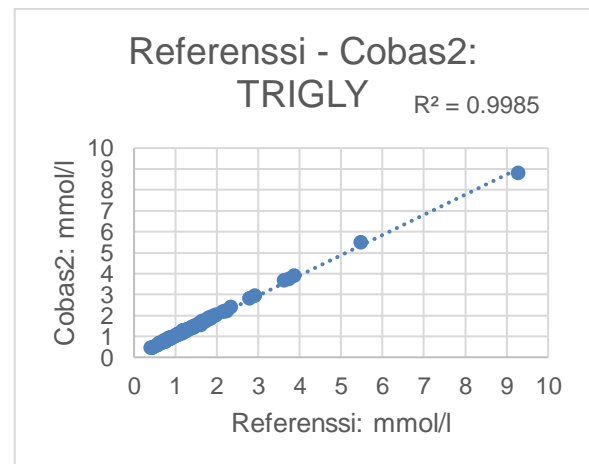
Kuvio 10. Referenssi - Cobas1 Trigly



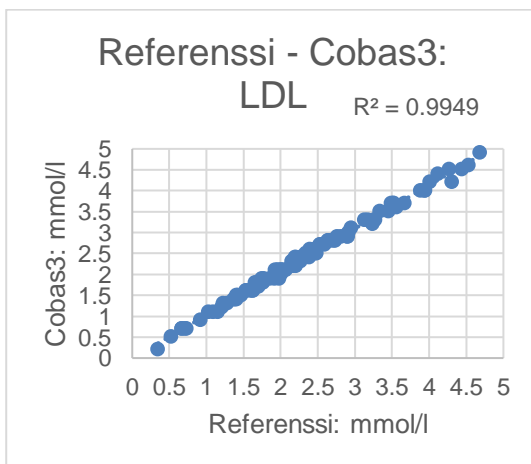
Kuvio 8. Referenssi - Cobas2 LDL



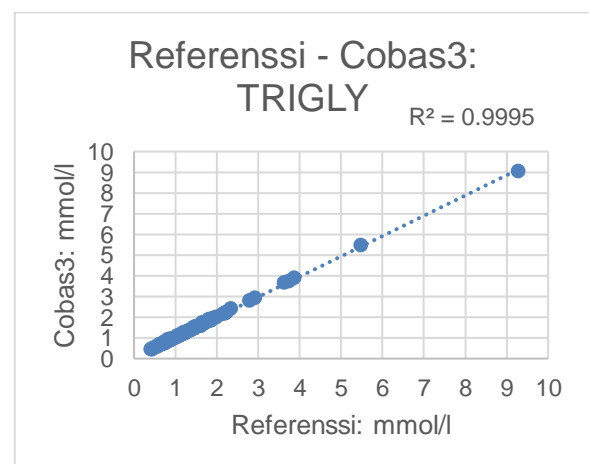
Kuvio 11. Referenssi - Cobas2 Trigly



Kuvio 9. Referenssi - Cobas3 LDL



Kuvio 12. Referenssi - Cobas3 Trigly



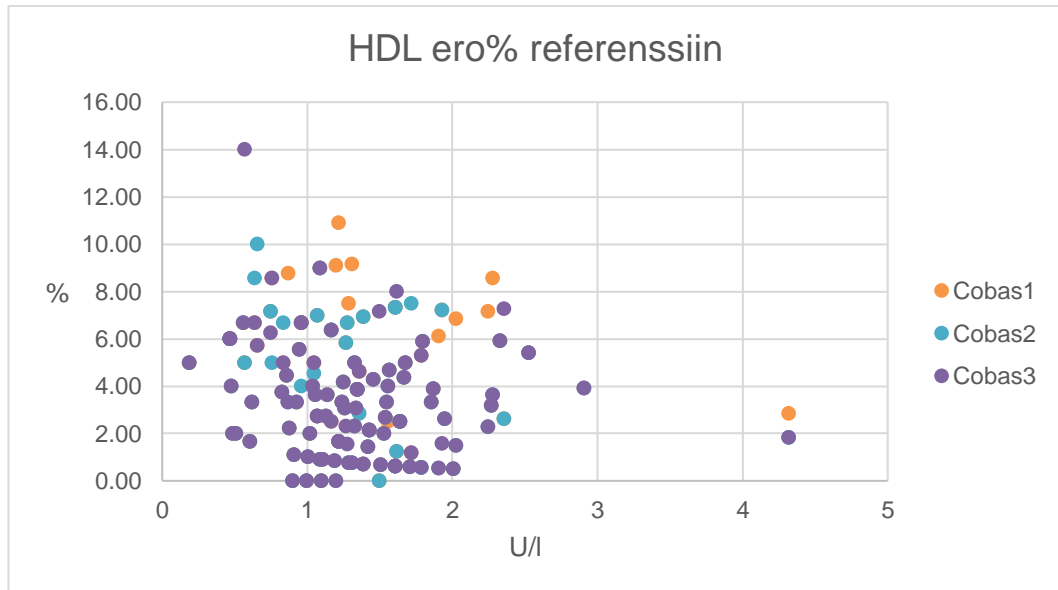


Labqualityn tavoitevälit näkyvät taulukossa 9. Lisäksi erotusprosenttikuvaajat ovat näkyvissä kuvioissa 13-16. Labqualityn ulkoiselle laaduntarkkailulle asettamiin tavoiteväleihin pääsevät kaikki analysaattorit triglyseridien osalta. HDL-kolesterolin osalta tavoiteväleissä on 99-100% tuloksista. LDL-kolesterolilla jokaisen analysaattorin tuloksista 99% on Labqualityn tavoitevälissä. Kokonaiskolesterolin osalta rajoissa olevien tulosten prosentuaalinen määrä on huomattavasti matalampi ja vain 55-59% tuloksista on Labqualityn tavoiteväleissä. Taulukot 13-16 havainnollistavat näitä tulosten prosentuaalisia eroja referenssilaitteen tuloksiin verrattuna. Esimerkki tulkinnasta: Taulukosta 13. voidaan tehdä havainto, että suurin osa prosentuaalisista eroista referenssiin verrattuna jää alle 8%, jolloin Labqualityn tavoiteväliin +/-10% päästään pääsääntöisesti, vain muutama tulos on hieman tavoitteen yli. Voidaan myös havaita, että erotusprosentit referenssiin verrattuna ovat kaikilla Cobas c 311 -analysaattoreilla keskenään linjassa.

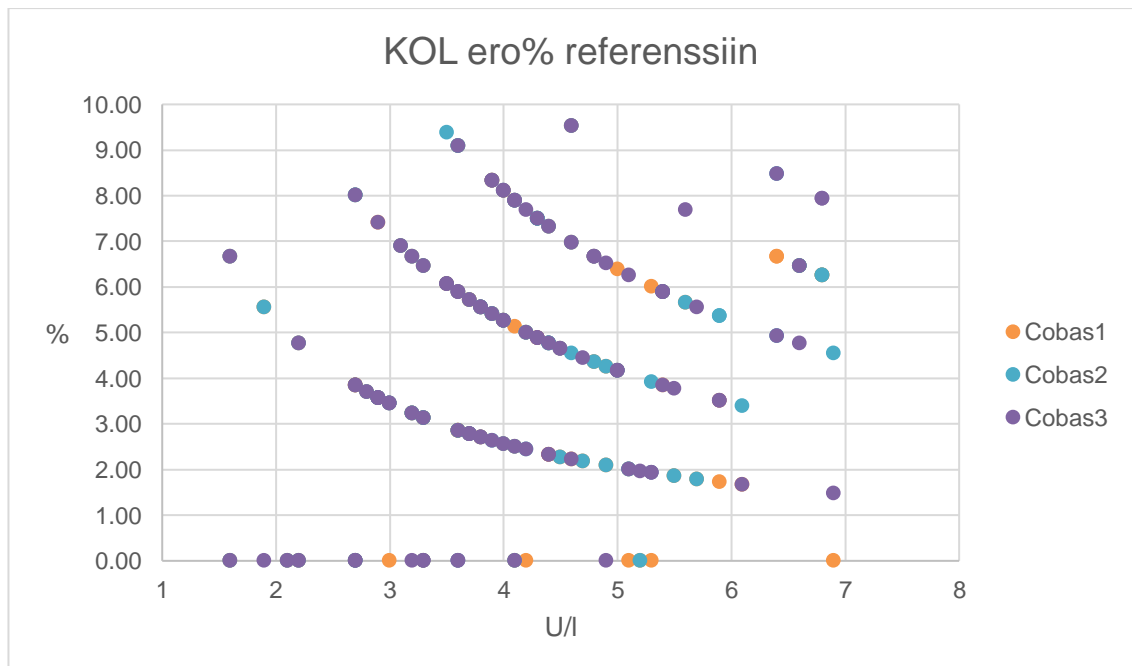
Taulukko 9. Labqualityn tavoitevälit ulkoiselle laaduntarkkailulle.

Tutkimus	Tavoiteväli
HDL mmol/L	±10%
Kol mmol/L	±5%
LDL mmol/L	±10%
Trigly mmol/L	±15%

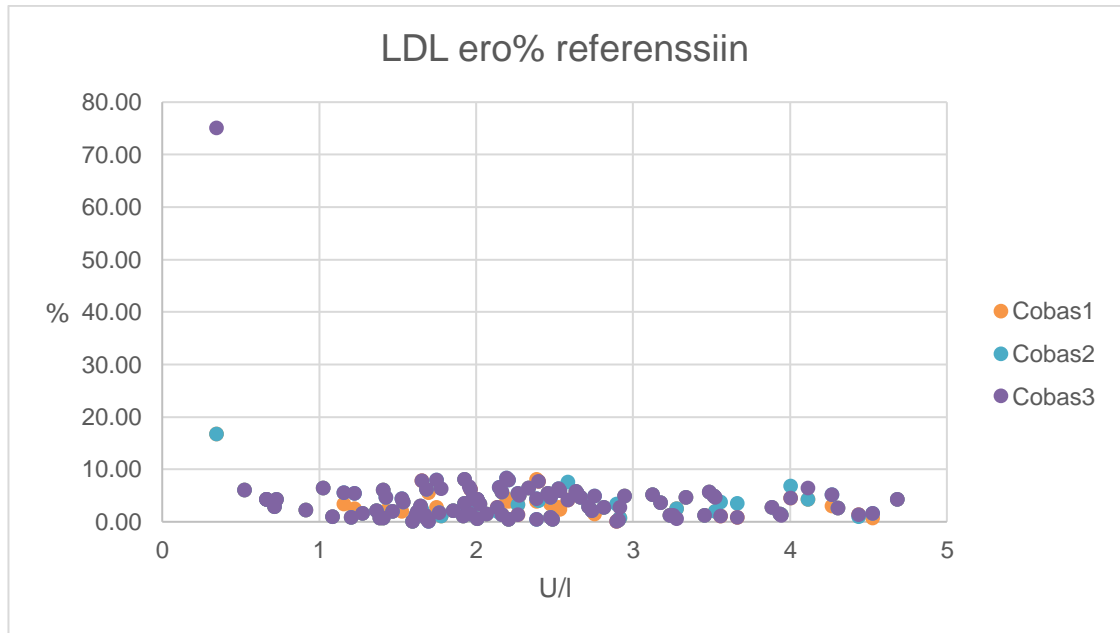
Kuvio 13. HDL ero% referenssiin



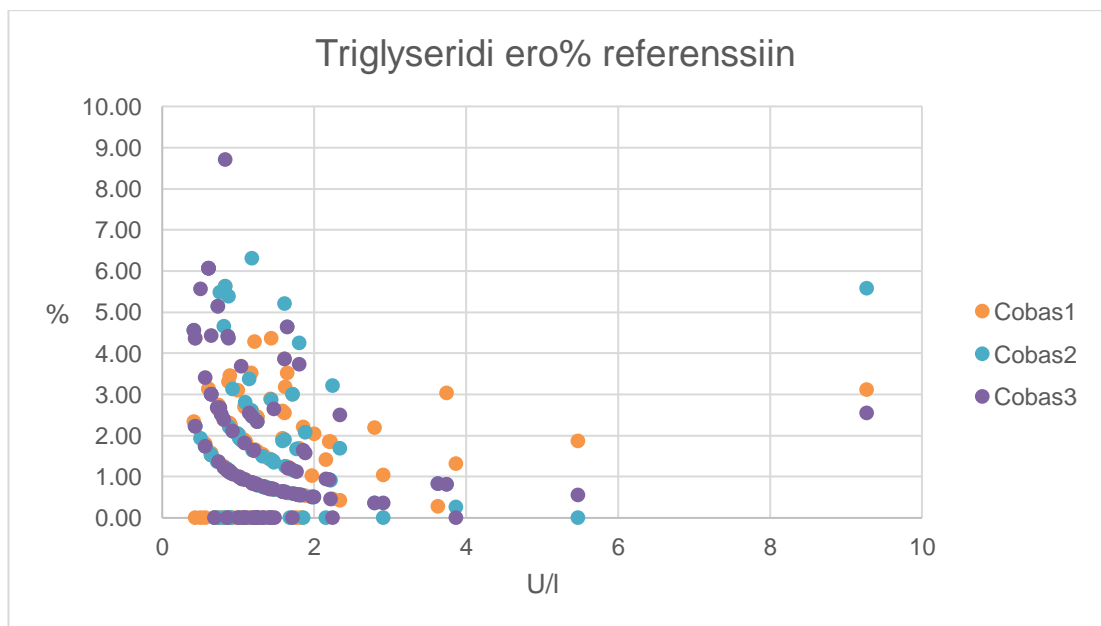
Kuvio 14. KOL ero% referenssiin



Kuvio 15. LDL ero% referenssiin



Kuvio 16. Triglyseridi, ero% referenssiin



## 6 POHDINTAA

Sarjan sisäisen toistettavuuden tulokset olivat laitevalmistajan tuloksiin ja tavoitearvoihin nähden erinomaiset. Joidenkin näytteiden ja analyyttien kohdalla ei ollut lainkaan variaatiota. Sarjojen välisen toistettavuuden tulokset ovat myös toistettavuudeltaan tavoitteissa, sekä yhteneväisiä laitevalmistajan tuloksiin, mutta lievää nousua verrattuna sarjojen sisäisiin toistettavuuksiin oli havaittavissa. Triglyseridin hajonta on sarjojen välisessä toistettavuudessa selkeästi suurempaa näytepoolin osalta. Tämän syyksi arvioitiin näytepoolin eli näytemateriaalin huonoa laatua, sillä vastaavaa variaation nousua ei voitu havaita muiden näytteiden tai analyyttien osalta. Kontrollimateriaalien variaatio oli tavoitteisiin nähden paljon pienempää, eli toistettavuus oli oletettua parempaa.

Sarjojen välisissä ja sisäisissä toistettavuustestauksissa rinnakkaisajoja on tehty melko vähän ( $n=10$ ,  $n=5$ ), toistoja lisäämällä olisi voitu päästä vielä parempiin variaatioihin, sillä yksittäiset poikkeavat tulokset tai pitoisuudet pienessä havaintoaineistossa vääristävät tulosta. Jos voidaan olettaa tutkittavan muuttujan jakautuvan normaalisti ja vaihtelun olevan vähäistä, niin muutaman kymmenen havaintoarvon otanta voi jo antaa riittävän tarkan keskiarvon perusjoukolle. (Taanila 2013.) Laitevalmistaja onkin käyttänyt sarjojen sisäisen ja välisen toistettavuuden testauksissa potilasnäytteillä toistojen lukumäärää 21. Tämä voisi myös olla yksi syy siihen, että laitevalmistajan saamat variaatiot potilasnäytteillä ovat verifiointissa saatuja näytepoolin variaatiota osittain parempia.

Potilasnäytevertailussa havaittiin analysaattorien välinen korrelaatio ja korrelaatio referenssiin erinomaiseksi, korrelaatiokerroin kaikilla  $>0,99$ . T-testillä testattiin vielä hypoteesia, jonka mukaan analysaattorien välillä ei ole tilastollisesti merkittäviä eroja tulostasoissa. Tämä nollahypoteesi jäi voimaan kaikilla tutkimuksilla, P-arvon ollessa kaikilla yli 0,001. Myös tulosten prosentuaalisia eroja vertailemalla todettiin analysaattorien tulosten välisen yhteyden olevan hyvä, sillä erot tuloksissa olivat hyvin saman suuntaisia. Labqualityn asettamiin tavoitteisiin päästiin hyvin, HDL-kolesterolin, LDL-kolesterolin ja Triglyseridien osalta yli 99% tuloksista on tavoitteissa. Kokonaiskolesterolin tuloksista tavoitteisiin ylsi vain 55-59% tuloksista. Kokonaiskolesterolin osalta tuloksissa oli siis eniten eroja referenssiin verrattuna, tämä näkyi myös pienempänä P-arvona.

Verifiointin tuloksena analysaattorit hyväksyttiin niille tarkoitettuun käyttöön sopiviksi ja niiden tulostason ja suorituskyvyn katsottiin olevan yhtenevä laitevalmistajan määrittämiin sekä referenssilaitteeseen. Opinnäytetyön tarkoitus oli suorittaa analysaattorien verifiointi ja tavoite määrittää analysaattorien sopivuus aiottuun käyttötarkoitukseen, sekä tulosten riittävän luotettavuuden toteaminen. Tarkoitus ja tavoitteet toteutuivat. Myös tutkimustehtävät suoritettiin, kuten pitikin. Lipiditutkimukset voitiin ottaa käyttöön analysaattoreilla. Koko verifiointin tulokset, mukaan lukien toisessa opinnäytetyössä käsiteltävät kalium, natrium, glukoosi, ALAT ja kreatiniini, ovat kuvattuna verifiointiraportissa, jossa tulokset ovat näkyvissä yksityiskohtaisemmin. Verifiointiraportti on kemistin kanssa yhteistyössä tehty ja hyväksymä.

Verifiointin eteneminen suunniteltiin huolellisesti ja tarkasti ja laaditussa suunnitelmassa pysyttiin pääasiassa hyvin. Ennen verifiointia tehtiin tarvittavat valmistelut ja materiaalihankinnat. Valmisteluissa noudatettiin erityistä huolellisuutta, sillä valmistelun virheet olisivat voineet vaikuttaa verifiointiin erittäin kohtalokkaasti. Valmisteluvaiheessa tehtiin tarvittavat kontrollien liuotukset sekä näytepoolin valmistaminen. Kaikki verifiointiin osallistuvat tutkijat kävivät laitevalmistajan tarjoaman Cobas c311 -analysaattorin pääkäyttäjäkoulutuksen ja perehtyivät hyvin analysaattorin käyttöön. Verifiointin etenemisestä pidettiin päiväkirjaa kaikkina analyysipäivinä suunnitelman mukaisesti. Kalibroinnit suoritettiin tarpeen vaatiessa ja päivittäin ennen analyysieja analysoitiin päivittäiskontrolli, joka oli rajoissa koko verifiointin ajan. Jostain syystä Cobas2 -analysaattorilla oli jäänyt 5 toistoa Abtrol -kontrollilla tekemättä, eikä tätä huomattu vielä verifiointivaiheessa. Tällä ei havaittu kuitenkaan olleen merkitystä lopputulokseen, sillä toistettavuuden arvioinnissa hajonta oli silti tavoitteessa. Olisi kuitenkin ollut syytä tarkastella tuloksia tarkemmin jo näytteiden analysointivaiheessa, jotta riskiä tällaisiin virheisiin ja niiden huomaamatta jäämiseen olisi pienennetty.

Tilastollisen analyysin tekeminen vaati myös erityistä huolellisuutta, jotta virheitä välttyttiin. Virheen mahdollisuus on suuri, kun saatua numeerista dataa käsitellään manuaalisesti. Tilastollisen analyysin oikein tulkitseminen vaatii tilastotieteen menetelmiin perehtymistä. Tässä opinnäytetyössä perehdyttiin Excel ja SPSS -tilasto-ohjelmien käyttöön, sekä tilastollisiin menetelmiin runsaan lähdemateriaalin ja perehdytysmateriaalien avulla.

Tässä opinnäytetyössä perehdyttiin lipiditutkimuksiin, sekä niiden nykytilaan ja käyttöön. Tiedonhaku perustettiin aikaisempaan julkaistuun tieteelliseen tietoon ja lähteiksi valittiin kaikista tuoreimpia lähteitä mahdollisuuksien mukaan. Lähteiden valitsemisessa

noudatettiin myös lähdekriittisyyttä. Lähteitä on käytetty asianmukaisesti merkitsemällä lähdeviitteet ja välttämällä plagiointia. Tutkimussuunnitelma laadittiin huolellisesti ennen opinnäytetyön tekemistä ja siinä pysyttiin.

Jatkotutkimusaiheena tälle opinnäytetyölle voitaisiin ehdottaa apolipoproteiinitutkimusten verifiointia, jos TUASLab haluaa ottaa nämä määritykset jossain vaiheessa käyttöön. Apolipoproteiinien merkitys perinteisten lipiditutkimusten rinnalla korostui useammassa lähteessä. Myös paaston merkityksestä puhuttiin useissa lähteissä, mutta todettiin lisänäytön tarve, joten myös paastoa voisi käsitellä tulevaisuudessa ja pohtia siitä luopumista.

## LÄHTEET

- Aro, A. 2015. Kolesteroli. 100 Kysymystä ravinnosta. Kustannus Oy Duodecim. Viitattu 12.02.2018 [http://www.terveyskirjasto.fi/terveyskirjasto/tk.koti?p\\_artikkeli=skr00048](http://www.terveyskirjasto.fi/terveyskirjasto/tk.koti?p_artikkeli=skr00048)
- Eskelinen, S. 2016. HDL-kolesteroli eli "hyvä kolesteroli" (fP-Kol-HDL). Senkka ja 100 muuta tutkimusta. Kustannus Oy Duodecim. (viitattu 12.02.2018) [http://www.terveyskirjasto.fi/terveyskirjasto/tk.koti?p\\_artikkeli=snk03083](http://www.terveyskirjasto.fi/terveyskirjasto/tk.koti?p_artikkeli=snk03083)
- Eskelinen, S. 2016. LDL-kolesteroli eli "paha kolesteroli" (fP-Kol-LDL). Senkka ja 100 muuta tutkimusta. Kustannus Oy Duodecim. (viitattu 12.02.2018) [http://www.terveyskirjasto.fi/terveyskirjasto/tk.koti?p\\_artikkeli=snk03082](http://www.terveyskirjasto.fi/terveyskirjasto/tk.koti?p_artikkeli=snk03082)
- Farukhi, Z. & Mora, S. 2016. Re-assessing the role of non-fasting lipids; a change in perspective. *Annals of Translational Medicine*. (viitattu 12.10.2018) <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5124629/pdf/atm-04-21-431.pdf>
- Halonen, T.; teoksessa (toim.) Penttilä, I. 2004. *Kliiniset laboratoriotutkimukset*. 1. painos. Helsinki: WSOY
- Hirsjärvi, S.; Remes, P. & Sajavaara, P. 2005. *Tutki ja kirjoita*. 11. painos. Jyväskylä: Gummerus Kirjapaino Oy.
- Hortin G. L.; teoksessa; Burtis C. A. & Brunis D. E. 2015. *Tietz fundamentals of clinical chemistry and molecular diagnostics*. 7th edition. St. Louis, Missouri, Elsevier/Saunders.
- Jousilahti, P.; Jula, A.; Laatikainen, T.; Niiranen, T.; Sundvall, J. & Vartiainen, E.; julkaisussa; Borodulin, K.; Koponen, P.; Koskinen, S.; Lundqvist, A. & Sääksjärvi, K. 2018. *Terveys, toimintakyky ja hyvinvointi Suomessa - FinTerveys 2017 -tutkimus*. Helsinki: Terveiden ja hyvinvoinnin laitos. (viitattu 11.10.2018) [http://www.julkari.fi/bitstream/handle/10024/136223/THL\\_RAP\\_2018\\_04\\_Finterveys\\_verkko.pdf?sequence=6&isAllowed=y](http://www.julkari.fi/bitstream/handle/10024/136223/THL_RAP_2018_04_Finterveys_verkko.pdf?sequence=6&isAllowed=y)
- Ko, K.; Kwon, M.; Woo, H. & Park H. 2015. Evaluation of Analytical Performance of the Cobas 8000 Analyzer Series Module e602. *Journal of Laboratory Medicine and Quality Assurance*.
- Kovanen, P.; Pentikäinen, M. & Viikari, J.; teoksessa; Välimäki, M.; Sane, T. & Dunkel, L. 2009. *Endokrinologia*. 2. painos. Helsinki: Kustannus Oy Duodecim.
- Kuula, A. 2011. *Tutkimusetiikka, aineistojen hankinta, käyttö ja säilytys*. 2. uusittu painos. Tampere: Vastapaino.
- Käypä hoito -suositus. 2017. *Dyslipidemiat*. Suomalaisen Lääkäriseuran Duodecimin ja Suomen Sisätautilääkärien Yhdistys ry:n asettama työryhmä. Helsinki: Suomalainen Lääkäriseura Duodecim. (viitattu 03.02.2018) [www.kaypahoito.fi](http://www.kaypahoito.fi)
- Käypä hoito -suositus. 2017. *Dyslipidemiat*. Suomalaisen Lääkäriseuran Duodecimin ja Suomen Sisätautilääkärien Yhdistys ry:n asettama työryhmä. Helsinki: Suomalainen Lääkäriseura Duodecim. (viitattu 11.10.2018) [www.kaypahoito.fi](http://www.kaypahoito.fi)
- Käypä hoito -suositus. 2017. *Dyslipidemiat*. Suomalaisen Lääkäriseuran Duodecimin ja Suomen Sisätautilääkärien Yhdistys ry:n asettama työryhmä. Helsinki: Suomalainen Lääkäriseura Duodecim. (viitattu 20.10.2018) [www.kaypahoito.fi](http://www.kaypahoito.fi)
- Ledue, T. & Collins, M. 2011. Development and Validation of 14 Human Serum Protein Assays on the Roche cobas® c501. *Journal of Clinical Laboratory Analysis*.

Lehtimäki, T.; teoksessa; (toim.) Niemelä, O. & Pulkki, K. 2014. Laboratoriolääketiede, Kliininen kemia ja hematologia. 3.-4 painos. Helsinki: Kandidaattikustannus Oy.

Leiviskä, J.; Sundvall, J.; Jauhiainen, M. & Laatikainen, T. 2014. Onko määräyksestä enemmän hyötyä dyslipidemioiden diagnostiikassa kuin kolesterolimäärityksistä? Apolipoproteiinit A-I ja B. Suomalainen Lääkäriseura Duodecim. (viitattu 11.10.2018) <https://www.duodecimlehti.fi/api/pdf/duo11960>

Mustajoki, P. 2018. Kolesteroli. Lääkärikirja Duodecim. (viitattu 03.03.2018) [http://www.terveyskirjasto.fi/terveyskirjasto/tk.koti?p\\_artikkeli=dlk00035](http://www.terveyskirjasto.fi/terveyskirjasto/tk.koti?p_artikkeli=dlk00035)

Mustajoki P. 2016. Veren triglyseridit (rasvat). Lääkärikirja Duodecim. (viitattu 12.02.2018) [http://www.terveyskirjasto.fi/terveyskirjasto/tk.koti?p\\_artikkeli=dlk00820](http://www.terveyskirjasto.fi/terveyskirjasto/tk.koti?p_artikkeli=dlk00820)

Nordestgaard, B. G.; Langsted, A.; Mora, S.; Kolovou, G.; Baum, H.; Bruckert, E.; Watts G. F.; Sypniewska, G.; Wiklund, O.; Borén, J.; Chapman M. J.; Cobbaert, C.; Descamps, O. S.; von Eckardstein, A.; Kamstrup, P. R.; Pulkki, K.; Kronenberg, F.; Remaley A. T.; Rifai, N.; Ros, E. & Langlois, M. 2016. Fasting is not routinely required for determination of a lipid profile: clinical and laboratory implications including flagging at desirable concentration cut-points—a joint consensus statement from the European Atherosclerosis Society and European Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine. European Heart Journal. (viitattu 13.10.2018) <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4929379/pdf/ehw152.pdf>

Nummenmaa, L.; Holopainen, M. & Pulkkinen, P. 2018. Tilastollisten menetelmien perusteet.1.-4. painos. Helsinki: Sanoma Pro Oy.

Penttilä I. 2004. Kliiniset Laboratoriotutkimukset. 1. painos. Helsinki: WSOY

Penttilä I.; Eklund S. & Väisänen S. 2017. Lipidimääritysten laatu ja käytettävyys Labquality Oy:n 23 vuoden laadunarviointikierrosten pohjalta. Kliin Lab.

Remaley, A. T.; Rifai, N. & Warnick, R.; teoksessa; Burtis C. A. & Bruns D. E. 2015. Tietz fundamentals of clinical chemistry and molecular diagnostics. 7th edition. St. Louis, Missouri, Elsevier/Saunders.

Roche. 2009. Investor Update. (viitattu 12.02.2018) <https://www.roche.com/investors/updates/inv-update-2009-07-21.htm>

Roche. 2016. CHOL2, Cholesterol Gen ver. 2 reagent insert. Versio 12.0 Roche Diagnostics GmbH. (viitattu 10.11.2018) [https://pim-eservices.roche.com/eLD\\_SF/qb/en/Documents/GetDocument?documentId=266d9198-e2ba-e611-b5a9-00215a9b3428](https://pim-eservices.roche.com/eLD_SF/qb/en/Documents/GetDocument?documentId=266d9198-e2ba-e611-b5a9-00215a9b3428)

Roche. 2017. HDLC4 HDL-Cholesterol Gen ver. 2 reagent insert. Versio 2.0. Roche Diagnostics GmbH. (viitattu 10.11.2018) [https://pim-eservices.roche.com/eLD\\_SF/qb/en/Documents/GetDocument?documentId=8a0158c8-906d-e711-4484-00215a9b3428](https://pim-eservices.roche.com/eLD_SF/qb/en/Documents/GetDocument?documentId=8a0158c8-906d-e711-4484-00215a9b3428)

Roche. 2017. LDLC3, LDL-Cholesterol Gen ver. 3 reagent insert. Versio 3.0. Roche Diagnostics GmbH. (viitattu 10.11.2018) [https://pim-eservices.roche.com/eLD\\_SF/pi/en/Documents/GetDocument?documentId=83eb3676-735d-e711-4484-00215a9b3428](https://pim-eservices.roche.com/eLD_SF/pi/en/Documents/GetDocument?documentId=83eb3676-735d-e711-4484-00215a9b3428)

Roche. 2017. TRIGL, Triglycerides, reagent insert. Versio 12.0. Roche Diagnostics GmbH. (viitattu 10.11.2018) [https://pim-eservices.roche.com/eLD\\_SF/pi/en/Documents/GetDocument?documentId=1aabd09a-50c4-e711-b48d-00215a9b3428](https://pim-eservices.roche.com/eLD_SF/pi/en/Documents/GetDocument?documentId=1aabd09a-50c4-e711-b48d-00215a9b3428)

SFS-EN ISO 15189:2013, 5.5.1.2, SFS Online (viitattu 08.02.2018)



SFS-EN ISO 15189:2013 3.27, SFS Online (viitattu 12.02.2018)

Taanila, A. 2013 Akin menetelmäblogi, Kirjoituksia Aki Taanilan kvantitatiivisesta menetelmäpajasta. Otokoko. (viitattu 17.11.2018)  
<https://tilastoapu.wordpress.com/2012/03/01/otokoko/>

Taanila, A. 2016. Akin menetelmäblogi, Kirjoituksia Aki Taanilan kvantitatiivisesta menetelmäpajasta. SPSS: Kahden riippumattoman otoksen vertailu. (viitattu 19.11.2018)  
<https://tilastoapu.wordpress.com/tag/kahden-riippumattoman-otoksen-t-testi/>

Theodorsson E. 2017. Validation and verification in clinical chemistry. Klinisk Biokemi i Norden. <http://www.nfkk.org/klinisk-biokemi-i-norden/arkiv/43-klinisk-biokemi-i-norden-2017/187-klinisk-biokemi-i-norden-nr-1-vol-29-2017>

Tykslab, ohjekirja. 2017. (viitattu 20.10.2018). <http://webohjekirja.mylabservices.fi/TYKS/>

Tykslab, ohjekirja. 2018. (viitattu 18.11.2018). <http://webohjekirja.mylabservices.fi/TYKS/>

Valli, R. 2015. Johdatus tilastolliseen tutkimukseen. 2. uudistettu painos. Jyväskylä: PS-kustannus.

Vanhanen, H. & Strandberg, T. 2017. Dyslipidemioiden luokittelu ja selvittely. s. 1008-1009. Teoksessa; Jousimaa, J.; Alenius, H.; Atula, S.; Berghem, N.; Kattainen, A.; Kunnamo, I.; Peltari, H. & Teikari, M. (toim.) Lääkärin Käsikirja. 12. uudistettu painos. Helsinki: Kustannus Oy Duodecim.

Vilka, H. 2015. Tutki ja kehitä. 4. uudistettu painos. Jyväskylä: PS-kustannus.

## Verifiointisuunnitelma

Kohde

Cobas c311 kliinisen kemian analysaattori: 3kpl

Tavoitteet

Tarkoitus osoittaa analysaattoreiden suorituskyvyn vastaavan tutkimusmenetelmän ilmoitettua suorituskykyä. Analysaattoreiden suorituskykyä täsmävyuden osalta verrataan referenssinä toimivaan Tykslabin Cobas 8000-analysaattorilinjastoon. Toistettavuuden osalta suorituskykyä verrataan testaamalla sarjojen sisäistä toistettavuutta. Sarjojen välistä toistettavuutta testataan ajamalla näytteitä 10 päivän ajan. Saatuja tuloksia analysoidaan tilastollisesti. Näytteiden ajopäivistä kirjataan päivittäistä työpäiväkirjaa ja käytettyjen reagenssien, kontrollien ja kalibraattoreiden yksilöivät tuotetiedot taulukoidaan.

- Toistettavuuden tavoitevälit: Labquality
- Täsmävyuden raja-arvot: verrataan valmistajan omassa suorituskykytesteissä saatuihin arvoihin

Saatujen tulosten tilastollinen tarkastelu:

Täsmävyys:

- Vertailu referenssiin. Lasketaan ero yksiköissä ja ero prosentteina.
- Regressiosuora, korrelaatiokerroin
- Visualisointi hajontakuviolla

Toistettavuus:

- Keskiarvo, keskihajonta, minimi, maksimi, vaihteluväli, variaatiokerroin.
- Sarjojen välinen ero ja ero prosentteina.
- Regressiosuora, lasketaan korrelaatiokerroin ( $\pm 1$  lineaarinen riippuvuus)
- Visualisointi hajontakuviolla

## Tutkimusparametrit

- Kalium (K), Labquality tavoiteväli  $\pm 4\%$
- Natrium (Na), Labquality tavoiteväli  $\pm 2\%$
- Glukoosi (Gluk), Labquality tavoiteväli  $\pm 6\%$
- Alaniiniamitransferaasi (ALAT), Labquality tavoiteväli  $\pm 12\%$
- Kreatiniini (Krea), Labquality tavoiteväli  $\pm 8\%$
- Kokonais kolesteroli (Kol), Labquality tavoiteväli  $\pm 5\%$
- LDL-kolesteroli (LDL), Labquality tavoiteväli  $\pm 10\%$
- HDL-kolesteroli (HDL), Labquality tavoiteväli  $\pm 10\%$
- Triglyseridi (Trigly), Labquality tavoiteväli  $\pm 15\%$

## Raaka-aineet ja niiden toimittaja

- Liitteenä ajopäiväkirjan yhteydessä taulukko käytetyistä raaka-aineista
- Roche Diagnostics Oy: kalibraattorit, reagenssit, analysaattorin päivittäistarvikkeet sekä valmistajan kontrolli
- Thermo Fischer Scientific Oy: Nortrol, Abtrol, Lipotrol

## Vertailulaite/menetelmä

- Tykslab Cobas c502- tai c702-analysaattorit
  - K+Na: ioniselektiivinen elektrodi
  - Gluk, ALAT: fotometria
  - Kol, LDL, HDL, Trigly: entsyymaattinen fotometria

## Toistettavuus

- Sarjan sisäinen toistettavuus 4 näytettä
- Rinnakkaisajomäärä 10
- Sarjojen välinen toistettavuus 4 näytettä 10 päivän ajan
  - laitevalmistajan oma kontrolli: PreciControl ClinChem 1
  - poikkeavan tason kontrolli: Abtrol
  - normaalitason kontrolli: Nortrol ja Lipotrol
  - omista näytteistä tehty pooli

## Tarkkuus/täsmävyys

- Potilasnäytevertailu 50-100 näytettä
- Näytteet ajetaan neljänä päivänä 12-25 näytettä per päivä

## Mittausalueen ja mittausepävarmuuden määrittäminen

- Valmistajan antamat arvot

## Verifiointin vastuuhenkilöt

- Kemisti
- Ohjaava opettaja
- Käytännön suoritus: kolme opiskelijaa

## Aikataulu

## Ennen verifiointia:

- Analysaattoriin perehtyminen, vko 20 toukokuu 2018
- Tilattava vaadittavat tarvikkeet, reagenssit, kontrollit, analysaattorin yleistarvikkeet
- Tehtävien tutkimusten aktivointi ja lisääminen analysaattoreille (Roche)
- Toistettavuusnäytteiden sekä muiden tarvittavien liuosten jakaminen ja pakastaminen
- Tykslabin vertailunäytteiden tilaus
- Poikkeamiin reagoiminen, sovitaan työnjako, selvitetään tilan kulkuoikeudet

## Näytteiden ajaminen, vko 22 ja vko 23 2018:

Tulosten kirjaus pitää sisällään analyysitulosten tulostuksen paperille sekä tallentamisen muistitikulle. Ensimmäisenä näytteiden ajopäivänä ovat kaikki paikalla, muut päivät sovitaan tarpeen mukaan. Ajopäivistä täytetään päivittäin konekohtaisesti ajopäiväkirjaa (Liite 1). Sarjojen sisäisen ja sarjojen välisen toistettavuuden näytteet pakastetaan  $-80^{\circ}\text{C}$ . Ajopäivinä näytteet sulatetaan ja sekoitetaan asianmukaisesti, näytepooli tulee sentrifugoida.

## 28.5.2018: ajon suorittaja: Kaikki

- Oman näytepoolin teko, jako ja pakastus
- Analysaattoreiden aamuhuolto, kalibrointi ja kontrollointi
- Työpäiväkirjan täyttäminen
- Näytteiden sulattaminen ja ajo
  - Sarjojen välinen toistettavuus, sarjojen sisäinen toistettavuus
- Tulosten kirjaus ja päivän lopuksi tehtävät huoltotoimet
- Näytteiden pakastus

## 29.5.2018

- Näytteiden nouto potilasnäytevertailuun Tykslabista (12-25)
- Aamuhuolto
- Analysaattoreiden aamuhuolto, ISE:n kalibrointi ja kaikkien tutkimusten kontrollointi
- Työpäiväkirjan täyttäminen
- Näytteiden sulattaminen ja ajo
  - Potilasnäytevertailu, sarjojen välinen toistettavuus
  - Kontrollien ajo puolessa välissä
- Tulosten kirjaus ja päivän lopuksi tehtävät huoltotoimet
- Näytteiden pakastus

30.5.2018

- Näytteiden nouto potilasnäytevertailuun Tykslabista (12-25)
- Analysaattoreiden aamuhuolto, ISE:n kalibrointi ja kaikkien tutkimusten kontrollointi
- Työpäiväkirjan täyttäminen
- Näytteiden sulattaminen ja ajo
  - Potilasnäytevertailu, sarjojen välinen toistettavuus
  - Kontrollien ajo puolessa välissä
- Tulosten kirjaus ja päivän lopuksi tehtävät huoltotoimet
- Näytteiden pakastus

31.5.2018

- Näytteiden nouto potilasnäytevertailuun Tykslabista (12-25)
- Analysaattoreiden aamuhuolto, ISE:n kalibrointi ja kaikkien tutkimusten kontrollointi
- Työpäiväkirjan täyttäminen
- Näytteiden sulattaminen ja ajo
  - Potilasnäytevertailu, sarjojen välinen toistettavuus
  - Kontrollien ajo puolessa välissä
- Tulosten kirjaus ja päivän lopuksi tehtävät huoltotoimet
- Näytteiden pakastus

1.6.2018

- Näytteiden nouto potilasnäytevertailuun Tykslabista (12-25)

- Analysaattoreiden aamuhuolto, ISE:n kalibrointi ja kaikkien tutkimusten kontrollointi
- Työpäiväkirjan täyttäminen
- Näytteiden sulattaminen ja ajo
  - Potilasnäytevertailu, sarjojen välinen toistettavuus
  - Kontrollien ajo puolella välissä
- Tulosten kirjaus ja viikkuhuolto
- Näytteiden pakastus

#### 2.6.2018

- Analysaattoreiden aamuhuolto, koko tutkimuspaneelin kalibrointi ja kontrollointi
- Työpäiväkirjan täyttäminen
- Näytteiden sulattaminen ja ajo
  - Sarjojen välinen toistettavuus
- Tulosten kirjaus ja päivän loppuun tehtävät huoltotoimet
- Näytteiden pakastus

#### 3.6.2018

- Analysaattoreiden aamuhuolto, ISE:n kalibrointi ja kaikkien tutkimusten kontrollointi
- Työpäiväkirjan täyttäminen
- Näytteiden sulattaminen ja ajo
- Sarjojen välinen toistettavuus
- Tulosten kirjaus ja päivän loppuun tehtävät huoltotoimet
- Näytteiden pakastus

#### 4.6.2018

- Analysaattoreiden aamuhuolto, ISE:n kalibrointi ja kaikkien tutkimusten kontrollointi
- Työpäiväkirjan täyttäminen
- Näytteiden sulattaminen ja ajo
  - Sarjojen välinen toistettavuus
- Tulosten kirjaus ja päivän loppuun tehtävät huoltotoimet
- Näytteiden pakastus

05.06.2018

- Analysaattoreiden aamuhuolto, ISE:n kalibrointi ja kaikkien tutkimusten kontrollointi
- Työpäiväkirjan täyttäminen
- Näytteiden sulattaminen ja ajo
  - Sarjojen välinen toistettavuus
- Tulosten kirjaus ja päivän loppuksi tehtävät huoltotoimet
- Näytteiden pakastus

06.06.2018

- Analysaattoreiden aamuhuolto, ISE:n kalibrointi ja kaikkien tutkimusten kontrollointi
- Työpäiväkirjan täyttäminen
- Näytteiden sulattaminen ja ajo
  - Sarjojen välinen toistettavuus
- Tulosten kirjaus ja viikoittain tehtävä huolto
- Näytteiden pakastus

Käytännön suorittamisen jälkeen:

- Tulosten tarkistus vko 23
- Näytteiden hävittäminen verifointiraportin valmistuttua
- Datan analysointi, verifointiraportti vko 24

# Työpäiväkirja

Päivämäärä: \_\_\_\_\_

Operaattori: \_\_\_\_\_

Kone: \_\_\_\_\_

Merkitse kalibraattori, vain jos tutkimus on kalibroitu. Kontrolliin merkitään OK, jos kontrolli rajoissa ja ei virheilmoituksia. Poikkeamat ja toimenpiteet kirjataan alle.

Analyytti	Kalibrointi	Kontrolli:	Kontrolli:	Kontrolli:
K				
Na				
Gluk				
ALAT				
Kol				
Kol-HDL				
Kol-LDL				
Trigly				

Poikkeamat: \_\_\_\_\_

---



---



---



---



---

Näyttemateriaalissa havaitut poikkeamat

Näytetunnus	Poikkeama	Toimenpiteet	Muuta huomioitavaa





<b>Tutkimus</b>	<b>Reagenssit</b>	<b>Kontrollit</b>	<b>Kalibraattorit</b>	<b>Muuta/poikkeama</b>
<b>K</b>				
<b>Na</b>				
<b>Gluk</b>				
<b>ALAT</b>				
<b>Krea</b>				
<b>Kol</b>				

KoI-HDL				
KoI-LDL				
Trigly				

## Raaka-aineet

Päivämäärä: \_\_\_\_\_

Kone: \_\_\_\_\_