



Katri Holappa

LAKTAATTIMÄÄRITYS KONELAB 20i -KLIINISEN KEMIAN ANALYSAATTORILLA

Testaus ja soveltuvuuden arviointi Oulun seudun ammattikorkeakoulun palvelulaboratorioon

LAKTAATTIMÄÄRITYS KONELAB 20i -KLIINISEN KEMIAN ANALYSAATTORILLA

Testaus ja soveltuvuuden arviointi Oulun seudun ammattikorkeakoulun palvelulaboratorioon

Katri Holappa
Opinnäytetyö
Syksy 2010
Bioanalytiikan koulutusohjelma
Oulun seudun ammattikorkeakoulu

TIIVISTELMÄ

Oulun seudun ammattikorkeakoulu
Bioanalytiikan koulutusohjelma

Tekijä: Katri Holappa

Opinnäytetyön nimi: Laktaattimääritys Konelab 20i -kliinisen kemian analysaattorilla – Testaus ja soveltuvuuden arviointi Oulun seudun ammattikorkeakoulun palvelulaboratorioon

Työn ohjaajat: Paula Reponen & Hanna-Maarit Aho

Työn valmistumislukukausi ja -vuosi: Syksy 2010

Sivumäärä: 41 + 10 liitesivua

TIIVISTELMÄ

Tämän kvantitatiivisen opinnäytetyön tarkoituksena oli testata laktaattimääritystä Konelab 20i -kliinisen kemian analysaattorilla ja arvioida sen soveltuvuutta Oulun seudun ammattikorkeakoulun palvelulaboratorion käyttöön. Palvelulaboratorio myy laboratoriokokeita Oulun seudun kuntoutus-sairaalalle sekä yksityisasiakkaille. Tutkimuksen tavoitteena oli saada laktaattimääritys osaksi palvelulaboratorion tutkimusvalikoimaa. Työn tilaaja oli Oulun seudun ammattikorkeakoulun Sosiaali- ja terveysalan yksikkö.

Tutkimus sisältää tietoa laktaatin muodostumisesta elimistössä, laboratoriodiagnostiikasta ja määrittymenetelmistä. Tutkimuksessa vertailtiin näytteenantajilta mitattuja laktaattipitoisuuksia vierimittarilla ja kahdella samanlaisella kliinisen kemian analysaattorilla. Vertailuun käytettiin 23 näytettä.

Tutkimusmateriaalin keräys oli monivaiheinen. Näytteenantajat kutsuttiin näytteenottoon sähköpostitse tarkoitusta varten laaditulla kutsukirjeellä. Näytteet kerättiin anonyymisti ja numeroitiin juoksevalla numeroinnilla. Laktaattimääritystulosten perusteella arvioitiin analysaattoreiden suorituskykyä. Lisäksi molempien analysaattoreiden tuloksia verrattiin sekä keskenään että vierimittarin tuloksiin.

Testauksen tulosten perusteella molempien analysaattorien määrittystarkkuus todettiin erinomaiseksi. Varianssi, keskihajonta ja variaatioprosentti olivat hyvin pienet, ja tuloksissa oli erittäin vähän vaihtelua analysaattoreiden välillä. Myös laktaattivierimittarin tulosvarmuus oli hyvä, kun tuloksia verrattiin molempien analysaattorien tuloksiin.

Laktaattimäärityksen arvioitiin sopivan palvelulaboratorion käyttöön hyvin käytännön järjestelyiden osalta, mutta sen markkinointi yksityishenkilöille voi olla haaste. Lisätestaukset korkeilla laktaattipitoisuuksilla katsottiin kuitenkin aiheellisiksi. Mikäli laktaattimääritykselle ei tule käyttöä Palvelulaboratoriossa, sitä voidaan käyttää opetuksessa muun muassa kliinisen kemian kurssilla.

Soveltuvuuden arvioinnin lisäksi määrittämiselle laadittiin käyttöohje Palvelulaboratorion tutkimusohjekansioon.

Asiasanat: laktaatti, kliininen kemia, entsyymattinen määrittäminen, verinäytteenotto, verinäyte, vieritestit

ABSTRACT

Oulu University of Applied Sciences
Degree Programme in Biomedical Laboratory Science

Author: Katri Holappa

Title of thesis: Detection of Lactate with Konelab 20i Clinical Chemistry Analyzer: Testing and Evaluating Suitability of Lactate Measurement for Rehearsal Laboratory of Oulu University of Applied Sciences

Supervisors: Paula Reponen & Hanna-Maarit Aho

Term and year when the thesis was submitted: Autumn 2010

Number of pages: 41 + 10 appendix pages

ABSTRACT

The purpose of my study was to test lactate measurement with a clinical chemistry analyzer Konelab 20i and evaluate the suitability of the measurement for the use of the Rehearsal Laboratory of Oulu University of Applied Sciences. The main objective of the study was to add the lactate detection to the measurement selection of the Rehearsal Laboratory. The assigner of this study was School of Social and health care of Oulu University of Applied Sciences.

The theory of the study includes information of lactate production in humans, laboratory diagnostics and the procedures used in detecting lactate. In this study the lactate results obtained with a point-of-care testing device and two clinical chemistry analyzers were compared. Comparison included 23 blood samples. The samples were collected anonymously from voluntary participants. The capacity of the clinical chemistry analyzers was evaluated with the help of the lactate measurements results by comparing both analyzers to each other and to the results obtained with the point-of-care testing device.

The results indicated that the clinical chemistry analyzers were reliable when analyzing lactate concentration. Also the point-of-care testing device was considered reliable when the results were compared to the results obtained with the two clinical chemistry analyzers.

Lactate measurement was considered suitable for the use of the Rehearsal Laboratory but its marketing could be challenging. Also further experiments were recommended as samples with high concentration of lactate were not available for this study. If there is no use for lactate measurement in the Rehearsal Laboratory it can be used for teaching in the Clinical Chemistry course.

In addition to testing and evaluation, a user's guide for the lactate measurement was a supplementary product of this thesis.

Keywords: *lactate, clinical chemistry, enzymatic measurement, blood sample, blood sample collection, point-of-care testing*

SISÄLLYS

TIIVISTELMÄ

ABSTRACT

| | | |
|-------|---|----|
| 1 | JOHDANTO | 6 |
| 2 | LAKTAATTI $C_3H_5O_3$ | 8 |
| 2.1 | Solun energiantuotto | 8 |
| 2.2 | Laktaatin muodostuminen..... | 9 |
| 2.3 | Laktaatti laboratoriodiagnostiikassa..... | 11 |
| 2.4 | Laktaatti ja urheilu | 12 |
| 2.5 | Laktaattimäärityksen periaate Konelab 20i:llä..... | 13 |
| 2.6 | Näyte ja vakioitu näytteenotto..... | 15 |
| 3 | TUTKIMUSONGELMAT | 17 |
| 4 | LAKTAATTIMÄÄRITYKSEN TESTAUS..... | 18 |
| 4.1 | Tutkimusmetodologia | 18 |
| 4.2 | Tutkimuslaitteet | 18 |
| 4.3 | Testauksen vaiheet | 21 |
| 4.3.1 | Esivalmistelut..... | 22 |
| 4.3.2 | Näytteenotto ja laskimoverinäytteiden käsittely | 23 |
| 4.3.3 | Parametrien syöttö ja näytteiden laktaattimääritys..... | 25 |
| 4.4 | Laktaattimääritystulosten analysointi | 26 |
| 5 | TESTAUKSEN TULOKSET | 28 |
| 5.1 | Määrityksen toistettavuus | 28 |
| 5.2 | Konelab 1:n ja 2:n tulosten vertailu vierimittarin tuloksiin..... | 28 |
| 5.3 | Konelab 1:n ja 2:n tulosten vertailu..... | 30 |
| 6 | JOHTOPÄÄTÖKSET JA SOVELTUVUUDEN ARVIOINTI | 32 |
| 6.1 | Testaustulosten johtopäätökset | 32 |
| 6.2 | Menetelmäohjeen laadinta ja testaus | 32 |
| 6.3 | Laktaattimäärityksen soveltuvuus palvelulaboratorion käyttöön | 33 |
| 7 | POHDINTA | 35 |
| | LÄHTEET | 38 |
| | LIITTEET | 41 |

1 JOHDANTO

Oulun seudun ammattikorkeakoulussa bioanalytiikan opiskelijat harjoittelevat laboratoriotyöskentelyä Pharmatest Services Oy:n alaisuudessa toimivassa palvelulaboratoriossa. Tutkimusvalikoimaan kuuluvat muun muassa veren rasvatutkimukset, pieni verenkuva (PVK), maksakokeita, sekä glukoosin ja C-reaktiivisen proteiinin (CRP) mittaukset. Palvelulaboratorion vakituinen asiakas on Oulun seudun kuntoutussairaala, jossa opiskelijat käyvät ohjaajan johdolla ottamassa laskimoverinäytteitä potilaista. Opiskelijat analysoivat näytteet koululla, ja tulokset toimitetaan sairaalalle. Palvelulaboratorio myy palveluitaan myös yksityisasiakkaille, jotka voivat ostaa laboratorio-tutkimuksia ilman lääkärin lähetettä.

Palvelulaboratorion tutkimusvalikoimaa on haluttu laajentaa laktaattimäärityksellä. Sitä pystytään määrittämään palvelulaboratorion kliinisen kemian analysaattoreilla. Ennen uuden määrittämisen käyttöönottoa haluttiin testata määrittämismenetelmän luotettavuus ja tutkia sen soveltuvuus palvelulaboratorion käyttöön. Tämän tutkimuksen tarkoitus oli testata laktaattimääritystä palvelulaboratorion kliinisen kemian analysaattoreilla ja testaustulosten perusteella arvioida määrittämisen luotettavuutta sekä arvioida testin soveltuvuutta palvelulaboratorion käyttöön. Lisäksi määrittämiselle laadittiin käyttöohje. Tavoite oli saada laktaattimääritys osaksi palvelulaboratorion tutkimusvalikoimaa, mutta ei rutiinikäyttöön. Sitä voitaisiin myydä yksityishenkilöille ja erilaisiin kuntotestausprojekteihin. Testaus suoritettiin soveltaen Moodi-lehden Pienten laboratoriodien kliinisen kemian analysaattorin koestusohjelman ohjetta (Kaiholan, Rintolan, & Sandbackan 1990, 176–181). Tulosten vertailuun otettiin lisäksi mukaan Lactate Scout -laktaattivierimittari.

Laktaattimääritys on käytössä ennen kaikkea kliinisissä laboratorioissa, mutta sitä voidaan hyödyntää myös urheilumittauksissa maksimaalisen hapenottokyvyn määrittämisessä. Maksimaalisen urheilusuorituksen aikana veren laktaattipitoisuus voi lisääntyä jopa 20-kertaiseksi lepotilaan nähden. Pitoisuuden lisääntyminen johtuu kehon anaerobisen energiantuoton aktivoitumisesta. (Heino & Vuento 2007, 93–95.) Jo ennen tutkimusta voitiin todeta, että laktaattimääritys ei tule palvelulaboratorion rutiinikäyttöön, mutta sitä voitaisiin tarjota muun muassa erilaisiin kuntoprojekteihin apuvälineeksi. Lisäksi opiskelijat voisivat toteuttaa projekteja myös muiden ammattialojen opiskelijoiden kanssa.

Valitsin aiheen, koska olin jo aiemmin opintojen aikana pohtinut, että tahtoisin aiheen olevan analyysilaitteisiin liittyvä. Laktaattimäärityksen testaus vaikutti mielestäni heti mielenkiintoiselta ja so-

pivalta työltä minulle. Lisäksi koestusohjelmaan perehtyminen ja sen hyödyntäminen opinnäyte-työssä on ammatillinen etu, koska siihen ei perehdytä koulutusohjelman opinnoissa erityisen tarkasti.

2 LAKTAATTI $C_3H_5O_3$

2.1 Solun energiantuotto

Elimistöön tuleva energia on peräisin syömästämme ravinnosta. Ruuasta saadut ravintoaineet pilkotaan ensin ruuansulatuskanavassa helpommin hyödynnettävään muotoon: proteiinit pilkotaan aminohapoiksi, hiilihydraatit glukoosiksi ja rasvat glyseroliksi ja rasvahapoiksi. Pääosa elimistön energiasta muodostetaan aerobisesti glukoosista solun sisällä. Solu saa tarvitsemansa glukoosin veren plasmasta, jossa sitä on liuenneena. Solukalvon kuljettajaproteiinit siirtävät glukoosin solun sisään. Itse glykolyysi tapahtuu solulimassa, ja siinä glukoosista muodostuu koentsyymi NAD^+ :n avulla lopulta palorypälehappoa eli pyruvaattia ja $NADH$:ta. (Hiltunen ym. 2006, 104–105.) Koentsyymi on aine, joka on välttämätön reaktion tapahtumiselle, sillä se aktivoi entsyymien (Jokela & Åkerman 2010, 68). Kun happi osallistuu reaktioon, palorypälehapon hajoaminen jatkuu solun mitokondrioissa sitruunahappokierrossa ja oksidatiivisessa fosforylaatioissa adenosinitrifosfaatti -energiaksi (ATP), hiilidioksidiksi ja vedeksi monivaiheisissa reaktioissa. (Hiltunen ym. 2006, 104–105.)

Ennen sitruunahappokiertoa siirtymistä pyruvaatti muutetaan asetyylikoentsyymi A:ksi (*asetyyli KoA*). Tässä vaiheessa pyruvaatti menettää yhden hiiliatomin. Kyseinen hiiliatomi yhdistyy tässä vaiheessa hapen kanssa hiilidioksidiksi. Myös rasvat hapetetaan asetyyli KoA:ksi, ennen kuin ne voidaan hyödyntää. Asetyyli KoA hapetuu sitruunahappokierrossa täysin. Sen hiiliatomit yhtyvät happeen muodostaen hiilidioksidia (CO_2), ja sen vetyatomit siirtyvät elektroninsiirtäjäkoentsyymeille nikotiiniamidi-adeniini-dinukleotidille (NAD^+) ja flaviini-adeniini-dinukleotidille (FAD). (Heino & Vuonto 2007, 93–95.)

NAD^+ on nikotiiniamidi-adeniini-dinukleotidi, ja $NADH$ on sen pelkistynyt muoto. NAD^+ on elektroninsiirtäjäkoentsyymi, joka voi vastaanottaa H^+ -ionin ja kaksi elektronia. Toinen vastaaventyyppinen koentsyymi on flaviini-adeniini-dinukleotidi (FAD), joka voi ottaa vastaan kaksi vetyionia pelkistyen $FADH_2$:ksi. Ne toimivat siirtäjäkoentsyymeinä sitruunahappokierrossa ja oksidatiivisessa fosforylaatioissa. Elektroninsiirtäjäkoentsyymien tarkoituksena on siirtää vetymolekyylejä ja elektroneja eteenpäin aerobisessa energiantuotannossa, jonka viimeinen vaihe on oksidatiivinen fosforylaatio. Siinä $NADH$:n ja $FADH_2$:n vetymolekyylit yhdistyvät happimolekyyleihin (O_2) pelkistyen vedeksi, ja pelkistymisestä vapautuva energia käytetään ATP-molekyylien muodostamiseen, eli

fosfaattiryhmän kiinnittämiseen ADP:hen (fosforylaatio). (Stryer 1988, 320–321; Heino & Vuonto 2007, 93–95.)

ATP-energiaa tarvitaan kaikkiin ihmiskehossa tapahtuviin toimintoihin. Niitä ovat solujen liikkeet, kuten lihasten supistuminen, molekyylien ja ionien aktiivinen siirtäminen soluun ja solusta ulos, sekä makromolekyylien muodostaminen pienemmistä rakennusaineista. Energia solujen reaktioiden ylläpitoon tulee aina solun ulkopuolelta. Ihmiskehossa se tulee ravinnosta, jota syömmme. Energia pitää solujen reaktiot poissa tasapainotilasta. Solun reaktiot saavuttavat tasapainotilan solukuolemassa, jolloin solun sisään ei enää tule ulkopuolista energiaa ja sen toiminnot sammuvat. ATP on nukleotidi, joka muodostuu adenosiiniosasta, riboosi- eli sokeriosasta ja kolmesta siihen sitoutuneesta fosfaattiosasta. ATP:n kyky toimia energianlähteenä perustuu siihen, että se luovuttaa kaksi fosfaattiosaansa herkästi, jolloin vapautuva energia saa aikaan energiaa kuluttavan prosessin (esimerkiksi liike). ATP:n fosfaattiosan luovuttamista sanotaan hydrolysoitumiseksi. ATP:stä tulee ADP (adenosiinidifosfaatti), kun se menettää yhden fosfaattiryhmän, ja AMP (adenosiinimonofosfaatti), jos toinenkin fosfaattiryhmä vapautuu. ATP on energiaa tuottavan ja energiaa kuluttavan prosessin yhdistävä energiaa siirtävä molekyyli. Sitä muodostetaan ja kulutetaan koko ajan. (Stryer 1988, 316–317; Heino & Vuonto 2007, 10–13.)

2.2 Laktaatin muodostuminen

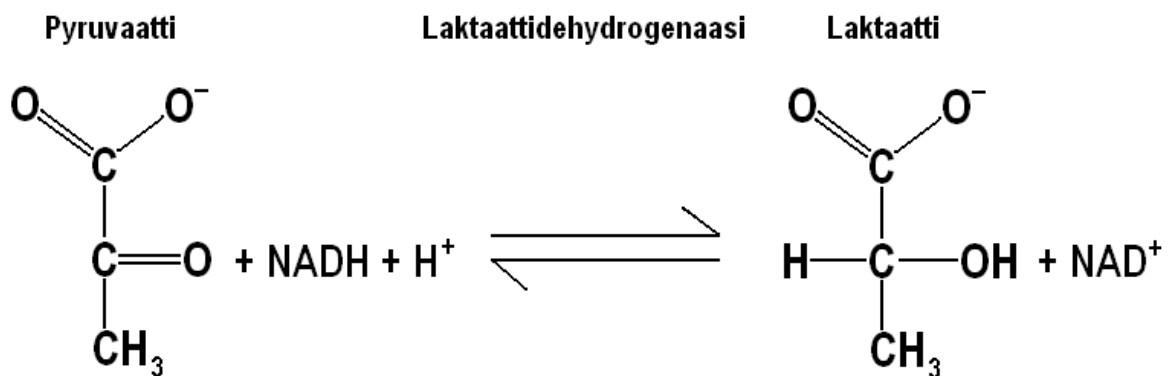
Glykolyysi nopeutuu muun muassa rankan urheilusuorituksen aikana, koska ATP-energiantarve kasvaa. Glykolyysissä muodostuvan pyruvaatin määrä voi ylittää sitruunahappokierron kyvyn hapettaa sitä. Tällöin muodostuvan NADH:n määrä ylittää hengitysketjun kyvyn hapettaa sitä takaisin NAD⁺:ksi. NAD⁺:aa tarvitaan kuitenkin glykolyysin jatkumiseen, jolloin laktaattidehydrogenaasi muuttaa ylimäärän pyruvaattia laktaatiksi samalla hapettaen NADH:n takaisin NAD⁺:ksi. Reaktiossa vapautuva energia käytetään suoraan ATP:n muodostamiseen, ilman sitruunahappokiertoa. (Stryer, 1988, 444–445.) Nopeaan glykolyysiin osallistuvat lihaksissa ns. nopeat lihassolut. Nopeaa glykolyysiä tapahtuu myös ihmisen ollessa levossa, ja siksi laktaattia on aina jonkin verran veressä. Nopea glykolyysi voi tuottaa energiaa enimmillään 100 kJ minuutissa. (Heinonen 2005, 140–142.)

Laktaatti siirtyy lihassoluista ulos verenkiertoon solukalvon läpi solukalvon pinnalla olevan siirtäjäproteiinin avulla. Laktaatin ajautuessa maksaan se hapetetaan takaisin pyruvaatiksi ja edelleen glukoosiksi. Maksa muuttaa glukoosia myös glykogeeniksi, joka voidaan varastoida lihaksiin ja

maksaan. (Heinonen, 2005, 140–142.) Energiaa ei mene hukkaan vaikka laktaattia muodostuu-
kin. Lihakset toisin sanoen siirtävät osan aineenvaihduntaansa maksaan, jotta ne pystyisivät itse
toimimaan tehokkaammin. Laktaatiksi muuttunut osa palautuu käyttöön myöhemmin. Nopeiden
lihassolujen lisäksi punasolut tuottavat laktaattia aineenvaihduntatuotteenaan, sillä punasoluilla ei
ole mitokondrioita. (Stryer 1988, 444–445.) Pyruvaatin pelkistyminen laktaatiksi on kuvattu reak-
tiokaavalla kuviossa 1.

Laktaatin hyödyntämisestä energiantuotossa on tehty vastikään tutkimuksia. Ne ovat osoittaneet,
että luustolihakset pystyisivätkin hyödyntämään muodostamaansa laktaattia suoraan, ilman että
maksan täytyy muuttaa se takaisin glukoosiksi. Vaikuttaisi myös siltä, että munuaiset ja sydän
pystyvät hyödyntämään laktaattia energialähteenään urheilusuorituksen aikana. Laktaattia pide-
tään enemmänkin aineenvaihdunnan oleellisena osana kuin haitallisena liikuntasuoritusta rajoit-
tavana seikkana. (Heinonen 2005, 140–142.)

Aerobinen energiantuotto on elimistölle paljon taloudellisempi keino tuottaa energiaa kuin anae-
robinen, jossa vain 6 % glukoosimolekyylin energiasta vapautuu solun käyttöön heti. Kovassa li-
hasrasituksessa laktaattimäärä veressä voi nousta 10–20-kertaiseksi lepotilaan nähden. Terveel-
lä ihmisellä tilanne normalisoituu kuitenkin jo muutamassa tunnissa. (Tykslab ohjekirja 2007, ha-
kupäivä 29.12.2009.)



KUVIO 1. Rakennekaavakuva pyruvaatin pelkistymisestä laktaatiksi laktaattidehydrogenaasi-
entsyymin avulla (Mukaiillen Stryer 1988, 444)

2.3 Laktaatti laboratoriodiagnostiikassa

Laktaattipitoisuus veressä muodostuu sitä kehossa tuottavien ja poistavien mekanismien tehon erotuksena (Heinonen, 2005, 141). Laktaattikokeen indikaatio on yleisesti laktaattiasidoosiepäily. Laktaattiasidoosissa laktaatin muodostus on nopeampaa kuin sen eliminointi maksassa. Tämä johtaa veren happo-emästasapainon häiriöön veren pH:n laskun vuoksi. Laktaattiasidoosia voivat aiheuttaa äkillisesti heikentynyt kudosten hapetus (hypoksia), yleissairaudet kuten diabetes mellitus ja maksasairaudet sekä eräät lääkeaineet. Harvinaisia laktaattiasidoosin aiheuttajia ovat synnynnäiset entsyymipuutostilat sekä mitokondriaaliset aineenvaihduntahäiriöt. (B-Laktaat. Oyslab ohjekirja 2008; Uotila 2010, 115.) Viitearvoväli laktaatille on kaikilla 0.6–2.4 mmol/l (P-Lakt. Tykslab -ohjekirja 2009, hakupäivä 29.12.2009).

Hypoksiassa laktaattia kertyy elimistöön, koska keho tuottaa hapen puutteessa energiaa anaerobisesti. Hypoksiaa voi aiheuttaa sydämen, keuhkojen tai verenkierron toimintahäiriö, ja se voi olla paikallinen tai koko kehon kudoksiin yleistynyt. Epätasapainoisessa diabetes mellituksessa laktaatin ohella vereen kertyy myös ketohappoja. Laktaatti on yksi orgaanisista happoioneista. Niiden kertymisestä elimistöön seuraa metabolinen asidoosi. Toisaalta metabolinen asidoosi voi joutua myös bikarbonaatin (emäksen) menetyksestä, jolloin happojen vapauttama H^+ ei pääse reagoimaan emäksen kanssa, vaan kertyy elimistöön. Laktaattipitoisuus ei yksin kerro mistään sairaudesta, vaan sitä määritetään muiden kokeiden ohella diagnoosin tueksi. (Uotila 2010, 115–116.)

Laktaattia voidaan määrittää myös aivo-selkäydinnesteestä eli likvorista. Taustalla on tuolloin epäily bakteerimeningiitistä, mutta myös plasman kohonneet arvot nostavat likvorin pitoisuuksia. Laktaatin rinnalla määritetään usein myös likvorin glukoosipitoisuus. Bakteerimeningiitissä likvorin laktaattipitoisuus on koholla plasman laktaattiin nähden ja glukoosipitoisuus voi olla matalampi plasman arvoon nähden. Se johtuu likvorissa olevien anaerobibakteerien metaboliasta: bakteerit käyttävät likvorin glukoosia ravinnoksi ja tuottavat aineenvaihduntatuotteena laktaattia. Laktaattia muodostuu, koska bakteereilla ei ole mitokondrioita ja olosuhteet ovat anaerobiset. Viiteväli likvorin laktaattipitoisuudelle on lapsilla 1.1–2.2 mmol/l ja aikuisilla 0–2.8 mmol/l. (Li-Laktaat. Oyslab ohjekirja 2008, hakupäivä 25.9.2010.)

2.4 Laktaatti ja urheilu

Laktaattimääritystä voidaan käyttää kliinisten tarkoitusten lisäksi liikuntafysiologian mittauksiin. Laktaattia muodostuu nopeassa glykolyysissä. Pitoisuus veressä nousee huomattavasti, kun kuormitus on 60–70 % maksimaalisesta hapenottokyvystä. Maksimaalinen hapenottokyky (VO_{2max}) on yksikkö sille enimmäismäärälle happea, jonka yksilö voi aikayksikköä kohti kuluttaa äärimmäisen fyysisen rasituksen aikana merenpinnan tasolla. Kestävyysurheilijoilla kyseinen arvo on tärkeä, sillä se kertoo keuhkojen ja verenkiertoelimistön kunnosta ja niiden suorituskyvystä kuljettaa happea työskenteleviin lihaksiin. (Deuster & Heled 2008, 522–523.)

Laktaattimääritystä käytetään niin sanotun anaerobisen kynnyksen mittaamiseen. Siinä mitataan, millä rasiustasolla lihassolut pystyvät vielä tuottamaan energiaa aerobisesti. Niin kauan kuin energiantarve ei ylitä elimistön kykyä tuottaa sitä, ihminen ei periaatteessa väsy. Laktaatin muodostuksessa vapautuu energiaa paljon vähemmän kuin aerobisella tavalla, joten laktaattia muodostuu suuret määrät äärimmäisessä rasituksessa. Heinonen 2005, 141–142.)

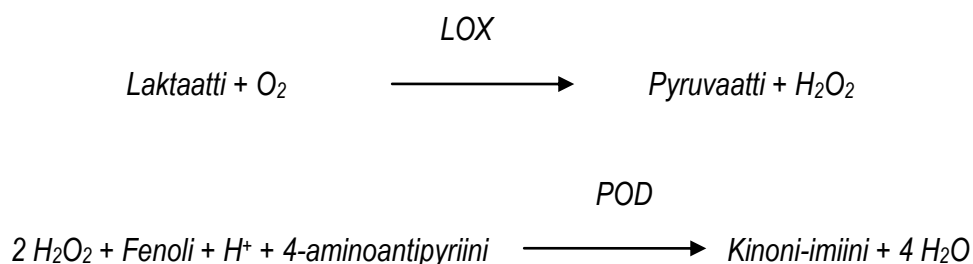
Laktaattiarvojen tulkitseminen ei kuitenkaan ole aivan yksinkertaista, sillä kaikki muodostunut laktaatti ei siirry verenkiertoon. On vielä epävarmaa, mitkä eri kudokset pystyvät käyttämään laktaattia suoraan hyödyksi, mutta ainakin luustolihasten, sydämen ja munuaisten uskotaan tekevän niin. Lisäksi adrenaliinilla on huomattu olevan tärkeä merkitys laktaatin tuoton säätelyssä, sillä liikunnan aiheuttama adrenaliinivälitteinen β -adrenerginen stimulaatio lisää nopeaa glykolyysiä. (Heinonen 2005, 141–142.)

Kestävyysharjoittelun on tutkimuksissa todettu vähentävän laktaatin muodostumista. Testitilanteissa ennen kestävyysharjoittelujaksoa koehenkilöiltä on mitattu rasituksen jälkeen suurempia laktaattiarvoja kuin harjoittelujakson jälkeen. Tästä voisi päätellä kehon aerobisen energiantuotannon kehittyvän tehokkaammaksi kestävyysharjoittelulla, mutta luustolihakset ovat myös voineet kehittyä käyttämään laktaattia tehokkaammin hyödykseen. Vähäisten tutkimusten vuoksi varmoja johtopäätöksiä ei voida tehdä. Laktaattipitoisuuden lisääntyminen veressä osoittaa kuitenkin energiantuotannon kuormittuneen ja nopean glykolyysin osuuden energiantuotannosta kasvaneen. (Armstrong & Chia 2007, 106–107; Tolfrey 2007, 229–230.)

2.5 Laktaattimääritysmenetelmän periaate Konelab 20i:llä

Konelab 20i -kemian analysaattorin laktaattimääritys tapahtuu päätepistemittauksena fotometri-
sesti. Ennen mittausta tapahtuvat reaktiot näytteen ja reagenssin välillä ovat entsyymaattisia. Laite
pipetoi näytteen ja reagenssin kyvetiin, jossa reagenssin laktaattioksideasi -entsyymi hajottaa
näytteen laktaatin pyruvaatiksi ja vetyperoksidiksi. Muodostunut vetyperoksidi saa reagenssin pe-
roksidaasin reagoimaan 4-aminoantipyriinin ja fenolin kanssa muodostaen punaisen kinoni-imiini
-värin. Värin intensiteetti on suoraan verrannollinen näytteen laktaattipitoisuuteen (kaava 1).
(Thermo Scientific reagenssipakkauksen ohje 2008.)

*KAAVA 1. Laktaattimäärityksessä tapahtuvat reaktiot ennen mittausta mukailien Thermo Fisher
Scientificin laktaattireagenssipakkauksen ohjeen kaavaa*



jossa,

LOX = Laktaattioksideasi

POD = Peroksidaasi

Päätepistemittaus tarkoittaa, että reagenssin ja näytteen välisten reaktioiden annetaan kulua lop-
puun ennen mittausta niin, että reaktio on tasapainossa ja substraatti on kokonaan kulutettu. Fo-
tometrinen mittaus tarkoittaa, että laite mittaa reaktiossa muodostuneen yhdisteen absorbanssin
ja muuntaa sen kaavan avulla konsentraatioksi eli pitoisuudeksi (tässä tapauksessa mmol/l) tai
joissakin tapauksissa määräksi. Fotometria perustuu valon absorbanssiin eli imeytymiseen väliai-
neeseen sekä transmittanssiin eli valon läpäisevyyteen väliaineessa. Absorbanssi on määritelty
logaritmisesti funktioksi (kaava 2). Se tarkoittaa, että määritettävän aineen pitoisuuden kasvaes-
sa liuoksessa sen läpi transmittoituneen valon määrä vähenee logaritmisessä suhteessa. Foto-
metrisissä määrityksissä mitataan lähes aina absorbanssia. Mitattavalla aineella on tietty absorp-
tiohuippu, jolloin valon absorptio väliaineeseen on suurin. Fotometrisessä mittauksessa käytetään
monokromaattista eli vain yhtä aallonpituutta sisältävää valoa. Mittauksiin käytettävä valo on nä-

kyvää valoa, jonka aallonpituus on 380–750 nm. Kullekin määritettävälle aineelle on oma aallonpituutensa, jolloin absorptiohuippu on suurin. (Jokela & Åkerman 2010, 54–56, 69–70.)

KAAVA 2. Absorbanssin määritelmä

$$A = -\log I_s/I_0 = -\log T, \text{ jossa}$$

A = absorbanssi

T = transmittanssi

I_s = näytteen läpäisseen säteilyn intensiteetti

I_0 = näytteeseen tulevan säteilyn intensiteetti

Lambert-Beerin lain mukaan tietyllä aallonpituudella absorboituneen valon määrä on tällöin suoraan verrannollinen valon kulkureitillä olevan absorboivan aineen määrään eli pitoisuuteen. Määritettävän aineen pitoisuus voidaan laskea kaavalla 3, mikäli tiedetään mitattavalle aineelle ominainen molaarinen absorptiokerroin (Jokela & Åkerman 2010, 55):

KAAVA 3. Lambert-Beerin laki

$$A = abc, \text{ jossa}$$

A = absorbanssi

a = mitattavan aineen molaarinen absorptiokerroin

b = mittakylvetin läpimitta (valon kulkema matka mittakylvetissä)

c = määritettävän aineen pitoisuus

Konelab 20i:llä mitattaessa laktaattipitoisuutta reaktioaika on 420 sekuntia ja mittaus tapahtuu valon aallonpituudella 510 nm. Sivuaallonpituutta mittauksessa ei tarvita. Tulokset, jotka ovat välillä 0.40–75.00 mmol/l, voidaan mitata tällä menetelmällä. Laimennos tehdään tuloksen ylittäessä ensimmäisellä mittauksella 15.00 mmol/l. Suora mittaus on tähän pitoisuuteen asti lineaarinen. Laitevalmistaja suosittelee määrittämisen vakiointiin sCal-nimistä kaupallista vakiota. Vakiokäyrän kuvaaja on nouseva suora. Kontrolleina määrittämiselle voi käyttää kaupallisia laaduntarkkailuseurumeja Nortrolia ja Abtrolia. (Thermo Scientific reagenssipakkauksen ohje 2008.) sCal sopii usean eri testin vakioksi, ja se on valmistettu naudan seerumista. Se ei sisällä ihmisperäisiä aineita.

(sCal -vakiopakkauksen ohje. 2007) Kontrolli Nortrol on ihmisperäistä seerumia. Se sisältää lisäksi ei-ihmisperäisiä entsyymejä ja antibakteerisia aineita. Se on testattu negatiiviseksi hepatiitti B -viruksen pinta-antigeeneille sekä HIV- ja hepatiitti C-vasta-aineille. Sekä vakio että kontrollit on kylmäkuivattu eli lyofilisoitu, ja ne täytyy liuottaa tislattulla vedellä ennen käyttöä. (Nortrol -kontrollipakkauksen ohje 2009.)

Kontrolleja käytetään laboratorioissa sisäiseen laadunohjaukseen, joka on osa laadunvarmistusta. Sillä tarkoitetaan laboratorion henkilökunnan itse suorittamaa jatkuvaa analyysimenetelmien kontrollointia erilaisilla kontrolleilla, tulosten seuranta ja tilastointia sekä poikkeamiin puuttumista korjaavin keinoin. Toimet pyritään varmistamaan se, että laboratorion vastaamat tulokset ovat riittävän luotettavia. (Linko 2004, 60.)

2.6 Näyte ja vakioitu näytteenotto

Konelab 20i -analysointilaitteilla tehtäviin mittauksiin tarvitaan plasmanäyte, joka otetaan laskimoverinäytteenä fluoridi-oksalaattiputkeen. Putki sisältää 2.5 mg natriumfluoridia ja 2.0 mg kaliumoksalattia. Kun määritetään plasman laktaattipitoisuutta paaston jälkeen lepotilassa, näyte olisi hyvä ottaa ilman puristussidettä (staasia). Jos puristussidettä joudutaan käyttämään suonen etsimiseen, sitä saa käyttää enintään 30 sekuntia. Näytteen sentrifugointi ja plasman erottelu tulee tehdä 30 minuutin kuluessa näytteenotosta. Ennen tutkimusta potilaan pitää paastota eli olla ravinnotta 12 tuntia ja olla levossa ainakin 30 minuuttia ennen näytteenottoa. (Huslab ohjekirja, hakupäivä 20.2.2010.) Määrittäminen voidaan tehdä tarpeen mukaan myös selkäydinnesteestä (Laktaattireagenssipakkauksen ohje 2008).

Ihopistosnäytteenotossa verinäyte sisältää pienistä kapillaarisuonista, arterioleista ja venuoleista peräisin olevaa veriseosta. Lisäksi näytteessä on hieman kudospainetta ja solunsisäistä nestettä. Näyte otetaan punktoimalla iho erityisellä ihopistoslansetilla. Aikuiselta näyte otetaan tyypillisesti keskisormen tai nimettömän päästä kämmenen puolelta, hieman sivusta. (Seppälä & Tuokko 2010, 29–30.)

Vakioitu näytteenotto tarkoittaa, että näytteet on otettu yhteisiä, suositettuja näytteenottokäytäntöjä noudattaen, jolloin on eliminoitu näytteen laatuun vaikuttavat asiat. Näytteen laatuun vaikuttavat muun muassa, ravinto, alkoholin nauttiminen, fyysinen rasitus, tupakointi, näytteenottoasento ja puristussiteen käyttö. Vakioidusti otetun näytteen katsotaan edustavan potilaan senhetkistä fy-

siologista tilaa hyvin, ja analyysistä saatuja tuloksia voi silloin luotettavasti verrata viitearvoihin.
(Seppälä & Tuokko 2010, 22–25.)

3 TUTKIMUSONGELMAT

Tutkimusongelmat laadittiin niin, että niiden tulosten perusteella voitiin arvioida menetelmän luotettavuutta ja toistettavuutta, kuten Pienten laboratorioden kliinisen kemian analysaattorin koes- tusohjelmassa suositetaan (Kaihola, ym. 1990). Laitteina käytettiin Thermo Fisher Scientific Oy:n valmistamaa kahta Konelab 20i -kliinisen kemian analysaattoria sekä saksalaisen EKF diagnosti- cin konserniin kuuluvan SensLab GmbH:n valmistamaa Lactate Scout -vierimittaria. Sosiaali- ja terveysalan yksikössä on kaksi samanlaista Konelab 20i -analysaattoria, joista ensimmäisenä la- boratorioon hankittua raportissa kutsutaan nimellä Konelab 1 ja uudempaa analysaattoria nimellä Konelab 2. Tutkimusongelmat ovat:

1. Miten analysaattorin Konelab 1 ja Lactate Scout -vierimittarin laktaattimääritystulokset eroavat toisistaan?
2. Miten analysaattorin Konelab 2 ja Lactate Scout -vierimittarin laktaattimääritystulokset eroavat toisistaan?
3. Miten analysaattoreiden Konelab 1 ja 2 laktaattimääritystulokset eroavat toisistaan?
4. Miten laktaattimääritys soveltuu Oulun seudun ammattikorkeakoulun palvelulaboratori- oon?

Tutkimuksen jälkeen laktaattimääritykselle laadittiin lisäksi menetelmäohje palvelulaboratorion tutkimuskansioon.

4 LAKTAATTIMÄÄRITYKSEN TESTAUS

4.1 Tutkimusmetodologia

Opinnäytetyöni on pääasiassa kvantitatiivinen tutkimus. Kvantitatiivinen tutkimus tarkoittaa määrällistä tutkimusta. Sille on tyypillistä, että tutkimuksen aikana tehdään paljon mittauksia, vähintään useita kymmeniä, ja mittauksista saatua aineistoa käsitellään tilastollisin menetelmin. Kvantitatiivisessa analysoinnissa yksittäisellä tuloksella ei ole väliä, vaan sen sijaan keskitytään suuresta aineistosta saatuihin yleistyksiin. Kvantitatiivinen tutkimus perustuu positivistiseen tutkimusmetodiin, jossa tutkimusta tehdään mittaamalla ja sen tavoitteena on tuottaa perusteltua, yleistettävää ja luotettavaa tietoa, jossa pyritään ehdottomaan ja riippumattomaan totuuteen. (Kananen 2008, 10–11.)

Kvantitatiivinen tutkimus voi edetä myös prosessina, joka etenee vaihe vaiheelta. Ennen tutkimuksen aloittamista määritellään usein tutkimusongelmat tai -tehtävät. Tehtävät ratkaistaan tiedolla, jonka hankkimiseksi täytyy tehdä tarkka suunnitelma, miten haluttu tieto saavutetaan. Edeltävä vaihe vaikuttaa aina seuraavaan vaiheeseen. Kvantitatiivisen tutkimuksen ongelmia on usein tulosten luotettavuuden kanssa. Toisinaan otokseksi ei myöskään saada niin suurta joukkoa, kuin olisi toivottu, ja sekin vähentää tulosten luotettavuutta. (Kananen 2008, 11, 13.)

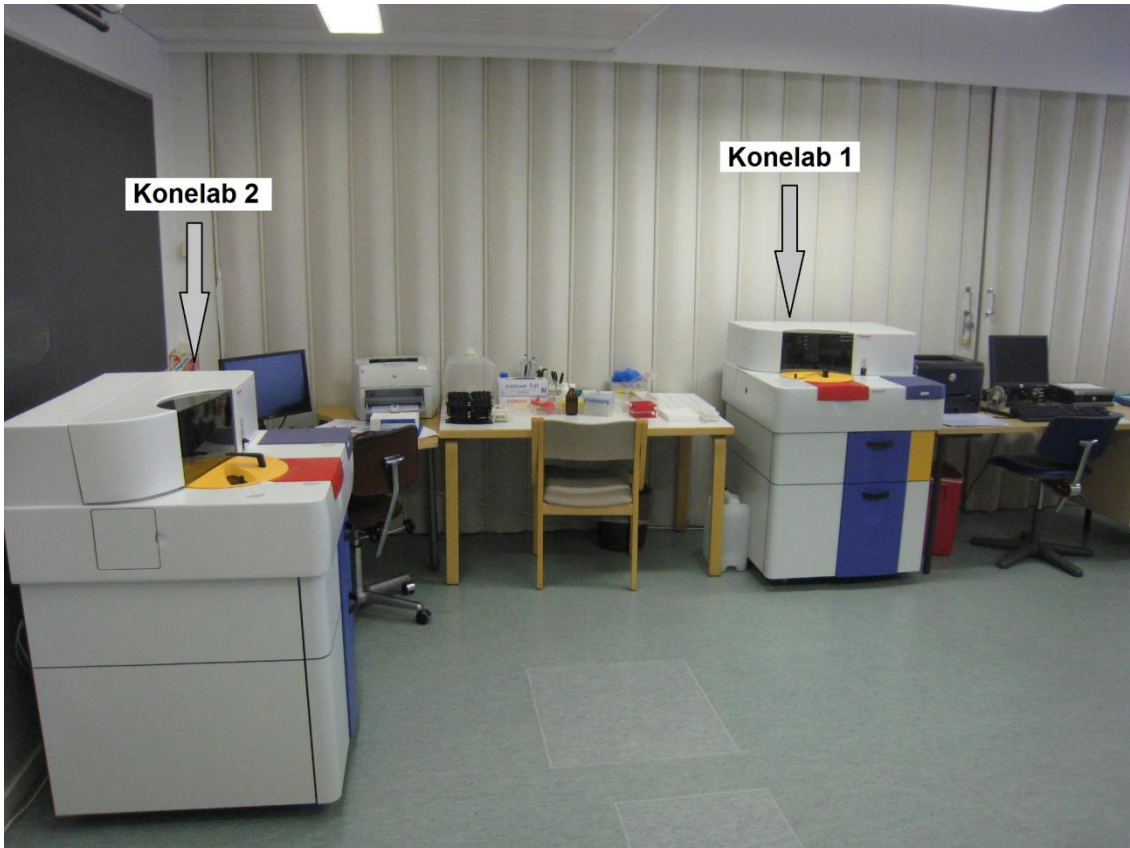
Testaus toteutuu tässä tutkimuksessa vertailevan eli komparatiivisen tutkimuksen periaatteella. Vertailevassa tutkimuksessa tutkija etsii ja tarkastelee aineiston tapauksia tai tuloksia, jotka kuuluvat samaan lajiin, mutta eroavat kuitenkin jotenkin toisistaan. (Rautio 2007, hakupäivä 17.10.2010.) Tässä tapauksessa vertaillaan vierimittaria ja kliinisen kemian analysaattoria keskenään. Lisäksi vertaillaan myös kahden samanlaisen analysaattorin mittaustarkkuuksien eroja. Tutkimuksessa on myös piirteitä evaluaatiotutkimuksesta, jossa pyritään kehittämään tutkimuksen kohdetta tai toimenpiteitä (Patton 1990, 11).

4.2 Tutkimuslaitteet

Mittauksiin käytettiin kahta eri kliinisen kemian analysaattoria. Molemmat ovat samanlaiset, merkittään Konelab 20i, ja niiden valmistaja on Thermo Fisher Scientific -konserniin kuuluva suomalainen Thermo Fisher Scientific Oy. Tässä työssä viitataan laitteisiin nimillä Konelab 1 ja Konelab

2, ja ne on osoitettu nuolin kuviossa 2. Konelab 20i on Konelab 20 -sarjan analysaattorimalli. Se pystyy mittaamaan enimmillään 200 määritystä tunnissa, ja siihen mahtuu 84 näytettä yhtä aikaa. Näytteitä ja reagensseja voi syöttää ja vaihtaa laitteeseen ilman, että meneillään oleva analysointi keskeytyy. Reagenssikammiot ovat jääkaappilämpötilassa ja pitävät reagenssit kylmänä käytön ajan. Tällöin reagenssien suorituskyky ei pääse muuttumaan, koska lämpötilavaihteluja ei tapahdu. (Thermo Fisher Scientific, hakupäivä 28.2.2010; Yrityksen Internet -sivulta saatava pdf -muotoinen lehtinen.)

Konelab 20i -analysaattori tarvitsee yhteen laktaattimäärittämiseen 2 µl näytettä. Laite laimentaa näytteen 20 µl:aan vettä. Määrittämissä käytettävän veden tulee olla laboratoriolaatuista, eli siitä on puhdistettu mahdolliset orgaaniset jäämät ja ionit. Reagenssia kuluu yhteen määrittämiseen 180 µl ja lisätilavuuden 30 µl eli yhteensä 210 µl. Reagenssi liuotetaan kahdesta eri osasta: lyofilisoidusta, entsyymejä sisältävästä reagenssista (R2) ja puskuriliuoksesta (R1). Reagenssi valmistetaan lisäämällä puskuriliuos (R1) reagenssipulloon R2. Valmis reagenssi säilyy stabiilina 4 viikkoa +2°C – +8°C:n lämpötilassa. Koko pakkauksen reagenssit riittävät enintään 330 määrittämiseen, joten yhden reagenssipullon voidaan laskea riittävän noin 47 määrittämiseen (330/7). 10 ml:n puskuriliuos (R1) sisältää Pipes -puskuria ja p-Kloorifenolia. Lyofilisaatti (R2) sisältää laktaattioksidiaasi -entsyymiä, peroksidaasi -entsyymiä ja 4-aminoantipyriiniä. Tarkat pitoisuudet ovat liitteesä 4. (Laktaattireagenssipakkauksen ohje 2008.)



KUVIO 2. Konelab 20i -analyzaattorit ja niiden työpisteet Oulun seudun ammattikorkeakoulun palvelulaboratoriossa. Analyzaattorit on numeroitu, jotta ne erotetaan toisistaan

Vertailulaitteena käytettiin saksalaisen EKF diagnosticin konserniin kuuluvan SensLab GmbH:n valmistamaa Lactate Scout -vierimittaria, jossa laktaatin määrittäminen perustuu entsyymaattisiin reaktioihin, jotka vapauttavat elektroneja. Elektronit saavat aikaan sähköisen signaalin, jonka laite dektektoi. Laitteen mittausalue on 0.5–25.0 mmol/l. Sen tarkkuus alle 3.4 mmol/l tuloksissa on $\pm 0,2$ mmol/l ja 3.4 mmol/l ylittävissä tuloksissa ± 6 %. Lactate Scoutia voidaan käyttää myös ulkona, mutta ulkolämpötilan on oltava $+5$ °C– $+45$ °C. Laitteen mittausaika on 15 sekuntia, ja näytteeksi tarvitaan 0.5 μ l kapillaarivertta sormenpäältä. (SensLab GmbH, hakupäivä 25.9.2010.) Lactate Scout -vierimittari näkyy kuviossa 3. Laite vakioitiin asettamalla mittarin vakiointikoodi samaksi, kuin mikä se on testiliuskapakkauksessa.



KUVIO 3. Lactate Scout -laktaattivierimittari ja testiliuskapakkaus

4.3 Testauksen vaiheet

Laktaattimäärityksen testauksessa oli esivalmisteluiden ja kirjallisuuteen perehtymisen lisäksi toiminnallisia vaiheita. Testaus etenee prosessina, jossa on useita vaiheita. Erilaisiksi vaiheiksi olen luokitellut tuloslomakkeiden ja kutsukirjeen laadinnan, kutsukirjeen lähetyksen ja näytteenottoaikojen varaamisen, laskimoverinäytteenoton ja laktaatin pikamittauksen, parametrien ohjelmoinnin ja näytteiden määrityksen analysaattoreilla sekä tulostuksen, tulosten analysoinnin taulukko-ohjelmalla sekä menetelmäohjeen laadinnan ja testauksen. Toiminnallisille vaiheille, on yhteistä se, että niillä kaikilla on merkityksensä testin etenemisessä. Kaikki toiminnalliset vaiheet tähtäävät tuloksiin, joiden avulla saadaan vastaukset tutkimusongelmiin.

Testauksessa käytettiin pääpiirteittäin Pienten laboratorioden kliinisen kemian analysaattorin koestusohjelmaa (Kaihola, ym. 1990, 176–181). Koestussuosituksessa kehoitetaan käyttämään sataa näytettä, mutta näytteitä oli keräämässä vain yksi henkilö, tutkimuksen tekijä, joten näyte-

määrää täytyi vähentää. Näytteiden määrää rajoitti myös laktaattivierimittarin testiliuskojen lukumäärä, joka lopulta määräsi myös näytteenantajien määrän.

4.3.1 Esivalmistelut

Näytteenantajat

Testiin tarvittavat näytteet päätettiin kerätä vapaaehtoisilta näytteenantajilta. Heille ei määritelty mitään erityisiä kriteerejä, kuka vain voisi osallistua. Heiltä ei myöskään vaadittu paastoa tai muita esivalmisteluja ennen näytteenottoa, jotta saataisiin pitoisuuksiltaan mahdollisimman monipuolisia testinäytteitä. Heitä kuitenkin päätettiin kehottaa välttämään raskasta ruokailua juuri ennen näytteenottoa sekä istumaan 15 minuuttia ennen näytteenottoa verenkierron tasaantumiseksi, kuten yleensä ohjeistetaan ennen näytteenottoa.

Näytteenantajat saivat tietää oman laktaattiarvonsa vierimittarilla mitattuna heti näytteenottolanteessa. Analysointoreilla määritetyt tulokset jäisivät vain testin tekijälle. Tulosten katsottiin olevan tarpeettomia näytteenantajille, sillä testissä testataan laktaattimääritystä, ei ihmisten terveydentilaa. Näytteet päätettiin lisäksi kerätä täysin anonymisti. Näin varmistutaan, että kenenkään tulos ei ole jäljitettävissä.

Kutsukirje

Näytteenantaja kutsuttiin näytteenottoon kutsukirjeellä (liite 1). Kirjeen alkuun tuli kohtelias tervehdys lukijoille sekä tutkimuksen ja sen tekijän esittely. Heti alkuun mainittiin, että tutkimukseen haetaan verinäytteenantajia, jotta kirjeen vastaanottanut ymmärtäisi välittömästi mistä kutsussa on kyse. Seuraavaksi kerrottiin millaisia näytteitä vapaaehtoisista otetaan, kuinka kauan aikaa siihen kuluu ja miten näytteenottoon valmistaudutaan. Lisäksi painotettiin, että näytteet kerätään anonymisti ja tutkimuksella on OAMK:n sosiaali- ja terveystieteiden yksikön yksikönjohtajan myöntämä tutkimuslupa.

Pieni teoriaosia haluttiin sisällyttää kutsukirjeeseen, jotta kutsun saanut tietäisi, mitä hänestä otetusta näytteestä määritettäisiin. Määrityksen yleisimpänä indikaationa olevat sairaudet jätettiin kuitenkin mainitsematta, sillä kenenkään terveydentilaa ei tulosten perusteella arvioitu. Loppuun laitettiin reipas kehoitus ottaa yhteyttä tutkimuksen tekijään ja näytteenottoajankohta. Kutsukirjeen sanamuotoja mietittiin myös ohjaajien ja vertaisarvioijan kanssa, jotta siitä tulisi mahdollisimman hyvä.

Tulosten kirjaamislomakkeet

Kliinisen kemian analysaattorin ja vierimittarin tuloksia varten laadittiin tulosten kirjaamislomakkeet (liite 2). Analysaattoreita varten on tuloslomakkeessa kolme saraketta yhdelle näytteelle, sillä niistä määritetään kolme rinnakkaista tulosta. Lomakkeeseen laitettiin myös ”Huomioitavaa” -sarake mahdollisille poikkeamille. Vierimittarituloksille on vain yksi tulossarake, koska sillä ei määritetty rinnakkaistuloksia.

Kutsukirjeen lähetys ja näytteenottoaikojen varaus

Kutsu lähetettiin Oulun seudun ammattikorkeakoulun opiskelijoille ja henkilökunnalle sähköpostitse 29.4.2010. Kirjeen ensimmäisellä lähetyskerralla saatiin 18 näytteenantajaa vahvistettua, joten se päätettiin lähettää vielä toisen kerran 6.5.2010. Toisella kerralla saatiin loputkin mukaan. Yhteensä heitä tarvittiin 24 ja heidät otettiin mukaan ilmoittautumisjärjestyksessä. Jokaisen kanssa sovittiin erikseen tarkempi näytteenottoaika.

Verinäytteet täytyi sentrifugoida ja erotella 30 minuutin kuluessa näytteenotosta. Siitä syystä täytyi laskea, kuinka monta näytettä pystyttiin ottamaan tietyssä ajassa. Lopulta päädyttiin ottamaan kolme näytettä tunnissa: ensimmäinen aina tasatunnein, toinen 10 minuuttia yli tasan ja kolmas 20 minuuttia yli tasan. Näin laskimoverinäytteet ehdittiin sentrifugoida ja erotella näytteet ohjeen mukaan. Näytteenottoaika varattiin kaikille enintään 10 minuuttia. Ensimmäiselle päivälle varattiin lopulta 15 näytteenottoaika ja toiselle päivälle 9 aikaa. Koska näytteenottoon oli runsaammin aikaa, kuin mitä näytteenantaja kävi, heitä otettiin näytteenottoon lopulta yhdestä kolmeen yhden tunnin aikana.

4.3.2 Näytteenotto ja laskimoverinäytteiden käsittely

Näytteenantajia kehoitettiin saapumaan paikalle 15 minuuttia ennen sovittua aikaa, jotta he ehtivät levätä hetken ennen näytteenottoa. Näytteet kerättiin Oulun seudun ammattikorkeakoulun palvelulaboratorion näytteenottoluokassa. Paikka valittiin siksi, koska siellä on valmiiksi näytteenottotuolit ja muut näytteenottoon tarvittavat välineet sekä ulkopuolella pieni odotustila.

Jokaisesta näytteenantajasta otettiin ensin sormenpäältä ihopistosverinäyte Lactate Scout -vierimittarin laktaattimääritystä varten. Näyte otettiin kaikilta kämmenen puolelta keskisormen päältä, hieman sivusta. Näytteenottokohta desinfioitiin ensin pyyhkäisemällä se 80-prosenttiseen etanoliin kostutetulla puhdistuslapulla. Näytteenottokohdan annettiin kuivua hyvin ennen pistosta,

ja ensimmäinen veripisara pyyhkäistiin pois puhtaalla, kuivalla puhdistuslapulla, jotta etanolia ei varmasti joutuisi näytteeseen. Näyte otettiin reagenssiliuskaan toisesta veripisarasta. Laite mittasi tuloksen, joka kirjattiin pikamittarin tulosten kirjaamislomakkeeseen. Tulokset numeroitiin juoksevilla numeroinnilla 1–24 näytteenottojärjestyksessä. Kun tulos valmistui, se kerrottiin näytteenantajalle.

Laskimoverinäytteet otettiin kaikilta kyynärtaipeen laskimosta. Näytettä otettiin neljään 2 ml:n natriumfluoridi–kaliumoksalaatti-putkeen eli niin sanottuun sokeriputkeen. Putkia otettiin neljä siksi, että plasmaa varmasti riittäisi kolmeen rinnakkaisnäytteeseen kahdella eri analysaattorilla. Kahdesta millilitrasta verta saa plasmaa noin puolet tai kaksi kolmasosaa, mikä riippuu ihmisen hematokriitistä eli punasolujen yhteistilavuudesta. Puristussidettä käytettiin kaikkien näytteenantajien laskimonäytteenotossa suonien etsimiseen, mutta se avattiin välittömästi, kun verta alkoi tulla putkeen. Näytteet saatiin kaikilta näytteenantajilta heti ensimmäisellä pistoksella. Täytetyt putket laitettiin välittömästi näytteenoton jälkeen mekaaniseen näytesekoittajaan, joka käänsi niitä ensin 10 kertaa. Tämän jälkeen putkia käännettiin vielä muutaman kerran käsin niin, että putkessa oleva hyytymisenestoaine oli silmin nähden liennut vereen.

Putket numeroitiin välittömästi sekoittamisen jälkeen samalla numerolla, kuin mikä oli pikatuloksen numero. Näytteet kerättiin lopulta ripeämmin, kuin suunnitelma oli, jolloin ne eivät seisooneet sentrifugoimattomina kauemmin kuin 15 minuuttia. Näytteet sentrifugoitiin palvelulaboratorion MSE Mistral 3000E-sentrifugilla 10 minuuttia nopeudella 2300 rpm (kierrosta minuutissa). Välittömästi sentrifugoinnin jälkeen neljän samasta näytteenantajasta peräisin olevat näytteen plasmat yhdistettiin yhteen suureen putkeen ”pooliksi”, jotta määrityksissä kaikki rinnakkaistulokset olisi määritetty laktaattipitoisuudeltaan mahdollisimman homogeenisestä näytteestä. Myös lopullinen putki sai saman numeron kuin vastaava vierimittaritulos. Erottelun jälkeen näytteet laitettiin välittömästi jääkaappiin, jossa niitä säilytettiin määritykseen asti. Tällöin maanantaina kerättyjä näytteitä jouduttiin säilyttämään yhden päivän pitempään kuin tiistaina otettuja näytteitä, sillä määritykset tehtiin kaikista näytteistä yhdellä kertaa saman viikon keskiviikkona.

Molempina näytteenottopäivinä yksi näytteenantaja jätti tulematta. Heidän tilalleen saatiin kuitenkin uudet näytteenantajat pyytämällä käytävällä oleskelleita opiskelijoita osallistumaan.

4.3.3 Parametrien syöttö ja näyttöiden laktaattimääritys

Määrityksen testaus aloitettiin syöttämällä molempiin Konelab 20i -analysointilaitteisiin määrityksen parametrit. Parametrien ohjelmoinnissa auttoi Konelab Oy:n laitetukihenkilö Timo Särkelä. Hänen oltiin yhteydessä puhelimitse ja hän selosti ohjelmoinnin kulun. (Särkelä, T. 12.5.2010, puhelinneuvottelu.)

Parametrien ohjelmointi alkoi reagenssien määrittelystä, jossa uuden reagenssin tiedot, kuten nimi ja reagenssiasian koko, syötettiin laitteen muistiin. Sen jälkeen määriteltiin uusi testi eli laktaatti. Laitteelle tutkimuksen lyhennetyksi nimeksi annettiin LAKT. Reagenssi nimettiin selvyyden vuoksi samalla nimellä. Testin määrittelyssä syötettiin määrityksen tiedot, jotka olivat reagenssipakkauksen mukana tullessa ohjeessa. Määritettäviä parametreja olivat testin tyyppi, tuloksen yksikkö, desimaalien määrä ja määrityksen ylä- ja alarajat, joiden välillä määrittäminen on lineaarinen.

Testin määrittelyn jälkeen ohjelmoitiin vakiointi- eli kalibraatioparametrit. Ohjelmoitavia parametreja tässä kohtaa olivat muun muassa kalibraatiotyyppi, monenko pisteen kalibrointi on kyseessä, kalibraatiokäyrän suunta ja käytettävä vakioseerumi. Lisäksi laitteeseen ohjelmoitiin testin kulku eli pipetoitavat reagenssi- ja näytemäärät, inkubaatioajat ja mittausaallonpituus. Nämäkin tiedot oli kerrottu reagenssipakkauksen ohjeessa. Ohjelmoinnin jälkeen testi vakioitiin sCal-vakioseerumilla ja kontrolloitiin Nortrol-kontrolliseerumilla molemmilla analysointilaitteilla. Näin voitiin varmistua, että ohjelmointi oli onnistunut ja reagenssit toimivat.

Testiin tarvittavat reagenssit tilattiin koululle jo syksyllä 2009. Niiden vanhenemiskuukausi oli huhtikuu 2010. Testi arvioitiin tutkimussuunnitelmassa suoritettavan ennen tätä, mutta kiireiden vuoksi testausajankohta viivästyi noin kolmella viikolla. Reagensseja päätettiin kuitenkin käyttää testaukseen, sillä niissä ei havaittu pilaantumisen merkkejä, kuten värimuutoksia. Näytteitä ei myöskään käytetty ihmisten terveydentilan arviointiin, joten reagenssien epävarmasta suorituskyvystä ei katsottu koituvan vaaraa.

Laktaattimäärityksiä varten jokaista näytettä jaettiin kolmeen eri näyteastiaan, jotka merkittiin näytteen numerolla, sekä kirjaimin A, B ja C (esimerkiksi 3A, 3B ja 3C). Näytteet ladottiin laitteiden näytesegmentteihin sattumanvaraisessa järjestyksessä. Näytteiden sekaan laitettiin lisäksi Nortrol -seerumikontrollinäytteitä, jotta nähtiin, pysyikö laitteiden suoritusaso samana koko sarjan tulosten määrityksen aikana.

Tulosten valmistuttua ne kirjattiin tulosten kirjaamislomakkeisiin (liite 2), joita oli tulostettu kummallekin analysaattorille omansa. Tuloslomakkeet nimettiin analysaattorikohtaisesti, jotta ne eivät sekoittuisi. Kirjaamislomakkeen avulla voitiin myös varmistua siitä, että analysaattori oli määrittänyt kaikista näytteistä tuloksen. Määritysvaihe sujui ilman teknisiä ongelmia, ja kaikki halutut tulokset saatiin.

4.4 Laktaattimääritystulosten analysointi

Testauksen tulokset listattiin suunnitelman mukaisesti tulosten kirjaamistaulukoihin. Satunnaisesti sarjan keskellä määritettiin myös kontrolleja, jotta voitiin nähdä tulostason pysyvän luotettavana. Koko aineisto on liitteenä (Liite 2). Näytteen numero 14 laktaattipitoisuus oli Konelabilla mittaessa alle testin mittaustalarajan, joten se päätettiin hylätä. Vertailussa oli täten 23 näytettä. Lisäksi Excel-taulukoihin valittiin vain kunkin näytteen A- ja B -tulos, sillä toistettavuus lasketaan kahden rinnakkaistuloksen perusteella (paitsi yksi poikkeus: Konelab 2 -sarjan 20. näytteen A-tulos piti hylätä sen ollessa liian matala, ja sen sijaan käytettiin tulosta C). C-tulokset olivat kuitenkin hyödyksi analysointivaiheessa, jolloin pystyttiin heti arvioimaan rinnakkaistulosten toistettavuutta. Esimerkiksi jos kaksi rinnakkaista tulosta olisivat poikenneet toisistaan huomattavasti, kolmas tulos olisi varmistanut oikean tuloksen.

Menetelmän toistettavuus lasketaan rinnakkaisnäytteistä seuraavilla kaavoilla (4, 5 ja 6) (Kaihola ym. 1990, 181):

KAAVA 4. Sarjan sisäisen toistettavuuden (varianssin) laskukaava

$$s^2 = \sum(d^2)/2n, \text{ jossa}$$

s^2 = varianssi

d = kunkin näytteen rinnakkaismääritysten erotus ($a_1 - a_2$)

n = parien lukumäärä

Varianssin avulla voidaan tarkastella, kuinka paljon rinnakkaistulokset keskimäärin eroavat toisistaan (Heikkilä 1999, 85).

Keskihajonta ($SD = \textit{standard deviation}$) tarkoittaa kuinka paljon tulokset eroavat keskimäärin kahden rinnakkaistuloksen keskiarvosta. Keskihajonta lasketaan varianssista. (Heikkilä 1999, 84.)

KAAVA 5. Keskihajonnan laskukaava

$$SD = s = \sqrt{s^2}, \text{ jossa}$$

SD = keskihajonta

s^2 = varianssi

Kun keskihajonta ilmoitetaan prosentteina sarjan rinnakkaisnäytteiden keskiarvosta, saadaan variaatioprosentti. (Kaihola ym. 1990, 181)

KAAVA 6. Variaatioprosentin laskukaava

$$CV\% = 100 \times SD / X, \text{ missä}$$

$CV\%$ = variaatioprosentti

SD = keskihajonta

X = sarjan rinnakkaisnäytteiden keskiarvo

Kaikki tulokset laskettiin Microsoft Excel -taulukkolaskinohjelmalla. Näin voitiin minimoida laskuvirheet ja tuloksista voitiin suoraan muodostaa kuvioita niiden havainnollistamiseksi. Taulukkolaskin laski analysoiduille sarjoille sisäisen toistettavuuden, keskihajonnan ja variaatioprosentin. Korrelaatioita kuvaavassa diagrammissa asetettiin aina jompikumpi analysaattori referenssiksi x-akselille ja vierimittarin tulosten poikkeaman suuruus referenssistä vähennettynä merkittiin pisteenä y-akselille. Vierimittarituloksille ei voitu laskea sarjan sisäistä toistettavuutta, keskihajontaa eikä variaatioprosenttia, koska sillä ei mitattu rinnakkaisia tuloksia.

Tulokset listattiin niiden keskinäisen vertailun helpottamiseksi. Tulosten analysoinnissa ja taulukkolaskimen käytössä tutkimuksen tekijää auttoivat ohjausryhmään kuuluva tuntiopettaja Jari Jokinen.

5 TESTAUKSEN TULOKSET

5.1 Määrittymenetelmän toistettavuus

Kun Konelab 1:tä ja Konelab 2:ta verrattiin toisiinsa, valitsin referenssiksi Konelab 1:n, sillä sen tulokset olivat aavistuksen verran luotettavammat. Konelab 1:n sisäinen toistettavuuden heitto on 0,000135, kun taas Konelab 2:lla vastaava arvo on 0,00115, eli hieman suurempi. Konelab 1:n keskihajonta on vain 0,01 % ja Konelab 2:lla se on 0,03 %. Lisäksi Konelab 1:n variaatioprosentti (1,2 %) on pienempi kuin Konelab 2:n (3,3 %).

Konelab 1 -analysaattorin analysoiman sarjan:

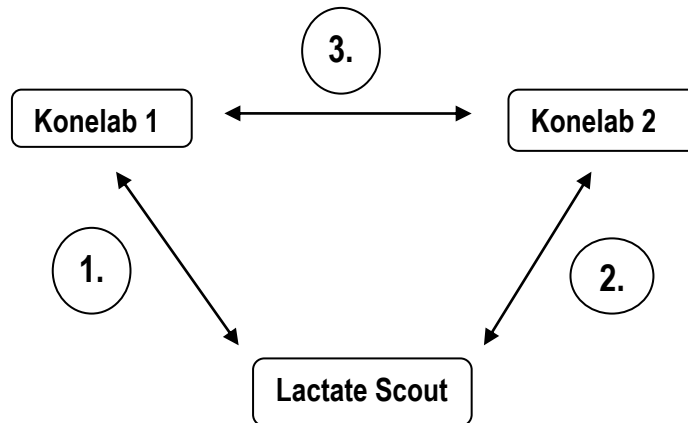
- Sisäinen toistettavuus 0.000135
- Keskihajonta 0.01161 ~ 0.01
- Variaatioprosentti 1.211527 % ~ 1.2 %

Konelab 2 -analysaattorin analysoiman sarjan:

- Sisäinen toistettavuus 0.00115
- Keskihajonta 0.033912 ~ 0.03
- Variaatioprosentti 3.329639 % ~ 3.3 %

5.2 Konelab 1:n ja 2:n tulosten vertailu vierimittarin tuloksiin

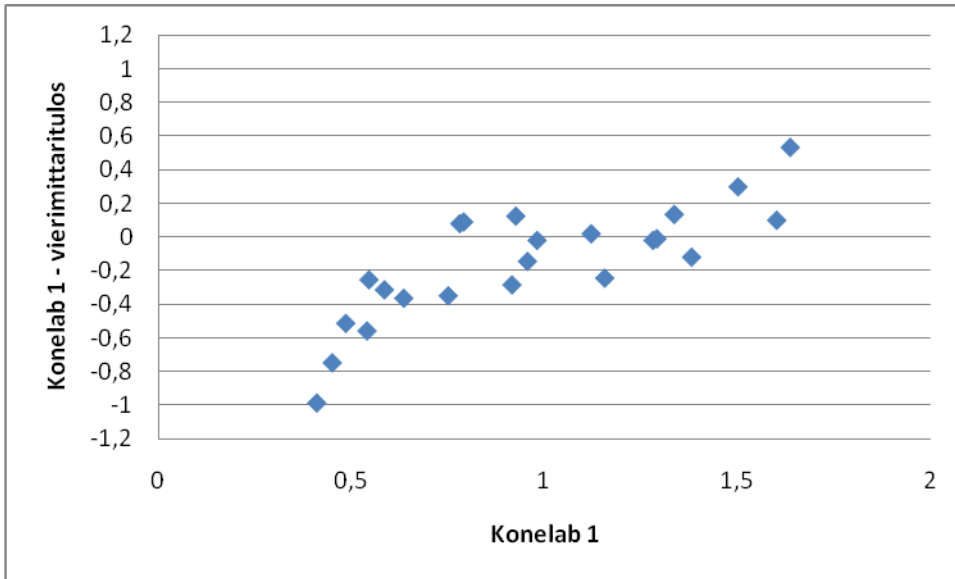
Vastaukset tutkimusongelmiin saatiin Excel-tilukkolaskinohjelmalla piirretyistä kuvaajista. Kuvi-ossa 4 on kuvattu, mitä laitteita verrataan keskenään ja mihin tutkimusongelmaan kukin vertailu antaa vastauksen.



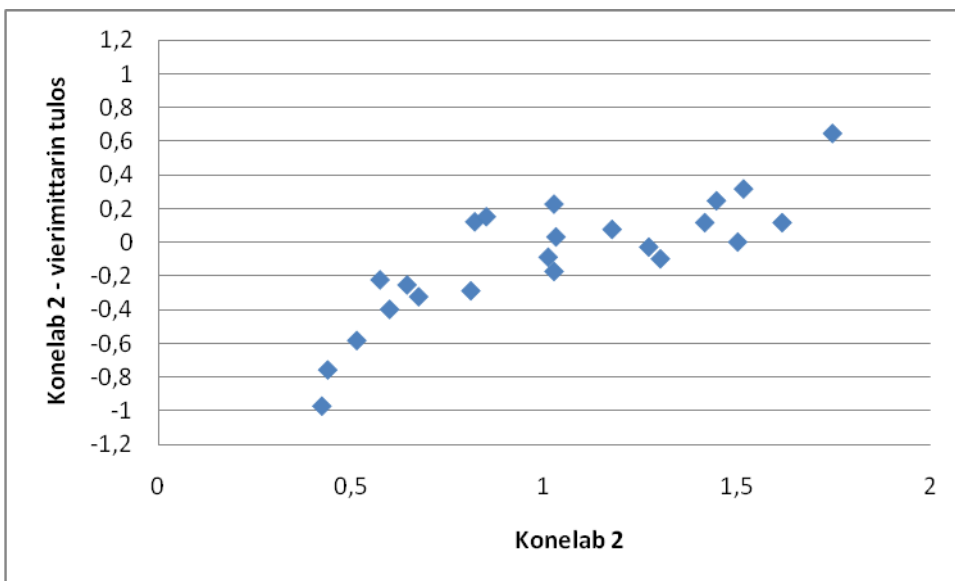
KUVIO 4. Keskenään vertailtavat laitteet. Numerot osoittavat mihin tutkimusongelmaan saadaan vertailussa ratkaisu

Kuviossa 5 vertailtiin Konelab 1 -analysointilaitteen ja Lactate Scout -pikamittarin tuloksia. Vertailu tehtiin asettamalla referenssimenetelmä vaaka- eli x-akselille ja referenssimenetelmän ja verrattavan menetelmän erotukset näytteittäin y-akselille. Kuvaajassa Konelab 1 on referenssimenetelmä (x-akselilla) ja Konelab 1:n rinnakkaistulosten ja Lactate Scout -tulosten erotukset (verrattava menetelmä) sijoituivat y-akselille. Erotus voi olla positiivinen tai negatiivinen. Mitä kauempana piste oli nolasta, sitä suurempi oli näiden kahden eri menetelmän tuloserot. Vaikka taulukossa erot olivat pienet, oli havaittavissa, että referenssiarvon ollessa välillä 0.8–1.5 vierimittarituloksen poikkeama referenssiarvosta oli hyvin pieni, lähes poikkeuksetta alle 0.2. Toisaalta referenssiarvon jäädessä alle 0.8:n poikkeamat olivat useita kymmeniä ja suurensivat samassa suhteessa kuin referenssiarvo pieneni. 1.5:n ylittäviä arvoja oli niin vähän, että niistä on mahdotonta vetää johtopäätöksiä.

Verrattaessa vierimittarin tuloksia Konelab 2 -analysointilaitteen tuloksiin oli havaittavissa samat asiat kuin Konelab 1 -analysointilaitteen kohdalla. Kuvaajat (kuvio 5 ja 6) olivat lähes identtiset keskenään.



KUVIO 5. Vierimittaritulokset verrattuna Konelab 1 -analysointorilla saatuihin tuloksiin

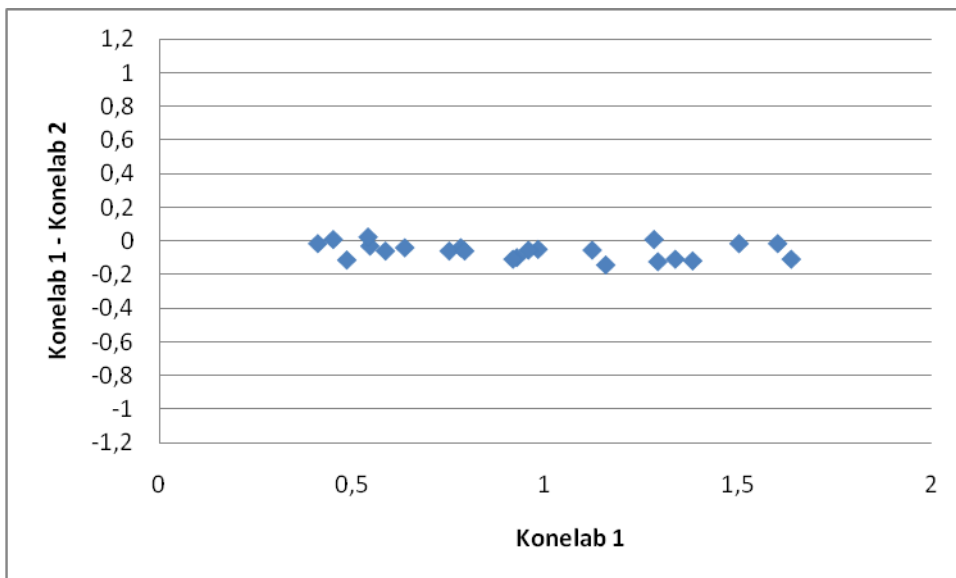


KUVIO 6. Vierimittaritulokset verrattuna Konelab 2 -analysointorilla saatuihin tuloksiin

5.3 Konelab 1:n ja 2:n tulosten vertailu

Kahta analysointorilla verrattessani valitsin referenssiksi Konelab 1:n, sillä sen tulosten sisäinen toistettavuus oli hieman parempi kuin Konelab 2:lla. Kun vertaillaan Konelab 1:n ja Konelab 2:n tuloksia keskenään (kuvio 7), nähdään heti tulosten olevan hyvin lähellä toisiaan. Poikkeamat ovat koko tuloskaalalla alle 0,2. Analysointorilla Konelab 1 ja Konelab 2 luotettavuutta tuki myös se, että vierimittarituloksiin verrattaessa kuvaajat olivat samannäköiset. Toisaalta heti tulos-

ten valmistuessa analysaattorilta voitiin nähdä niiden olevat samanlaiset keskenään. Sarjojen sisäistä toistettavuutta, keskihajontaa ja variaatioprosentteja vertaamalla voidaan todeta Konelab 1 -analysaattorin olleen suorituskyvyltään hieman luotettavampi, mutta erot olivat hyvin pienet.



KUVIO 7. Konelab 2 -analysaattorin tulosten poikkeavuus verrattuna Konelab 1 -analysaattoriin

Ennen tutkimusta kontrollin ja vakion tavoitearvot saatiin Konelab Oy:n laitetukihenkilö Timo Särkelältä sähköpostitse. Käytetyn Nortrol -kontrollin tavoitearvo oli 1.48 mmol/l ja vaihteluväli ± 3 SD (1 SD = 0.186), eli kontrollituloksen arvon piti olla välillä 1.32–1.64 (Nortrol-kontrollipakkauksen ohje 2009). Konelab 2 -analysaattorilla määritettiin neljä kontrollitulosta yhtä aikaa testinäytteiden kanssa sattumanvaraisessa järjestyksessä. Niiden tulokset olivat 1.43, 1.25, 1.42 ja 1.23 mmol/l. Kaksi tulosta oli rajojen ulkopuolella ja kaksi tulosta rajojen sisällä. Tarkempaa syytä kahden kontrollituloksen epäonnistumiseen ei osattu sanoa. Rajojen ulkopuolelle jääneet kontrollit analysoitiin uudestaan, jolloin tulokset olivat rajojen sisällä.

Konelab 1 -analysaattorilla määritettiin kolme kontrollitulosta testisarjojen keskellä sattumanvaraisessa järjestyksessä. Tulokset olivat 1.37, 1.30 ja 1.35 mmol/l. Tuloksista matalin on niukasti hyväksymisrajan alapuolella.

Muutamasta hylätystä kontrollituloksesta huolimatta tulosten arvioitiin olevan luotettavia, sillä kaikkien näytteiden rinnakkaistulokset olivat hyvin lähellä toisiaan. Luotettavia niistä teki myös se, että molempien Konelabien vakioinnin korrelaatio vakion tavoitepitoisuuteen oli 0.999.

6 JOHTOPÄÄTÖKSET JA SOVELTUVUUDEN ARVIOINTI

6.1 Testaustulosten johtopäätökset

Testauksen johtopäätös on, että testauksesta saadut tulokset olivat luotettavat ja Konelab -analysointilaitteet määrittivät laktaattia tarkasti ainakin pienillä pitoisuuksilla. Suuremmista pitoisuuksista ei saatu näyttöä. Konelabien suorituskyvyn voidaan todeta olleen hyvä tarkasteltaessa sarjan sisäistä toistettavuutta varianssin, keskihajonnan ja variaatioprosentin avulla. Kaikki vaihtelut olivat hyvin pienet. Jos analysointilaitteita käytetään potilastulosten määrittämiseen, näin pienet poikkeamat eivät käytännössä vaikuta tuloksiin juuri lainkaan. Suorituskyvystä korkeilla pitoisuuksilla ei kuitenkaan saatu juuri näyttöä tässä tutkimuksessa.

Vertailumenetelmänä käytetty Lactate Scout -vierimittari osoittautui myös jokseenkin luotettavaksi. Jonkinlaista mittausepävarmuutta oli matalilla pitoisuuksilla mitattaessa, mutta on muistettava laitteen mittausalarajan olleen 0.6 mmol/l. Kuvaajia katsomalla on havaittavissa, että myös pitoisuuksien kasvaessa poikkeamat analysointilaitteen vastaavista arvoista suurenevat. Vaikka mittari ei päässyt aivan samalle tulostasolle kliinisen kemian analysointilaitteiden kanssa, sen voitiin kuitenkin katsoa olleen suhteellisen luotettava.

6.2 Menetelmäohjeen laadinta ja testaus

Palvelulaboratoriossa on menetelmien käyttöohjeet tutkimuksittain koottuna erityiseen tutkimusohjekansioon. Testauksen jälkeen laktaattia voidaan mitata molemmilla analysointilaitteilla, joten sillekin täytyi laatia käyttöohje (liite 3). Ohje laadittiin samalla tavalla kuin muutkin kansion ohjeet. Se on suomenkielinen, seikkaperäinen ja selkeä. Se sisältää tietoa tutkimuksen biokemiallisesta taustasta, kliinisestä merkityksestä, näytteenotto-ohjeen, potilaan valmistautumisohteen, tutkimusnimen- ja lyhenteen, vakion ja kontrollin tiedot, viiterajat, menetelmän periaatteen sekä tietoa reagensseista ja ohjeen sen valmistamiseen. Ohjeen laatimiseen käytettiin viitekehukseen kerättyä tutkimustietoa.

Ohje testattiin käytännössä bioanalytiikko-opiskelijoilla. Testaus toteutettiin antamalla ohje opiskelijoille saatekirjeen kera. Heitä pyydettiin vakioimaan ja kontrolloimaan testi sekä ottamaan ai-

nakin yksi näyte toisistaan ja tekemään siitä rinnakkaismääritykset. Testauksella arvioitiin sitä, oliko ohje kattava ja pystyivätkö opiskelijat toteuttamaan määrityksen.

Palvelulaboratoriovuorossa työskentelevät bioanalyttikko-opiskelijat testasivat määritystä. He onnistuivat suorittamaan laktaattimäärityksen ja tekivät sillä oman testauksen: he ottivat ensin yhdestä opiskelijasta leponäytteen ja lisäksi näytteen erilaiseen sokerimääritykseen käytettävään putkeen. Sitten opiskelija kävi juoksemassa itsensä läkähdyksiin, jotta laktaattipitoisuus veressä lisääntyisi. Tämän jälkeen otettiin välittömästi vielä uusi näyte. Leponäytteestä määritettiin kaksi rinnakkaistulosta, jotka olivat 1.20 mmol/l ja 1.23 mmol/l eli hyvin lähellä toisiaan. Sokeriputkeen, joka ei sisältänyt kalium-oksalaattia, otetusta näytteestä mitattiin laktaattipitoisuudeksi 1.45 mmol/l. Juoksun jälkeiset arvot olivat 5.19 mmol/l ja 5.35 mmol/l. Vaikka juoksun jälkeiset tulokset hieman eroavatkin toisistaan, käytännön kannalta näin pienellä erolla ei ole mitään merkitystä. Opiskelijat ehtivät hyvin suorittaa kaikki määritykset palvelutoimintavuorossa klo 8.00–12.30 välisenä aikana.

6.3 Laktaattimäärityksen soveltuvuus palvelulaboratorion käyttöön

Laktaattimääritys todettiin testauksen jälkeen luotettavaksi ja käyttökelpoiseksi. Yksi määrittäminen on hyvin edullinen materiaalikustannuksiltaan, 69 senttiä, ja se on mahdollista toteuttaa palvelulaboratoriossa yhtä helposti kuin muutkin käytössä olevat kliinisen kemian tutkimukset.

Laktaattimääritys on melko harvoin tilattu tutkimus. Tästä syystä se ei tule rutiinikäyttöön myöskään palvelulaboratorioon. Testauksen jälkeen sen määrittämiseen on kuitenkin valmius ja menetelmäohje. Näkisin laktaattimäärityksen tulevaisuuden osana palvelulaboratorion tutkimusvalikoidaan niin sanottuna tilaustutkimuksena: se voitaisiin tilata tietyksi ajankohdaksi esimerkiksi kunto-testauksia varten muutamaa viikkoa aiemmin, jolloin reagenssit voidaan tarvittaessa tilata ja suunnitella näytteenottojärjestelyt. Näytteenottajan ei ole pakko olla bioanalyttikko-opiskelija, mutta näytteen käsittely, analysointien käyttö ja näytteiden analysointi kuuluisi kuitenkin alan opiskelijoille. Bioanalyttikko-opiskelija pystyy suorittamaan näytteenoton ja laktaattimäärityksen toisen vuoden opinnoille edettyään. Sen osoitti laktaattimääritysohjeen testaus opiskelijoilla.

Laktaattimääritykselle kuului arvioida hinta, joka on eritelty tarkemmin liitteessä 5. Päivän ylläpito-kuluihin menee aina noin 5,4 euroa. Hinta sisältää vakion, kontrollin, näytekupit, mittauskyvetit, yhden päivän osuuden Konelabin huoltosopimuksen kuukausimaksusta ja reagenssin. Yhden lak-

taattimäärityksen hinta, 69 senttiä, sisältää näyteputken, näytteenottoneulan, reagenssin, näytekupin ja mittauskyvetin. Jos palvelulaboratoriossa tehtäisiin vain yksi laktaattimääritys päivässä, hinnaksi täytyisi laittaa vähintään kuusi euroa, jotta se kattaisi materiaalikustannukset ja päivän kulut. Yrityksen alainen toiminta tahtonee kuitenkin voittoa myymistään palveluista, joten määrityksen hinta voisi olla esimerkiksi 10 euroa. Jos laktaattimääritystä käytetään projekteissa, sille on varmasti parempi laskea kiinteä hinta esimerkiksi 10 tai 20 määritykselle, sillä kuntomittauksiin tarvittavien useiden määritysten vuoksi yksittäishinnasta voi tulla este käytölle. Useamman määrityksen tekeminen yhdellä kertaa tulee huomattavasti halvemmaksi, kuin yksittäiset mittaukset. Toinen tapa myydä laktaattimääritystä olisi laittaa 10 euroa lähtöhinnaksi yhdelle määritykselle ja sen ylittävistä perittäisiin tietty lisämaksu, esimerkiksi kaksi euroa määritykseltä. Näytteitä voidaan säilyttää kaksi päivää ennen määrityksiä, jolloin peräkkäisinä päivinä kerätyt näytteet kannattaa analysoida yhdellä kertaa.

Asiakasmääriä mietittäessä ei mielestäni tarvitse huolehtia laitteen suorituskyvystä. Suuremman huomion tarvitsevat käytännön järjestelyt, kuten näytteenottoaika ja näytteiden sentrifugointimahdollisuus, jotka asettavat omat rajoitteensa testauksille. Sosiaali- ja terveystieteiden yksikössä on kuntosali opetuskäytössä. Siellä on noin kuuden henkilön mahdollista tehdä yhtä aikaa maksimaalinen harjoitus juoksumatolla, cross trainerilla ja kuntopyörillä. Kuntosali on vain yhtä kerrosta alempana kuin laboratoriotilat, joten käytännön järjestelyiden ja tilojen puolesta kuntomittaukset voidaan järjestää.

Laktaattimäärityksen mahdolliset tilaukset tulevat varmaankin olemaan satunnaisia, ja siksi on turhaa pitää reagensseja koulussa varastossa. Reagenssien säilyvyys on useita kuukausia, jopa vuosia, mutta paketti sisältää seitsemän pulloa reagenssia, joten vaikka tarvetta määrityksille olisikin, todennäköisesti osa reagensseista vanhenisi silti. Yhden pullon reagenssi riittää noin 47 määritykseen. Toisaalta, jos määrityksistä saatava voitto on suurempi kuin vanhenevien reagenssien hinta, ei reagenssien käyttämättä jääminen aiheuta tappiota.

Mielestäni laktaattimääritys soveltuu palvelulaboratorion käyttöön. Jos laktaattimääritysprojekteja tulee, ne olisivat mielenkiintoisia myös opiskelijoiden kannalta ja toisivat vaihtelua palvelulaboratorion toimintaan. Suosittaisinkin kuitenkin laktaattimäärityksen lisätestauksia erityisesti suuremmilla pitoisuuksilla ennen varsinaista käyttöönottoa. Lisäksi olisi hyvä hankkia korkean tason kontrolli, jotta voidaan varmistua laadusta myös suurempia pitoisuuksia määritettäessä.

7 POHDINTA

Testauksesta saatujen tulosten perusteella voitiin todeta, että Konelab 20i:llä pystytään määrittämään laktaattia luotettavasti. Testin aikana havaittiin kuitenkin asioita, joilla on voinut olla vaikutusta tuloksiin. Näytemäärä oli suhteellisen pieni, mikä johtui testausvälineiden rajallisuudesta; olisin mielelläni kerännyt ainakin 30 näytettä. Näytemäärän jäädessä 23:een oli odotettavissa, että laktaattipitoisuuksien vaihteluväli jää melko pieneksi. Myös ääripään tuloksia oli vain muutama, jolloin ei tule sellaista toistoa, jota tarvittaisiin tilastollisesti varmistamaan luotettavuus suurilla ja pienillä laktaattipitoisuuksilla. Yksikään tulos ei ollut edes yli 2.0 mmol/l, joten määrittäminen jäi täysin testaamatta suurilla pitoisuuksilla. Viisi tulosta oli alle viiterajan 0.6, joten toistoa tuli jonkin verran pienillä pitoisuuksilla. Viidestä viiterajan alittavasta tuloksesta yksi jouduttiin kuitenkin hylkäämään, koska tulos oli alle mittausalueen alarajan 0.40 mmol/l.

Ennen mittauksia pohdin, pitäisikö minun itse luottaa vakiot ja reagenssit, joita tarvitsisin määrittämyksiin. Molempia oli kuitenkin liuotettu vasta iso erä pakkaseen. Katsoin, että voin käyttää niitä, sillä ne olivat tuoreita ja tekijä luotettava. Samoja kontrolleja ja vakioita käytetään myös muihin määrittämyksiin, joten palvelutoiminnassa toimineet opiskelijat olisivat varmaankin havainneet niiden mahdolliset valmistusvirheet.

Näytteet keräsin kahtena päivänä. Yhdestä ihmisestä otin neljä putkea verta, jotka sentrifugoin ja erottelin puolen tunnin sisällä näytteenotosta. Riittämättömän setrifugoinnin tai huolimattoman pipetoinnin vuoksi huomasin muutaman näyteputken pohjalla seuraavana päivänä hieman punasoluja. Niitä oli silti vain hyvin pieni määrä, eivätkä ne olleet hemolysoituneet (hajonneet) plasman sekaan. Varoin pipetoimasta punasoluja analysaattoriin meneviin näytekuppeihin, eikä niillä näyttänyt olevan vaikutusta testauksen tuloksiin.

Näytteenottojärjestelyjä mietittäessä olisi voitu varmistaa myös suurten laktaattipitoisuuksien testaus järjestämällä näytteenotto niin, että näytteenantajat olisivat antaneet kahdet näytteet. Ensimmäinen olisi mitattu lepoarvo, sitten näytteenantaja olisi juossut itsensä läkähdyksiin ja olisi otettu taas uusi näyte. Se ei olisi ollut erityisen vaikea toteuttaa, sillä Sosiaali- ja terveystieteiden yksikön rakennuksessa on kuntosali, joka on lähellä laboratoriotiloja. Kuntosalista laboratorioon siirtymisen aikana laktaattia ei ehdi poistua verestä niin paljon, etteikö luotettavia mittaustuloksia saataisi. Li-

säksi rasisementin lisääminen näytteenottotilanteeseen ei välttämättä olisi houkutelut niin monta osanottajaa yhtä helposti ja lyhyessä ajassa kuin tässä tutkimuksessa.

Vaikka tutkimustulokset olivat hyvät, niitä kannattaisi testata vielä lisää. Esimerkiksi aiemmin mainitun koetilanteen järjestäminen voisi mielenkiintoinen ja hyödyllinen myös tutkimukseen osallistuville. Menetelmäohjeen testaus antoi olettaa, että järjestelyt voitaisiin tarvittaessa järjestää palvelulaboratorion läheisyydessä. Lisäksi opiskelijoiden suorittaman kokeen tulokset olivat lupaavat, sillä rinnakkaismääritykset olivat lähellä toisiaan. Tutkimukseni perusteella laktaattimitausta voidaan tarjota erilaisiin projekteihin, joissa anaerobista kynnystä ja maksimaalista suorituskykyä mitataan. Projektit voisivat olla myös niin sanottuja seuranta tutkimuksia, joissa mitataan lähtötaso ja tietyn kestävyys harjoittelujakson jälkeen tehtäisiin uudet mittaukset samoissa olosuhteissa. Se voisi luoda palvelulaboratoriolle työtä myös uusien yhteistyökumppanien kanssa. Näytteenotto laskimosta ja näytteen käsittely vaativat sen, että urheilu suorituksen täytyy tapahtua Sosiaali- ja terveysalan yksikön tiloissa tai sen välittömässä läheisyydessä.

Mikäli laktaattimääritykselle ei tule käyttöä palvelulaboratoriossa, sitä voidaan hyödyntää muun muassa opetuksessa kliinisen kemian kurssilla. Laktaattipitoisuuksien tutkimisesta saisi varmasti mielenkiintoisen oppimistehtävän, jos tutkitaan lepopitoisuuksia ja rasituksen jälkeisiä pitoisuuksia. Viimeistään tällöin saataisiin tarvittavaa näyttöä määrityksen luotettavuudesta myös suuremmilla laktaattipitoisuuksilla.

Teoriaosuuteen tahdoin kertoa solujen energiantuotosta, sillä laktaatin muodostuminen on yksi energiantuottomenetelmä kehossa. Mielestäni aerobisen energiantuoton ymmärtäminen on tärkeää, sillä silloin voi ymmärtää, miten anaerobinen energiantuotto eroaa siitä. Laktaattimäärityksiä käytetään jonkin verran kestävyysurheilussa aerobisen hapenottokyvyn paranemisen mittarina, mutta lähteitä tutkiessani huomasin tietojen laktaatin käyttäytymisestä elimistössä olevan vielä epäselviä. Epävarmuutta mittauksiin tuo se, että ei voida olla varmoja mitkä kudokset käyttävät laktaattia suoraan plasmasta hyödyksi, ilman että se muutetaan ensin maksassa glukoosiksi. Toisaalta mittaus on varsin mielenkiintoinen, jos ei keskitytä muuhun kuin siihen, miten paljon laktaatin määrä veressä on kuntoilujakson jälkeen samanlaisissa rasisolosuhteissa vähentynyt. Laktaattia kuitenkin kiistatta muodostuu nopean, anaerobisen energiantuoton kiihtyessä.

Tutkimuksessa perehdyin Moodi-lehden Pienten laboratorioden klinisen kemian analysaattorin koestusohjelmaan. Laboratoriot uudistavat toimintaansa laitehankinnoilla yhä useammin, ja uusia laitteita koestetaan aina ennen käyttöönottoa. Koestuksen käytännön osuksista vastaavat yleensä laboratoriohoitajat. Koen laitteiden käytön, testaamisen ja käyttöön soveltumisen arvioinnin opetteluun kasvattavan ammatillista osaamistani ja olevan minulle etu työelämään hakeutuessani. Keräsin tutkimuksessa käytettävät näytteet itse, jolloin sain hyvää kokemusta näytteenotosta ja lisää varmuutta sen tekniseen suoritukseen. Lisäksi opin tekemään tutkimustyötä, etenkin määrällistä tutkimusta, jonka metodologiaa noudatin tässä työssä.

LÄHTEET

Armstrong, N. & Chia, M. 2007. Maximal Intensity Exercise. Teoksessa Armstrong, N. Pediatric Exercise Physiology. Churchill Livingstone Elsevier. 99–117.

Deuster, P. A. & Heled, Y. 2008. Testing for Maximal Aerobic Power. Teoksessa Seidenberg, P. H. & Beutler, A. I. (toim.) The Sports Medicine Resource Manual. Philadelphia: Saunders Elsevier. 520–527.

Heikkilä, T. 1999. Tilastollinen tutkimus. 2. uudistettu painos. Helsinki: Oy Edita Ab.

Heino, J. & Vuonto, M. 2007. Biokemian ja solubiologian perusteet. 1. painos. WSOY Oppimateriaalit Oy.

Heinonen, O. 2005. Liikunnan vaikutus kliinis-kemiallisiin suureisiin. Teoksessa Vuori, I., Taimela, S. & Kujala, U. (toim.) Liikuntalääketiede. 3. uudistettu painos. Helsinki: Kustannus Oy Duodecim. 132–143.

Helsingin ja Uudenmaan sairaanhoitopiirin laboratorio-ohjekirja.

http://huslab.fi/cgi-bin/ohjekirja/tt_show.exe?assay=2184&terms=laktaatti. Hakupäivä 20.2.2010.

Hiltunen, E., Holmberg, P., Kaikkonen, M., Lindblom-Ylänne, S., Nienstedt, W. & Wähälä, K. (toim.) 2006. Galenos, ihmiselimityö kohtaa ympäristön. 6.–7. painos. Helsinki: WSOY.

Jokela, H. & Åkerman, K. 2010. Laboratorion perusmenetelmät. Teoksessa Niemelä, O. & Pulkki, K. (toim.) Laboratoriolääketiede – kliininen kemia ja hematologia. 3. uudistettu painos. Helsinki: Kandidaattikustannus Oy.

Kaiholan, H.-L., Rintola, P. & Sandbacka, B. 1990. Pienten laboratorioiden kliinisen kemian analysointin koestusohjelma. Moodi 14, (3), 176–185.

Kananen, J. 2008. Kvantti – Kvantitatiivinen tutkimus alusta loppuun. Jyväskylä: Jyväskylän ammattikorkeakoulu.

Linko, S. 2004. Kontrollien merkityksestä käytännön laboratoriotyössä. *Moodi* 28, (2), 60.

Oulun yliopistollisen sairaalan laboratorio-ohjekirja. 2008.

<http://oyslab.fi/>. Tutkimus B-Laktaat. Hakupäivä 25.9.2010.

<http://oyslab.fi/>. Tutkimus Li-Laktaat. Hakupäivä 25.9.2010.

Patton, M. Q. 1990. *Qualitative evaluation and research methods*. Second edition. Newbury Park, California: Sage.

Rautio P. 2007. Komparatiivinen metodi. <http://www2.uiah.fi/projekti/metodi/072.htm>. Hakupäivä 17.10.2010

SensLab GmbH. <http://www.senslab.de/index.php?id=2&cid=1&csid=3&vid=cxsBC0k0idEVi2kj>. Hakupäivä 25.9.2010

Seppälä, E. & Tuokko S. 2010. Potilas ja näyte. Teoksessa Niemelä, O. & Pulkki, K. (toim.) *Laboriolääketiede – kliininen kemia ja hematologia*. 3. uudistettu painos. Helsinki: Kandidaattikustannus Oy.

Stryer, L. 1988. *Biochemistry*. Third edition. New York: W. H. Freeman and Company.

Särkelä, T. 12.5.2010, puhelinneuvottelu. Konelab Oy:n laitetukihenkilö.

Thermo Fisher Scientific. Internet -sivu ja sivulta saatava Konelab 20 ja 20X -tuotelehtinen. <http://www.thermo.com/com/cda/product/detail/0,1055,13907,00.html>. Hakupäivä 28.2.2010.

Thermo Fisher Scientific. Laktaattireagenssipakkauksen ohje. 2008.

Thermo Fisher Scientific. Nortrol-kontrollipakkauksen ohje. 2009.

Thermo Fisher Scientific. sCal-vakiopakkauksen ohje. 2007.

Tolfrey, K. 2007. Responses to training. Teoksessa Armstrong, N. Pediatric Exercise Physiology. Churchill Livingstone Elsevier. 213–234.

Turun yliopistollisen keskussairaalan laboratorio-ohjekirja. 2009.
<http://www.tyks.fi/store/tykslab/ohjekirja/2184.html>. Hakupäivä 29.12.2009.

Uotila, L. 2010. Neste-, elektrolyytti- ja happo-emästasyyminen. Teoksessa Niemelä, O. & Pulkki, K. (toim.) Laboratoriolääketiede – kliininen kemia ja hematologia. 3. uudistettu painos. Helsinki: Kandidaattikustannus Oy.

LIITTEET

LIITE 1. Kutsukirje

LIITE 2. Tulosten kirjaamislomakkeet

LIITE 3. Menetelmäohje

LIITE 4. Laktaattireagenssien sisältö

LIITE 5. Laktaattimääritysvälineiden hinnat

Arvoisat opiskelijat ja opettajat,

Olen Bio7sn-ryhmän opiskelija ja opinnäytetyössäni testaan laktaattimääritystä koulumme palvelulaboratorion käyttöön. Tarvitsen tutkimukseeni 24 vapaaehtoista verinäytteenantajaa.

Kultakin näytteenantajalta otetaan verinäyte kyynärtaipeen laskimosta sekä tehdään pikamittaus sormenpäältä. Aikaa näytteenottoon kuluu vain noin 10 minuuttia. Kuka tahansa voi ilmoittautua antamaan näytteen. Näytteenottoon ei tarvitse valmistautua mitenkään erityisesti, mutta raskasta ruokailua olisi hyvä välttää ennen näytteenottoa. Lisäksi ennen näytteenottoa on hyvä istua 15 minuuttia verenkierron tasaantumiseksi. Näytteet kerätään nimettömästi ja merkitään ainoastaan juoksevalla numeroinnilla. Kenenkään henkilön tuloksia ei pystytä jäljittämään jälkeinpäin. Minulla on Sosiaali- ja terveysalan yksikön johtajan lupa tutkimukseen ja aineiston keruuseen.

Laktaatista puhutaan yleisesti maitohappona. Sitä muodostuu pääasiassa raskaan liikuntasuorituksen aikana hapettomassa energianmuodostuksessa, jolloin pitoisuus veressä voi nousta 10–20-kertaiseksi lepotilaan nähden. Laktaattia on aina jonkin verran veressä lepotilassakin.

Lähdethän reippaasti mukaan auttamaan opinnäytetyön toteutuksessa! Antaessasi näytteen saat tietää oman tuloksesi pikamittarilla mitattuna. Kerään näytteet 10.–11.5. koulumme laboratoriossa 2C -siivessä.

Ilmoittaudu näytteenottoon vastaamalla tähän viestiin, ja voimme sopia tarkemman näytteenottoajan.

Keväisin terveisin,

Katri Holappa,

Bioanalyytikko-opiskelija

Konelab 1

| Näyte nro: | A | B | C | Huomioitavaa |
|------------|-------|-------|-------|--|
| 1 | 0,49 | 0,49 | 0,48 | |
| 2 | 0,77 | 0,77 | 0,79 | |
| 3 | 1,13 | 1,12 | 1,12 | |
| 4 | 0,77 | 0,75 | 0,75 | |
| 5 | 1,32 | 1,27 | 1,29 | |
| 6 | 1,42 | 1,38 | 1,39 | |
| 7 | 0,60 | 0,59 | 0,58 | |
| 8 | 0,98 | 0,98 | 0,98 | |
| 9 | 0,93 | 0,94 | 0,91 | |
| 10 | 1,16 | 1,14 | 1,17 | |
| 11 | 1,35 | 1,34 | 1,33 | |
| 12 | 0,80 | 0,79 | 0,79 | |
| 13 | 1,31 | 1,29 | 1,29 | |
| 14 | <0,40 | <0,40 | <0,40 | Hylätään (tulos alle mittaustalarajan) |
| 15 | 0,66 | 0,63 | 0,64 | |
| 16 | 0,89 | 0,91 | 0,92 | |
| 17 | 0,46 | 0,44 | 0,46 | |
| 18 | 1,59 | 1,62 | 1,65 | |
| 19 | 0,53 | 0,55 | 0,54 | |
| 20 | 0,41 | 0,40 | 0,42 | |
| 21 | 0,95 | 0,97 | 0,94 | |
| 22 | 1,48 | 1,50 | 1,50 | |
| 23 | 0,55 | 0,55 | 0,53 | |
| 24 | 1,57 | 1,60 | 1,60 | |

Konelab 2

| Näyte nro: | A | B | C | Huomioitavaa |
|------------|-------|-------|-------|---|
| 1 | 0,53 | 0,62 | 0,58 | |
| 2 | 0,79 | 0,83 | 0,81 | |
| 3 | 1,21 | 1,17 | 1,18 | |
| 4 | 0,79 | 0,81 | 0,81 | |
| 5 | 1,36 | 1,27 | 1,27 | |
| 6 | 1,43 | 1,53 | 1,47 | |
| 7 | 0,60 | 0,67 | 0,62 | |
| 8 | 1,02 | 1,03 | 1,03 | |
| 9 | 1,04 | 1,06 | 0,99 | |
| 10 | 1,31 | 1,28 | 1,32 | |
| 11 | 1,34 | 1,46 | 1,43 | |
| 12 | 0,86 | 0,84 | 0,86 | |
| 13 | 1,30 | 1,42 | 1,41 | |
| 14 | <0,40 | <0,40 | <0,40 | Hylätään (tulos alle mittausalarajan) |
| 15 | 0,72 | 0,66 | 0,69 | |
| 16 | 0,93 | 1,03 | 1,02 | |
| 17 | 0,47 | 0,46 | 0,42 | |
| 18 | 1,72 | 1,77 | 1,72 | |
| 19 | 0,56 | 0,57 | 0,58 | |
| 20 | <0,40 | 0,43 | 0,42 | A-tulos hylätty, vertailuun otettu poikkeuksena tulos C |
| 21 | 1,02 | 1,01 | 1,01 | |
| 22 | 1,56 | 1,58 | 1,45 | |
| 23 | 0,48 | 0,49 | 0,54 | |
| 24 | 1,62 | 1,56 | 1,67 | |

Pikamittari: Lactate Scout

| Näyte nro | Tulos |
|------------------|--------------|
| 1 | 1,0 |
| 2 | 0,7 |
| 3 | 1,1 |
| 4 | 1,1 |
| 5 | 1,3 |
| 6 | 1,5 |
| 7 | 0,9 |
| 8 | 1,0 |
| 9 | 0,8 |
| 10 | 1,4 |
| 11 | 1,2 |
| 12 | 0,7 |
| 13 | 1,3 |
| 14 | 0,6 |
| 15 | 1,0 |
| 16 | 1,2 |
| 17 | 1,2 |
| 18 | 1,1 |
| 19 | 0,8 |
| 20 | 1,4 |
| 21 | 1,1 |
| 22 | 1,2 |
| 23 | 1,1 |
| 24 | 1,5 |

Oulun seudun ammattikorkeakoulu
Sosiaali- ja terveysalan yksikkö

Versio 1.0
10.11.2010

Laatija: Katri Holappa
Hyväksyjä: Päivi Saloranta

Laktaatti P-Lakt

Menetelmän periaate

Konelab 20i -kemian analysaattorin laktaattimääritys tapahtuu päätepistemittauksena fotometri-
sesti, ja ennen mittausta tapahtuvat näytteen ja reagenssin reaktiot ovat entsyymaattisia. Laitte-
pilotoi näytteen ja reagenssin kyvettiin, jossa reagenssin laktaattioksidaasi-entsyymi (LOX) hajot-
taa näytteen laktaatin pyruvaatiksi ja vetyperoksidiksi. Muodostunut vetyperoksidi saa reagenssin
peroksidaasi -entsyymien (POD) reagoimaan 4-aminoantipyriinin ja fenolin kanssa muodostaen
punaisen kinoni-imiini -värin. Värin intensiteetti on suoraan verrannollinen näytteen laktaattipitoi-
suuteen.

Kliininen käyttö

Laktaattipitoisuus veressä muodostuu sitä kehossa tuottavien ja poistavien mekanismien tehon
erotuksena. Laktaattikokeen indikaatio on yleisesti laktaattiasidoosiepäily. Laktaattiasidoosissa
laktaatin muodostus on nopeampaa kuin sen eliminointi maksassa. Tämä johtaa veren happo-
emäs-tasapainon häiriöön veren pH:n laskun vuoksi. Laktaattiasidoosia voivat aiheuttaa heiken-
tynyt kudosten hapetus (hypoksia), yleissairaudet, kuten diabetes mellitus, ja maksasairaudet se-
kä eräät lääkeaineet. Harvinaisia laktaattiasidoosin aiheuttajia ovat synnynnäiset entsyymipuutos-
tilat sekä mitokondriaaliset aineenvaihduntahäiriöt.

Urheilumittaukset

Laktaattimääritystä voidaan käyttää kliinisten tarkoitusten lisäksi liikuntafysiologian mittauksiin. Pi-
toisuus veressä nousee huomattavasti, kun kuormitus on 60–70 % maksimaalisesta hapenotto-
kyvystä. Maksimaalinen hapenottokyky (VO_{2max}) on yksikkö sille enimmäismäärälle happea, jonka
yksilö voi aikayksikköä kohti kuluttaa äärimmäisen fyysisen rasituksen aikana merenpinnan tasol-
la. Kestävyyssurheilijoilla kyseinen arvo on tärkeä, sillä se kertoo keuhkojen ja verenkiertoelimistön
kunnosta ja niiden suorituskyvystä kuljettaa happea työskenteleviin lihaksiin. Laktaattimääritystä
käytetään niin sanotun anaerobisen kynnyksen mittaamiseen. Siinä mitataan, millä rasi-
tustasolla

lihassolut pystyvät vielä tuottamaan energiaa enimmäkseen aerobisesti. Laktaatin muodostuksessa vapautuu energiaa paljon vähemmän kuin aerobisella tavalla, joten laktaattia muodostuu suuret määrät äärimmäisessä rasituksessa.

Potilaan valmistautuminen

Jos tutkimusta käytetään diagnoosin tueksi, potilas paastoaa 12 tuntia ja lisäksi lepää 30 minuuttia ennen näytteenottoa. Urheilumittauksissa ei vaadita paastoa ja järjestelyt tehdään tapauskohtaisesti.

Näyte

Testiin tarvittava näytemuoto on plasma, ja se otetaan laskimoverinäytteenä 2 ml:n fluoridioksulaattiputkeen. Putki sisältää 2.5 mg natriumfluoridia ja 2.0 mg kaliumoksulaattia. Kun määritetään plasman laktaattipitoisuutta paaston jälkeen lepotilassa, näyte otetaan ilman puristussidettä (staasia), jos vain mahdollista. Näyte sentrifugoidaan ja plasma erotellaan 30 minuutin kuluessa näytteenotosta.

Laitteisto ja tarvikkeet

Konelab 20i

Reagenssit ja liuotusohje

Puskuri 7 x 10 ml Ref 132010

Pipes -puskuri pH 7,5 50 mmol/l

p-Kloorifenoli 6 mmol/l

Lyofilisaatti 7x Ref 132010

LOX 0,2 KU/l

POD 3 KU/l

4-aminoantipyriini 0,4 mmol/l

Reagenssi valmistetaan kahdesta eri osasta: lyofilisoidusta, entsyymejä sisältävästä reagenssista (R2) ja puskuriliuoksesta (R1). Reagenssi valmistetaan lisäämällä puskuriliuos (R1) reagenssipulloon R2. Reagenssi on heti käyttövalmis.

Valmis liuotettu reagenssi säilyy stabiilina 4 viikkoa +2°C—+8°C:n lämpötilassa. Liuos valmistuu pienempään reagenssipulloon, joka ei sovi Konelab -analysointilaatikkoon, joten se kaadetaan takaisin tyhjäksi jääneeseen R1-puskuripulloon. Merkitse pulloon liuotuspäivämäärä.

Avaamattomat reagenssipullot säilyvät +2°C—+8°C:n lämpötilassa valmistajan ilmoittamaan päivämäärään saakka.

Kalibrointi

Kalibraattorina on sCal. Viitearvot kalibraatiokäyrälle tilattava erikseen esim. maahantuojalta. Tiedusteltaessa mainitse kalibraattorin eränumero eli LOT.

Määrittämisen suoritus

Määrittäminen suoritetaan Konelab-määrittämissuorituksen mukaisesti.

Kontrolli

Kontrollina käytetään Nortrol-laaduntarkkailuseerumia. Tavoitearvoja ei ole listattu pakkauksen mukana tulevaan ohjeeseen, joten se on tiedusteltava maahantuojalta erikseen kullekin kontrollieräälle. Kontrolliksi sopii myös Abtrol, joka on korkeamman tason kontrolli kuin Nortrol.

Viitearvot

Paastoarvon viiteväli on kaikilla 0.6–2.4 mmol/l

Lähteet ja kirjallisuus

Heinonen, Olli J. 2005. Liikunnan vaikutus kliinis-kemiallisiin suureisiin. Teoksessa Vuori, Ilkka & Taimela, Simo & Kujala, Urho (toim.) Liikuntalääketiede. 3. uudistettu painos. Helsinki: Kustannus Oy Duodecim. 132–143.

Turun yliopistollisen keskussairaalan laboratorio-ohjekirja. 2009.
<http://www.tyks.fi/store/tykslab/ohjekirja/2184.html>.

Thermo Fisher Scientific. Laktaattireagenssipakkauksen ohje. 2008

Deuster, P. A. & Heled, Y. 2008. Testing for Maximal Aerobic Power. Teoksessa Seidenberg, P. H. & Beutler, A. I. (toim.) The Sports Medicine Resource Manual. Philadelphia: Saunders Elsevier. 520–527.

LAKTAATTIREAGENSSEN SISÄLTÖ

LIITE 4

Puskuri 7 x 10 ml Ref 132010

Pipes puskuri pH 7,5 50 mmol/l

p-Kloorifenoli 6 mmol/l

Lyofilisaatti 7x Ref 132010

LOX 0,2 KU/l

POD 3 KU/l

4-aminoantipyrini 0,4 mmol/l

(Thermo Fisher Scientific. Laktaattireagenssipakkauksen ohje. 2008.)

| <u>Hinta</u> | <u>kpl</u> |
|--------------------------------------|------------------------|
| Näyteputket 10,26 € / 100 kpl | 0,1 € / kpl |
| Reagenssikitti 128,39 € | 0,39 € / määrittäminen |
| Nortrol 10x5 ml 66,98 € | 0,405 € / 150 µl |
| sCal 10x3 ml 73,51 € | 0,368 € / 150 µl |
| Neulat 0,14 € / kpl | 0,14 € / kpl |
| Näytekuppi 17,29 € / 1000 kpl | 0,017 € ~ 2 snt |
| Kyvetti 433,09 € / 12000 kpl | 0,036 € ~ 4 snt |
| Huoltosopimus Konelabille 109 € / kk | 3,63 € / päivä |

Yhden määrityksen hinta: 0,69 €

- putki, neula, reagenssi, näytekuppi, kyvetti

Päivän maksut: 4,66 €

- huoltomaksu, viisi kyvettä vakiointiin ja kontrollointiin, Nortrol, sCal, 3 näytekuppia

Yksi määrittäminen ja päivän maksut yhteensä: 5,35 €

Hinnat ovat verottomat ja aivan kaikkia kustannuksia ei voitu laskea mukaan, kuten laboratorio-
vettä ja jätekustannuksia. Plasman siirtämiseen näytekuppiin kuuluu yksi pipetinkärki tai pasteur-
pipetti. Kontrolli- ja vakioseerumit jaetaan liuotuksen jälkeen 150 µl:n eriin, jotka pakastetaan.
Tästä johtuu hinta 150 µl:n määrää kohden. Näytekuppiin annostellaan näytettä ja se laitetaan
analysaattoriin. Analysaattori annostelee näytettä ja reagenssia kyvettiin, jossa reaktiot ja mittaus
tapahtuvat.