



SAVONIA

OPINNÄYTETYÖ - AMMATTIKORKEAKOULUTUTKINTO
SOSIAALI-, TERVEYS- JA LIIKUNTA-ALA

SPINIT[®]- VIERITESTIANALYSAATTORIN VERIFIOINTI

TEKIJÄT: Olli Petlin
Heikki Pitkänen
TB16SP, 29.11.2019

Koulutusala Sosiaali-, terveys- ja liikunta-ala			
Koulutusohjelma/Tutkinto-ohjelma Bioanalytiikan tutkinto-ohjelma			
Työn tekijä(t) Olli Petlin ja Heikki Pitkänen			
Työn nimi spinit®-vieritestianalysaattorin verifiointi			
Päiväys	29.11.2019	Sivumäärä/Liitteet	34/1
Ohjaaja(t) Mirja Saukkonen, lehtori			
Toimeksiantaja/Yhteistyökumppani(t) Diagnostica Medical Oy			
<p>Tiivistelmä</p> <p>Vieritestilaitteet ovat yleistyneet terveydenhuollossa niiden käytön helppouden ansiosta. Niiden tulokset vaikuttavat potilaan hoitoon, joten tulosten täytyy vastata tietyssä määrin laboratorioanalysaattorin tulosta. Tästä johtuen laitteen antamien tulosten luotettavuus täytyy varmistaa ennen laitteen lääketieteellistä käyttöä.</p> <p>Opinnäytetyön tarkoituksena oli toteuttaa verifiointi portugalilaiselle spinit®-vieritestianalysaattorille Diagnostica Medical Oy:n pyynnöstä. Verifiointissa uuden testimenetelmän tuloksia verrattiin jo toimintavarmaksi tunnettuun menetelmään ja arvioitiin voidaanko tutkittavan laitteen tuloksiin luottaa. Verifiointilla todennettiin laitteen suorituskykyä luotettavien laboratoriotuloksien antamisessa. Työ tehtiin vuoden 2018 syksyn ja alkutalven aikana.</p> <p>spinit®-vieritestianalysaattori yhdistää samaan laitteeseen useita määrittämenetelmiä. Laitteen reagenssit ovat CD-levyn kaltaisten testilevykkeiden sisällä, joihin myös näyte syötetään, jolloin itse laitteen sisällä ei ole lainkaan nesteitä. Laitteelle oli työn aikana saatavilla seuraavat tutkimukset: CRP, HbA1c ja valkosolujen erittelylaskenta. Määrittäykset tehtiin spinit-vieritestianalysaattorilla ja tuloksia verrattiin Sysmex XS-1000i -verenkuva-analysaattorilla ja Konelab 20i -kliinisen kemian analysaattorilla saatuihin tuloksiin.</p> <p>Tuloksia analysoitiin tilastollisin menetelmin. Tuloksista tehtiin hajontakuviot ja laitteiden välisille tuloksille laskettiin korrelaatiokertoimet. Valkosolulaskennassa ongelmia tuotti monosyyttien, eosinofiilien ja basofiilien vähäinen määrä näytteissä, jonka vuoksi tulokset vääristyivät, sillä yksittäisten tulosten vaikutus kasvoi kohtuuttoman suureksi. Laitteet todettiin CRP-, ja HbA1c- määrittäyksien osalta luotettavaksi ja solulaskennan osalta käyttökelpoiseksi pienin varauksin.</p>			
Avainsanat verifiointi, vierianalytiikka, spinit, pikamittari, vieritestianalysaattori,			

Field of Study Social Services, Health and Sports			
Degree Programme Degree Programme in Biomedical Laboratory Science			
Author(s) Olli Petlin ja Heikki Pitkänen			
Title of Thesis Verification of spinit® point-of-care system			
Date	29.11.2019	Pages/Appendices	34/1
Supervisor(s) Mirja Saukkonen, lecturer			
Client Organisation /Partners Diagnostica Medical Oy			
<p>Abstract</p> <p>Point-of-care (POC) devices are becoming more common in the medical field. The results will affect patient care so the POC-device's results need to match with the ones of a larger laboratory analyser. Therefore, the results of the POC-devices must be verified before medical use.</p> <p>The purpose of this thesis was to verify the Portuguese spinit® point-of-care system at the request of Diagnostica Medical Oy. The practical work was done in the autumn of 2018 and the thesis itself written in 2019. In the verification process, the ability of the POC-device to give trustworthy results was evaluated. In verification process the results of a new test method are compared to the results of a validated method and the results are evaluated for their accuracy.</p> <p>spinit® is a POC device that combines multiple assay methods. The reagents for the assays are inside a CD-like test disc, in which the sample material is also analyzed, leaving the device itself clean from liquids. At the time of the verification spinit had the following tests available: CRP, HbA1c and leukocyte differential count. The measurements were done with spinit® analyser and compared to results of Sysmex XS-1000i haematology analyser and Konelab 20i clinical chemistry analyser.</p> <p>The patient sample comparison was performed using different kinds of statistical analyses. Scatter plots of the results were created and correlation coefficients were calculated for the comparison between devices. Blood count had problems as monocyte, eosinophil and basophil counts were inaccurate due to the small amount of those cells in the samples. It was established that the results from CRP and HbA1c tests were reliable and that blood count was also useable to a certain extent.</p>			
Keywords Point-of-care, poc, verification, spinit			

SISÄLTÖ

1	JOHDANTO.....	6
2	VIERIANALYTIikka JA LAADUNVARMISTUS.....	7
2.1	Vierianalytiikka.....	7
2.2	Laadunvarmistus, validointi ja verifiointi	8
2.2.1	Validointi ja verifiointi	8
2.2.2	Verifiointiin ja validointiin liittyvät käsitteet	9
3	ANALYYTIT JA MÄÄRITYSMENETELMÄT	11
3.1	CRP.....	11
3.2	HbA1c.....	11
3.3	Leukosyytit ja hematokriitti.....	11
3.4	Spin-it- toimintaperiaate	13
3.4.1	Spin-it CRP-määritys.....	13
3.4.2	Spin-it HbA1c-määritys	14
3.4.3	Spin-it leukosyyttien erittelylaskenta ja hematokriitti.....	14
3.5	Vertailumenetelmät Konelab 20i ja Sysmex XS-1000i.....	15
3.5.1	CRP Konelabilla	15
3.5.2	HbA1c Konelabilla	15
3.5.3	Veren valkosolujen ja hematokriitin laskenta Sysmex XS-1000i-analysaattorilla	16
4	OPINNÄYTETYÖN TAVOITE JA TARKOITUS	17
5	TUTKIMUSMENETELMÄ JA OPINNÄYTETYÖN TOTEUTUS	18
5.1	Kvantitatiivinen tutkimus ja tilastolliset menetelmät.....	18
5.2	Toteutus.....	19
6	TULOKSET.....	21
6.1	CRP.....	21
6.2	HbA1c.....	21
6.3	Leukosyyttien määrä	22
6.4	Leukosyyttien prosenttiosuudet.....	24
6.4.1	Hematokriitti.....	26
7	TULOSTEN TULKINTA JA POHDINTA.....	27
7.1	Tulosten tulkinta	27
7.1.1	Johtopäätökset	28

7.2 Eettisyys.....	28
7.3 Ammatillinen kasvu	29
LIITTEET.....	34

1 JOHDANTO

Vierianalytiikka on potilaan lähellä tehtävää diagnostista testausta. Vierianalytiikkaa voidaan tehdä myös laboratorioyksikön ulkopuolella, esimerkiksi hoitajan vastaanotolla tai potilaan kotona. (Bioanalytikkoliitto ry s.a.; Fimlab Laboratoriot Oy s.a.) Vieritutkimuksia kutsutaan myös POC-tutkimuksiksi (eng. point-of-care) ja pikatesteiksi. Vierianalytiikan käyttö on lisääntynyt viime vuonna ja vieritutkimusten suosio kasvaa jatkuvasti (Bioanalytikkoliitto ry s.a.; St. John & Price 2014, 155). Vieritestilaitteet ovat tärkeitä erityisesti olosuhteissa, joissa ei ole tarvetta tai mahdollisuutta käyttää kookkaita analysaattoreita. Tuloksia vieritestianalysaattoreilla saadaan myös usein huomattavasti nopeammin kuin varsinaisilla analysaattoreilla. (St. John & Price 2014, 155.)

Suomessa vierianalytiikan laadunhallinta perustuu pitkälti SFS-EN ISO 22870:2016-standardiin. Standardin ja laadunhallinnan tarkoituksena on minimoida potilaille ja laboratoriolle aiheutuvat mahdollisuudet virheisiin ja vahinkoihin. (SFS-EN ISO 22870:2016, 5.) Laadunvarmistuksen avulla pyritään varmistamaan riittävän ja tarvittavan tulostason saavuttaminen (Labquality 2018b). Uudet jo validoidut menetelmät on verifioitava, eli varmistettava että laite sopii käyttötarkoitukseensa ja antaa luotettavia tuloksia, ennen käyttöönottoa. Verifioinnin täytyy perustua objektiiviseen näyttöön ja se voidaan toteuttaa esimerkiksi potilasnäytevertailun avulla. (SFS-EN ISO 15189:2012, 35; Labquality 2018.)

Opinnäytetyön tarkoituksena oli verifioida eli varmentaa portugalilaisen biosurfit-yhtiön valmistaman spinit®-vierianalysaattorin tulosten oikeellisuutta verrattuna tunnettuun ja kalibroidun analysaattorin tuloksiin. Laitteella voidaan tehdä CRP-, ja HbA1c-määritykset sekä valkosolujen erittelylaskenta ja hematokriitti. Laite on tekniikaltaan uudenlainen ja se on vasta tulossa markkinoille Suomessa. Ensimmäisen CE-hyväksynnän laite sai vuonna 2012 CRP-testille ja itse laitteelle, jonka jälkeen laitteen on kehitetty ja CE-hyväksytty myös HbA1c-testikiekko, valkosolujen erittelylaskenta ja hematokriitti.

2 VIERIANALYTIikka JA LAADUNVARMISTUS

2.1 Vierianalytiikka

Vierianalytiikalla (eng. POC eli point-of-care -tutkimus) tarkoitetaan laboratorion ulkopuolella vastaanotoilla, osastoilla tai potilaan kotona tehtävää laboratorioanalytiikkaa. Vierianalyttisten määrittämisien etuna on se, että niiden tuloksia voidaan hyödyntää välittömästi potilaan hoidossa. (Bioanalytikkoliitto ry s.a.) Vierianalytiikan käyttö yleistyy jatkuvasti ja niitä sovelletaan yhä monipuolisemmin eri sairauksien hoidossa ja diagnostiikassa. Suurin etu vierianalytiikassa on sen nopeus ja liikuteltavuus sekä nopea käyttöönotto. (Labquality 2018.) Vierianalytiikka mahdollistaa varhaisten diagnoosien tekemisen ja tätä kautta nopeiden lääketieteellisten päätösten tekemisen. (Vashist 2017, 1.)

Hoidon ja diagnostiikan kannalta on olennaista, että laboratoriotutkimusten tekijä tai tekopaikka ei vaikuta tulosten luotettavuuteen. Vieritestien luotettavuuden tulisi vastata laboratorion muiden menetelmien tasoa. Luotettavien testitulosten saamiseksi on tärkeää, että vieritestien käyttäjät hallitsevat näytteenoton ja laitteen käytön sekä omaavat tiedot menetelmistä ja laadunvarmistuksesta. (Liikanen 2003, 59.)

Vieritestilaitteita käyttävät yleensä pääasiassa hoitohenkilökunta tai potilaat itse, eikä laboratorion henkilökunta, jolloin on tärkeää, että laitteet ovat riittävän yksinkertaisia ja helppokäyttöisiä. Vieritestien perusteella tehdään usein välittömästi hoitopäätöksiä, joten potilasturvallisuuden kannalta on hyvin oleellista, että tulokset ovat luotettavia. Yksi vieritestauksen heikkouksista on usein juuri laadunvalvonta, jonka tärkeys ja siitä huolehtiminen saattaa unohtua laitteen käyttäjiltä, koska heillä ei ole laboratorioalan koulutusta. Tämä on ollut ongelma etenkin aikaisemmin, mutta nykyään monissa laitteissa on sisäänrakennettuja laadunvalvontaominaisuuksia, jotka voivat esimerkiksi estää laitteen käytön, jos sisäiset kontrollit eivät mene hyväksytysti läpi. (Lewandowski 2009 425-426.)

Vieritestejä käytettäessä tulee harkita, kuinka hyödyllinen valinta se on, vai onko tavallinen laboratoriossa tapahtuva tutkimus parempi vaihtoehto. Vieritestaukselle tulee aina olla lääketieteellinen peruste. Vieritestaus on hyvä valinta esimerkiksi silloin, kun näytteen vieminen laboratorioon veisi liian kauan ja hoidon kannalta on olennaista, että tulos saadaan nopeasti. Vieritestianalysaattoreja käytetään paljon sairaaloiden ja terveyskeskusten päivystyksissä sekä ensihoidossa. Neulakammoisen potilaan hoidossa vieritesteistä voi myös olla hyötyä. (Labquality Oy, s.a.)

Laadunvarmistaminen on yhtä tärkeää vieritestauslaitteilla kuin laboratorion isoilla analysaattoreilla. Kontrollinäytteet ovat luotettava tapa varmistua laitteen luotettavuudesta. Kontrollinäytteet määritetään potilasnäytteiden kanssa samalla tavalla. Luotettavaan vieritestaukseen tarvitaan lisäksi hyvin koulutettu hoitohenkilökunta, joka osaa oikean preanalytiikan, laitteella analysoimisen ja tulosten tulkinnan. Koska vierianalytiikkaa käyttävät hoitohenkilökunnan jäsenet eivät ole yleensä laboratorioalan ammattilaisia, on heille hyvä selvittää laadunvarmistuksen merkitys. (Liikanen 2003, 55, 61.)

2.2 Laadunvarmistus, validointi ja verifiointi

Laboratorio pyrkii laadunvarmistuksella säilyttämään analyysien tulokset luotettavina ja tarkkoina. Laadunvarmistus koostuu monista asioista kuten hyvistä ohjeista, osaavista käyttäjistä, kontrolloinnista, tulosten jäljitettävyydestä sekä toimivista tutkimusmenetelmistä. (Labquality 2018b.) Suomessa kliinisten laboratorioiden laatuvaatimuksista ja laadunvarmistuksesta määrätään SFS-EN ISO 15189:2013 standardissa ja mikäli laboratorio täyttää standardeissa esitetyt vaatimukset voidaan se akkreditoida. Akkreditointi tarkoittaa pätevyyden toteamista. Sen suorittaa Suomessa FINAS, joka tarkastaa täyttääkö laboratorio pätevyyden vaatimukset. (FINAS 2017; FINAS 2016.)

Vieritestilaitteiden laadunvarmistuksen pääpiirteet määrätään SFS-EN ISO 22870:2016-standardissa, mutta myös SFS-EN ISO 15189:2013-standardin laadunvarmistukseen liittyviä kohtia sovelletaan vieritestilaitteille. (SFS-EN ISO 15189:2013; SFS-EN ISO 22870:2016)

Vieritestien laadunvarmistus jakautuu sisäiseen ja ulkoiseen laadunohjaukseen. Toiminnan kontrollointi ja kontrollitulosten tarkastelu kuuluvat sisäiseen laadunohjaukseen. Näillä toimilla varmistetaan, että määrittysten suorittaja osaa tehdä ne oikein ja että laite reagensseineen toimii oikein. Mikäli näissä havaitaan ongelmia, voidaan suorittaa tarvittavia korjaavia toimenpiteitä. Kontrolleja on ajettava tarpeeksi usein, jotta tulostasoa säilyy luotettavana. Kontrolliliuokset ovat yleensä laitevalmistajien omia liuoksia, joille se on määrittänyt sallitut vaihteluvälit. Tarjolla on laitevalmistajien liuoksien lisäksi myös muiden kuin laitevalmistajien kaupallisia kontrolliliuoksia. Kaikkien kontrollinäytteitä analysoivien käyttäjien on ymmärrettävä kontrollien ja laadunvarmistuksen merkitys. Mikäli laitteeseen ei ole saatavilla kaupallisia kontrolliliuoksia on tulostasoa tarkkailtava esimerkiksi tekemällä rinnakkaismäärittäyksiä näytteistä laboratorion toisen menetelmän kanssa. Sisäisen laadunohjauksen tulee olla laitteen käyttötarkoitukseen soveltuva, jotta potilasnäytteistä saatavien tulosten avulla päädytään potilaan hoidossa oikeisiin ratkaisuihin. (Labquality Oy 2018b)

Ulkoinen laadunohjaus tarkoittaa laboratorion oman tuloksen vertaamista muiden saman määrittysten tehneiden tuloksiin, jolla varmistetaan, että omat tulokset ovat vertailukelpoisia muiden vastaavaa määrittystä tekevien laboratorioiden kanssa. Käytännössä ulkoinen laadunohjaus toteutetaan laadunarviointipalveluiden tuottajan lähettämällä näytteellä, joka analysoidaan muiden näytteiden joukossa ja tulokset lähetetään takaisin palvelun tuottajalle. Kaikki osallistuneet laboratoriot saavat suoriutumisestaan kertovan raportin ja pääsevät vertaamaan tuloksiaan muiden laboratorioiden saamiin tuloksiin. Ulkoinen laadunhallinta tukee osaltaan sisäistä laadunhallintaa. (Labquality Oy 2018b)

2.2.1 Validointi ja verifiointi

Validoinnin avulla selvitetään, soveltuuko aiottu menetelmä käytettäväksi suunniteltuun käyttötarkoitukseen. Validoinnin aikana kerätyn aineiston pohjalta todetaan, onko menetelmä luotettava. (Jaarinen ja Niiranen 2005, 11.) Verifiointi on hyvin lähellä validointia, mutta se ei ole yhtä laaja prosessi. Verifiointia käytetään esimerkiksi silloin, kun jo aiemmin hyväksi havaittua menetelmää sovelletaan uuden laitteen kanssa. Menetelmä itsessään on silloin jo validoitu, mutta verifiointilla varmistetaan,

että uudella laitteella saadaan menetelmää käyttäen luotettavia tuloksia. Vastuu validoinnista on usein laitteiden valmistajilla, mutta käyttäjän täytyy verifiointin avulla varmistaa, että laite soveltuu käyttäjän suunnittelemaan käyttötarkoitukseen. (Theodorsson 2012, 305, 316.) Laboratorioiden on validoitava esimerkiksi menetelmät, jotka eivät ole standardimenetelmiä. Laboratorion itsekehittämät menetelmät on myös validoitava, samoin kuten sellaiset standardimenetelmät, joita käytetään alkuperäisen soveltamisalan ulkopuolella. (SFS-EN ISO 15189)

Käytännössä vieritestilaitteen validointi ja verifiointi tapahtuu vertaamalla sen tulostasoa laboratoriossa käytössä olevaan tunnettuun menetelmään ja dokumentoimalla menettely huolellisesti. Näytteiden on oltava sellaisia, että ne voidaan analysoida molemmilla menetelmillä. Vieritestilaitteen verifioitaessa riittävä näytemäärä on noin 10-20 näytettä. Laitteen tullessa diagnostiseen käyttöön olisi mahdollisimman suuren osan näytteistä syytä olla sellaisia, joissa määritettävän analyytin pitoisuus olisi sillä tutkittavan sairauden oireenkuvaan sopiva. (Labquality 2018a)

2.2.2 Verifiointiin ja validointiin liittyvät käsitteet

Verifiointin kannalta merkittäviä ovat käsitteet, jotka liittyvät tulosten tarkasteluun ja vertailuun. Laadunhallinnan kannalta on oleellista, että eri tahot käyttävät yhtenevää käsitteistöä kuvaillessaan ja vertaillessaan mittausmenetelmien suorituskykyä. Käsitteet määritellään kansainvälisten standardien avulla, mutta uusia käsitteitä ja käännöksiä keksitään jatkuvasti, jolloin standardeja täytyy päivittää, jotta ne säilyvät ajantasaisina. (Jaarinen ja Niiranen 2005, 11.)

Oikeellisuus on kvalitatiivinen konsepti ja sillä kuvataan, kuinka lähellä menetelmän tulosten keskiarvo on suureen vertailuarvoa, jos koe toistetaan äärettömän monta kertaa. Niin sanottua oikeaa tulosta on mahdotonta tietää, mutta vertailuarvona voidaan käyttää tunnettua ja luotettavana pidettyä menetelmää. (Hägg 2016, 27.) Oikeellisuus on vahvasti kytköksissä mittauspoikkeamaan (engl. bias). Mittauspoikkeama tai mittauksen harha tarkoittaa saadun tuloksen ja referenssimenetelmän välistä eroa. Se on suure, joka ilmaisee määrällisesti systemaattisen virheen. (Theodorsson 2012, 309.)

Tuloksiin vaikuttavat virheet jakautuvat systemaattiseen virheeseen ja satunnaisvirheeseen. Systemaattinen virhe tarkoittaa virhettä, joka säilyy samanlaisena tai muuttuu ennustettavalla tavalla. Laitte voisi esimerkiksi antaa CRP-määrityksestä aina kaksi yksikköä suuremman tuloksen kuin luotettava referenssimenetelmä, jolloin olisi kyse systemaattisesta virheestä. Satunnaisvirhe puolestaan on mittausvirhe, jonka vaikutuksia on mahdotonta ennustaa ja joka voi vaihdella mittauksista toistettaessa. Systemaattinen virhe ja satunnaisvirhe muodostavat yhdessä määrityksen kokonaisvirheen. Validoitaessa menetelmiä pyritään siihen, ettei menetelmässä ole systemaattista virhettä ja että satunnaisvirheen määrä olisi niin pieni kuin mahdollista. Kemiallisissa menetelmissä voi aina esiintyä satunnaisvirheitä, mutta systemaattiset virheet on yleensä mahdollista poistaa. (Hägg, 2016, 11, 27, 34-35.)

Mittausepävarmuus on parametri, jolla kuvataan mittaussuureelle saatujen arvojen vaihtelua käytössä olevien tietojen perusteella ja se kertoo mittauksen laadusta sekä mittaustulosten vaihtelusta.

Mittausepävarmuus pitää sisällään systemaattisen virheen ja satunnaisvirheen. Se voidaan määrittellä virherajojen avulla. (Hägg 2012, 23 ja Theodorsson 2012, 306-307)

Tarkkuus on kvalitatiivinen käsite, joka kertoo mitatun arvon ja mittaussuureen todellisen arvon yhtäpitävyyden. Tarkkuus koostuu oikeellisuudesta, täsmällisyydestä ja toistotarkkuudesta. (Hägg 2012, 31.)

Toistettavuus kuvaa tulosten täsmällisyyttä, kun määritykset tehdään samasta näytteestä, samoissa olosuhteissa, saman tekijän toimesta, samassa laboratorioissa ja lyhyen aikavälin sisällä eli lyhyemmin ilmaistuna toistettavuusehtojen täytyessä. Toistettavuus tarkoittaa tulosten välistä yhtäpitävyyttä. (Hägg 2012, 31; JCGM 2012, 24.)

Täsmällisyys on parametri, joka kertoo tulosten yhtäpitävyydestä, kun määritys tehdään samasta tai samankaltaisesta kohteesta, tarkasti määritellyissä olosuhteissa (JCGM 2012, 22).

Uusittavuus kuvaa tulosten täsmällisyyttä uusintaehtojen täytyessä. Uusittavuusehdot tarkoittavat, että joko suorituspaikka, määrityksen suorittaja tai määritykseen käytettävä laite muuttuu, mutta määritys tehdään edelleen samasta tai samankaltaisesta kohteesta. (JCGM 2012, 24.)

3 ANALYYTIT JA MÄÄRITYSMENETELMÄT

Analyytti tarkoittaa tutkittavaa yhdistettä, tutkimuksessaamme siis C-reaktiivista proteiinia, glykotoitunutta hemoglobiinia ja veren valkosoluja (IATE 2009).

3.1 CRP

CRP eli C-reaktiivinen proteiini on pääosin maksan syntetisoima valkuaisaine, jonka pitoisuus nousee kehon erilaisissa tulehdustiloissa ja kudonsaurioissa. (Eskelinen 2016a.) CRP-arvon mittaaminen on hyödyllistä silloin, kun halutaan tietää potilaan tulehduksen syy. Bakteeri-infektiot nostavat CRP-tason usein 100 mg/l tai sen yli, kun terveellä ihmisellä arvo on alle 3 mg/l. Myös muut kehon vakavat tulehdukset, esimerkiksi haimatulehdus voivat nostaa CRP-tason korkeaksi (Sproston & Ashworth 2018, 3). Tavallisen flunssan diagnostiikassa tutkimuksen avulla voidaan erottaa, onko kyseessä virus- ja bakteeri-infektio, sillä CRP-taso ei nouse viruksen aiheuttamissa tulehduksissa kuin muutama kymmenen milligramman litraa kohden. (Eskelinen 2016a)

3.2 HbA1c

HbA1c eli glykotoitunut hemoglobiini kertoo glukoosin sitoutumisen hemoglobiiniin edellisen 2-3 kuukauden ajalta. Glukoosin sitoutuminen on sitä suurempaa, mitä korkeampi verensokeri on pitkäaikaisesti. (Eskelinen 2016b.) Hemoglobiiniin ja muihin kudosten proteiineihin glukoosi kiinnittyy glykaatiossa, joka on spontaani, ei-entsyymaattinen reaktio (Kim, Park & Kim 2017). Veren punasolujen elinikä on noin 120 vuorokautta, tämän jälkeen elimistö poistaa ne niiden kokeman mekaanisen rasituksen aiheuttamien vaurioiden vuoksi. HbA1c-mittaus on tärkeä tutkimus tyyppin II-diabeteksen diagnosoinnissa ja kontrolloinnissa. Virheellisiä tuloksia voi aiheuttaa esimerkiksi hemolyyttinen anemia, koska glukoosia ei ehdi sitoutua yhtä paljoa punasolun eliniän lyhentyessä. Punasolujen eliniän pidentyessä ja selvässä raudanpuuteanemiassa HbA1c-tulos on virheellisen korkea. (Eskelinen 2016b.)

3.3 Leukosyytit ja hematokriitti

Valkosolujen laskenta on hematologinen tutkimus, jonka tarkoituksena on selvittää potilaan valkosolujen absoluuttinen määrä ja eri solujen prosentuaaliset osuudet. Valkosolut ovat tumallisia verisoluja ja ne toimivat kehossa tulehduksia vastaan. Normaalisti ihmisellä on valkosoluja veressään 3.4-8.2 E9/l, mutta määrät voivat vaihdella elintapojen mukaan. Kypsät valkosolut jakautuvat viiteen päätyyppiin; neutrofiileihin, lymfosyytteihin, monosyytteihin, eosinofiileihin ja basofiileihin. (Eskelinen 2016c)

Valkosolut ovat perinteisesti jaoteltu ulkomuotonsa mukaan granulositytteihin ja agranulositytteihin. Neutrofiilit, eosinofiilit ja basofiilit lasketaan granuloidisiin soluihin, kun taas lymfosyytit ja monosyytit puolestaan agranulosityttisiin. Näiden erona on solulimassa näkyvä granula, jota esiintyy granulositytteissä, mutta ei agranulositytteissä. Granulosityttien tuma on liuskoittunut useisiin toisiinsa kiinnit-

tyneisiin osiin, toisin kuin agranulosyyttien tumat, jotka ovat pyöräköitä, taittuneita tai laskostuneita. (Stiene-Martin 2012, 134)

Valkosolut syntyvät muiden verisolujen tapaan luuytimessä, monikykyisistä kantasoluista, jotka jakautuvat lymfaattisiin ja myeloiisiin kantasoluihin. Granulosyytit ja monosyytit erikoistuvat myeloisista kantasoluista granulosyytti-monosyytti-kantasolun kautta, pois lukien basofiili, jolla on oma kantasolunsa. (Porkka, Lassila, Remes & Savolainen 2015, 16, 24)

Lymfosyytit toimivat verenkierrossa sopeutuvana immunitteettina. Lymfosyytit jakautuvat T- ja B-soluihin, sekä luonnollisiin tappaja(natural killer, NK)-soluihin. Verenkierrossa niitä on 20-40% valkosoluista. T- ja B-solut toimivat tunnistamalla vieraan organismin pinta-antigeenin. B-solut tuottavat spesifisiä vasta-aineita, joiden perusteella ne alkavat jakautua kohdatessaan vastaavan antigeenin. Osasta B-soluista muodostuu muistisoluja, jotka tunnistavat saman taudinaiheuttajan seuraavalla tartuntakerralla. T-solut ovat joko tappajasoluja tai auttajasoluja. Tappajasolut tuhoavat kehon vaurioituneita ja infektoituneita soluja. Auttajasolut säätelevät immuunipuolustuksen toimintaa taudinaiheuttajan mukaan. NK-solut tappavat virusinfektion saaneita soluja ja syöpäsoluja. (Stiene-Martin 2012, 146-148)

Neutrofiilit esiintyvät perifeerisessä veressä kahdessa muodossa, liuskatumaaisina tai vielä kehittyvinä sauvatumaaisina. Neutrofiilien kokonaisuus veressä vaihtelee 50-70% välillä ja sauvatumaisten 3-15% välillä. Neutrofiilien tehtävä on tuhota elimistöön kuulumattomia organismeja, mutta toisin kuin lymfosyytit, ne eivät tunnista patogeenia antigeenin perusteella, eivätkä pysty puolustamaan elimistöä kyseistä patogeenia vastaan uudelleen tunnistamalla niitä. Sen sijaan mikro-organismien tai kehon solujen vapauttamat kemotaksiset aineet houkuttelevat neutrofiilejä tulehtuneelle paikalle. Neutrofiilit tuhoavat vieraan organismin tai apoptoituneen solun solusyönnillä, eli ympäröimällä sen itsellään ja tuhoamalla sen jälkeen patogeenin ja itsensä. (Stiene-Martin 2012, 135-140)

Monosyytit muodostavat 2-10% verenkierron soluista. Ne muodostuvat neutrofiilien kanssa samasta granulosyyttisestä kantasolusta, mutta makrofaagi kolonnoita stimuloiva tekijä aiheuttaa muuntumisen erilaisiksi monosyyteiksi. Monosyyttien tarkoitus on muuttua kudoksen sisällä makrofaageiksi, osteoklasteiksi tai dentriittisoluiksi. Makrofaagit tunnistavat erilaisia patogeneja ja tutustuttaa ne T-lymfosyyteille. Dentriittisolut siirtävät ja esittelevät antigeenin imusolmukkeessa oleville T-lymfosyyteille ja herättänee ne toimintaan. (Stiene-Martin 2012, 144-146)

Eosinofiilit ja basofiilit muodostuvat neutrofiilien tavoin, mutta niiden erikoistumista aiheuttavaa syytä ei ole pystytty varmistamaan. 1-5% verestä on eosinofiilejä ja 0,5-1,5%. Ne ovat aktiivisia erityisesti allergisissa tapahtumissa. Basofiilit sisältävät kehon antikoagulanttia hepariinia ja verisuonia laajentavaa histamiinia. Eosinofiilit ovat tärkeä puolustuskeino parasiitteja vastaan, ja tutkimuksissa on todettu niiden kykenemään tuhoamaan loismatoja. (Stiene-Martin 2012, 140-144)

Hematokriitti on punaisten verisolujen suhteellinen osuus veren tilavuudesta. Aikuisella miehellä se on 39-50% ja naisella 35-46% koko veren tilavuudesta. Hematokriitti vaihtelee hemoglobiinin kanssa samaan tahtiin. (Eskelinen 2016d)

3.4 Spinit- toimintaperiaate

Tutkimamme spinit-vieritestianalysaattori suorittaa määrytykset DVD-levyn kaltaisen levykkeen ja tavallisen DVD-aseman avulla. Kaikki määrytyksiin tarvittava fluidistiikka eli erilaiset nesteet sekä niille tarkoitetut kanavat ja kammiot ovat levykkeen sisällä, jossa tapahtuvat myös kaikki reaktiot määrytyksien aikana. Jokaisella levyllä on oma viivakoodinsa, jonka perusteella laite suorittaa tarvittavat laaduntarkkailutoimenpiteet määrytyksen yhteydessä, jolloin erillisiä kalibrointeja ei tarvita. Viivakoodi luetaan laitteeseen aina ennen määrytyksen aloittamista.

Reagenssit ovat valmiina levykkeessä pienen kuplan sisällä, joka rikotaan sormella painaen, jolloin reagenssit vapautuvat levykkeen pieniin kanaviin. Näyte pipetoidaan sille tarkoitettuun näytekaivoon levyllä. Näytekaivo suljetaan, jonka jälkeen levy asetetaan laitteen levyasemaan. Laite pyörittää levykettä asemassa eri nopeuksilla ja näyte erottuu, jonka lisäksi liuokset sekoittuvat siihen, jolloin määrytyksen edellyttämät reaktiot pääsevät tapahtumaan. Näyte kulkeutuu käsittelyn jälkeen levykkeen tulosalueille, joista laite määrittää tuloksen kullekin tutkimukselle sopivalla menetelmällä. Vertailua suorittaessamme laitteelle ei ollut omia kontrolliliuoksia, mutta niitä on nykyään saatavilla. Näytteen käsittely on myös muuttunut vertailumme jälkeen. Nykyään näytettä ei pipetoida levyille vaan se kerätään sormenpästä pienen tikun päässä olevaan kyvetiin, joka työnnetään levyllä olevaan koloon. Tikku katkaistaan irti kyvetistä, joka jää kiinni levyyn. (biosurfit 2019)

3.4.1 Spinit CRP-määrytys

CRP:n määrytys tapahtuu spinitillä vasta-ainemäärytyksenä, joka perustuu spektrofotometriseen pintaplasmoniresonanssi-menetelmään (surface plasmon resonance, SPR). Näyte kulkee keskipakovoiman ansiosta testilevyn mikrofluidistisia rakenteita pitkin, joissa se erottuu ja siihen sekoittuu erilaisia liuoksia kuten antikoagulanttia. Käsitelty näyte kulkeutuu levyn lukualueille, jonka pinnalla on CRP:lle spesifisiä vasta-aineita kiinnitettynä levyllä olevalle ohuelle kultakerrokselle. CRP-pitoisen näytteen virratessa lukualueen ohi proteiinia kiinnittyy kultakerroksen vasta-aineisiin. Vasta-aineilla päällystetty kultakerros toimii siis eräänlaisena selektiivisenä ansana CRP:lle. Analysaattori määrittää vasta-aineisiin kiinnittyneen biomarkkerin pitoisuuden lukualueilta, joka on suoraan verrannollinen näytteessä olevaan C-reaktiivisen proteiinin määrään.

Biomarkkereiden pitoisuuksien määrytys tapahtuu pintaplasmoniresonanssi-ilmön avulla. Lukualueelle suunnataan polarisoijan läpi kulkeva 785nm laservalo. Lasersäde heijastuu kultakerroksesta hieman valoa läpäisevään peiliin, jonka kautta se heijastuu Point Grey Firefly MV FireWire monokromaattiseen kameraan. Peilin takana on fototransistori, joka laukaisee kameran aina lasersäteen heijastuessa siihen. Laser on päällä koko ajan, mutta levyn pyöriminen saa aikaan säteen katkeamisen. Kamera ottaa kymmenen minuutin aikana 3000 kuvaa. Kameran ottamien kuvien avulla määritetään luku-

alueelta heijastuvan valonsäteen taitekerroin. Mitä pienempi taitekerroin sitä suurempi on biomarkerin konsentraatio lukualueella. (FLIR 2012) Spinin mittausalue CRP-määritykselle on 2-180 mg/l. Näytteessä oleva bilirubiini häiritsemään määritystä, kun sen määrä ylittää 5,9 mg/dl. Kolesteroli ja triglyseridit voivat myös häiritä määritystä niiden pitoisuuden ollessa yli 355 mg/dl. (biosurfit 2018.)

3.4.2 Spinin HbA1c-määritys

Spinin analysoi HbA1c:n määrän mittaamalla näytteen absorbanssia eri aallonpituuksilla led-valojen avulla (biosurfit 2019). CRP-määrityksen tapaan näytteen käsittely tapahtuu testilevyn sisällä mikrofluidistisissa kanavissa levyn pyöriessä. Levyllä näyte sentrifugoituu. Punasolut hemolysoidaan 4 % Saponin-liuoksella (Conceição Fernandes Thomaz 2014, 19).

HbA1c:n mittausmenetelmä on lateksi-immunoturbidometrinen. Lateksi-immunoturbidometrinen määritys perustuu lateksin agglutinaatioon ja valon absorbanssin mittaamiseen tietyllä aallonpituudella. Lateksipartikkelien agglutinaatio tarkoittaa niiden liimaantumista yhteen. Monoklonaliset ja polyklonaaliset vasta-aineet yhdistetään toisiinsa menetelmässä niin, että polyklonaaliset vasta-aineet ovat sitoutuneet monoklonalisiin vasta-aineisiin. Näytteessä oleva hemoglobiini tarttuu lateksipartikkeleihin ja kun vasta-aineiden yhdistelmä lisätään kompleksiin, anti-ihmis-HbA1c monoklonaliset vasta-aineet tarttuvat spesifisesti HbA1c-molekyyleihin. Monoklonalisiin vasta-aineisiin tarttuneiden polyklonaalisten vasta-aineiden vuoksi lateksipartikkelit alkavat aggregoitua eli kasautua yhteen. Valonsironnan määrä on suoraan verrannollinen kerääntymien kokoon. Kerääntymien koko on puolestaan suoraan verrannollinen HbA1c-molekyyleiden peittämien lateksipartikkelien prosentuaaliseen osuuteen. (Conceição Fernandes Thomaz 2014, 44-45.) Mitä enemmän HbA1c-molekyylejä näytteessä on, sen enemmän keräymiä syntyy ja sen suurempi valonsironnan määrä on. HbA1c-määrityksen mittausalue on spinillä 25,7 – 120,0 mmol/mol (biosurfit 2017a)

3.4.3 Spinin leukosyyttien erittelylaskenta ja hematokriitti

Spinin kykenee laskemaan kokoverinäytteestä leukosyyttien kokonaismäärän sekä lymfosyyttien, neutrofiilien, eosinofiilien, monosyyttien sekä basofiilien määrän ja prosenttiosuudet. Näyte pipetoidaan testilevylle kuten muutkin näytteet, mutta näytemäärä on 15 µl eli hieman suurempi kuin muissa määrityksissä, joissa näytettä tarvitaan vain 5 µl. Testilevy sisältää esimerkiksi näytteen punasolujen lyysaamiseen eli hajottamiseen tarvittavan liuoksen sekä väriainetta (metyleeni sinistä), jolla valkosolut värjätään määritystä varten. Laite ottaa mikroskoopin läpi kuvia näytteestä ja syöttää kuvat ohjelmaan, joka tunnistaa solut niiden morfologian ja erilaisten solun osien perusteella ja laskee niiden määrän litrassa. Laite ilmoittaa myös, jos se havaitsee näytteessä esimerkiksi blasteja tai muita solujen nuoruusmuotoja. Myös hematokriitti eli punasolujen tilavuuden osuus verestä, määritetään kuva-analyysin avulla. (Graindor, Blomme, Jughmans, Boeckx, Kieffer 2017, e155.)

TAULUKKO 1. Spinittu valkosolulaskennan mittausalue. (biosurfit 2017b)

Leukosyyttien kokonaismäärä (E9/l)	3 - 30
Neutrofiilit (%)	10.0 - 86.0
Lymfosyytit (%)	9.0 - 78.0
Monosyytit (%)	3.0 - 18.0
Eosinofiilit (%)	0.0 - 15.0
Basofiilit (%)	0.0 - 5.0
Hematokriitti (%)	20.0 - 65.0

3.5 Vertailumenetelmät Konelab 20i ja Sysmex XS-1000i

Konelab 20i on Thermo Fisherin kliinisen kemian analysointilaitteisto, jota käytimme vertailussa referenssimenetelmänä CRP- ja HbA1c-pitoisuuksille. CRP:n määrittämiselle kontrolleina toimivat Thermo Fisherin CRP Control- ja CRP Control High -kontrolliliuokset. HbA1c:n kontrolleina toimivat Thermo Fisherin Normal HbA1c- ja Abnormal HbA1c-kontrolliliuokset. Valkosolujen erottelulaskentaan käytimme Sysmex 1000i-verenkuva -analysointilaitteistoa. Kontrollina käytettiin e-Check -kontrolliliuosta, joka on valmis Sysmexin valmistama kontrolli.

3.5.1 CRP Konelabilla

Konelab 20i määrittää hepariiniplasman CRP-pitoisuuden immunoturbidometrisesti. Näytteeseen lisätään ylimäärin spesifistä vasta-ainetta, joka muodostaa CRP:n kanssa immunokomplekseja. Liuoksen absorbanssia mitataan 340nm aallonpituudella ja sen muutos on suoraan verrannollinen CRP:n määrään näytteessä. (Thermo Fisher Scientific Inc. 2016.)

3.5.2 HbA1c Konelabilla

Vertailulaitteemme Konelab 20i määrittää HbA1c-pitoisuuden hemolysoidusta kokoverestä turbidimetrisellä inhibiatioimmunoanalyysillä. Laitteen A-reagenssi sisältää anti-HbA1c-vasta-ainetta, joka reagoi HbA1c:n kanssa, jolloin niistä muodostuu liukoisia antigeeni-vasta-ainekomplekseja. Reagenssi-B:n polyhapteenit reagoivat ylimääräisen anti-HbA1c-vasta-aineen kanssa, muodostaen liukenemattomia vasta-aine-polyhapteenikomplekseja, jotka määritetään turbidometrisesti. (Thermo Fisher Scientific Inc 2014.)

Hemolysoinnin tarkoituksena on vapauttaa hemoglobiini punasoluista. Konelab 20i ei pysty itse suorittamaan näytteen hemolysointia ilman tietynlaista näytekalkkia, jollaista emme saaneet haltuumme. Hemolysoinnin voi kuitenkin suorittaa myös käsin, kuten teimme tässä työssä Thermo Fisherin ohjeen mukaisesti. Käsin- ja konehemolysoinnilla ei ole tuloksellista eroa, kun pipetointi tehdään oikein. Käytimme pipetointiin kalibroituja pipetteja tarkkuuden varmistamiseksi.

3.5.3 Veren valkosolujen ja hematokriitin laskenta Sysmex XS-1000i-analysaattorilla

Valkosolujen erottelulaskennan ja hematokriitin mittauksen suoritimme Sysmex-1000i-analysaattorilla, joka käyttää fluoresenssivirtausytometriaa valkosolujen erotteluun. Hematokriitin laite laskee mitattuaan punasolujen lukumäärän ja tilavuuden tasavirtaimpedanssimittauksella hydrodynaamiseen fokuointia hyödyntäen.

Analysaattori laimentaa näytettä, jolloin punasolujen määrä litrassa laskee. Hydrodynaaminen fokuointi toimii syöttämällä tämä laimennettu näyte suppilonmuotoiseen kanavaan. Tämä ohjaa solut anturin ohi yksitellen, jolloin ne kaikki tunnistetaan ja saadaan tulos isosta solumäärästä. (Sysmex America Inc., 2012)

Tunnistaakseen eri valkosolut toisistaan, laite mittaa sivuttaista ja eteenpäin suuntautuvaa sirontaa sekä fluoresenssia. Näytteen sisältämät valkosolut voidaan jaotella lymfosyytteihin, neutrofiileihin, basofiileihin, eosinofiileihin ja monosyyteihin. Näytteet värjätään polymetiiniväriaineella, joka läpäisee solukalvon värjäten tumman ja soluorganellit. Muut solut hajotetaan ja valkaistaan ennen valkosolujen laskemista. Menetelmä mittaa jokaisen solun sisäisen koostumuksen, tilavuuden ja fluoresenssin avulla DNA/RNA suhteen. Koska analysaattori pystyy tekemään tämän tuhansille soluille, saadaan keskiarvoksi kvantitatiivinen tulos. (Sysmex s.a.)

4 OPINNÄYTETYÖN TAVOITE JA TARKOITUS

Tässä opinnäytetyössä tavoitteenamme oli potilasnäytteiden avulla verrata spinivieritestianalysaattoria referenssianalysaattoreihin eli Konelab 20i:hin ja Sysmexiin XS-1000i:hin ja tällä tavoin verifioida laite. Työssä vertailtiin CRP-, HbA1c- ja hematokriitti-määrityksien sekä valkosolujen laskennan tuloksia laitteiden välillä.

Tarkoituksena oli selvittää Diagnostica Medical Oy:lle antaako spinivieritestianalysaattori luotettavia tuloksia ja tuottaa samalla heille materiaalia markkinoinnin tueksi. Meille työn tekijöille tavoitteena oli oppia laboratorion laadunvarmistustyötä sekä tulosten käsittelyä ja esittämistä.

Tutkimuskysymys työssä oli: Antaako spinilaitte luotettavia tuloksia CRP:lle, HbA1c:lle ja valkosolujen erittelylaskennalle verrattuna vastaavia suureita mittaaviin referenssilaitteisiin?

5 TUTKIMUSMENETELMÄ JA OPINNÄYTETYÖN TOTEUTUS

5.1 Kvantitatiivinen tutkimus ja tilastolliset menetelmät

Opinnäytetyö toteutettiin kvantitatiivisena eli määrällisenä tutkimuksena. Kvantitatiivisella tutkimuksella kuvataan tutkittavaa ilmiötä numeeristen arvojen avulla ja tuotetaan tietoa muuttujien välisistä eroista. Kvantitatiivisessa tutkimuksessa tarvitaan tarpeeksi suuri otos, jotta tuloksia voidaan pitää luotettavina. (Vilkkä 2007, 13.) Määrällinen tutkimus oli luonteva tapa toteuttaa tutkimus, sillä tutkimusaineistomme oli numeerista. Kvantitatiivisia tutkimuksia on useita eri tyyppisiä, joista tämä tutkimus edustaa kokeellista tutkimusta. Kokeellisessa tutkimuksessa tutkija säätelee muuttujia, kuten tässä tutkimuksessa käytettiin eri pitoisuusalueilla olevia näytteitä, jolloin saatiin tietoa riippuvan ja riippumattoman muuttujan välisistä syy-seuraussuhteista. (Nummenmaa, Holopainen ja Pulkkinen 2014, 16.) Kvantitatiivisten tutkimuksien tuloksia tarkastellaan usein hyödyntäen tilastollisia menetelmiä (Kananen 2011, 13). Tilastollisten menetelmien avulla voidaan käsitellä suuria tietoaaineistoja ja muuttaa niitä helpommin ymmärrettävään muotoon, jolloin niiden tulkinta helpottuu (Nummenmaa, Holopainen ja Pulkkinen 2014, 22).

Tässä työssä näytesarjojen tuloksista tehtiin hajontakuviota, joiden avulla voidaan tarkastella kahden muuttujan välistä riippuvuutta. Pisteet kuvaajalla ovat tilastoyksiköjä ja niiden sijainti x- ja y-akseleilla kuvaa niiden arvoa kyseisillä muuttujilla. Tällöin voidaan tutkia x:n ja y:n välillä mahdollisesti vallitsevaa riippuvuutta ja sitä vaikuttavatko esimerkiksi x-akselilla tapahtuvat muutokset systemaattisesti y-akselilla saataviin arvoihin. Kuvaajassa esiintyvää riippuvuutta ja sen voimakkuutta voidaan tarkastella numeerisesti korrelaatiokertoimien avulla. (Nummenmaa, Holopainen ja Pulkkinen 2014; 56, 215.)

Korrelaatio kuvaa kahden muuttujan lineaarista riippuvuutta ja sen voimakkuudesta kertovat korrelaatiokerroimet, jotka laskimme Microsoft Excel ohjelman avulla laitteiden välisille vertailuille (Mellin 2007, 6). Tässä tutkimuksessa tarkasteltiin Pearsonin tulomomenttikorrelaatiokerrointa, joka on korrelaatiokertoimista kaikkein yleisimmin käytetty. Kertoimen ollessa positiivinen vallitsee muuttujien välillä positiivinen yhteys eli y-akselin arvot kasvavat, kun x-akselinkin arvot kasvavat. Kerroin voi vaihdella välillä $[-1, 1]$ ja systemaattisen yhteyden voimakkuudesta kertoo se, kuinka lähellä korrelaatiokerroin on 1:tä. (Nummenmaa, Holopainen ja Pulkkinen 2014, 215.) Korrelaatiokerrointa voivat vinouttaa aineistossa esiintyvät arvot, jotka poikkeavat merkittävästi muusta aineistosta, jolloin sitä on syytä tarkastella ilman poikkeavaa havaintoa ja sen kanssa, kuten tässä opinnäytetyössä tehtiin sen ollessa aiheellista (Nummenmaa, Holopainen ja Pulkkinen 2014, 217-218).

Vertailun yhteydessä laskimme myös tulosten keskiarvoja. Aritmeettinen keskiarvo voidaan laskea laskemalla joukon luvut yhteen ja jakamalla tulos niiden lukumäärällä. (Tilastokeskus s.a.b) Aritmeettisen keskiarvon avulla voidaan tarkastella, kuinka suuria arvoja näytteille saataisiin, jos mitattava suure olisi jaettu tasan kaikkien näytteiden kesken. (Nummenmaa, Holopainen ja Pulkkinen 2014, 74.) Tutkimuksessa laskettiin näytesarjoille keskiarvot, joita hyödynnettiin laitteiden vertailussa.

5.2 Toteutus

Opinnäytetyön suunnitteleminen aloitettiin vuoden 2018 keväällä, jolloin tehtiin myös tutkimussuunnitelma. Käytännön työt saatiin alkuun suunnitellusti vuoden 2018 syksyllä, jolloin saimme haltuumme tarvittavat reagenssit sekä itse tutkittavan laitteen. Laitetta ja reagensseja säilytettiin koululamme samassa luokassa kuin referenssilaitteita. Saimme aluksi parikymmentä näytettä Islabin Kuopion aluelaboratoriosta. Näiden näytteiden mukana saimme Islabin laitteilla saadut tulokset. Näytteet analysoitiin ennen vuoden 2018 Laboratoriolääketiedepäiviä, joille osallistuimme opinnäytetyön osana ja edellä mainittujen näytteiden avulla saatiin alustavaa tietoa laitteen suorituskyvystä.

Varsinaista verifiointia varten otimme yhteyttä Islabin Kuopion aluelaboratorion kemistiin Ulla Ristonmaahan, jolta saimme tarvittavan määrän näytteitä sen toteuttamiseen. Näytteet olivat noin vuorokauden vanhoja jo analysoituja näytteitä, jotka olisi muuten hävitetty. Näytteistä poistimme laboratorion tiloissa kaikki henkilötiedot ja kuljetimme näytteet koululle analysoitaviksi. Koulun laboratoriossa säilytimme näytteitä jääkaapissa. Huomasimme kuitenkin, etteivät näytteet säily jääkaapissaan kovin kauan ja etenkin solujen hajoaminen haittasi niiden laskemista merkittävästi. PVK-näytteet säilyvät HUSLABin ohjekirjan mukaan jääkaapissa vain noin vuorokauden, joten päätimme hakea näytteitä useammassa erässä vain sen verran kerralla, että ehdimme analysoimaan ne saman päivän aikana verenkuvien osalta (HUSLAB 2019b). CRP:n ja HbA1c:n määrittystä säilyvyysongelmat eivät vaivanneet.

Ensimmäiset analysoinnit suoritettiin 1.10.2018. Analysointi oli todella hidasta, sillä spinittillä jokaisen näytteen jouduttiin analysoimaan yksi kerrallaan. Valkosolujen erittelylaskenta oli määrittämisestä aikaa vievin noin 15-minuutin kestollaan. CRP- ja HbA1c-määrittäykset veivät noin viisi ja kahdeksan minuuttia. Kaikkien määrittäysten välissä laite teki omia sisäisiä valmistelujaan, jotka vievät muutamia minuutteja. Näin ollen esimerkiksi valkosolujen erittelylaskentoja sai tunnissa tehtyä vain hieman alle neljän näytteen verran. Vertailulaitteillamme Sysmexillä ja Konelabilla näytteet sai ajettua sarjana, joten analysointi oli niillä todella paljon nopeampaa. CRP-määrittäyksille käytimme näytteinä molemmilla laitteilla hepariiniplasmaa ja HbA1c-määrittäykset sekä valkosolujen erittelylaskennan teimme EDTA-verellä.

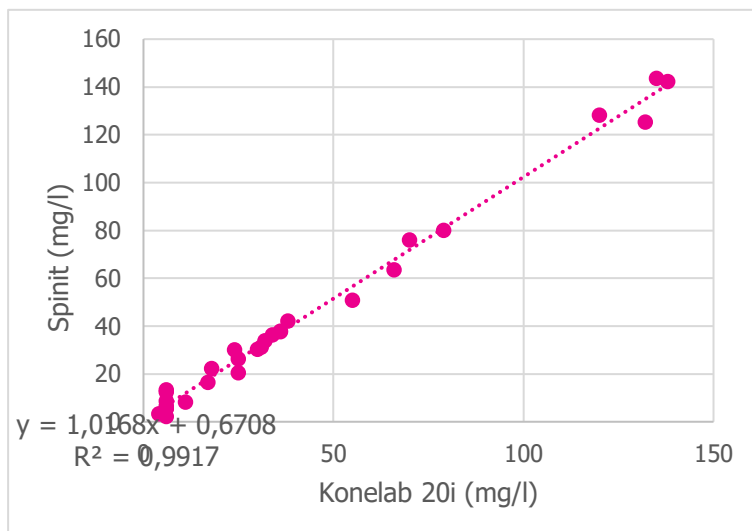
Olimme aluksi suunnitelleet sadan näytteen analysointia per määrittäminen, mutta ymmärsimme nopeasti sen olevan aivan kohtuuttoman pitkäkestoinen urakka. Aikataulullisten epäselvyyksien ja analyysien keston vuoksi ehdimme lopulta suorittamaan 29 CRP-määrittäystä, 59 HbA1c-määrittäystä ja 52 valkosolujen erittelylaskentaa. CRP-määrittäysten tulokset olivat niin yhteneviä referenssilaitteen kanssa, että päätimme tyytyä sen osalta aavistuksen pienempään näytemäärään ehtiäksemme tekemään hieman enemmän toisia määrittäksiä. Koulumme Konelab 20i -analyysointilaitteella ei ollut aiemmin tehty HbA1c-määrittäksiä, joten, meidän täytyi Thermo Fisherin edustajan ohjeistuksen avulla ottaa menetelmä käyttöön laitteelle. Menetelmän tulostason luotettavuuden saimme varmistettua laitevalmistajan kontrolleilla ja sairaalalta saaduilla näytteillä, joiden HbA1c-pitoisuuden tiesimme. Sysmex XS-1000i- ja Konelab 20i-analyysointilaitteet kalibroitiin laitevalmistajien kalibraattoreilla ennen tutkimuksen

aloittamista ja ennen jokaista tutkimuskertaa suoritimme kontrollit, joiden tulokset ovat taulukossa

2. Teimme laitteille myös tarvittavat huollot ja kalibroinnit.

6 TULOKSET

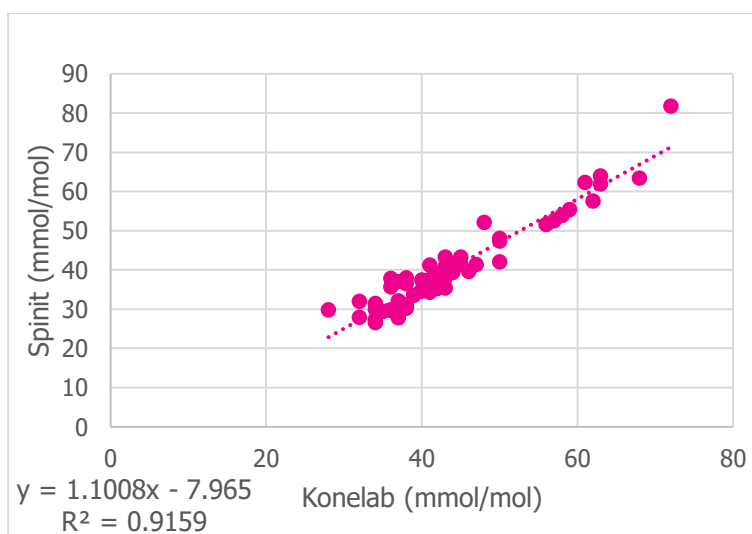
6.1 CRP



KUVAAJA 1. CRP-pitoisuuden (mg/l) hajontakuviot spinit vs. Konelab 20i 29:llä näytteellä.

Yllä olevasta kuvaajasta käy ilmi, että spinitillä tehtyjen CRP-määritysten tulokset korreloivat vahvasti Konelabin tulosten kanssa ($r=0,996$). Keskimäärin ero laitteiden välillä oli 1,37 mg/l, jolla ei ole potilaan hoidon kannalta merkitystä. Otoksesta poistettiin voimakkaasti ikteeriset näytteet, sillä ikteerialla oli merkittävä vaikutus spinitin tuloksien tarkkuuteen. Hajonta oli yhtä tasaista matalilla ja korkeilla CRP-pitoisuuksilla.

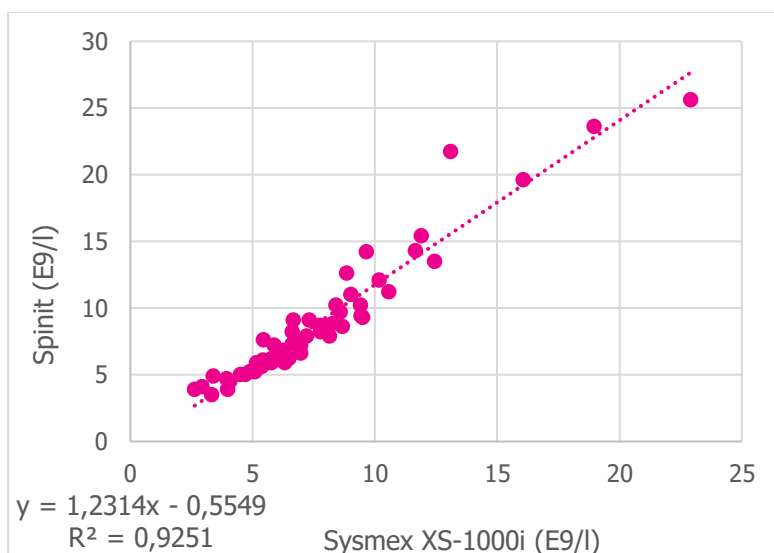
6.2 HbA1c



KUVAAJA 2. HbA1c-pitoisuuden (mmol/mol) hajontakuviot spinit vs. Konelab 20i.

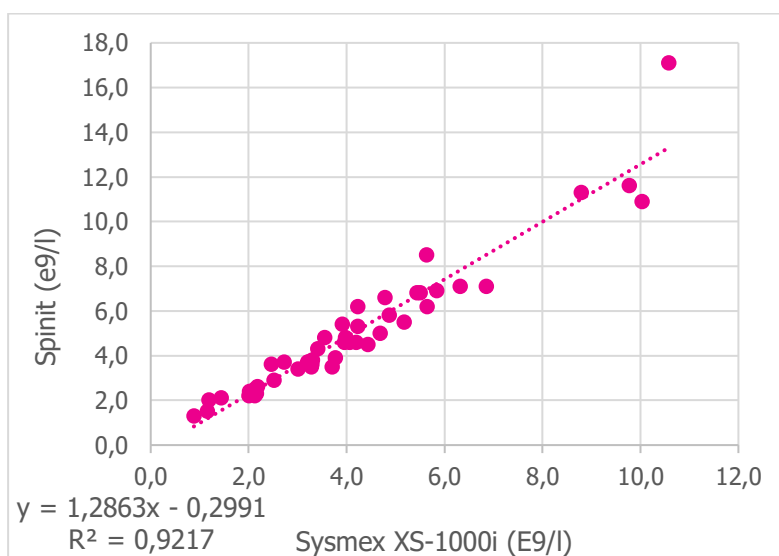
HbA1c tulokset sijoittuvat kuvaajassa 2 hyvin suoran ympärille ja korrelaatio laitteiden tulosten välillä on vahvaa ($r=0,957$). Näytteiden lineaarinen regressio on lähellä arvoa yksi. Laitteiden antamissa arvoissa on luonnollisesti eroavuuksia, mutta ne eivät ole suuria ja regressiosta eroavia näytteitä ei ole montaa. Keskimääräinen ero Konelabin tulokseen verrattuna oli -3,53 mmol/mol. Hajonta säilyi melko samanlaisena HbA1c-pitoisuuden kasvaessa.

6.3 Leukosyyttien määrä



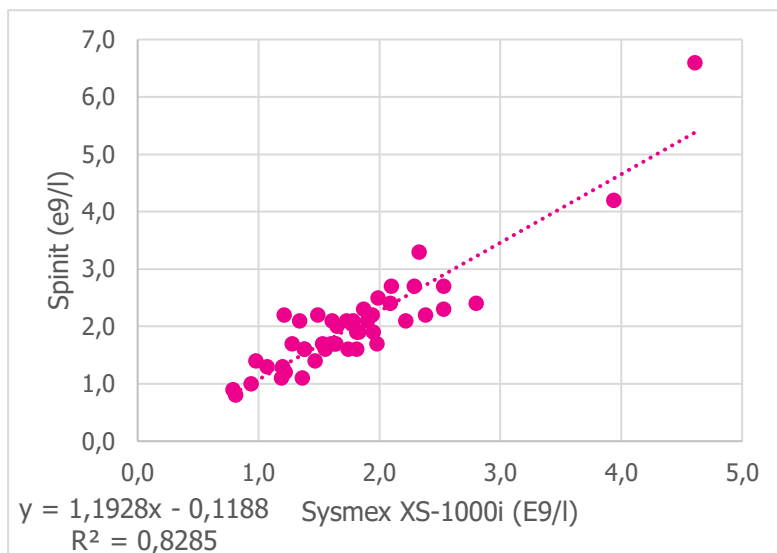
KUVAAJA 3. Leukosyyttien lukumäärän hajontakuviio spinit vs. Sysmex XS-1000i 52:lla näytteellä.

Leukosyyttien kokonaismäärän korrelaatio on vahvaa ($r=9,62$) ja keskimäärin spinitin tulokset ovat 1,24 E9/l korkeampia kuin Sysmexin.



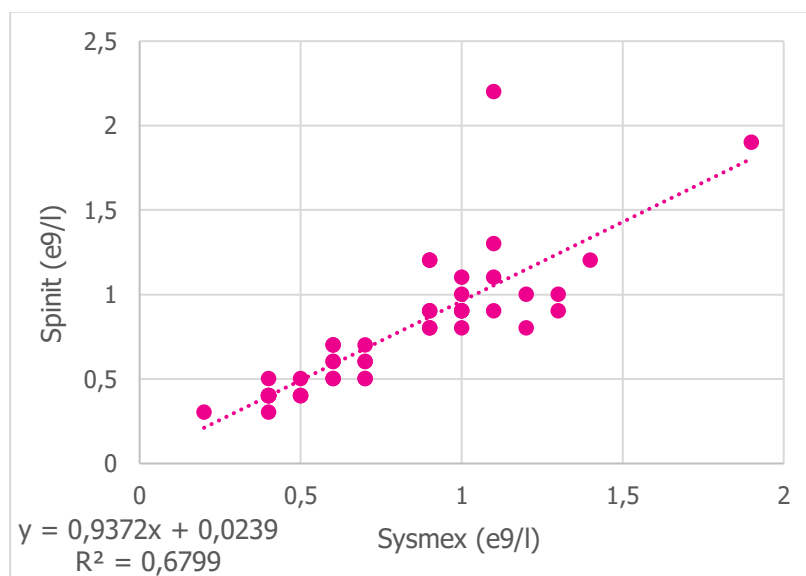
KUVAAJA 4. Neutrofiilien lukumäärän hajontakuviio spinit vs. Sysmex XS-1000i 45:llä näytteellä.

Neutrofiilien lukumäärien korrelaatio oli vahvaa ($r=0.9$) laitteiden välillä. Kuvaajassa oikealla ylhäällä olevassa näytteessä on poikkeuksellisen suuri ero ja mikäli se poistetaan vertailusta, nousee korrelaatiokerroin ja selitysaste entistä korkeammaksi. Kyse voi tässä tapauksessa olla jonkinlaisesta satunnaisvirheestä. Keskimäärin spinitin tulokset olivat 0,9E9/l korkeampia kuin Sysmexin. Laitteiden välisten tulosten hajonta kasvoi hieman korkeammilla pitoisuuksilla, muttei merkittävästi.



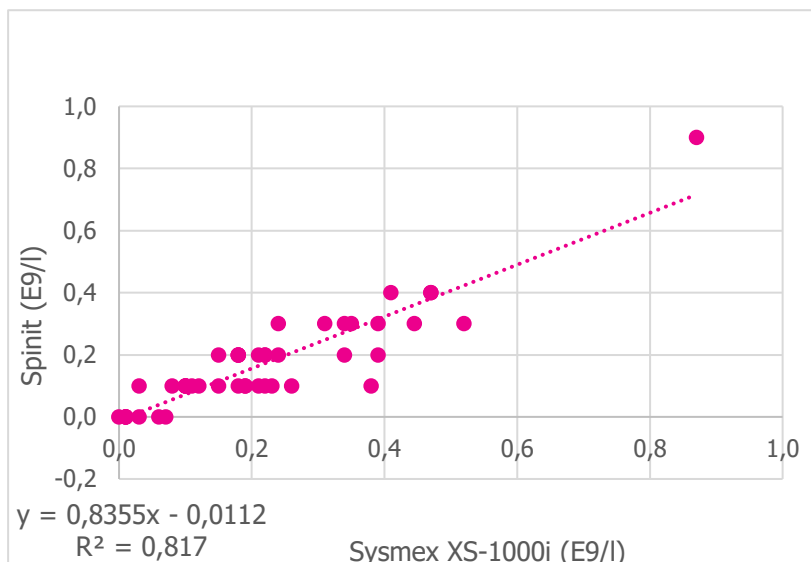
KUVAAJA 5. Lymfosyyttien lukumäärän hajontakuviio spinit vs. Sysmex XS-1000i 46:lla näytteellä.

Lymfosyyttien korrelaatio ($r=0,91$) ja selitysaste laitteiden välillä ei ollut aivan samalla tasolla kuin muiden solujen kohdalla, mutta silti vahvaa. Keskimäärin ero Sysmexiin oli $0,2E9/l$. Ero on melko pieni, mutta se näkyy selitysasteessa, koska luvut ovat jonkin verran pienempiä kuin esimerkiksi neutrofiilejä tarkastellessa.



KUVAAJA 6. Monosyyttien lukumäärän hajontakuviio spinit vs. Sysmex XS-1000i 46:lla näytteellä.

Monosyyttien määrä aiheutti hieman enemmän hajontaa, mutta se johtuu lähinnä monosyyttien pienestä määrästä näytteissä, jolloin yksittäiset epätarkat tulokset vaikuttavat selitysasteeseen merkittävästi. Korrelaation kuitenkin silti vahvaa ($r=0,937$). Mikäli epätarkin tuloksista poistetaan vertailusta, on selitysaste $0,8246$. Keskimäärin spinitin tulokset ovat $0,021 E9/l$ matalampia kuin referenssilaitteen.

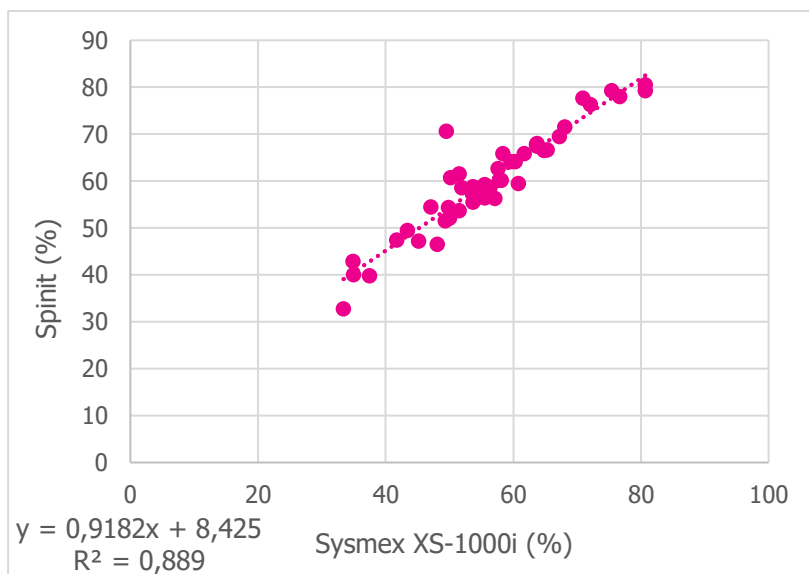


KUVAAJA 7. Eosinofiilien lukumäärän hajontakuviio spinit vs. Sysmex XS-1000i 46:lla näytteellä.

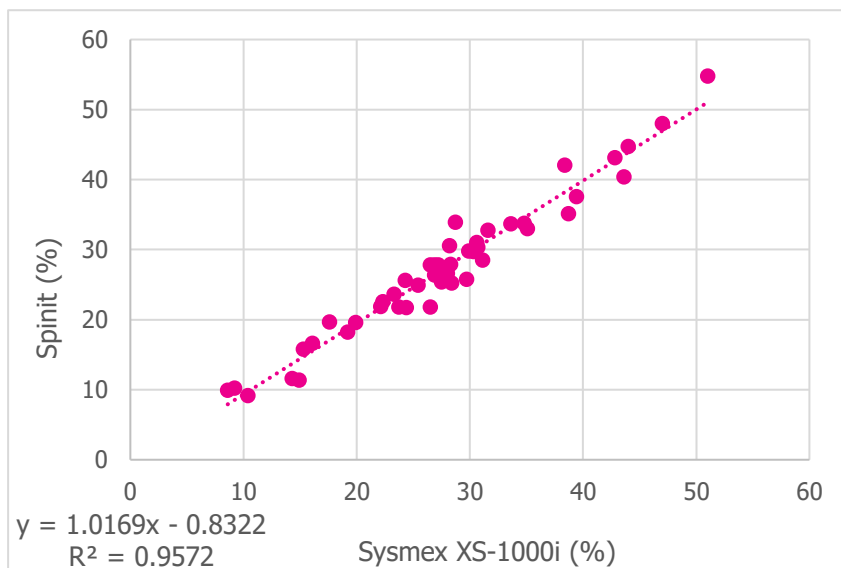
Eosinofiilien määrän laskemisessa esiintyi myös jonkin verran hajontaa, johtuen niiden hyvin vähäisestä määrästä näytteissä, mutta korrelaatio oli silti vahvaa ($r=0,904$). Hajonta ei lisääntynyt merkittävästi eosinofiilien määrän lisääntyessä. Spinitin tulokset olivat keskimäärin 0,047 E9/l matalampia kuin referenssilaitteen.

Basofiilien osalta näytteemme eivät olleet kovin kattavia, sillä niiden pitoisuudet vaihtelivat vain nol-lan ja 0,1:n välillä. Vertailua hankaloitti myös se, että spinitin ilmaisi tuloksensa yhden desimaalin tarkkuudella.

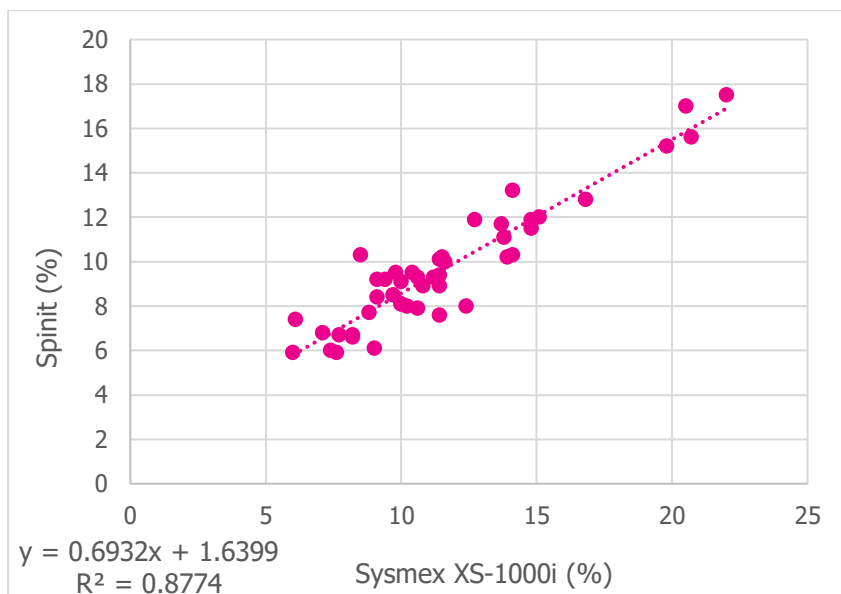
6.4 Leukosyyttien prosenttiosuudet



KUVAAJA 7. Neutrofiilien prosenttiosuuden hajontakuviio spinit vs. Sysmex XS-1000i 45:llä näytteellä.



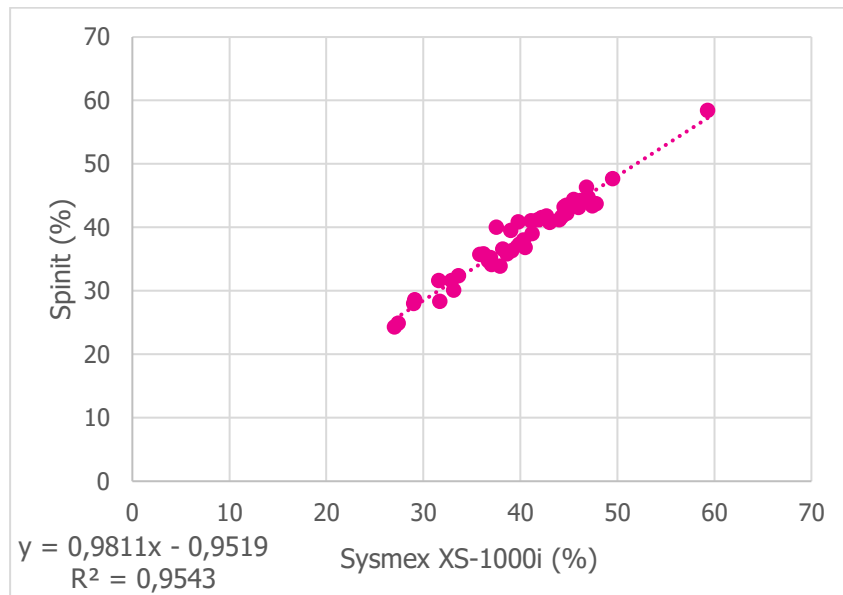
KUVAAJA 8. Lymfosyyttien prosenttiosuuden hajontakuvio spinit vs. Sysmex XS-1000i 46:lla näytteellä.



KUVAAJA 9. Monosyyttien prosenttiosuuden hajontakuvio spinit vs. Sysmex XS-1000i 46:lla näytteellä.

Valkosolujen prosenttiosuudet korreloivat kaikki hyvin referenssilaitteen tulosten kanssa neutrofiilien ja lymfosyyttien osalta. Hajonta kasvoi jälleen merkittävästi niiden solujen kohdalla, joita oli näytteissä vähän.

6.4.1 Hematokriitti



KUVAAJA 10. Hematokriitin prosenttiosuuden hajontakuviio spinit vs. Sysmex XS-1000i 44:llä näytteellä.

Hematokriitin tulokset korreloivat vahvasti ($r=0,977$) ja hajonta ei kasva tulosten ollessa keskimääräistä korkeampia tai matalampia.

7 TULOSTEN TULKINTA JA POHDINTA

7.1 Tulosten tulkinta

Potilasnäytevertailusta laitteiden välillä käy ilmi, että CRP:n, HbA1c:n ja hematokriitin osalta spinitin tulokset vaikuttavat luotettavilta, sillä ne korrelaatio laitteiden tuloksien välillä oli vahvaa. Niiden osalta pidämme laitetta täysin luotettavana. Kokonaisvalkosolujen, neutrofiilien ja lymfosyyttien lukumäärän laskennassa sekä hematokriitin määrittämisessä laite antoi luotettavia tuloksia, mutta monosyyttien ja eosinofiilien laskenta ei sujunut aivan yhtä tarkasti. Referenssilaitte ja spinit käyttivät täysin erilaisia menetelmiä solujen laskemiseen, joten oli odotettavissa, että eroja tulee syntymään. Graindor ym. (2017) tutkimuksessa spinitä verrattiin Sysmex XE-5000-analysaattoriin ja siinäkin todettiin tulosten korreloivan vahvasti lukuun ottamatta eosinofiilejä ja monosyyttejä. Tässäkin tutkimuksessa todettiin sen johtuvan todennäköisesti niiden verrattain vähäisestä määrästä näytteissä. (Graindor, Blomme, Jughmans, Boeckx, Kieffer 2017, e156.)

Näytteissämme ei ollut yhtään valkosolujen nuoruusmuotoja, joten sen osalta emme voineet tutkia laitteen suorituskykyä. spinit ilmoitti muutaman näytteen sisältävän nuoruusmuotoja, mutta tarkistimme näytteet mikroskoopilla emmekä löytäneet niistä mitään poikkeavaa.

Suurin epävarmuustekijä valkosolulaskennan vertailussa oli näytteiden säilyvyys. Kaikki näytteemme olivat lähes vuorokauden vanhoja, eikä niitä ollut säilytetty jääkaapissa ennen kuin me saimme ne haltuumme. Tällöin on syytä olettaa, että jonkinlaista solujen hajoamista on voinut jo tapahtua, jolla on luonnollisesti merkittävä vaikutus niiden laskemiseen. Todennäköisesti hajoaminen vaikuttaa toiseen menetelmään enemmän kuin toiseen, joka vääristää vertailun tuloksia. Uskomme, että solujen hajoaminen on vaikuttanut merkittävämmiin spinitin suorituskykyyn, sillä se tunnistaa solut optisesti kameran ja tietokoneohjelman avulla ja joka ei välttämättä tunnista osittain hajonneita soluja. Tätä teoriaa tukee myös se, että spinitin tulokset olivat solujen laskennan osalta matalampia kuin Sysmexin. Saimme vertailun aikana noin kymmenen anonyymiä näytettä koulumme opiskelijoilta. Nämä näytteet olivat aivan tuoreita ja niillä saadut tulokset olivat lähes identtisiä molemmilla laitteilla. Näytteet olivat kaikki kuitenkin normaaleiden viitearvojen rajoissa, joten otos ei ollut kovin kattava.

HbA1c-määrittämisessä yksi epävarmuustekijä oli se, että jouduimme esikäsittelemään näytteet käsin ennen niiden syöttöä Konelabille, sillä laitteeseemme ei ollut tarvittavia osia, jotta se olisi itse voinut suorittaa esikäsitteilyn.

Näytteet eivät olleet meidän ottamiamme, joten meillä ei ollut minkäänlaista tietoa niiden preanalyttisistä tekijöistä. Jotkin lääkkeet voivat esimerkiksi vaikuttaa määrittäisiin vääristäen yksittäisten näytteiden tuloksia. Vertailemme laitteet käyttivät myös erilaisia määrittämenetelmiä, joka selittää osan eroista.

Basofiilien, eosinofiilien ja monosyyttien osalta vertailu ei ollut kovin kattava, sillä niiden pitoisuudet olivat näytteissämme todella pieniä, jolloin emme saaneet kuvaa laitteen suorituskyvystä, kun määri-

tykset tapahtuvat mittausalueen ylärajoilla. Vertailua hankaloitti osaltaan myös se, että spinit ilmaisi tuloksensa yhden desimaalin tarkkuudella ja Sysmex kahden desimaalin tarkkuudella.

Jälkeenpäin ajateltuna potilasnäytevertailun lisäksi tutkimallamme laitteella olisi voinut tehdä myös sisäisiä toistosarjoja, jotta laitteen sisäinen toistettavuus olisi tullut selvitettyä. Tutkimus olisi myös voinut olla hieman laadukkaampi, jos olisimme analysoineet jokaisen näytteen kaksi kertaa ja laske-
neet tuloksista keskiarvon, joita olisi sitten käytetty vertailussa. Tämä olisi kuitenkin vaatinut aikaa ja tarvikkeita kaksi kertaa enemmän.

7.1.1 Johtopäätökset

Tämän tutkimuksen perusteella pidämme spinitä käyttökelpoisena. Paras käyttötarkoitus sille olisi jossakin missä ei pystytä käyttämään suuria ja paljon ylläpitoa vaativia analysaattoreita, eikä näyt-
teiden lähetys muualle analysoitaviksi ole mahdollista. Valkosolujen laskentaa ja CRP:n määrittystä voitaisiin hyödyntää myös esimerkiksi päivystyskäytössä, jolloin näytteitä ei tarvitse lähettää labora-
torioon tutkittaviksi ja tulokset saadaan nopeammin. Spinin vaatii todella vähän ylläpitotoimia, joten pidämme sitä hyvänä ratkaisuna, mikäli analyysyjä tehdään vain satunnaisesti. Laite ei analysoi trombosyyttejä, eikä anna juuri tietoa punasoluista, joten sillä ei ainakaan täysin voi korvata tavallis-
ta verenkuvaa-analysointia.

7.2 Eettisyys

Tieteellinen tutkimus täytyy suorittaa hyvän tieteellisen käytännön edellyttämällä tavalla. Vain silloin tutkimuksen ja sen tulosten voidaan todeta olevan eettisesti hyväksyttäviä ja luotettavia. Tutkimus-
työssä täytyy kunnioittaa tiedeyhteisön tunnustamia toimintatapoja, joita ovat rehellisyys, huolelli-
sus ja tarkkuus. Näitä toimintatapoja on noudatettava läpi tutkimuksen. (TENK s.a.)

Tutkimusetiikan kannalta tärkeää on myös käyttää tieteellisen tutkimuksen hyväksymiä ja eettisesti
kestäviä tiedonhankinta-, tutkimus- ja arviointimenetelmiä. Avoimuus ja vastuullinen viestintä tutki-
mustulosten julkaisussa ovat tutkimusetiikan kannalta myös olennaisia. (TENK s.a.)

Tutkijoiden eettiset ja moraaliset velvoitteet kohdistuvat tutkimukseen osallistuvia henkilöitä, tutki-
musyhteisöä, omaa ammattialaa, rahoittajia ja yhteiskuntaa kohtaan (ARENE s.a., 7).

Opiskelijan täytyy opinnäytetyöprosessissaan huomioida henkilötietojen käsittelyn eettisyys ja tutki-
mukseen osallistuvien henkilöiden tietosuojan toteutuminen. Henkilötietojen käsittelyssä olennaista
on oikeaoppinen ja tutkimusetiikan mukainen tietojen kerääminen, tallennus, säilytys ja tuhoaminen.
Henkilötietoja ei saa olla näkyvissä aineistoissa, tuloksissa tai julkaisuissa vaan ne täytyy ano-
nymisoida. Usein tutkittavilta vaaditaan myös suostumus tutkimukseen osallistumiseen. (ARENE s.a.,
6.)

Poistimme henkilötietotarrat sairaalan laboratoriossa ja ne hävitettiin oikeaoppisesti muun tietosuojajätteen joukossa. Potilailta ei ollut kysytty lupaa näytteiden käyttöön, mutta näytteitä, joista on poistettu potilastunnisteet, voidaan käyttää tilastollisissa analyysissä. (SFS-EN ISO 15189, 42.)

Tärkeä osa opinnäytetyön etiikkaa on lähdekritiikki ja kyky osata arvioida tiedon luotettavuutta ja soveltuvuutta (Kajaanin ammattikorkeakoulu s.a). Opinnäytetyössämme pyrimme käyttämään mahdollisimman tuoreita lähteitä. Lähdemateriaalia haimme niin suomeksi kuin englanniksikin ja käytimme sekä verkkojulkaisuja että kirjoja tietoa etsiessämme. Pyrimme käyttämään lähdemateriaalina mahdollisimman luotettavia lähteitä, kuten esimerkiksi Duodecimin verkkojulkaisuja ja biosurfitin omia julkaisuja. Kunnioitimme lähteiden tekijöitä Savonia-ammattikorkeakoulun hyväksymillä oikeaoppisilla lähdeviittauksilla.

Tärkeä osa tieteellistä tutkimusta on tietojen huolellinen dokumentointi, jossa meillä jäi mielestämme hieman parantamisen varaa. Tilastollisten menetelmien hyödyntämisessä onnistuimme mielestämme kohtuullisen hyvin ja käyttämämme metodit olivat samoja kuin muissa samankaltaisissa tutkimuksissa. Pidämme tuloksiamme kohtuullisen luotettavina, joskin huomasimme tutkimuksessamme muutamia heikkouksia ja virhelähteitä, joita on pohdittu ylempänä.

7.3 Ammatillinen kasvu

Koemme, että opinnäytetyöprosessi edisti ammatillista kasvuamme. Opinnäytetyön kautta pääsimme perehtymään laboratorion laadunvarmistukseen ja saimme hyvää kokemusta vierilaitteiden verifiointiprosessista. Opinnäytetyö mahdollisti yhteistyön työelämän kanssa ja antoi meille hyvät valmiudet käytännön työelämään.

LÄHTEET JA TUOTETUT AINEISTOT

ARENE s.a. Ammattikorkeakoulujen opinnäytetöiden eettiset suositukset [verkkodokumentti]. [Viitattu 2019-10-09.] Saatavissa:

<https://www.tenk.fi/sites/tenk.fi/files/Ammattikorkeakoulujen%20opinnäytetöiden%20eettiset%20suositukset.pdf>

BIOANALYYTIKKOLIITTO RY s.a. Vierianalytiikka [verkkojulkaisu]. [Viitattu 2018-09-03.] Saatavissa:

<https://www.bioanalyttikkoliitto.fi/mika-ihmeen-bioanalyttikko/bioanalyttikon-koulutus/erikoisalat/vierianalytiikka/>

BIOSURFIT 2018a. Spinit® [verkkojulkaisu]. [Viitattu 2018-05-19.] Saatavissa:

<https://www.biosurfit.com/en/spinit/>

BIOSURFIT 2018b. Spinit®: Blood Count [verkkojulkaisu]. [2018-05-19.] Saatavissa:

https://www.biosurfit.com/fotos/produtos/spinitbc_brochure_14581165455a3d376cf27de.pdf

BIOSURFIT 2018c. Spinit®: HbA1c [verkkojulkaisu]. [Viitattu 2019-05-19.] Saatavissa:

https://www.biosurfit.com/fotos/produtos/spinithba1c_brochure_14512852405af2c0564e491.pdf

BIOSURFIT 2018d. spinit® CRP tests. spinit® user manual.

BIOSURFIT 2017a. spinit® BC test. spinit® user manual.

BIOSURFIT 2017b. spinit® HbA1c tests. spinit® user manual.

CONCEIÇÃO FERNANDES THOMAZ, Filipe 2014. Spinit® Clinical Chemistry Assay [verkkodokumentti]. Técnico Lisboa. [Viitattu 2019-09-24.] Saatavissa:

<https://fenix.tecnico.ulisboa.pt/downloadFile/844820067123858/Thesis.pdf>

ESKELINEN, Seija 2016a. CRP (P-CRP). Laboratoriotutkimusten tulkinta [verkkojulkaisu]. Kustannus Oy Duodecim. [Viitattu 2019-09-10.] Saatavissa:

https://www.terveyskirjasto.fi/terveyskirjasto/tk.koti?p_artikkeli=snk03052

ESKELINEN, Seija 2016b. Hemoglobiini HbA1c (B-HbA1c). Laboratoriotutkimusten tulkinta [verkkojulkaisu]. Kustannus Oy Duodecim. [Viitattu 2019-09-09.] Saatavissa:

https://www.terveyskirjasto.fi/terveyskirjasto/tk.koti?p_artikkeli=snk03092

ESKELINEN, Seija 2016c. Leukosyytit (fB-Leuk). Laboratoriotutkimusten tulkinta [verkkojulkaisu]. Kustannus Oy Duodecim. [Viitattu 2019-09-11.] Saatavissa:

https://www.terveyskirjasto.fi/terveyskirjasto/tk.koti?p_artikkeli=snk03034

ESKELINEN Seija, 2016d. Punasolujen määrä (B-Eryt) ja hematokriitti (B-Hkr). Laboratoriotutkimusten tulkinta [verkkojulkaisu]. Kustannus Oy Duodecim. [Viitattu 2019-09-12.] Saatavissa:

https://www.terveyskirjasto.fi/terveyskirjasto/tk.koti?p_artikkeli=snk03032

FIMLAB LABORATORIOT OY s.a. Vierianalytiikka [verkkojulkaisu]. [Viitattu 2019-09-25.] Saatavissa:

https://www.fimlab.fi/sivu.tmpl?sivu_id=236

FLIR 2012. Vision-based blood test system gives accurate results in 15 minutes [verkkojulkaisu].

[Viitattu 2019-09-11.] Saatavissa: <https://www.flir.com/discover/iis/machine-vision/vision-based-blood-test-system-gives-accurate-results-in-15-minutes/>

GRAINDOR, Niels, BLOMME, Sander, JUGHMANS, Stijn, BOECKX, Nancy ja KIEFFER, Davy 2017.

Performance evaluation of the SpinIt®-BC, a new point-of-care assay for total WBC count with 5-part differential and hematocrit measurement [verkkolehti]. International Journal of Hematology.

[Viitattu 2019-09-17.] Saatavissa:

<http://web.a.ebscohost.com/ehost/pdfviewer/pdfviewer?vid=1&sid=0add243c-5727-4bfa-a1a2-a91278a34b44%40sessionmgr4007>

HUSLAB 2019. Tutkimusohjekirja. Perusverenkuva, leukosyyttien erittelylaskenta, koneellinen, verestä [verkkojulkaisu]. [Viitattu 2019-11-07.] Saatavissa: <https://huslab.fi/ohjekirja/2475.html>

HÄGG, Margareta 2016. Validoinnin suunnittelun opas [verkkodokumentti]. VTT Technology 276.

[Viitattu 2019-09-19.] Saatavissa: <https://www.vtt.fi/inf/pdf/technology/2016/T276.pdf>

INTERACTIVE TERMINOLOGY FOR EUROPE (IATE) 2009. IATE ID: 1442735, Analyte [verkkojulkaisu]. [Viitattu 2013-10-28.] Saatavissa: <https://iate.europa.eu/entry/result/1442735/all>

JCGM 2012. International vocabulary of metrology – Basic and general concepts and associated terms (VIM) [verkkodokumentti]. [Viitattu 2019-09-20.] Saatavissa:

https://www.bipm.org/utis/common/documents/jcgm/JCGM_200_2012.pdf

JAARINEN, Soili ja NIIRANEN, Jukka 2005. Laboratorion analyysitekniikka. 5.-6. painos. Helsinki: Edita Publishing Oy.

KAJAANIN AMMATTIKORKEAKOULU s.a. Eettisyys [verkkojulkaisu]. [Viitattu 2019-10-09.] Saatavissa: <https://www.kamk.fi/fi/opari/Opinnaytetyopakki/Teoreettinen-materiaali/Tukimateriaali/Eettisyys>

KANANEN, Jorma 2011. Kvantti: Kvantitatiivisen opinnäytetyön kirjoittamisen käytännön opas. Jyväskylän ammattikorkeakoulu.

KIM, Chan-Sik, PARK, Sok & KIM, Junghyun, 2017. The role of glycation in the pathogenesis of aging and its prevention through herbal products and physical exercise [verkkolehti]. The Journal of

- EXERCISE NUTRITION & BIOCHEMISTRY. Julkaistu: 30.9.2017; 21(3): 55–61. [Viitattu 2019-09-24] Saatavissa: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5643203/pdf/JENB_2017_v21n3_55.pdf
- LABQUALITY OY 2018a. Validointi ja verifiointi. Vieritestisuositus [verkkajulkaisu]. [Viitattu 2019-09-24] Saatavissa: https://www.labquality.fi/vieritestisuositus/luotettava_vieritesti/validointi_verifiointi/
- LABQUALITY OY 2018b. Laadunvarmistus. Vieritestisuositus [verkkajulkaisu]. [Viitattu 2019-09-25] Saatavissa: https://www.labquality.fi/vieritestisuositus/luotettava_vieritesti/laadunvarmistus/
- LEWANDROWSKI, Kent 2009. Point-of-care testing. Philadelphia, PA: Saunders.
- LIIKANEN, Eeva 2003. Voiko vierianalytiikka olla laadukasta? Tutkimus sydän- ja verisuonitautien vierianalytiikasta. Kuopion yliopisto. Väitöskirja.
- MELLIN, Iikka 2007. Tilastolliset menetelmät. Osa 4: Lineaarinen regressioanalyysi. Tilastollinen riippuvuus ja korrelaatio [verkkodokumentti]. [Viitattu 2019-11-06.] Saatavissa: <https://math.tkk.fi/opetus/sovtoda/luennot/TILRI100.pdf>
- NUMMENMAA, Lauri, HOLOPAINEN, Martti ja PULKKINEN, Pekka 2014. Tilastollisten menetelmien perusteet. Helsinki: Sanoma Pro Oy.
- PORKKA, Kimmo, LASSILA, Riitta, REMES, Kari & SAVOLAINEN, Eeva-Riitta 2015. Veritaudit. 5. uudistettu painos. Helsinki: Kustannus Oy Duodecim.
- SFS-EN ISO 15189 2012. Lääketieteelliset laboratoriot. Laatu ja pätevyyttä koskevat vaatimukset. Medical requirements for quality and competence. SFS Online-palvelu. [Viitattu 2019-09-17.] Saatavissa: online-sfs-fi.ezproxy.savonia.fi/fi/index/tuotteet/SFS/CENISO/ID2/1/240842.html.stx
- SFS-EN ISO 22870 2016. Vieritestaus. Laatu- ja pätevyysvaatimukset. SFS Online-palvelu. [Viitattu 2019-10-25] Saatavissa: <https://online.sfs.fi/fi/index/tuotteet/SFS/CENISO/ID2/2/661068.html.stx>
- STIENE-MARTIN, Anne 2012. Leukocyte Development, Kinetics and Functions. Julkaisussa: RODAK, Bernadette, FRITSMA, George ja KEOHANE, Elaine. Hematology: Clinical Principles and Applications. 4. painos. USA: Saunders.
- SPROSTON, Nicola ja ASHWORTH, Jason 2018. Role of C-Reactive Protein at Sites of Inflammation and Infection. Frontiers in Immunology 2018. Vol 9, artikkeli 754. [Viitattu 2019-09-19.] Saatavissa: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5908901/pdf/fimmu-09-00754.pdf>
- ST. JOHN Andrew & PRICE Christopher, 2014. Existing and Emerging Technologies for Point-of-Care Testing. Clinical Biochemistry Review 2014. Vol 35, Nro 3. [Viitattu: 2019-09-09.] Saatavissa: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4204237/pdf/cbr-35-155.pdf>

SYSMEX s.a. Fluorescence flow cytometry [verkkajulkaisu]. [Viitattu 2019-09-24.] Saatavissa: <https://www.sysmex-europe.com/academy/knowledge-centre/measurement-technologies/fluorescence-flow-cytometry.html>

SYSMEX 2012. XS-1000i™ Automated Hematology Analyzer [verkkodokumentti]. [Viitattu 2019-09-24.] Saatavissa: <https://www.sysmex.com/la/pt/Products/Documents/English/XS-1000i-English.pdf>

TENK s.a. Hyvä tieteellinen käytäntö (HTK) [verkkajulkaisu]. [Viitattu 2019-09-24.] Saatavissa: <https://www.tenk.fi/fi/hyva-tieteellinen-kaytanto>

THEODORSSON, Elvar 2012. Validation and verification of measurement methods in clinical chemistry [verkkolehti]. Bioanalysis 2012. Vol. 4, Nro. 3. [Viitattu 2019-09-19.] Saatavissa: <https://www.future-science.com/doi/pdfplus/10.4155/bio.11.311>

THERMO FISHER SCIENTIFIC INC. 2014, Konelab™ HbA1c. Package insert.

THERMO FISHER SCIENTIFIC INC. 2016, Konelab™ CRP. Package insert.

TILASTOKESKUS s.a.a Tilastojen ABC. Hajontakuviot [verkkajulkaisu]. [Viitattu 2019-10-28.] Saatavissa: https://tilastokoulu.stat.fi/verkkokoulu_v2.xql?page_type=esim&course_id=tkoulu_tlkt&lesson_id=2&subject_id=6&example_id=4

TILASTOKESKUS s.a.b Tilastojen ABC. Keskiluvut [verkkajulkaisu]. [Viitattu 2019-10-28.] Saatavissa: https://tilastokoulu.stat.fi/verkkokoulu_v2.xql?course_id=tkoulu_tlkt&lesson_id=4&subject_id=4&page_type=sisalto

VASHIST, Sandeep 2017. Point-of-Care Diagnostics: Recent Advances and Trends [verkkolehti]. Biosensors 2017, Vol. 7, Nro. 62. [Viitattu 2019-10-28] Saatavissa: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5746785/pdf/biosensors-07-00062.pdf>

VILKKA, Hanna 2007. Tutki ja mittaa [verkkodokumentti]. [Viitattu 2019-10-07.] Saatavissa: https://trepo.tuni.fi/bitstream/handle/10024/98723/Tutki-ja-mittaa_2007.pdf

LIITTEET

TAULUKKO 2. Konelab 20i kontrollinäytteiden tulokset

CRP	High (mmol/l)	Low (mmol/l)
Tavoitearvo	56 - 84	22 - 34
Kontrollinäyte 3.10.	69,7	28,1
Kontrollinäyte 12.10.	70,0	28,0

HbA1c	Abnormal (mmol/l)	Normal (mmol/l)
Tavoitearvo	0,660 - 0,982	0,335 - 0,453
Kontrolli 9.10.	0,717	0,379
Kontrolli 12.10.	0,691	0,358
Kontrolli 26.10.	0,694	0,361

Hb	Abnormal (mmol/l)	Normal (mmol/l)
Tavoitearvo	8,68 - 10,20	8,84 - 10,38
Kontrolli 9.10.	9,272	9,406
Kontrolli 12.10.	9,250	9,280
Kontrolli 26.10.	9,210	9,360