

---

# Vieritestit mononukleosin määrittämisessä

---

**Anna Hallama**

**Opinnäytetyö**

**Ammattikorkeakoulututkinto**





Koulutusala Sosiaali-, terveys- ja liikunta-ala	
Koulutusohjelma Bioanalytiikan koulutusohjelma	
Työn tekijä(t) Anna Hallama	
Työn nimi Vieritestit mononukleosin määrittämisessä	
Päiväys	28.11.2011
Sivumäärä/Liitteet	46/1
Ohjaaja(t) Lehtori Reetta Pylkkönen & Sairaalasolubiologi Aino Laatikainen	
Toimeksiantaja/Yhteistyökumppani(t) Itä-Suomen laboratorokeskuksen liikelaitoskuntayhtymä, ISLAB	
<p>Tiivistelmä</p> <p>Mononukleosi on Epstein-Barr-viruksen aiheuttama kuumetauti. Mononukleosiin liittyy myös useita muita oireita. Epstein-Barr-virustartunnan saa lähes jokainen ihminen. Mononukleosia esiintyy normaalisti nuoruusiässä eli 15–25 vuotiailla. Puolet tartunnoista saadaan jo ennen viidettä ikävuotta tai vasta nuorella aikuisiällä. Nuoreen aikuisikään mennessä noin 90–95% väestöstä on saanut Epstein-Barr-virusinfektion. Virus tarttuu syljenvälityksellä limakalvokontaktissa. Epstein-Barr-virus infektoi B-lymfosyyttejä ja se aiheuttaa lyyttisen tai latentin infektion.</p> <p>Mikrobiologiset vieritestit perustuvat mikrobin tai sen osan osoittamiseen vasta-aineiden avulla potilasnäytteestä. Vierianalytiikan selkein hyöty on vastausviiveen pieneneminen. Tutkimustulos auttaa tekemään oikeita päätöksiä ja mahdollisesti lyhentää potilaan hoitoaikaa.</p> <p>Opinnäytetyössä tutkittiin mononukleosin osoittamiseen käytettävien vieritestien eroavaisuuksia. Tarkoituksena oli vertailla esiintyykö vieritesteillä saatujen tulosten välillä eroavaisuuksia ja kuinka paljon vieritestit antavat vääriä tuloksia. Opinnäytetyössä tavoitteena oli saada vertailutuloksia testien tulosten oikeellisuudesta ja suoritus nopeudesta. Tulosten oikeellisuutta pystytään arvioimaan referenssituloksen avulla.</p> <p>Tässä opinnäytetyössä mittarina toimivat eri valmistajien vieritestit. Vieritesteillä saatuja potilasnäytetuloksia verrattiin referenssi menetelmään. Tulokset muutettiin numeeriseen muotoon, jolloin niitä voitiin arvioida tilastollisesti ristiintaulukoimalla.</p> <p>Tuloksien perusteella laboratorion käytössä oleva vieritesti (Clearview IM) antoi eniten vääriä positiivisia tuloksia. Ero toisiin vieritesteihin ei kuitenkaan ole suuri. Vääriä negatiivisia laboratorion käytössä oleva vieritesti antoi myös eniten ja tässäkin ero toisiin testeihin oli pieni.</p> <p>Eri vieritestien tuloksien välillä ei esiinny suuria eroja. Pystyäkseen arvioimaan testien todellista eroa, olisi syytä toteuttaa tutkimus suuremmalla otoksella, jotta tutkimuksen tulokset olisivat luotettavampia.</p>	
Avainsanat Mononukleosi, Epstein-Barr-virus, vierianalytiikka, vieritestaus	



Field of Study Social Services, Health and Sports			
Degree Programme Degree Programme of Biomedical Laboratory Science			
Author(s) Anna Hallama			
Title of Thesis Point of Care Tests determining infectious mononucleosis			
Date	28.11.2011	Pages/Appendices	46/1
Supervisor(s) Senior lecturer Reetta Pylkkönen & Hospital Cell Biologist Aino Laatikainen			
Project/Partners Eastern Finland Laboratory Centre Joint Authority Enterprise (ISLAB)			
<p>Abstract</p> <p>Mononucleosis is the Epstein-Barr virus induced febrile illness. Infectious mononucleosis is also linked to several other symptoms. Epstein-Barr virus infected almost every human being. Mononucleosis usually occurs in adolescence, i.e. 15-25 years of age. Half of the infections will be before the fifth year of age, or until early adulthood. Young adulthood by approximately 90-95% of the population has the Epstein-Barr virus infection. The virus is transmitted through saliva epithelium contact. Epstein-Barr virus infects B lymphocytes and causes lytic or latent infection.</p> <p>Microbiological tests are based of microbes or part of the demonstration of antibodies to the patient sample. Point of Care Tests most obvious benefit is the answer to reducing the time delay. The results will help to make the right decisions, and possibly shorten the time for patient care.</p> <p>The thesis investigated for infectious mononucleosis to demonstrate differences in Point of Care tests. The aim was to compare the presence of tests of the differences between the results obtained and how much tests give false results. The thesis target was to obtain comparative results of tests for accuracy and performance speed. Accuracy of the results can be assessed using the reference result.</p> <p>In this thesis the results obtained using different manufacturer's Point of Care tests. Point of Care Testing was obtained from a patient sample results were compared to the reference method. The results were changed of numerical format so that they could be evaluated statistically by cross-classifying.</p> <p>The results of the laboratory's use test (Clearview IM) gave the highest false-positive results. Difference between the other Point of Care tests is not great. False negative laboratory's test also gave the most, but the difference in other tests was small.</p> <p>Point of Care test results, there is no major differences. To assess the real difference between Point of Care test results, the research could be undertaken in a larger number of samples, so that the results would be more reliable.</p>			
<p>keywords Mononucleosis, Epstein-Barr virus, Point of Care Testing.</p>			



## SISÄLTÖ

1	Johdanto .....	8
2	Vierianalytiikka laboratoriossa ja laadunvarmistus .....	10
3	Mononukleoosi ja Epstein-Barrin virus (EBV) .....	13
3.1	Elimistön immunologiset muutokset.....	14
3.2	Epstein-Barr-viruksen rakenne ja replikaatio.....	14
3.3	Epstein-Barr-virusinfektion muodot .....	15
4	Referenssimenetelmä ja vertailtavat vieritestimenetelmät.....	17
4.1	Entsyymi-immunologinen menetelmä (EIA) .....	17
4.2	Clearview IM -vieritesti.....	17
4.3	NADAL mononucleosos test devise -vieritesti.....	19
4.4	OSOM mono test -vieritesti.....	21
4.5	RDT EBV IgM – JA IgG Assay -vieritestit.....	23
5	Aiempiä tutkimustuloksia .....	26
6	Tutkimusmenetelmä .....	27
7	Tutkimuksen tarkoitus, tavoitteet ja tutkimusongelmat .....	28
8	Tutkimusaineisto ja tutkimuksen suoritus.....	29
9	Tutkimusaineiston analyysi ja -tulosten tulkinta .....	31
9.1	Eri testeillä saatujen tulosten vertailu .....	31
9.2	Väärien tulosten määrä.....	35
10	Pohdinta .....	37
10.1	Tulosten vertailu aiempiin tutkimustuloksiin .....	37
10.2	Luotettavuus.....	37
10.3	Eettisyys.....	38
10.4	Vieritestien käyttäjän kokemuksia.....	39
10.5	Opinnäytetyöprosessin arviointi.....	41
10.6	Tulosten hyödynnettävyys ja jatkotutkimushaasteet .....	42
	LÄHTEET.....	43

## LIITTEET

Liite 1 Testauksien alkuperäiset tulokset

## 1 Johdanto

Mikrobiologista vierianalytiikkaa tarvitaan yleensä terveyskeskuksissa ja lääkäriasemilla, joiden tehtäväksi sopivat yksinkertaiset ja nopeat testit. Mikrobiologiset vieritestit perustuvat mikrobin tai sen osan osoittamiseen vasta-aineiden avulla potilasnäytteestä. Olennainen asia mikrobiologisessa vieritestauksessa on laadunvalvonta. Mikrobiologisten vieritestien käyttöalueita ovat suolisto- ja hengitystieinfektiot sekä vakavat infektiot, kuten bakteerisepsis ja aivokalvontulehdus. (Leinonen 2000, 53–54).

Mononukleosis on kuumetauti, jonka aiheuttaa Epstein-Barr-virus (EBV). Aikuisilla tautiin liittyy nielurisatulehdus, imusolmukkeiden suureneminen ja oireeton maksatulehdus. Pienillä lapsilla oireena on pelkästään kuume. Lähes kaikki saavat Epstein-Barr-virustartunnan. Puolet tartunnoista saadaan jo ennen viidettä ikävuotta tai vasta nuorella aikuisiällä. Nuoreen aikuisikään mennessä noin 90–95% väestöstä on saanut Epstein-Barr-virusinfektion. (Lumio 2009; Numminen, Joki-Erkkilä Järvelä & Dastidar 2003, 1154–1157.)

Vierianalytiikan selkein hyöty on vastausviiveen pieneneminen. Tutkimustulos auttaa tekemään oikeita päätöksiä ja mahdollisesti lyhentää potilaan hoitoaika. Vieritesti kannattaa tehdä silloin, kun se vaikuttaa hoitopäätökseen, esimerkiksi mikrobilääkehoidon aloitukseen, lääkkeen antotavan valintaan, jatkotutkimusten valintaan tai sairaalaan ottamiseen. (Weber 2000, 37–38; Prinssi 2000, 45.)

Tämän opinnäytetyön tarkoituksena on vertailla eri valmistajien mononukleosin osoitus testejä referenssimenetelmään ja toisiinsa. Opinnäytetyön aihe on saatu Itä-Suomen laboratorokeskuksen liikelaitoskuntayhtymän, ISLAB, mikrobiologian laboratorion sairaalasolubiologi Aino Laatikaiselta. Laatikaisen (10.12.2010) mukaan vieritestejä on syytä vertailla, jotta voidaan arvioida onko mononukleosin osoittamiseen käytettävä vieritestiä syytä vaihtaa. Nykyisin laboratoriossa on käytössä Clearview IM -merkinen vieritesti mononukleosin osoittamiseen. Vieritestien vertailussa on mukana neljä erimerkkistä testiä.

Opinnäytetyössä potilasnäytteet määritetään vieritesteillä. Testauksessa saatuja tuloksia verrataan referenssitulokseen. Tulokset on syötetty tilastointiohjelmaan (SPSS), jossa tuloksia pystytään vertailemaan. Vertailu tuloksien perusteella pystytään arvioimaan onko mononukleosin osoittamiseen käytettävää vieritestien tulok-



sissa eroja ja pystytään toteamaan vieritesteillä esiintyvien väärin tulosten määrä. Tässä opinnäytetyössä on tavoitteena käyttää saatuja tuloksia valitessa käytettävää mononukleosin osoitus vieritesti. Tuloksien perusteella voidaan valita mitä vieritestiä laboratorio tulevaisuudessa käyttää, vaihtavako he käytössä olevan vieritestin toiseen vai pitäytyvätkö vanhassa.

## 2 Vierianalytiikka laboratoriossa ja laadunvarmistus

Vieritestauksella tarkoitetaan yleensä sellaista sairauksien diagnostiikkaa tai hoidon seurantaan tarkoitettuja laboratoriotutkimuksia, joita tehdään tavanomaisen laboratorioympäristön ulkopuolella hoitoyksikön toimesta ja vastuulla. Vieritestausta tarkoitetaan myös käytössä olevilla käsitteillä pikatesti ja pikamittari. Mikrobiologian vieritestaus on infektion- eli taudin aiheuttajan osoittamista potilaassa. Mikrobiologinen vieritestaus on lain mukaan luvanvaraista toimintaa. Mikrobiologian vieritestausta koskevat samat säädökset kuin tartuntatautiin diagnostiikkaakin. Tartuntatautilaki, L 583/1986, säättää, missä tätä diagnostiikkaa saa tehdä ja kuka siihen myöntää luvan. Testauksesta säättää tarkemmin tartuntatautiasetus, A 786/1986. (Linko ym. 2009, 276–300; Tartuntatautilaki 1986/583; Tartuntatautiasetus, A 786/1986.)

Mikrobiologian vieritutkimusten pyrkimyksenä on lyhentää spesifiseen diagnostiikkaan liittyvää vastausviitettä. vieritutkimukset ovat vähemmän herkkiä (sensitiivisiä) ja tarkkoja (spesifisiä) menetelmiä verrattuna perinteisiin laboratoriomenetelmiin. Infektioissa hoito pitää aloittaa nopeasti ja se tulee suunnata oikeaan taudin aiheuttajaan, joten perinteisen mikrobiologisen laboriodiagnostiikan tuomaan viiveeseen ei usein ole aikaa. Mikrobiologian vieritesteillä ei mitata näytteessä olevan aineen pitoisuutta vaan mikrobin (mikrobiantigeenin) läsnäoloa. Herkkyyden ja spesifisyyden takia on tärkeää, että mikrobiologian vieritesteillä tutkitaan vain sellaisia potilaita, joilla testattava tauti on anamneesiin ja kliinisen kuvan sekä muiden taudin esiintyvyyteen vaikuttavien tekijöiden suhteen todennäköinen. (Nissinen 2010, 18–19.)

Edellytys onnistuneelle vieritestaukselle on hyvin suunnitellut ja toteutetut laadunvarmistus menettelyt. Vieritestauksen laadunvarmistuksen perustekijöitä ovat osaavat työntekijät, hyvät testit, kontrollointi sekä tulosten jäljitettävyyden ja siirrettävyyden. Preanalyttiset tekijät ja testin suorittamiseen perehtyneisyys vaikuttavat olennaisesti testin lopputulokseen. (Linko ym. 2009, 276–300.)

Vieritestauksen ohjeistuksesta sekä muiden oheisdokumenttien ylläpidosta ja hallinnasta on hyvä määritellä menettelytavat, joiden avulla varmistetaan tulostason luotavuus, pätevyys ja tulosten jäljitettävyyden. Vieritestaamiseen kuuluu yleisesti hyväksytyjen laatuperiaatteiden mukaisesti toiminnan seuraaminen ja kehittäminen. Jokaisella vieritestillä on oltava oma työohje, jossa viitataan valmistajan ohjeisiin. Vieritestauksen toimivuuden tarkistukseen käytettävien kontrollien tuloksia on hyvä seurata. Ennen kuin vieritestit voi ottaa käyttöön, on suoritettava validointi. Työntekijöiden vie-

ritestin hallitsemisesta on hyvä seurata perehdytyskortilla. Laadun parantaminen vieritestauksessa perustuu toiminnan tarkistamiseen ja arviointiin sovituin aikavälein. (Linko ym. 2009, 276–300.)

Vieritestauksen laadunvarmistusta koskevat samat periaatteet kuin varsinaisia laboratoriotutkimuksiakin. Käyttöön valituilla vieritestillä on merkitystä tulosten luotettavuuden ja testien tekijöiden motivaation kannalta. Vieritestauksen perustana on sopivasti mitoitettu laadunvarmistus ja -näyttö sen toteutumisesta ja tuloksista. Pätevän vieritestauksen laadunvarmistuksen kriteerejä ovat suorittajan koulutus mittaukseen, testin sopivuus käyttötarkoitukseen, testiin on pätevät ohjeet, testin luotettavuuden varmennus, testin laatutason seuranta, testin tulosten kirjaus tai tallennus sekä testin tulosten oikea tulkinta. Analyttisen laadunvarmistuksen tärkeimmät osa-alueet ovat mm. vieritestin antaman tulostason varmentaminen ja käyttötarkoitukseen soveltuvuuden arviointi, sisäinen laadunohjaus sekä ulkoinen laadunarviointi. Pätevässä vieritestauksessa laadunvarmistuksen jatkuvan seurannan tulee perustua ennalta määritettyihin laatuvaatimuksiin. Mittaustulosten kokonaisluotettavuus arvioidaan mittaustulosten liittävistä epävarmuustekijöistä, kuten mittausten toistuvuus ja tuloksen mahdollinen poikkeama vertailumenetelmästä. Mikrobiologiset vieritestit ovat kvalitatiivisia ja perustuvat silmämääräiseen tulosten lukuun. Vieritestin herkkyys että spesifisyys vaihtelevat vieritestistä riippuen. (Linko ym. 2009, 276–300.)

Sisäisellä laadunvarmistuksella tarkoitetaan toimenpiteitä, joilla testin laatua seurataan ja hallitaan. Niihin kuuluu mm. toiminnan kontrollointi, kontrollitulosten arviointi ja sitä mahdollisesti seuraavat korjaavat toimenpiteet. Mikrobiologiassa vieritestauksessa jokaisen uuden testierän toimivuus tulee varmistaa. Varmistaminen tapahtuu tutkimalla vähintään reagenssipaketin omat kontrollit, yleensä sekä positiivinen että negatiivinen. Ne määritetään myös aina epäiltäessä testin toimivuutta. Kontrollien tuloksien ollessa odotusarvojen mukaiset, testi periaatteessa on kunnossa. Toimiva laadunvarmistus on eräs keskeisistä toimiluvan ehdoista mikrobiologisten vieritestien osalta. Kaikki laadunohjaustulokset tulee kirjata huolellisesti. Mahdolliset poikkeamat arvioidaan ja päätetään korjaavista toimenpiteistä ja varmistetaan niiden toteutuminen. (Linko ym. 2009, 276–300.)

Ulkoisella laadunarvioinnilla tarkoitetaan toimintaa, jossa testausta tekevä toimintayksikkö vertaustaa omaa suoritustaan muiden samaa tutkimusta tekevien yksiköiden suoritukseen. Laadunarviointipalvelujen tuottaja toimittaa toimintayksikköön sokkonäytteitä. Toimintayksikkö tutkii näytteet vieritestillä samalla tavalla kuin potilasnäytteetkin ja lähettää tulokset laadunarviointipalvelun tuottajalle, joka tekee kaikkien kier-

rokselle osallistuneiden toimintayksiköiden tuloksista yhteenvedon. Yhteenvedosta jokainen kierrokselle osallistunut voi tarkistaa, miten hyvin oma tulostaso vastaa muiden samaa menetelmää käyttävien tulostasoja. Ulkoiselle laadunarviointikierrokselle osallistuminen suunnitellaan vuosittain tutkimuskohtaisesti. Vieritutkimuksien suositellaan osallistuvan laadunarviointikierrokselle 2-4 kertaa vuodessa, jotta tulostason seuranta olisi mahdollista. Mikrobiologian toimiluvan ehtoihin kuuluu, että vieritestausta tekevä toimipiste osallistuu ulkoisen laadunarvioinnin kierroksille vähintään neljä kertaa vuodessa, aina kun kierroksia on näin monta tarjolla. (Linko ym. 2009, 276–300.)

### 3 Mononukleoosi ja Epstein-Barrin virus (EBV)

Mononukleoosi eli *mononucleosis infectiosa* (IM) on tunnetuin Epstein-Barrin viruksen aiheuttamista taudeista. Epstein-Barrin virus (EBV) luokitellaan gammaherpesvirusten sukuun *Lymphocryptovirus*. Mononukleosia esiintyy nuoruusiällä, normaalisti 15–25 -vuotiailla. Taudin itämisaika on 30–50 vuorokautta. Taudin alkuvaiheessa ilmenee taudille tyypillinen peitteinen risatulehdus, jota ei kliinisesti voi erottaa bakteeritulehduksesta. Mononukleosissa esiintyy korkeaa kuumetta ja imusolmukkeiden turpoamista. Imusolmukkeet turpoavat niskasta, kaulalta, kainaloista, nivustaipeista ja suoliliepeen alueelta. Taudin alkuvaiheessa voidaan havaita silmäluomien turvotusta. Taudin yhteydessä esiintyy hepatiittia ja pernan suurenemista, joka todetaan lähes joka toisella sairastuneella. Hepatiitti on vähäoireinen ja se todetaan laboratoriokokein. Pienipilkkuista ihottumaa esiintyy 5-10 % sairastuneista, mutta kuitenkin lähes kaikilla, jotka saavat ampicilliinia tai amoksisilliinia. Tavallisesti kuume, risatulehdus, hepatiitti ja perna alkavat parantua 2-3 viikossa. Imusolmukkeiden turvotus jatkuu kuukausien ajan ja joillakin ihmisillä imusolmukkeet voivat jäädä aiempaa suuremmiksi. Joillakin sairastuneista lievä kuumeilu ja sairauden tunne voi jatkua kuukausia mononukleosin jälkeen. (Hukkanen 2010, 545–550; Mustajoki 2010.)

EB-viruksen pääasiallinen tartuntatie on sylki. EB-virusinfektio ei yleensä leviä pisaratartuntana vaan tartunta tapahtuu limakalvokontaktissa tai syljen kontaminoimista esineistä, esimerkiksi lelujen välityksellä. Osa oireettomista viruksenkantajista erittää virusta sylkeen kuukausien ajan. (Hukkanen 2010, 545–550; Numminen, Joki-Erkkilä Järvelä & Dastidar 2003, 1154–1157.)

Aikuisiällä sairastettu mononukleoosi voi myös komplisoitua. Taudin yhteydessä on kuvattu esiintyvän keskushermostokomplikaatioita, kuten aivokalvontulehdusta ja aivokuumetta. On havaittu myös perifeerisiä osittaisia halvauksia, lannehermotulehdusta, autonomis-sensorista ääreishermosto sairautta, Guillain-Barre'n oireyhtymää ja edellä mainittujen yhdistelmiä. Taudin akuutin vaiheen vakava, mutta harvinainen komplikaatio on pernan repeämä. Muita komplikaatioita ovat sydänlihastulehdus, autoimmuuni hemolyyttinen anemia, trombosytopenia, munuaiskerästulehdus ja niveltulehdus. (Hukkanen 2010, 545–550; Duodecim 2011.)

### 3.1 Elimistön immunologiset muutokset

Mononukleosissa EBV infektoi B-lymfosyyttejä, mutta taudin monet ilmiöt aiheutuvat immuunivasteesta infektoituneita B-lymfosyyttejä kohtaan. Mononukleosipotilailla todetaan perifeerisessä veressä lymfocytoosi. Yli 10 % imusoluista on lymfoblasteja. Suurin osa niistä on CD8-positiivisia T-soluja (tappaja T-soluja) ja vain osa niistä on EBV-positiivisia. B-lymfosyyteistä 5-20 % on EBNA-positiivisia ensimmäisellä viikolla, eli EBV-infektoituneita; mutta jo toisella tautiviikolla enää alle 2 % B-lymfosyyteistä on EBV-positiivisia. Mononukleosissa kitarisa, perna ja maksa infiltroituvat juuri aktivoituneilla T-imusoluilla. T-soluvaste kohdistuu erityisesti EBNA-3-proteiiniin infektion myöhemmissä vaiheissa ja latenssin aikana. (Hukkanen 2010, 545–550; Duodecim 2011.)

Mononukleosissa EBV-infektio johtaa polyklonaaliseen B-solujen aktivaatioon, mutta kaikki aktivoituneet B-solut eivät ole EBV-infektoituneita. Infektoituneet ja infektoimattomat aktivoituneet B-solut tuottavat taudille tyypillisiä autovasta-aineita. Autovasta-aineet ovat tavallisesti IgM-luokkaa. EBV:n immortalisoimat solut tuottavat autovasta-aineita mm. solun tukirangan komponenteille. Mononukleosissa esiintyvä klassinen vasta-aine on Paul-Bunnelin heterofiilinen vasta-aine. 90 %:lla mononukleosipotilaita todetaan heterofiilisiä vasta-aineita. Lähes kaikilla potilailla esiintyy verenkierrossa immunokomplekseja. Taudin akuutissa vaiheessa esiintyy ohimenevää soluvälitteisen immuniteetin heikkenemistä. (Hukkanen 2010, 545–550.)

### 3.2 Epstein-Barr-viruksen rakenne ja replikaatio

EBV:llä on samanlainen virionin rakenne kuin muillakin herpesviruksilla. Sen kapsidia ympäröi tegumentti-materiaali, jota ympäröi vaippa, jossa on viruksen glykoproteiineja. Kapsidin sisällä oleva viruksen DNA on lineaarinen. DNA:ssa on EBV:lle ominaisia sisäisiä toistojaksoja sekä genomien päissä lyhyet toistojaksot, joiden välityksellä DNA muuttuu rengasmaiseksi infektoituneessa solussa. DNA:n koko on 172 000 emäspäriä, josta 60 % on guaniinia ja sytosiinia. (Hukkanen 2010, 545–550.)

EBV-primaari-infektiossa suun ja nielun epiteelisolut infektoituvat viruksella. Ensi-infektion alkamiseen epiteeleissä tarvitaan B-lymfosyyttejä. EBV infektoi B-soluja varhaisessa infektion vaiheessa ja aiheuttaa niissä latentin infektion. EBV:n glykoproteiinin (gp 350/220) reseptorina B-solujen pinnalla toimii komplementtijärjestelmän C3d-komponentin reseptori. Reseptoriin sitoutumisreaktio johtaa EB-virionien pääsyyn B-lymfosyyttiin endosytoosimekanismilla. EBV:n toinen reseptoriin sitoutuva glykoproteiini (gp 42), sitoutuu B-solun pinnalla oleviin HLA II-molekyyleihin. EBV:n reseptorin käytön vaihtelun vuoksi B-soluista valmistuneet EBV-partikkelit infektoivat parhaiten epiteelisoluja, kun taas epiteelisoluista valmistuneet EBV-partikkelit infektoivat parhaiten B-soluja. (Hukkanen 2010, 545–550.)

### 3.3 Epstein-Barr-virusinfektion muodot

EB-viruksen infektoituneessa solussa tapahtuu lyyttinen- tai latentti-infektio, solun transkriptiotekijöiden saatavuudesta riippuen. Lyyttisessä infektiossa DNA-synteesi ja kapsidien muodostuminen tapahtuu tumassa. Lyyttisen infektion alussa viruksen DNA esiintyy rengasmaisena solun tumassa. EBV:n mRNA:t ilmentyvät ja niiden koodittamat proteiinit käynnistävät EBV-genomista varhaisten geenien ilmentymisen. DNA-kahdentumisen käynnistyttyä myöhäiset geenit ilmentyvät. Niiden koodittamista proteiineista muodostuvat kapsidi ja vaipan glykoproteiinit. Glykoproteiineista gp 350/220 on runsaslukuisin infektoituneen solun ulkokalvolla ja virionin pinnalla. Siihen glykoproteiiniin kohdistuvat T-solvaste ja neutraloivat vasta-aineet. Lyyttinen replikaatiosykli kestää 48–72 tuntia. (Hukkanen 2010, 545–550; Duodecim 2011.)

EBV:lle ominainen piirre on B-solujen latentti infektio. EBV:n latenssi on dynaaminen tila, jossa se ilmentää latenssigeenejä mRNA:ksi ja proteiineiksi. EBV:n tarttuminen solunpintaan aiheuttaa aktivaatiomolekyylin (CD23) ilmentymisen solun pinnalle. Latenssissa viruksen DNA on rengasmaisena molekyylinä, jota DNA-polymeraasit monistavat. Viruksen latenssigeenit koodittavat kuutta tumaproteiinia (EBNA -1, -2, -3A, -3B, -3C ja -LP), kolmea membraaniproteiinia (LMP -1, -2A, -2B) ja kahta pientä RNA:ta. EBV-DNA:n BamHI A -osasta syntyy eri infektiomuodoissa lähetti-RNA:ta. Sama osa koodittaa myös eräitä mikroRNA-molekyylejä. Infektion alussa 8-10 tunnin kuluessa ensimmäisenä ilmentyy EBNA-2 ja – LP. EBNA-2 on vahva transaktivaattori ja se aiheuttaa muiden latenssigeenien ja solun geenien ilmentymistä. Muut EBNA:t ja LMP:t ilmentyvät vasta 40–70 tunnin kuluessa. EBNA-RNA:t muodostuvat silmu-

koitumalla. Latenssigeenien ilmentymisprofiilin perusteella EBV:llä on erilaisia latenssimuotoja. Mononukleosisissa tavataan kaikkien latenssigeenien ilmentymistä. Latenssigeenien rajoittunut ilmentyminen vähentää solussa olevia immuunivasteen kohteita, joka edistää EBV-infektoituneiden solujen säilymistä elimistössä. Ihmisellä merkittävänä EBV:n sijaintipaikkana on perifeerisen veren lymfosyyttien lisäksi luuydin. Eri EBV-infektioissa tavataan latentin-, reaktivoituneen-, replikaatiivisen- ja transformoivan infektiomuotojen yhdistelmiä. (Hukkanen 2010, 545–550 Duodecim 2011.)



## 4 Referenssimenetelmä ja vertailtavat vieritestimenetelmät

Referenssimenetelmänä tässä opinnäytetyössä on entsyymi-immunologinen menetelmä (EIA). Referenssimenetelmänä oleva analyysi, on ostettu alihankintana. Vertailussa mukana olevat vieritestit on saatu valmistajilta ilmaisanäytteiksi.

### 4.1 Entsyymi-immunologinen menetelmä (EIA)

Menetelmät, joissa osoitetaan antigeeni, perustuvat virusproteiinin tunnistamiseen merkityn vasta-aineen avulla. EIA -menetelmässä merkkiaineena on entsyymi. Menetelmässä näytteen virusantigeenit saatetaan liukoiseen muotoon. Antigeenit pyydytetään vasta-aineilla mikrotitterilevyn pohjalle, josta ne todetaan toisella, entsyymiin liitettyllä vasta-aineella. (Lappalainen, Vainionpää & Hedman 2010, 54–64.)

Antigeenitestien sensitiivisyys ja spesifisyys ovat hyviä, jos näyte on otettu oikein. Näytteessä ei tarvitse olla lisääntymiskykyisiä viruspartikkeleita, joten näytteiden kuljetus olosuhteet helpottuvat. (Lappalainen, Vainionpää & Hedman 2010, 54–64.)

### 4.2 Clearview IM -vieritesti

Laboratoriossa käytössä oleva testi on Clearview IM (kuva 1). Testiä käytetään mononukleosin yhteydessä esiintyvien heterofiilisten IgM-vasta-aineiden kvalitatiiviseen tunnistamiseen ihmisen kokoveri-, seerumi- tai plasmanäytteestä. Clearview IM testissä käytetään naudan punasoluista peräisin olevaa glykoproteiinia. Clearview IM kalibroidaan laitoksen sisäisillä standardeilla. Valmistaja ilmoittaa testin herkkyudeksi seeruminäytteille 98,5 % ja spesifisyydeksi 100 %. (Inverness medical 2011.)



KUVA 1 Clearview IM -vieritesti

Potilasnäyte lisätään testin testi-ikkunassa olevaan imukykyiseen levyyn. Imukykyinen levy sisältää naudan punasolujen glykoproteiiniin kiinnittyneitä sinisiä mikropartikkeleita. Näytettä lisätessä mikropartikkelit lähtevät liikkeelle ja näyte siirtyy testi-liuskassa ylöspäin. Jos näyte sisältää heterofiilisiä IM-vasta-aineita, ne sitoutuvat sinisiin mikropartikkeleihin kiinnittyneeseen naudan punasolujen glykoproteiiniin muodostaen kompleksin. Immobilisoitua naudan punasolujen glykoproteiinia sisältävä alue sitoo näitä komplekseja testiviiva-alueella (T), jolloin muodostuu sininen testiviiva. Jos näytteessä ei ole heterofiilisiä IM-vasta-aineita, viivaa ei muodostu. Testissä on myös integroitu kontrollitoiminto. Sinisen viivan ilmestyminen kontrolliviiva-alueelle (C), osoittaa että testaus on onnistunut. (Inverness medical 2011.)

Testejä suorittaessa on noudatettava yleisiä infektoivia aineita ja kemiallisia reagensseja koskevia käsittelyohjeita. Näytteitä käsitellessä olisi hyvä käyttää suojakäsineitä ja jätteet hävitettävä asian mukaisesti. Testissä oleva puskuri, jota tarvitaan tehdessä testauksia kokoverestä, sisältää natriumatsidia ja on luokiteltu haitalliseksi (Xn). Vaaraa ja turvallisuus toimenpiteitä osoittavat lausekkeet ovat R22, haitallista nieltynä, S60, tämä aine ja sen pakkaus on toimitettava ongelmajätteen vastaanottoaikaan. (Inverness medical 2011.)

Testaus pystytään suorittamaan kokoverestä, jolloin sopivia antikoagulantteja näyteputkessa ovat EDTA, sitraatti ja hepariini. Tutkiessa kokoverta, näytettä tulee kaksi tippaa, ja testiin tarvitaan lisätä puskuriliuosta kaksi tippaa. Testin valmistuminen kestää 15 minuuttia. Seeruminäytteessä käytetään tavallista seerumiputkea, josta see-

rumi erotellaan putken valmistajan ohjeen mukaan. Plasmanäytteelle käytetään näyteputkia, joissa antikoagulantteina on EDTA, sitraatti tai hepariini. Näytteet sentrifugoidaan ennen testausta. Tutkittaessa seerumia tai plasmaa näytettä tarvitaan neljä tippaa ja testi tulee lukea viiden minuutin kuluessa. (Inverness medical 2011.)

Testejä tulkitessa tulos on positiivinen, jos sekä testiviiva alueelle (T) että kontrolliviiva alueelle (C) ilmestyy sininen viiva määritetyn ajan kuluessa. Viivojen värien voimakkuus voi vaihdella. Tulos on negatiivinen jos vain kontrolliviiva-alueelle ilmestyy sininen viiva määritetyn ajan kuluessa. Jos kontrolliviiva-alueelle (C) ei ilmesty viivaa, ei tulosta voi hyväksyä. Koska heterofiilinen vasta-aine voi säilyä elimistössä useita kuukausia paranemisen jälkeen, positiivista tulosta ei tule pitää merkinä akuutista mononukleosista, mikäli kliiniset ja hematologiset tiedot eivät tue tulosta. Testillä saatuja tuloksia tulee verrata kliinisiin oireisiin ja hematologisiin löydöksiin, ennen mononukleosidiagnoosin tekemistä. (Inverness medical 2011.)

Testillä ei tule määrittää muuta kuin verinäytettä (kokoveri, seerumi tai plasma). Testin suorituskykyä ei tiedetä testattaessa muita aineita. Testauksessa ei saa käyttää kontaminoituneita tai hemolysoituneita näytteitä. Seerumi- ja plasmanäytteiden tulee olla kirkkaita. Jos näytteessä ei ole tarpeeksi vasta-aineita, voidaan saada negatiivinen tulos. Oireiden jatkuessa suositellaan uusimaan testaus myöhemmin. 10–20 %:lla aikuisista ja 50 %:lla alle 4 vuotiaista ei ehkä muodostu ollenkaan heterofiilisiä IM-vasta-aineita. Heterofiilisiä vasta-aineita on todettu muodostuvan myös muiden sairauksien kuten leukemian, Burkittin lymfooman, nivelreuman, virusperäisen hepatiitin ja sytomegaloviruksen aiheuttamien infektioiden yhteydessä. Testejä ei saa käyttää, jos ne ovat kastuneet tai pakkaus on vahingoittunut. (Inverness medical 2011.)

#### 4.3 NADAL mononucleososis test device -vieritesti

Nadal mononukleosis testi (kuva 2) on nopea testi, joka osoittaa EBV-infektiossa syntyneitä heterofiilisiä vasta-aineita kvalitatiivisesti kokoverestä seerumista tai plasmaa. Testi on immunokromatografinen kasettitesti. Tässä menetelmässä naudan punasoluista eristetty antigeeni on immobilisoitu testilinjan alueelle. Näytteessä olevat heterofiiliset vasta-aineet reagoivat naudan punasoluista eristetyillä antigeenillä päälystettyjen partikkelien kanssa. Tämä seos vaelttaa kromatografisesti pitkin testiä ja vuorovaikuttaa immobilisoidun naudan erytrosyyteistä eristetyn antigeenin kanssa.

Jos näytteessä on IM heterofiilisiä vasta-aineita, värillinen viiva tulee näkyviin testiviiva-alueelle. Jos näytteessä ei ole heterofiilisiä IM vasta-aineita, värillinen viiva ei ilmesty. Tuotteessa on kontrolli, värillisen viivan tulee aina ilmestyä kontrolliviivan alueelle. Valmistajan testauksien mukaan testin herkkyys on >99.9 %, spesifisyys 98,6 % ja tarkkuus 99,2 %. (nal von minden 2011.)



KUVA 2 Nadal mononucleosos test devise -vieritesti

Testiä voi tehdä kokoverestä, seerumista tai plasmasta. Verinäytteen antikoagulantiksi sopii natrium- tai litiumhepariini, kalium- tai natrium EDTA, natrium oksalaatti ja natrium sitraatti. Seerumi ja plasma erotellaan mahdollisimman nopeasti välttämällä hemolyyysiä. Testaus tulee suorittaa välittömästi näytteen oton jälkeen. Näytteitä ei saa säilyttää pitkiä aikoja huoneenlämmössä. Seerumi- ja plasmanäytteet säilyvät 2-8 °C:ssa korkeintaan kolme päivää. Pitempiä aikoja näytteitä voi säilyttää -20 °C:ssa. Kokoverinäytteitä voi säilyttää 2-8 °C:ssa kaksi päivää, mutta niitä ei saa pakastaa. Näytteet tulee olla huoneenlämpöisiä testatessa. Jäädetyt näytteet tulee sulattaa välittömästi ja sekoittaa hyvin ennen testausta. Jos näytteet on toimitettu, ne täytyy pakata noudattaen paikallisia ohjeita.

Testatessa seerumia tai plasmaa pudotetaan yksi tippa (n. 25 µl) reagenssipakkauksen pipetillä seerumia tai plasmaa näytekaivoon. Päälle laitetaan yksi tippa (55 µl) puskuria pullosta samaan kaivoon. Kokoverta tarvitaan kaksi tippaa. Tulos luetaan viiden minuutin kuluttua. (nal von minden 2011.)

Tulos on positiivinen, jos testiin tulee kaksi punaista viivaa, kontrolli- ja testiviiva. Viivojen intensiteetti saattaa vaihdella, etenkin testilinjassa, jossa voimakkuus riippuu heterofiilisten IM vasta-aineiden konsentraatiosta. Tulos on negatiivinen kun testiin

tulee vain yksi viiva kontrollialueelle. Jos kontrolliviivaa ei tule, ei testiä voi hyväksyä. Testitulosten tulee olla täsmäviä kliiniseen informaatioon. Jos tulos on negatiivinen, mutta oireet jatkuvat, on suositeltavaa käyttää muita testaus metodeja. Negatiivinen tulos ei sulje pois mononukleosia. (nal von minden 2011.)

#### 4.4 OSOM mono test -vieritesti

Osom mono testi on tarkoitettu kvalitatiiviseen mononukleosin heterofiilistenvasta-aineiden osoittamiseen seerumista, plasmasta tai kokoverestä. Osom-testi käyttää väri immunokromatografista liuskatesti teknologiaa naudan punasoluista eristetyllä uutteella päällystetyn membraanin kanssa. Menetelmässä näyte on sekoitettu laimentimeen. Liuska laitetaan seokseen ja näyte vaeltaa membraania pitkin. Jos näytteessä on heterofiilisiä IM vasta-aineita, se reagoi väripartikkeleilla konjugoidun naudan punasoluista eristetyn uutteen kanssa. Kompleksi sitoutuu membraaniin immobiloituun naudan punasolu uutteen kanssa. Näkyvä sininen testi viiva kertoo positiivisesta tuloksesta. Valmistaja ilmoittaa testauksiensa perusteella herkkyudeksi 100 % ja spesifisyydeksi 95,9 %. (Genzyme diagnostics 2009.)



KUVA 3 Osom mono testiliuskoja

Näytteeksi testaukseen käy seerumi, plasma tai kokoveri. Verinäytteeksi käy EDTA- tai hepariininäyte. Muita antikoagulantteja ei ole testattu. Seerumi ja plasma näytteet säilytetään 2-8 °C:ssa ja ne tulee testata 48 tunnin kuluessa. Pitempi aikainen säilytys pakastamalla, jossa säilyvyys on maksimissaan kolme kuukautta. Testiä tehdessä

tulee noudattaa laboratorion turvallisuus suosituksia. Liuotin ja kontrollit sisältävät natriumatsidia. Eri lot-numeroisia kittejä ei saa sekoittaa keskenään. (Genzyme diagnostics 2009.)

Testikittiin sisältyy kontrolliliuokset, jotka tutkitaan samalla lailla kuin potilasnäytteet. Valmistaja suosittelee kontrollit tehtäväksi ainakin silloin kun kittierän lot-numero vaihtuu tai kun käyttäjä on uusi. Testissä on kaksi sisäistä kontrollia, punainen kontrolliviiva ja testiliuskan kirkas tausta. Jos punaista viiva ei ilmesty, ei tulosta voi hyväksyä. Jos testin tausta ei ole kirkas ja häiritsee tulosta, ei tulosta voi hyväksyä. (Genzyme diagnostics 2009.)

Näyte sekoitetaan putkessa laimentimeen. Seos sekoitetaan vortex-sekoittimella. Testiliuskat ovat purkissa, joka tulee sulkea heti kun tikku on sieltä otettu. Absorptiopäätä laitetaan putkeen ja jätetään sinne viideksi minuutiksi, jonka jälkeen tulos luetaan. (Genzyme diagnostics 2009.)

Tulos on positiivinen kun liuskan tulosikkunaan tulee sininen testiviiva sekä punainen kontrolliviiva. Värien voimakkuus voi vaihdella. Tulos on negatiivinen kun liuskaan tulee vain punainen kontrolliviiva. Viiden minuutin jälkeen punaisen kontrolliviivan puuttuvat tai taustan ollessa sumea, on testi hylätty. Testin tulosta täytyy verrata muuhun informaatioon diagnoosia tehdessä. Negatiivinen tulos voi johtua vasta-aineitten matalammasta tasosta kuin testin herkkyys. Tällaisessa tilanteessa testin voi uusida. (Genzyme diagnostics 2009.)

#### 4.5 RDT EBV IgM – JA IgG Assay -vieritestit

RDT EBV IgM assay (kuva 4) on immunosudatus testi osoittamaan spesifisiä IgM vasta-aineita EB-viruksen VCA antigeenille ja IEA-ZEBRA proteiinia ihmisen seerumissa. (Bio-rad 2010).



KUVA 4 RDT EBV IgM assay -vieritesti

ZEBRA proteiini suorittaa keskeisen roolin vaihtaessa viruksen latenssista lyyttiseen kiertoon. Tämä proteiini on transkription osatekijä. Nimenomaan se aktivoi transkription tietyille virus geeneille ja sen omalle synteessille. ZEBRA vasta-aineet ilmestyvät todella aikaisessa vaiheessa primaari-infektiossa. ZEBRA vasta-aineiden läsnä olon osoittaminen mahdollistaa primaari EBV infektion aikaisen diagnosoinnin. (Bio-rad 2010.)

Testi sisältää kiinteän membraanin, jonka ympärillä on muovinen kuori. ZEBRA ja VCA antigeeni on immobilisoitu membraanille T1 testiviivan alueelle. Membraanilla on myös kontrolliviivan alue, jossa on proteiini A immobilisoituna. Kun esiliuotettu näyte läpäisee membraanin, mahdolliset vasta-aineet reagoivat T1 alueella. Konjugaatti reagoi mahdollisten vasta-aineiden kanssa jolloin muodostuu sininen viiva. Konjugaatti reagoi myös proteiini A:n kanssa, jolloin muodostuu kontrolliviiva. (Bio-rad 2010.)

RDT EBV IgG assay (kuva 5) on immunosudatus testi osoittamaan IgG vasta-aineita EBNA-1 ja VCA p18 antigeeniä ihmisen seerumissa. Testissä antigeenit on immobiloitu membraanille T1 ja T2 alueelle. Membraanilla on myös kontrolliviiva alue. Esiliuotettu näytteen läpäistessä membraanin mahdolliset läsnä olevat vasta-aineet reagoivat antigeenien kanssa. Konjugaatin reagoidessa mahdollisten vasta-aineiden kanssa muodostuu värillinen viiva. (Bio-rad 2010.)



KUVA 5 RDT EBV IgG assay -vieritesti

Testejä tehdessä tulee käyttää henkilökohtaisia suojaimia. Vanhoja reagensseja ei tule käyttää. Eri lot-numeron reagensseja ei saa sekoittaa keskenään. Reagenssien tulee olla huoneen lämpöisiä, ennen testien suorittamista. Reagensseja säilytetään jääkaappilämpötilassa, mutta niitä ei saa pakastaa. Näytteet tulisi määrittää mahdollisimman nopeasti niiden ottamisesta ja sentrifugoinnista. Seeruminäytteitä voi säilyttää korkeintaan seitsemän päivää jääkaappilämpötilassa ja pitempiä aikoja pakastamalla. (Bio-rad 2010.)

Testikasetti otetaan pois suojapussista juuri ennen testin tekemistä. Näytettä pipetoidaan 25 µl koeputkeen ja laimennetaan se 1,5 millilitralla liuotinta. Seosta sekoitetaan pipetoimalla seosta edestakaisin. Seos kaadetaan kokonaan testikasetin ikkunaan ja annetaan sen imeytyä. Konjugaattia pipetoidaan 1,5 millilitraa testikasetin ikkunaan ja annetaan imeytyä. Samaan ikkunaan pipetoidaan vielä pesupuskuri. Tuloksen voi lukea heti pesupuskurin imeytyttyä tai 20 minuutin kuluttua. (Bio-rad 2010.)

IgM Testien positiivinen tulos on kun kasetissa on sininen viiva T1 ja kontrolli alueella. Tulos kertoo, että kyseessä on EBV primaari-infektio. Negatiivinen tulos on kun kasetissa on vain kontrolliviiva. Jos kontrolli viivaa ei ole, tulosta ei voi hyväksyä. (Bio-rad 2010.)



IgG testien negatiivinen tulos on, kun kasetilla on vain kontrolliviiva. Jos kontrolli viivaa ei ole, tulosta ei voi tulkita. Jos kasettiin tulee T1 T2 ja kontrolliviiva, on näyte VCA p 18 positiivinen ja EBNA-1 positiivinen, jolloin kyseessä on vanha infektiio. Näytteen ollessa pelkästään T1 (VCA p18) positiivinen, viittaa tulos myöhäisen vaiheen primaari-infektioon tai vanhaan infektiioon ilman EBNA vastetta. Näytteen ollessa pelkästään T2 (EBNA) positiivinen on kyseessä epätavallinen vanha infektiio, jossa ei ole VCA vasta-ainetta. (Bio-rad 2010.)

## 5 Aiempia tutkimustuloksia

Malminiemen, Liimataisen, Kaukisen, & Haapalan (2000, 117–120) tutkimuksessa on otettu käyttöön mononukleosin osoitustesti. He ovat vertailleet osoitustestien käyttöominaisuuksia ja tulosten luotettavuutta. Saamiensa tulosten luotettavuutta he arvioivat spesifisen EBVAb- menetelmän tulosten perusteella. Tutkimuksessa on tutkittu 20 näytettä, joista Clearview IM testi antaa seitsemän väärää positiivista tulosta ja yhden väärän negatiivisen tuloksen.

Bruun ym. (2000, 451–456) tutkimuksessa on mukana näytteitä potilailta joilla on primaari infektio, positiivisia näytteitä joita on laimennettu eri vahvuuksiin, näytteitä immuunipuutos potilailta joilla on sytomegalovirus, näytteitä terveiltä potilailta sekä potilailta joilla infektio on ollut aiemmin. Näytteet on analysoitu useilla eri testeillä, muun muassa Clearview IM – merkkisellä testillä. Tutkimuksessa on määritetty testeille spesifisyys ja sensitiivisyys sekä sytomegaloviruksen aiheuttamat ristireaktiot. Tutkimustulosten mukaan sytomegalovirus positiivisille näytteille kaikki heterofiilisten vasta-aineiden testit, mukaan lukien Clearview IM, ovat antaneet negatiivisen tuloksen. Eli tässä tutkimuksessa sytomegalovirus ei ole aiheuttanut väärää positiivisia tuloksia. Tutkimuksessa tuloksista on laskettu Clearview IM testille spesifisyydeksi 100 % ja sensitiivisyydeksi 95 %.

Elghin ja Linderholmin (1996, 17–21) tutkimuksessa vertaillaan eri valmistajien testejä. Tutkimuksessa on mukana 53 näytettä primaari-infektio potilailta ja 47 näytettä aiemmin altistuneilta potilailta. Tutkimuksen tulosten mukaan Clearview IM testi antaa oikeita positiivisia tuloksia 48 ja väärää negatiivisia 5 kappaletta. Väärää positiivisia tuloksia se antaa vain yhdelle ja oikeita negatiivisia 46 kappaletta. Tämän tutkimuksen mukaan sensitiivisyydeksi Clearview IM saa 92 % ja spesifisyydeksi 98 %.

## 6 Tutkimusmenetelmä

Määrällinen tutkimus on menetelmä, joka antaa yleisen kuvan muuttujien, eli mitattavien ominaisuuksien, välisistä suhteista ja eroista. Tutkittavasta asiasta saadaan määrällinen tieto tai määrälliseen muotoon muutettava sanallinen tieto mittarin avulla. Mittareita voivat olla kysely-, haastattelu- ja havainnointi lomake. Määrällisessä tutkimustavassa tietoa tarkastellaan numeerisesti. Määrällinen tutkimus perustuu mitattavissa olevien suhteiden tarkasteluun. Kerätystä aineistosta muodostetaan erilaisia muuttujia ja luokituksia mittaamista varten. Määrällisessä tutkimuksessa hyödynnetään suuria aineistoja, edustavia otoksia ja tilastollisia menetelmiä aineistoa analysoidessa. Määrällisessä tutkimuksessa pyritään yleistettävyyteen. (Karvonen & Kivimäki 2011; Vilka 2007.)

Määrällisen tutkimuksen tarkoituksena on selittää, kuvata, kartoittaa, vertailla tai ennustaa. Tiettyyn tutkimukseen voi sisältyä useampia tarkoituksia ja se voi muuttua tutkimuksen aikana. (Vilka 2007.) Havainnoiva eli empiirinen tutkimus perustuu teoreettisen tutkimuksen perusteella kehitettyihin menetelmiin. Siinä voidaan testata toteutuuko jokin teoriasta johdettu oletus käytännössä, selvittää ilmiön tai käyttäytymisen syitä tai ratkaista miten jokin asia pitäisi toteuttaa. Kokeellisella tutkimuksella tarkoitetaan selittävän tutkimuksen erityismuotoa, jonka avulla tutkitaan jonkin vaikuttavan tekijän vaikutusta kontrolloiduissa olosuhteissa. Kokeellisessa tutkimuksessa testataan tietyn oletuksen paikkaansa pitävyys koetilanteessa. Olennaista sille on, että siinä pyritään tutkimaan vain tutkitun muuttujan vaikutusta vakioimalla kaikki muut tekijät. (Heikkilä 2004, 13–22.)

## 7 Tutkimuksen tarkoitus, tavoitteet ja tutkimusongelmat

Tämän opinnäytetyön tarkoituksena on verrata vieritesteistä saatavia potilasnäytetuloksia ja analysoida vastausten välillä olevia mahdollisia ristiriitoja sekä niiden aiheuttajia. Tutkimuksen tarkoituksena on arvioida mononukleosin toteamisessa käytettävien vieritestien tuloksien oikeellisuutta ja vertailla eri testivalmistajien testien ominaisuuksia. Tutkimuksessa on tavoitteena saada vertailutuloksia testien tulosten oikeellisuudesta ja suoritus nopeudesta. Tutkimuksessa pohditaan mikä vääriä tuloksia voi mahdollisesti aiheuttaa.

Tässä opinnäytetyössä mittarina toimivat eri valmistajien vieritestit. Vieritestien tulokset syötetään tilastointi ohjelmaan (SPSS). Tuloksista tehdään vertailua ristiintaulukoimalla, laskemalla frekvenssejä (kappalemäärät) ja prosenttiosuuksia.

Tutkimusongelma on kysymykseksi muotoiltu asia, johon tutkimuksella pyritään saamaan ratkaisu. Tässä tutkimuksessa tutkimusongelmat ovat seuraavat:

1. Ilmeneekö eri valmistajien mononukleosivieritestien tuloksien välillä eroavaisuuksia?
2. Kuinka paljon vieritesteillä esiintyy vääriä tuloksia?

## 8 Tutkimusaineisto ja tutkimuksen suoritus

Tutkimus suoritettiin kaikkiaan 23 potilasnäytteellä ja 2 kontrollinäytteellä (positiivinen ja negatiivinen). Aineistossa oli mukana 8 kappaletta referenssimenetelmällä positiiviseksi todettua näytettä ja 10 kappaletta referenssimenetelmällä negatiiviseksi todettua näytettä. 23 näytteestä kaksi on referenssi menetelmän mukaan raja-arvotuloksia ja viidellä näytteellä ei ole referenssi tulosta, sillä aineistossa on mukana kolme Lab-qualityn laaduntarkkailu näytettä ja kaksi kontrolli näytettä. Näytteet ovat seeruminäytteitä ja ne on eroteltu punasoluista ja pakastettu -20 °C:een niiden saapuessa laboratorioon. Testauksien tulokset ovat liitteessä 1.

Testaukset suoritettiin ISLABin mikrobiologian laboratorion tiloissa joulukuussa 2010. Kaikki testaukset tehtiin testin valmistajan ohjeen mukaan. Testauksissa tarvittavat välineet olivat mukana testikiteissä. Yhdessä testissä ei ollut pipettejä ja koeputkia, joten testauksessa käytettiin laboratorion välineitä. Testauksissa tarvittiin myös kelloa, joka lainattiin laboratorion tiloista. Testauksien aikana otettiin huomioon työturvallisuusasiat, kuten kertakäyttö suojakäsineiden ja suojavaatteiden käyttö. Näytteet sulatettiin huoneenlämmössä, jonka jälkeen ne sekoitettiin kunnolla vortex-sekoittajalla. Näytteet numeroitiin juoksevalla numeroinnilla. Testaukset suoritettiin pienissä sarjoissa, yksi testimerkki kerrallaan.

Ensimmäisenä suoritettiin Clearview IM-testi. Testaukset tehtiin kolmen näytteen sarjoissa. Testikasetit ovat yksittäispakattuja, joita aukaistiin kolme samalla kertaa. Testikasettien kulmaan merkittiin sama juokseva numerointi kuin näytteillä. Testiä suorittaessa testikitin annostelupipetillä pipetoitiin neljä tippaa näytettä testikasetin näyteikkunaan. Testikasettien annettiin olla tasaisella pöydällä viisi minuuttia, jonka jälkeen tulos luettiin tulosikkunasta.

Toisena suoritettiin OSOM mono testi. Näytteet testattiin viiden näytteen sarjoissa. Testikitti sisältää testaukseen tarvittavan kertakäyttöputken, johon näytettä pipetoitiin annostelupipetillä yksi tippa. Koeputkeen lisättiin laimenninta yksi tippa tippapullosta. Näyteputket numeroitiin samalla juoksevalla numerolla kuin näytteetkin. Seos sekoitettiin vortex-sekoittajalla. Testiliuskat ovat samassa purkissa ja se on säilytettävä tiiviisti suljettuna. Testitikun absorptiopäätä laitettiin putkeen näytteeseen. Liuska on näytteessä viisi minuuttia, jonka jälkeen tulos luettiin tulosikkunasta.

Kolmantena suoritettiin NADAL mononucleosis test device. Testejä oli vain viisi kappaletta, joten näytteistä valittiin sopivimmat. Näytteet testattiin kolmen ja kahden näytteen sarjassa. Testikasetit numeroitiin samalla juoksevalla numeroinnilla kuin näytteetkin. Testikitin annostelupipetillä pipetoitiin näytettä testikasetin näytekaivoon yksi tippa. Näytteen päälle annosteltiin testikitin tippapullosta näytepuskuria. Tulos luettiin tulosikkunasta viiden minuutin kuluttua.

Viimeisimpänä testattavana olivat spesifisten vasta-aineiden testit (RDT EBV IgM – JA IgG Assay –vieritestit). Testiä suorittaessa näytettä laimennettiin koeputkeen. Näytettä pipetoitiin 25 µl ja laimenninta 1,5 ml. Testikasetti otettiin ulos paketistaan ja identifioitiin näytteen numerolla. Laimennettu näyte kaadettiin näytekaivoon. Seoksen annettiin imeytyä noin 15 sekunnin ajan kasettiin. Samaan kaivoon pipetoitiin 1,5 ml konjugaattia, jonka annetaan imeytyä 15 sekunnin ajan. Kaivoon pipetoitiin vielä 1,5 ml pesupuskuria, jonka jälkeen testin annettiin tekeytyä 20 minuuttia. Testikasetissa on vain yksi kaivo. Samaan kaivoon pipetoitiin liuokset ja samasta kaivosta luettiin tulos. Positiivisen tuloksen pystyi lukemaan välittömästi sen ilmestyttyä, mutta korkeintaan 20 minuutin kuluttua. Yli ajan olleita kasetteja ei saa lukea.

## 9 Tutkimusaineiston analyysi ja -tulosten tulkinta

Testauksissa saadut positiiviset ja negatiiviset tulokset muutettiin mitattavaan muotoon. Kaikille tulos vaihtoehdoille (positiivinen, negatiivinen, raja-arvo) annettiin numeerinen arvo. Tulokset syötettiin tilastointi ohjelmaan (SPSS), jolloin tuloksista pystytään helposti tekemään ristiin taulukointia. Tuloksissa näkyy frekvenssit ja prosentiosuudet.

## 9.1 Eri testeillä saatujen tulosten vertailu

Ensimmäisenä tarkastelun kohteena on laboratorion käytössä oleva Clearview IM vieritestin verrattuna referenssimenetelmään. Vieritestin tulosta verrataan referenssimenetelmän tulokseen, joiden vertailutulos on taulukossa 1. Taulukosta näemme, että oikean positiivisen tuloksen testi on antanut neljälle (16 %) näytteelle. Yksi (4 %) näytteistä on tulkittu positiiviseksi ja referenssitulos on ollut raja-arvo. Oikean negatiivisen tuloksen testi antaa kahdeksalle (32 %) näytteelle. Testi on jättänyt neljä (16 %) näytettä negatiiviseksi referenssituloksen ollessa positiivinen. Raja-arvo tuloksen vieritestin antaa kahdelle (8 %) näytteelle niiden ollessa referenssimenetelmällä negatiivisia, eli ne ovat vääriä positiivisia.

TAULUKKO 1. Clearview IM vieritestin tulokset verrattuna referenssimenetelmän tuloksiin (n=25)

		Referenssi tulos				Yhteensä
		positiivinen	negatiivinen	raja-arvo	ei tulosta	
		n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)
Clear-view	positiivinen	4 (16 %)	0 (0 %)	1 (4 %)	2 (8 %)	7 (28 %)
	negatiivinen	4 (16 %)	8 (32 %)	0 (0 %)	3 (12 %)	15 (60 %)
	raja-arvo	0 (0 %)	2 (8 %)	1 (4 %)	0 (0 %)	3 (12 %)
	Yhteensä	8 (32 %)	10 (40 %)	2 (8 %)	5 (20 %)	25 (100 %)

Seuraavana tarkastellaan Osom mono vieritestin tuloksia. Vieritestin tuloksia on verrattu referenssi menetelmän tuloksiin, joiden vertailutulokset ovat taulukossa 2. Taulukosta huomataan, että oikeita positiivisia tuloksia vieritesti antaa neljässä (16 %) tapauksessa. Vieritesti jättää negatiiviseksi kolme (12 %) näytettä, vaikka ne ovat referenssimenetelmällä positiivisia. Oikeita negatiivisia tuloksia testi antaa yhdeksässä (36 %) näytteessä. Yhden (4 %) positiivisen näytteen vieritesti on jättänyt raja-arvoksi ja yhdelle (4 %) negatiiviselle näytteelle se antaa raja-arvotuloksen, eli väärän positiivisen.

TAULUKKO 2. Osom vieritestin tulokset verrattuna referenssi menetelmän tuloksiin (n=25)

		Referenssi tulos				Yhteensä
		positiivinen	negatiivinen	raja-arvo	ei tulosta	
		n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)
Osom	positiivinen	4 (16 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	1 (4 %)	5 (20 %)
	negatiivinen	3 (12 %)	9 (36 %)	0 (0 %)	3 (12 %)	15 (60 %)
	raja-arvo	1 (4 %)	1 (4 %)	2 (8 %)	1 (4 %)	5 (20 %)
	Yhteensä	8 (32 %)	10 (40 %)	2 (8 %)	5 (20 %)	25 (100 %)

Nadal vieritestin tuloksia verrataan myös referenssi menetelmän tuloksiin. Vertailutulokset ovat taulukossa 3. Nadal vieritestejä oli käytössä vain kuusi kappaletta. Oikean positiivisen tuloksen vieritesti antaa kahdelle (8 %) näytteelle ja yhden (4 %) positiivisen näytteen se on jättänyt negatiiviseksi. Vieritesti on löytänyt yhden (4 %) todellisen negatiivisen tuloksen. Tuloksista yksi (4 %) on vieritestillä ollut negatiivinen, mutta referenssimenetelmällä siitä ei ole tulosta. Vieritestillä on saatu myös yksi (4 %) raja-arvotulos, joka myös referenssimenetelmällä on ollut raja-arvo.



TAULUKKO 3 Nadal vieritestin tulokset verrattuna referenssi menetelmän tuloksiin (n=25)

		Referenssi tulos				Yhteensä
		positiivinen	negatiivinen	raja-arvo	ei tulosta	
		n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)
Nadal	positiivinen	2 (8 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	2 (8 %)
	negatiivinen	1 (4 %)	1 (4 %)	0 (0 %)	1 (4 %)	3 (12 %)
	raja-arvo	0 (0 %)	0 (0 %)	1 (4 %)	0 (0 %)	1 (4 %)
	ei tulosta	5 (20 %)	9 (36 %)	1 (4 %)	4 (16 %)	19 (76 %)
	Yhteensä	8 (32 %)	10 (40 %)	2 (8 %)	5 (20 %)	25 (100 %)

Vieritestien tuloksia vertaillaan myös keskenään. Vieritestien tuloksia verrataan käytössä olevaan Clearview IM -vieritestin tuloksiin. Ensimmäisenä vertailun kohteena on Osom mono-testi. Vertailutulokset ovat taulukossa 4. Taulukosta näemme, että neljälle (16 %) näytteelle molemmat testit ovat antaneet positiivisen tuloksen. Yhdelle (4 %) näytteelle Osom testi on antanut positiivisen tuloksen ja Clearview testi negatiivisen. Referenssimenetelmä on antanut tulokseksi positiivisen, eli Clearview IM testi on jättänyt huomaamatta positiivisen. 14 (56 %) näytteessä molemmat testit antavat negatiivisen tuloksen, mutta yhdessä (4 %) näytteessä Osom testi antaa negatiivisen ja Clearview raja-arvo tuloksen. Referenssitulos on negatiivinen, eli Clearview antaa väärän positiivisen. Kolme (12 %) tulosta on tulkittu Osom testillä raja-arvoksi ja Clearview testillä positiiviseksi.

TAULUKKO 4. Osom vieritestin tulokset verrattuna Clearview vieritestin tuloksiin (n=25)

		Clearview			Yhteensä
		positiivinen	negatiivinen	raja-arvo	
		n (%)	n (%)	n (%)	n (%)
Osom	positiivinen	4 (16 %)	1 (4 %)	0 (0 %)	5 (20 %)
	negatiivinen	0, (0 %)	14 (56 %)	1 (4 %)	15 (60 %)
	raja-arvo	3 (12 %)	0 (0 %)	2 (8 %)	5 (20 %)
	Yhteensä	7 (28 %)	15 (60 %)	3 (12 %)	25 (100 %)

Nadal vieritestiä verrataan myös Clearview vieritestiin. Tuloksien vertailut ovat taulukossa 5. Nadal vieritestejä ei ollut käytettävissä kuin kuusi kappaletta. Kolmelle (12 %) näytteelle molemmat testit antavat negatiivisen tuloksen, mutta referenssitulos antaa yhdelle näistä näytteistä positiivisen tuloksen, eli yhden (4 %) positiivisista näytteistä molemmat testit ovat jättäneet huomaamatta. Yhdelle (4 %) näytteelle molemmat testit antavat tulokseksi positiivisen. Yksi (4 %) näytteistä on raja-arvo molemmilla testeillä. Yksi (4 %) näytteistä on Nadal vieritestillä positiivinen ja Clearview vieritestillä negatiivinen. Referenssimenetelmän mukaan tulos on positiivinen, joten Clearview on jäänyt positiivisen näytteen huomaamatta.

TAULUKKO 5. Nadal vieritestin tulokset verrattuna Clearview vieritestin tuloksiin (n=25)

	Clearview			Yhteensä
	positiivinen	negatiivinen	raja-arvo	
	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)
Nadal positiivinen	1 (40 %)	1 (40 %)	0 (0 %)	2 (8 %)
Nadal negatiivinen	0 (0 %)	3 (12 %)	0 (0 %)	3 (12 %)
Nadal raja-arvo	0 (0 %)	0 (0 %)	1 (40 %)	1 (40 %)
Nadal ei tulosta	6 (24 %)	11 (44 %)	2 (8 %)	19 (76 %)
Nadal Yhteensä	7 (28 %)	15 (60 %)	3 (12 %)	25 (100 %)

Spesifisten vasta-aineiden testeistä vertaillaan referenssimenetelmään vain IgM testin tuloksia. IgM testillä saatiin vain yksi testiviiva, joka kertoo positiivisen tuloksen. Positiivinen tulos tällä testillä kertoo primaari-infektiosta. Taulukossa 6 on IgM testin tulokset verrattuna referenssimenetelmään. IgM vieritesti antaa kaksi (8 %) raja-arvotulosta, jotka referenssi menetelmällä ovat negatiivisia, eli vieritesti antaa kaksi väärää positiivista. Väriä negatiivisia tuloksia vieritesti ei anna ollenkaan. Raja-arvo tulokseksi on jäänyt kuusi näytettä.

TAULUKKO 6. IgM vieritestin tulokset verrattuna referenssimenetelmän tuloksiin (n=25)

		Referenssi menetelmä				Yhteensä
		positiivinen	negatiivinen	raja-arvo	ei tulosta	
		n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)
IgM	positiivinen	5 (20 %)	0 (0 %)	1 (40 %)	1 (40 %)	7 (28 %)
	negatiivinen	0 (0 %)	8 (32 %)	0 (0 %)	2 (8 %)	10 (40 %)
	raja-arvo	3 (12 %)	2 (8 %)	1 (40 %)	0 (0 %)	6 (24 %)
	ei tulosta	0 (0 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	2 (8 %)	2 (8 %)
	Yhteensä	8 (32 %)	10 (40 %)	2 (8 %)	5 (20 %)	25 (100 %)

Spesifisten vasta-aineiden IgG testin tuloksista pystyy päättelemään missä vaiheessa infektio on. Jos testissä on vain T1 viiva, on infektio primaari, mutta myöhäisemmässä vaiheessa. Jos testi on positiivinen T1:n ja T2:n suhteen on kyseessä vanha infektio. Tässä kohden on syytä tarkastella vain alkuperäisiä tuloksia. Tuloksissa on hieinan risti riitaa. Näytteet 1 ja 2 infektio on primaari myöhäisemmässä vaiheessa, koska IgM ja IgG:n T1-viivat ovat positiiviset. Näytteet 3-7 pelkän IgG testin perusteella olisivat vanha infektio, mutta IgM ja referenssi menetelmä on niissä näytteissä positiiviset. Tulosta voisi selittää esimerkiksi sekundaari-infektio tai pitkittynyt IgM vaste. Näyte neljä on referenssituloksen mukaan raja-arvo, kuten myös näyte 16, eli kyseessä voisi olla todella myöhäisessä vaiheessa oleva infektio. Useat näytteistä, jotka on referenssillä osoitettu negatiiviseksi, ovat IgG testin mukaan vanhoja infektioita, eli potilaat ovat altistuneet virukselle jossakin vaiheessa. Näytteet 13 ja 15 on referenssimenetelmällä ollut negatiivisia, mutta spesifisillä vieritesteillä ne ovat kuitenkin primaari-infektion myöhäisempää vaihetta.

## 9.2 Väärien tulosten määrä

Tuloksien perusteella voi todeta, että Clearview vieritestin väärien positiivisten määrä oli kaksi, eli kahdeksan prosenttia tuloksista. Toisessa väärässä positiivisen tuloksen näytteessä, on ollut läsnä *Borrelia* vasta-aineita, jotka ovat voineet tehdä ristireaktion.

Väärät positiiviset tulokset ovat olleet vieritestillä raja-arvoja eli ne ovat olleet kasetissa himmeitä testiviivoja. Vääriä negatiivisia Clearview vieritesti antoi neljässä tapauksessa, eli 16 prosentissa näytteistä. Väärät negatiiviset johtuvat luultavasti siitä ettei vieritestillä riitä herkkyys tunnistaa vasta-aineita.

Osom vieritestin väärin positiivisten määrä oli 1, eli neljä prosenttia. Vieritestin tulos on ollut niin himmeä, että se on pitänyt varmistaa toiselta henkilöltä, eli se on ollut todella heikko positiivinen. Väärin negatiivisten tulosten määrä on kolme, eli 12 prosenttia. Väärät negatiiviset tulokset voivat johtua testin herkkyydestä.

Nadal vieritesti, jota oli käytettävissä vain kuusi testi kasettia, ei anna vääriä positiivisia tuloksia lainkaan. Yhden positiivisen tuloksen se jättää huomaamatta, mutta saman näytteen kohdalla jokainen vieritesti on jättänyt sen huomaamatta.

Näin ollen tulosten perusteella Osom testin tulokset ovat hieman paremmat ja luotettavammat. Ero on vain yksi väärä positiivinen ja yksi väärä negatiivinen näyte verrattuna Clearview IM –vieritestiin.

## 10 Pohdinta

### 10.1 Tulosten vertailu aiempiin tutkimustuloksiin

Omien tuloksien tueksi on hyvä katsastella aiempia tutkimustuloksia. Oman aineistoni ollessa pieni, muiden tutkimuksien tulokset tukevat minun päätelmiäni ja tuovat minulle uusia näkökantoja asiaan. Muiden tutkimuksissa on tutkittu myös valmistajasta riippumatta sensitiivisyyttä ja spesifisyyttä, joka myös on arvokas tieto.

Aiempien tutkimuksien tuloksissa on ristiriitoja. Malminiemen tutkimuksessa väärinpositiivisten määrä on merkittävän suuri. Siinä 35 % näytteistä antaa väärän positiivisen tuloksen. Omassa testauksessani 8 % näytteistä antaa väärän positiivisen tuloksen. Elghin ja Linderholmin tutkimuksessa taas väärin positiivisten määrä on vain vajaa 2 % tuloksista.

Spesifisyys ja sensitiivisyys tulokset ovat aiemmissä tutkimuksissa samansuuntaiset. Elghin ja Linderholmin tutkimuksessa spesifisyys ja sensitiivisyys ovat 98 % ja 92 % kun Bruun yms. tutkimuksessa 100 % ja 95 %. Aiempien tutkimuksien tuloksia verratessa valmistajan antamiin tuloksiin, jonka mukaan spesifisyys on 100 % ja sensitiivisyys on 98,5 %, lupaa valmistaja paremmat tulokset.

### 10.2 Luotettavuus

Validilla tutkimuksella tarkoitetaan sitä, että tutkimuksella mitataan sitä, mitä on tarkoitus selvittää. Täsmällisten tavoitteiden puuttuessa, tutkitaan helposti väärä asioita. Validius tarkoittaa systemaattisen virheen puuttumista. Jos ei ole tarkoin määritelty mitattavia käsitteitä tai muuttujia, eivät tuloksetkaan ole valideja. Validius varmistetaan etukäteen huolellisella suunnittelulla tarkoin harkitulla tiedonkeruulla. (Heikkilä 2004, 29–32.)

Reliabiliteetti tarkoittaa tulosten tarkkuutta. Tutkimuksen tulokset eivät saa olla sattumanvaraisia. Luotettavalta tutkimukselta vaaditaan toistettavuutta samanlaisiin tuloksiin. Tieteellisiä tuloksia ei saa yleistää niiden pätevyysalueen ulkopuolelle. Koko tut-

kimuksen ajan on oltava tarkka ja kriittinen. Tulokset ovat sattumanvaraisia otoksen ollessa pieni. (Heikkilä 2004, 29–32.)

Vieritestien vääriä tuloksia voivat aiheuttaa monet tekijät. Vääriä negatiivisia tuloksia aiheuttaa se, että vieritestien herkkyys on huonompi kuin referenssi menetelmässä. Raja-arvon ja positiivisen tuloksen erottaminen toisistaan on vieritestillä hankalaa, koska tulos luetaan silmämääräisesti, eikä tulokseksi saada numeerista arvoa. Näytteiden tuloksiin vaikuttavat myös preanalyttiset tekijät, johon emme opinnäytetyön aikana voineet vaikuttaa, sillä näytteet oli otettu jo aiemmin muiden toimesta. Osa näytteistä oli vanhempia kuin valmistajan ohjeen antama suositus, joka vaikuttaa myös näytteiden laatuun, myöskään tähän ei voi vaikuttaa, sillä näytteitä ei tule välttämättä niin paljoa, että testaukset voitaisiin suorittaa valmistajien ilmoittamassa muutamissa kuukausissa. Muiden virusten aiheuttamat ristireaktiot voivat aiheuttaa vääriä positiivisia tuloksia. Ristireaktioita on hankala arvioida, sillä mukana oli vain yksittäisiä näytteitä, joissa oli todettu myös muita viruksia. Jos niiden vaikutusta haluttaisiin oikeasti miettiä, olisi aineiston oltava huomattavasti suurempi.

### 10.3 Eettisyys

Tutkimuksessa pyrkimyksenä on tehdä tietoisia ja eettisesti perusteltuja ratkaisuja tutkimustoiminnan erivaiheissa. Tutkimusaiheen valinta on jo eettinen kysymys, koska täytyy miettiä, ettei aihe ole vain muodinmukainen ja liian helposti toteutettava ja merkityksetön. Tutkimuksen aikana tulee välttää epärehellisyyttä. Tämä sisältää mm. tekstin plagioinnin välttämisen, kaikkien tutkimuksen jäsenten mainitseminen, tulosten yleistämättömyyden ja niiden sepittämisen tai kaunistelun. Epärehellisyyden välttämiseen kuuluu myös se, että raportti ei ole harhaanjohtava ja puutteellinen. (Hirsjärvi, Remes & Sajavaara 2004, 23–28.)

Tuloksien raportoinnissa huolehditaan, ettei kenenkään yksityisyyttä vaaranneta ja että sitä kunnioitetaan. Tietosuoja velvoittaa tutkijan huolehtimaan käytännössä että tutkittavien yksityisyyden suojaa ei loukata ja että henkilötiedot muutetaan tunnistamattomaksi. (Heikkilä 2004, 29–32; Vilka 2007, 89–101.)

Tässä opinnäytetyössä on määritetty tavoitteet ja tarkoitus ennen kokeellisen osuuden suorittamista. Opinnäytetyön tutkimusongelmat ohjaavat myös, mitä täytyy tutkia.

Tutkimusongelmat muuttuivat tutkimuksen edetessä, sen mukaan millaista aineistoa on saatu. Tässä opinnäytetyössä otos on hyvin pieni, joka vaikuttaa tulosten luotettavuuteen. Opinnäytetyön aihe on syntynyt todellisesta tarpeesta. Opinnäytetyö on tuotettu noudattaen tutkimuksen hyviä tapoja, jolloin tekstiä ei ole kopioitu ja teksteissä on lähdetiedot. Tulokset on ilmoitettu niin kuin ne ovat alkuperäisinä saatu, eikä niitä ole muutettu. Koko opinnäytetyön ajan potilastiedot ovat olleet poissa näkyvistä. Niitä ei ole mainittu raportin tekstissä, eikä niitä näy käytetyissä valokuvissakaan. Käytetyissä näytteissä on ollut tunnistetiedot, jotta referenssimenetelmän tulos on voitu katsoa potilastietojärjestelmästä. Opinnäytetyön tekijällä ei ole oikeuksia katsoa tuloksia potilastietojärjestelmästä, joten ne on katsottu ohjaajani sairaalasolubiologi Aino Laatikaisen kanssa.

#### 10.4 Vieritestien käyttäjän kokemuksia

Vieritestejä vertaillaan myös käyttäjän kokemuksen perusteella niiden käyttöhelppouden, käyttönopeuden ja syntyvän jätteen suhteen. Vertailu perustuu vain tämän opinnäytetyön tekijän kokemukseen, eli ne kokemukset eivät ole yleistettäviä.

Laboratoriossa käytössä oleva Clearview IM –vieritesti on helppo suorittaa. Kun määritykset tehdään seeruminäytteestä, ei testin suorittamiseen tarvita näytteen laimentamista tai näytempuskuria. Vieritestiä voi käyttää kaikille näytemuodoille, mutta laboratorion käytäntöjen mukaan näytteinä käytetään vain seeruminäytteitä. Näytteitä pystyy määrittämään testillä kolmen vuorokauden ajan, jos ne on säilytetty jääkaappilämpötilassa. Kolme vuorokautta antaa mahdollisuuden näytteen kuljettamisen tai viikonlopun yli säilyttämisen. Näytteet säilyvät yhden kuukauden ajan, jos ne on säilytetty pakastamalla. Aika on lyhyt ajatellen esimerkiksi tämänlaisia testauksia. Clearview IM –vieritesti vaatii melko suuren näytemäärän (4 tippaa), joka voi tuottaa ongelmia, jos näytteenotossa esiintyy hankaluuksia. Vieritestin suorittaminen vie viisi minuuttia, mikä on vieritestille sopiva määritysaika. Testikasetista tuloksen lukeminen on helppoa. Jotkin testikasetit antavat heikompia viivoja, joka hankaloittaa lukemista. Testilaatikko sisältää 20 testiä, mutta se ei sisällä omia kontrolliliuoksia, jolloin laboratoriollla täytyy olla omat kontrolliliuokset. Testiä suorittaessa syntyy jätettä vain vähän. Yhden testin suorittamisessa jätteet koostuvat testikasetista, kertakäyttöpipetistä sekä testikasetin suojaussista. Muuta jätettä tulee käyttöohjeesta, pipettipussista (si-

sältää 20 kertakäyttöpipettiä), näytepuskurista (ei tarvita seeruminäytteille) sekä pahvilaatikosta, johon 20 testikasettia on pakattu.

Koska Osom Mono Test on liuskatesti, se on erilainen suorittaa kuin Clearview IM. Osom Mono Test –vieritestiä on helppo suorittaa ja sitä helpompi suorittaa isoissa sarjoissa kuin muita testejä. Testiä voi suorittaa kaikista näytemuodoista ja tarvittava näytemäärä on pieni (yksi tippa). Näytteitä voidaan säilyttää määrityskelpoisena kaksivuorokautta jääkaappi lämpötilassa tai kolme kuukautta pakastettuna. Kaksi vuorokautta riittää myös ajatellen mahdollisia kuljetuksia, mutta muuten se on melko lyhyt aika. Testin suorittaminen kestää viisi minuuttia, mikä on sopiva aika sen suorittamiseen. Testiliuskalta tuloksen lukeminen on melko helppoa. Testissä kontrolliviiva ja näyteviiva ilmenevät erivärisinä, mikä välillä meinaa sekoittaa tuloksen lukemista. Raja-arvo tuloksien lukemisessa saa olla hyvin tarkkana. Yksi laatikko sisältää välineet 25 näytteen määritykseen, sekä laatikko sisältää myös kontrolli liuokset. Testin suorittamisessa syntyvä jätteen määrä on suurempi, koska suorittaessa käytetään kertakäyttö koeputkea, kertakäyttöpipettiä sekä testi liuskaa. Muita jätteitä on näytteen laimennin, testiliuskapurkki (sisältää 25 testiliuskaa), positiivinen ja negatiivinen kontrolliliuos, pahvinen työskentelyasema sekä käyttöohje ja pahvilaatikko, johon välineet on pakattu. Paketti sisältää myös kapillaarit ihopistosnäytteenottoon, mutta niitä ei tarvita, joten ne voi hyödyntää muualla.

Nadal mononucleosis test device –vieritesti on myös kasettitesti, eli se on hyvin samanlainen suorittaa kuin Clearview IM. Nadal mononucleosis test device –vieritestin käytöstä tuli hieman suppeampi näkemys, koska suoritettavia testejä oli vain kuusi kappaletta. Testin suorittamiseen tarvittava näytemäärä on pieni (1 tippa). Näytettä ei tarvitse erikseen laimentaa, mutta näytteen kasettiin lisäyksen jälkeen, näytekaivoon lisätään puskuriliuosta. Testi valmistuu viidessä minuutissa. Testin suorittaminen on helppoa, mutta testejä tehdessä ongelmana oli puskurin määrä pullossa. Puskuria oli niin vähän, että se ei tullut pullosta kunnollisena tippana. Tulosten lukeminen oli helppoa. Testikaseteilla pystytään määrittämään jääkaapissa säilytettyjä näytteitä kolme vuorokautta. Pakastetuille näytteille valmistajan ohje ei kerro maksimi säilytys aikaa. Testauksessa jätettä muodostuu testikasetista, kertakäyttöpipetistä sekä testikasetin suoja-paketista. Kaiken kaikkiaan jätettä tulee kontrolliliuoksista, puskuriliuoksesta ja käyttöohjeista sekä näiden kaikkein pakkauksesta. Pakkauksen ihopistoskapillaarit voi hyödyntää muualla. Testauksessa käytössä ei ollut kokonaista pakkausta, vaan kuusi testikasettia oli pakattu erillisiin muovipusseihin muiden tarvittavien välineiden kanssa.



Spesifisten vasta-aineiden testit (IgM ja IgG) ovat keskenään ominaisuuksiltaan samanlaisia. Testauksien suorittaminen on monimutkaisempaa ja vaatii useampia työvaiheita. Tarvittavat näytemäärät ovat pieniä (25 µl), mutta ne laimennetaan erikseen koeputkissa. Testikasetti oli poikkeava muista kasettitesteistä, sillä siinä oli vain yksi ja sama kaivo, johon näyte ja reagenssit pipetoidaan ja mistä tulos luetaan. Testejä suoritetaan vain seeruminäytteistä. Näytteitä voi määrittää seitsemän vuorokauden ajan, jos ne on säilytetty jääkaapissa. Näytteet voi säilyttää myös pakastimessa, mutta valmistajanohje ei kerro, kuinka kauan ne ovat määrityskelpoisia. Testin suorittaminen vie paljon aikaa. Testin suoritus on monivaiheinen ja siihen kuluu aikaa, sillä reagenssien tulee antaa imeytyä ennen seuraavaa vaihetta. Tuloksen ollessa positiivinen sen voi lukea heti sen ilmestyttyä, mutta negatiivisen tuloksen voi lukea vasta 20 minuutin kuluttua. Tuloksen lukeminen oli helppoa, paitsi raja-arvo tuloksissa, mutta tuloksen tulkinta on aluksi hieman vaikeaa. Testauksessa tarvitaan kolmea erilaista liuosta, jolloin vaatii tarkkuutta että käyttää oikeaa liuosta oikeassa vaiheessa. Reagenssilaatikko sisältää 25 yksittäispakattua testikasettia ja reagenssit. Muut tarvittavat välineet (koeputket, pipetit ja pipetin kärjet) täytyy hankkia erikseen. Syntyvien jätteen määrä on suuri. Testauksessa jätettä tulee testikasetista ja sen pakkauksesta, koeputkesta sekä pipetinkärjistä. Muuten jätettä tulee myös reagensseista, pahvipakkauksesta ja käyttöohjeista.

### 10.5 Opinnäytetyöprosessin arviointi

Opinnäytetyö prosessi on aloitettu jo tammikuussa vuonna 2010. Prosessi on kestänyt jo pitkään ja se on edennyt vasta viimeisen vuoden aikana. Testaukset on suoritettu opinnäytetyöprosessista poiketen jo joulukuussa 2010, koska testattavien testi- en parasta ennen päivämäärät olivat umpeutumassa. Testauksien tulokset ovat olleet siis jo olemassa ennen kuin on ehditty kirjoittaa opinnäytetyön aiheen taustaa. Testauksien suorittaminen yksin oli melko työlästä. Myös heikkojen positiivisten eli raja-arvo tulosten yksin pohtiminen oli hankalaa. Raportin kirjoittaminen yksin on ollut työlästä. Aiheen rajaaminen olennaisiin asioihin oli alussa vaikeaa ja tekstiä oli jo liian laajasti. Myös kirjoittamisessa olisi apuna voinut olla toinen henkilö, sillä välillä oma teksti ja työ sokeuttavat kirjoittajan, joten toisen silmillä voisi karsia kirjoitusvirheitä ja virheitä asiasisällössä. Koko tekstin ollessa itsensä tuottamaa on sitä hankala lukea alusta loppuun ajatuksen kanssa. Työn yksin toteuttaminen on kuitenkin tuonut etuja

aikataulutuksen ja työn sisällönkin suhteen, koska saa itse päättää milloin työtä kirjoittaa ja mitä siihen kirjoittaa.

Opinnäytetyö on opettanut minulle paljon mikrobiologiasta ja virologiasta, vieritestauksesta ja tutkimuksen tekemisestä. Mikrobiologia ja virologia vaativat aiheena paljon paneutumista, jotta aiheet pystytään kunnolla sisäistämään ja tämän työn myötä olen oppinut paljon viruksien toiminnasta, ihmisen puolustusjärjestelmästä ja vasta-aineista. Ajankohtaiseen aiheeseen, vieritestaukseen, on tullut paneuduttua perinpohjaisesti. Vaikka vieritestaus itsessään on melko yksinkertaista suorittaa, toiminnan toteuttaminen ei ole niin yksinkertaista. Täytyy olla laadunvarmistukset, asianmukaiset luvat, laaduntarkkailukierrokset ja henkilökunnan perehdytykset. Opinnäytetyön aikana on tullut selväksi opinnäytetyö kokonaisuena prosessina. Työtä aloittaessa koko prosessi tuntui vieraalta ja oli epäselvää mitä milloinkin tulisi tehdä. Asiaa oli vielä sekoittamassa se, että aineisto hankittiin ennen koko työn varsinaista aloitusta. Opinnäytetyön aikana on oppinut käyttämään tilastointiohjelmaa ja tulkitsemaan taulukoita ja niiden antamaa informaatiota. Raportin kirjoittaminen on opettanut kirjallisten ohjeiden noudattamista, mm. lähteiden merkkäminen tai raportin jäsentely ja rakenne.

## 10.6 Tulosten hyödynnettävyys ja jatkotutkimushaasteet

Tässä opinnäytetyössä saatuja tuloksia pystytään hyödyntämään valitessa käytettävää mononukleosin osoitus vieritestä. Tuloksien perusteella voidaan valita mitä vieritestä laboratorio tulevaisuudessa käyttää, vaihtavako he käytössä olevan vieritestin toiseen vai pitäytyvätkö vanhassa. Aineiston ollessa pieni, on syytä miettiä tulisiko tehdä lisätestauksia vai saadaanko tämän testauksen perusteella riittävästi tietoa vieritestien toimivuudesta. Tässä opinnäytetyössä jäi paitsioon muiden virusten vaikutus vieritestien toimivuuteen, joka voisi olla hyvä määrittää luotettavien tulosten saamiseksi. ISLABin mikrobiologian laboratoriossa on nykypäivänä oma EB-virusten spesifinen määritysmenetelmä, jolloin vertailun pystyisi suorittamaan tuoreista näytteistä. Esimerkiksi näytteen saapuessa siitä tehtäisiin vieritestä määritys ja spesifinen määritys, jolloin voitaisiin arvioida väärin tulosten määrää.

## LÄHTEET

Bio-rad. 2010. Rdt EBV IgG assay. Bio-rad. Valmistajan ohje.

Bio-rad. 2010. Rdt EBV IgM assay. Bio-rad. Valmistajan ohje.

Bruu, A-L., Hjetland, R., Holter, E., Mortensen, L., Natås, O., Petterson, W., Skar, A., Skarpaas, T., Tjade, T. & Åsjo, B. 2000. Evaluation of six commercially available kits using purified heterophile antigen for the rapid diagnosis of infectious mononucleosis compared with Epstein-Barr virus-specific serology. *Clinical and diagnostic laboratory immunology*. 2000 3, 451-456.

Duodecim. 2011. Lääketieteen sanasto [verkkójulkaisu]. Kustannus Oy Duodecim. [viitattu 5.9.2011]. saatavissa:

[http://www.terveysportti.fi/terveyskirjasto/tk.koti?p\\_osio=108&p\\_teos=ltt&p\\_selaus\\_kirjain=M](http://www.terveysportti.fi/terveyskirjasto/tk.koti?p_osio=108&p_teos=ltt&p_selaus_kirjain=M)

Elgh, F. & Linderholm, M. 1996. Evaluation of six commercially available kits using purified heterophile antigen for the rapid diagnosis of infectious mononucleosis compared with Epstein-Barr virus-specific serology. *Clinical and diagnostic virology*. 1996 7, 17-21.

Genzyme diagnostics. 2009. Osom mono test. Genzyme diagnostics. Valmistajan ohje.

Heikkilä, T. 2004. *Tilastollinen tutkimus*. Helsinki: Edita.

Hirsjärvi, S., Remes, P & Sajavaara, P. 2004, *Tutki ja kirjoita*. Helsinki: Tammi.

Hukkanen, V. 2010. Epstein-Barrin virus. Teoksessa K. Hedman, T. Heikkinen, P. Huovinen, A. Järvinen, S. Meri & M. Vaara (toim.) *Mikrobiologia, immunologia ja infektiosairaudet*. Helsinki: Kustannus Oy Duodecim, 545–550.

Hukkanen, V., Saksela, K. & Hyöty, H. 2010, Virusinfektioiden patogeneesi. Teoksessa K. Hedman, T. Heikkinen, P. Huovinen, A. Järvinen, S. Meri & M. Vaara (toim.) *Mikrobiologia, immunologia ja infektiosairaudet*. Helsinki: Kustannus Oy Duodecim, 432–448.

Inverness medical. 2011. Clearviwe IM. Inverness medical innovations. Unipath Ltd. Valmistajan ohje.

Karvonen, E. & Kivimäki, S. 2011. *Määrällinen vai laadullinen?* [verkkójulkaisu]. Viestintätieteiden yliopistoverkosto. [viitattu 4.8.2011]. Saatavissa:

<http://viesverk.uta.fi/viestitiet/kaytannot/valinnat/maara.html#>

Laatikainen, A. 2010. Sairaalasolubiologi. Itä-Suomen laboratoriokeskuksen liikelaitostuntayhtymä. Joulukuu 2010. Henkilökohtainen tiedonanto.

Tartuntatautilaki 1986/583. Finlex. Lainsäädäntö [viitattu 5.10.2011]. Saatavissa:

<http://www.finlex.fi/fi/laki/ajantasa/1986/19860583>

Lappalainen, M., Vainionpää, R. & Hedman, K. 2010. Virologiset tutkimukset. Teoksessa K. Hedman, T. Heikkinen, P. Huovinen, A. Järvinen, S. Meri & M. Vaara (toim.) *Mikrobiologia, immunologia ja infektiosairaudet*. Helsinki: Kustannus Oy Duodecim, 54-64.

- Leinonen, M. 2000. Mikrobiologinen vieridiagnostiikka. *Kliin Lab.* 2000 2, 53–54.
- Linko, S., Åkerman, K., Savolainen E-R., Nissinen, A., Siitonen, A., Suni, J., Vuento, R. 2009. Vieritestaus terveydenhuollossa. *Moodi.* 2009 33, 276–300.
- Lumio, J. 2009. *Mononukleosi ("pusutauti")* [verkkajulkaisu]. Kustannus Oy Duodecim. [viitattu 31.8.2011]. saatavissa:  
[http://www.terveyskirjasto.fi/terveyskirjasto/tk.koti?p\\_artikkeli=dlk00585](http://www.terveyskirjasto.fi/terveyskirjasto/tk.koti?p_artikkeli=dlk00585)
- Malmineiemä, O., Liimatainen, O., Kaukinen, S. & Haapala, A-M. 2000. Mononukleosin osoitustestin valinta. *Kliin Lab.* 2000 6, 117-120.
- Mustajoki, P. 2010. *Perna ja sen sairaudet* [verkkajulkaisu]. Kustannus Oy Duodecim. [viitattu 5.9.2011]. saatavissa:  
[http://www.terveysportti.fi/terveyskirjasto/tk.koti?p\\_artikkeli=dlk00834&p\\_haku=splenomegal\\*](http://www.terveysportti.fi/terveyskirjasto/tk.koti?p_artikkeli=dlk00834&p_haku=splenomegal*)
- nal von minden. 2011. NADAL mononucleosis test device. nal von minden. Valmistajan ohje.
- Nissinen, A. 2010. Mikrobiologian vieritestauksen erityispiirteet. *Moodi.* 2010 34, 18–19.
- Numminen, J., Joki-Erkkilä, V-P., Järvelä, K. & Dastidar, P. 2003. Vaikea mononukleosi – yleisen sairaudenharvinainen ilmentymä. *Duodecim.* 2003 119, 1154–1157.
- Prinssi, V-P. 2000. Vier- ja pika-analytiikka avoterveydenhuollossa. *Kliin Lab.* 2000 2, 45.
- Tartuntatautiasetus A 786/1986. Finlex. Lainsäädäntö [viitattu 5.10.2011]. Saatavissa:  
<http://www.finlex.fi/fi/laki/alkup/1986/19860786>
- Vilka, H. 2007. Määrällisen tutkimuksen perusteet. *Tutki ja mittaa.* Helsinki: Tammi.
- Weber, T. 2000. Vieritutkimukset – hyödyt ja riskit. *Kliin Lab.* 2000 2, 37–38.

LIITE 1 Testauksien alkuperäiset tulokset

Näyt. nro	OSOM	NADAL	Clear- view IM	Refe- renssi	IgM T1	IgM T2	IgG T1	IgG T2
1	pos	pos	pos	POS	pos	neg	pos	neg
2	heikko	pos	neg	POS	pos	neg	pos	neg
3	neg	neg	neg	POS	heikko	neg	pos	pos
4	heikko		pos	+/-	pos	neg	pos	heikko
5	pos		pos	POS	pos	neg	pos	heikko
6	neg		neg	POS	heikko	neg	pos	heikko
7	neg		neg	POS	heikko	neg	pos	pos
8	pos		pos	POS	pos	neg	heikko	neg
9	pos		pos	POS	pos	neg	pos	neg
10	neg	neg	neg		neg	neg	neg	neg
11	pos		pos		pos	neg	pos	neg
12	neg		neg		neg	neg	pos	pos
13	neg		neg	NEG	heikko	neg	pos	neg
14	neg		neg	NEG	neg	neg	pos	pos
15	neg		neg	NEG	heikko	neg	pos	neg
16	heikko	heikko	heikko	+/-	heikko	neg	pos	pos
17	neg		neg	NEG	neg	neg	pos	heikko
18	neg	neg	neg	NEG	neg	neg	neg	neg
19	neg		neg	NEG	neg	neg	heikko	pos
20	neg		heikko	NEG	neg	neg	pos	heikko
21	neg		neg	NEG	neg	neg	pos	pos
22	neg		neg	NEG	neg	neg	pos	pos
23	neg		heikko	NEG	neg	neg	neg	neg
pos.k ontr.	pos		pos					
neg.k ontr.	neg	pos	neg	POSIT				

---

[www.savonia.fi](http://www.savonia.fi)

