



SAVONIA

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

DIAGNOSTISTEN PIKATESTIEN TULKINTA JA SIIHEN VAIKUTTAVAT TEKIJÄT

Actim Oy

TEKIJÄ:

Aino Kervinen

Koulutusala Sosiaali-, terveys- ja liikunta-ala	
Tutkinto-ohjelma Bioanalytiikan kliinisen asiantuntijan tutkinto-ohjelma / Radiografian kliinisen asiantuntijan tutkinto-ohjelma	
Työn tekijä Aino Kervinen	
Työn nimi Diagnostisten pikatestien tulkinta ja siihen vaikuttavat tekijät	
Päiväys	2.12.2020
Sivumäärä/Liitteet	55/6
Toimeksiantaja/Yhteistyökumppani(t) Actim Oy	
<p>Tiivistelmä</p> <p>Pikatestit ovat osa vieritestejä, joita käytetään diagnostiikassa yhä enemmän. Kvalitatiivinen Lateral flow immunomääritys on yksi yleisimmistä immunokromatografisista pikatestimenetelmistä, jonka tulos tulkitaan visuaalisesti. Testitikkueen muodostuva testiviiva määrittää, onko tulos positiivinen vai negatiivinen. Yksinkertaisesti tulosten tulkintatavasta huolimatta, tulosten tulkinta ei ole aina yksiselitteistä. Lateral flow -menetelmällä on ominainen harmaa alue, jossa mitattavan aineen pitoisuus on alle kliinisesti merkittävän pitoisuuden. Tulokset voivat olla haastavia tulkittavia, joko negatiivisia tai positiivisia. Tämän opinnäytetyön tarkoituksena oli selvittää, miten toistettavasti Actim-pikatestien tuloksia tulkitaan ja vaikuttavatko jotkin ulkoiset tekijät tulosten tulkintaan. Työn tavoitteena on kehittää Actim-pikatestien luotettavuutta ja käytettävyyttä saatujen tulosten pohjalta.</p> <p>Työ toteutettiin kyselytutkimuksena, johon kuului diagnostisten pikatestien tulkintaa. Actim-pikatestit on suunniteltu terveydenhuollon ammattilaisten käyttöön, joten työ toteutettiin sairaaloissa pikatestien todellisessa käyttöympäristössä. Tutkimusta varten valmistettiin 14 pikatestitikkua (PROM), joissa testiviivat olivat erivahvuisia. Tutkimukseen osallistuneet henkilöt tulkitsivat testitikkujen tulokset. Ulkoisten tekijöiden, kuten valaistuksen ja työkokemuksen, vaikutusta selvitettiin kyselylomakkeen monivalintakysymyksillä. Tämän tutkimuksen kyselylomakkeen strukturoidut kysymykset olivat luokitteluasteikollisia muuttujia, jonka seurauksena aineiston analyysimenetelmiksi valittiin ei-parametrisiä menetelmiä. Ristiintaulukoinnin avulla kuvattiin muuttujien välistä yhteyttä. Osana opinnäytetyötä toteutettiin myös Actim-organisaation sisäinen validointi liittyen pikatestitikkujen tulkintaan.</p> <p>Käyttäjät tulkitsivat selkeät positiiviset ja selkeät negatiiviset tulokset yhtenäisesti. Eroavaisuuksia havaittiin tuloksissa, jotka sijaitsivat LFIA-testin harmaalla alueella ja havaintorajalla eli kliinisesti merkittävän pitoisuuden ympärillä. Visuaalinen testiviivan tulkinta on subjektiivinen ja heikot, harmaalla alueella sijaitsevat testiviivat tulkitaan eri tavoin. Visuaaliseen tulkintaan vaikuttavat yleisesti näkökykyyn liittyvät ulkoiset tekijät, kuten valaistus ja tulkinnan ajankohta.</p> <p>Opinnäytetyön tulokset olivat samansuuntaisia kuin aiemmissa tutkimuksissa, standardeissa ja Lateral flow -menetelmäperiaatteessa on osoitettu. Pikatestin suorittaminen koettiin yleisesti helppona ja yksinkertaisena, mutta tähänkin tarvitaan käyttäjäkoulutusta. Tulevaisuudessa kvantitatiivisten, erillisellä lukulaitteella tulkittavien, lateral flow -immunomääritysten määrä tulee kasvamaan, joka poistaa tulosten tulkinnan subjektiivisuuden liittyvän ongelman.</p>	
Avainsanat Vieritesti, pikatesti, Lateral flow -menetelmä, kvalitatiivinen testi, visuaalinen tulkinta	

Field of Study Social Services, Health and Sports	
Degree Programme Master's Degree Programme in Biomedical Laboratory Science / Master's Degree Programme in Radiography	
Author Aino Kervinen	
Title of Thesis The Interpretation of Diagnostic Rapid Tests and Outward Variability Affecting it	
Date 2.12.2020	Pages/Appendices 55/6
Client Organisation /Partners Actim Oy	
<p>Abstract</p> <p>Rapid tests are a part of point-of-care tests that are increasingly used in the diagnostics. Qualitative Lateral flow immunoassay is one of the most common rapid tests based on the immunochromatography method. The results of qualitative LFIA tests are interpreted by visual reading of test lines. Although the interpretation of LFIA tests is often considered to be relatively simple due to test results being defined as either positive or negative, this is not always as straightforward. The LFIA method has also a "gray zone" where the analyte concentration is low and under the clinically significant concentration, which means that the results at those levels can be unclear, either positive or negative. The meaning of this thesis was to find out how repeatably Actim rapid tests users would do the interpretation of the tests, and if there are any external variabilities that could affect the results. The results of this thesis are aimed to be used in the further development of the usability and reliability of Actim rapid tests.</p> <p>The thesis was performed as quantitative method by using a questionnaire. Actim rapid tests have been developed for the professional users, therefore the study was conducted in hospitals. For the study, there were 14 PROM dipsticks manufactured with different intensities of test lines. Moreover, dipsticks were made of different control concentrations. Employees did the interpretation of dipsticks. The questionnaire included structured questions about the external variables that could potentially affect the interpretation, such as lighting and working experience. Questions in the questionnaire had nominal variables so that the results could be analyzed by non-parametric methods. The relation between external variables and the interpretation were described by using the cross tabulation. Actim in-house validation "Interpretation of rapid test" was also a part of the thesis.</p> <p>The results of the thesis showed that the users interpreted clear positive and negative results consistently. Differences were observed in the results that were on Lateral flow immunoassay gray zone or detection limit, near the cutoff. The visual interpretation of the test line is subjective, and the results of gray zone faint lines can be interpreted in various ways depending on the user. External variables that affect the vision in general, such as lighting and time, have an impact also on the visual interpretation of test lines.</p> <p>The results of the thesis were similar to what previous studies and standards have shown. The use of rapid tests is seen to be easy and simple, however, the study shows that there is still a need for a user introduction. Quantitative lateral flow immunoassays will be increased in the future. The result interpreted by a reader instrument will most probably increase, as it was seen that this method resolved the problem caused by a subjective reading.</p>	
<p>Keywords Rapid test, Point-of-care, Lateral flow immunoassay, qualitative test, visual reading</p>	

KÄSITTEITÄ

Affiniteetti = kahden rakenteen välinen sidosvoima esim. antigeenin epitoopin ja vasta-aineen sitoutumiskohdan välinen sidosvoima

Analyytti = mitattava antigeeni/vasta-aine

Antigeeni = immuunireaktion aikaansaava molekyyli

Aviditeetti = vasta-aineiden ja kohderakenteiden välinen kokonaisaffiniteetti

Cutoff = valmistajan ilmoittama arvo, jonka ylittävät pitoisuudet arvioidaan positiiviseksi ja alittavat negatiiviseksi tulokseksi

Detektoriraja = Havaintoraja, kliinisesti merkityksellisen tuloksen raja

Epitooppi = se osa antigeenia, johon vasta-aineen sitoutumiskohta tarttuu

Immunokemialliset menetelmät = vasta-aineiden ja antigeenien välisiä immunologisia reaktioita hyödyntävät menetelmät

Immunokompleksi = antigeenin ja vasta-aineen yhteenliittymä

Immunokromatografia = immunokemiallinen menetelmä, jossa aineet erotetaan toisistaan erilaisten materiaalien avulla

Immunometrinen menetelmä = kaksoisvasta-aineisiin perustuva menetelmä

Leima = merkkiaine tai partikkeli, joka osoittaa testiviivojen signaalin, mikäli tutkittavaa analyyttiä esiintyy

Sensitiivisyys = herkkyys, positiivisten tulosten osuus oikeasti positiivisista näytteistä

Spesifisyys = tarkkuus, negatiivisten tulosten osuus oikeasti negatiivisista näytteistä

Vasta-aine = immuunijärjestelmän tuottama valkuaisaine, joka muodostuu tietyn antigeenin vaikutuksesta

SISÄLTÖ

1	JOHDANTO	7
2	IMMUNOLOGIA PIKATESTIMENETELMÄN TAUSTALLA	9
2.1	Vasta-aineen rakenne.....	10
2.2	Antigeeni ja epitootit	11
2.3	Vasta-aineiden ja antigeenien sitoutuminen	12
3	IMMUNOLOGISTEN MÄÄRITYSTEN LUOKITTELUA.....	13
3.1	Vasta-aineiden käyttö diagnostiikassa	13
3.2	Kaksoisvasta-ainetekniikka	15
4	LATERAL FLOW -IMMUNOMÄÄRITYS.....	16
4.1	LFIA-testitikun rakenne	16
4.2	Sandwich-menetelmä LFIA-testissä	17
4.3	Actim PROM-pikatesti	18
5	PIKATESTIEN TULKINTA	19
5.1	Kvalitatiivisen immunomäärityksen tulkinta	19
5.2	Cutoff-arvo ja harmaa alue	20
5.3	C5-C95-käyrä.....	21
5.4	Actim-organisaation käyttämä sisäinen tulkintaohjeistus Actim-pikatesteissä.....	22
5.5	Markkinoilla olevat PROM-testit.....	23
5.6	Actim 1ngeni-laite	24
6	LATERAL FLOW IMMUNOMÄÄRITYKSET - NYT JA TULEVAISUUDESSA	25
6.1	Testin komponenttien kehitys	25
6.2	Uusiin menetelmiin perustuvat lukulaitteet.....	26
6.3	Tulevaisuuden haasteet ja mahdollisuudet.....	27
7	TYÖN TARKOITUS, TAVOITE JA TUTKIMUSTEHTÄVÄT	29
8	TYÖN TOTEUTUS	30
8.1	Tiedonhaku	30
8.2	Kohderyhmä.....	30
8.3	Aineiston keruu.....	31
8.4	Aineiston analyysi	31
8.5	Testitikkujen valmistus	32
8.6	Sisäinen validointi	35

8.7 Asiakkaiden suorittama tulosten tulkinta.....	36
9 ASIAKKAIDEN TULKITSEMAT TULOKSET	38
9.1 Ulkoisten tekijöiden vaikutus.....	39
9.2 Numeerinen tulos 1.....	40
9.3 Numeerinen tulos 2.....	43
9.4 Vapaat kommentit ja keskusteluista poimittua	44
9.5 Tulosten yhteenveto	45
10 POHDINTA.....	46
10.1 Opinnäytetyö prosessina	46
10.2 Tulokset ja luotettavuus	47
10.3 Tutkimuksen eettisyys.....	50
10.4 Tulevaisuus	51
LÄHTEET	53
LIITE 1: KYSELYLOMAKE.....	57
LIITE 2: SAATEKIRJE	59
LIITE 3: TESTITIKKUIJEN VALMISTUS.....	60
LIITE 4: VALIDOINTIRAPORTTI.....	65
LIITE 5: VÄRIKARTTA	69
LIITE 6: RISTIINTAULUKOINTI.....	70

1 JOHDANTO

Pikatestit on kehitetty vieritestaukseen ja tilanteisiin, joissa nopea diagnoosi voi olla ratkaisevan tärkeä. Vieritesti on laboratoriotutkimus, joka parhaimmillaan tukee kliinisin perustein tehtyjä päätelmiä potilaan hoidosta tai siihen läheisesti liittyvästä toiminnasta. Vieritestin tuloksen tulee olla helposti saatavissa ja nopeasti tulkittavissa. (Labquality 2019.) Vieritestaukseen käytettävien pikatestien etuina ovat nopeus, helppokäyttöisyys sekä kustannustehokkuus (O`Farrell 2009, 7). Tämän vuoksi vieritestit ja niiden käyttö ovat yleistyneet niin Suomessa kuin muualla maailmassa.

Immunokemiallisiin menetelmiin perustuvia vieritestejä on markkinoilla entistä enemmän. Immunokemialliset pikatestit perustuvat vasta-aineen ja tutkittavan analyytin väliseen reaktioon. Lateral flow -immunomääritys (LFIA) on yksi yleisimmistä immunokromatografisista pikatestimenetelmistä. Immunologinen lateral flow -testi on testitikuksi valmistettu pikatesti, jonka toiminta perustuu erilaisten materiaalien erottelukykyyneen, näytettä kuljettavaan kapillaari-ilmiöön ja ennen kaikkea spesifisten vasta-aineiden toimintaan. Ensimmäiset LFIA-testit on valmistettu jo 1980-luvulla. Nykyään yksinkertainen LFIA-testi voidaan muuttaa moderniksi diagnosoivaksi testiksi hyödyntämällä teknologiaa ja langatonta tiedonsiirtoa. (Amerongen, Veen, Hugo & Koets 2018, 157.) Opinnäytetyössä käytettävät Actim-pikatestit ovat kaksoisvasta-ainetekniikkaan perustuvia lateral flow -immunomäärityksiä. Immunologiaa ja immunokemiallisia menetelmiä käsitellään tässä työssä lateral flow -immunomäärityksen kannalta keskeisestä näkökulmasta.

Actim-pikatestit on kehitetty vieritestaukseen ja nopeita diagnooseja vaativiin tilanteisiin. Testejä myydään maailmanlaajuisesti esimerkiksi raskauden seurantaan, kuten ennenaikaisen synnytyksen riskin tunnistamiseen ja ennenaikaisen lapsivedenmenon diagnostiikkaan. (Medix Biochemica 2019.) Tässä opinnäytetyössä keskitytään ennenaikaisen lapsivedenmenon diagnostiikkaan käytettävään PROM-testiin, joka edustaa kaikkia Actim-pikatestejä, joissa testiviivat ovat siniset. Actim-pikatestejä on kehitetty myös tartuntatautien sekä ruoansulatuselimistön häiriöiden seurantaan. (Medix Biochemica 2019). Actim-pikatesteillä on laaja käyttäjäkunta ympäri maailman.

Kvalitatiivisten immunokemiallisten määritysten menetelmäperiaatteeseen liittyy erityispiirteitä, joiden vuoksi tulosten tulkinta ei välttämättä ole täysin yksiselitteistä. Pikatestitikkujen tulokset tulkitaan useimmiten visuaalisesti, jolloin ympäröivät olosuhteet ja muun muassa tulkitsijan subjektiivisuus voivat vaikuttaa testitulokseen erityisesti matalilla konsentraatioilla, kun määritettävän analyytin pitoisuus on lähellä detektorajaa. Tulosten tulkinnan tulee tapahtua nopeasti käyttöohjeen mukaisena lukuaikana, sillä testitulokset on luotettava ainoastaan tietyllä hetkellä. Lisäksi immunologisen lateral flow -pikatestitikkujen testiviivan värin intensiteettiin vaikuttavat erityisesti näytevirran nopeus ja analyytin konsentraatio. (Asiaei, Bidgoli, Kafi, Saderi & Siavashi 2018.)

Tämän opinnäytetyön tarkoituksena on kartoittaa Actim-pikatestitikkujen tulosten tulkintaa ja siihen mahdollisesti vaikuttavia tekijöitä. Tutkimuksen avulla pyritään selvittämään miten toistettavasti Actim-pikatestien tulokset ovat tulkittavissa Suomen terveydenhuollon ammattilaisten toimesta ja onko ulkoisilla muuttujilla, kuten valaistuksella tai työkokemuksella, vaikutusta tulosten tulkintaan. Tutkimuksen tavoitteena on parantaa Actim-pikatestien luotettavuutta ja käytettävyyttä saatujen tulosten

perusteella. Työ toteutetaan kyselytutkimuksena, jossa osallistujat pääsevät myös tulkitsemaan testitikkujen tuloksia opinnäytetyötä varten valmistetuista pikatestitikuista. Osana opinnäytetyötä suoritetaan myös organisaation sisäinen pikatestitikkujen tulosten tulkinnan validointi. Työn toimeksiantajana toimii Oy Medix Biochemica Ab tytäryhtiö Actim Oy, joka valmistaa diagnostisia pikatestitikkuja vieritestaukseen. Oy Medix Biochemica Ab on puolestaan vasta-aineiden tuotantoon erikoistunut yritys, jonka vasta-ainevalmisteet ovat olennainen osa Actim-pikatestien tuotantoa.

2 IMMUNOLOGIA PIKATESTIMENETELMÄN TAUSTALLA

Immunologiset laboratoriomääritykset perustuvat vasta-aineiden ja antigeenien väliseen vuorovaikutukseen. Laboratoriodiagnostiikassa hyödynnetään immunologiaa ja kehon vasta-ainevälitteisen immunitetin toimintaa. Immunologialla tarkoitetaan lääketieteessä elimistön puolustus- ja suojajärjestelmiä, jotka auttavat kehoamme selviytymään infektiotaudeista (Meri 2011, 12). Immuunijärjestelmä on monimuotoinen kokonaisuus, jossa solut ja molekyylit ovat yhteisvastuussa immunitetistä. Järjestelmään kuuluvat solut ja niiden tuotteet kulkeutuvat kehon kaikkiin osiin ensisijaisesti veressä. (Burns 2012, 263.) Immuunijärjestelmän tärkein tehtävä on puolustautua kehon ulkopuolisilta, vierailta mikrobeilta (Abbas & Lichtman 2005, 3). Toiminnan kannalta oleellista onkin, että solut ja molekyylit kykenevät erottelmaan omat rakenteensa vieraista. Järjestelmän eri osat toimivat tarkoin määritetyssä järjestyksessä, synnyttäen oikein kohdistuneita reaktioita. (Meri 2011, 13.) Immuunijärjestelmän organisoitunutta puolustustoimintaa kutsutaan immuunivasteeksi (Abbas & Lichtman 2005, 3).

Immuunijärjestelmä voidaan jakaa luontaiseen eli synnynnäiseen ja hankittuun eli adaptiiviseen immuunivasteeseen. Luontaisen immunitetin järjestelmään kuuluvat kudosten yleispuolustusmekanismit, kuten suojaavat epiteelit, limakalvot, eritteet, entsyymit ja matala pH-arvo. Luontaisen immuunijärjestelmän spesifejä molekyylejä ovat muun muassa komplementtijärjestelmä, tunnistusmolekyylit ja mikrobeja tuhoavat peptidit. Luontaisen puolustuksen molekyyleillä on rajallinen kyky tunnistaa kohderakenteita. Luontainen immunitetti toimii lähtökohtaisesti puolustuksen etulinjassa, sillä siinä esiintyvät reaktiot ovat nopeita ja toistuvat samankaltaisina. (Meri 2011, 12.)

Selkärankaisten eläinten adaptiivinen immuunijärjestelmä kykenee tunnistamaan kohderakenteita eli antigeeneja varsin spesifisesti. Oritun immunitetin tärkeimmät osat ovat B-lymfosyyteistä kehittyneiden plasmasolujen tuottamat vasta-aineet ja T-lymfosyytit, joiden pinnalla on antigeenisia peptideja spesifisesti tunnistavia T-solureseptoreita. Ensimmäisen antigeenikontaktin yhteydessä spesifisen immuunivasteen muodostuminen vie aikaa, mutta seuraavan kontaktin yhteydessä reaktiot tapahtuvat jo nopeammin. Vasta-ainevälitteinen immunitetti on osa hankinnasta immunitettia, jonka toiminta aktivoituu oppimisen ja muistijäljen jälkeen. Vasta-ainevälitteisen immunitetin tavoitteena on estää infektioita ja auttaa poistamaan solunulkoisia mikrobeja. (Jokiranta & Seppälä 2011, 114.) Adaptiivisen immuunivasteen monimuotoisuus perustuu vasta-aine- ja T-solureseptorien palasten uudelleenjärjestelyyn, somaattisiin mutaatioihin ja sellaisten solujen valintaan, jotka tunnistavat parhaiten reseptorimolekyylejä (Meri 2011, 13). Adaptiivisen immunitetin jättämiä muistijälkiä hyödynnetään immuunitautien diagnostiikassa määrittämällä seerumin vasta-aineita mikrobeja vastaan. (Meri 2011, 14).

Vasta-ainevälitteinen immunitetti on osa humoraalista immunitettia, jolla tarkoitetaan elimistön solunulkoisten nestefaasien mukana leviäviä immuunijärjestelmiä. Vasta-ainevälitteisen immunitetin toiminta välittyy vasta-aineiden eli immunoglobuliinien avulla. Vasta-aineita tuottamaan erikoistuvia B-lymfosyyttejä kypsyy jatkuvasti luuytimessä syntymän jälkeen. Kypsällä B-solulla on pinnallaan antigeenille spesifisiä reseptoreita, joita kutsutaan B-solureseptoreiksi. Yhden solun kaikki reseptorit

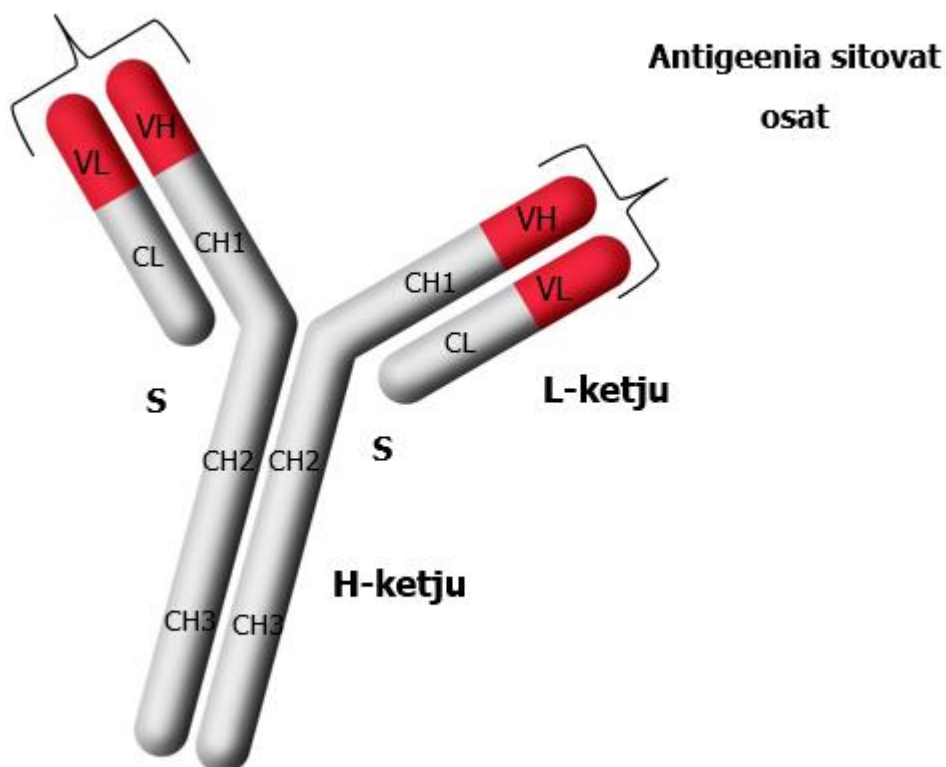
ovat samanlaisia. B-solun antigeenille spesifistä reseptoria koodaa suuri joukko erilaisia geenisegmenttejä, joista raskaassa eli H-ketjussa on käytössä neljä ja kevyessä eli L-ketjussa kolme segmenttiä. (Jokiranta & Seppälä 2011, 114.) Reseptorin muodostaminen alkaa yhdistämällä H-ketjun antigeenia sitovan domeenin osia koodittavien alueiden segmenttejä rekombinaatioilla (Jokiranta & Seppälä 2011, 115).

2.1 Vasta-aineen rakenne

Vasta-aineet eli immunoglobuliinit (Ig) ovat proteiineja, joiden molekyyliarakenteen perusyksikkö on Y-kirjaimen muotoinen. Y-kirjain muodostuu neljästä polypeptidiketjusta, jotka ovat liittyneet toisiinsa (Burns 2012, 270.) Y-kirjaimen runkona toimii proteiiniketju, johon liittyvät lyhyemmät hiilihydraattiosat sakaroiksi. Immunoglobuliinin perusyksikkö koostuu kahdesta identtisestä raskasketjusta (H=heavy) ja kahdesta identtisestä kevytketjusta (L=light). H-polypeptidiketjut ovat kiinni toisissaan kahdella tai useammalla kovalentilla kysteiiniaminohappojen muodostamalla rikkisillalla (S-S) ja muilla epäkovalenteilla sidoksilla. (Jokiranta & Seppälä 2011, 102.) Kovalentilla sidoksella tarkoitetaan kemiallista sidosta, jossa atomit jakavat elektroneja tasaisesti keskenään. L-ketjut ovat kiinnittyneinä H-ketjuun epäkovalenteilla sidoksilla ja yleensä myös yhdellä rikkisillalla. (Jokiranta & Seppälä 2011, 102.)

Raskas- ja kevytketjut koostuvat rakenteellisista perusyksiköistä, joita kutsutaan immunoglobuliinidomeeneiksi. Tyypillisessä H-ketjussa on neljä domeenia, joista ensimmäisessä on paljon vaihtelua. Seuraavat domeenit ovat keskenään samanlaisia ja niitä kutsutaan yhteisesti vakioalueeksi eli C-alueeksi (constant). Domeeneja kuvataan lyhenteillä CH1, CH2 ja CH3. H-ketjun vakioalueita on viittä päätyyppiä, joiden rakenteen mukaan vasta-aineet luokitellaan immunoglobuliiniluokkiin IgG, IgA, IgM, IgE ja IgD. L-ketjussa on kaksi domeenia, joista toinen on variaabeli- (VL) ja toinen vakio- (CL) domeeni. L-ketjuja on kahdentyyppisiä, kappa- ja lambda-ketjuja, mutta molempien toiminnallisuus ja perusrakenne on samanlainen. (Jokiranta & Seppälä 2011, 104.) Vasta-aineen rakenteellinen perusyksikkö on esitetty kuvassa 1 (kuva 1).

Immunoglobuliiniluokat määritetään siis raskasketjun vakioaluiden (C-alueiden) rakenteen mukaan (Jokiranta ja Seppälä, 2011, 110). H-ketjun vakioalue määrittää sen, toimiiko vasta-aineen Y-muotoinen perusyksikkö itsekseen vai yhdistyykö se suuremmaksi molekyyliksi (Jokiranta & Seppälä, 2011, 111). IgG on immunoglobuliiniluokista yleisin ja tunnetaan Y-muotoisesta itsekseen toimivasta perusyksiköstä (Burns 2012, 271). IgA- ja IgM-molekyylit puolestaan koostuvat useammista perusyksiköistä, jotka J-ketjuksi kutsuttu, pieni polypeptidi sitoo toisiinsa. J-ketju kiinnittyy kovalentisti rikkisillan välityksellä kuhunkin perusyksikköön, yhdistäen yksiköt suuremmiksi molekyyleiksi. (Jokiranta & Seppälä, 2011, 110.)



KUVA 1. Vasta-aineen rakenne (Actim Oy, julkaisuaika tuntematon)

2.2 Antigeeni ja epitoopit

Antigeenilla tarkoitetaan mitä tahansa molekyyliä tai molekyylikompleksia, joka aiheuttaa elimistössä vasta-aineiden muodostumisen. Antigeenit toimivat vasta-aineiden kohderakenteina. Antigeenin osaa, jota tietyn tyyppinen vasta-aine tunnistaa, kutsutaan epitoopiksi tai determinantiksi. Yhdessä glykoproteiinissa voi olla useita proteiini- tai hiilihydraattirakenteiden muodostamia epitooppeja. (Jokiranta & Seppälä 2011, 106.)

Toisistaan rakenteellisesti ja toiminnallisesti poikkeavia epitooppeja on useita. Konformaationaaliseksi epitoopiksi kutsutaan kolmiulotteisen pinnan muodostamaa epitooppia, joka häviää täysin molekyylin sisäisten sidosten purkautuessa. Konformaationaalinen epitooppi muodostuu yleensä useista proteiinin aminohappojaksoista. Lineaarinen epitooppi puolestaan muodostuu vain yhdestä aminohappojaksosta. Osa epitoopeista paljastuu ainoastaan molekyylin sisäisten muutosten vuoksi, esimerkiksi entsyymien pilkkouessa proteiinin. Toiset epitoopit puolestaan syntyvät molekyylikompleksien muodostuessa. Vasta-aineet voivat sitoutua proteiiniepitooppien lisäksi antigeenien erilaisiin molekyyliin, kuten lipideihin, hiilihydraatteihin, nukleiinihappoihin ja pieniin kemikaaleihin. (Jokiranta & Seppälä 2011, 107.)

2.3 Vasta-aineiden ja antigeenien sitoutuminen

Y-kirjaimen muotoisessa vasta-aineen perusyksikössä on kaksi kohtaa, jotka voivat sitoutua samantyyppiseen antigeeniin (Jokiranta & Seppälä 2011, 104). Kummankin HL-ketjuparin päässä on kevyt- ja raskasketjun variaabelidomeenien (VL ja VH) muodostama antigeenia sitova alue (Burns 2012, 270). Näissä variaabelidomeeneissa on kolme aminohappojaksoa, joita poikkeuksellisen sekvenssivaihtelun vuoksi kutsutaan hypervariaabelialueiksi. Nämä kuusi aluetta tai osa niistä muodostavat kunkin vasta-aineen antigeenia sitovan alueen. (Jokiranta & Seppälä 2011, 106.)

Yhden Y-sakaran ja kohde-epitopin välistä sitoutumisvoimakkuutta kutsutaan molekyylien väliseksi affiniteetiksi. Affiniteettiin vaikuttavat vasta-aineen ja epitopin pinnan vastaavuudet muodoltaan, varauksiltaan, hydrofobisuudeltaan ja vetysidosten muodostumiskyvyltään. Vasta-aineen sitoutumiskohdan pienetkin muutokset voivat vaikuttaa oleellisesti molekyylien väliseen affiniteettiin. (Jokiranta & Seppälä 2011, 108.) Yhdessä molekyylissä olevat useat sitoutumispaikat parantavat kokonaissitoutumisen voimakkuutta eli aviditeettiä. Useat sitoutumispaikat vahvistavat vasta-ainetta pysymään paremmin paikoillaan. IgG- ja IgE-immunoglobuliineissa sitoutumispaikkoja on kaksi ja suuremmissa IgA- ja IgM-molekyyleissa neljästä kahteentoista. (Jokiranta & Seppälä 2011, 111.)

3 IMMUNOLOGISTEN MÄÄRITYSTEN LUOKITTELUA

Immunologisia määriytyksiä on kehitetty runsaasti viimeisten vuosikymmenten aikana. (Vashist & Luong 2018, 1.) Immunomääriytyksiä käytetään terveydenhuollossa sairauksien seurantaan ja hoidon vaikutusten arviointiin (Vashist & Luong 2018, 5.) Niillä onkin merkittävä rooli kliinisessä päätöksenteossa. Immunokemiallisten menetelmien toiminta perustuu mitattavan analyytin vasta-aineen tai antigeenin pitoisuuden mittaukseen. Menetelmässä hyödynnetään antigeenin ja spesifin vasta-aineen ominaisuutta sitoutua toisiinsa. (Halonen 2003, 90.) Immunomääriytykset tehdään pienestä näytemäärästä, jolloin myös mitattavan analyytin pitoisuus voi olla hyvin matala. Tämänkaltaisessa menetelmässä käytetään usein visuaalisesti havaittavaa reagenssia eli leimaa osoittamaan mitattavan analyytin läsnäoloa. Immunomääriytysten spesifisyys, sensitiivisyys ja joustavuus perustuvat vasta-aineiden ainutlaatuisiin ominaisuuksiin. (Wild 2013, 7.)

Immunokemialliset menetelmät voidaan luokitella heterogeenisiin ja homogeenisiin menetelmiin. Heterogeeninen immunokemiallinen menetelmä vaatii aina erillisen erotusvaiheen ennen tuloksen tulkintaa. Vapaana oleva leimattu antigeeni tai vasta-aine ja vasta-aineeseen sitoutunut leimattu antigeeni tai vasta-aine erotetaan toisistaan esimerkiksi pesemällä tai sentrifugoimalla. Homogeenisessä immunokemiallisessa menetelmässä tällaista erottelua ei tarvita, vaan antigeeniin liitetyn leiman aktiivisuus muuttuu vasta-aineen sitoutuessa analyyytiin. Tällöin testimenetelmä on yksinkertaisempi ja määritettävä yhdiste voidaan analysoida suoraan. (Halonen 2003, 93.)

Immunomääriytykset luokitellaan usein kvantitatiivisiin, semikvantitatiivisiin, ja kvalitatiivisiin menetelmiin. Kvantitatiivisilla menetelmillä tarkoitetaan sellaisia menetelmiä, jotka mittaavat analyytin konsentraatiota standardi- tai kalibrointikäyrään verraten ja antavat numeerisia tuloksia ja tarkkoja pitoisuusmääriä. (Wild 2003, 10.) Semikvantitatiivinen määriytyks on kvalitatiivisten ja kvantitatiivisten määriytyksien välimuoto. Tulokset luokitellaan kliinisen merkitsevyyden perusteella, yleensä kategorioihin negatiivinen, matala positiivinen, positiivinen ja korkea positiivinen. (He & Parker 2013, 140.) Kvalitatiiviset testitulokset antavat puolestaan vastauksen yksinkertaiseen kysymykseen, kuten siihen onko henkilö raskaana vai ei. (Wild 2003, 10.) Kvalitatiivisen menetelmän tulos esitetään usein muodossa negatiivinen tai positiivinen, reaktiivinen tai ei-reaktiivinen. Kvalitatiivinen menetelmä viittaa ennemminkin tiettyyn laatuun tai ominaisuuteen, kun taas kvantitatiivisen menetelmän tulos on tarkka, mitattu arvo. (He & Parker 2013, 139.)

Suurin osa markkinoilla olevista immunokemiallisista vieritesteistä perustuu immunokromatografiaan. Kromatografia kuvaa fysikaalista erotusmenetelmää, jossa näytteessä olevat yhdisteet erottuvat analyysin aikana toisistaan. Erottuminen perustuu siihen, että yhdisteet poikkeavat toisistaan siinä, kuinka herkästi ne sitoutuvat tukimateriaalin kiinteään faasiin ja näytettä eteenpäin kuljettavaan faasiin. (Halonen 2003, 100.)

3.1 Vasta-aineiden käyttö diagnostiikassa

Yleensä vasta-aineet sitoutuvat voimakkaasti vain yhteen epitooppiin. Kyseisen vasta-aineen spesifisyys on käytännössä se molekyyli, jossa tämä epitooppi sijaitsee. (Jokiranta & Seppälä 2011, 109.)

Erilaisissa antigeeneissa voi kuitenkin olla molekyylien rakennehomologian vuoksi niin paljon samankaltaisuutta, että vasta-aine sitoutuu toisen molekyylin samankaltaiselle pinta-alueelle. Vasta-aineen affiniteetin ollessa samankaltainen kahden eri molekyylin epitoppeja kohtaan puhutaan ristireaktiosta. (Jokiranta & Seppälä 2011, 109.)

Immunomääritysten menetelmäperiaatteen kulmakivenä toimivat vasta-aineet (Halonen 2003, 90). Mitattavan analyytin kannalta oikein valitut ja toimivat vasta-aineet tuottavat menetelmälle korkean spesifisyyden ja sensitiivisyyden. Spesifisen vasta-aineen löytäminen ja kehittäminen onkin ensisijaisen tärkeää immunomääritysten kehittämisessä. (Vashist & Luong 2018, 3.) Vasta-aineiden erilaisia ominaisuuksia hyödyntämällä on onnistuttu valmistamaan laaja joukko immunomääritykseen perustuvia vieritestejä. Diagnostiikan kannalta vasta-aineiden tärkeimmät ominaisuudet ovat kyky sitoutua hyvin laajaan joukkoon luonnollisia tai valmistettuja molekyyliä, poikkeuksellinen spesifisyys kohde-rakenteeseen ja vasta-aineen ja kohde-analyytin välinen affiniteetti. (Wild 2013, 7.)

Diagnostisissa menetelmissä käytetään sekä polyklonaalisia että monoklonaalisia vasta-aineita. Polyklonaalisia vasta-aineita valmistettaessa eläin immunisoidaan määritettävällä yhdisteellä, ja se alkaa tuottaa useita erilaisia spesifisiä vasta-aineita, joissa antigeenien sitoutumispaikka poikkeaa toisistaan. (Halonen 2003, 90.) Nimensä mukaisesti polyklonaaliset vasta-aineet sisältävät useita (B-solu) klooneja (Burns 2012, 267). Monoklonaalisia vasta-aineita tuotetaan solunviljely- ja hybridisaatiotekniikoilla. Monoklonaalisessa vasta-aineessa on ainoastaan yksi spesifinen antigeenin sitoutumispaikka, minkä vuoksi niitä käytetään diagnostiikassa yhä enemmän polyklonaalisten vasta-aineiden sijaan. (Halonen 2003, 90.) Monoklonaalinen vasta-ainevalmiste sisältää vain yhden kloonin tuottamaa vasta-ainetta, jolloin ristireaktioiden mahdollisuus on huomattavasti pienempi kuin polyklonaalisissa vasta-aineissa. Monoklonaalisen vasta-ainevalmisteen kaikilla vasta-ainemolekyyliillä on yhtäläinen affiniteetti kohdeanalytyihin, jolloin sitoutumiseen liittyvät tapahtumat ovat helpommin ennustettavissa. (Jokiranta & Seppälä 2011, 135.) Monoklonaaliset vasta-aineet ovat epitooppispesifisiä, kun polyklonaaliset vasta-aineet ovat antigeenispesifisiä. Tämä ero on ratkaiseva sen suhteen, miten näitä vasta-aineita hyödynnetään diagnostiikassa. (Burns 2012, 267.) Diagnostiikassa käytetään viidestä vasta-aineluokasta IgM- ja IgG-immunoglobuliineja, joista eniten immunoglobuliini G:tä (IgG) (Vashist & Luong 2018, 3).

Tutkimustarkoituksissa vasta-aineista voidaan tehdä paloja erilaisten entsyymien avulla. Hajoittamalla Y-muotoinen perusyksikkö papaiinilla, molekyylistä syntyy kolme palaa: kaksi keskenään identtistä antigeenia sitovaa Fab-palaa ja yksi vakio Fc-pala (constant fragment). (Burns 2012, 270.) Fab-palat tarttuvat kohdeantigeeniin (Fragment-antigen binding) ja Fc-pala voidaan tarvittaessa kiittää (Fragment-crystalizable) (Jokiranta & Seppälä 2011, 105). Fab-palojen pientä kokoa voidaan hyödyntää immunokemiallisissa määrityksissä. Fab-palat kykenevät sitoutumaan antigeeneihin sellaisissa tilanteissa, joissa suurempi natiivimolekyyli ei pysty. (Burns 2012, 270.) Immunoglobuliinimolekyylien Fab- ja Fc-osat ovat kompakteja materiaaleja, joiden välissä on liikkumisen mahdollistava sarana-alue. Liikkumisen ansiosta kaksi antigeenimolekyyliä voi sitoutua yhteen Y-vasta-aineeseen samanaikaisesti, vaikka antigeenit olisivat vierekkäisissä soluissa. (Jokiranta & Seppälä 2011, 105.)

3.2 Kaksoisvasta-ainetekniikka

Immunomääritysten toimintaperiaatteet perustuvat yleisimmin kilpailevan sitoutumisen tai kaksoisvasta-ainetekniikan mekanismeihin (Halonen 2003, 90). Kaksoisvasta-aineeseen perustuvista menetelmistä käytetään myös nimityksiä immunometrinen määrittäminen (immunometric assay) tai suora immunomääritys (direct immunoassay) (O`Farrell 2013, 90). Kaksoisvasta-ainetekniikkaan perustuvia menetelmiä käytetään erityisesti silloin, kun tutkittavan analyysin molekyylipaino on suuri. Molekyylin pinta-ala tulee olla niin laaja, että se pystyy sitoutumaan kahteen vasta-aineeseen. (Wild 2013, 7.)

Sandwich-menetelmä on yleisin antigeenin osoittamiseen käytetty immunometrinen määrittäminen. Sandwich-menetelmässä antigeeni voi yhtäaikaaisesti liittyä kahteen eri vasta-aineeseen eri epitopeillaan. Ihanteellinen Sandwich-muodostus perustuu vasta-aine-antigeeni-vasta-aine pareihin, joissa vasta-aineet eivät sitoudu antigeenin samaan epitoppiin. Sandwich-menetelmään perustuvassa immunomäärityksessä käytetään kahta vasta-ainetta, detektio- ja capture-vasta-ainetta. Detektio-vasta-aine (detection antibody) eli niin sanottu osoitusvasta-aine on konjugoitu leimaan ja capture-vasta-aine, "sieppaajavasta-aine" (capture antibody) on immobilisoitu detektio- eli tulosten tulkinta-alueelle. (Li, You, Li, Hu, Liu, Gong & Xu 2019.) Sandwich-menetelmän etuina ovat laaja mittausalue sekä vakaat tulokset (He & Parker 2013, 142).

4 LATERAL FLOW -IMMUNOMÄÄRITYS

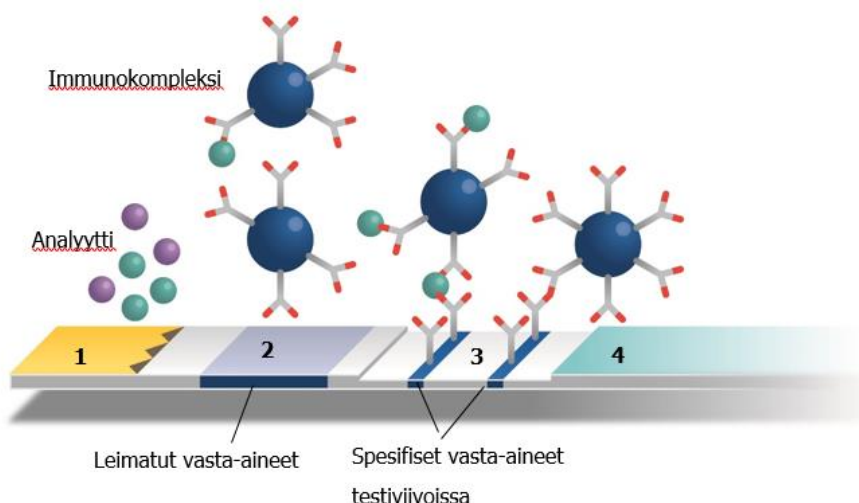
Lateral flow immunomäärityksellä (LFIA) tarkoitetaan tietynlaisen rakenteen omaavaa immunokromatografista pikatestiä, jonka avulla pyritään osoittamaan spesifinen antigeeni tai vasta-aine potilasnäytteestä. Tekniikka perustuu antigeenin ja vasta-aineen väliseen vuorovaikutukseen (Bahadir & Sezginurk 2016, 286.) Lateral flow -menetelmässä hyödynnetään sekä kromatografiaa että immunologiaa. Näytteen komponentit erottuvat toisistaan sen mukaan, kuinka ne liikkuvat testitikun erilaisten materiaalien läpi ja testituloksen muodostuminen perustuu vasta-aineen ja antigeenin väliseen immunokemialliseen reaktioon. (Bahadir & Sezginurk 2016, 287.) Immunokromatografisessa pikatestimenetelmässä tapahtuu samanaikainen vapaan ja sitoutuneen yhdisteen erottaminen, signaalien muodostuminen ja kromatografia-ajo nitroselluloosakalvolla (Halonen 2003, 100).

4.1 LFIA-testitikun rakenne

Lateral flow -menetelmässä hyödynnetään erilaisia materiaaleja, jotka sijoitetaan limittäin pohjalevyille (O` Farrell 2009, 3). Testitikun komponentit ja reagenssit asetellaan harkitusti, jotta näytevirta kulkeutuu kapillaarivoiman avulla esteettömästi pikatestitikun päästä päähän (von Lode 2005).

Useimmiten testitikun tärkeimmät komponentit on pakattu suojaan niin, että vain näytetyyny ja tulosalue ovat ulkoisesti nähtävissä. Tulosalueesta, jossa näyte- ja kontrolliviivat sijaitsevat, käytetään yleisesti nimitystä detektioalue. (NanoComposix 2016, 5.)

Tyypillinen lateral flow -testitikku koostuu neljästä komponentista, jotka esiintyvät seuraavassa järjestyksessä: näytetyyny (sample pad), konjugointityyny (conjugate pad), membraani (membrane) ja imutyyny (absorbent pad). Komponentit on esitetty kuvassa 2, numeroin 1-4 (kuva 2).



KUVA 2. Lateral flow -testitikun rakenne ja Sandwich-muodostus (Actim Oy, julkaisuaika tuntematon)

Näytetyynyksi (sample pad) kutsutaan aluetta, johon näyte absorboidaan (Kuva 2, **1**). Näyte imeytyy näytetyynylle, josta se kulkeutuu eteenpäin kapillaarivoiman ansiosta. (Bahadir & Sezginurk 2016, 287.) Nimensä mukaisesti testitikku asetetaan lateraalitasoon näytevirtauksen käynnistyttyä. Näytetyyny voi neutralisoida näytettä tarvittaessa ja siihen poistuu näytteen ylimääräiset analyysiä mahdollisesti häiritsevät molekyylit, kuten veren punasolut (NanoComposix 2016, 5).

Konjugointityyny (conjugate pad) sisältää leimatut vasta-aineet (Kuva 2, **2**) (Bahadir & Sezginurk 2016, 287). Konjugaatti on immobilisoitu tyypillisesti värjättyllä latex-partikkelilla tai kultapartikkelilla. Partikkeli on konjugoitu menetelmän spesifiseen komponenttiin, vasta-aineeseen tai antigeeniin. (O`Farrell 2013, 90). Testin merkkiaineen eli leiman valinta riippuu usein testin tyypistä ja halutun signaalin intensiteetistä. Yleensä partikkeleina käytetään kultapartikkeleita tai värjättyjä latex partikkeleita. (Asiaei ym. 2018.) Mikäli näytteessä esiintyy tutkittavaa analyyttiä, leimatut vasta-aineet sitoutuvat antigeeniin. Tämän jälkeen näytteen virtaus jatkuu pitkin testiliuskaa kuljettaen mukanaan vasta-aine-leima-antigeeni kompleksin. (Bahadir & Sezginurk 2016, 287.)

Membraani toimii lateral flow -immunomäärityksen avainmateriaalina tarjoten alustan analyysin reaktioille (Kuva 2, **3**). Membraani on useimmiten valmistettu nitroselluloosasta. (Bahadir & Sezginurk 2016, 287.) Testin spesifit IgG-vasta-aineet tai antigeenit ovat immobilisoituina testiviivoiksi membraaniin (O`Farrell 2013, 90). Menetelmän spesifisyys ja sensitiivisyys määräytyvät näiden molekyylien perusteella. Useimmissa tapauksissa vasta-aineita käytetään sitomaan spesifisesti kohdeanalyyttiä. (Amerongen ym. 2018, 159).

Testitikun päässä on imutyyny, joka pysäyttää näytteen virtauksen ja kerää ylimääräisen näytteen (Kuva 2, **4**) (Bahadir & Sezginurk 2016, 287). Tulokset tulkitaan tulosalueelta joko visuaalisesti tai erillisellä reader-lukulaitteella (O`Farrell 2013, 90).

LFIA-testin suorituskykyyn ja sensitiivisyyteen vaikuttavia ominaisuuksia ovat näytevirran nopeus ja tutkittavan analyytin konsentraatio. Analyytin konsentraatio vaikuttaa testiviivassa syntyvien reaktioiden määrään ja näin värin intensiteettiin. Näiden lisäksi testin suorituskykyyn vaikuttavat muun muassa tyyny- ja membraanimateriaalit, partikkelin koko ja materiaali sekä membraanin paksuus. (Asiaei ym. 2018.)

4.2 Sandwich-menetelmä LFIA-testissä

Immunologisissa Lateral flow -pikatesteissä hyödynnetään kaksoisvasta-ainetekniikkaan perustuvaa Sandwich-menetelmää ja spesifien vasta-aineiden ominaisuuksia (Halonen 2003, 100). Leimaan yhdistetty vasta-aine sijaitsee pikatestin konjugointitynyssä ja on spesifinen analyytin yhdelle sitoutumiskohdalle, epitooppi 1:lle. Toinen vasta-aine on kuivattuna membraanin testiviivassa ja on spesifinen näytteessä olevan antigeenin toiselle sitoutumiskohdalle, epitooppi 2:lle. (Bahadir & Sezginurk 2016, 289.)

Näytevirran käynnistyttyä tutkittavaa analyyttiä sisältävän näytteen antigeeni muodostaa leimatun vasta-aineen kanssa immunokompleksin konjugointitynyssä (Bahadir & Sezginurk 2016, 289). Immunokompleksit kulkeutuvat näytevirran mukana membraanille. Membraaniin immobilisoitu vasta-aine tai antigeeni pysäyttää immunokompleksin etenemisen, jolloin detektioalueelle muodostuu värillinen viiva. (Halonen 2003, 100.) Leimattu vasta-aine, joka on vielä vapaana testiviivan ylittämisen jälkeen, sitoutuu kontrolliviivan vasta-aineeseen ja muodostaa kontrolliviivan.

Näytteen sisältäessä riittävästi tutkittavaa analyyttiä tulosikkunaan ilmestyy kaksi viivaa (testi- ja kontrolliviiva) ja tulos on positiivinen. Mitattavan antigeenin puuttuessa testiin ilmestyy vain kontrolliviiva ja testitulokset on negatiivinen. (Bahadir & Sezginturk 2016, 289.) Mikäli yhtään viivaa ei muodostu, testitulokset on mitätön. Kontrolliviiva osoittaa testin toimivuuden.

4.3 Actim PROM-pikatesti

Actim PROM-pikatesti on visuaalisesti tulkittava kvalitatiivinen, immunokromatografinen pikatesti. Testin toiminta perustuu spesifisiin monoklonaalisiin vasta-aineisiin, jotka tunnistavat kohdun limakalvon tuottaman, lapsivedessä esiintyvän proteiinin IGFBP-1:n. Actim PROM on kaksoisvasta-ainetekniikkaa hyödyntävä Lateral flow -immunomääritys, jossa pikatestitikku sisältää kaksi monoklonaalista vasta-ainetta IGFBP 1-proteiinille. Toinen vasta-aine on sidottu leimana toimivaan siniseen latex-partikkeliin ja toinen on immobilisoitu membraaniin, jossa se kiinnittyy antigeenin ja lateksilla leimatun vasta-aineen muodostamaan kompleksiin, mikäli näyte sisältää tutkittavaa analyyttiä. (Actim PROM 2016, 19.)

Actim PROM-testi on erinomaisen herkkä ja spesifi tunnistamaan sikiökalvojen ennenaikaisen puhkeamisen. Actim PROM-testin mittausalueen on todettu olevan laaja, jopa 25 - 4 000 000 ug/l. Testin havainto- eli detektoriraja on 25 ug/l uutetussa näytteessä. (Actim PROM 2015.)

5 PIKATESTIEN TULKINTA

Vieritestaukseen käytettävistä immunomäärityksistä suurin osa on kvalitatiivisia testejä, joiden tulokset tulkitaan visuaalisesti (Brandan O` Farrell 2013, 100). Menetelmän spesifit vasta-aineet vastaavat analyysin tunnistamisesta ja signaalin tuottamisesta. Testiviivan värin intensiteetti korreloi tutkittavan analyysin määrää näytteessä. (Brandan O` Farrell 2013, 97.) Merkkiaineena toimivia latexipartikkeleita voidaan tuottaa useissa eri väreissä. Visuaalisen tulkinnan helpottamiseksi testeissä hyödynnetään usein tummia sävyjä, jotka tarjoavat hyvän kontrastin valkoista membraania vasten. (Brandan O` Farrell 2013, 100.) Värin muutosta ei voida varsinaisesti mitata visuaalisella tarkastelulla, vaan tulosten tulkinta on lopulta riippuvainen testituloksen tulkitsijasta (Ojaghi, Pallapa, Tabatabaei & Pouya 2018, 189-196).

5.1 Kvalitatiivisen immunomäärityksen tulkinta

Kvalitatiivisen immunomäärityksen tulkinta mielletään usein yksinkertaiseksi - testiviiva joko on tai ei ole nähtävissä. Tulos tulkitaan useimmiten reaktiivinen/ei-reaktiivinen tai positiivinen/negatiivinen. Kvalitatiiviseen immunomääritykseen liittyy kuitenkin menetelmälle ominaisia piirteitä, joista käyttäjien tulee olla tietoisia. (He & Parker 2013, 139.) Lateral flow -menetelmän kritiikki kohdistuu yleisimmin juuri tulosten tulkintaan. Heikon testiviivan tulkinta on hankalaa ja virheelliset tulkinnat voivat johtaa vääriin negatiivisiin, vääriin positiivisiin tai epäselviin tuloksiin. Visuaalinen tulkinta on keskeisesti riippuvainen tulkitsijan näköhavainnosta. (Brandan O` Farrell 2013, 103.) Henkilö, joka määrittää tuloksen silmämääräisesti arvioiden, ottaa samalla vastuun testituloksen oikeellisuudesta (He & Parker 2013, 139). Tulosten tulkinnan subjektiivisuuteen liittyvää ongelmaa on pyritty ratkaisemaan erilaisten lukulaitteiden avulla, ja ensimmäiset readerit otettiin käyttöön noin 15 vuotta sitten (Amerongen ym. 2018, 163).

Kvalitatiivisten immunomääritysten testitulosten lukuaika on yleensä 5-15 minuuttia testin suoritukselta. Immunokemialliset reaktiot eivät pääty käyttöohjeessa määritettyyn tulosten tulkinnan ajankohtaan, vaan reaktioita tapahtuu vielä kauan tämän jälkeenkin. Tutkimuksen mukaan antigeenivasta-ainereaktioiden tasapaino saavutettiin noin neljän tunnin kuluttua testin suorittamisesta, kun testejä säilytettiin + 37 asteessa. Ainoastaan 40% reaktioista tapahtui ensimmäisen 15 minuutin aikana. (Asiaei ym. 2018.) Tämän vuoksi pikatestien tulokset tulee tulkita ohjeistuksessa mainittuna ajankohtana. Testiviivan värin intensiteetti kasvaa ajan kuluessa ja voi myöhemmin tulkittuna johtaa virheelliseen testitulokseen. Värin intensiteetin muodostumiseen ja LFIA-testin toimivuuteen vaikuttaa oleellisesti myös optimaalinen näytevirtauksen nopeus.

Kvalitatiiviset immunomääritykset voidaan luokitella kahteen ryhmään. Testeihin, joissa määritetään mitattavan analyysin esiintymistä tai puutosta, kuten esimerkiksi virustestit, ja testeihin, joissa tulosten tulkintaan vaikuttaa analyysin kohonneen konsentraation lisäksi asiakkaan kliininen tausta, kuten raskaustesti ja PROM-testi. Tämänkaltaisissa testeissä testituloksen vaikutusta arvioidaan suhteessa kokonaiskuvaan. Esimerkiksi epäselvässä PROM-testituloksessa on äidin kannalta varmempaa tulkita tulos positiiviseksi, jolloin odottajan tilaa seurataan ja pohditaan mahdollisia jatkotutkimuksia. Toisaalta väärä positiivinen tulos voi aiheuttaa turhia toimenpiteitä ja ylimääräisiä kustannuksia. Luotettavien tulosten saamiseksi käyttäjän tulee arvioida tuloksen johdonmukaisuutta asiakkaan kliiniseen

tilaan peilaten. Epäselvät tulokset toistetaan ja määritetään mahdollisuuksien mukaan toisella menetelmällä. (He & Parker 2013, 139.)

5.2 Cutoff-arvo ja harmaa alue

Kvalitatiivisia testejä kehitettäessä testataan useita testin suorituskykyyn liittyviä ominaisuuksia. Kvalitatiivisen testin luonteeseen vaikuttaa oleellisesti menetelmän sensitiivisyyden ja spesifisyyden määrittely. Menetelmän liian korkea sensitiivisyys vaikuttaa heikentävästi menetelmän spesifisyyteen ja päinvastoin. (He & Parker 2013, 140.) Kvalitatiivisia testejä käytetään kliinisessä työssä seulontaan, diagnosointiin sekä tulosten varmistamiseen. Seulontaan käytettävissä testeissä pyritään saavuttamaan mahdollisimman suuri sensitiivisyys, jotta vääriä negatiivisilta tuloksilta vältyttäisiin, esimerkiksi verenluovuttajien virustutkimuksissa. Diagnosointiin käytettävissä kvalitatiivisissa testeissä pyritään puolestaan korkeaan spesifisyyteen ja sensitiivisyyteen. Kvalitatiivisten menetelmien yksi suurimmista haasteista on menetelmälle ominainen ”harmaa alue” (gray zone), joka liittyy läheisesti määrittelyn cut off -arvoon. (He & Parker 2013, 141.)

Kvalitatiivisten menetelmien yksi tärkeimmistä parametreista on cut off-arvon määrittely. (He & Parker 2013, 143). Cutoff-arvolla tarkoitetaan kvalitatiiviselle testille määritettyä kynnysarvoa, jolloin rajan ylittävät pitoisuudet arvioidaan tulkinnaltaan positiiviseksi ja alittavat negatiiviseksi tuloksiksi. Cutoff-arvon määrittää testin valmistaja, eivätkä käyttäjät voi muuttaa sitä. Jokaiselle menetelmälle määritetään optimaalinen cutoff-arvo tasapainotellen testin muiden ominaisuuksien ja parametrien välillä. Käytännössä täydellistä spesifisyyttä ja sensitiivisyyttä omaavaa testiä ei ole olemassakaan. (He & Parker 2013, 144.) Ulkoiset tekijät ja olosuhdemuutokset vaikuttavat menetelmän tarkkuuteen cutoff-arvon läheisyydessä. Valmistajan tekemien määrittelyjen ja testin todellisen käyttöympäristön välille mahtuu useita muuttujia, esimerkiksi lähetys- ja säilytysolosuhteet ja valaistus. Nämä muuttujat on huomioitava myös menetelmää testatessa. (Clinical and Laboratory Standards Institute 2008, 9.)

Menetelmää kehitettäessä keskitytään erityisesti niihin analyttipitoisuuksiin, jotka ovat lähellä cutoff-arvoa. Tällaisten tutkimusten avulla pystytään parhaiten arvioimaan menetelmän luotettavuutta. Harmaa alue sijoittuu cut off-arvon ympärille ja juuri tällä alueella saadaan epäluotettavia tuloksia. Suurin tavoite määrittelyn optimoinnissa ja validoinnissa onkin varmistaa, että harmaa alue on mahdollisimman kapea. (He & Parker 2013, 144.) Mitattavan analyytin pitoisuus on hyvin alhainen menetelmän harmaalla alueella ja jää alle kliinisesti merkittävän pitoisuuden. Täysin negatiivisten tai korkeiden positiivisten tulosten pitoisuudet ovat kaukana kliinisesti merkittävästä pitoisuudesta, jossa tehdään potilaan kannalta oleelliset päätökset. (Clinical and Laboratory Standards Institute 2008, 9.)

Kvalitatiivisen menetelmän detektio- eli havaintoraja määritetään kullekin testille testin käyttöodotukseen, sensitiivisyyteen ja spesifisyyteen perustuen (He ja Parker 2013, 143). Käyttäjät eivät voi muuttaa valmistajan määrittämää detektorajaa (Clinical and Laboratory Standards Institute 2008, 9). Menetelmälle tarkasti määritetty havaintoraja on kliinisen tulkinnan kannalta ehdoton (He & Parker 2013, 143).

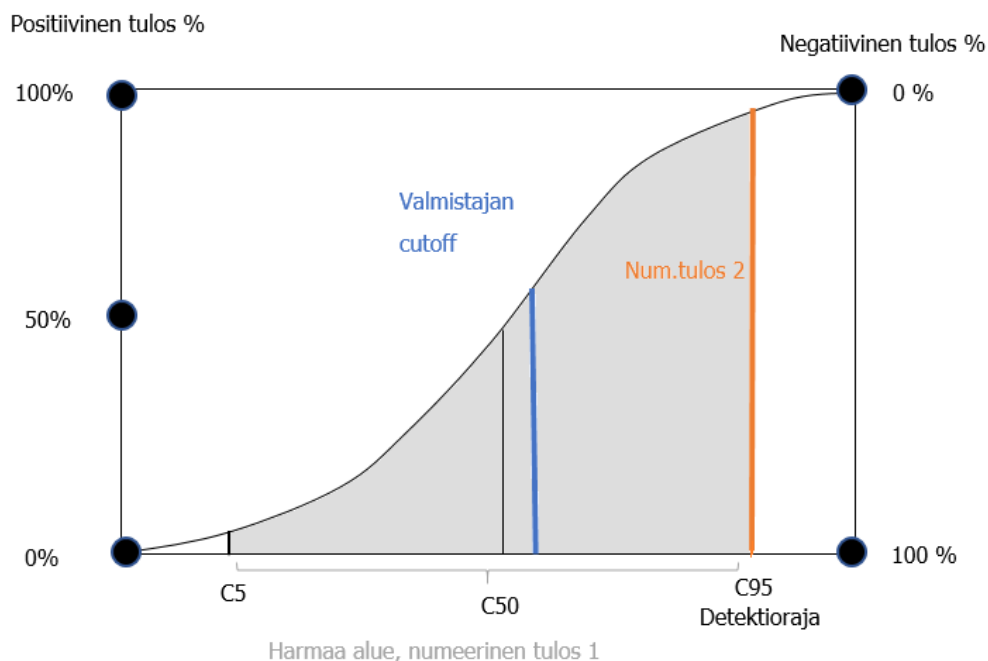
5.3 C5-C95-käyrä

Testin herkkyyttä ja detektiorajaa kuvataan usein C5-C95-käyrällä, jossa kirjain C kuvaa konsentraatiota ja perässä oleva numero prosentuaalista positiivisten tulosten määrää (kuva 3). Käyrä perustuu oletukseen siitä, että laaja joukko cutoff-arvon omaavia testejä määritetään täydellisissä, vakiintuneissa olosuhteissa. Tällöin cutoff-arvolla määritetyt tulokset jakautuisivat täysin tasan, 50% positiivisia ja 50% negatiivisia tuloksia. Todellisuudessa täydellisiä tai täysin samankaltaisia olosuhteita ei voida simuloida, joten jokaisella menetelmällä testaavalla laboratoriolle on hieman erilainen analyysin pitoisuus valmistajan määrittämän cutoff-arvon lähellä, jossa tulokset jakautuvat 50/50. Käyrällä tätä pitoisuutta kuvataan lyhenteellä C50. Teoriassa C50-pitoisuuden pitäisi vastata valmistajan määrittämää cutoff-arvoa. (Clinical and Laboratory Standards Institute 2008, 9.)

C5-C95-käyrää kuvataan epätasaisuuden käyräksi "Imprecision curve", jossa nähdään miten positiivisten ja negatiivisten vastausten prosentit oletettavasti jakaantuvat laajassa testausmäärässä, kun analyysin pitoisuus on lähellä C50-pitoisuutta. Analyysin konsentraation lisääntyessä on odotettavissa prosentuaalisesti enemmän positiivisia ja vähemmän negatiivisia tuloksia. Vastaavasti konsentraation laskiessa on odotettavissa vähemmän positiivisia tuloksia ja enemmän negatiivisia tuloksia. Kurvin todellinen muoto ja jyrkkyys vaihtelee riippuen valmistajasta, menetelmästä, määrittystä suorittavasta laboratoriolle ja sen olosuhteista. (Clinical and Laboratory Standards Institute 2008, 9.)

Testin alhaisilla konsentraatioilla esiintyy sekä positiivisia että negatiivisia tuloksia. C5 on konsentraatio, jolla 5% tuloksista on positiivisia. C95 on konsentraatio, jolla 95% tuloksista on positiivisia. C95-arvo toimii samalla testin havainto- eli detektiorajana. Konsentraatioalueen C5-C95 ulkopuolella tulokset ovat joko negatiivisia (< C5) tai positiivisia (> 95). (Pikatestiviivojen värikartta 2019.) Actim PROM -pikatestin detektiorajaksi on määritetty 25 µg/l uutetussa näytteessä (Actim PROM 2015).

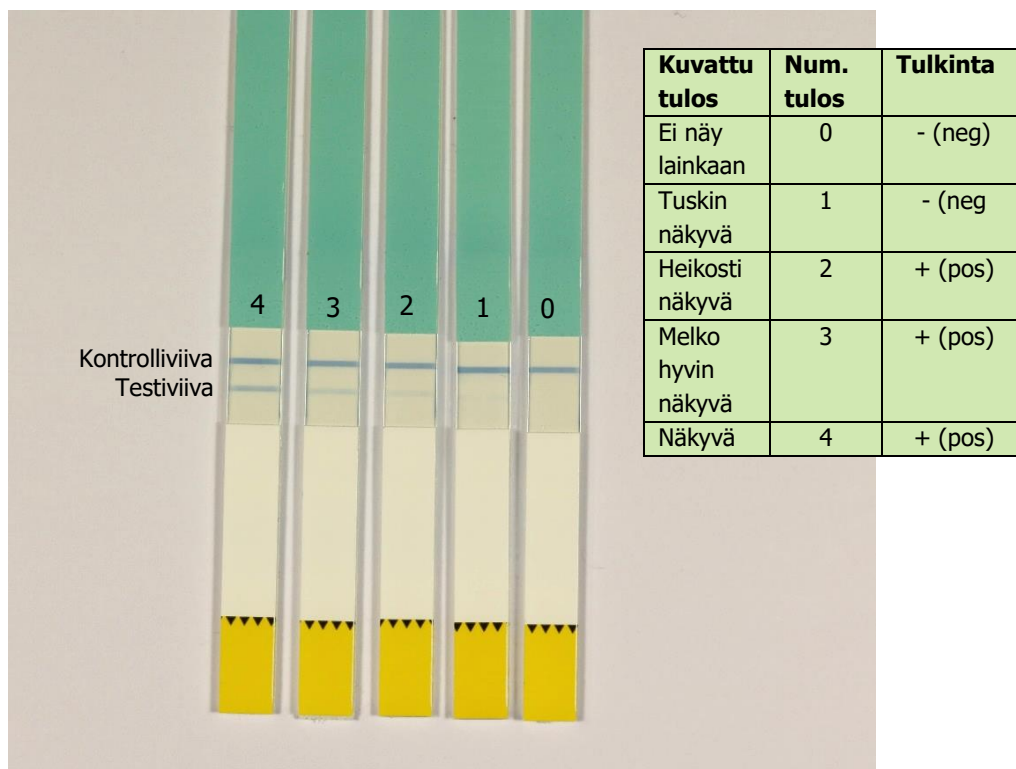
Yksi kvalitatiivisten testien eduista on se, että sillä voidaan saada korkein mahdollinen sensitiivisyys positiivisen tuloksen saamiseksi, silloin kun näytteessä on hyvin matala konsentraatiopitoisuus. Kvalitatiivisen testin C5-C95-käyrä havainnollistaa kuitenkin sitä tosiasiaa, että menetelmän ominaisuuksista johtuen, useat tulokset samasta näyteenpitoisuudesta eivät johda täysin yksiselitteiseen testitulokseen. (Clinical and Laboratory Standards Institute 2008, 9.)



KUVA 3. Kuvitteellinen C5-C95-käyrä (Kervinen 2020, CC-BY-SA)

5.4 Actim-organisaation käyttämä sisäinen tulkintaohjeistus Actim-pikatesteissä

Actim-organisaation sisäisessä tulosten tulkinnassa käytetään apuna pikatestiviivojen värikarttaa (liite 5), jossa testiviivoille on annettu värin intensiteetin perusteella numeeriset arvot 0-4. Numeerisia arvoja käytetään, jotta tuotantoerien herkkyys saadaan toistettavasti samalle tasolle ja sitä pysytymään seuraamaan paremmin kuin vain "positiivinen tai negatiivinen" perusteella. Pikatestien cutoff- ja detektiotasolla tulosten tulkinta on vaativaa, sillä viivat ovat usein hyvin heikkoja, ja riippuu sekä lukijasta että olosuhteista, miten tulos tulkitaan. Numeeriset tulokset 0-1 tulkitaan ohjeistuksen mukaan negatiivisiksi. Numeerisen tuloksen 1 saanutta testiviivaa kuvaillaan tuskin näkyväksi spesifisen viivan häiveeksi, jonka vain rutinoitunut lukija voi nähdä. Numeerinen tulos 2 kuvataan heikosti näkyvänä, mutta jo selkeästi havaittavissa olevana viivana. Numeeriset tulokset 3 ja 4 ovat jo hyvin näkyviä testiviivoja. Testitikkujen tuloksia tulkittaessa värikartasta valitaan se viiva ja numeerinen arvo, joka vastaa parhaiten tulkittavan testiviivan vahvuutta. Numeeriset tulokset 1 ja 2 ovat lähellä testimenetelmän kliinisesti merkittävää pitoisuutta. Numeerinen testitulokseksi 1 sijaitsee Lateral flow -testille ominaisella harmaalla alueella, jossa testitulokseksi voi usein olla epäselvä. Testin erittäin heikosti, tuskin näkyvä viiva (tulos 1) sijaitsee C5-C95 konsentraatioalueella. Testin käyttäjistä toiset tulkitsevat tämän positiiviseksi ja toiset negatiiviseksi tulokseksi. (Pikatestiviivojen värikartta 2019.) Testiviiva alkaa muodostua harmaalla alueella vähitellen, kunnes kliinisesti merkittävällä pitoisuudella se on selkeästi visuaalisesti tulkittavissa. Numeerisen tuloksen 2 antava testitikku kuvastaa PROM-testin detektorajaa, jolloin 95% käyttäjistä tulkitsee tuloksen positiiviseksi. Kuvassa 4 on esitetty PROM-tikkujen testiviivojen tulokset numeerisilla tasoilla 0-4 ja Actim-organisaation sisäinen tulkintaohjeistus.



KUVA 4. Testitikkujen tulokset numeerisilla tasoilla 0-4 ja tulosten tulkinta (Kervinen 2020, CC BY-SA)

5.5 Markkinoilla olevat PROM-testit

Markkinoilla on useita ennenaikaisen lapsivedenmenon diagnosointiin käytettäviä Lateral flow -pikatestejä. PROM-lyhenne tulee sanoista "premature rupture of membranes". Testit ovat menetelmäperiaatteeltaan hyvin samankaltaisia, mutta suoritustavat poikkeavat toisistaan. Testin määrittäminen alkaa näytteenotosta. Actim PROM-testiin käytettävä näyte otetaan pitämällä vanutikkua vaginassa 10-15 sekuntia. Tämän jälkeen vanutikkua pyöritetään 10-15 sekuntia voimakkaasti uuttoputkessa, jotta näyte liukenee puskuriin. Näyte testataan mahdollisimman pian tai viimeistään 4 tunnin kuluttua. Tikkua pidetään puskuriputkessa, kunnes nesterintama alkaa näkyä tulosalueella. Tämän jälkeen testitikka asetetaan vaakasuoraan asentoon. Actim PROM-käyttöohjeen mukaan testitulokset voidaan tulkita positiiviseksi heti kun kaksi sinistä viivaa on ilmestynyt tulosalueelle. Negatiivinen tulos tulee tulkita viiden minuutin kuluttua testin suoritukselta. Käyttöohjeessa korostetaan, että viivoihin, jotka ilmestyvät testitikkuihin viiden minuutin lukuajan jälkeen, ei tule kiinnittää huomiota. Jos sinisiä viivoja on vain yksi, kontrolliviiva, testitulokset ovat negatiiviset. Mikäli detektioalueelle ei ilmesty lainkaan viivoja, testi tulee uusiksi. (Actim PROM 2016, 18.)

Amnisuren ROM-testi on kvalitatiivinen testi, joka tunnistaa lapsivedessä esiintyvää PAMG-1-proteiinia. Actim-testin tavoin ROM-testissä käytetään monoklonalisia vasta-aineita. Näytettä otetaan emättimen pinnalta yhden minuutin ajan. Tämän jälkeen näyte huuhdellaan liuotinpulloon pyörittämällä vanutikkua minuutin ajan. Potilasnäyte testataan 30 minuutin sisällä tai asetetaan jääkaappiin, jossa se voi olla korkeintaan 6 tuntia. Testitikka jätetään puskuripulloon uutettuun näytteeseen ja poistetaan pullosta vasta tulosten tulkinta-ajankohtana. Positiiviset tulokset voidaan tulkita heti vii-

vojen ilmestyttyä ja negatiivinen tulos tulee tulkita viiden minuutin jälkeen. Käyttöohjeessa on erillinen huomautus siitä, että käyttöohjeet on luettava ja niitä on noudatettava tarkasti. Muutoin tulokset voivat olla epätarkkoja. (Amnisure 2019.)

ROM Plus testissä käytetään sekä mono- että polyklonaalisia vasta-aineita ja testin korostetaan tunnistavan kahta proteiinia, IGFB-1 ja AFP-proteiineja, yhden sijaan. Näyte otetaan pitämällä vanutikka vaginassa 15 sekunnin ajan. Vanutikka laitetaan puskuriputkeen ja taivuttamalla tikkua vanuosa katkaistaan puskuriputkeen, johon se jätetään. Puskuriputki suljetaan ja kasetin näytealueelle tiputetaan näytettä. Kasettitestissä on sisään rakennettu ajastin ja tulosten tulkinta aika on enintään 20 minuuttia. ROM Plus testin käytössä korostetaan, että testi on validi, vaikka testiviivat olisivat heikkoja. Viivoissa voi olla sävyeroja eikä niitä pidä arvioida tai tulkita. (Clinical innovations 2020.) Yleisesti ottaen käyttöohjeissa ei ole yksityiskohtaisempaa mainintaa, minkälaisissa olosuhteissa testejä tulisi määrittää.

5.6 Actim 1ngeni-laite

Actim 1ngeni on Actim-pikatestien tulosten tulkintaan kehitetty lukulaite. Toistaiseksi Actim 1ngeniä voidaan käyttää muutamien Actim-pikatestien tulosten määrittelyssä, kuten PROM- ja Partus. Partus-testillä arvioidaan ennenaikaisen synnytyksen riskiä. Actim 1ngeni-laitteen toiminta perustuu testitikusta otettuun kuvaan ja sen analyysiin. Jokaiselle 1ngeniällä tulkittavalle erälle määritetään kynnyсарvo, johon verraten laite tulkitsee yksittäisen testitikun tuloksen joko positiiviseksi tai negatiiviseksi. Yksittäisiä laitteen määrittämiä arvoja kutsutaan "Peak-arvoiksi".

Laitteen suorittama itsenäinen ja objektiivinen tulkintatapa johtaa vähäisempiin tulkintavirheisiin (Amerongen ym. 2018, 163). Actim 1ngeni-laite analysoi ja tallentaa testitikujen tulokset automaattisesti. Laite yhdistää kliinisen tarkkuuden digitaaliseen testitulosten tulkintaan. Testien jäljitettävyyssiedot paranevat, ja käyttäjän tekemät virhemahdollisuudet pienenevät, kun erillistä tulosten syöttöä ei tarvita. Tämä takaa testitulosten optimaalisen ja johdonmukaisen tulkinnan ja säästää aikaa. (Actim 1ngeni 2020.) Lukulaitteella määritettynä tulokset ovat varmuudella vertailukelpoisia ja hoitotilanteessa voidaan keskittyä potilaaseen, kun manuaalista tulosten tulkintaa ei tarvita (Actim 1ngeni 2015).

6 LATERAL FLOW IMMUNOMÄÄRITYKSET - NYT JA TULEVAISUUDESSA

Perinteisen kvalitatiivisen Lateral flow -immunomäärityksen (LFIA) etuja ovat helppokäyttöisyys, alhaiset kustannukset, liikuteltavuus ja käyttäjäystävällisyys. Testi voidaan suorittaa missä tahansa, vastaukset saadaan nopeasti ja tulos on tulkittavissa visuaalisesti ilman erillistä automatiikkaa. (Bahadir & Sezgin 2016, 287.) Kvalitatiivista Lateral flow -immunomääritystä pidetään hyvänä vaihtoehtona erityisesti infektioautien seulontaan sekä kroonisten sairauksien seurantaan. Testien varastointiaika on pitkä, ja säilytysolosuhteet ovat helposti toteutettavissa. (Li ym. 2019, 4.) Pikatestejä tuottavien yritysten näkökulmasta LFIA-testin etuja ovat maltilliset tuotantokustannukset, yksinkertaiset valmistusvaiheet sekä pienet reagenssi- ja näytemäärät (Li ym. 2019, 2).

Toisaalta perinteisen kvalitatiivisen Lateral flow -immunomäärityksen haasteina ovat muun muassa määrityksen toistettavuus, ristireagointi sekä virheettömyys (Li 2019, 26). Visuaalinen tulkinta tarjoaa mahdollisuuden käyttäjän virheelle, dokumentoinnin puuttumiselle ja tulosten väärinkirjaamiselle (Brandan O`Farrell 2013, 103). Käyttäjän tekemän virheellisen visuaalisen tulosten tulkinnan seurauksena voi syntyä väärä diagnoosi, minkä vuoksi monet pikatestejä valmistavat yritykset ovat alkaneet kehittää kvantitatiivisia LFIA-testejä ja lukulaitteita testitulosten tulkintaan (Li ym. 2019, 25).

Teknologian ja erilaisten sovellusten avulla Lateral flow -immunomääritystä voidaan kehittää osaksi virallista laboratoriojärjestelmää. Vieritestauksen lisääntyessä lateral flow -testit voivat korvata myös useita laboratoriodien immunomäärityksiä. Kvantitatiivisissa LFIA-testeissä pyritään ratkaisemaan kvalitatiivisten LFIA-testien haasteet mutta säilyttämään testien edut. Kvantitatiivisille Lateral flow -immunomäärityksille voidaan saavuttaa vieläkin korkeampi spesifisyys ja helpottaa tulosten tulkintaa hyödyntämällä teknologiaa erilaisten reader-lukulaitteiden muodossa. Nykyiset LFIA-testit ovat monipuolisia ja kyvykkäitä diagnosoimaan erilaisia analyyttejä. Ainainen kehitys materiaaleissa, reagensseissa, laitteistossa ja teknologiassa mahdollistaa Lateral flow -immunomäärityksen jatkuvan tuotekehityksen. (Brandan O`Farrell 2013, 89.)

6.1 Testin komponenttien kehitys

Nykyisissä Lateral flow -immunomäärityksissä käytetään useimmiten värjättyä latex- tai kultapartikkelia osoittamaan tutkittavan antigeenin läsnäoloa ja testiviivan muodostumista. Immunokromatografiset pikatestit tuottavat tuloksia nopeasti, mutta testien sensitiivisyys on usein matala. Tulevaisuuden kvantitatiivisia LFIA-testejä kehitettäessä fluoresenssipartikkeleiden käyttö todennäköisesti lisääntyy, jolloin testeistä saadaan entistä herkempiä. (Li ym. 2019, 5.) Detektoraja voi olla jopa 100 kertaa parempi verrattuna visuaaliseen tulkintaan. Partikkelin muuttaminen fluoresenssipartikkeliin lisää testin hintaa ja monimutkaisuutta, mutta tulos on objektiivinen. Jäljitettävyyden paranevan tulosten tallentuessa automaattisesti ja käyttäjävirheen mahdollisuudet pienenevät. (Salminen, Juntunen, Talha & Pettersson 2019.)

Testiin liittyvien komponenttien kehitys on jatkuvasti tutkimuksen alla testin toimivuuden parantamiseksi. Tulevaisuuden näkymiksi on kaavailtu muun muassa aptameereja, jotka sitovat testiin käytettävät vasta-aineet stabiilimmin, uudenlaisia paperimateriaaleja nitroselluloosamembraanin sijaan sekä useita analyytteja samanaikaisesti mittaavia testitikkuja. (Li ym. 2019, 26.)

6.2 Uusiin menetelmiin perustuvat lukulaitteet

Uusia menetelmiä kehitetään myös Lateral flow -immunomääritystä mittaavaan laitteistoon. Nykyisissä lukulaitteissa käytetään pääsääntöisesti optista mittausta, joka perustuu detektioalueesta otettuun kuvaan ja algoritmien prosessointiin. Tulos määritetään reflektioivista signaaleista, joita huokuu testitikun pinnasta eri määriä riippuen testiviivan värin intensiteetistä. Tällaisella mittauksella jää mittaamatta paljon partikkeleiden intensiteettiä, joka puolestaan vaikuttaa testin sensitiivisyyteen. (Ojaghi ym. 2018, 189-196.) Yksi esimerkki uudeltaisista, innovatiivisista lukulaitteista on paristoilla toimiva opTricon CubeReader. Lukulaitteena toimii pieni kuutio, joka laitetaan testin detektioalueen päälle. Tulos tulkitaan sekunneissa, jonka jälkeen se siirtyy koneelle. (Amerongen ym. 2018, 170.)

TPLI (Thermoptonic lock-in imaging) on uudenlainen lukulaitteen mittaumenetelmä, joka perustuu lämpöaaltojen diffuusioon, eikä näin ollen vaadi optista kultapartikkeleiden näkyvyyttä testitikulta. TPLI-menetelmän herkkyyttä on todennettu tutkimuksessa, jossa joukko 25-30-vuotiaita osallistujia tulkitsi LFIA-raskaustestin tuloksia visuaalisesti. Tutkimukseen osallistujilla oli hyvä näkökyky ja he suorittivat tulosten tulkinnan päivänvalossa. Saatuja tuloksia verrattiin sekä optisella että TPLI-menetelmään perustuvalla lukulaitteella tehtyyn mittaukseen. Detektoriraja visuaalisesti ja optiseen mittaukseen perustuvalla lukulaitteella oli 2 mIU. Osallistujista 10 % näki visuaalisesti myös tuloksen 1mIU. TPLI-menetelmällä detektorirajaksi saatiin 0.2 mIU. Tulosten erot voisivat olla tätäkin suuremmat, jos visuaaliseen tulkintaan osallistuneiden henkilöiden näkökyky olisi heikko tai tulosten tulkinta olisi suoritettu esimerkiksi yöaikaan valaistusolosuhteiden ollessa heikommat. TPLI-menetelmään perustuvia lukulaitteita nähdään mahdollisesti tulevaisuudessa menetelmän herkkyyden, kvantitatiivisuuden, edullisuuden ja luotettavuuden vuoksi. Tutkimustuloksen määrittämiseen voi käyttää myös puhelimeen liitettävää infrapunakameraa. (Ojaghi ym. 2018, 189-196.)

Yksi tämän hetken trendeistä onkin käyttää älypuhelinlaite tulosten lukulaitteena. Suurimpana etuna koetaan se, että älypuhelimet ovat kaikkien saatavilla, niistä löytyy kamera ja erilaiset sovellukset ovat helposti lisättävissä. (Amerongen ym. 2018, 170.) Älypuhelimien käyttö lukulaitteena parantaa diagnostiikan, vieritestauksen ja seurannan mahdollisuuksia, kun testejä voidaan määrittää hajautetusti ja etäyhteyksillä (Vashist & Luong 2018, 3). Puhelinlaitteiden ja erilaisten sovellusten käyttö terveydenhuollossa yleistyy koko ajan. Merkittävimmin ovat kasvaneet vieritestaukseen käytetyt työkalut, joiden on huomattu tukevan kliinistä päätöksentekoa ja kehittävän potilastietojen dokumentointia. Applikaatiot mahdollistavat virtuaalisen käytännönharjoittelun ja tarjoavat verkkoympäristön teoreettiseen oppimiseen. Lisäksi applikaatioiden kautta voi saada vastauksia kysymyksiin sekä kliinistä tukea. (Ventola 2014, 356-364.) Toistaiseksi eniten ongelmia aiheuttavat operaattoreiden erot sekä älypuhelimien vaihteleva kameran laatu, joka vaikuttaa lopulliseen tulosten tulkintaan. (Amerongen ym. 2018, 170). Alustan säännöllinen vanheneminen, yhteistyön puute testien kehittäjien kanssa sekä kalibrointiin liittyvät asiat aiheuttavat niin ikään haasteita (O`Farrell 2013, 103).

6.3 Tulevaisuuden haasteet ja mahdollisuudet

Lateral flow -immunomääritysten kysynnässä esiintyy entistä konkreettisemmin kahdenlaisia tarpeita. Kehittyneissä maissa kaivataan moderneja, herkkyydeltään virallista laboratoriodiagnostiikkaa vastaavia lukulaitteella tulkittavia kvantitatiivisia testejä, kun taas kehittyvien maiden tarpeisiin vastataan parhaiten yksinkertaisella, edullisella, visuaalisesti tulkittavalla kvalitatiivisella testillä. Lateral flow -immunomäärityksen tuotekehityksessä onkin syytä huomioida, mihin tuotetta myydään. Sellaiset testit, jotka toimivat kehittyneissä maissa, eivät välttämättä toimi kehittyvissä maissa – ja päinvastoin. (O` Farrell 2013, 103.) Lateral flow -immunomääritysten markkinat ovat kasvaneet viimeisten viiden vuoden aikana. Tätä selittää väestön vanhentuminen, infektiosairauksien korkea esiintyvyys ja kotitestien lisääntynyt käyttö. (Amerongen ym. 2018, 174.) Vieritestejä on alettu käyttää entistä enemmän ja LFIA-testit ja niiden erilaiset sovellukset ovat lisääntyneet kliinisessä diagnostiikassa. (Amerongen ym. 2018, 175). Immunomäärityksiin perustuvilla vieritestauksilla voidaan leikata terveydenhuollon korkeita kustannuksia ja helpottaa esimerkiksi kroonisten sairauksien kotiseurantaa. (Li ym. 2019, 26.) Markkinoilla vieritestien määrä on lisääntynyt viime vuosina nopeasti ja tarjontaa on nykyään varsin paljon (Li ym. 2019, 3).

Yhtenä osasyynä kasvulle on ollut kehittyvien maiden markkinat, joissa infektiotaudit yltyvät yhä epidemioksi. (He & parker, 2013, 146.) Vieritestien yhtenä tavoitteena on leikata terveydenhuollon kustannuksia niin, että yhä useammat ihmiset pääsisivät terveydenhuollon piiriin myös kehittyvissä maissa. Kehittyvien maiden laajalle levinneet immunomääritysten sovellukset ohjaavat valmistajia tuottamaan yksinkertaisia, nopeita ja edullisia vieritestejä. (Li ym. 2019, 1.) Kehittyville maille suunnatut yksinkertaiset pikatestit (ns. paper-based testit) ovatkin houkutteleet ostajia viime vuosina. (Vashist ja Luong 2018, 2.)

Menetelmäperiaatteeltaan yksinkertaisilla vieritesteillä on tulevaisuudessa laajat mahdollisuudet, mutta myös kilpailua ja haasteita. Testitikkujen tuottaminen on edullista ainoastaan kvalitatiivisille analyyseille ja toisaalta kalliimpien kvantitatiivisten testien ominaisuuksien tulee pystyä säilyttämään vieritestauksen edut jatkossakin. (Li ym. 2019, 26.) Erityisesti kehittyneissä maissa kaivataan markkinoille enemmän kvantitatiivisia Lateral flow -immunomäärityksiä kvalitatiivisten LFIA -testien tiettyjen puutteiden vuoksi. Kvantitatiivisten testien määrät tulevatkin kasvamaan lähitulevaisuudessa. Yhtenä LFIA-testien heikkoutena nähdään myös se, että testit mittavat useimmiten vain yhtä analyyttiä. Tätä tarvetta vastaamaan on kehitetty multianalyytti- ja multiplex -testejä, joissa yhdellä testillä saadaan määritettyä useampi analyytti. (Amerongen ym. 2018, 171.) Multianalyyttimääritysten tarve perustuu osin siihen, että monet diagnostiset kysymykset vaativat 5-10 erilaisen analyytin testaamisen, jotta yli 90% tapauksista voidaan selvittää. (Amerongen ym. 2018, 163.) Ihmisten sairauksien seulonta multianalyytti pikatesteillä voisi johtaa nopeampaan, oikea-aikaiseen lääkintään ja hoitoon.

Yksi tulevaisuuden suurimmista mahdollisuuksista on erilaisten teknologioiden yhdistäminen. Lateral flow -immunomääritysten integrointi paperidiagnostiikkaan ennakoidaan tapahtuvan lähitulevaisuudessa. "Paper based" materiaalin kykyä kuvataan nitroselluloosaa potentiaalisemmaksi. (Amerongen ym. 2018, 176.) Tulevaisuudessa Lateral flow -menetelmän käytön ajatellaan kasvavan erityisesti

syöpä- ja sydänmarkkereiden sekä infektiosairauksien diagnosoinnissa (Li ym. 2019, 14). Markkinoilla olevilla Lateral flow -testeillä on ollut vaikeuksia saavuttaa virallisia hyväksyntöjä muuttuvien viranomaistandardien takia. Epäilystä kvalitatiivisia LFIA-testejä kohtaan aiheuttaa yhä myös tulosten tulkinnan subjektiivisuus. (Amerongen ym. 2018, 175.)

7 TYÖN TARKOITUS, TAVOITE JA TUTKIMUSTEHTÄVÄT

Tämän opinnäytetyön tarkoituksena oli kartoittaa Actim-diagnostisten pikatestien tulkintaa ja siihen mahdollisesti vaikuttavia ulkoisia tekijöitä. Tutkimuksen avulla pyrittiin selvittämään, miten toistettavasti Actim-pikatestien tulokset ovat tulkittavissa Suomen terveydenhuollon ammattilaisten toimesta, millaiseksi pikatestien käytettävyys koetaan, ja onko ulkoisilla muuttujilla, kuten valaistuksella tai tulkinnan suorittaneen henkilön koulutuksella vaikutusta tulosten tulkintaan. Tutkimusta varten valmistettiin testitikkuja erivahvaisilla kontrolleilla, joista syntyi väri-intensiteetiltään erivahvaisia testi- viivoja. Tutkimuksessa pyrittiin saamaan tietoa erityisesti kliinisesti merkittävän pitoisuuden ympärillä muodostuvien testi- viivojen visuaalisesta tulkinnasta. Detektorajan ja ”harmaan alueen” tulosten tulkinta olivat tutkimuksen keskiössä. Tutkimuksen tavoitteena oli parantaa Actim-pikatestien luotettavuutta ja käytettävyyttä saatujen tulosten pohjalta.

Tutkimukseen osallistuvilla oli mahdollisuus antaa palautetta pikatestien toimivuudesta ja käytettävyydestä. Organisaation ja tuotekehityksen näkökulmasta saatiin arvokasta tietoa tulosten tulkintaan vaikuttavista tekijöistä sekä ohjeistuksen riittävydestä. Actim-pikatestejä pyritään kehittämään jatkuvasti paremmiksi. Asiakaslähtöisyys onkin yksi tuotekehityksen kulmakivistä.

Työssä pyrittiin vastaamaan seuraaviin tutkimuskysymyksiin:

- Kuinka yhtenäisesti käyttäjät tulkitsevat Actim-pikatestien tuloksia?
- Millaiset tekijät vaikuttavat Actim-pikatestien tulosten tulkintaan?

8 TYÖN TOTEUTUS

Tämän opinnäytetyön käytännön työn osuus koostui useammasta vaiheesta. Työ aloitettiin tulkittavien pikatestitikkujen valmistamisella, jota seurasi organisaation sisäinen validointi ”Pikatestiviivojen tulkinta” ja asiakkaiden suorittama tulosten tulkinta. PROM-testitikut edustavat tässä työssä kaikkia Actim-testejä, joissa pikatestiviivat ovat sinisiä. PROM:in lisäksi tällaisia testejä ovat Actim Fecal Blood, Actim Combi Hemoglobiin Transferrin, Actim Calprotectin, Actim CRP, Actim Influenza A&B, Actim Pancreatitis ja Actim Partus.

Tämä opinnäytetyö oli empiirinen tutkimus, jossa pyrittiin yksittäistapausten pohjalta löytämään säännönmukaisuuksia Actim-pikatestien tulosten tulkinnasta ja tulkintaan mahdollisesti vaikuttavista ulkoisista tekijöistä (Valli 2015, 16). Tutkimusmenetelmänä oli kvantitatiivinen tutkimus, jonka aineisto kerättiin anonyymisti täytettävillä strukturoiduilla kyselylomakkeilla. Tutkimustulokset tilastoi-
ttiin eli laadittiin yksittäisten tapausten pohjalta yhteenveto, joka esitettiin taulukoiden ja kuvioiden muodossa (Valli 2015, 15).

8.1 Tiedonhaku

Työn teoreettinen viitekehys muotoutui pikkuhiljaa työn edetessä. Alusta alkaen oli selvää, että Lateral flow -immunomäärityksen menetelmäperiaatteen ymmärtämiseksi oli paneuduttava taustalla olevaan immunologiaan. Erilaisia artikkeleita, e-kirjoja ja aineistoja selaamalla rakentui looginen kokonaisuus, jossa pureuduttiin laajemmista kokonaisuuksista pienempiin - aina yleisestä immunologiasta kohti yksityiskohtaista Lateral flow pikatestitikon menetelmää. Tiedonhaussa käytettiin erilaisia tietokantoja, muun muassa Terveysportti, ScienceDirect ja PubMed. Avainsanat muotoituvat ”Lateral flow immunoassay” ympärille erilaisilla yhdistelmillä, käytetyimpänä ”qualitative”, ”visual reading” ja ”interpretation”. Immunologiaan ja menetelmiin liittyvää kirjallisuutta löytyi kaupungin, ja yliopistojen kirjastoista. Osa tarpeellisiksi muodostuneista verkkokirjoista oli saatavilla ainoastaan yliopiston kirjastossa. Mielenkiintoisten artikkeleiden lähdeluetteloista poimittiin uusia hyviä lähteitä. Lähteiden valinnassa pyrittiin hyödyntämään mahdollisimman uutta tietoa, mutta menetelmäperiaatteen ja yleisen immunologian osalta käytettiin myös vanhempaa materiaalia. Tiedonhaussa löydetystä artikkelista lähes kaikki uudemmat artikkelit käsittelivät kvantitatiivisia testejä, joista inspiroituneena opinnäytetyön teoriaosioon otettiin mukaan myös ”Tulevaisuuden näkymät” -osion.

8.2 Kohderyhmä

Onnistuneen määrällisen tutkimuksen perusta on hyvin tehdyssä otannassa. Tutkimuksessa saatuja tuloksia on tavoitteena yleistää perusjoukkoon (Valli 2015, 21). Actim-pikatestit on kehitetty terveydenhuollon ammattilaisten käyttöön. Tämän opinnäytetyön tutkimuskohteeksi valittiinkin Actim-pikatestien asiakasryhmät Suomessa eli sairaalat, joissa terveydenhuollon ammattilaiset käyttävät Actim-pikatestejä. Tutkimuksen perusjoukkona toimivat Suomen terveydenhuollon ammattilaiset.

Otantamenetelmänä oli monivaiheinen ryväsotanta. Actim-organisaatiolla on asiakasrekisterissään sairaalat ja terveyskeskukset, joihin Actim-pikatestejä toimitetaan. Näistä sairaaloista valittiin ryväsotannalla tietyt sairaalat. Tutkimuslupa myönnettiin Helsingin ja Uudenmaan sairaanhoitopiirissä Nais-

tenklinikalle, Espoon sairaalaan ja Hyvinkään sairaalaan. Varsinainen otanta ja aineiston keruu tehtiin koko ”ryppään” osalta yhtä aikaa. Tutkimukseen pyrittiin saamaan mukaan isoja sairaaloita, joista tavoitettiin yhdellä kertaa useita koehenkilöitä. Näin säästettiin sekä ajallisia että logistisia resursseja. (Valli 2015, 27.) Tutkimuksen käytännön työn toteutukseen valittiin Actim PROM -pikatesti, jota käytetään lapsiveden ennenaikaisen vuotamisen diagnostiikassa ja joka on yksi myydyimmistä Actim pikatesteistä. Tutkimus osoitettiin valittujen sairaaloiden synnytyspoliklinikoille PROM-testin kliinisen käyttötarkoituksen vuoksi. Otoksoon toivottiin olevan sadan yksikön tuntumassa. Otoksoon suositellaan olevan vähintään sata, kun kohderyhmä on suppea ja tuloksia tarkastellaan kokonaistasona (Heikkilä 2014).

Tutkimuksen pääpaino oli Actim-pikatestejä käyttävissä asiakkaissa, mutta tutkimukseen toivottiin osallistuvan myös sellaisia henkilöitä, jotka eivät olleet käyttäneet Actim-pikatestejä aiemmin. Aineiston toivottiin sisältävän monipuolisesti eripituisia työkokemuksia omaavia ja eri ammattiryhmiin kuuluvia vastaajia. Aineistolta ei kuitenkaan vaadittu näitä ominaisuuksia, vaan sen annettiin muotoutua vapaasti.

8.3 Aineiston keruu

Tutkimusaineisto kerättiin kyselylomakkeella, joka sisälsi myös konkreettista diagnostisten pikatestittikkujen tulosten tulkintaa (Liite 1). Kyselylomake toteutettiin perinteisenä paperikyselynä. Lomakkeelle laadittiin strukturoituja, kartoittavia kysymyksiä, jotka koskivat pikatestitulosten tulkitsemisolosuhteita ja vastaajan taustaa. Kysymykset toimivat tutkimuksen selittävinä muuttujina, jolloin tutkittavaa ominaisuutta, pikatestien tuloksia, tarkasteltiin niiden suhteen. Lomakkeen kysymykset pyrittiin muotoilemaan yksiselitteisiksi ja kielellisesti oikein. Kysymykset ja vastausvaihtoehdot muutettiin vastaajalle henkilökohtaiseen muotoon, jolloin vastaaminen tuntui luonnollisemmalta ja henkilökohtaisemmalta. (Valli 2018, 95.)

Kyselylomakkeen kysymyksiin luotiin valmiit vastausvaihtoehdot kuviteltujen vastausten pohjalta. Tutkija pohti ennalta, millaisia koehenkilöiden vastaukset mahdollisesti olisivat. (Valli 2018, 113.) Valmiiden vastausvaihtoehtojen antamisella pyrittiin auttamaan vastaajaa vastauksen antamisessa. Vastausvaihtoehdot numeroitiin jo kysymysten rakenteluvaiheessa niin pitkälle kuin mahdollista, jolloin vastausten syöttäminen tilasto-ohjelmaan helpottui. (Valli 2015, 43.) Selkeyden vuoksi tulosten tulkintaa ei lähdetty numeroimaan, vaikka se olisi ollut teoreettisesti mahdollista. Lomakkeen suunnittelussa pyrittiin varmistamaan, että vastaajalle löytyi aina yksi sopiva vastausvaihtoehto. Valmiiden vastausvaihtoehtojen lisäksi lomakkeelle lisättiin avoin, ”muu, mikä?” vaihtoehto. (Valli 2018, 114.) Kyselylomakkeen pituuden yleisohje on, että vastaaminen saa kestää enintään 15 minuuttia (Valli 2018, 97). Tätä sääntöä noudatettiin ja tutkimukseen osallistumisen arvioitiin kestävän enintään 10 minuuttia kunkin osallistujan kohdalla.

8.4 Aineiston analyysi

Kysymysten suunnitteluvaiheessa oli huomioitava, millaisia analyysimenetelmiä erilaisten kysymysten yhteydessä voitiin käyttää. Kysymystyyppit sanelevat tilastollisten menetelmien mahdollisuudet (Kananen 2015, 83.) Tämän tutkimuksen kyselylomakkeen strukturoidut kysymykset olivat luokitteluasteikollisia muuttujia, lukuun ottamatta testien käytettävyyttä kuvaavaa Likert-asteikollista kysymystä.

Tässä tutkimuksessa käsiteltiin pääsääntöisesti kvalitatiivisia muuttujia, jolloin mittaustulos kertoi ainoastaan sen, mihin luokkaan tilastoyksikkö kuului. Kvalitatiiviset arvot ovat diskreettimuuttujia eli ne voivat saada vain yksittäisiä arvoja. (Nummenmaa, Holopainen ja Pulkkinen 2014, 18.)

Strukturoiduilla kysymyksillä pyrittiin selvittämään, onko taustaominaisuus, esimerkiksi valaistus, selittävä tekijä mitatun ominaisuuden eli pikatestitulosten tulkinnan kannalta. Tutkimuksen selittäviä muuttujia ovat ne, kumman suhteen vertailua tehdään eli kumman suhteen toista asiaa tarkastellaan (Valli 2015, 82). Kysymysten vastausvaihtoehdot koodattiin valmiiksi kokonaisluvuilla, jolloin kukin numero tarkoitti kuulamista tiettyyn luokkaan. Tällaisilla arvoilla ei voida tehdä sen suurempia matemaattisia toimenpiteitä. (Valli 2015a, 229.) Tästä syystä aineiston analyysimenetelmiksi valittiin ei-parametrisiä menetelmiä, jotka soveltuvat luokitteluasteikollisten muuttujien tulkintaan. Ei-parametristen menetelmien tueksi numeerisesta aineistosta laskettiin keskiarvoja ja keskihajontoja.

Aineiston analysoinnissa käytettiin ristiintaulukointia, jolla kuvattiin kahden muuttujan yhteyttä (Valli 2015, 83.) Tässä opinnäytetyössä ristiintaulukoinnilla tarkasteltiin tietyn testitikon numeerisen tuloksen tulkittua vastinetta (pos tai neg) kunkin ulkoisen muuttujan suhteen. Vertailtavat ryhmät eivät olleet samansuuruisia, joten ristiintaulukointi rakennettiin prosenttivertailun pohjalle (Valli 2015, 82). Tämän työn keskeisimmistä ristiintaulukoinneista laadittiin kuviot visualisoimaan tuloksia. Muut ristiintaulukoinnin tulokset ovat nähtävissä työn liitteenä (liite 6).

Tilastolliset merkitsevyydestaukset kertovat, millaisella varmuudella tiedot voidaan yleistää koskemaan perusjoukon jäseniä (Valli 2015, 103). Khiin neliö -testi on luokitteluasteikkoiselle muuttujalle soveltuva tilastollinen merkitsevyydestaus, joka liitetään usein ristiintaulukoinnin yhteyteen. (Valli 2015, 104.) Khiin neliö -testiä ei pystytty käyttämään tämän opinnäytetyön merkitsevyyden testaamiseksi. Aineisto ei täyttänyt Khiin neliö -testin edellytyksiä, sillä alle viiden suuruisia frekvenssejä oli liikaa. Tuloksia pyrittiin havainnollistamaan taulukoiden ja kuvioiden avulla (Valli 2015, 75).

8.5 Testitikkujen valmistus

Opinnäytetyöhön valittiin Actim PROM -varastoerästä sattumanvaraisesti pikatestitikkuja, jotka oli valmistettu Joensuun tuotantolaitoksella voimassa olevien valmistusohjeiden mukaisesti. Varastoerä oli testattu ja hyväksytty ohjeistuksen mukaisesti. Testitikkuja testattiin kahtena päivänä erivahvuksilla kontrolleilla. Ensimmäinen tikkuerä testattiin PROM In-House -kontrolleilla 25 µg/l ja 100 µg/l, joista valmistettiin konsentraatiot 2, 5, 12,5, 25 ja 100 µg/l. 0-tason testaamiseen käytettiin Specimen Extraction Solution-puskuria. Toinen tikkuerä testattiin konsentraatioilla 5, 7,5 ja 10 µg/l, jotka laimennettiin PROM in-House 25 µg/l kontrollista. Kontrollit valmistettiin ja testitikut testattiin voimassa olevan testausohjeen mukaisesti (Testausohje PROM Dipstick 2019). Jokaista kontrollipitoisuutta testattiin kolmella pikatestitikulla. Testitikkujen valmistuksessa noudatettiin hyviä laboratoriokäytänteitä, tarkkaa dokumentointia sekä yleisiä organisaation ohjeistuksia. Käytännön työtä ohjasivat Joensuun tuotantolaitoksen laadunvarmistuspäällikkö sekä laadunvalvonnan laborantti. Kokenut, päivittäin pikatestituloksia tulkitseva laborantti, tulkitsi tulokset PROM-testin lukuajan mukaisesti viiden minuutin jälkeen. Pikatestitulokset tulkittiin Actim-organisaation sisäisen ohjeistuksen mukaan siten, että testiviivojen vahvuuksia verrattiin Pikatestien värikarttaan (Liite 5). Testiviivojen värin intensiteettiä arvioitiin Actim organisaation sisäisen ohjeistuksen mukaisesti numeerisesti asteikolla 0-

4. Tulokset hyväksyttiin "Testausohje PROM Dipstick" hyväksymisrajojen mukaisesti. Kaikki testitikut täyttivät laatuvaatimukset.

Tämän jälkeen, normaalista käytännöstä poiketen, tikkujen annettiin kuivua. Tikut vietiin pöydälle kuivumaan vuorokauden ajaksi olosuhdehuoneeseen, jonka lämpötila (18-24 °C) ja kosteusprosentti (< 20 %) ovat kontrolloidut. Tikkujen annettiin kuivua, sillä tutkimuksen kannalta oleellista oli, että jokaisella tutkimukseen osallistuvalla henkilöllä oli tulkittavanaan samat testitikut ja samanvahvuiset testiviivat. Kuivuneiden testitikkujen tulokset poikkeavat virallisen tulkinta-ajankohdan, 5 minuutin jälkeen tulkituista tuloksista, sillä testiviivan värin intensiteetti kasvaa ajan kuluessa. Tämän vuoksi organisaation yleisiä hyväksymisrajoja ei voitu käyttää enää testitikkujen kuivuttua.

Vuorokauden kuluttua, kun pikatestitikut olivat kuivuneet, organisaation kokenut laborantti tulkitsi testitikkujen testiviivojen vahvuudet uudelleen pikatestiviivojen värikarttaa apuna käyttäen. Tulokset kirjattiin testauspöytäkirjaan. Tämän jälkeen tulokset määritettiin vielä organisaation omalla pikatestien lukulaitteella, Actim 1ngeni -readerilla. Jokainen testitikki testattiin kolme kertaa Actim 1ngeni -laitteella tuloksen toistettavuuden varmistamiseksi. 1ngeni-laitteen antamia Peak-arvoja käytettiin apuna, mutta lopullinen valinta työhön päätyvien testitikkujen osalta tehtiin visuaalisen tulkinnan perusteella (taulukko 1). Ensimmäisenä päivänä valmistettujen testitikkujen kuivuttua testiviivojen intensiteetti oli muuttunut niin, että numeerista tasoa 2 ei saatu yhteenkään tikkuun. Tämän vuoksi valmistettiin lisää testitikkuja matalammilla konsentraatiopitoisuuksilla, jolloin taso 2 saatiin toteutettua onnistuneesti. Valmiit testitikut sisälsivät erivahvuisia viivoja numeerisilla tasoilla 0-4. Testitikkujen valmistukseen käytetyt pöytäkirjat on raportoitu opinnäytetyön liitteisiin validointiraportin yhteydessä (liite 3). Sisäiseen validointiin käytetyt testitikut valmistettiin tammikuussa 2020.

Opinnäytetyöprosessi venyi pandemian vaikutuksesta eikä sisäiseen validointiin käytettyjä testitikkuja voitu enää käyttää asiakkaiden suorittamassa tulosten tulkinnassa. Asiakkaiden tulosten tulkintaa varten testitikut valmistettiin syyskuussa 2020 edellä kuvatun käytännön mukaisesti (taulukko 2). Asiakkaiden suorittamaan tulkintaan valmistetuista testitikuista arvioitiin testiviivojen vahvuus visuaalisesti ja 1ngenilla myös asiakkaiden tekemän tulkinnan jälkeen. Näin pystyttiin todentamaan, että tulostaso testitikuissa säilyi samana prosessin alusta loppuun (taulukko 9).

TAULUKKO 1. Validointiin valittujen kuivatettujen testitikkujen numeeriset tulokset, valmistuskonsentraatiot ja Peak-arvot.

Tulos 0-4	C (µg/l)	Peak-arvo 1x	Peak-arvo 2x	Peak-arvo 3x	Peak Ka	Peak S	Tikun nro
0	0	57	38	38	44,3	11,0	6.
0	0	48	48	38	44,7	5,8	9.
1	5	458	439	457	451,3	10,7	2.
1	5	440	389	399	409,3	27,0	10.
1	5	389	399	389	392,3	5,8	13.
2	7,5	614	635	625	624,7	10,5	1.
2	7,5	653	653	674	660,0	12,1	4.
2	10	664	660	660	661,3	2,3	11.
3	12,5	1031	1041	1031	1034,3	5,8	5.
3	12,5	882	891	920	897,7	19,9	7.
3	12,5	1039	1039	1039	1039,0	0,0	12.
4	100	2950	2941	2941	2944,0	5,2	3.
4	100	3539	3549	3548	3545,3	5,5	8.
4	100	2744	2743	2754	2747,0	6,1	14.

Taulukoissa 1 ja 2 esitetään kontrollipitoisuudet, joilla saatiin numeeriset tulokset (0-4) testitikkujen kuivuttua. Peak-arvot määritettiin Actim 1ngeni -laitteella kolme kertaa kustakin testitikusta. Jokaiselle testitikulle laskettiin Peak-arvojen keskiarvo ja keskihajonta. Peak-arvot mitattiin lisätiedon saamiseksi eikä niille asetettu hyväksymiskriteereitä. Testitikkujen valinta suoritettiin visuaalisen tulkinnan perusteella. Testitikut valmistettiin pienimmästä pitoisuudesta suurimpaan ja numeroitiin sattumanvaraisesti (1-14) tulosten varmistuttua. Kaikki testitikut täyttivät hyväksymisvaatimukset viiden minuutin tulosten tulkinnan jälkeen.

TAULUKKO 2. Asiakkaiden suorittamaan tulkintaan valittujen kuivatettujen testitikkujen numeeriset tulokset, valmistuskonsentraatiot ja Peak-arvot.

Tulos 0-4	C (µg/l)	Peak-arvo 1x	Peak-arvo 2x	Peak-arvo 3x	Peak Ka	Peak S	Tikun nro
0	0	68	78	78	74,7	5,8	3.
0	0	69	58	49	58,7	10,0	9.
1	4	332	332	341	335,0	5,2	5.
1	4	323	343	342	336,0	11,3	6.
1	4	361	361	361	361,0	0,0	12.
2	7,5	879	879	880	879,3	0,6	2.
2	7,5	704	723	714	713,7	9,5	8.
2	7,5	724	714	714	717,3	5,8	10.
2	7,5	636	637	627	633,3	5,5	14.
3	25	1632	1642	1642	1638,7	5,8	4.
3	25	1750	1779	1740	1756,3	20,3	7.
3	25	1501	1492	1502	1498,3	5,5	13.
4	100	3198	3208	3216	3207,3	9,0	1.
4	100	3187	3196	3196	3193,0	5,2	11.

Taulukoista nähdään, että sisäiseen validointiin ja asiakkaiden tulkintaan valmistettujen testitikkujen konsentraatiot poikkesivat hieman toisistaan numeeristen tulosten 1, 2 ja 3 kohdalla.

8.6 Sisäinen validointi

Validoinnilla tarkoitetaan prosessia, jossa todetaan tutkimus- tai valmistusmenetelmä oikeaksi ja määrätyt vaatimukset täyttäväksi (Duodecim 2020). Actim organisaation sisäinen validointi ”Pikatestiivijoen tulkinta” oli testimenetelmän validointi. Validoinnin tarkoituksena oli osoittaa, että pikatestiivijoen tulkitseminen ohjeen Pikatestiivijoen värikartta liitettä apuna käyttäen (liite 5) tapahtuu samalla tavalla testaajasta riippumatta (Pikatestiivijoen tulkinta 2019).

Opinnäytetyötä varten valmistetuilla ensimmäisen erän pikatestitikuilla validoitiin organisaation sisäinen pikatestiivijoen tulkinta. Validointia varten laadittiin validointisuunnitelma, jonka organisaation laatujärjestelmäpäällikkö sekä laadunvarmistuspäällikkö hyväksyivät. Kaikki työntekijät, jotka tulkitsevat pikatestien tuloksia työssään, osallistuivat validointiin tulkitsemalla tikkujen tulokset edellä kuvattujen ohjeistusten mukaisesti. Joensuun tuotantolaitoksella validointiin osallistui neljä henkilöä ja Espoossa neljä henkilöä. Sisäisen validoinnin yhteydessä testattiin myös tämän opinnäytetyön kyselylomake. Sisäisen validoinnin tulokset esitetään taulukossa 3.

TAULUKKO 3. Pikatestitikkujen tuloksia työssään tulkitsevien henkilöiden (T1-T8) saamat numeeriset tulokset testitikuista (1-14)

Testi- tikku	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	Kontr.
QC															
Tulos	2	1	4	2	3	0	3	4	0	1	2	3	1	4	4
T1	2	1	4	2	3	0	3	4	0	1	2	3	1	4	4
T2	2	1	4	2	3	0	3	4	0	1	2	3	1	4	4
T3	2	1	4	2	3	0	2	4	0	1	2	3	1	4	4
T4	2	1	4	2	3	0	2	4	0	1	2	2	1	4	4
T5	2	1	4	2	3	0	3	4	0	1	2	3	1	4	4
T6	2	1	4	2	3	0	3	4	0	1	2	3	1	4	4
T7	2	1	4	2	3	0	3	4	0	1	2	3	1	4	4
T8	2	1	4	2	3	0	2	4	0	1	2	3	1	4	4
Min	2	1	4	2	3	0	2	4	0	1	2	2	1	4	4
Max	2	1	4	2	3	0	3	4	0	1	2	3	1	4	4
Ka	2	1	4	2	3	0	2,6	4	0	1	2	2,9	1	4	4
S	0	0	0	0	0	0	0,5	0	0	0	0	0,4	0	0	0

Yläriin QC-tulos kuvaa Actim Oy:n kokeneen laborantin tulkitsemat pikatestitikkujen tulokset ennen validointia. Sisäisen validoinnin tuloksia verrattiin QC-tulokseen. Tuloksista määritettiin minimi, maksimi, keskiarvo ja keskihajonta.

Actim-organisaation sisäisessä validoinnissa kaikkien kahdeksan osallistujan pikatestiviivojen tulkitseminen sujui yhtenäisesti. Testitikulle 7 viisi tulkitsejää antoi tuloksen 3 ja kolme tuloksen 2 (numeerinen taso 3). Testitikulle 12 yksi tulkitsejä antoi tuloksen 2 ja seitsemän muuta tuloksen 3 (numeerinen taso 3). Tulokset 2- ja 3 ovat tulosten tulkinnan kannalta positiivisia tuloksia. Muut tulokset olivat täysin yhtenevät. Kaikki osallistajat tulkittivat kontrolliviivan jokaisessa testitikussa numeeriselle tasolle 4.

Validointisuunnitelmassa esitetyt hyväksyntävaatimukset täyttyivät. Testaus hyväksyttiin, kun lukijoiden välillä ei ollut merkittäviä eroja (≤ 1) tulosten tulkinnassa samalla kontrollipitoisuudella. Lisäksi kaikki lukijat tulkittivat positiiviset tulokset positiiviseksi ja negatiiviset negatiiviseksi. Opinnäytetyöhön liittyvä kyselylomake todettiin sisäisessä validoinnissa työhön soveltuvaksi. Validointiraportti Pikatestiviivojen tulkinta löytyy tämän opinnäytetyön liitteistä (liite 4).

8.7 Asiakkaiden suorittama tulosten tulkinta

Tutkimusluvan varmistuttua tutkija otti yhteyttä ennalta valittujen yksiköiden osastonhoitajiin. Osastonhoitajien kanssa sovittiin tutkimuksen suorittamisen ajankohta, ja pyydettiin heitä välittämään

osaston henkilökunnalle tutkimuksen kyselylomake (liite 1), saatekirje (liite 2) ja tietosuojailmoitus. Tutkimus toteutettiin Hyvinkään sairaalassa, Naistenklinikalla ja Jorvin sairaalassa.

Tutkija oli paikalla sovittuina ajankohtina pikatestitikut mukanaan. Tutkimukseen osallistuneet henkilöt, yhteensä 77 osallistujaa, saivat paperisen kyselylomakkeen (Liite 1), johon tulosten tulkinnat kirjattiin anonyymisti. Lomakkeen kysymykset käsittelivät henkilön taustaa, kuten ammattia ja työkokemusta sekä tulkitsemisolosuhteita, kuten käytettyä valaistusta ja tulosten tulkinnan kellonaikaa. Lomakkeessa annettiin tutkimustulosten tulkinnan ohjeistukseksi Actim PROM -käyttöohjeessa kuvattu malli: kaksi sinistä viivaa kuvaa positiivista tulosta ja yksi sininen viiva negatiivista tulosta. Tutkimuksen kannalta oleellista oli, että tutkimukseen osallistuneet henkilöt tulkitsivat täsmälleen samat pikatestitikut ja jokainen tutkimukseen osallistunut henkilö tulkitsi tulokset itsenäisesti, melko nopeasti ja yhtäjaksoisesti.

Kun tutkimukseen osallistuneet asiakkaat olivat tulkinneet tulokset, pikatestit toimitettiin Joensuun tuotantolaitokselle, jossa testitikkujen tulokset mitattiin vielä kertaalleen Actim 1ngeni -readerilla ja tulkittiin uudelleen visuaalisesti. Näin varmistettiin, että testitulokset olivat säilyneet samana koko tutkimuksen ajan.



Kuva 5. Käytännön työn eteneminen

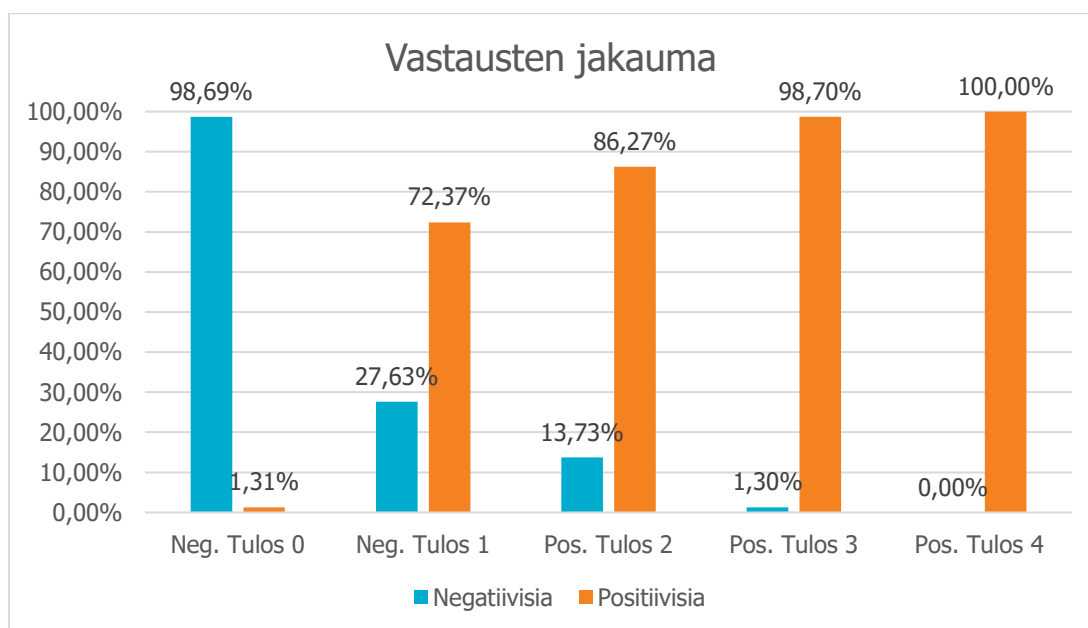
9 ASIAKKAIDEN TULKITSEMAT TULOKSET

Asiakkaiden suorittaman tulosten tulkinnan tarkoituksena oli selvittää, kuinka yhtenäisesti testitikkujen tuloksia tulkitaan Actim-pikatestien todellisessa käyttöympäristössä ja vaikuttavatko jotkin ulkoiset tekijät tulosten tulkintaan. Tulosten tulkintaan osallistui 77 (n=77) henkilöä, joista 88% oli kätilöitä (n=68), 7% lääkäreitä (n=4) ja 5% opiskelijoita (n=5). Taulukossa 4 esitetään positiiviseksi/negatiiviseksi tulkittujen tulosten vastausten jakauma kullekin testitikulle (1-14).

TAULUKKO 4. Negatiivisten ja positiivisten vastausten jakauma testitikuille 1-14

Tikku	Kval. Tulos	Num. tulos	Neg.vastaus (n)	Pos.vastaus (n)	Neg.%	Pos%
Tikku3	neg	0	76	0	100,00 %	0,00 %
Tikku 9	neg	0	75	2	97,40 %	2,60 %
Tikku5	neg	1	22	54	28,95 %	71,05 %
Tikku6	neg	1	21	55	27,63 %	72,37 %
Tikku12	neg	1	20	56	26,32 %	73,68 %
Tikku2	pos	2	8	69	10,39 %	89,61 %
Tikku 8	pos	2	11	65	14,47 %	85,53 %
Tikku10	pos	2	12	65	15,58 %	84,42 %
Tikku14	pos	2	11	65	14,47 %	85,53 %
Tikku4	pos	3	1	76	1,30 %	98,70 %
Tikku7	pos	3	0	77	0,00 %	100,00%
Tikku13	pos	3	2	75	2,60 %	97,40 %
Tikku 1	pos	4	0	77	0,00 %	100,00%
Tikku11	pos	4	0	77	0,00 %	100,00%

Testitikut on järjestetty numeerisen tuloksen perusteella niin, että samantasoisien tulosten antaneet testitikut ovat peräkkäin (Num. tulos 0-4). Numeerisen tuloksen tulkinnallinen tulos määräytyy Actim-organisaation sisäisen ohjeistuksen mukaan, jossa numeerisen tuloksen 0-1 vastine tulosten tulkintapuolella on negatiivinen tulos ja numeerisen tuloksen 2-4 vastine positiivinen tulos. Negatiivisten ja positiivisten tulosten määrä kullekin testitikulle esitetään sekä lukumääränä (n) että prosentuaalisesti. Työhön osallistui 77 vastaajaa (n=77), joten jokaiselle testitikulle tulisi olla 77 vastausta. Yksittäisiä kohtia oli jätetty kyselylomakkeilla tyhjiksi, joten tikussa 3, 5, 6, 12 ja 8 n = 76.



KUVA 6. Numeeristen tulosten (0-4) perusteella luokiteltujen testitikkujen vastausten jakauma

Kuvassa 6 testitikut on luokiteltu viiteen ryhmään numeerisen tuloksen perusteella (0-4). Vastausten jakauma osoitetaan prosentuaalisesti pylväsdiagrammeihin. Oranssit pylväät kuvaavat positiivisten vastausten lukumäärää ja siniset pylväät negatiivisten vastausten lukumäärää kussakin luokassa (0-4). Taulukosta 1. ja Kuviossa 2. nähdään, että vastausten epätasaista jakautumista esiintyy lähinnä testitikuissa, jotka antavat numeerisen tuloksen 1- ja 2. Numeerisen tuloksen 1 testitikuista, 27,63% vastauksista oli negatiivisia ($n=63$) ja 72,37% ($n=165$) positiivisia. Numeerisen tuloksen 2 testitikuista, 13,73% ($n=42$) vastauksista oli negatiivisia ja 86,27% ($n=264$) positiivisia. Numeerisen tuloksen 3 ja 4 antavat testitulokset olivat lähes 100 prosenttisesti positiivisia, samoin kuin numeerisen tuloksen 0 antavat testitulokset negatiivisia. Yksittäiset eriävät tulokset näissä ryhmissä (Numeerinen tulos 0 ja 4) johtuvat todennäköisesti kyselylomakkeen täyttämisen yhteydessä syntyneistä kirjausvirheistä.

9.1 Ulkoisten tekijöiden vaikutus

Ulkoisten tekijöiden vaikutusta tulosten tulkintaan tarkasteltiin numeerisen tuloksen 1 ja numeerisen tuloksen 2 testitikuissa, sillä näiden testitikkujen tulosten tulkinnassa oli eroavaisuuksia. Kyselylomakkeen monivalintakysymyksillä kartoitettiin tulosten tulkintaan mahdollisesti vaikuttavia ulkoisia tekijöitä. Kysymykset vastausvaihtoehdoineen on koottu taulukkoon 5.

TAULUKKO 5. Kyselylomakkeen monivalintakysymysten numeerisesti koodatut vastausvaihtoehdot

	1	2	3	4	5
Koulutus	Lääkäri	Kätilö	Sairaanhoidaja	Bioanalyttikko	Opiskelija
Työkokemus	0-2 vuotta	2-5 vuotta	5-10 vuotta	>10 vuotta	-
Valaistus	Luonnon- valo	Kattovalaisin	Kohdevalaisin	Muu, mikä?	-
Ajankohta	Aamu (klo 7-9)	Aamupäivä (klo 9-12)	Iltapäivä (klo 12-16)	Iltana (klo 16->)	-
Käyttökokemus	Kyllä	En	-	-	-
Tulkinnan Haastavuus	haastava	helppo

Kyselylomakkeen numeroin koodatuista vastauksista laskettiin keskiarvot numeerisen tuloksen 1 ja numeerisen tuloksen 2 testitikuille. Nämä ryhmät jaettiin vielä kahteen positiivisten ja negatiivisten vastausten perusteella. Keskiarvoja vertailemalla pyrittiin selvittämään tulosten tulkintaan mahdollisesti vaikuttavia tekijöitä ja arvioimaan, oliko joillain taustatekijöillä selkeästi vaikutusta tulosten tulkintaan.

Ristiintaulukointi suoritettiin kaikille kyselylomakkeen kysymyksille. Työn tulosten tarkasteluun valittiin ne ristiintaulukoinnit, joissa erot olivat näkyvimpiä. Muut ristiintaulukoinnin tulokset ovat opinnäytetyön liitteenä (liite 6).

9.2 Numeerinen tulos 1

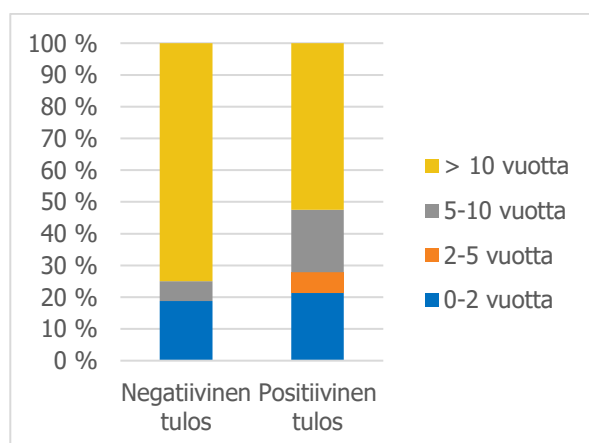
Numeerisen tuloksen 1 testitikuista 27,63 % (n=63) tulkittiin negatiiviseksi ja 72,37% (n=165) positiiviseksi. Numeerisen tuloksen 1 testitikuja oli tulkittavana 3 ja työhön osallistui 77 osallistujaa, joten vastausten n-määrä laskennallisesti olisi 231. Vastauksia saatiin yhteensä 228. Tulosten perusteella aineisto jaettiin kahteen ryhmään, negatiivisiin ja positiivisiin vastauksiin. Näille ryhmille laskettiin kyselylomakkeen numeerisesti koodatuista monivalintavastauksista keskiarvot. (taulukko 6.)

TAULUKKO 6. Kyselylomakkeen vastausten keskiarvot. Ulkoisia tekijöitä arvioivien vastausten keskiarvo laskettuna numeerisen tuloksen 1 positiiviseksi tulkinneiden ja negatiiviseksi tulkinneiden osallistujien vastauksista

Taustatekijä	Negatiivinen vastaus (n=26)	Positiivinen vastaus (n=61)
Koulutus	1,67	1,99
Työkokemus	2,83	2,71
Valaistus	1,37	1,77
Ajankohta	2,29	2,09
Käyttökokemus	0,85	0,95
Tulkinnan haastavuus	2,80	4,01

Positiiviseksi tuloksen tulkinneet henkilöt kokivat tulosten tulkinnan helpommaksi kuin henkilöt, jotka tulkitsivat tuloksen negatiiviseksi. Positiivisen vastauksen antaneilla myös valaistuksen keskiarvo oli hieman korkeampi. Sen sijaan työkokemus ja ajankohta olivat keskiarvoillisesti korkeampia henkilöillä, jotka tulkitsivat numeerisen tuloksen 1 negatiiviseksi.

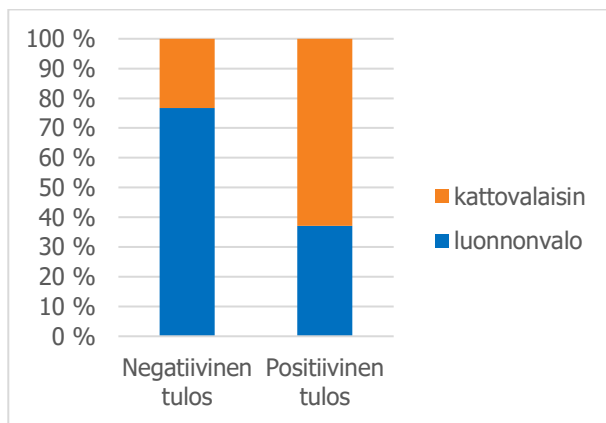
	0-2 vuotta	2-5 vuotta	5-10 vuotta	> 10 vuotta	Yhteensä
Negatiivinen tulos	19 %	0 %	6 %	75 %	100 %
Positiivinen tulos	21 %	7 %	20 %	52 %	100 %
Vastaukset yhteensä	21 %	5 %	17 %	57 %	100 %
n	16	4	13	44	



KUVA 7. Työkokemuksen vaikutus numeerisen tuloksen 1 tulkintaan

Kuvassa 7 nähdään, että yli 10 vuoden työkokemuksen omaavista henkilöistä (n=44) 75 % tulkitsi numeerisen tuloksen 1 antavan testiviivan tuloksen negatiiviseksi.

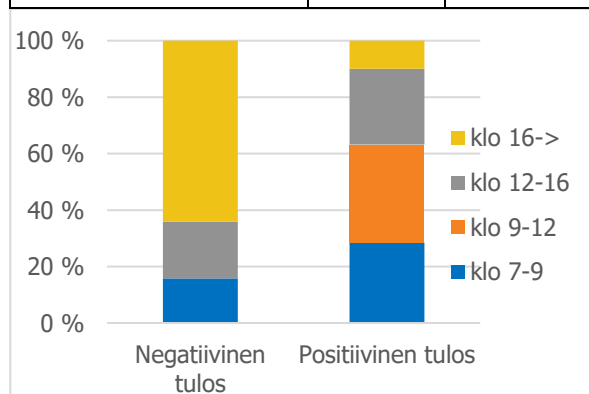
	luonnonvalo	kattovalaisin	Yhteensä
Negatiivinen tulos	50 %	15 %	20 %
Positiivinen tulos	50 %	85 %	80 %
Vastaukset yhteensä	100 %	100 %	100 %
N	10	66	



KUVA 8. Valaistuksen vaikutus numeerisen tuloksen 1 tulkintaan

Kuvassa 8 nähdään, että kattovalaisinta käyttäneistä osallistujista (n=66) 85% on tulkinut numeerisen tuloksen 1 antavan testiivian tuloksen positiiviseksi.

	klo 7-9	klo 9-12	klo 12-16	klo 16 ->	Yhteensä
Negatiivinen tulos	18 %	0 %	22 %	71 %	21 %
Positiivinen tulos	82 %	100 %	78 %	29 %	79 %
Yhteensä	100 %	100 %	100 %	100 %	100 %
n	17	17	36	7	



KUVA 9. Ajankohdan vaikutus numeerisen tuloksen 1 tulkintaan

Kuvassa 9 nähdään, että 71% vastaajista, jotka tulkitsivat testitikkuja iltapäivällä kello 16 jälkeen (n=7), tulkitsivat numeerisen tuloksen 1 antavan testiivian tuloksen negatiiviseksi. 82% vastaajista, jotka tulkitsivat testitikkuja aamulla kello 7-9 välillä (n=17), tulkitsivat numeerisen tuloksen 1 antavan testiivian tuloksen positiiviseksi.

9.3 Numeerinen tulos 2

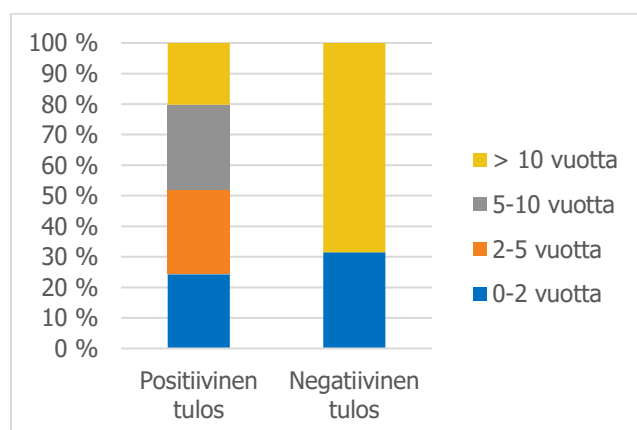
Numeerisen tuloksen 2 testitikuista 13,73 % (n=42) tulkittiin negatiiviseksi ja 86,27% (n=264) positiiviseksi. Numeerisen tuloksen 2 testitikkuja oli tulkittavana 4 ja työhön osallistui 77 osallistujaa, joten vastausten n-määrä laskennallisesti olisi 308. Vastauksia saatiin yhteensä 306. Tulosten perusteella aineisto jaettiin kahteen ryhmään, negatiivisiin ja positiivisiin vastauksiin. Näille ryhmille laskettiin kyselylomakkeen numeerisesti koodatuista monivalintavastauksista keskiarvot. (taulukko 7.)

TAULUKKO 7. Ulkoisia tekijöitä arvioivien vastausten keskiarvo laskettuna numeerisen tuloksen 2 positiiviseksi tulkinneiden ja negatiiviseksi tulkinneiden osallistujien vastauksista

Taustatekijä	Negatiivinen vastaus (n=15)	Positiivinen vastaus (n=69)
Koulutus	1,52	2,09
Työkokemus	2,82	2,91
Valaistus	1,27	1,83
Ajankohta	2,00	2,29
Käyttökokemus	0,83	0,99
Tulkinnan haastavuus	2,88	4,08

Positiiviseksi tuloksen tulkinneet asiakkaat kokivat tulosten tulkinnan helpommaksi kuin henkilöt, jotka tulkitsevat tuloksen negatiiviseksi. Positiivisen vastauksen antaneilla myös valaistuksen, työkokemuksen ja ajankohdan keskiarvo oli hieman korkeampi.

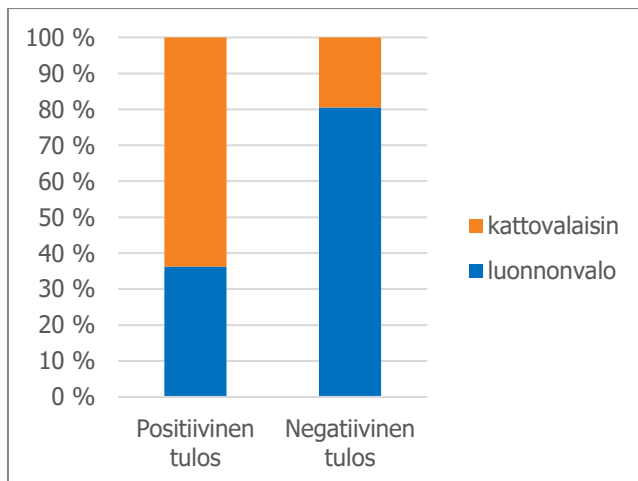
	0-2 vuotta	2-5 vuotta	5-10 vuotta	> 10 vuotta	Yhteensä
Positiivinen tulos	88 %	100 %	100 %	73 %	82 %
Negatiivinen tulos	13 %	0 %	0 %	27 %	18 %
Yhteensä	100 %	100 %	100 %	100 %	100 %
n	16	4	13	44	77



KUVA 10. Työkokemuksen vaikutus numeerisen tuloksen 2 tulkintaan

Kuvassa 10 nähdään, että testiviivan tuloksen negatiiviseksi tulkinneilla henkilöillä oli alle 2 tai yli 10 vuoden työkokemus.

	luonnonvalo	kattovalaisin	Yhteensä
Positiivinen tulos	50 %	88 %	82 %
Negatiivinen tulos	50 %	12 %	18 %
Vastaukset yhteensä	100 %	100 %	100 %
N	10	66	76



KUVA 11. Valaistuksen vaikutus numeerisen tuloksen 2 tulkintaan

Kuvassa 11 nähdään, että kattovalaisinta käyttäneistä osallistujista (n=66) 88% on tulkinnut numeerisen tuloksen 2 antavan testiviivan tuloksen positiiviseksi.

TAULUKKO 8. Ajankohdan vaikutus numeerisen tuloksen 2 tulkintaan

	klo 7-9	klo 9-12	klo 12-16	klo 16 ->	Yhteensä
Positiivinen tulos	82 %	100 %	75 %	71 %	82 %
Negatiivinen tulos	18 %	0 %	25 %	29 %	18 %
Yhteensä	100 %	100 %	100 %	100 %	100 %
n	17	17	36	7	77

Taulukossa 8 nähdään, että prosentuaalisesti eniten numeerisen tuloksen 2 antavan testiviivan tuloksia tulkittiin negatiiviseksi iltapäivällä klo 16 jälkeen. 29% vastaajista (n=7) tulkitse numeerisen tuloksen 2 antavan testiviivan tuloksen negatiiviseksi

9.4 Vapaat kommentit ja keskusteluista poimittua

Kyselylomakkeen "Vapaa kommentti" osiosta nousi esille muutamia toistuvia teemoja Actim PROM -pikatestin käytöstä. Yleisimmin esiintyvä kommentti koski nimenomaan heikon tai himmeän testiviivan tulokinnan haastavuutta. Tulosten tulkinnessa oli selkeästi kaksi koulukuntaa, joista yleisemmin

toistui ajatus siitä, että heikkokin viiva on positiivinen tulos. Toinen koulukunta noudatti tulosten tulkinnassa suoraviivaista linjaa, jossa tuloksen ajateltiin olevan selkeästi negatiivinen tai positiivinen. Positiiviseksi tulos tulkittiin vasta sitten, kun testiviiva näkyi niin selvästi, että tuloksesta ei jäänyt epäselvyyttä. Avoimissa kommentteissa pohdittiin myös verisen näytteen vaikutusta tuloksiin. Käyttäjien kokemus oli, että verinen näyte vaikuttaa testitulokseen. Muutamissa kommentteissa ihmeteltiin myös tilanteita, joissa lapsivedenmeno oli kliinisesti selkeä, mutta PROM-testi antoi negatiivisen tuloksen. Kaiken kaikkiaan testi koettiin helppokäyttöiseksi, nopeaksi ja melko luotettavaksi.

Kyselylomakkeen täytön yhteydessä keskusteltiin myös muista testitulokseen mahdollisesti vaikuttavista tekijöistä. Tutkija tiedusteli satunnaisesti muutamilta osallistujilta, kuinka tarkasti he toteuttavat viiden minuutin luku-aikaa. Yksikään vastaajista ei kellottanut luku-aikaa, vaan ajanoton kerrottiin olevan hyvin suurpiirteistä. Selvät positiiviset testitulokset tulkittiin heti ja negatiiviset testitulokset vaihtelevasti noin viiden minuutin kuluttua. Käyttäjät kertoivat välillä myös kuljettavansa testitikkuja toisten tulkittaviksi, jolloin aikaa varsinaisesta lukuajasta on todennäköisesti kulunut jo reilusti.

9.5 Tulosten yhteenveto

Tässä opinnäytetyössä pyrittiin vastaamaan seuraavanlaisiin tutkimuskysymyksiin: kuinka yhtenäisesti käyttäjät tulkitsevat Actim pikatestien tuloksia? Ja millaiset tekijät vaikuttavat Actim pikatestien tulosten tulkintaan? Vastaajista 74 % (n=57) antoi sekä numeeriselle tulokselle 1 että numeeriselle tulokselle 2 saman vastauksen. Näistä 86 % (n=49) tulkitsi sekä numeerisen tuloksen 1- että 2- vahvuiset testiviivat positiivisiksi tuloksiksi ja 14 % (n=8) tulkitsi sekä 1- että 2- vahvuiset testiviivat negatiivisiksi tuloksiksi. Tuloksista nähtiin, että asiakkaat tulkitsevat pääsääntöisesti heikonkin viivan positiiviseksi. 5,19 % osallistujista (n=4) tulkitsi kaikkien neljäntoista testitikon tulokset Actim-organisaatiossa määritettyjä tuloksia vastaaviksi.

Tulosten perusteella todettiin, että käyttäjät tulkitsivat selkeästi positiiviset tulokset (numeeriset tulokset 3 ja 4) ja täysin negatiiviset tulokset (numeerinen tulos 0) yhtenäisesti. Lateral flow-immunomäärityksen harmaalla alueella sijaitsevan tuloksen (numeerinen tulos 1) ja detektorajalla sijaitsevan tuloksen (numeerinen tulos 2) tulkinnoissa oli eroavaisuuksia. Detektorajan numeerisen tuloksen 2, tulkitsivat negatiiviseksi henkilöt, joilla oli vähän (0-2 vuotta) tai paljon (>10 vuotta) työkokemusta. Henkilöt, joilla oli työkokemusta 2-10 vuotta tulkitsivat numeerisen tuloksen 2 positiiviseksi.

Eryteisesti henkilöt, joilla oli yli kymmenen vuotta työkokemusta, tulkitsivat heikot testiviivat (numeeriset tulokset 1 ja 2) useimmiten negatiivisiksi. Tätä tulosta voi selittää olettamus siitä, että pidemmän työuran tehneet henkilöt ovat iäkkäämpiä, jolloin näkökyky voi olla heikompi. Negatiivisia tuloksia tulkittiin enemmän iltapäivällä, jolloin silmät ovat rasittuneemmat. Numeeriset viivat 1 ja 2 tulkittiin useammin positiiviseksi silloin, kun käytössä oli luonnonvalon lisäksi kattovalaisin. Paremmassa valaistuksessa heikotkin testiviivat havaitaan herkemmin. Ulkoisten tekijöiden vertailussa tehdyt ristiintaulukoinnit ja kysymyslomakkeen vastausten laskennalliset keskiarvot antavat viitteitä siitä, että visuaaliseen tulosten tulkintaan vaikuttavat yleisesti näkökykyyn vaikuttavat tekijät.

Muissa ulkoisissa muuttujissa ei havaittu johdonmukaisuutta ristiintaulukoinnissa eikä selkeitä eroja keskiarvoissa. Muuttujien ristiintaulukoinnit ovat nähtävissä työn liitteessä 6 (liite 6).

10 POHDINTA

Tämä opinnäytetyöprosessi oli kokonaisuudessaan laaja ja pitkäkestoinen. Opinnäytetyön suunnitelma hyväksyttiin tammikuussa 2020 ja alkuperäisen aikataulun mukaan työn piti valmistua maaliskuussa 2020. Vallitseva pandemia vaikutti kuitenkin työn kulkuun, kun vierailijakielto esti tutkimuksen toteuttamisen sairaaloissa. Keväälle 2020 haettu tutkimuslupa vanheni ja uusi lupa myönnettiin syyskuussa 2020. Opinnäytetyön tutkimus toteutettiin lokakuussa ja opinnäytetyö sai lopullisen päätöksensä marraskuussa 2020.

10.1 Opinnäytetyö prosessina

Opinnäytetyön teoriaosio rakentui pääosin syksyn 2019 ja alkuvuoden 2020 aikana. Teoriaosan rakenne ja rajaus osoittautui oletettua haasteellisemmaksi. Opinnäytetyön aihe oli tutkijalle verrattain uusi prosessin alkaessa. Aihetta koskeva kirjallisuus on kirjoitettu pääsääntöisesti englanniksi eikä käsitteille löydy aina suomenkielisiä vastineita (mm. lateral flow immunoassay, conjugate pad). Terminologian ollessa uutta myös lähteisiin tutustuminen ja englanninkielisen tekstin lukeminen vei ajateltua enemmän aikaa, mutta kehittyi huomattavasti opinnäytetyöprosessin aikana. Lopulta työhön löytyi toimiva runko, jossa teoriaa käsitellään laajoista aihealueista kohti Actim-diagnostisia pikatestejä ja niiden yksityiskohtia. Immunologian ja immunokemiallisten menetelmien laajan kentän ja käsitteiden kirjon vuoksi, teoriaosassa pyrittiin selkeisiin rajauksiin, jotta työn punainen lanka säilyisi katkeamattomana. Lähdemateriaaleihin perehtyessä, tutkija havahtui siihen, että pikatestitikkujen tulosten tulkinta ei tosiaan ole niin yksinkertaista kuin yleisesti ajatellaan. Testin suorittajan omasta näkemyksestä, visuaalisesta tulkinnasta, muodostuu tutkimuksen tulos. Tämä onkin syynä siihen, että kvantitatiivisten pikatestien määrä on kasvanut jatkuvasti ja yhä enemmän ollaan siirtymässä visuaalisesta tulkinnasta lukulaitteella suoritettaviin mittauksiin.

Opinnäytetyöprosessissa kohdattiin haasteita käytännön työn toteuttamisessa. Tutkimukseen osallistuvien tavoittaminen oli yllättävän hankalaa. Alkuperäisen suunnitelman mukaan työhön toivottiin osallistujia useista sairaaloista ja ammattiryhmistä. Opinnäytetyön suunnitelma, informointikirje ja kyselylomake lähetettiin sähköpostiviestin liitteinä useille osastonhoitajille ja tutkimustyöstä vastaaville henkilöille. Osa henkilöistä ei vastannut lainkaan, osa alkoi selvittää muun muassa tutkimuslupantarvetta, ja osa lähti mukaan tutkimukseen. Tutkimuslupahakemuksia lähetettiin useaan paikkaan kunkin organisaation ohjeistuksen mukaisesti. Osa potentiaalisista osallistujista karsiutui tässä vaiheessa tai tutkimuslupahakemukseen ei saatu lainkaan vastausta. Laboratorion henkilökunta jäi pois pandemian ruuhkauttaessa laboratoriot. HUS-organisaation tutkimuslupa haettiin ja myönnettiin kahdesti ja toisella kerralla työ päästiin myös toteuttamaan. Opinnäytetyön tutkimus otettiin sairaaloissa lopulta vastaan positiivisesti, ja aihe herätti paljon keskustelua. Vierailut sairaaloilla olivatkin yksi opinnäytetyöprosessin mieleenpainuvimmista osuuksista.

Testitikkujen valmistus ja sisäinen validointi sujuivat mutkattomasti. Projektin suunnittelu, dokumentointi ja validointisuunnitelman sekä -raportin laatiminen oli opettavaista ja hyödyllistä työtä. Opinnäytetyöprosessin sujumuuden takasi kiinteä, hyvä yhteistyö toimeksiantajaorganisaation kanssa.

Työn toimeksiantajana toiminut Actim Oy organisaatio oli aidosti kiinnostunut opinnäytetyön aiheesta, toteutuksesta ja tuloksista. Henkilökuntaa osallistui työn ohjaukseen laajalla rintamalla, ja apua oli aina saatavilla.

Opinnäytetyö antoi Actim-organisaatiolle tärkeää tietoa pikatestien tulosten tulkinnasta organisaation sisällä ja testien todellisessa käyttöympäristössä. Asiakkaiden suorittamassa tulkinnassa saatiin tietoa siitä, miten ulkoiset olosuhteet vaikuttavat tulosten tulkintaan. Actim-organisaatiossa testitietokojen tulokset tulkitaan laboratorio-olosuhteissa hyvässä valaistuksessa, mutta rutiinikäytössä tilanne on toinen. Työn tuloksia voidaan hyödyntää myös eräänlaisena asiakastytyväisyyskyselynä. Toimeksiantajaorganisaatio on kiinnostunut kehittämään tuotteitaan jatkuvasti, ja tutkimuksen avulla käyttäjiltä saadaan tärkeää informaatiota tuotteiden tämänhetkisestä toimivuudesta ja käytettävyydestä. Opinnäytetyön tuloksia voidaan hyödyntää myös nykyisen käyttöohjeen arvioinnissa.

Opinnäytetyön tekeminen kehitti tutkijan ammatillista osaamista ja laajensi ymmärrystä erityisesti immunologiasta, immunokemiallisista menetelmistä ja vieritestauksesta. Tutkijan aiempi osaaminen vasta-aineista, antigeneista ja immunologisista menetelmistä on veriryhmäserologiassa. Opinnäytetyön edetessä näistä osa-alueista löytyi yllättävän paljon samankaltaisuutta. Veriryhmäserologiset määritykset perustuvat niin ikään visuaaliseen tulkintaan ja usein myös subjektiivisuuteen. Jatkotutkimuksia määritetään ensimmäisen ”seulonnan” mukaan, aivan niin kuin kvalitatiivisissa pikatesteissäkin.

Opinnäytetyöprosessin projektiluonteinen toteutus kehitti projektinhallintataitoja; kokonaisuuden hallintaa, priorisoimista, aikataulutusta ja resurssien suuntaamista. Samaan aikaan kehittyivät Excel-taidot sekä käsitys aiheeseen liittyvästä kansainvälisestä kirjallisuudesta ja terminologiasta. Pitkäksi venynyt projekti oli ajoittain henkisesti raskas, mutta se antoi toisaalta tilaa myös perusteelliselle oppimiselle. Covid-19 pandemiasta aiheutuneiden ”tuumaustaukojen” jälkeen työn ääreen palasi uusin silmin. Jokaisesta opitusta asiasta on varmasti hyötyä työelämässä tulevaisuudessakin. Opinnäytetyö antoi mahdollisuuden syventyä pikatestien menetelmäperiaatteisiin ja testien toimintaan syvästi ja lisäsi tutkijan ammatillista osaamista erityisesti näiltä osin.

10.2 Tulokset ja luotettavuus

Tutkimuksen luotettavuutta tarkastellaan validiteetin ja reliabiliteetin avulla. (Vilka 2017, 123). Validiteetilla tarkoitetaan tutkimusmenetelmän mittarin kykyä mitata niitä asioita, joita tutkimuksessa on tarkoitus mitata (Vilka 2017, 123). Kyselytutkimuksessa kyselylomake on tärkeässä osassa tutkimuksen pätevyyden eli validiteetin kannalta. Kyselylomakkeen pitää vastata tarkasti tutkimussuunnitelmassa esitettyihin tutkimustehtäviin. (Vilka 2017, 70.) Kyselylomakkeen toimivuutta testataan yleensä tilanteessa, jossa muutama perusjoukkoa vastaava ihminen arvioi lomakkeen kriittisesti (Vilka 2017, 71). Opinnäytetyön kyselylomakkeesta tehtiin selkeä, jotta tutkimukseen osallistuneet henkilöt ymmärsivät kyselylomakkeen kysymykset eikä systemaattista virhettä syntynyt. Tässä työssä kyselylomake testattiin organisaation sisäisen validoinnin yhteydessä. Testaajat eivät täysin vastanneet tutkimuksen perusjoukkoa, sillä he eivät omanneet terveydenhuollonalan koulutusta. Diagnostiset pikatestitut ja tulosten tulkinta oli heille kuitenkin tuttua. Kyselylomakkeen testauksessa toivottiin ensisijaisesti palautetta lomakkeen selkeydestä, joten testaajajoukkoa pidettiin tähän

tehtävään sopivana. Kyselylomake mittasi juuri niitä asioita, joita työssä haluttiin tarkastella, joten työn sisäinen validiteetti oli onnistunut.

Tutkimuksen tulosten luotettavuutta lisättiin sillä, että kukin osallistuja tulkitsi täsmälleen samat pikatestitikut. Testitikkujen tulosten tulkintaolosuhteet pyrittiin saamaan vastaamaan todellisuutta mahdollisimman hyvin. Normaalisti käytännöstä poiketen testitikut olivat kuitenkin kuivatikkuja, joissa tulos ei muutu ajan kuluessa eikä täsmällisellä lukuajalla ollut näin ollen merkitystä. Erivahvuisia testitikkuja oli myös esillä koko ajan, jolloin käyttäjät pystyivät vertailemaan testiviivoja, joka ei ole rutiinikäytössä mahdollista. Käytännön työn osuutta ei siis saatu täydellisesti vastaamaan normaalia käytäntöä, mutta se pyrittiin optimoimaan niin hyvin kuin mahdollista. Tähän auttoi se, että tutkija oli läsnä, kun tutkimukseen osallistuneet henkilöt täyttivät kyselylomakkeita ja tulkitsivat testitikkujen tuloksia. Tutkija pystyi tarkentamaan epäselvyyksiä ja kontrolloimaan tilannetta tarpeen vaatiessa (Valli 2018, 97). Tutkimukseen osallistuneet henkilöt tulkitsivat pikatestitulokset itsenäisesti, yhtäjaksoisesti ja melko nopeasti. Haaleiden viivojen tulkinta koettiin haastavaksi ja tutkimukseen osallistuneet henkilöt hakivatkin tukea tutkijalta kysymyksillä, kuten ”onko ihan vaaleakin viiva positiivinen tulos”. Tutkija ei ottanut kantaa kysymyksiin, mutta ohjasi kyselylomakkeessa lukevaan PROM-käyttöohjeen tulkintaohjeeseen ”kaksi sinistä viivaa, tulos on positiivinen - yksi viiva, tulos on negatiivinen”.

Testitikkujen tulosten luotettavuutta lisäsi organisaation sisäinen validointi, joka suoritettiin ennen asiakkaiden tulosten tulkintaa. Validoinnilla varmistuttiin siitä, että Actim-organisaation henkilökunta tulkitsee testitikkujen tuloksia yhtenäisesti. Tulosten tulkintaan valmistettuja testitikkuja oli eri määrä kullakin numeerisella tasolla. Tämä valinta tehtiin tietoisesti, sillä juuri tasoja 1 ja 2 haluttiin tarkastella perusteellisemmin LFIA-menetelmän ominaisuuksiin liittyen. Verrannollisempaa olisi kuitenkin ollut valmistaa numeerisen tuloksen 1 ja 2 testitikkuja yhtä paljon. Testitikkujen suurempi määrä olisi voinut aiheuttaa suurempaa hajontaa myös numeeristen tasojen 0, 3 ja 4 tuloksissa, mutta toisaalta selvät positiiviset ja selvät negatiiviset tulokset ovat yksiselitteisiä tulkittavia. Testitikuista määritettiin visuaalinen tulkinta ja Actim 1ngenilla mitattavat Peak-arvot, sekä ennen että jälkeen asiakkaiden suorittaman tulkinnan (taulukko 9). Tällä varmistettiin se, että testiviivojen vahvuudet eivät muuttuneet viikon aikana, vaan tulokset olivat verrattavissa Actim-organisaatiossa määritettyihin alkuperäisiin tuloksiin koko prosessin ajan.

TAULUKKO 9. Testitikkujen Peak-arvot prosessin alussa ja lopussa

Testitikki	Num.tulos	Peak ka ennen	Peak ka jälkeen	Muutos %
1	4	3207	3206	0,00
2	2	879	850	-0,03
3	0	75	65	-0,13
4	3	1639	1662	0,01
5	1	335	335	0,00
6	1	336	380	0,13
7	3	1756	1739	0,01
8	2	714	687	-0,04
9	0	59	56	-0,05
10	2	717	688	-0,04
11	4	3193	3151	-0,01
12	1	361	345	-0,04
13	3	1498	1472	-0,02
14	2	633	633	0,00

Testitikuista määritettiin kolme rinnakkaista tulosta, joista laskettiin keskiarvot. Keskiarvojen välinen muutosprosentti ennen ja jälkeen asiakkaiden suorittaman tulosten tulkinnan on esitetty taulukon vihreässä sarakkeessa. Numeeriset tulokset määritettiin visuaalisesti ja ne pysyivät muuttamattomina.

Työn toteutuksessa jouduttiin tekemään joitain luotettavuuteen vaikuttavia tiedostettuja valintoja. Kvantitatiivisen tutkimuksen otos perustuu useimmiten sattumanvaraisuuteen. Tässä opinnäytetyössä otos jouduttiin kuitenkin osin valitsemaan. Otokseen haluttiin sairaaloita, joissa Actim-pikatestejä käytetään. Ryväotantaa käytettiin ajallisten ja logististen resurssien säästämiseksi. Ajallisia resursseja säästettiin, kun tutkimukseen saatiin useampia osallistujia samalla kertaa. Logististen resurssien vuoksi osallistujat pyrittiin löytämään Uudenmaan ympäristöstä. Ryväotannan haittana pidetään usein otantavirheen kasvua. Tässä tutkimuksessa oli kuitenkin kyse henkilökohtaisesti tehdystä pikatestitulosten tulkinnasta ja osallistujia saatiin useammasta eri sairaalasta ja yksiköstä. Pikatestitulosten käyttöön annettu perehdytys voi kuitenkin olla erilainen eri sairaaloissa. Tutkimukseen osallistuneet henkilöt kertoivat, että heidän saamansa perehdytys on, että heikkokin testiiviiva on positiivinen tulos. HUS-synnytyssairaalat ovat aktiivisia synnytyssairaloita ja PROM-testejä tehdään paljon. Eroja olisi voinut syntyä enemmän, jos mukana olisi ollut jonkun pienemmän sairaalan henkilökuntaa, mahdollisesti erilaisella ikärakenteella ja työkokemuksella.

Opinnäytetyön suunnitelmassa perusjoukoksi määritettiin terveydenhuollon ammattilaiset. Tuloksia ei voida yleistää näin laajaan joukkoon, sillä opinnäytetyöhön osallistuneista 88% oli kättilöitä

($n=68$), 7% lääkäreitä ($n=4$) ja 5% opiskelijoita ($n=5$). Tutkimuksen ulkoista validiteettia tarkastellessa todettiin, että tutkittavan kohteen valinta on vino. Otos ei vastaa alun perin määritettyä perusjoukkoa vaan vain osaa siitä. (Hiltunen 2009.) PROM-testin keskeisin käyttäjäryhmä on kätilöt, joten tulokset kuvastivat testin käyttöä todellisessa käyttöympäristössä. Tutkimukseen osallistuneet lääkärit kertoivat ottavansa näytteitä, mutta kätilöiden tulkitsevan tulokset. Suurin osa vastaajista oli kätilöitä, mutta joukossa oli myös lääkäreitä ja opiskelijoita. Opinnäytetyön perusjoukoksi muotoutui synnytysosastoilla toimivat terveydenhuollon ammattilaiset.

Tutkimuksen otoskooksi määritettiin $n=100$ ja tutkimukseen osallistui 77 henkilöä ($n=77$). Osallistujamäärä oli kiitettävä. Tutkimuksen suunnitteluvaiheessa tehtiin päätös tutkimusmenetelmistä. Kyse-lylomakkeen ja työn luonteen vuoksi kysymyslomake sisälsi strukturoituja kysymyksiä, jotka olivat pääsääntöisesti luokitteluasteikollisia muuttujia. Tällaiselle aineistolle ei voitu tehdä kovin suuria, tilastollisia laskelmia. Molemmissa ryhmissä, joissa ulkoisten tekijöiden vaikutusta arvioitiin (numeeriset tasot 1 ja 2) negatiivisia vastauksia oli selkeästi vähemmän, jolloin näiden ryhmien yksittäisten vastausten merkitys korostui. Tilastollista Khiin neliön -merkitsevyydestä ei voitu käyttää ristiintaulukoinnin tukena, sillä frekvenssilukema vertailtavien arvojen välillä jäi alle viiden. Tutkimuksen luotettavuus, reliabelius, tarkoittaa tulosten tarkkuutta eli mittarin kykyä antaa ei-sattumanvaraisia tuloksia ja mittaustulosten toistettavuutta (Vilka 2017, 124). Tämän opinnäytetyön tulokset olivat luotettavia tulosten tulkinnan toistettavuuden kannalta, mutta ulkoisten tekijöiden vaikutusta tulkittuihin tuloksiin ei voitu tilastollisesti osoittaa. Kaiken kaikkiaan tulokset olivat hyvin samansuuntaisia aiempien tutkimusten kanssa, ja teoretieto tukee tässä opinnäytetyössä saatuja tuloksia. Opinnäytetyössä saatiin vastaus tutkimuskysymykseen, kuinka yhtenäisesti käyttäjät tulkitsevat Actim-pikatestien tuloksia, ja viitteitä siitä, millaiset tekijät vaikuttavat Actim pikatestien tulosten tulkintaan.

10.3 Tutkimuksen eettisyys

Tämän opinnäytetyön toteutuksessa pyrittiin noudattamaan hyvää tieteellistä käytäntöä koko tutkimusprosessin ajan aina suunnitelmasta tulosten raportointiin (Kuula 2011, 26). Hyvään tieteelliseen käytäntöön kuuluu tutkijan ja tutkimuksen tarkkuus tutkimustyössä, tulosten tallentamisessa ja esittämisessä sekä tulosten arvioinnissa. Työssä noudatettiin eettisesti kestäviä tiedonhankintataitoja ja tutkimustulokset julkaistiin avoimesti ja rehellisesti. Tutkimus suunniteltiin, toteutettiin ja raportoitettiin yksityiskohtaisesti. (Hirsjärvi, Remes ja Sajavaara 2015, 24.) Tutkija noudatti tutkijan hyve-etiikkaa raportoiden työn suoritusvaiheista tarkasti ja osoittaen aitoa kiinnostusta tutkimuskohteeseen. Lähdekirjallisuutta tarkasteltiin kriittisesti, ja materiaaleista pyrittiin löytämään tutkimuksen kannalta oleellisimmat ja ajankohtaisimmat tiedot. Lähteet merkittiin tarkasti ja ohjeistusten mukaisesti. Tutkimusaineiston hankinta ja analysointi toteutettiin rehellisesti ja tunnollisesti. (Kuula 2011, 22.) Tutkimustekstissä pyrittiin kriittiseen arviointiin ja argumentoimaan selkeästi prosessissa tehtyjä valintoja (Vilka 2017, 128). Työssä pyrittiin menetelmällisen objektiivisuuden kriteeriin, eli siihen, että tutkimus raportoidaan niin tarkasti, että toinen tutkija voi toistaa tutkimuksen samoista lähtökohdista (Hirsjärvi ym. 2015, 309).

Tutkimuksen lähtökohtana on aina ihmisarvon kunnioittaminen. (Hirsjärvi ym. 2015, 25.) Tutkimukseen osallistuminen perustui aitoon vapaaehtoisuuteen (Kuula 2011, 66). Tästä opinnäytetyöstä tie-

dotettiin informointikirjeellä, jossa tutkittaville annettiin huolellisesti tietoa tutkimusaiheesta, tutkimuksen tarkoituksesta ja tutkimusaineiston käytöstä (Kuula 2011, 71). Saatekirjeessä esiteltiin yleisten käytänteiden mukaisesti vastuullisen tutkijan nimi, tutkimuksen tavoite, tutkimuksen vapaaehtoisuus, aineistonkeruumenetelmä sekä tutkittavilta saatujen tietojen käyttötarkoitus (Kuula 2011, 73). Saatekirjeessä kerrottiin myös tapa, jolla tutkittavat valittiin. Tutkimukseen osallistumisen vaateet konkretisoitiin kuvaamalla käytännön työn osuus selkeästi (Kuula 2011, 83). Se tarkoitti kyselylomakkeen valmiiden vastausvaihtoehtojen valintaa sekä pikatestitikkujen tulosten tulkintaa, johon aikaa kului enintään 10 minuuttia. Tutkittavien motivoimiseksi kuvailtiin myös, millaista tietoa tutkimuksessa tavoitellaan (Kuula 2011, 74). Työn toimeksiantaja lahjoitti jälkitoimituksena jokaiselle tutkimukseen osallistuneelle suklaalevyn, joka toimi niin ikään motivointikeinona. Tutkimukseen osallistuville ei yleensä makseta erillistä korvausta osallistumisesta, mutta mikäli tutkittavia halutaan kiittää, lahjan tulee olla kohtuullinen (TENK 2019, 9).

Tutkimuksessa kerättiin vain sen tarkoituksen kannalta tarpeelliset henkilötiedot (TENK 2019, 12). Tässä tutkimuksessa pikatestitulosten tulkintaan mahdollisesti vaikuttavina henkilötekijöinä pidettiin tutkittavan työyksikköä, ammattinimikettä sekä työkokemusta vuosina. Tutkimukseen ei tarvittu eettisen toimikunnan lausuntoa, sillä työssä ei käsitellä ihmisen terveys- tai sairaustietoja (HUS, Ihminen tutkimuksen kohteena). Tutkimuksen toteutustapa ei aiheuttanut riskiä tai vahinkoa tutkittaville, eikä sen tuloksista koitunut haittaa tutkittaville (TENK 2019, 14). HUS organisaation tutkimuslupaa varten toimitettiin lomakkeet tietosuojavaikutusten-arvioinnista ja tutkimusrekisterin tietosuojasta. Tutkimukseen osallistuville lähetettiin Savonian tietosuojailmoitus.

Toimi- ja ammattialojen tutkimusta ohjaa useimmiten käytännön hyöty (Vilka 2017, 30). Tämän opinnäytetyön toimeksiantajaorganisaatio on aidosti kiinnostunut asiakkaidensa käyttökokemuksista pikatestituotteisiin liittyen. Työn tarkoitus on eettisesti perusteltu, sillä opinnäytetyössä saatuja tuloksia ja asiakaspalautetta voidaan hyödyntää tulevaisuuden tuotteissa ja tuotekehityksessä.

Yritys halusi myös kiittää tutkimukseen osallistuneita henkilöitä suklaalevyillä, joka toimi innostavana motivaattorina. Työn eettisyyttä pohditaan silloin kun tutkimuksesta luvataan palkkio, mutta tässä tapauksessa palkkio oli sen verran pieni, että se toimi hienona eleenä ja kiitollisuuden osoituksena organisaatiolta, ja nostatti samalla osallistujien aktiivisuusprosenttia.

10.4 Tulevaisuuden näkymät

Opinnäytetyön tulosten ja työhön osallistuneiden henkilöiden kanssa käytyjen keskustelujen perusteella todettiin, että yksinkertaisenkin pikatestin suorittamiseen tarvitaan käyttäjäkoulutusta. Opinnäytetyön tulokset tullaan esittelemään yhdessä Actim organisaation henkilökuntaan kuuluvien henkilöiden kanssa niissä yksiköissä, joissa opinnäytetyön tutkimus toteutettiin. Synnytyspoliklinikat ovat kiireisiä ja hektisiä paikkoja, joissa tilanteet muuttuvat nopeasti. Viiden minuutin lukuajan noudattaminenkin tuntui haastavalta. Tulosten tulkinnan tarkalla ajankohdalla on kuitenkin oleellinen merkitys testin toimivuuden kannalta. Tulevaisuudessa yleistyvät kvantitatiiviset immunomääritykset voivat olla ratkaisu tämänkaltaiseen ongelmaan. Henkilökunnalla on esimerkiksi jatkuvasti mukanaan hälytyskännykät, joihin voisi asentaa kvantitatiivisen menetelmän lukulaitteen.

Actim-organisaation sisällä on niin ikään keskusteltu numeerisen tuloksen 1 tulkinnasta. Ohjeistuksessa kuvataan, että tätä tasoa vastaava testiiviiva on "häivähdyks, jonka vain harjaantunut tulkitsejä näkee". Testiiviiva, joka antaa numeerisen tuloksen 1 on tuloksen tulkinnaltaan negatiivinen. Opin- näytetyön tuloksissa huomattiin, että yli 70% asiakkaista näkee viivan häivähdyksen ja tulkitsee tuloksen positiiviseksi. Toisaalta tutkimukseen osallistuneet yksiköt olivat sellaisia, joissa PROM testejä käytetään verrattain paljon. Ainoastaan kolme henkilöä ei ollut aiemmin käyttänyt Actim-pikatestejä. Opin- näytetyön tulokset antavat kuitenkin aihetta pohtia, pitäisikö organisaation sisäisen ohjeistuksen kuvausta numeerisen tuloksen 1 antavasta testiivivasta muuttaa. Numeerinen tulos 1 on haastava, sillä se muodostuu harmaalla alueella ennen detektorajaa ja on väistämätöntä tämänkaltaiselle menetelmälle. Detektorajan määritelmänä on, että 95 % tulkitsee sen positiiviseksi. Todellisuudessa tutkittavien näytteiden pitoisuudet sijoittuvat kuitenkin harvoin juuri harmaalle alueelle.

Actim-pikatestitikkuja myydään laajalti ympäri maailman; erilaisiin kulttuureihin, kehittyneille ja kehittyville markkinoille. Tässä opin- näytetyössä selvitettiin Suomen terveydenhuollon ammattilaisten suorittamaa pikatestitikkujen tulosten tulkintaa ja siihen vaikuttavia tekijöitä. Suomen terveydenhuolto ja sen laatu ovat maailman huipulla ja henkilökunnan ammattitaito sen mukaista. Tulevaisuudessa vastaavaa työtä voisi laajentaa mahdollisesti myös ulkomaisille asiakkaille, jossa työympäristö ja käytännöt lienevät hyvin vaihtelevat.

Tulevaisuudessa Lateral flow -immunomääritykset jakaantuvat kahteen suuntaan: kehittyville maille myytäviin hyvin yksinkertaisiin testeihin ja kehittyneisiin maihin suunnattuihin kvantitatiivisiin testeihin. Lukulaitteen hyödyt, objektiivinen tulosten tulkinta ja automaattinen tallennus, lisäävät todennäköisesti myös Actim 1ngeni-laitteen kysyntää. Actim 1ngeni-laitteen digitaalisten tulosten vastaavutta visuaaliseen tulkintaan voisi tutkia laajemmin, sillä vain osaa nykyisistä pikatestitikuista voidaan määrittää sekä visuaalisesti että 1ngeni-laitteella.

LÄHTEET

- Abbas, Abul K. & Lichtman, Andrew H 2005. Cellular and Molecular Immunology. Fifth Edition. Elsevier Saunders.
- Actim PROM 2015. Toteaa luotettavasti ennenaikaisen lapsivedenmenon. Esite. <https://www.medixbiochemica.com/wp-content/uploads/2017/06/Actim-PROM-esite-FI-032015.pdf>. Viitattu 26.11.2020.
- Actim PROM 2016. Käyttöohje. https://www.medixbiochemica.com/wp-content/uploads/2017/06/Actim-PROM-instructions-for-use-OACE30831_9-082016.pdf. Viitattu 7.1.2020.
- Actim 1ngeni 2015. Nerokasta käytännöllisyyttä. Esite. https://www.medixbiochemica.com/wp-content/uploads/2017/06/Actim-1ngeni-esite-04_2015_lores.pdf. Viitattu 20.11.2020.
- Actim 1ngeni 2020. Medix Biochemica. Verkkosivu. <https://www.medixbiochemica.com/fi/actim-rapid-test/actim-1ngeni-system/#overview>. Viitattu 20.11.2020.
- Amerongen, van Aart, Veen, Jeroen, Arends, A. Hugo, Koets, Marjo 2018. Lateral Flow Immunoassays. Teoksessa Vashist, K. Sandeep & Luong, H.T. John (toim.) Handbook of Immunoassay Technologies. Approaches, Performances and Applications. Elsevier, 157-176.
https://books.google.fi/books?hl=fi&lr=&id=jSk0DwAAQBAJ&oi=fnd&pg=PP1&dq=amerongen+handbook+of+immunoassay+technologies&ots=bn0AV3vqZe&sig=GIP0tHrrRhx7ok-JPhBcXAcqNI8&redir_esc=y#v=onepage&q=amerongen%20handbook%20of%20immunoassay%20technologies&f=false. Viitattu 1.12.2020.
- Asiaei, Sasan, Bidgoli, Mostafa Rabbani, Kafi, Ali Zadeh, Saderi, Narges & Siavashi, Majid 2018. Sensitivity and colour intensity enhancement in lateral flow immunoassay tests by adjustment of test line position. Clinica Chemica Acta 487, 210-215. <https://www.sciencedirect-com.ezproxy.savonia.fi/science/article/pii/S0009898118305278>. Viitattu 19.2.2020.
- Amnisure 2019. Rapid, Reliabel, Non-invasive Test for ROM. Esite. <https://herqiagen.com/amnisure-row>. Viitattu 28.11.2020
- Bahadir, Elif Burcu ja Sezginturk, Mustafa Kemal 2016. Lateral flow assays: Principles, designs and labels. Trends in Analytical chemistry 82, 286-306.
- Burns, R. 2012. Immunochemical techniques. Introduction. Julkaisussa: Wilson, Keith ja Walker, John. Principles and Techniques of Biochemistry and Molecular Biology. Seventh edition. Cambridge university press, 267-273.
- Clinical and Laboratory Standards Institute 2008. EP12-A2 User Protocol for evaluation of Qualitative Test Performance; Approved Guideline-Second Edition. Volume 28.
- Clinical innovations 2020. ROM Plus. <https://clinicalinnovations.com/portfolio-items/rom-plus-rupture-of-membranes-test/>. Viitattu 28.22.2020.

- Duodecim 2020. Terveysportti. Sanakirjat. <https://www.terveysportti.fi/sovellukset/sanakirjat>. Viitattu 28.11.2020.
- Halonen, Toivo 2003. Immunokemiallisten menetelmien periaatteet. Teoksessa Penttilä, Ilkka (toim.) Kliiniset laboratoriotutkimukset. Porvoo: WSOY
- He, Jianwen & Parker, Simon 2013. Qualitative immunoassay – features and design. Teoksessa Wild, David (toim.) The Immunoassay Handbook. Theory and Applications of Ligand Binding, ELISA and Related Techniques. Elsevier, 139-147. <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780080970370000105>. Viitattu 31.1.2020.
- Heikkilä, Tarja 2014. Kvantitatiivinen tutkimus. <http://www.tilastollinentutkimus.fi/1.TUTKIMUS-TUKI/KvantitatiivinenTutkimus.pdf>. Viitattu 16.12.2019.
- Hiltunen, Leena 2009. Validiteetti ja reliabiliteetti. Graduryhmä. Jyväskylän yliopisto. http://www.mit.jyu.fi/OPE/kurssit/Graduryhma/PDFt/validius_ ja_reliabiliteetti.pdf. Viitattu 25.11.2020.
- Hirsjärvi, Sirkka, Remes, Pirkko & Sajavaara, Paula 2015. Tutki ja kirjoita. Porvoo: Bookwell.
- HUS 2020. Ihminen tutkimuksen kohteena. <https://www.hus.fi/tutkijalle/tutkimuslupa/kohteena-ihminen/Sivut/default.aspx>. Viitattu 19.2.2020.
- Jokiranta, Sakari & Seppälä, Ilkka 2011. Vasta-ainevälitteinen immunitaetti. Teoksessa Hedman, Klaus, Heikkinen, Terho, Huovinen, Pentti, Järvinen, Asko, Meri, Seppo & Vaara, Martti. (toim.) Immunologia – Mikrobiologia, immunologia ja infektiosairaudet. Helsinki: Kustannus Oy Duodecim.
- Kananen, Jorma 2015. Opinnäytetyön kirjoittajan opas. Näin kirjoitan opinnäytetyön tai pro gradun alusta loppuun. Jyväskylän ammattikorkeakoulu.
- Kuula, Arja 2011. Tutkimusetiikka. Aineistojen hankinta, käyttö ja säilytys. Tampere: Vastapaino. <https://www.elliblibrary.com/fi/book/9789517683104>. Viitattu 29.12.2019
- LABQUALITY 2019. Vieritestisuositus 2020. https://www.labquality.fi/vieritestisuositus/vieritestisuositus-terminologia_kuvauksineen/vieritestisuositus-terminologiaa/. Viitattu 16.12.2019.
- Li, Fei, You, Milnli, Li, Shaoxiong, Hu, Jie, Liu, Chang, Gong, Yan, Yang, Huayuan & Xu, Feng 2019. Paper-based point-of-care immunoassays: Recent advances and emerging trends. Biotechnology Advances 107442. Volume 39. <https://www.sciencedirect-com.ezproxy.savonia.fi/science/article/pii/S0734975019301429>. Viitattu 18.2.2020.
- Medix Biochemica 2020. Actim pikatestit – luotettavat tulokset minuuteissa. <https://www.medixbiochemica.com/fi/actim-pikatestit/>. Viitattu 17.11.2019.
- Pikatestiviivojen värikartta 2019. Organisaation sisäinen ohje. Actim Oy.
- Meri, Seppo 2011. Johdanto immunologiaan. Teoksessa Hedman, Klaus, Heikkinen, Terho, Huovinen, Pentti, Järvinen, Asko, Meri, Seppo & Vaara, Martti (toim.) Immunologia – Mikrobiologia, immunologia ja infektiosairaudet. Helsinki: Kustannus Oy Duodecim.

NANOCOMPOSIX 2016. Lateral Flow Assay Development Guide. Lateral Flow Handbook v1.0

O` Farrell, Brendan 2013. Lateral flow immunoassay systems: evolution from the current state of the art to the next generation of highly sensitive, quantitative rapid assays. Teoksessa Wild, David (toim.) The Immunoassay Handbook. Theory and Applications of Ligand Binding, ELISA and Related Techniques. Elsevier, 89-107. <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780080970370000075>. Viitattu 22.1.2020

O` Farrell, Brendan 2009. Evolution in Lateral Flow-Based Immunoassay Systems. Wong, Raphael C ja Tse, Harley Y (toim.) Lateral Flow Immunoassays. 7-15

Ojaghi, Askhan, Pallapa, Manu, Tabatabaei, Nima & Pouya, Rezaei 2018. High-sensitivity interpretation of lateral flow immunoassays using thermophotonic lock-in imaging. Sensors and Actuators A: Physical 273, 189-196. <https://www.sciencedirect-com.ezproxy.savonia.fi/science/article/pii/S0924424718300487>. Viitattu 27.2.2020.

Salminen, Teppo, Juntunen Evi, Talha, M. Sheikh & Pettersson Kim 2019. High-sensitivity lateral flow immunoassay with a fluorescent lanthanide nanoparticle label. Journal of Immunological Methods Volume 465, 39-44. <https://www.sciencedirect-com.ezproxy.savonia.fi/science/article/pii/S0022175918303661>. Viitattu 27.2.2020

TENK 2019. Tutkimuseettisen neuvottelukunnan julkaisuja 3/2019. Ihmiseen kohdistuvan tutkimuksen eettiset periaatteet ja ihmistieteiden eettinen ennakoarviointi Suomessa. https://www.tenk.fi/sites/tenk.fi/files/Ihmistieteiden_eettisen_ennakoarvioinnin_ohje_2019.pdf. Viitattu 20.2.2020.

Testausohje PROM Dipstick 2019. Organisaation sisäinen ohje. Actim Oy.

Valli, Raine 2015. Johdatus tilastolliseen tutkimukseen. Juva: PS-Kustannus.

Valli, Raine 2015a. Numeroiden kautta kuvataan todellisuutta. Teoksessa Valli, Raine ja Aaltola, Juhani (toim.) Ikkunoita tutkimusmetodeihin 2. Näkökulmia aloittelevalle tutkijalle tutkimuksen teoreettisiin lähtökohtiin ja analyysimenetelmiin. Juva: PS-Kustannus.

Valli, Raine 2018. Aineistonkeruu kyselylomakkeella. Teoksessa Valli, Raine (toim.) Ikkunoita tutkimusmetodeihin 1. Metodien valinta ja aineistonkeruu: virikkeitä aloittelevalle tutkijalle. Keuruu: PS-Kustannus.

Vashist, K. Sandeep & Luong, H.T. John 2018. Immunoassays: An Overview. Teoksessa Vashist, K. Sandeep & Luong, H.T. John (toim.) Handbook of Immunoassay Technologies. Approaches, Performances and Applications. Elsevier, 1-14.

https://books.google.fi/books?hl=fi&lr=&id=jSk0DwAAQBAJ&oi=fnd&pg=PP1&dq=amerongen+handbook+of+immunoassay+technologies&ots=bn0AV3vqZe&sig=GIPotHrrRhx7ok-JPhBcXAcqNI8&redir_esc=y#v=onepage&q=amerongen%20handbook%20of%20immunoassay%20technologies&f=false. Viitattu 5.3.2020.

Ventola, Lee c 2014. Mobile devices and apps for health care professionals: uses and benefits. *Pharmacy & Therapeutics* 39(5), 356–364. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4029126/>. Viitattu 19.2.2020.

Vilkka, Hanna 2017. Tutki ja kehitä. Jyväskylä: PS-kustannus. <https://www.elibrary.com/fi/book/978-952-451-756-0>. Viitattu 29.12.2019.

Wild, David 2013. Immunoassay for beginners. Teoksessa Wild, David (toim.) *The Immunoassay Handbook. Theory and Applications of Ligand Binding, ELISA and Related Techniques*. Elsevier, 7-10. <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780080970370000026>. Viitattu 22.1.2020.

Diagnostisten pikatestitikkujen tulkinta ja siihen vaikuttavat tekijät
YAMK Opinnäytetyö - Actim Oy

Kyselylomake

Sairaala/yksikkö _____

pvm. ___/___ 2020

Valitse sopivin vaihtoehto.

Koulutukseni on:

- | | |
|-------------------|--------------------|
| 1) lääkäri | 4) bioanalytikko |
| 2) kätilö | 5) muu, mikä _____ |
| 3) sairaanhoitaja | |

Työkokemukseni alalta:

- | | |
|---------------|----------------|
| 1) 0-2 vuotta | 3) 5-10 vuotta |
| 2) 2-5 vuotta | 4) >10 vuotta |

Actim pikatestitikkujen tulosten tulkinta:

- + positiivinen tulos = kaksi sinistä viivaa
- - negatiivinen tulos = yksi sininen viiva

Tulkitse pikatestitikkujen tulokset + (positiivinen tulos) tai – (negatiivinen tulos)

Pikatestitikon nro

1	2	3	4	5	6	7
8	9	10	11	12	13	14

Pikatestitulosten tulkintaan käytetty valaistus:

- | | |
|------------------|--------------------|
| 1) luonnonvalo | 3) kohdevalaisin |
| 2) kattovalaisin | 4) muu, mikä _____ |

Jatkuu seuraavalla sivulla >>

Diagnostisten pikatestitikkujen tulkinta ja siihen vaikuttavat tekijät
YAMK Opinnäytetyö - Actim Oy

Tulosten tulkinnan ajankohta:

- | | |
|-------------------------|--------------------------|
| 1) aamu (klo 7-9) | 3) iltapäivä (klo 12-16) |
| 2) aamupäivä (klo 9-12) | 4) ilta (klo 16 ->) |

Oletko käyttänyt Actim pikatestejä aiemmin:

- | | |
|----------|-------|
| 1) kyllä | 2) en |
|----------|-------|

Millaiseksi koit tulosten tulkinnan? (1 – haastavaksi... 5 – helpoksi)

1 2 3 4 5

Vapaaehtoinen palaute Actim diagnostisten pikatestien käytettävyydestä:

Kiitos osallistumisestasi!

Hyvä terveydenhuollon ammattilainen!

Opiskelen kliinisen asiantuntijuuden YAMK-koulutusohjelmassa Savonia-ammattikorkeakoulussa ja teen opinnäytetyötäni aiheesta ”Diagnostisten pikatestitikkujen tulosten tulkinta ja siihen vaikuttavat tekijät”. Työn toimeksiantajana toimii Actim Oy, Oy Medix Biochemica AB:n tytäryhtiö. Opinnäytetyöni tarkoituksena on kartoittaa Actim diagnostisten pikatestitikkujen tulkintaan vaikuttavia tekijöitä. Työn avulla pyritään saamaan tietoa siitä, miten toistettavasti Actim pikatestien tulokset ovat tulkittavissa terveydenhuollon ammattilaisten toimesta, millaiseksi pikatestien käytettävyys koetaan ja onko ulkoisilla muuttujilla vaikutusta tulosten tulkintaan. Tutkimuksen tavoitteena on parantaa Actim pikatestien luotettavuutta ja käytettävyyttä tulevaisuudessa.

Opinnäytetyö toteutetaan kyselytutkimuksena, johon sisältyy diagnostisten pikatestitikkujen tulosten tulkintaa. Kyselylomake sisältää kysymyksiä koskien henkilön taustaa ja tulosten tulkinnan olosuhteita. Kysymyksiin on annettu valmiit vastausvaihtoehdot. Diagnostisten pikatestitikkujen tulosten tulkinta toteutetaan niin, että kukin osallistuja tulkitsee tulokset omatoimisesti lomakkeelle. Jokainen tutkimukseen osallistuja tulkitsee samat pikatestitikut, jonka vuoksi tutkimus toteutetaan porrastetusti. Tutkija on paikalla tutkimusajankohtana. Tutkimukseen osallistuminen kestää kunkin osallistujan kohdalla enintään 10 minuuttia. Osallistumalla tutkimukseen voitte antaa palautetta Actim pikatestitikkujen käytettävyyydestä ja vaikuttaa tuotteiden kehitykseen. Toimeksiantajayritys on luvannut kiittää osallistujia elokuvalipulla.

Sain yhteystietonne Actim Oy:n asiakasrekisteristä. Actim Oy:lla on lista sairaaloista ja terveyskeskuksista, joihin organisaation valmistamia pikatestitikkuja toimitetaan. Actim pikatestitikkuja käyttävistä Suomen asiakkaita tutkimukseen valittiin ne, joista tavoitetaan yhdellä kertaa useita tutkimukseen soveltuvia henkilöitä. Tutkimukseen toivotaan osallistuvan myös sellaisia terveydenhuollon ammattilaisia, jotka eivät ole käyttäneet kyseisiä pikatestejä aiemmin.

Teillä on oikeus osallistua tutkimukseen vapaaehtoisesti mutta myös kieltäytyä osallistumasta. Teillä on myös oikeus keskeyttää osallistuminen milloin tahansa ilman perusteluja ja kielteisiä seuraamuksia. Kyselylomakkeet täytetään anonyymisti ja tutkimusaineistoa käytetään kertaluontoisesti aihetta koskevassa tutkimuksessa.

Opinnäytetyöni ohjaajina toimivat Savonia ammattikorkeakoulun yliopettaja Leena Tikka sekä Oy Medix Biochemica AB:n/Actim Oy:n laatujohtaja Hanna Kostia.

Halutessanne osallistua tutkimukseen, toivoisin pikaista yhteydenottoa minuun.

Aino.Kervinen@edu.savonia.fi tai puhelimitse 050 3622 846.

Ystävällisin terveisin

Aino Kervinen

Bioanalytikko – Metropolia ammattikorkeakoulu, Kliininen asiantuntija YAMK-opiskelija – Savonia amk

Diagnostisten pikatestitikkujen tulkinta ja siihen vaikuttavat tekijät
Testauspöytäkirja – opinnäytetyö Actim Oy

1(4)

Käytetyt materiaalit:

Testitikut:	LOT <u>0045588</u>	REF <u>30801ETAC</u>	exp. <u>2022-07-08</u>
Testitikut:	LOT <u>0044622</u>	REF <u>30801ETAC</u>	exp. <u>2022-02-20</u>
Puskuri:	Specimen Extraction Solution REF 80059 ja 30803ET		
In House kontrollit:	IGFBP-1 kontrolli 25 µg/l REF 30811MB		
	IGFBP-1 kontrolli 25 µg/l REF 30811MB, laimennetaan pitoisuus 4 µg/l		
	IGFBP-1 kontrolli 25 µg/l REF 30811MB, laimennetaan pitoisuus 7,5 µg/l		
	IGFBP-1 kontrolli 25 µg/l REF 30811MB, laimennetaan pitoisuus 12,5 µg/l		
	IGFBP-1 kontrolli 100 µg/l REF 30813MB		

IGFBP-1 kontrolli 25 µg/l REF 30811MB	LOT <u>0045411</u>	exp. <u>2025-06-01</u>
IGFBP-1 kontrolli 100 µg/l REF 30813MB	LOT <u>0041056</u>	exp. <u>2023-08-21</u>
Specimen Extraction Solution REF <u>80059</u>	LOT <u>0045536</u>	exp. <u>2022-07-09</u>

PROM testikontrolli laimennokset:

Haluttu pitoisuus:	Laimennossuhde:
4 µg/l	<u>160 µl</u> 25µg/l + <u>840 µl</u> Specimen Extraction Solution
7,5 µg/l	<u>300 µl</u> 25µg/l + <u>700 µl</u> Specimen Extraction Solution
12,5 µg/l	<u>500 µl</u> 25µg/l + <u>500 µl</u> Specimen Extraction Solution

pvm. 25.9.20 tekijä AK

Käytetyt pipetit: 3866 kalibroitu: 11.9.2020
3867 11.9.2020

Käytetyt kellot: 3830 Kontrollit laimennettu:
3831 7.30 - 8.05 pvm. 25.9.20 tekijä AK
-
-
-
Kontrollit laimennettu:
9.30 - 10.00 pvm. 25.9.20 tekijä AK

pvm. 25.9.20 tekijä AK

Diagnostisten pikatestitikkujen tulkinta ja siihen vaikuttavat tekijät
Testauspöytäkirja – opinnäytetyö Actim Oy

2(4)

Hyväksymisvaatimukset 5 minuutin jälkeen tulkituille tuloksille noudattaa ”Testausohje PROM
Dipstick” vaatimuksia.

Kontrolli			REF	Näyte- määrä	Vaatimus Spes. Viiva Kontr. Viiva	
Negatiivinen kontrolli	Specimen Extraction olution		REF 80059	3	- (0)	+ (3-4)
Negatiivinen kontrolli	IGFBP-1	4 µg/l	30811MB laim. 4 µg/l	-	-	+ (3-4)
Negatiivinen kontrolli	IGFBP-1	7,5 µg/l	30811MB laim. 7,5 µg/l	-	-	+ (3-4)
Negatiivinen kontrolli, moderate	IGFBP-1	12,5 µg/l	30811MB laim. 12,5 µg/l	-	- (0-1)	+ (3-4)
Detektoriraja kontrolli	IGFBP-1	25 µg/l	30811MB	13/50	+ (2-3)	+ (3-4)
Positiivinen kontrolli	IGFBP-1	100 µg/l	30813MB	3	+ (2-4)	+ (3-4)

Testitulokset:

Kontrolli:	testattu tikkumäärä	virheellistä tikkua
Negatiivinen Spec.Extr.Sol	2	0
Negatiivinen IGFBP-1 4 µg/l	3	0
Negatiivinen IGFBP-1 7,5 µg/l	5	0
Negatiivinen IGFBP-1 12,5 µg/l	4	0
Positiivinen IGFBP-1 25 µg/l	4	0
Positiivinen IGFBP-1 100 µg/l	4	0

pvm. 25.9.20 tekijä AK

Diagnostisten pikatestitikkujen tulkinta ja siihen vaikuttavat tekijät
Testauspöytäkirja – opinnäytetyö Actim Oy

3(4)

Testitikkuv	Kontrolli	Tulos 5 min		Tulos 1 vrk		Ingeni tulos	jälk.
		spes.	kontr.	spes.	kontr.	Peak-arvo emen	
3.	1 Spec.Extr.Sol 0 µg/l	0	4	0	4	68, 78, 78	78, 68, 49
9.	2 Spec.Extr.Sol 0 µg/l	0	4	0	4	69, 58, 49	50, 69, 49
5.	3 IGFBP-1 4 µg/l	0	4	1	4	323, 332, 341	342, 322, 342
6.	4 IGFBP-1 4 µg/l	0	4	1	4	323, 343, 342	300, 380, 380
12.	5 IGFBP-1 4 µg/l	0	4	1	4	361, 361, 361	342, 351, 342
2.	6 IGFBP-1 7,5 µg/l	1	4	2	4	879, 879, 880	870, 870, 891
8.	7 IGFBP-1 7,5 µg/l	1	4	2	4	704, 723, 714	604, 674, 708
10.	8 IGFBP-1 7,5 µg/l	1	4	2	4	724, 714, 714	704, 605, 624
14.	9 IGFBP-1 7,5 µg/l	1	4	2	4	636, 637, 627	618, 614, 636
	10 IGFBP-1 7,5 µg/l	1	4	2	4	867, 867, 877	
	11 IGFBP-1 12,5 µg/l	1	4	3	4	996, 976, 966	
	12 IGFBP-1 12,5 µg/l	1	4	3	4	930, 951, 949	
	13 IGFBP-1 12,5 µg/l	1	4	3	4	828, 828, 848	
	14 IGFBP-1 12,5 µg/l	1	4	3	4	994, 994, 984	
	15 IGFBP-1 25 µg/l	2	4	3	4	1503, 1492, 1482	
4.	16 IGFBP-1 25 µg/l	2	4	3	4	1632, 1642, 1642	1652, 1641, 1672
7.	17 IGFBP-1 25 µg/l	2	4	3	4	1750, 1779, 1740	1749, 1739, 1729
13.	18 IGFBP-1 25 µg/l	2	4	3	4	1501, 1492, 1502	1462, 1482, 1472
1.	19 IGFBP-1 100 µg/l	4	4	4	4	3198, 3208, 3216	3206, 3205, 3205
11.	20 IGFBP-1 100 µg/l	4	4	4	4	3187, 3196, 3196	3144, 3144, 3164
	21 IGFBP-1 100 µg/l	4	4	4	4	3320, 3310, 3310	
	22 IGFBP-1 100 µg/l	4	4	4	4	3142, 3180, 3172	

Kaikki 5 minuutin jälkeen luetut testitulokset täyttävät vaatimukset.

+ koij. 5.10.2020 AK

Tulosten tulkinta 5 min. pvm. 25.9.2020 tekijä Sm

Tulosten tulkinta 3,5 vrk. pvm. 29.9.2020 tekijä Sm

Tulosten tulkinta 1ngeni pvm. 29.9.2020 tekijä AK
5.10.2020 AK

Diagnostisten pikatestitikkujen tulkinta ja siihen vaikuttavat tekijät
Testauspöytäkirja – opinnäytetyö Actim Oy

4(4)

Actim Ingeni laitenumero 032211Instrument check pvm. OK 29.9.2020
OK 5.10.2020

Laatija Aino Kervinen 8.1.2020

Muokattu Aino Kervinen 29.9.2020

Testausmenetelmän validointisuunnitelma
Pikatestiviivojen tulkitseminen

Actim Oy

18.1.20 AIKE

LIITE 1. TESTAUSPÖYTÄKIRJA

1(1)

LIITE 1. TESTAUSPÖYTÄKIRJA

Kirjaa testitikkujen viivojen vahvuudet numeerisesti (0-4) ohjeen "Pikatestiviivojen värikartta" mukaisesti.

Testitikku	Spesifinen viiva	5.10.20	Kontrolliviiva
1	4	4	4
2	2	2	4
3	0	0	4
4	3	3	4
5	1	1	4
6	1	1	4
7	3	3	4
8	2	2	4
9	0	0	4
10	2	2	4
11	4	4	4
12	1	1	4
13	3	3	4
14	2	2	4
15	—		4 KOTI, 18.5.201

Pvm./testaaja 29.3.20/SL

1 VALIDOINNIN TARKOITUS JA SOVELTUVUUS

Validoinnin tarkoituksena oli osoittaa, että pikatestiivivojen tulkitseminen ohjeen "Pikatestiivivojen värikartta" liitettä QC4998 apuna käyttäen tapahtuu samalla tavalla testaajasta riippumatta. Validointi tehtiin kuivilla PROM testitikuilla. PROM testitikut edustavat kaikkia testejä, joissa pikatestiivivat ovat sinisiä.

2 VALIDOINNIN VASTUUT JA VALTUUDET

Validointiraportin on laatinut Actim Oy:n laborantti Aino Kervinen osana ylemmän ammattikorkeakoulun opinnäytetyötä "Diagnostisten pikatestien tulkinta ja siihen vaikuttavat tekijät". Validoinnin hyväksyivät pikatestien Actim Oy:n laadunvarmistuspäällikkö sekä toinen QA:n edustaja.

Kaikki työntekijät, jotka tulkitsevat pikatestien tuloksia työssään, osallistuivat validointiin tulkitsemalla pikatestitikkujen tulokset voimassa olevien ohjeistusten mukaisesti. Joensuussa pikatestitikkujen tulokset tulkitsivat pikatestien laadunvalvonnan laborantti, pikatestihuoneen laborantti, kehitysinsinööri ja laadunvarmistuspäällikkö. Espoossa testitikkujen tuloksia tulkitsivat kolme laboranttia laadunvalvonnasta sekä yksi laborantti tuotekehityksestä.

3 VALIDOINNIN SUORITUS

3.1 Validoinnin edellytykset

Pikatestitikkuja valmistettaessa varmistettiin, että pipetit ja kellot oli kalibroitu ja kalibroinnit olivat voimassa. In-House kontrollit ja pikatestitikut olivat hyväksytyjä ja voimassa olevia.

3.2 Validoinnissa käytetyt materiaalit

PROM Testitikut	REF 30801ETAC, LOT 0044115	exp. 2021-12-04
IGFBP-1 kontrolli 25 µg/l	REF 30811MB, LOT 0041055	exp. 2023-08-12
IGFBP-1 kontrolli 100 µg/l	REF 30813MB, LOT 0041056	exp. 2023-08-12
Specimen Extraction Solution	REF 80059 ja 30803ET, LOT 0043680	exp. 2021-10-02

Validoinnissa käytettyjen pikatestitikkujen ja kontrollien valmistusprosessit olivat validoituja.

3.3 Ohjeet

Testausohje PROM Dipstick hyv. 2019-03-12
Ohje QC4998 Pikatestiviivojen värikartta hyv. 2019-04-03
Liite 1 ohjeeseen Pikatestiviivojen värikartta – käytössä vuoden 2011 värikartta

Kaikki ohjeet olivat hyväksytyjä ja voimassaolevia.

3.4 Laitteet

Testitikkujen valmistuksessa käytetyt laitteet:

Pipetit 3866, 3867	kalibroitu 5.9.19
Vortex-sekoitin	
Kellot 3830, 3831, 3834	kalibroitu 24.5.19
Ingeni lukulaitteet 032138 ja 037538	

Kaikki laitteet olivat hyväksytyjä ja pipettien/kellojen kalibroinnit olivat voimassa.

3.5 Validoinnissa käytettyjen testitikkujen valmistus

Validointi suoritettiin kuivilla testitikuilla. Näin varmistettiin, että kaikki lukijat tulkitsivat samat testitikut ja samanvahvuiset testiviivat. Testitikut valittiin varastoerästä, joka oli testattu ja hyväksytyt laatu- ja järjestelmän mukaisesti. Testitikkua valmistettiin kahtena päivänä erivahvuisilla kontrolleilla (0, 2, 5, 7,5, 10, 12,5, 25 ja 100 µg/l). Kontrollit valmistettiin ja testitikut testattiin voimassaolevan ohjeistuksen "Testausohje PROM Dipstick" mukaisesti. Testitikkujen valmistuksessa noudatettiin hyviä laboratorioskäytänteitä, tarkkaa dokumentointia sekä yleisiä organisaation ohjeistuksia. Käytännön työtä ohjasivat Joensuun tuotantolaitoksen laadunvarmistuspäällikkö sekä laadunvalvonnan laborantti. Kokenut laborantti tulkitse testitikkujen tulokset 5 minuutin jälkeen vertaamalla viivojen vahvuuksia tikkuvärikarttaan QC4998. Tulokset hyväksyttiin "Testausohje PROM Dipstick" hyväksymisrajojen mukaisesti. Kaikki testitikut täyttivät laatuvaatimukset. Testitikkujen annettiin kuivua valolta suojattuina olosuhdekontrolloidussa huoneessa yhden vuorokauden ajan, jonka jälkeen tulokset tulkitettiin uudelleen värikarttaan verraten. Testiviivoille annettiin numeeriset arvot QC4998 Pikatestiviivojen värikartta ohjeen mukaisesti. Testitikuista valittiin 14 tikkua, jotka edustivat tuloksiltaan kattavasti numeerista skaalaa 0-4. Testitikut uudelleenjärjestettiin niin, että kontrollipitoisuudet ja numeeriset tulokset eivät tulleet testaaajien tietoon. Testitikut pakattiin laatikkoon ja säilytettiin varastossa validoinnin suorittamiseen saakka.

Taulukko 1. Validointiin valittujen testitikkujen numeeriset tulokset, valmistuskonsentraatiot ja Peak-arvot.

Tulos 0-4	C (µg/l)	Peak- arvo 1x	Peak- arvo 2x	Peak- arvo 3x	Peak ka	Peak s	Tikun nro
0	0	57	38	38	44,3	11,0	6
0	0	48	48	38	44,7	5,8	9
1	5	458	439	457	451,3	10,7	2
1	5	440	389	399	409,3	27,0	10
1	5	389	399	389	392,3	5,8	13
2	7,5	614	635	625	624,7	10,5	1
2	7,5	653	653	674	660,0	12,1	4
2	10	664	660	660	661,3	2,3	11
3	12,5	1031	1041	1031	1034,3	5,8	5
3	12,5	882	891	920	897,7	19,9	7
3	12,5	1039	1039	1039	1039,0	0,0	12
4	100	2950	2941	2941	2944,0	5,2	3
4	100	3539	3549	3548	3545,3	5,5	8
4	100	2744	2743	2754	2747,0	6,1	14

Taulukossa esitetään kontrollipitoisuudet, joilla saatiin numeeriset tulokset (0-4) testitikkujen kuivut-tua. Peak-arvot määritettiin Actim Ingeni-laitteella kolme kertaa kustakin testitikusta. Jokaiselle tes-titikulle laskettiin Peak arvojen keskiarvo ja keskihajonta. Peak arvot mitattiin lisätiedon saamiseksi eikä niille asetettu hyväksymiskriteereitä. Validointiin käytettävien testitikkujen valinta suoritettiin visuaalisen tulkinnan perusteella.

Testitikut valmistettiin pienimmästä pitoisuudesta suurimpaan ja numeroitiin (1-14) tulosten varmis-tuttua. Kaikki testitikut täyttivät hyväksymisvaatimukset 5 min tulosten tulkinnan jälkeen (LIITE 1).

3.6 Validoinnin suoritus

Jokainen laborantti tulkitsi pikatestiviivojen värikarttaa apuna käyttäen tikkuun muodostuneiden vii-vojen (spesifinen viiva, kontrolliviiva) vahvuudet ja kirjasi ne testauspöytäkirjaan. Tulosten tulkinnan aikana laborantit eivät saaneet keskustella eivätkä näyttää tuloksia toisilleen.

Validoinnissa testattiin lisäksi opinnäytetyöhön liittyvän kyselylomakkeen toimivuus.

4 VALIDOINNIN TULOKSET

TAULUKKO 2. Pikatestitikkujen tuloksia työssään tulkitsevien henkilöiden (T1-T8) saamat numeeriset tulokset testitikuista (1-14).

Testi- tikku	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	Kontr.
QC tulos	2	1	4	2	3	0	3	4	0	1	2	3	1	4	4
T1	2	1	4	2	3	0	3	4	0	1	2	3	1	4	4
T2	2	1	4	2	3	0	3	4	0	1	2	3	1	4	4
T3	2	1	4	2	3	0	2	4	0	1	2	3	1	4	4
T4	2	1	4	2	3	0	2	4	0	1	2	2	1	4	4
T5	2	1	4	2	3	0	3	4	0	1	2	3	1	4	4
T6	2	1	4	2	3	0	3	4	0	1	2	3	1	4	4
T7	2	1	4	2	3	0	3	4	0	1	2	3	1	4	4
T8	2	1	4	2	3	0	2	4	0	1	2	3	1	4	4
min	2	1	4	2	3	0	2	4	0	1	2	2	1	4	4
max	2	1	4	2	3	0	3	4	0	1	2	3	1	4	4
ka	2	1	4	2	3	0	2,63	4	0	1	2	2,88	1	4	4
s	0	0	0	0	0	0	0,52	0	0	0	0	0,35	0	0	0

Yläriivin QC tulos kuvaa laboratorion kokeneen laborantin tulkitsemat pikatestitikkujen tulokset ennen validointia. Sisäisen validoinnin tuloksia verrattiin QC tulokseen. Tuloksista määritettiin minimi, maksimi, keskiarvo ja keskihajonta.

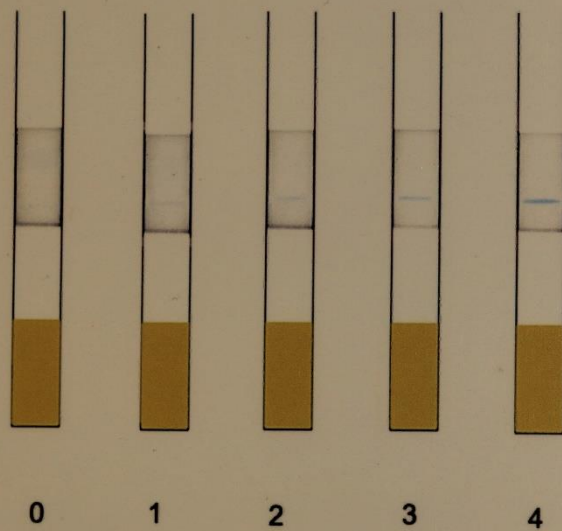
Pikatestiivojen tulkitseminen sujui organisaation sisäisessä validoinnissa yhtenäisesti kaikkien kahdeksan osallistujan kesken. Testitikulle 7 viisi tulkitsejää antoi tuloksen 3 ja kolme tuloksen 2 (numeerinen taso 3). Testitikulle 12 yksi tulkitsejä antoi tuloksen 2 ja seitsemän muuta tuloksen 3 (numeerinen taso 3). Muut tulokset olivat yhtenevät. Kontrollit tulkitettiin jokaisessa testitikussa jokaisen osallistujan toimesta numeeriselle tasolle 4.

Opinnäytetyöhön liittyvä kyselylomake todettiin työhön soveltuvaksi.

5 VALIDOINNIN HYVÄKSYNTÄ

Validointisuunnitelmassa esitetyt hyväksyntävaatimukset täyttyivät. Testaus voidaan hyväksyä, sillä eri lukijoiden välillä ei ollut merkittäviä eroja (≤ 1) tulosten tulkinnassa samalla kontrollipitoisuudella, eli lukutulos vaihteli ainoastaan lukeman 1 verran ja hajonta oli pieni.

Pikatestit



MEDIX BIOCHEMICA OY AB
Asematie 13
FIN-02700
Finland

25.8.2011
Liite 1 Ohjeeseen QC4998

Numeerinen tulos 1

Koulutus	1	2	5	Yhteensä
Neg. tulos	25 %	21 %	20 %	21 %
Pos. tulos	75 %	79 %	80 %	79 %
Yhteensä	100 %	100 %	100 %	100 %
	4	68	5	

Käyttökokemus

	1	2	Yhteensä
Pos.tulos	20 %	33 %	21 %
Neg. tulos	80 %	67 %	79 %
Yhteensä	100 %	100 %	100 %
n	74	3	

Tulkinnan haastavuus

	2	3	4	5	Yhteensä
Neg. tulos	20 %	42 %	28 %	3 %	19 %
Pos. tulos	80 %	58 %	72 %	97 %	81 %
Yhteensä	100 %	100 %	100 %	100 %	100 %
n	5	12	25	31	

Numeerinen tulos 2

Koulutus	1	2	5	Yhteensä
Pos. tulos	75 %	82 %	80 %	82 %
Neg. tulos	25 %	18 %	20 %	18 %
Yhteensä	100 %	100 %	100 %	100 %
n	4	68	5	77

Käyttökokemus

	1	2	Yhteensä
Pos.tulos	82 %	67 %	82 %
Neg.tulos	18 %	33 %	18 %
Yhteensä	100 %	100 %	100 %
	74	3	77

Tulkinnan haastavuus

	2	3	4	5 (tyhjä)	Yhteensä	
Pos.tulos	80 %	75 %	80 %	94 %	25 %	82 %
Neg.tulos	20 %	25 %	20 %	6 %	75 %	18 %
Yhteensä	100 %	100 %	100 %	100 %	100 %	100 %
n	5	12	25	31	4	77