



Reetta Aller ja Sofia Troberg

Lipemian aiheuttaman häiriön vaikutus kliinisen kemian ja immunokemian tutkimuksissa

Metropolia Ammattikorkeakoulu

Bioanalytiikka (AMK)

Bioanalytiikan tutkinto-ohjelma

Opinnäytetyö

19.11.2021

Tekijä	Reetta Aller ja Sofia Troberg
Otsikko	Lipemian aiheuttaman häiriön vaikutus kliinisen kemian ja immunokemian tutkimuksissa
Sivumäärä	82 sivua
Aika	19.11.2021
Tutkinto	Bioanalyttikko (AMK)
Tutkinto-ohjelma	Bioanalytiikan tutkinto-ohjelma
Ohjaajat	Lehtori Heidi Malava Sairaalakemisti Mia Sneck Sairaalakemisti Sanna Taskinen
<p>Opinnäytetyö toteutettiin yhteistyössä Vita Laboratorioiden kanssa. Työn tarkoituksena oli selvittää lipemian aiheuttaman häiriön vaikutusta Roche Cobas Pro -laitteistolla analysoitavissa kemian ja immunokemian tutkimuksissa. Tutkimuksella haluttiin havainnollistaa mahdollisen häiriön suuruus sekä millä lipemiapitoisuudella häiriö ilmaantuu. Lisäksi haluttiin selvittää, sopiiko tutkittava analyysi analysoitavaksi kirkastuksen jälkeen. Tavoitteena oli verifioida laitevalmistaja Roche Diagnostics Oy:n antamat lipemian häiriövaikutustiedot. Näiden tietojen pohjalta pohdittiin, onko Vita Laboratorioiden tämänhetkinen ohjeistus riittävä.</p> <p>Opinnäytetyötä varten valmistettiin kolme eri näytepoolia ja jokaisesta valmistettiin lipemiapitoisuuden suhteen nousevat laimennossarjat käyttäen kaupallista Intralipid-valmistetta sekä vettä. Näytesarjoista analysoitiin ALAT, ASAT, Bil-Kj, CRP, K, CK, Krea, Sappih, D-vit, Korsol ja Testo kahtena rinnakkaisena mittauksena. Analysoinnin jälkeen näytteet kirkastettiin sentrifugoimalla 50 000 G:n voimalla ja kirkastetut näytteet analysoitiin uudelleen. Lisäksi työhön valmistettiin lipidiseos käyttäen selvästi lipeemisiä hävitykseen meneviä näytteitä. Lipidiseoksesta valmistettiin yksi lipemiataso. Analysoinneista saadut tulokset siirrettiin Microsoft Excel -taulukkolaskentaohjelmaan. Tuloksista laskettiin rinnakkaisten mittausten välinen keskiarvo ja keskihajonta sekä sarjan sisäistä variaatiota tarkasteltiin Dahlbergin menetelmällä lasketulla variaatiokertoimella.</p> <p>Lipemia aiheutti merkittävää häiriötä ALAT-, ASAT-, Bil-Kj, K-, CK-, Krea-, Sappih-, D-Vit-, ja Testo-tutkimuksissa. CRP- ja Korsol-tutkimusten kohdalla ei havaittu lipemian aiheuttamaa häiriötä tutkituilla lipemiapitoisuuksilla. Lipemia aiheutti analyysin pitoisuuden virheellisen laskun ALAT-, ASAT-, Krea-, D-Vit- ja Testo-tutkimuksissa. K-, Bil-Kj- ja Sappih-tutkimuksissa lipemia aiheutti analyysin pitoisuuden virheellisen nousun. Tutkittavissa analyysiteissä häiriö saatiin poistettua sentrifugoimalla näytteet. Tämän tutkimuksen perusteella sentrifugointia voidaan käyttää luotettavana tapana poistaa lipemiaa. Laitevalmistaja Roche Diagnostics Oy:n antamia lipemiahäiriörajoja analyysiteille ei saatu kaikilta osin toistettua. Laitevalmistajalta saadut tiedot lipemian aiheuttaman häiriön suunnasta olivat toistettavissa lähes kaikkien analyysiteiden kohdalla. Joidenkin analyysiteiden kohdalla saatiin uutta tietoa häiriörajoista ja häiriön suunnasta.</p> <p>Työssä saatiin uutta tietoa lipemian aiheuttamasta häiriöstä. Työssä saatujen tulosten perusteella voimme todeta, että laitevalmistajalta saaduista häiriötiedoista huolimatta, jokaisen laboratorion on syytä verifioida rajat omaan käyttöönsä soveltuviksi. Opinnäytetyössä saatuja tuloksia voidaan hyödyntää Vita Laboratorioiden ohjeistuksessa koskien lipemiaa ja näytteiden kirkastusta.</p>	
Avainsanat	lipemia, lipemia-indeksi, häiriövaikutus

Author	Reetta Aller and Sofia Troberg
Title	Interference of Lipemia in Clinical Chemistry and Immunochemistry Assays
Number of Pages	82 pages
Date	19 November 2021
Degree	Bachelor of Health Care
Degree Programme	Biomedical Laboratory Science
Instructors	Heidi Malava, Lecturer Mia Sneck, Clinical Biochemist Sanna Taskinen, Clinical Biochemist
<p>The purpose of this study was to investigate the interference of lipemia in clinical chemistry and immunochemistry assays. Our purpose was to find out the extent of the possible interference and the concentration of lipemia at which the interference occurs. In addition, it was determined whether the analyte was suitable for analysis after removing lipemia. Specimens were analyzed on Roche Cobas Pro analytical unit. The aim of the study was to verify the data on the interference of lipemia provided by the manufacturer Roche Diagnostics Oy. The thesis was carried out in collaboration with Vita Laboratories.</p> <p>Three sample pools were prepared for the study. Dilution series with increasing lipemia concentration were prepared using a commercial Intralipid substance and water. ALT, AST, bilirubin conjugate, CRP, potassium, creatinine, bile acid, vitamin D, cortisol and testosterone were analyzed as two parallel measurements. After analysis, the lipemia was removed with centrifugation at 50 000 G and the samples were re-analyzed from clear serum. A lipid mixture was also prepared for the study using clearly lipemic samples. The prepared lipid mixture was used to create one diluted sample for the study. The results were analyzed using Microsoft Excel program. Standard deviation and the mean were calculated from the results. Dahlberg equation was used to calculate the coefficient of variation.</p> <p>Lipemia caused significant interference in ALT, AST, bilirubin conjugate, potassium, creatinine, bile acid, vitamin D and testosterone measurements. With studied levels of lipemia, no interference was detected in CRP and cortisol measurements. Lipemia caused an incorrect decrease in analyte concentration levels in ALT, AST, creatinine, and testosterone. In potassium, bilirubin conjugate and bile acid measurements lipemia caused an incorrect increase in analyte concentration levels. In the studied assays centrifugation was proven to be a reliable way to remove lipemia. The given lipemia interference data from the device manufacturer could not totally be verified in this study. For some analytes, new information was obtained on the limits of interference and the direction of the interference.</p> <p>The study provided new information on the interference caused by lipemia. Based on the results obtained in this study, we can state that the data from the device manufacturer should always be verified in laboratories. The results from this thesis can be utilized in guidelines of Vita Laboratories regarding lipemia interference and lipemia removal.</p>	
Keywords	lipemia, lipemia index, interference

Sisällys

1	Johdanto	1
2	Lipemia	2
2.1	Lipemian vaikutukset analyysiin	3
2.1.1	Spektrofotometriset menetelmät	3
2.1.2	Plasman segmentoituminen	4
2.1.3	Vesitilan syrjäytyminen	4
2.1.4	Immunologiset menetelmät	4
2.2	Lipemian poisto	4
2.3	Lipemiaindeksi	5
3	Tarkoitus, tavoitteet, tutkimuskysymykset	7
4	Menetelmät	8
4.1	Näyttemateriaalin keruu ja näytepoolien valmistus	8
4.2	Laimennossarjat	10
4.3	Näytteiden analysointi Roche Cobas Pro -analysaattorilla	11
4.4	Kirkastus	12
4.5	Pestyt lipidit	12
4.6	Aineiston analysointimenetelmät	13
5	Tulokset	14
5.1	Alaniiniaminotransferaasi	15
5.2	Aspartaattiaminotransferaasi	21
5.3	Bilirubiinikonjugaatit	27
5.4	Kalium	33
5.5	Kreatiinikinaasi	38
5.6	Kreatiniini	44
5.7	Sappihapot	50
5.8	D-vitamiini	55
5.9	Testosteroni	61
5.10	Muut analyytit	67
5.10.1	CRP	67
5.10.2	Kortisoli	68
6	Pohdinta	69
6.1	Tulosten tarkastelu	70

6.2	Johtopäätökset	74
6.3	Eettisyys	75
6.4	Luotettavuus	76
6.5	Kehittämisehdotukset	78
6.6	Ammatillinen kasvu	78
	Lähteet	80

1 Johdanto

Kliinisen laboratorion tulosten luotettavuudella on suuri merkitys potilaan oikeanlaisessa hoidossa. Tutkimusten mukaan jopa puolet kliinisen laboratorion virheistä aiheutuvat preanalyyttisten virheiden takia. Nämä virheet saattavat vaikuttaa merkittävästi näytteen laatuun sekä näin analyysiin. Tällöin suuressa roolissa on analysoitavien näytteiden laadun arviointi. (Calmarza & Cordero 2011: 160; Soleimani & Mohammadzadeh & Asadian 2020: 1.) Näihin virheisiin lukeutuu muun muassa näytteen lipeemisyys ja se onkin yksi yleisimmistä laboratoriotulosten luotettavuuteen vaikuttavista tekijöistä (Nikolac 2014: 57).

Lipemia tarkoittaa näytteen sameutta, joka johtuu näytteessä olevista lipoproteiinipartikkeleista. Näytteen sameus on usein paljaalla silmällä nähtävissä. Sameus aiheuttaa häiriötä osassa menetelmiä antaen virheellisiä tuloksia. (Roche 2007: 12.) Näytteen lipeemisyys voi johtua useista eri tekijöistä ja yleisin niistä on riittämätön paasto ennen näytteenottoa. Muita merkittäviä lipemian aiheuttajia ovat potilaan mahdolliset sairaudet ja lääkkitykset. (Mainali & Davis & Krakowski 2017: 2.)

Tässä opinnäytetyössä oli tarkoituksena selvittää lipemian vaikutusta Rochen Cobas Pro -linjaston c503 kemian analysaattorilla ja e801 immunokemian analysaattorilla tehtäviin tutkimuksiin. Lisäksi tutkittiin näytteiden kirkastuksen vaikutusta analyttien tulos-tasoon. Tutkimukseen valmistettiin kolme eri näytepoolia ja jokaisesta tehtiin laimennossarjat lisäämällä eri määrät lipidivalmistetta, jolloin jokaisesta poolista saatiin lipe-miapitoisuuden suhteen kasvava näytesarja. Analysoinnin jälkeen näytesarjat kirkastet-tiin sentrifugoimalla. Saatuja tuloksia tarkasteltiin Microsoft Excel-ohjelmalla. Tutkimus tehtiin Vita Laboratorioille ja toteutettiin heidän tiloissaan. Tutkimuksen ohjaajina toimi-vat Vita Laboratorioiden sairaalakemistit Mia Sneck ja Sanna Taskinen, sekä Metro-polia Ammattikorkeakoulusta lehtori Heidi Malava.

2 Lipemia

Lipemia tarkoittaa näytteen sameutta, joka johtuu näytteessä olevista lipoproteiinipartikkeleista. Lipoproteiineja on eri kokoisia, ja erityisesti suurimmat partikkelit, kylomikronit, aiheuttavat sameutta. (Nikolac 2014: 58.) Kylomikronit ovat halkaisijaltaan 100 nm:sta jopa 1000 nm:iin asti. Lisäksi lipoproteiineja on myös VLDL- (very low density lipoproteins), IDL- (intermediate density lipoproteins), LDL- (low density lipoproteins) sekä HDL-molekyylit (high density lipoproteins). VLDL-molekyylit ovat seuraavaksi suurimpia ja halkaisijaltaan noin 30-90 nm. Pienimpiä lipoproteiineja ovat LDL-molekyylit (noin 20nm) sekä HDL-molekyylit (noin 8-12 nm). Pääsääntöisesti nämä pienemmät lipoproteiinipartikkelit eivät aiheuta silminnähtävää sameutta, mutta voivat silti häiritä analytiikkaa. (Mahley & Innerarity & Rall & Weisgraber 1984: 1277-1278; Nikolac 2014: 58.)

Lipoproteiinit ovat vesiliukoisia makromolekyyliä ja niiden päätehtävänä on kuljettaa hydrofobiset rasvamolekyylit elimistön käyttöön. Merkittävimpiä rasvamolekyyliä ovat kolesteroli, fosfolipidit sekä triglyseridit. Plasman ollessa vesipohjainen liuos eivät rasvamolekyylit liukene sellaisenaan veteen. Plasmassa on lipidikuljetusjärjestelmä, joka koostuu lipoproteiineista, joiden avulla rasvamolekyylit kuljetetaan elimistössä. Lipoproteiinien ydin muodostuu poolittomista lipideistä ja kuori koostuu fosfolipideistä, apolipoproteiineista ja esteröitymättömästä kolesterolista. (Miller 1979: 640.) Jotta lipidimolekyylit saadaan kuljetettua vesiliuoksessa, tulee ne pakata niin, että hydrofiiliset osat ovat vesifaasia kohti molekyylin pinnalla ja hydrofobiset osat ovat molekyylin sisällä lipoproteiinin ydintä kohti. Lipoproteiinien kuoren proteiiniosilla on tärkeä rooli lipoproteiinien tunnistuksessa solupinnoilla. (Nordestgaard 2017: 1638; Meisenberg & Simmons 2012: 424.)

Monet tekijät aiheuttavat lipemiaa. Yleisin syy on se, ettei potilas ole paastonnut ennen verinäytteenottoa. Aterian nauttimisen jälkeen suurin osa plasman triglyserideistä on peräisin kylomikroneista, jotka siirtyvät suolen seinämästä verenkiertoon. Paastotilassa (12 tuntia) plasmassa ei esiinny kylomikroneita vaan suurin osa plasman triglyserideistä on sitoutuneena VLDL-partikkeleihin. (Meisenberg & Simmons 2012: 425; Vita Laboratoriot 2021c.) Kahdentoista tunnin paastolla pyritään siis varmistumaan siitä, ettei aterian jälkeiset triglyseridit vaikuttaisi lipidimäärityksiin (Leiviskä & Kouri & Pulkki 2017: 127.)

Toinen syy saattaa myös olla suurentunut triglyseridipitoisuus, joka voi johtua runsaasta alkoholin käytöstä tai joistain sairauksista, kuten esimerkiksi diabeteksesta tai

munuaisten vajaatoiminnasta. (Mainali & Davis & Krasowski 2017: 2.) Myös tietyt lääkkeet, kuten proteaasin estäjät, estrogeeni ja suun kautta otettavat ehkäisyvalmisteet saattavat olla lipemian syynä (Calmarza & Cordero 2011: 160). Jotkin suonensisäiset valmisteet kuten lipidiemulsiot, esimerkiksi Intralipid-valmiste, aiheuttavat suoraan lipemiasia. Tämä on tavallista sairaalahoitossa olevilla potilailla, jotka saavat lipidiemulsiota parenteraalisena hoitona tai vastalääkkeeksi tiettyjen lääkeaineiden aiheuttamille myrkytyksille. (Mainali & Davis & Krasowski 2017: 2.)

2.1 Lipemian vaikutukset analyysiin

Lipemia voi aiheuttaa häiriöitä biokemiallisissa tutkimuksissa useilla tavoilla. Yleisimmin häiriötä aiheutuu spektrofotometrisissä menetelmissä, mutta myös plasman segmentoituminen ja lipidifaasin erottuminen näytteessä aiheuttavat häiriöitä analysoinnissa. (Soilemani ym. 2020: 1; Krasowski 2019: 3.)

2.1.1 Spektrofotometriset menetelmät

Spektrofotometria on menetelmä, jossa mitataan valon voimakkuutta tietyllä aallonpituudella. Jokainen yhdiste absorboi valoa tietyllä aallonpituudella. Kun valo osuu yhdisteeseen, osa valosta absorboituu itse näytteeseen ja osa kulkee näytteen läpi. Näytteeseen absorboituneen valon määrä on suoraan verrannollinen aineen pitoisuuteen. (Lehtonen & Sihvonen 2004: 211; Saarinen & Lajunen 2004: 190.)

Lipemia häiritsee spektrofotometrisiä menetelmiä absorboimalla valoa ja aiheuttamalla valonsirontaa. Näytteen sameuden vuoksi valo siroaa, eikä se kulkeudu detektoriin. Suurimmat lipidipartikkelit kuten kylomikronit ja VLDL-partikkelit, aiheuttavat suurimman valon sironnan. (Roche 2007: 12.) Lipoproteiinihiukkaset absorboivat myös valoa, jolloin valo ei pääse näytteen läpi (Nikolac 2014: 59).

Lipemia vaikuttaa eniten analyysiin, joissa käytetään matalia aallonpituuksia, sillä lipoproteiinipartikkeleihin absorboituneen valon määrä vähenee sitä mukaa mitä aallonpituus kasvaa eli toisin sanoen absorbanssi on suurinta matalalla aallonpituudella. Tällöin juuri spektrofotometriset mittaukset, joissa käytetään 320 nm aallonpituutta kuten esimerkiksi analyytit ALAT- ja ASAT- entsyymit ovat alttiita tämän tyyppiselle häiriölle. (Cobbold & Crook 2015: 52; Nikolac 2014: 59.)

2.1.2 Plasman segmentoituminen

Jotta kokoverinäytteestä saadaan eroteltua plasma tai seerumi, tulee näyte sentrifugoida. Lipeemiset näytteet saattavat segmentoitua sentrifugoinnissa, jossa hiukkaset jakautuvat tiheyden mukaan. Lipidipartikkeleilla on alhainen tiheys, jolloin ne sijoittuvat putken yläosaan muodostaen kerroksen. Tämä aiheuttaa näytteeseen epähomogeenisuutta. Plasman eri partikkelit jakautuvat kerrokseen niiden polaarisuuden mukaan; poolittomat vesikerrokseen ja polaariset lipidikerrokseen. Useat analyysattorit tunnistavat anturin avulla näyteputken nestepinnan ja pipetoivat analysoitavan näytteen putken yläosasta välttääkseen neulaa menemästä liian syvälle putkeen. Tämä voi johtaa virheellisen korkeisiin tai mataliin tuloksiin johtuen näytteen epähomogeenisuudesta. (Nikolac 2014: 60.)

2.1.3 Vesitilan syrjäytyminen

Vesitilan syrjäytyminen näytteessä vaikuttaa kaikkiin menetelmiin, jotka eivät mittaa analyysin aktiivisuutta (Calmarza & Cordero 2011: 161). Monet analyytit, esimerkiksi elektrolyytit, liukenevat näytteen vesifaasiin, joten tämä vaikuttaa voimakkaasti elektrolyyttien pitoisuuteen (Calmarza & Cordero 2011: 161; Nikolac 2014: 60). Normaalisti plasman osuudesta noin 8% on lipidejä ja veden osuus on 92%, mutta lipeemisessä näytteessä lipidifaasin osuus saattaa nousta jopa 25%:iin. Tällöin veden osuus näytteessä laskee 92%:sta jopa 75%:iin. (Nikolac 2014: 60.) Liekkifotometrillä tai epäsuoralla potentiometrillä mitataan elektrolyyttien pitoisuus plasman kokonaistilavuudesta ja vesifaasin vähentyessä lipidifaasin lisääntymisen takia, saadaan virheellisiä elektrolyyttiarvoja (Leino 2008: 68).

2.1.4 Immunologiset menetelmät

Lipemia voi myös häiritä erilaisissa immunologisissa menetelmissä. Lipoproteiinit voivat estää vasta-aineiden sitoutumiskohtia antigeeni-vasta-ainereaktioissa, jolloin menetelmä saattaa antaa virheellisen korkeita sekä matalia tuloksia riippuen reaktiosta. (Roche 2007: 14.)

2.2 Lipemian poisto

Näytteessä olevaa lipemiaa voidaan poistaa ja analysointi tehdä kirkastetusta näytteestä, jolloin häiriötekijät poistuvat. On useita tapoja poistaa lipemiaa näytteestä: kirkastus sentrifugoinnilla, liuottimien käyttö ja näytteen laimennus. (Soleimani ym 2020:

2.) Ultrasentrifugointi on näistä suositelluin ja tehokkain tapa (Nikolac 2014: 62). Ultrasentrifugointi erottaa näytteen pintaan suuremmat ja vähemmän tiheet partikkelit, kuten kylomikronit ja VLDL-partikkelit (Calmarza & Cordero 2011: 161). Laitteiston korkean hinnan takia, tämä menetelmä ei kuitenkaan ole käytettävissä useimmissa laboratorioissa. Ultrasentrifugointi tapahtuu 100 000–2 000 000 G:n voimalla, mutta myös nopean sentrifugoinnin 10 000 G:n voimalla on todettu erottavan lipidikerroksen riittävän tehokkaasti. Sentrifugoinnin jälkeen putken yläosaan erottunut lipidikerros poistetaan, ja analyysi voidaan suorittaa kirkastetusta näytteestä. Kaikkia näytteitä ei kuitenkaan voida sentrifugoida, sillä esimerkiksi steroidihormonit ja eräät lääkeaineet jakautuvat lipidikerrokseen ja täten saataisiin virheellisen matalia tuloksia. (Nikolac 2014: 62.)

Näytteen laimennos on paras vaihtoehto näytteille, joissa tutkittavat analyytit liukenevat lipidikerrokseen. Näytettä laimennetaan tarpeeksi sameuden aiheuttaman häiriön poistamiseksi, mutta ei liikaa, jotta analyytin pitoisuus säilyisi analyysimenetelmän mittausalueella. (Nikolac 2014: 63.)

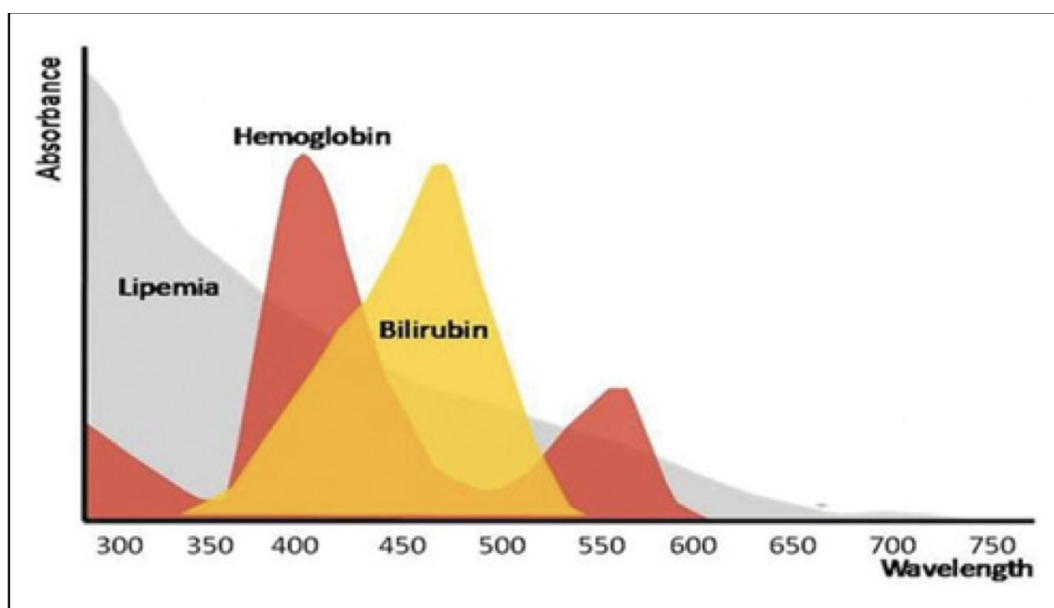
Lipidejä voidaan myös erottaa käyttäen polaarisia liuottimia, kuten esimerkiksi kaupallista LipoClear-tuotetta. LipoClear sisältää ei-ionista ja myrkytöntä polymeeriä, joka sitoo lipidejä. (Castro-Castro ym. 2018: 519.) Näytteen sentrifugoinnin jälkeen hiukkaset saostetaan putken pohjalle, ja analyysi voidaan suorittaa kirkkaasta näytteestä. LipoClear-tuotteen käyttö ei kuitenkaan sovellu kaikkien analyyttien mittaukseen. Se häiritsee muun muassa gammaglutamyyli transferaasin, C-reaktiivisen proteiinin ja kreatiininikinaasin mittauksia. (Nikolac 2014: 62-63; Castro-Castro ym. 2018: 519.)

2.3 Lipemiaindeksi

Lipemian havaitsemiseksi näytteestä on useita menetelmiä, yksinkertaisin niistä on näytteen visuaalinen tarkastus. Tämän tyyppinen näytteen sameuden arviointi ei kuitenkaan korreloi hyvin näytteen todellista triglyseridipitoisuutta, vaan siinä ilmenee merkittäviä epätarkkuuksia ja vaihtelua yksilöiden välillä. (Mainali ym. 2017: 2.) Nykypäivänä suurin osa kliinisen kemian analysointilaitoksista ilmoittavat näytteen lipeemisyden lipemiaindeksin avulla. Tällä tarkoitetaan automaattista lipemia-asteen havaitsemista ja arviointia näytteestä. (Nikolac 2014: 61.)

Lipemiaindeksin käytön tavoitteena on havaita automaattisesti potilaan plasma- ja seeruminäytteistä lipemia, joka voi aiheuttaa häiriötä ja näin vaikuttaa tulosten luotettavuuteen (Agrawal & Hall 2019: 1). Lipemiaindeksin mittaaminen perustuu näytteen laimennamiseen suolaliuoksella tai puskurilla sekä spesifisten aallonpituuksien mittaamiseen.

Lipeemiset näytteet absorboivat valoa 300-700 nm välillä, mutta mittauksissa käytetään noin 700 nm aallonpituutta, koska hemolyytiset ja ikteeriset näytteet absorboivat valoa matalammilla aallonpituuksilla (Kuvio 1). Eri valmistajat käyttävät eri aallonpituuksia, mutta melkein kaikki käyttävät ainakin kahta eri aallonpituutta lipeemisyden mittaamisessa. Esimerkiksi Rochen Cobas -sarjan analysaattorit käyttävät 660/700 nm aallonpituuksia. Näytteen absorbanssi on suoraan verrannollinen näytteessä olevien lipidien määrään. (Nikolac 2014: 61.) Lipemiaindeksi mittaa siis valon sirontaa, joka taas riippuu partikkelien koosta. Indeksillä annetaan arvio näytteen sameudesta, ei triglyseridipitoisuudesta. (Roche 2007: 17.)



Kuvio 1. Absorptiospektri hemolyysille, lipemialle ja ikterialle (Lippi & Ippoliyo & Favaloro 2013: 383). Hemolyysi aiheutuu verisolujen hajoamisesta ennen plasman tai seerumin erotte-
lua ja hemolyysi määritetään hemoglobiinipitoisuudella, joka absorboi 340-440nm ja
540-580 nm aallonpituudella. Ikteria on bilirubiinin aiheuttama häiriö, joka absorboi va-
loa laajasti noin 460 nm aallonpituudella. (Huynh ym. 2017.)

Laboratorioiden on vaikea simuloida lipemiaa sen heterogeenisuuden takia, eikä käytössä ole tällä hetkellä tuotteita, jotka vastaisivat täysin potilasnäytteissä olevaa lipemiaa (Calmarza & Cordero 2011: 1). Yksi lipemiaa simuloiva tuote on synteettinen emulsio nimeltään Intralipid. Lipemiaindeksin mittaaminen perustuu Intralipid-valmisteen optiseen käyttäytymiseen. (Roche 2007: 17.) On kuitenkin huomioitava, että Intralipid ei vastaa potilasnäytteen lipemiaa täysin. Tämä johtuu siitä, että potilasnäytteen VLDL-partikkeleiden ja kylomikronien koot sekä lukumäärät vaihtelevat näytteestä riippuen. Intralipid taas koostuu pääosin kahdesta lipidipartikkelityypistä, jotka ovat kooltaan melko pieniä: liposomeista (43 nm) sekä keinotekoisista kylomikroneista (noin 260 nm). (Férézou ym. 2001: 1; Zheng & Pearce & McShane 2020.) Intralipidillä aikaan

saadun lipemian ja aidon lipemian välillä on siis eroja. Hiukkasten koko vaikuttaa suuresti näytteen sameuteen sekä valon sirontaan. (Calmarza & Cordero 2011: 1.)

3 Tarkoitus, tavoitteet, tutkimuskysymykset

Opinnäytetyön tarkoituksena oli selvittää lipemian vaikutusta Roche Cobas Pro -analyysaattorilla analysoitaviin tutkimuksiin. Tutkimuksella haluttiin havainnollistaa lipemian aiheuttaman mahdollisen häiriön suuruus sekä arvioida, millä pitoisuudella kliinisesti merkittävä häiriö ilmaantuu. Lisäksi tutkimuksen avulla pyrittiin selvittämään vaikuttaako tutkittavan analyysin pitoisuus häiriön suuruuteen. Tarkoituksena oli verifioida laitevalmistaja Roche Diagnostics Oy:n antamat häiriövaikutustiedot lipemialle, eli tarkistaa onko laitevalmistajan antama tieto oikeaa. Työssä tarkasteltiin myös kirkastamisen vaikutusta tuloksiin. Tarkoituksena oli selvittää, voiko näytteitä kirkastaa ilman että analyyttien tuloksissa nähdään vaihtelua.

Työssä käsitellään seuraavia kemian analyyttejä: alaniiniaminotransferaasi (ALAT), aspartaattiaminotransferaasi (ASAT), bilirubiinikonjugaatit (Bil-Kj), C-reaktiivinen proteiini (CRP), kalium (K), kreatiinikinaasi (CK), kreatiniini (Krea) sekä immunokemian analyyttejä: D-vitamiini (D-vit), kortisoli (Korsol) ja testosteroni (Testo). Lopuksi tavoitteena oli arvioida Vita Laboratorioiden nykyisiä ohjeita lipemiaan liittyen. Ohjeita arvioitiin edellä mainittujen tekijöiden perusteella.

Tutkimuskysymykset:

1. Vaikuttaako lipemia valittujen analyyttien tulostasoon?
2. Jos vaikutusta havaitaan, kuinka suuri ja minkä suuntainen vaikutus lipemialla on?
3. Soveltuuko analyytti analysoitavaksi kirkastuksen jälkeen?
4. Onko laitevalmistaja Roche Diagnostics Oy:n antama tieto häiriöstä toistettavissa? Onko häiriön suunta ja suuruus siis ilmoitettua vastaava?
5. Onko Vita Laboratorioiden nykyinen ohjeistus riittävä?

4 Menetelmät

Opinnäytetyön tilaajana toimi Vita Laboratoriot, jonka tiloissa opinnäytetyön käytännön osuus suoritettiin. Vita Laboratorioissa opinnäytetyötä ohjasivat sairaalakemistit Mia Sneck ja Sanna Taskinen sekä Metropolia Ammattikorkeakoulussa lehtori Heidi Malava.

Opinnäytetyöhön valittiin analyyttejä, jotka laitevalmistaja Roche Diagnostics Oy:lta saadun ja aiemman tutkimustiedon perusteella tiedetään olevan herkkiä lipemialle, kuten esimerkiksi ALAT- ja ASAT-entsyymit. Tutkimukseen valittiin myös analyyttejä, joiden lipemian aiheuttaman häiriön suunta ei ollut ennalta tiedossa. Laajempaan tarkasteluun otettiin analyytit, joiden tutkimustuloksissa voitiin havaita lipemian aiheuttamaa häiriövaikutusta.

Lipemian vaikutusta Roche Cobas Pro -analysaattorilla tehtäviin tutkimuksiin tarkastellaan kvantitatiivisesti. Kvantitatiivisen eli määrällisen tutkimuksen avulla selvitetään kysymyksiä liittyen lukumääriin ja prosenttiosuuksiin ja se vastaa kysymyksiin: Mikä? Missä? Paljonko? Kuinka usein? Tutkimuksesta saatuja tuloksia havainnollistetaan usein kuvioilla ja taulukoilla. (Heikkilä 2014: 15.)

Mittauksia opinnäytetyötä varten suoritettiin Vita Laboratorioiden tiloissa viiden päivän ajan aikavälillä 15.-19.3.2021. Ensimmäisenä päivänä laskettiin näytepooleihin tarvittavat näytemäärät sekä valmistettiin ja analysoitiin testilaimennokset, jotta saatiin suuntaa antavat lipemiapitoisuudet laimennoksille. Toisena päivänä kerättiin ja suunniteltiin näytepoolit 1, 2 ja 3 sekä kokeiltiin näytepoolien 1 ja 2 sopivuus analysoimalla näytteet. Kolmantena päivänä tehtiin potilasnäytteistä kerätyn lipidiseoksen pesu ja valmistelu. Tällöin laskettiin myös lopulliset lipemialaimennokset, tehtiin poolin 1 laimennos, analysointi sekä kirkastus ja kirkastettujen näytteiden analysointi. Neljäntenä päivänä suoritettiin poolin 2 ja 3 laimennosten teko ja analysointi sekä poolien kirkastus ja kirkastettujen näytteiden analysointi. Viidentenä päivänä valmistettiin Microsoft Excel -pohjan taulukot sekä kaavat. Kaikki työvaiheet suoritettiin ohjaavien kemistien ohjeiden mukaisesti.

4.1 Näytemateriaalin keruu ja näytepoolien valmistus

Näytemateriaaliksi kerättiin Vita Laboratorioiden vanhoja näytteitä, jotka olisivat menneet hävitettäväksi. Näytemateriaalina käytettiin seerumia ja kerätyistä näytteistä oli

potilastulokset jo analysoitu. Kerättyä näyttemateriaalia käytettiin näytepoolien valmistukseen. Näytteistä oli kaikki henkilötiedot poistettu ja näytteitä käsiteltiin nimettöminä sekä potentiaalisesti tartuntavaarallisina.

Näytepoolit 1 ja 2 koostuivat normaalirajoissa olevista näytteistä, jotta saatiin analyyttien viitealueella olevia pitoisuuksia. Näytepoolit analysoitiin aluksi, jotta saatiin selville, olivatko näytteistä mitattavat analyytit mittausalueella ja pystyikö niitä laimentamaan mittausalueen sisällä. Laimennosten valmistamisen ja analysoinnin luotettavuuden kannalta oli tärkeää, että näytteitä voitiin laimentaa mittausalueen sisällä.

Kolmas näytepooli koostui normaalista poikkeavista näytteistä. Kolmannen näytepooliin oli siis tarkoitus kuvastaa kohonneita arvoja. Näyttemateriaalina käytettiin pakastettuja potilasnäytteitä, joista oli tiedossa joidenkin analyyttien korkeat pitoisuudet. Haasteita näytepoolin keräyksessä toi se, että kaikki analyytit eivät olleet korkeita kaikissa näytteissä, ja niitä sekoitettaessa pitoisuudet laimenivat huomattavasti. Pyrittiin siis keräämään merkittävästi koholla olevia analyyttejä, jotta näyttemateriaalia yhdisteltäessä yksittäisten analyyttien pitoisuudet eivät laimenisi liikaa ja ne pysyisivät viiterajojen yläpuolella. Pooliin saatiin kerättyä näytteitä, joissa esimerkiksi ALAT-, ASAT- ja CK-entsyymien pitoisuudet olivat korkeita. Näytteiden immunokemian tutkimusten pitoisuuksista ei ollut tietoa.

Näytetilavuuksia laskettaessa pooleille tuli huomioida myös analysaattorin vaatima menetelmäkohtainen näytetilavuus, analysoitavat rinnakkaismittaukset ja putken kuollut tilavuus, eli putken jäävä näytetilavuus analysaattorin aspiroinnin jälkeen. Jokaisen analyytin kohdalla kuollut tilavuus oli 500 µl. Analysointitilavuus vaihteli analyytistä riippuen. Pyrittiin siis pitämään huoli, että näytettä valmistetaan näytepooleihin riittävästi.

Jokainen pooli valmistettiin yhdistämällä valittujen näytteiden seerumit omiin lisäaineetomiin putkiin. Putket merkittiin numeroimalla ne 1, 2 ja 3 ja lopuksi jokaista putkea sekoitettiin huolellisesti, jotta näytteestä tuli homogeenistä. Näytepooli 1 kokonaistilavuudeksi tuli noin 10ml ja näytepooli 2 ja 3 noin 15ml. Poolien välisten näytemäärien vaihtelun takia tuli pitää huoli siitä, että laimennossuhteet pysyivät samassa suhteessa laimennossarjoja tehdessä. Tällöin tulokset olivat keskenään vertailtavissa.

4.2 Laimennossarjat

Jokaisesta näytepoolista valmisteltiin analysoitavat laimennossarjat. Ennen laimennossarjojen tekoa tehtiin koelaimennokset, jotta saatiin selville suuntaa antavat lipemiapitoisuudet laimennoksille. Tarkoituksena oli luoda näytteisiin lipemiala- ja lipiditasot 500, 1000, 1500 ja 2000 lisäämällä kaupallista Intralipid-valmistetta. Kaupallinen Intralipid-valmiste oli 20% seos ja tämän tiedon mukaan laskettiin koelaimennosten suhteet. Koelaimennosten analysointitulosten perusteella saatiin laskettua lopullisten laimennossarjojen lipemialaimennossuhteet. Laimennossuhteet laskettiin alla olevalla kaavalla, jossa v_1 on tarvittavan Intralipid-valmisteen määrä, c_1 on Intralipid-valmisteen pitoisuus, v_2 on näytteen lopullinen tilavuus ja c_2 on tavoiteltu lipemiapitoisuus.

$$v_1 = \frac{(c_2 \cdot v_2)}{c_1}$$

Näytepooleista 1, 2 ja 3 valmistettiin lipemialaimennossarjat, jotka sisälsivät lipemiatasot 0-4. Taso 0 edusti nollanäytettä, joka ei sisältänyt lisättyä Intralipid-valmistetta ja vahvin taso eli taso 4 sisälsi eniten lisättyä Intralipid-valmistetta. Kullakin tasolla oli tavoiteltu lipemiapitoisuus ja sen perusteella laskettiin lisätyn Intralipidin määrä. Kaikkiin näytteisiin lisättiin sama nestetilavuus, mutta veden ja intralipidin suhdetta vaihdeltiin, jotta päästiin haluttuun pitoisuuteen. Vahvimpaan näytteeseen lisättiin pelkästään Intralipidiä ja nollanäytteeseen vain vettä. Vettä lisättiin, jotta kaikissa näytteissä lisätty nestetilavuus olisi sama ja jokainen näyte laimenesi saman verran.

Näytepooli 1 laimennossarjassa jokaisen laimennoksen kokonaistilavuus oli 2 ml. Näytepoolia lisättiin jokaiseen laimennokseen 1,8 ml. Lisäksi vettä tai Intralipidiä lisättiin yhteensä 200 µl taulukon 1 mukaisesti.

Taulukko 1. Näytepooli 1 laimennostaulukko

Lipemiataso	Kokonaistilavuus	Poolin määrä	Intralipidin määrä	Veden määrä
Taso 0: 0	2000 µl	1800 µl	0 µl	200 µl
Taso 1: 500	2000 µl	1800 µl	40 µl	160 µl
Taso 2: 1000	2000 µl	1800 µl	80 µl	120 µl
Taso 3: 1500	2000 µl	1800 µl	140 µl	60 µl
Taso 4: 2000	2000 µl	1800 µl	200 µl	0 µl

Näytepoolien 2 ja 3 laimennosarjoissa jokaisen laimennoksen kokonaistilavuus oli 3 ml. Näytepoolia lisättiin 2670 µl kaikkiin lipemiatasoihin (0-4). Lisäksi vettä tai Intralipidiä lisättiin yhteensä 330 µl taulukon 2 mukaisesti.

Taulukko 2. Näytepooli 2 ja 3 laimennostaulukko

Lipemiataso	Kokonaistilavuus	Poolin määrä	Intralipidin määrä	Veden määrä
Taso 0: 0	3000 µl	2670 µl	0 µl	330 µl
Taso 1: 500	3000 µl	2670 µl	90 µl	240 µl
Taso 2: 1000	3000 µl	2670 µl	180 µl	150 µl
Taso 3: 1500	3000 µl	2670 µl	220 µl	110 µl
Taso 4: 2000	3000 µl	2670 µl	330 µl	0 µl

4.3 Näytteiden analysointi Roche Cobas Pro -analysaattorilla

Näytteiden analysointi suoritettiin Roche Cobas Pro -linjaston c503 kemian analysaattorilla ja e801 immunokemian analysaattorilla. Ennen analysointia tarkistettiin laitteen kontrollitasot, jotka olivat annetuissa hyväksymisrajoissa. Jokaisesta näytteestä mitattiin lipemaiindeksi ja triglyseridipitoisuus sekä kaikki valitut kemian ja immunokemian analyytit. Analyytit mitattiin kahtena rinnakkaisena mittauksena, jotta voitiin vähentää mahdollista satunnaisvirheen vaikutusta.

Opinnäytetyötä varten näytepooleista analysoitiin seuraavat kemian ja immunokemian analyytit: alaniiniaminotransferaasi (ALAT), aspartaattiaminotransferaasi (ASAT), bilirubiinikonjugaatit (Bil-Kj), C-reaktiivinen proteiini (CRP), kalium (K), kreatiinikinaasi (CK), kreatiniini (Krea), sappihapot (Sappih), kortisoli (Korsol), testosteroni (Testo) ja D-vitamiini (D-vit).

Näytesarjat nimettiin käsin kirjoittamalla näyteputkeen sekä samat nimet kirjattiin käsin analysaattorille. Näytepoolit nimettiin aina poolin omalla nimellä eli Pooli 1, Pooli 2 ja Pooli 3. Näytepoolien sisäiset laimennosarjat oli nimetty L0, L1, L2, L3 ja L4. Tässä L tarkoitti lipemiaa ja numero tarkoittaa minkä suuruinen lipemiataso on kyseessä. Kirkastukset nimettiin K1, K2, K3 ja K4. Tässä K tarkoitti kirkastusta ja numero eri lipemiatasoja.

4.4 Kirkastus

Vita Laboratoriolla ei ollut ultrasentrifugia käytettävissä, joten näytteen kirkastettiin sentrifugoimalla ne tavallisella sentrifugilla soveltaen nopeutta ja sentrifugointia aikaa. Käytössä oleva toimintatapa on Vita Laboratorioilla käytössä rutiinisti potilasnäytteillä ja sen on osoitettu riittävällä tavalla kirkastavan näytteet.

Lipemialaimennossarjojen analysoinnin jälkeen kaikki näytteet kirkastettiin. Näytteet jaettiin lisäaineettomista putkista 1,5 ml Eppendorf-putkiin sentrifugointia varten. Näytteet kirkastettiin sentrifugoimalla 50 000 G:n nopeudella 10 minuuttia, jonka jälkeen erottunut lipidikerros poistettiin seerumin päältä. Jokaisen näytteen kirkastettu seerumi analysoitiin uudestaan. Kirkastetuista näytteistä analysoitiin tässä opinnäytetyössä käsiteltävät analyytit, mutta vähäisen näytemäärän takia kaikista analyyteistä ei saatu rinnakkaisia tuloksia.

Kirkastetut näytteet nimettiin myös käsin kirjoittamalla näyteputkiin ja vastaavat nimet syötettiin käsin analysaattorille. Kirkastetut näytteet nimettiin vastaavasti Pooli1, Pooli2 ja Pooli3, mutta laimennossarjojen nimet olivat K1, K2, K3 ja K4. Tässä K tarkoittaa kirkastusta ja numero tarkoittaa minkä tasoisen lipemiataso oli kyseessä.

4.5 Pesty lipidit

Kaupallinen Intralipid-valmiste ei vastaa täysin ihmiselimistössä esiintyvää lipemiaa ja työn tarkoituksena oli saada myös kehon lipemiaa vastaavaa valmistetta. Vita Laboratorioiden sairaalakemistit olivat keränneet lipidiseoksen valmistusta varten silmämääräisesti tarkasteltaessa selvästi lipeemisiä seeruminäytteitä. Näytteistä oli kaikki henkilötiedot poistettu ja näytteitä käsiteltiin nimettöminä sekä potentiaalisesti tartuntavaarallisina.

Lipeemiset seeruminäytteet sekoitettiin lisäaineettomassa putkessa ja seos jaettiin 1,5 ml Eppendorf-putkiin. Eppendorf-putket käytettiin sentrifugissa 10 minuuttia 50 000 G:n voimalla, jotta lipeeminen kerros erottui. Seerumi poistettiin lipidikerroksen alta, ja putkeen lisättiin aquaa, jolla pestiin lipidit. Putket sentrifugoitiin uudestaan, ja pesu toistettiin kertaalleen. Viimeisen pesun jälkeen suurin osa aquasta poistettiin ja kerätyt lipidit siirrettiin yhteen Eppendorf-putkeen. On otettava huomioon, ettei potilasnäytteistä kerättyä lipemiaa saada kokonaan puhtaaksi, eli rasvakerrokseen liukenevat hormonit ja

muut analyytit saattavat osittain jäädä sinne. Haasteita lipidien keräyksessä aiheutti aineen paksuus ja se täytyi laimentaa pieneen määrään aquaa annostelun helpottamiseksi.

Pestyjen lipidien pitoisuus ei ollut tiedossa, joten laimennoksia tehtäessä määrän arvioiminen oli vaikeaa. Seosta kokeiltiin ensin testilaimennoksella, jotta saatiin suuntaa antava määrä lipideokselle. Pestyistä lipideistä tehtiin yksi laimennos jokaisesta näytepoolista ja tämän laimennoksen lipemiandeksi oli 600. Seoksen vähyyden vuoksi ei saatu luotua laimennoksia suuremmilla lipemipitoisuuksilla.

Pestyistä lipideistä valmistettu laimennos nimettiin L5, joka analysoitiin yhdessä muiden poolinäytteiden kanssa. Myös tämä laimennos kirkastettiin ja kirkastus nimettiin K5. Näytteen vähyyden vuoksi ei voitu suorittaa rinnakkaisia analysointejä.

4.6 Aineiston analysointimenetelmät

Vita Laboratorioilla on omat laatutavoitteet sarjojen väliselle sekä sarjojen sisäiselle variaatiolle. Jokaiselle analyylille on määritetty omat laatutavoitteet. Saman näytteen rinnakkaiset mittaukset eivät saa poiketa asetetuista laatutavoitteista. Mikäli tulokset pysyvät asetettujen rajojen sisällä voidaan todeta, ettei häiriön tasolla ole kliinistä merkitystä tuloksiin. Vertailun vuoksi tavoitteena oli myös löytää lipemiataso, jonka aiheuttama häiriö ylittää analyyttikohtaisen Vita Laboratorion määrittämän laatutavoitteen.

Analysoinnista saadut tulokset vietiin Microsoft Excel -taulukkolaskentaohjelmalla luotun pohjaan. Kaikista analyyteistä analysoitiin rinnakkaismittaukset ja näiden välistä toistettavuutta tarkasteltiin laskemalla rinnakkaisten tulosten keskiarvo ja keskihajonta. Keskiarvo kuvastaa havaintoarvojen keskimääräistä suuruutta ja keskihajonta kertoo havaintoarvojen keskimääräisestä hajonnasta eli kuinka kaukana keskiarvosta havaintoarvot ovat (Heikkilä 2010: 86-87). Laskemisen apuna käytettiin Microsoft Excelin kaavoja.

Sarjan sisäisen variaation tarkasteluun käytettiin Dahlbergin menetelmää. Dahlbergin kaavan avulla laskettiin parinäytteiden variaatio eli toisin sanoen tutkimuksessa oli eri pitoisuuden omaavia näytteitä, jotka analysoitiin rinnakkaisina ja kaavan avulla laskettiin variaatio, joka keskimäärin vallitsee mittausalueella. Tässä työssä verrattiin parinäytteinä 0-näytettä ja häiriön omaavaa näytettä. Jos näiden parinäytteiden variaatio on pienempi kuin variaatiolle asetettu laatutavoite, voidaan todeta, ettei häiriö ole kliini-

sesti merkittävä tai häiriötä ei ole lainkaan. Jos taas variaatio on suurempi, ei laatutavoite täyty. Tällöin häiriö saattaa aiheuttaa myös kliinisesti merkittävän virheen. Laatutavoitteen ylitys ei kuitenkaan suoraan tarkoita, että häiriöllä olisi kliininen merkitys. Usein laatutavoitteet ovat tarkoitukselle tiukkoja, eli vaikka laatutavoite ylitetään ei vielä olla kliinisesti merkittävällä häiriön tasolla vaan vasta selvempi laatutavoitteen ylitys on kliinisesti merkittävää. Dahlbergin hajonta laskettiin käyttämällä alla olevaa kaavaa, jossa $s(d)$ kuvaa Dahlbergin hajontaa, Σ on summa, d^2 kertoo kahden eri mittauksen välisen erotuksen neliön ja n kuvaa kahdella kerrottuna näytteiden lukumäärää (mukailen Kallner & Theodorsson 2019: 211; De Souza Galvão & Sato & Coelho 2012: 117).

$$s(d) = \sqrt{\frac{\Sigma d^2}{2n}}$$

Dahlbergin variaatiokerroin laskettiin alla esitetyllä kaavalla, jossa $s(d)$ kuvaa Dahlbergin hajontaa ja ka kertoo mittausten välisten keskiarvojen keskiarvon.

$$CV\% = \frac{s(d)}{ka} \times 100\%$$

Microsoft Exceliin vietyjen tulosten perusteella tehtiin myös jokaiselle analyylille kuviot. Kuvioiden avulla saatiin havainnollistettua lipemian häiriövaikutusta analyysiin analyytikohtaisesti paremmin kuin taulukon avulla. Kuviona käytettiin viivakuviota, joka korostaa kehityssuuntaa ja vaihtelua luvuissa (Heikkilä 2010: 156).

5 Tulokset

Tässä luvussa analyyttien tuloksia tarkastellaan erikseen omissa alakappaleissaan. Laajempaan tarkasteluun otettiin analyytit, joiden tutkimustuloksissa voitiin havaita lipemian aiheuttamaa häiriövaikutusta. Muut analyytit käsitellään lyhyesti omassa osiossaan.

Kaikista tässä opinnäytetyössä käsiteltävistä analyyteistä analysoitiin rinnakkaiset tulokset jokaisella lipemiatasolla. Lipemiatasot valmistettiin niin, että näytteisiin lisättiin eri määrä kaupallista Intralipid-valmistetta, jolloin jokaisesta näytepoolista saatiin lipemiapitoisuuden suhteen kasvava näytesarja. Lipemiatasot nimettiin L0-L4, jossa L0 edusti nollanäytettä, joka ei sisältänyt kaupallista Intralipid-valmistetta ja vahvin taso L4 sisälsi eniten lisättyä kaupallista Intralipid-valmistetta. Lisäksi tuloksissa käsitellään

myös kirkastettujen näytteiden tuloksia K1-K5 sekä pestyistä lipideistä tehtyä lipemiatasoa L5.

Saaduista tuloksista laskettiin rinnakkaisten keskiarvot sekä keskihajonta. Sarjan sisäisen variaation tarkasteluun käytettiin Dahlbergin menetelmää, jossa jokaista lipemiatasoa verrattiin häiriöttömään nollanäytteeseen L0. Jokaisen analyytin kohdalta löytyy havainnollistavat taulukot ja kuviot tuloksista.

5.1 Alaniiniaminotransferaasi

Alaniiniaminotransferaasi, eli ALAT, analysoitiin näytepooleista 1-3 valmistetuista näytestarjoista. Kaikista näytteistä analysoitiin rinnakkaistulokset ja laskettiin tulosten keskiarvo sekä keskihajonta.

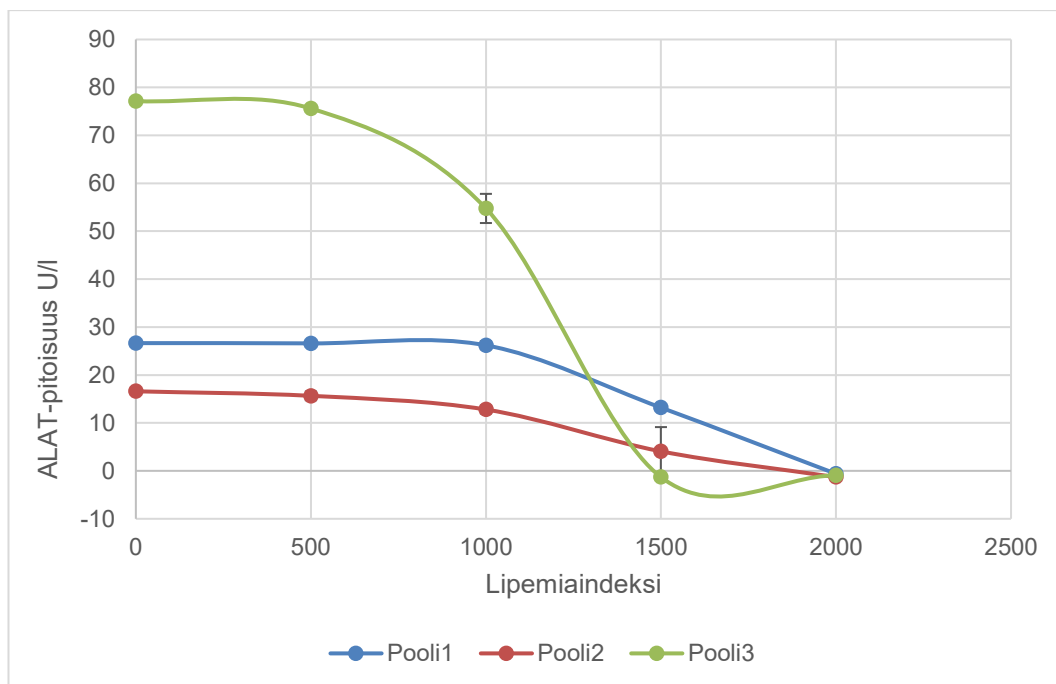
Taulukossa 3 esitellään näytepoolien 1-3 lipemiatasojen L0-L4 analysointitulokset, jossa L0 edustaa häiriötöntä nollanäytettä ja L1-L4 eri lipemiatasoja. Taulukossa nähdään rinnakkaistulosten keskiarvo ja keskihajonta. Työssä valmistettujen näytepoolien ALAT-pitoisuudet L0-tasolla vaihtelivat 16,2-77,2 U/l välillä. Poolissa 1 rinnakkaistulosten keskihajonta oli pientä, mutta poolissa 2 voidaan nähdä suuri hajonta L3-tasolla. Myös poolissa 3 nähdään suuri hajonta etenkin L2-tasolla. Tuloksien hajonta oli suurta, sillä häiriön taso vaihteli saman näytteen eri mittauskertojen välillä.

Taulukko 3. Näytepoolien 1-3 tuloskoostetaulukko ALAT-entsyymille

POOLI 1	L0	L1	L2	L3	L4
Indeksi	0	500	1000	1500	2000
Tulos1	26,9	26,9	26,8	13,4	-0,943
Tulos2	26,4	26,3	25,6	13	-0,278
KA	26,65	26,6	26,2	13,2	-0,6105
sd	0,35	0,42	0,85	0,28	0,47
POOLI 2	L0	L1	L2	L3	L4
Indeksi	0	500	1000	1500	2000
Tulos1	16,2	16,3	13,4	7,65	-1,38
Tulos2	17	15	12,2	0,496	-1,22
KA	16,6	15,65	12,8	4,073	-1,3
sd	0,56	0,92	0,85	5,06	0,11
POOLI 3	L0	L1	L2	L3	L4
Indeksi	0	500	1000	1500	2000
Tulos1	77,1	75,8	56,9	-1,4	-1,63
Tulos2	77,2	75,4	52,6	-1,2	-0,223
KA	77,15	75,6	54,75	-1,3	-0,9265
sd	0,07	0,28	3,04	0,14	0,99

Kuviossa 2 esitellään näytepoolien 1, 2 ja 3 ALAT-pitoisuudet lipemiaindeksin funktiona. Näytepoolit 1 ja 2 koostuivat viiterajoissa olevista ALAT-pitoisuuksista ja näytepooli 3 viitealueen ylittävistä, suurista pitoisuuksista. Kuviossa nähdään, että ALAT-pitoisuus pienenee lipemiaindeksin kasvaessa. Näin ollen lipemia johtaa virheellisen pieneen ALAT-entsyymien tulokseen.

Pooli 1 ja 2 kohdalla lipemiaindeksin ollessa 1500 ALAT-pitoisuus on merkittävästi häiriötöntä nollanäytettä pienempi. Pooli 3 kohdalla jo lipidipitoisuus lipemiaindeksillä 1000 johtaa virheellisen pieneen ALAT-pitoisuuteen. Tämän kokeen perusteella näyttääkin siltä, että ALAT-pitoisuus vaikuttaa lipemian aiheuttaman häiriön suuruuteen: Suurilla ALAT-pitoisuuksilla lipemian aiheuttama häiriö on suurempi kuin pienemmillä ALAT-pitoisuuksilla.



Kuvio 2. ALAT-entsyymien pitoisuudet näytepooleissa 1-3.

Häiriön aiheuttaman variaation arviointi

Lipemian aiheuttamaa häiriötä arvioitiin laskemalla Dahlbergin menetelmällä eri lipemiatasojen variaatio häiriöttömään näytteeseen nähden. Parinäytteinä toimivat häiriötön 0-näyte ja vastaava lipemianäyte.

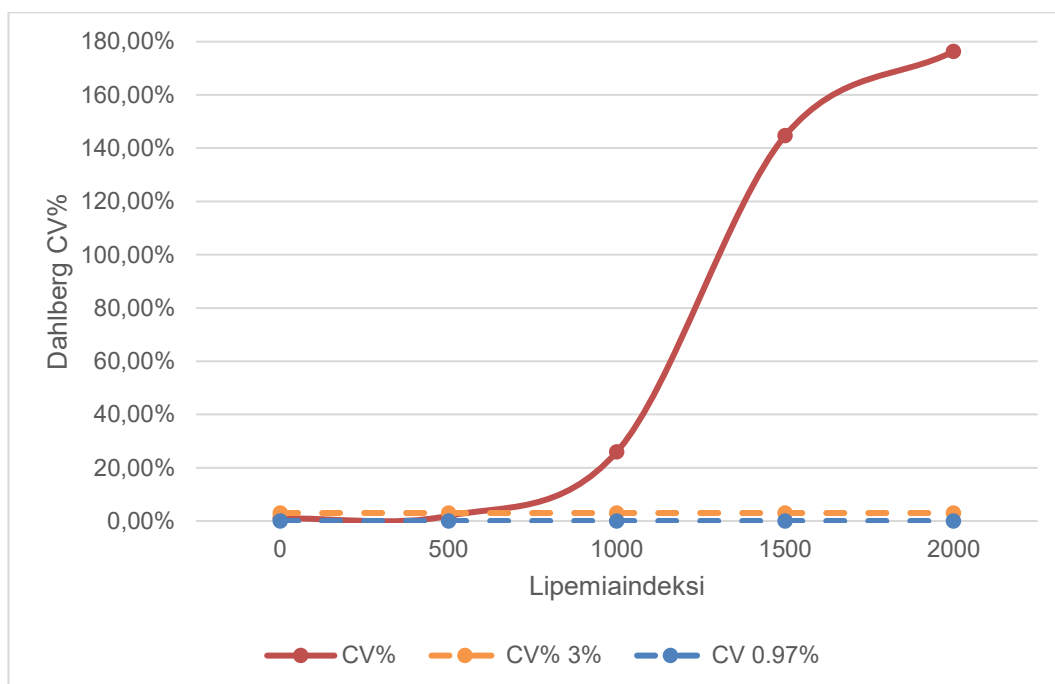
Vita Laboratorioiden oma laatutavoite ALAT-entsyymien määrittämisen sarjan sisäiselle variaatiolle on 3%. Työssä määritetty variaatio häiriöttömien parinäytteiden rinnakkaisissa oli 0,97%. Vita Laboratorioiden omaa laatutavoitetta sekä lisäksi häiriöttömien parinäytteiden tulosta (0,97%) käytettiin kriteerinä merkittävälle häiriölle.

Taulukossa 4 kuvataan Dahlbergin menetelmällä lasketut tulokset. Variaatiokerroin pysyi laboratorion asettamassa laatutavoiterajassa sarjan sisäiselle variaatiolle vielä lipemiatasolla 1 eli lipemiaindeksin ollessa noin 500. Tässä havaittiin kuitenkin suurempi variaatio kuin mitä nollanäytteistä laskettu parinäytteiden variaatio oli. Vita Laboratorioiden asettama laatutavoite 3% ylittyi selvästi lipemiatasolla 2 (CV% = 25,99%) lipemiaindeksin ollessa noin 1000. Tällä lipemiatasolla muutosta voidaan myös pitää kliinisesti merkittävänä. On kuitenkin huomattava, että pienillä, viitealueen sisällä olevilla ALAT-pitoisuuksilla variaatio ei ole selvästi nähtävissä. Dahlbergin menetelmällä laskettu variaatiokerroin suureni lipemiaindeksin kasvaessa, eli häiriövaikutus kasvoi lipemian voimistuessa.

Taulukko 4. Variaatiokertoimet ALAT-entsyymille Dahlbergin menetelmällä laskettuna.

Lipemiataso	Lipemiaindeksi	Dahlberg CV%	Vita Laboratorioden laatutavoite
L0	0	0,97%	3%
L1	500	1,92%	
L2	1000	25,99%	
L3	1500	144,73%	
L4	2000	176,32%	

Kuvioon 3 on koottu Dahlbergin menetelmällä lasketut variaatiokertoimet eri lipemiatasoille havainnollistamaan poikkeamaprosentteja. Vaakatason kuvaajina on Vita Laboratorioden oma laatutavoite 3% sekä tutkimuksessa saatu variaatiokerroin häiriöttömille parinäytteille. Nämä toimivat kriteereinä merkittävälle häiriölle.



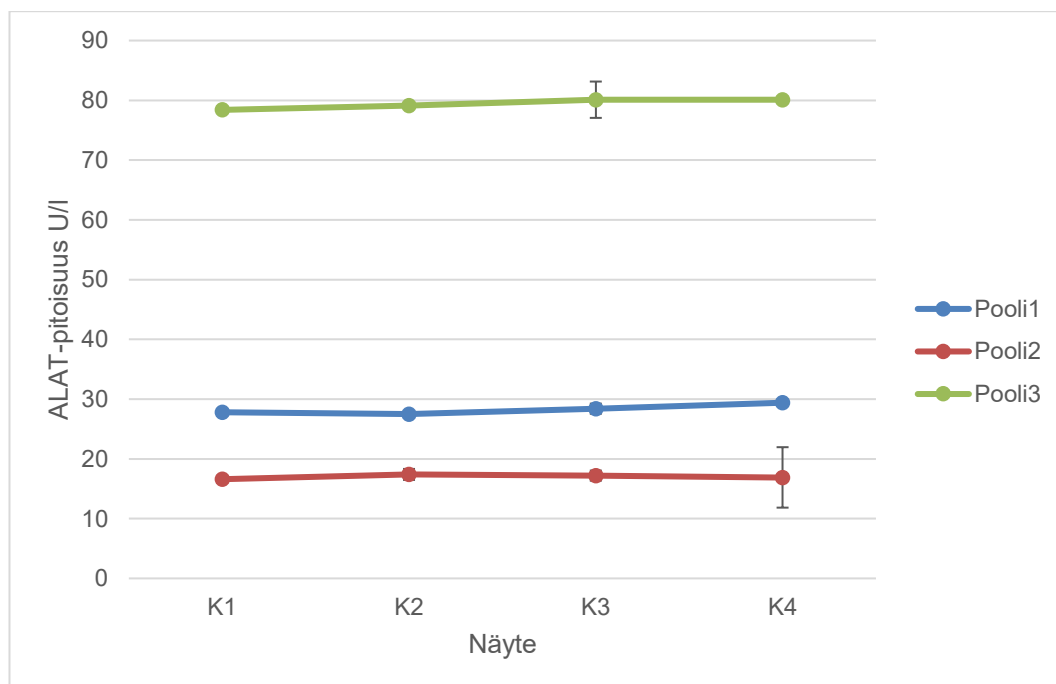
Kuvio 3. ALAT-entsyymien variaatiokertoimet. Variaatiokerroin ylitti ALAT-entsyymille määritetyn 3% laatutavoitteen (merkitty oranssilla katkoviivalla) lipemiaindeksillä 1000.

Häiriön poisto kirkastamalla

Työssä valmistettujen näytepoolien lipemiatasojen analysoinnin jälkeen kaikki näytteet kirkastettiin sentrifugoimalla. Kirkastettu seerumi eroteltiin uuteen näytekvyettiin. Kirkastetut näytteet analysoitiin, mutta vähäisen näytemäärän takia rinnakkaisia tuloksia

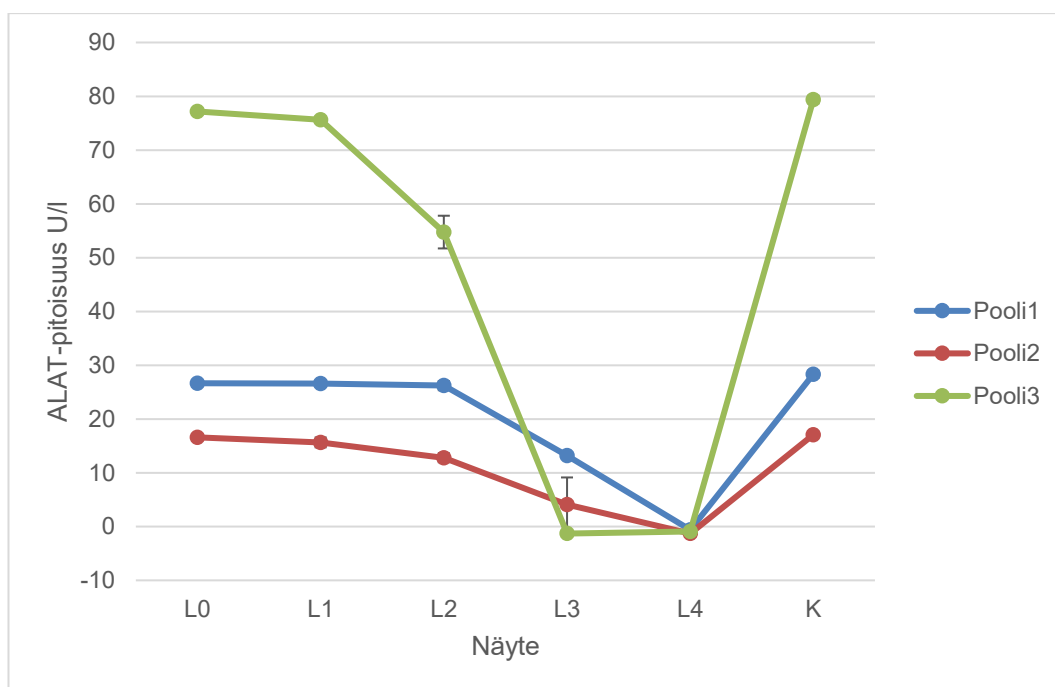
ei saatu kaikista lipemiatasoista. Kirkastetut näytteet nimettiin lipemiatasojen mukaisesti K1-K4, jossa K tarkoitti kirkastusta ja numero kuvaa minkä suuruinen lipemiataso oli kyseessä.

Kuviossa 4 esitetään näytepoolien 1-3 lipemiatasojen kirkastukset. Kuviossa nähdään, että näytteiden ALAT-pitoisuudet ovat kirkastuksen jälkeen yhteneväiset riippumatta niiden lipemiatasosta ennen kirkastusta.



Kuvio 4. ALAT-entsyymin kirkastustulokset K1-K4 näytepooleissa 1-3.

Kuviossa 5 esitetään poolien 1-3 lipemiatasot sekä poolikohtainen kirkastustulosten keskiarvo. Kuvioista voidaan nähdä, että kirkastettu K tulos palaa samalle tasolle kuin häiriötön nollanäyte L0. Tämän perustella vaikuttaa, että lipemian aiheuttama häiriö saadaan poistettua sentrifugoinnilla ja tulostasoa tämän jälkeen vastaa häiriötöntä näytettä.

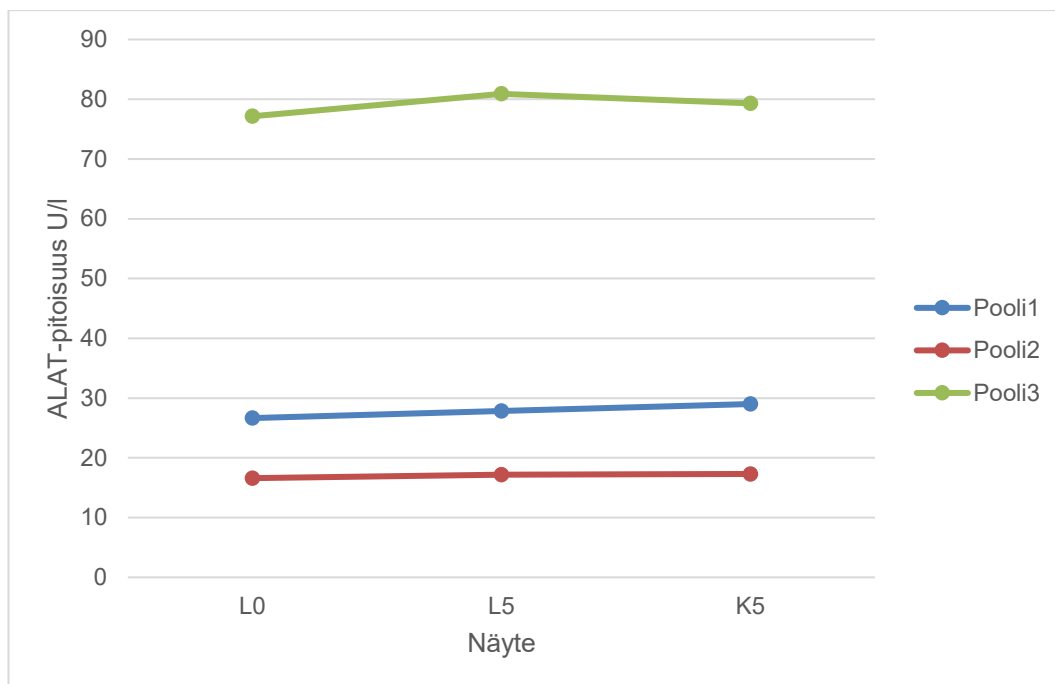


Kuvio 5. ALAT-entsyymin kirkastustulosten keskiarvon suhde lipemiatasoihin näytepoolissa 1-3.

Pestyt lipidit

Pestyistä lipideistä luodun lipemiatason (L5) lipemaiindeksi oli noin 600. Pestyistä lipideistä tehdyistä lipemiatasoista ei analysoitu rinnakkaisia mittauksia, joten rinnakkais- tulosten keskiarvoa sekä keskihajontaa ei saatu mitattua. Dahlbergin menetelmällä las- kettuna variaatiokertoimeksi saadaan 0,97%, jolloin taso pysyy asetettujen laatutavoite- rajojen sisällä.

Kuviossa 6 kuvataan näytepoolien 1-3 pestyjen lipidien lipemiatasoa L5 ja kirkastettua näytettä K5. Kuten kuviossa huomataan, ei L5 tason arvo eroa huomattavasti häiriöttö- mästä nollanäytteestä, sillä lipemian vaikutus jäi häiriön raja-alueelle. Suurilla ALAT- pitoisuuksilla lipemian aiheuttama häiriö tulee näkyviin jo pienemillä lipidipitoisuuksilla.



Kuvio 6. ALAT-entsyymin pestyjen lipidien lipemiatasot ja kirkastus.

5.2 Aspartaattiaminotransferaasi

Aspartaattiaminotransferaasi, eli ASAT, analysoitiin näytepooleista 1-3 valmistetuista näytesarjoista. Kaikista näytteistä analysoitiin rinnakkaistulokset ja laskettiin tulosten keskiarvo sekä keskihajonta.

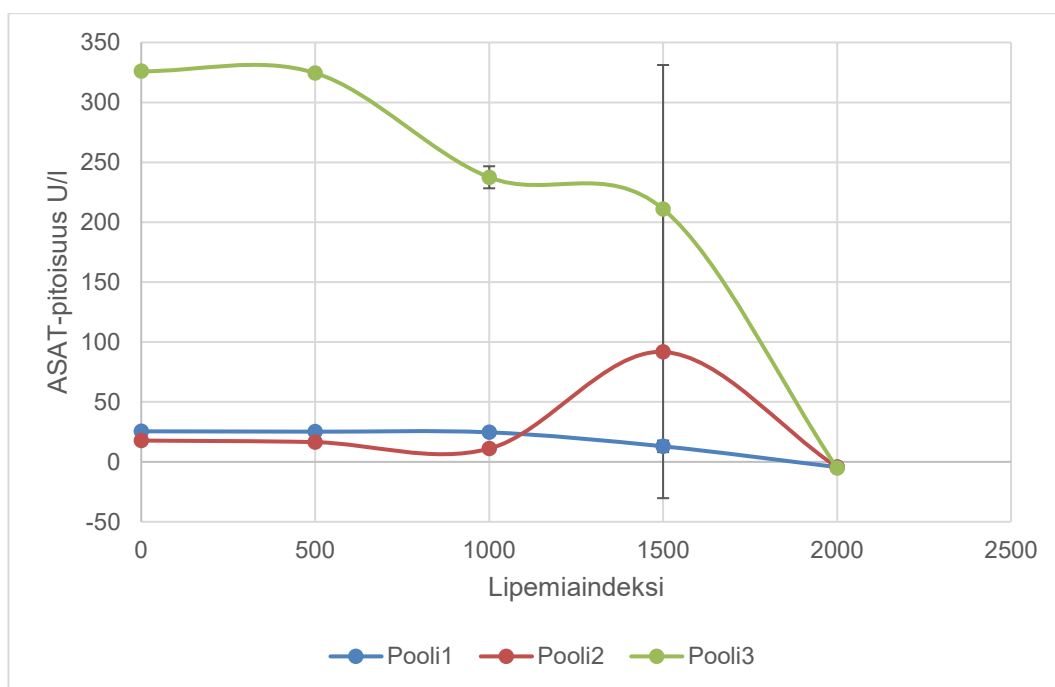
Taulukossa 5 esitellään näytepoolien 1-3 lipemiatasojen L0-L4 analysointitulokset ASAT-entsyymille. L0 edustaa häiriötöntä nollanäytettä ja L1-L4 lipemiatasoja. ASAT-pitoisuudet vaihtelivat pooleissa 17,6-327 U/l välillä L0-tasolla. Taulukoissa nähdään rinnakkaistulosten keskiarvo ja keskihajonta. Poolissa 1 ja 2 nähdään merkittävä hajonta L3-tasolla. Poolissa 3 nähdään suuri hajonta jo L2 ja L3 tasolla. Tuloksien hajonta oli suurin kaikissa pooleissa L3 tasolla. Tuloksien hajonta oli suurta, sillä häiriön taso vaihteli saman näytteen eri mittauskertojen välillä.

Taulukko 5. Näytepoolien 1-3 tuloskoostetaulukko ASAT-entsyymille.

POOLI1	L0	L1	L2	L3	L4
Indeksi	0	500	1000	1500	2000
Tulos1	25,4	24,9	24,6	9,55	-4,17
Tulos2	25,6	25,5	24,7	16,4	-4,57
KA	25,5	25,2	24,65	12,975	-4,37
sd	0,14	0,42	0,07	4,84	0,28
POOLI2	L0	L1	L2	L3	L4
Indeksi	0	500	1000	1500	2000
Tulos1	17,6	17,1	10,7	178	-4,76
Tulos2	18	15,8	11,3	5,46	-4,05
KA	17,8	16,45	11	91,73	-4,405
sd	0,28	0,92	0,42	122,0	0,50
POOLI3	L0	L1	L2	L3	L4
Indeksi	0	500	1000	1500	2000
Tulos1	327	324	244	296	-4,32
Tulos2	325	325	231	126	-5,95
KA	326	324,5	237,5	211	-5,135
sd	1,41	0,70	9,19	120,21	1,15

Kuviossa 7 esitellään näytepoolien 1, 2 ja 3 ASAT- pitoisuudet lipemiaindeksin funktiona. Näytepoolit 1 ja 2 koostuivat viiterajoissa olevista ASAT-pitoisuuksista ja näytepooli 3 viitealueen ylittävistä, suurista pitoisuuksista. Kuviossa nähdään, että ASAT-pitoisuus pienenee lipemiaindeksin kasvaessa. Näin ollen lipemia johtaa virheellisen pieneen ASAT-entsyymien tulokseen.

Poolin 1 ja 2 kohdalla lipemiaindeksin ollessa 1500 ASAT-pitoisuus on merkittävästi häiriötöntä nollanäytettä pienempi. Pooli 3 kohdalla jo lipidipitoisuus lipemiaindeksillä 1000 johtaa virheellisen pieneen ASAT-pitoisuuteen. Tämän kokeen perusteella näyttääkin siltä, että ASAT-pitoisuus vaikuttaa lipemian aiheuttaman häiriön suuruuteen. Suurilla ASAT-pitoisuuksilla lipemian aiheuttama häiriö on suurempi kuin pienemmillä ASAT-pitoisuuksilla. Poolissa 2 nähdään suuri hajonta tuloksissa L3 tasolla ja poolissa 3 L2-tasolla. Hajontaa voidaan myös pitää lipemian aiheuttamana häiriönä.



Kuvio 7. ASAT-entsyymien pitoisuudet näytepooleissa 1-3.

Häiriön aiheuttaman variaation arviointi

Lipemian aiheuttamaa häiriötä arvioitiin laskemalla Dahlbergin menetelmällä eri lipemiatasojen variaatio häiriöttömään näytteeseen nähden. Parinäytteinä toimivat häiriötön 0-näyte ja vastaava lipemianäyte.

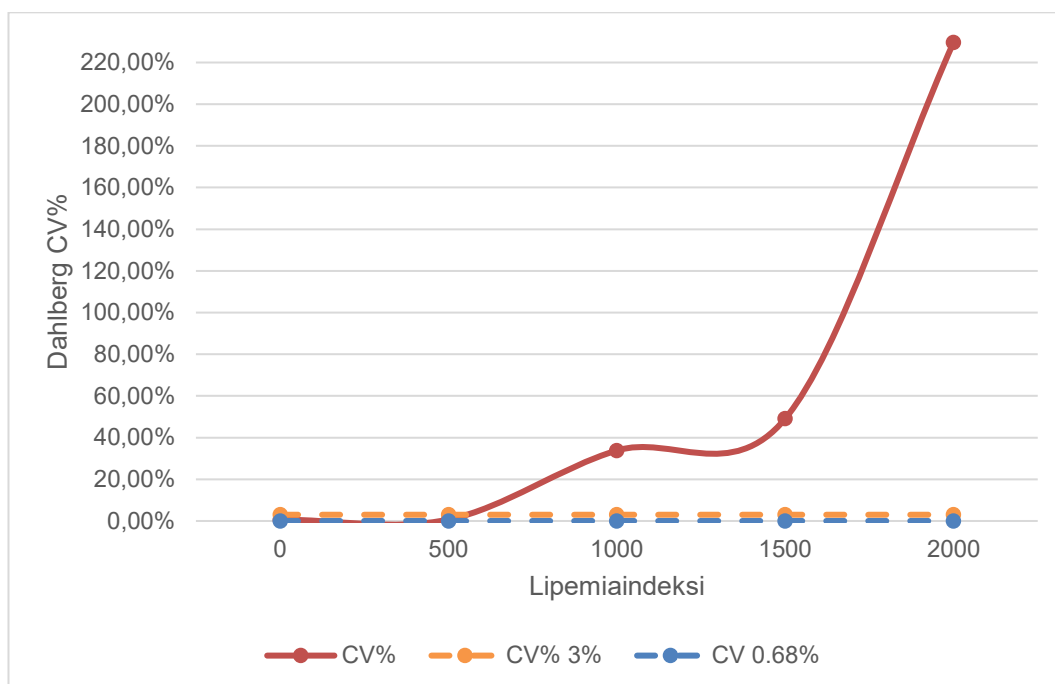
Vita Laboratorioiden oma laatutavoite ASAT-entsyymien määrityksen sarjan sisäiselle variaatiolle on 3%. Työssä määritetty variaatio häiriöttömien parinäytteiden rinnakkaisissa oli 0,68%. Vita Laboratorioiden omaa laatutavoitetta sekä lisäksi häiriöttömien parinäytteiden tulosta (0,68%) käytettiin kriteerinä merkittävälle häiriölle.

Taulukossa 6 kuvataan Dahlbergin menetelmällä lasketut tulokset. Variaatiokerroin pysyi laboratorion asettamassa laatutavoiterajassa sarjan sisäiselle variaatiolle vielä lipemiatasolla 2 eli lipemiaaindeksin ollessa noin 1000. Tässä variaatio oli sama kuin nollanäytteistä laskettu parinäytteiden variaatio. Vita Laboratorioiden asettama laatutavoite 3% ylittyi selvästi lipemiatasolla 3 (CV% = 33,84%) lipemiaaindeksin ollessa noin 1500. Tällä lipemiatasolla muutosta voidaan myös pitää kliinisesti merkittävänä. On kuitenkin huomattava, että pienillä, viitealueen sisällä olevilla ASAT-pitoisuuksilla variaatio ei ole selvästi nähtävissä. Dahlbergin menetelmällä laskettu variaatiokerroin suureni lipemiaaindeksin kasvaessa, eli häiriövaikutus kasvoi lipemian voimistuessa.

Taulukko 6. Variaatiokertoimet ASAT-entsyymille Dahlbergin menetelmällä laskettuna.

Lipemiataso	Lipemiaindeksi	Dahlberg CV%	Vita Laboratorioiden Laatumavoite
L0	0	0,68%	3%
L1	500	0,68%	
L2	1000	33,84%	
L3	1500	49,09%	
L4	2000	229,67%	

Kuvioon 8 on koottu Dahlbergin menetelmällä lasketut variaatiokertoimet eri lipemiatasoille havainnollistamaan poikkeamaprosentteja. Vaakatason kuvaajina on Vita Laboratorioiden oma laatumavoite 3% sekä tutkimuksessa saatu variaatiokerroin häiriöttömille parinäytteille. Nämä toimivat kriteereinä merkittävälle häiriölle.



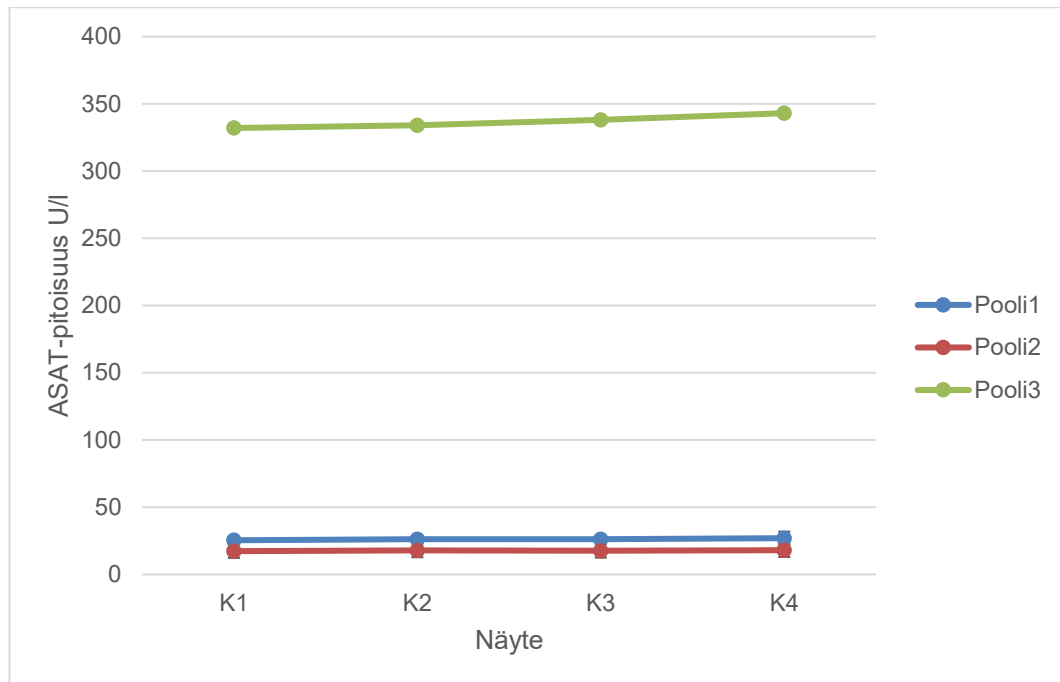
Kuvio 8. ASAT-entsyymien variaatiokertoimet. Variaatiokerroin ylitti ASAT-entsyymille määritetyn 3% laatumavoitteen (merkitty oranssilla katkoviivalla) lipemiaindeksillä 1000.

Häiriön poisto kirkastamalla

Työssä valmistettujen näytepoolien lipemiatasojen analysoinnin jälkeen kaikki näytteet kirkastettiin sentrifugoimalla. Kirkastettu seerumi eroteltiin uuteen näytekyvetiin. Kirkastetut näytteet analysoitiin, mutta vähäisen näytemäärän takia rinnakkaisia tuloksia

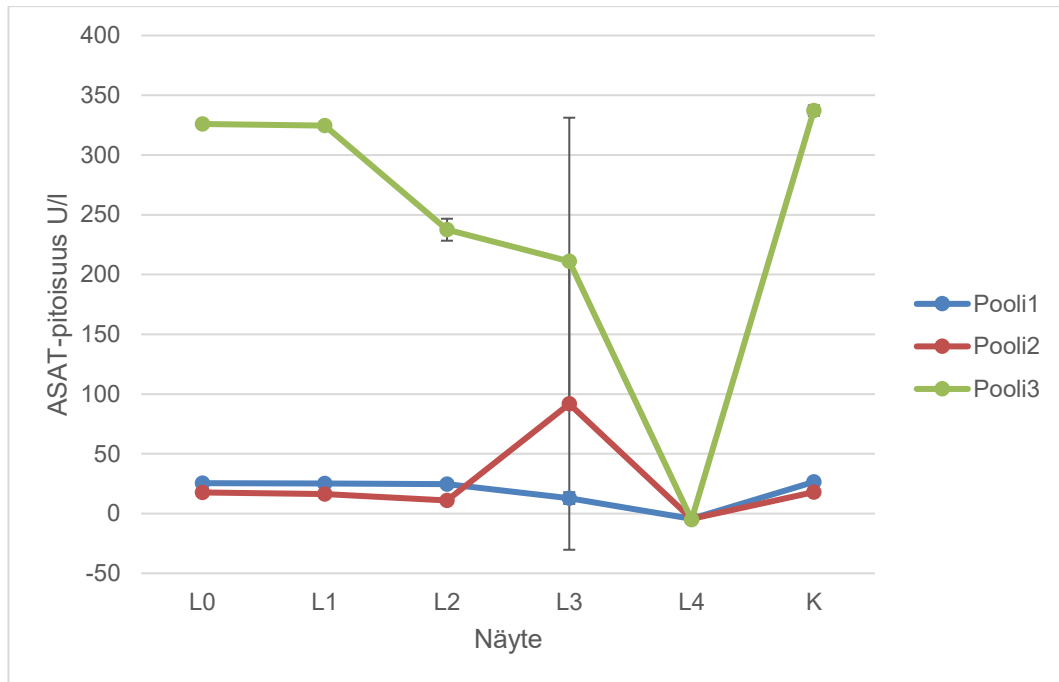
ei saatu kaikista lipemiatasoista. Kirkastetut näytteet nimettiin lipemiatasojen mukaisesti K1-K4, jossa K tarkoitti kirkastusta ja numero kuvaa minkä suuruinen lipemiataso oli kyseessä.

Kuviossa 9 esitetään näytepoolien 1-3 lipemiatasojen kirkastukset. Kuviossa nähdään, että näytteiden ASAT-pitoisuudet ovat kirkastuksen jälkeen yhteneväiset riippumatta niiden lipemiatasosta ennen kirkastusta.



Kuvio 9. ASAT-entsyymin kirkastustulokset K1-K4 näytepooleissa 1-3.

Kuviossa 10 esitetään poolien 1-3 lipemiatasot sekä poolikohtainen kirkastustulosten keskiarvo. Kuvioista voidaan nähdä, että kirkastettu K tulos palaa samalle tasolle kuin häiriötön nollanäyte L0. Tämän perustella vaikuttaa, että lipemian aiheuttama häiriö saadaan poistettua sentrifugoinnilla ja tulostasoa tämän jälkeen vastaa häiriötöntä näytettä.

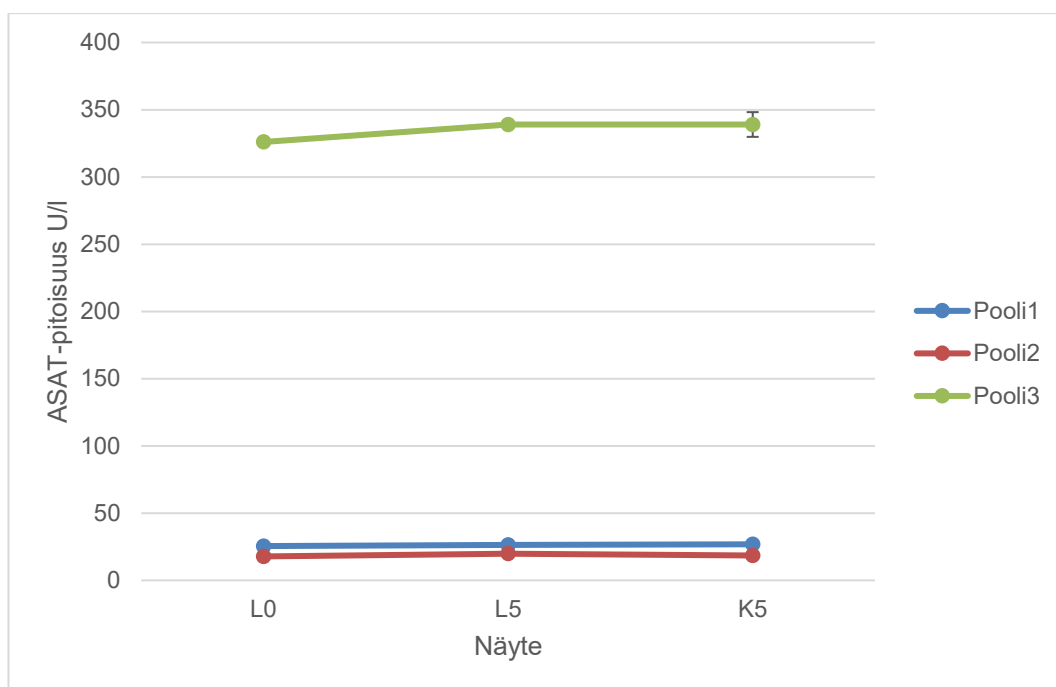


Kuvio 10. ASAT-entsyymien kirkastustulosten keskiarvon suhde lipemiatasoihin näytepooleissa 1-3.

Pestyt lipidit

Pestyistä lipideistä luodun lipemiatason (L5) lipemia indeksi oli noin 600. Pestyistä lipideistä tehdyistä lipemiatasoista ei analysoitu rinnakkaisia mittauksia, joten rinnakkais- tulosten keskiarvoa sekä keskihajontaa ei saatu mitattua. Dahlbergin menetelmällä las- kettuna variaatiokertoimeksi saadaan 4,28%, jolloin taso ylittää asetetun laatutavoite- ran.

Kuviossa 11 kuvataan poolien 1-3 pestyjen lipidien lipemiatasoa L5 ja kirkastettua näy- tettä K5. Kuten kuviossa huomataan, pooleissa 1 ja 2 L5 tason arvo ei eroa huomatta- vasti häiriöttömästä nollanäytteestä, sillä lipemian vaikutus jäi häiriön raja-alueelle. Poolissa 3 voidaan nähdä pieni tulostason nousu, joka ei kuitenkaan ole kliinisesti mer- kittävä.



Kuvio 11. ASAT-entsyymien pestyjen lipidien lipemiatasot ja kirkastus.

5.3 Bilirubiinikonjugaatit

Bilirubiinikonjugaatit, eli Bil-Kj, analysoitiin näytepoolien 1-3 valmistetuista näytesarjoista. Kaikista näytteistä analysoitiin rinnakkaistulokset ja laskettiin tulosten keskiarvo sekä keskihajonta.

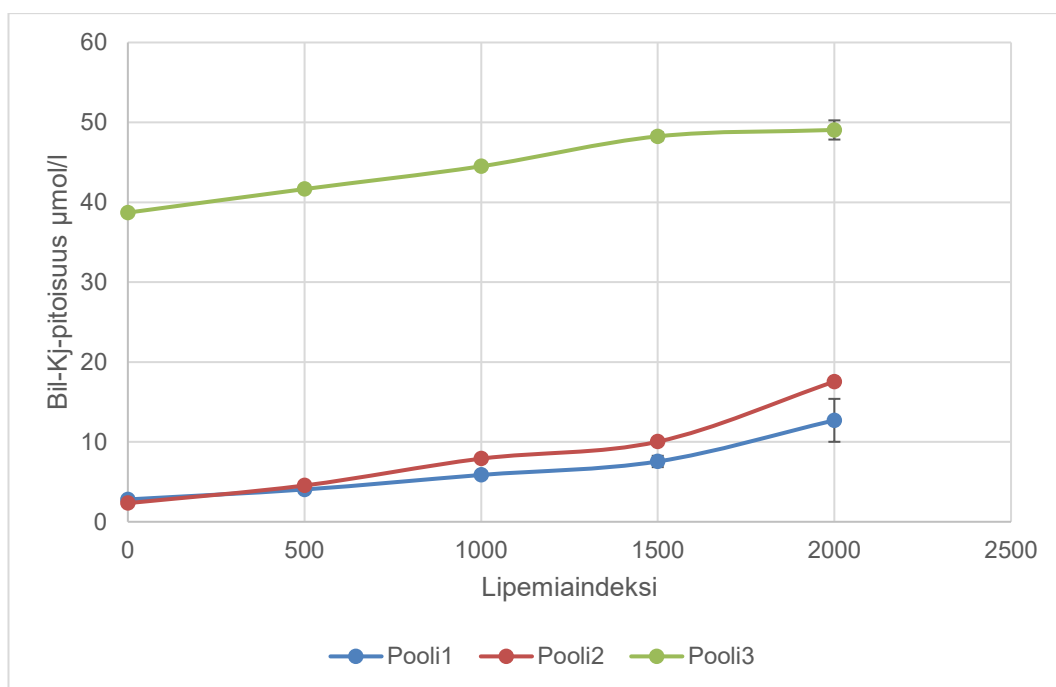
Taulukossa 7 esitellään näytepoolien 1-3 lipemiatasojen L0-L4 analysointitulokset, jossa L0 edustaa häiriötöntä nollanäytettä ja L1-L4 eri lipemiatasoja. Taulukoissa nähdään rinnakkaistuloksien keskiarvo ja keskihajonta. Työssä valmistettujen näytepoolien bilirubiinikonjugaattipitoisuudet L0-tasolla vaihtelivat 2,31-38,7 $\mu\text{mol/l}$ välillä. Kaikissa pooleissa (1-3) tulosten keskihajonta on pientä, eli tulosten toistettavuus on hyvä.

Taulukko 7. Näytepoolien 1-3 tuloskoostetaulukko bilirubiinikonjugaatille.

POOLI1	L0	L1	L2	L3	L4
Indeksi	0	500	1000	1500	2000
Tulos1	2,85	3,98	5,86	8,05	10,8
Tulos2	2,75	4,11	5,87	7,05	14,6
KA	2,8	4,045	5,865	7,55	12,7
sd	0,07	0,09	0,007	0,70	2,68
POOLI2	L0	L1	L2	L3	L4
Indeksi	0	500	1000	1500	2000
Tulos1	2,31	4,73	7,99	10,1	17,5
Tulos2	2,36	4,36	7,82	9,96	17,6
KA	2,335	4,545	7,905	10,03	17,55
sd	0,03	0,26	0,12	0,09	0,07
POOLI3	L0	L1	L2	L3	L4
Indeksi	0	500	1000	1500	2000
Tulos1	38,7	41,5	44,4	47,9	48,2
Tulos2	38,7	41,8	44,6	48,6	49,9
KA	38,7	41,65	44,5	48,25	49,05
sd	0	0,21	0,14	0,49	1,20

Kuviossa 12 esitellään näytepoolien 1, 2 ja 3 bilirubiinikonjugaattipitoisuudet lipemiaaindeksin funktiona. Näytepoolit 1 ja 2 koostuivat viiterajoissa olevista bilirubiinikonjugaattipitoisuuksista ja näytepooli 3 viitealueen ylittävistä, suurista pitoisuuksista. Kuviossa nähdään, että bilirubiinikonjugaattipitoisuus suurenee lipemiaaindeksin kasvaessa. Näin ollen lipemia johtaa virheellisen suureen bilirubiinikonjugaattitulokseen.

Bilirubiinikonjugaattipitoisuus nousee kaikissa pooleissa tasaisesti lipemiaaindeksin kasvaessa. Pooli 1 ja 2 kohdalla L2 tasolla lipemiaaindeksin ollessa 1000 bilirubiinikonjugaattipitoisuus on huomattavasti häiriötöntä nollanäytettä suurempi ja ylittää myös analyttikohtaisen viitearvon eli häiriö on tällöin kliinisesti merkittävää.



Kuvio 12. Bilirubiinikonjugaattipitoisuudet näytepooleissa 1-3.

Häiriön aiheuttaman variaation tarkastelu

Lipemian aiheuttamaa häiriötä arvioitiin laskemalla Dahlbergin menetelmällä eri lipemiatasojen variaatio häiriöttömään näytteeseen nähden. Parinäytteinä toimivat häiriötön 0-näyte ja vastaava lipemianäyte.

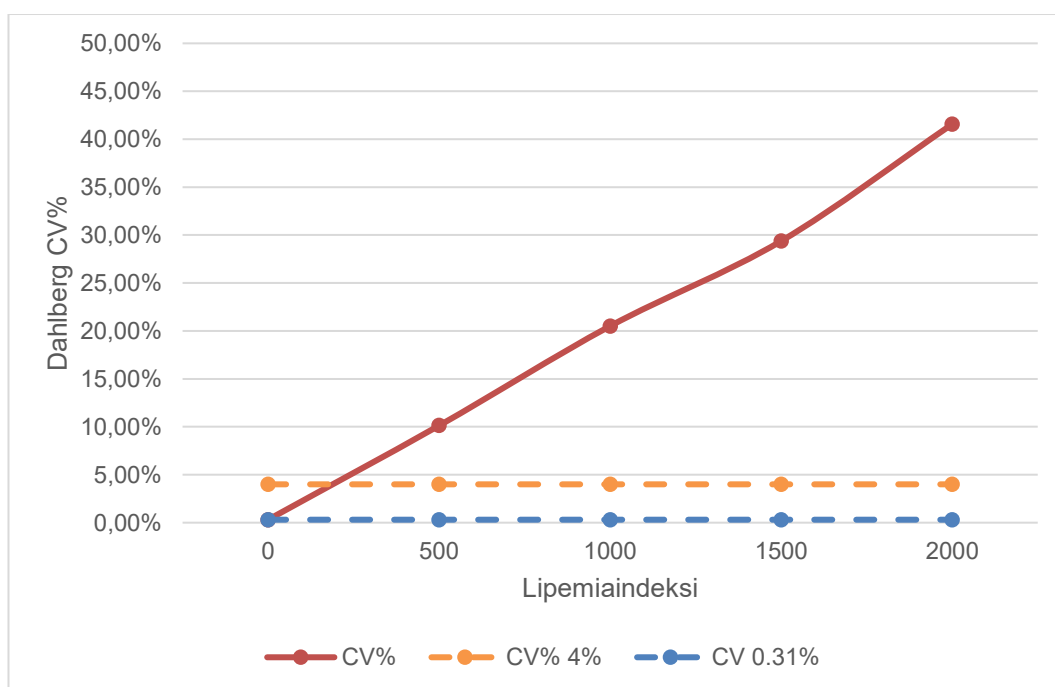
Vita Laboratorioiden oma laatutavoite bilirubiinikonjugaattimäärityksen sarjan sisäiselle variaatiolle on 4%. Työssä määritetty variaatio häiriöttömien parinäytteiden rinnakkaisissa oli 0,31%. Vita Laboratorioiden omaa laatutavoitetta sekä lisäksi häiriöttömien parinäytteiden tulosta (0,31%) käytettiin kriteerinä merkittävälle häiriölle.

Taulukossa 8 kuvataan Dahlbergin menetelmällä lasketut tulokset. Vita Laboratorioiden asettama laatutavoite 4% ylittyi selvästi jo lipemiatasolla 1 (CV% = 10,13%) lipemiaindeksin ollessa noin 500. Tällä lipemiatasolla muutosta voidaan myös pitää kliinisesti merkittävänä. Dahlbergin menetelmällä laskettu variaatiokerroin suureni lipemiaindeksin kasvaessa, eli häiriövaikutus kasvoi lipemian voimistuessa. L4 tasolla lipemiaindeksin ollessa 2000 variaatiokerroin oli jo 41,57%.

Taulukko 8. Variaatiokertoimet bilirubiinikonjugaattipitoisuuksille Dahlbergin menetelmällä laskettuna.

Lipemiataso	Lipemiaindeksi	Dahlberg CV%	Vita Laboratorion laatutavoite
L0	0	0,31%	4%
L1	500	10,13%	
L2	1000	20,51%	
L3	1500	29,38%	
L4	2000	41,57%	

Kuvioon 13 on koottu Dahlbergin menetelmällä lasketut variaatiokertoimet lipemiatasoille havainnollistamaan poikkeamaprosentteja. Vaakatason kuvaajina on Vita Laboratorion oma laatutavoite 4% sekä saatu variaatiokerroin häiriöttömille parinäytteille. Nämä toimivat kriteereinä merkittävälle häiriölle.



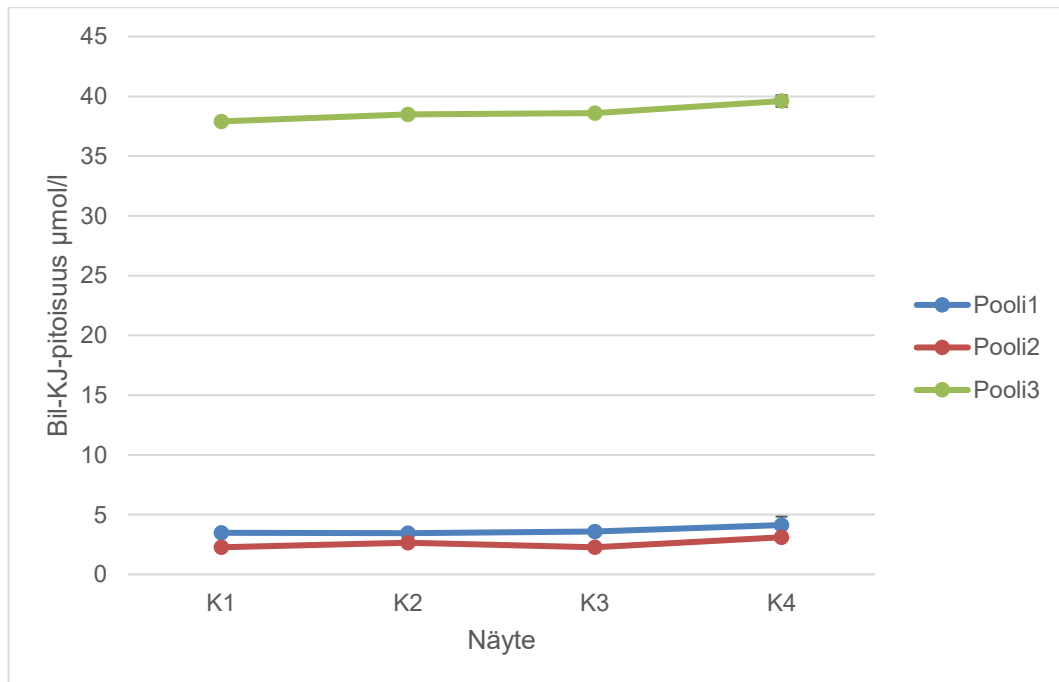
Kuvio 13. Bilirubiinikonjugaattien variaatiokertoimet. Variaatiokerroin ylitti bilirubiinikonjugaatille määritetyn 4% laatutavoitteen (merkitty oranssilla katkoviivalla) lipemiaindeksillä 500.

Häiriön poisto kirkastamalla

Työssä valmistettujen näytepoolien lipemiatasojen analysoinnin jälkeen kaikki näytteet kirkastettiin sentrifugoimalla. Kirkastettu seerumi eroteltiin uuteen näytekyvettiin. Kirkastetut näytteet analysoitiin, mutta vähäisen näytemäärän takia rinnakkaisia tuloksia

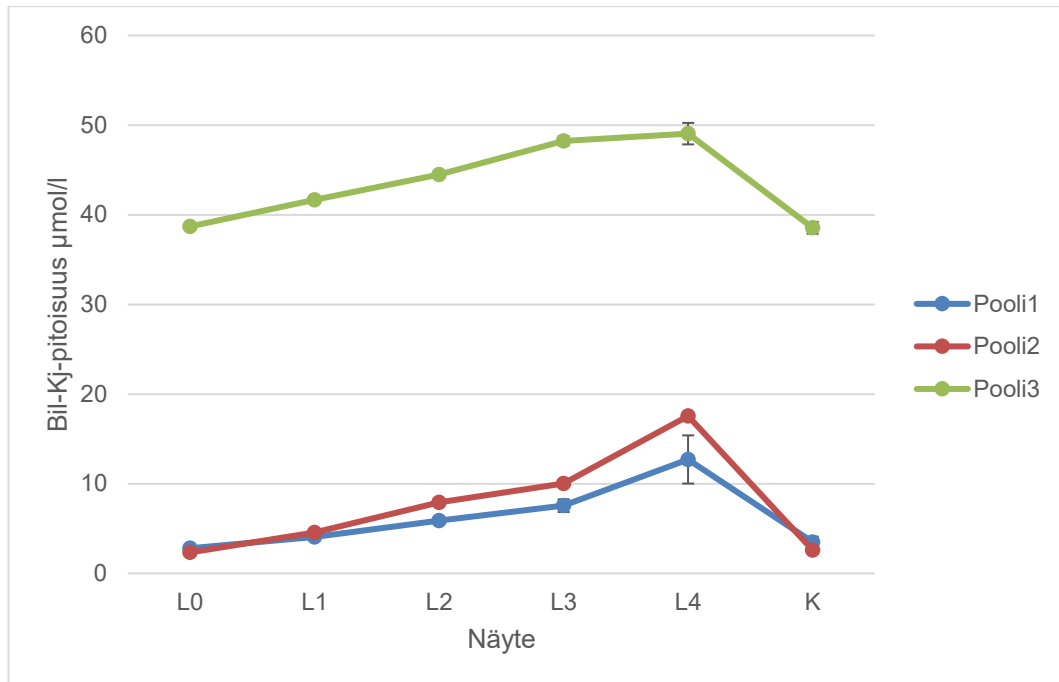
ei saatu kaikista lipemiatasoista. Kirkastetut näytteet nimettiin lipemiatasojen mukaisesti K1-K4, jossa K tarkoitti kirkastusta ja numero kuvaa minkä suuruinen lipemiataso oli kyseessä.

Kuviossa 14 esitetään näytepoolien 1-3 lipemiatasojen kirkastukset. Kuviossa nähdään, että näytteiden bilirubiinikonjugaattipitoisuudet ovat kirkastuksen jälkeen yhteneväiset riippumatta niiden lipemiatasosta ennen kirkastusta.



Kuvio 14. Bilirubiinikonjugaatin kirkastustulokset K1-K4 näytepooleissa 1-3.

Kuviossa 15 esitetään näytepoolien 1-3 lipemiatasot sekä poolikohtainen kirkastustulosten keskiarvo. Kuvioista voidaan nähdä, että kirkastettu K tulos palaa samalle tasolle kuin häiriötön nollanäyte L0. Tämän perustella vaikuttaa, että lipemian aiheuttama häiriö saadaan poistettua sentrifugoinnilla ja tulostasoa tämän jälkeen vastaa häiriötöntä näytettä.

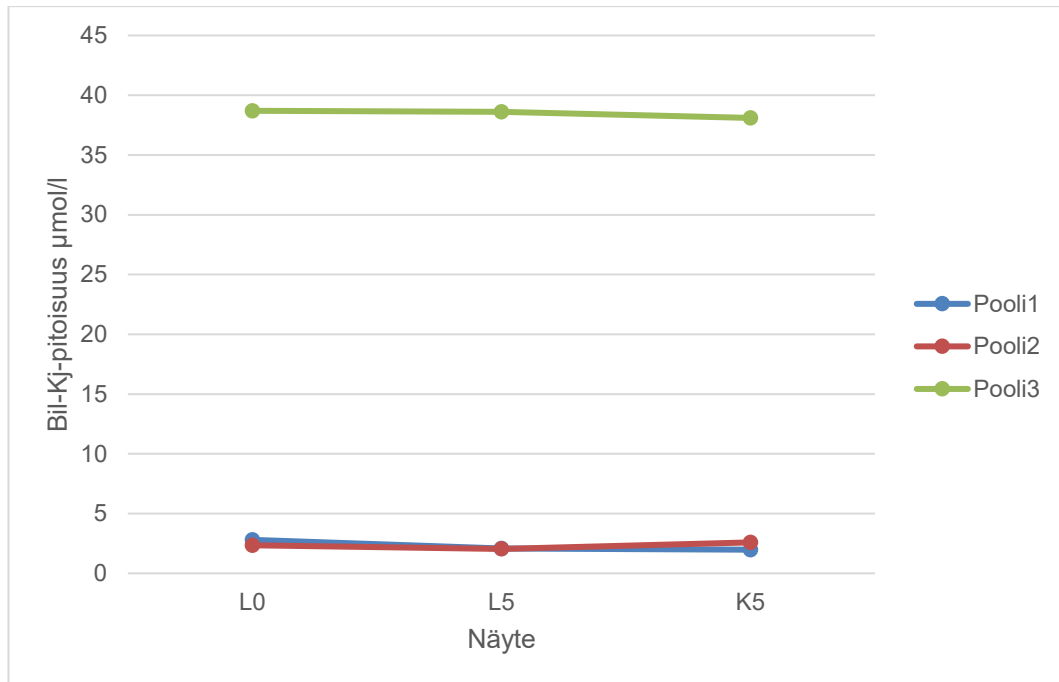


Kuvio 15. Bilirubiinikonjugaattien kirkastustulosten keskiarvon suhde lipemiatasoihin näytepoolleissa 1-3.

Pestyt lipidit

Pestyistä lipideistä luodun lipemiatason (L5) lipemia indeksi oli noin 600. Pestyistä lipideistä tehdyistä lipemiatasoista ei analysoitu rinnakkaisia mittauksia, joten rinnakkais- tulosten keskiarvoa sekä keskihajontaa ei saatu mitattua. Dahlbergin menetelmällä las- kettuna variaatiokertoimeksi saadaan 2,21%, jolloin taso pysyy asetettujen laatutavoite- rajojen sisällä.

Kuviossa 16 kuvataan näytepoolien 1-3 pestyjen lipidien lipemiatasoa L5 ja kirkastettua näytettä K5. Kuten kuviossa huomataan, ei L5 tason arvo eroa huomattavasti häiriöttö- mästi nollanäytteestä, sillä lipemian vaikutus jäi häiriön raja-alueelle.



Kuvio 16. Bilirubiinikonjugaattien pestyjen lipidien lipemiatasot ja kirkastus.

5.4 Kalium

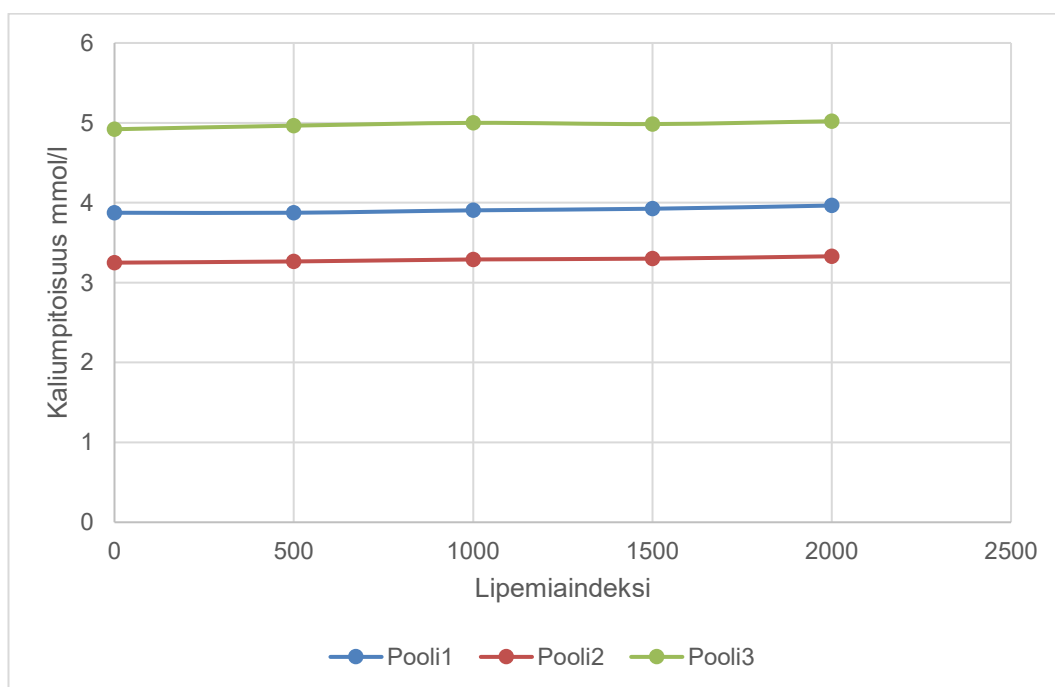
Kalium analysoitiin näytepooleista 1-3 valmistetuista näytesarjoista. Kaikista näytteistä analysoitiin rinnakkaistulokset ja laskettiin tulosten keskiarvo sekä keskihajonta.

Taulukossa 9 esitellään näytepoolien 1-3 lipemiatasojen L0-L4 analysointitulokset, jossa L0 edustaa häiriötöntä nollanäytettä ja L1-L4 eri lipemiatasoja. Taulukoissa nähdään rinnakkaistuloksien keskiarvo ja keskihajonta. Työssä valmistettujen näytepoolien kaliumpitoisuudet L0-tasolla vaihtelivat 3,24-4,93 mmol/l välillä. Kaikkien poolien rinnakkaisten tulosten keskihajonta oli pientä, eli tulosten toistettavuus oli hyvä.

Taulukko 9. Näytepoolien 1-3 tuloskoostetaulukko kaliumille.

POOLI1	L0	L1	L2	L3	L4
Indeksi	0	500	1000	1500	2000
Tulos1	3,87	3,88	3,9	3,92	3,96
Tulos2	3,88	3,87	3,91	3,93	3,97
KA	3,875	3,875	3,905	3,925	3,965
sd	0,007	0,007	0,007	0,007	0,007
POOLI2	L0	L1	L2	L3	L4
Indeksi	0	500	1000	1500	2000
Tulos1	3,26	3,26	3,3	3,3	3,33
Tulos2	3,24	3,27	3,28	3,3	3,33
KA	3,25	3,265	3,29	3,3	3,33
sd	0,01	0,007	0,01	0	0
POOLI3	L0	L1	L2	L3	L4
Indeksi	0	500	1000	1500	2000
Tulos1	4,93	4,96	5,01	4,98	5,02
Tulos2	4,91	4,97	4,99	4,99	5,02
KA	4,92	4,965	5	4,985	5,02
sd	0,01	0,007	0,01	0,007	0

Kuviossa 17 esitellään näytepoolien 1, 2 ja 3 kaliumpitoisuudet lipemaiindeksin funktiona. Näytepoolit 1 ja 2 koostuivat viiterajoissa olevista kaliumpitoisuuksista ja näytepooli 3 viitealueen hieman ylittävistä pitoisuuksista.



Kuvio 17. Kaliumpitoisuus näytepooleissa 1-3.

Häiriön aiheuttaman variaation arviointi

Lipemian aiheuttamaa häiriötä arvioitiin laskemalla Dahlbergin menetelmällä eri lipemiatasojen variaatio häiriöttömään näytteeseen nähden. Parinäytteinä toimivat häiriötön 0-näyte ja vastaava lipemianäyte.

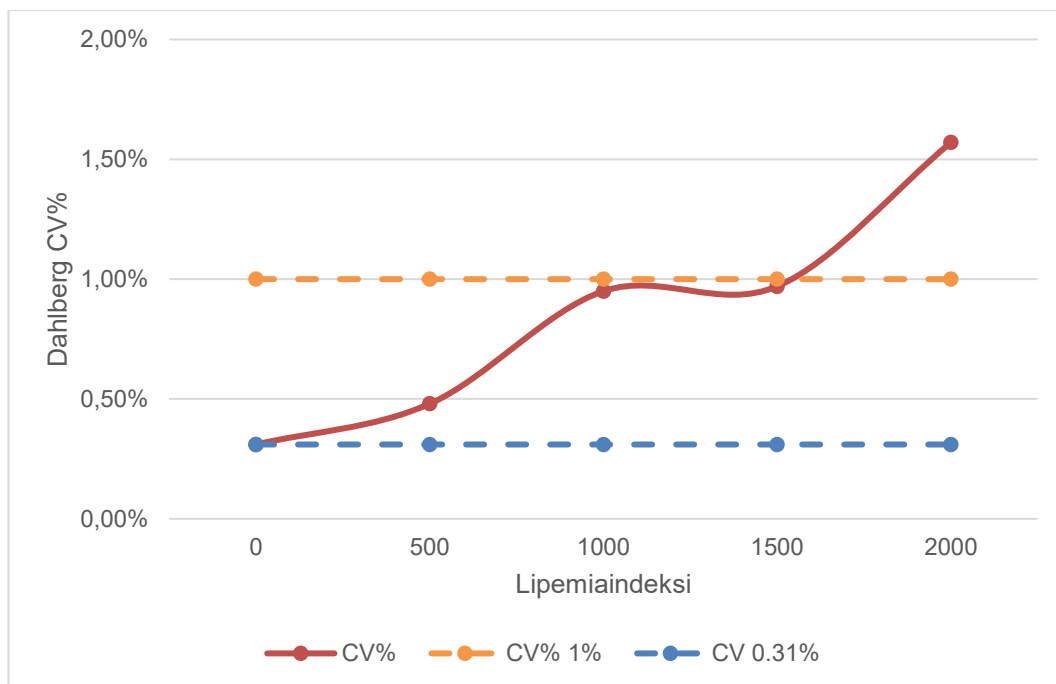
Vita Laboratorioiden oma laatutavoite kaliummäärityksen sarjan sisäiselle variaatiolle on 1%. Työssä määritetty variaatio häiriöttömien parinäytteiden rinnakkaisissa oli 0,31%. Vita Laboratorioiden omaa laatutavoitetta sekä lisäksi häiriöttömien parinäytteiden tulosta (0,31%) käytettiin kriteerinä merkittävälle häiriölle.

Taulukossa 10 kuvataan Dahlbergin menetelmällä lasketut tulokset. Variaatiokerroin pysyi laboratorion asettamassa laatutavoiterajassa sarjan sisäiselle variaatiolle vielä lipemiatasolla 3 eli lipemiaindeksin ollessa noin 1500. Lipemiatasoilla L1-L3 havaittiin kuitenkin suurempi variaatio kuin mitä nollanäytteistä laskettu parinäytteiden variaatio oli. Vita Laboratorioiden asettama laatutavoite 1% ylittyi lipemiatasolla 4 (CV% = 1,57%) lipemiaindeksin ollessa noin 2000. Tällä lipemiatasolla muutosta voidaan myös pitää kliinisesti merkittävänä.

Taulukko 10. Variaatiokertoimet kaliumpitoisuuksille Dahlbergin menetelmällä laskettuna.

Lipemiataso	Lipemiaindeksi	Dahlberg CV%	Vita Laboratorioiden Laatutavoite
L0	0	0,31%	1%
L1	500	0,48%	
L2	1000	0,95%	
L3	1500	0,97%	
L4	2000	1,57%	

Kuvioon 18 on koottu Dahlbergin menetelmällä lasketut variaatiokertoimet eri lipemiatasoille havainnollistamaan poikkeamaprosentteja. Vaakatason kuvaajina on Vita Laboratorion oma laatutavoite 1% sekä tutkimuksessa saatu variaatiokerroin häiriöttömille parinäytteille. Nämä toimivat kriteereinä merkittävälle häiriölle.

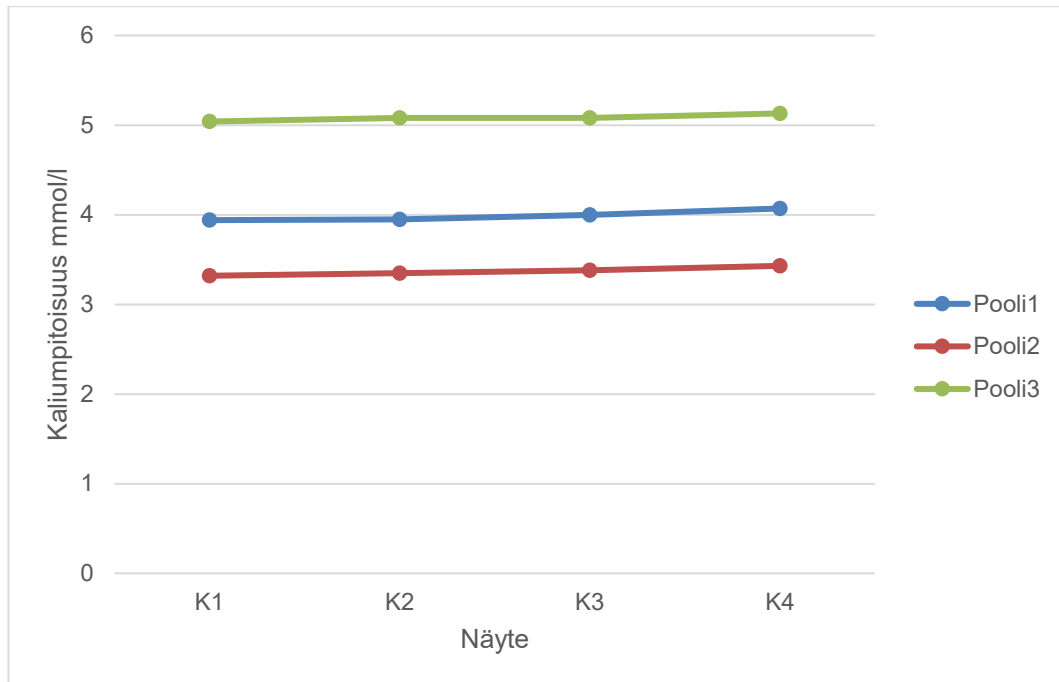


Kuvio 18. Kaliumin variaatiokertoimet. Variaatiokerroin ylitti kaliumille määrätyn 1% laatutavoitteen (merkitty oranssilla katkoviivalla) lipemiaindeksillä 2000.

Häiriön poisto kirkastamalla

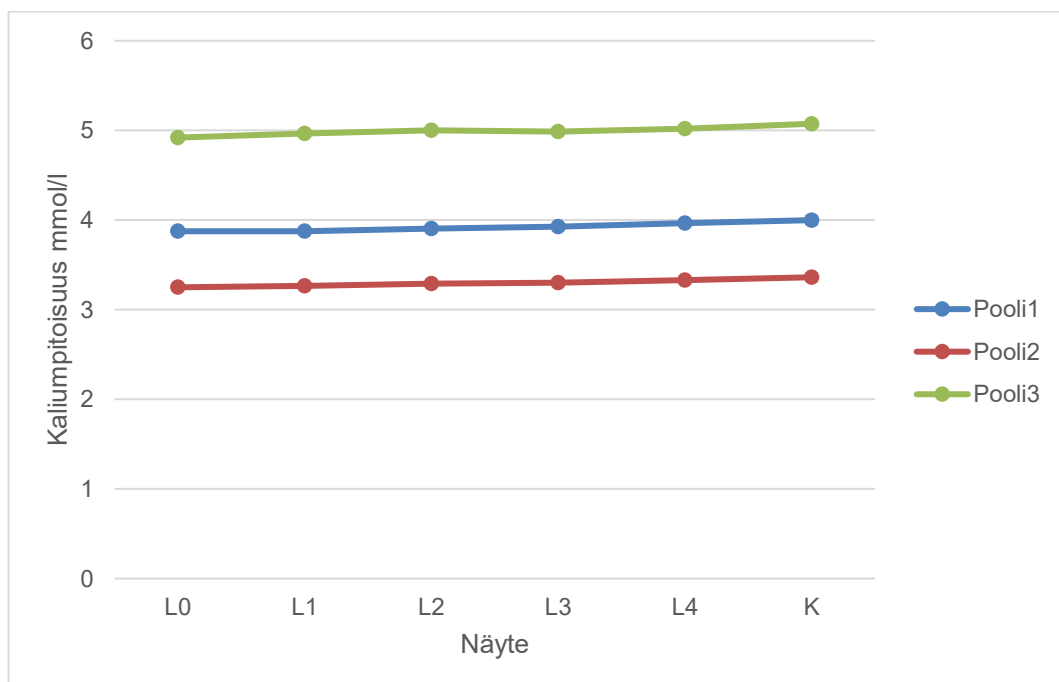
Työssä valmistettujen näytepoolien lipemiatasojen analysoinnin jälkeen kaikki näytteet kirkastettiin sentrifugoimalla. Kirkastettu seerumi eroteltiin uuteen näytekyvetiin. Kirkastetut näytteet analysoitiin, mutta vähäisen näytemäärän takia rinnakkaisia tuloksia ei saatu kaikista lipemiatasoista. Kirkastetut näytteet nimettiin lipemiatasojen mukaisesti K1-K4, jossa K tarkoitti kirkastusta ja numero kuvaa minkä suuruinen lipemiataso oli kyseessä.

Kuviossa 19 esitetään poolien 1-3 lipemiatasojen kirkastukset. Kuviossa nähdään, että näytteiden kaliumpitoisuudet ovat kirkastuksen jälkeen yhteneväiset riippumatta niiden lipemiatasosta ennen kirkastusta.



Kuvio 19. Kaliumin kirkastustulokset K1-K4 näytepooleissa 1-3.

Kuviossa 20 esitetään poolien 1-3 lipemiatasot sekä poolikohtainen kirkastustulosten keskiarvo. Kuvioista voidaan nähdä, että kirkastettu K tulos palaa samalle tasolle kuin häiriötön nollanäyte L0. Tämän perusteella vaikuttaa, että lipemian aiheuttama häiriö saadaan poistettua sentrifugoinnilla ja tulostasoa tämän jälkeen vastaa häiriötöntä näytettä.

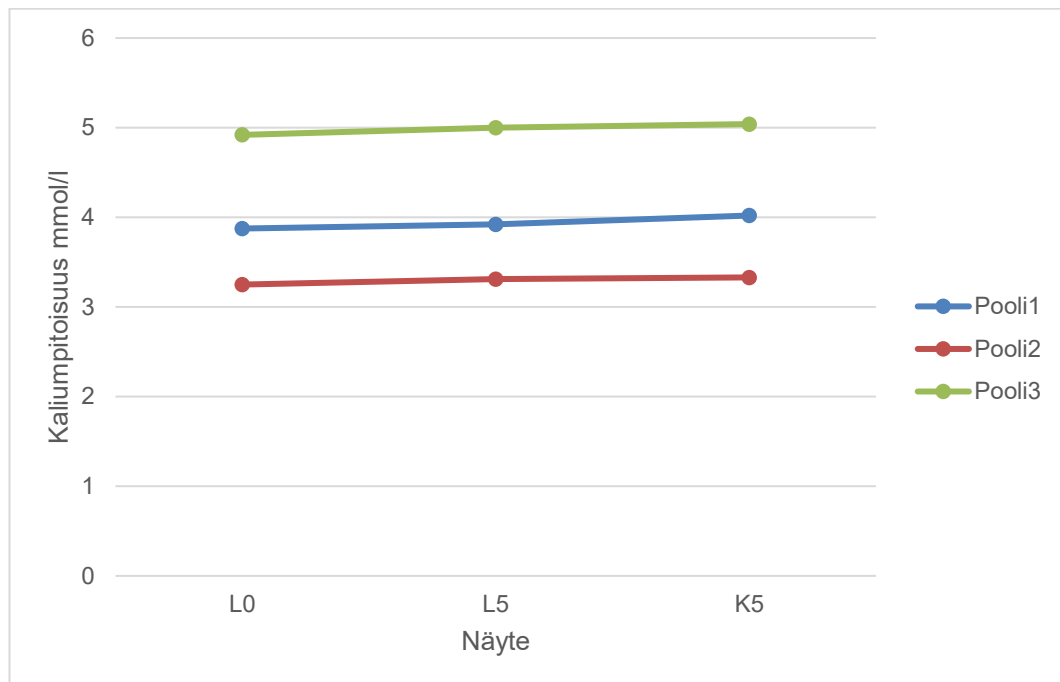


Kuvio 20. Kaliumin kirkastustulosten keskiarvon suhde lipemiatasoihin näytepooleissa 1-3.

Pestyt lipidit

Pestyistä lipideistä luodun lipemiatason (L5) lipemia indeksi oli noin 600. Pestyistä lipideistä tehdyistä lipemiatasoista ei analysoitu rinnakkaisia mittauksia, joten rinnakkais- tulosten keskiarvoa sekä keskihajontaa ei saatu mitattua. Dahlbergin menetelmällä las- kettuna variaatiokertoimeksi saadaan 1,11%, jolloin taso ylittää asetetun laatutavoitera- jan.

Kuviossa 21 kuvataan poolien 1-3 pestyjen lipidien lipemiatasoa L5 ja kirkastettua näy- tettä K5. Kuten kuviossa huomataan, poolien L5 tason arvo ei eroa huomattavasti häiri- öttömästä nollanäytteestä, sillä lipemian vaikutus jäi häiriön raja-alueelle.



Kuvio 21. Kaliumin pestyjen lipidien lipemiatasot ja kirkastus.

5.5 Kreatiinikinaasi

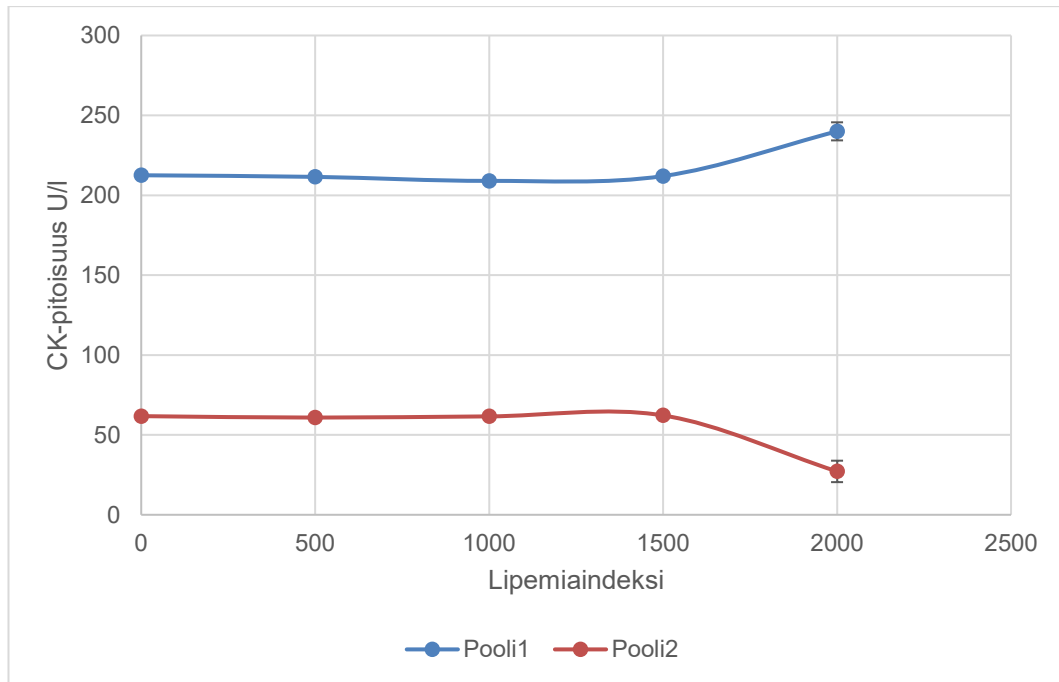
Kreatiinikinaasi, eli CK, analysoitiin näytepoolien 1-3 valmistetuista näytesarjoista. Kai- kista näytteistä analysoitiin rinnakkaistulokset ja laskettiin tulosten keskiarvo sekä kes- kihajonta.

Taulukossa 11 esitellään näytepoolien 1-3 lipemiatasojen L0-L4 analysointitulokset, jossa L0 edustaa häiriötöntä nollanäytettä ja L1-L4 eri lipemiatasoja. Taulukoissa nähdään rinnakkaistuloksien keskiarvo ja keskihajonta. Työssä valmistettujen näytepoolien CK-pitoisuudet L0-tasolla vaihtelivat 61,5-4574 U/l välillä. Pooleissa 1 ja 2 keskihajonta on pientä, ja suurin hajonta nähdään L4-tasolla lipemaiindeksin ollessa 2000. Poolissa 3 nähdään merkittävä hajonta L2 tasosta eteenpäin.

Taulukko 11. Näytepoolien 1-3 tuloskoostetaulukko CK-entsyymille.

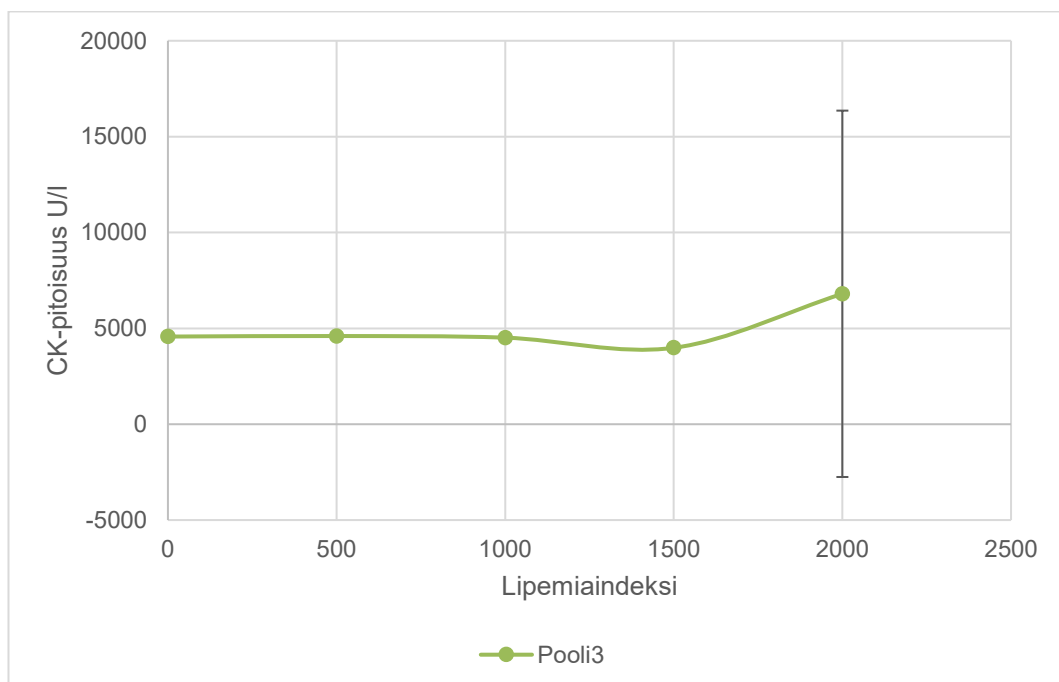
POOLI1	L0	L1	L2	L3	L4
Indeksi	0	500	1000	1500	2000
Tulos1	213	211	208	213	244
Tulos2	212	212	210	211	236
KA	212,5	211,5	209	212	240
sd	0,71	0,71	1,41	1,41	5,66
POOLI2	L0	L1	L2	L3	L4
Indeksi	0	500	1000	1500	2000
Tulos1	62	60,9	62,1	61,1	22,4
Tulos2	61,5	60,8	61,1	63,3	31,9
KA	61,75	60,85	61,6	62,2	27,15
sd	0,35	0,07	0,71	1,55	6,72
POOLI3	L0	L1	L2	L3	L4
Indeksi	0	500	1000	1500	2000
Tulos1	4569	4595	4479	3991	13558
Tulos2	4574	4603	4550	3977	46,2
KA	4571,5	4599	4514,5	3984	6802,1
sd	3,53	5,66	50,20	9,89	9554,28

Kuviossa 22 esitellään näytepoolien 1 ja 2 CK-pitoisuudet lipemaiindeksin funktiona. Näytepoolit 1 ja 2 koostuivat viiterajoissa olevista CK-pitoisuuksista. Kuviossa nähdään, että CK-pitoisuus muuttuu epästabiiliksi lipemaiindeksin ollessa 2000. Näin ollen lipemia johtaa virheellisen CK-entsyymin tulokseen.



Kuvio 22. CK-entsymin pitoisuudet näytepooleissa 1 ja 2.

Kuviossa 23 esitellään näytepoolin 3 CK-pitoisuudet lipemiaindeksin funktiona. Pooli 3 koostui viitearvoalueen ylittävistä arvoista. Kuviossa nähdään lipemian aiheuttama häiriö lipemiaindeksin ollessa 2000. Tämän kokeen perusteella näyttääkin siltä, että CK-pitoisuus vaikuttaa lipemian aiheuttaman häiriön suuruuteen: Suurilla CK-pitoisuuksilla lipemian aiheuttama häiriö on suurempi kuin pienemmillä CK-pitoisuuksilla.



Kuvio 23. CK-entsyymien pitoisuudet näytepoolissa 3.

Häiriön aiheuttaman variaation tarkastelu

Lipemian aiheuttamaa häiriötä arvioitiin laskemalla Dahlbergin menetelmällä eri lipemiatasojen variaatio häiriöttömään näytteeseen nähden. Parinäytteinä toimivat häiriötön 0-näyte ja vastaava lipemianäyte.

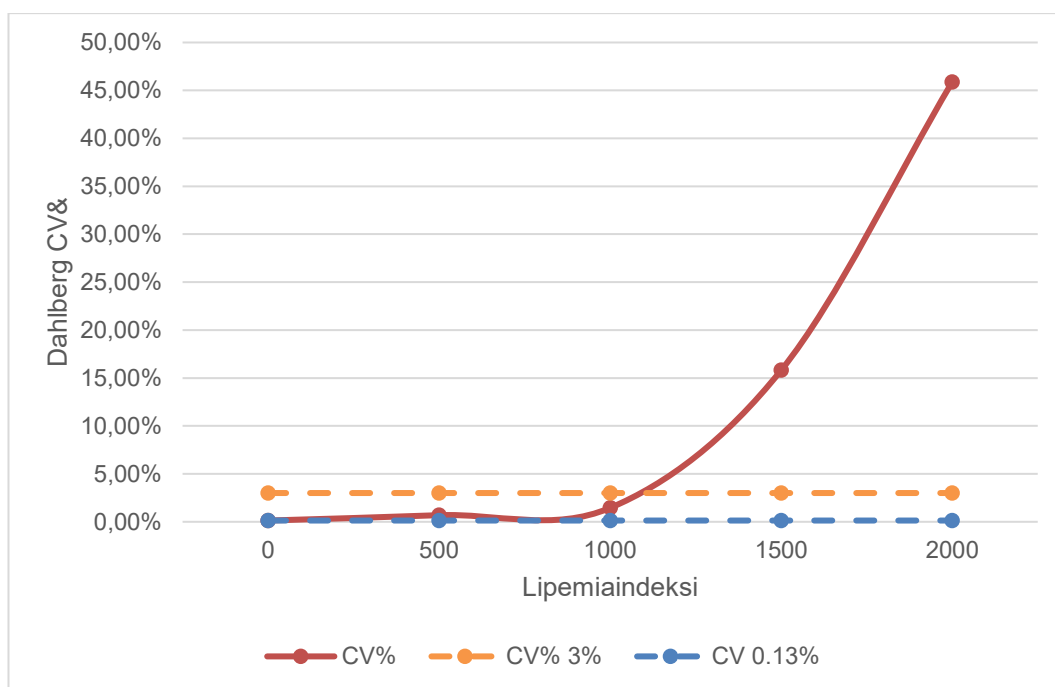
Vita Laboratorioiden oma laatutavoite CK- määrittämisen sarjan sisäiselle variaatiolle on 3%. Työssä määritetty variaatio häiriöttömien parinäytteiden rinnakkaisissa oli 0,13%. Vita Laboratorioiden omaa laatutavoitetta sekä lisäksi häiriöttömien parinäytteiden tulosta (0,13%) käytettiin kriteerinä merkittävälle häiriölle.

Taulukossa 12 kuvataan Dahlbergin menetelmällä lasketut tulokset. Variaatiokerroin pysyi laboratorion asettamassa laatutavoitearjassa sarjan sisäiselle variaatiolle vielä lipemiatasolla 2 eli lipemiiindeksi ollessa noin 1000. L1 tasolla havaittiin kuitenkin jo suurempi variaatio kuin mitä nollanäytteistä laskettu parinäytteiden variaatio oli. Vita Laboratorioiden asettama laatutavoite 3% ylittyi selvästi lipemiatasolla 3 (CV% = 15,81%) lipemiiindeksi ollessa noin 1500. Tällä lipemiatasolla muutosta voidaan myös pitää kliinisesti merkittävänä. Dahlbergin menetelmällä laskettu variaatiokerroin suureni lipemiiindeksi kasvaessa, eli häiriövaikutus kasvoi lipemian voimistuessa.

Taulukko 12. Variaatiokertoimet CK-entsyymille Dahlbergin menetelmällä laskettuna.

Lipemiataso	Lipemiiindeksi	Dahlberg CV%	Vita Laboratorioiden Laatutavoite
L0	0	0,13%	3%
L1	500	0,69%	
L2	1000	1,45%	
L3	1500	15,81%	
L4	2000	45,87%	

Kuvioon 24 on koottu Dahlbergin menetelmällä lasketut variaatiokertoimet eri lipemiatasoille havainnollistamaan poikkeamaprosentteja. Vaakatason kuvaajina on Vita Laboratorion oma laatutavoite 3% sekä saatu variaatiokerroin häiriöttömille parinäytteille. Nämä toimivat kriteereinä merkittävälle häiriölle.

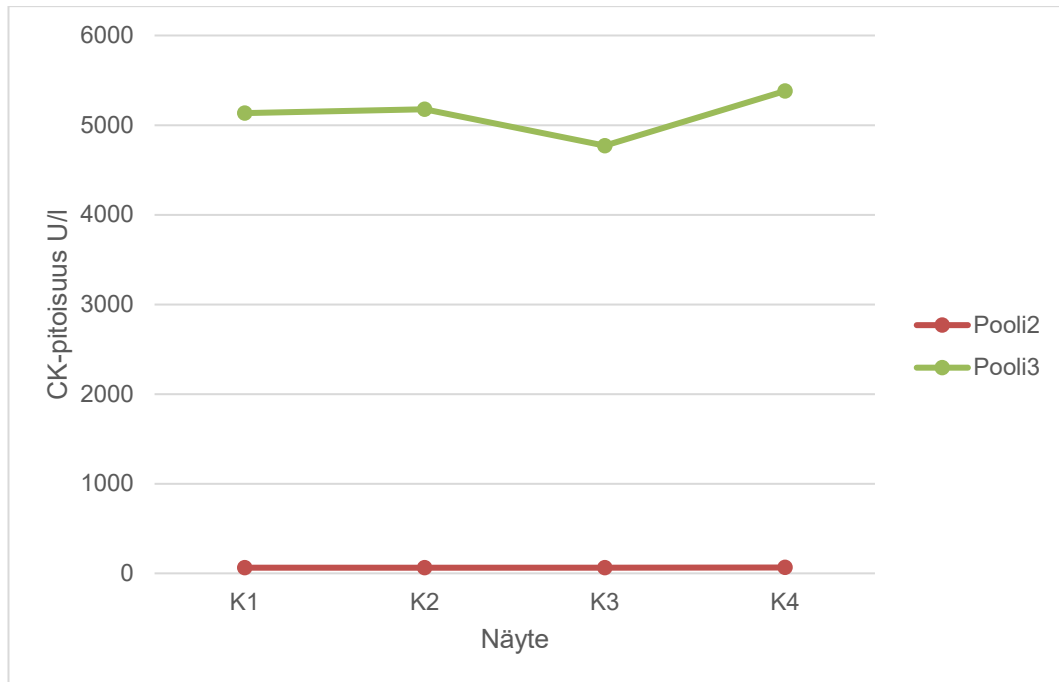


Kuvio 24. CK-entsyymien variaatiokertoimet. Variaatiokerroin ylitti CK-entsyymille määrätyn 3% laatutavoitteen (merkitty oranssilla katkoviivalla) lipemiaindeksillä 1500.

Häiriön poisto kirkastamalla

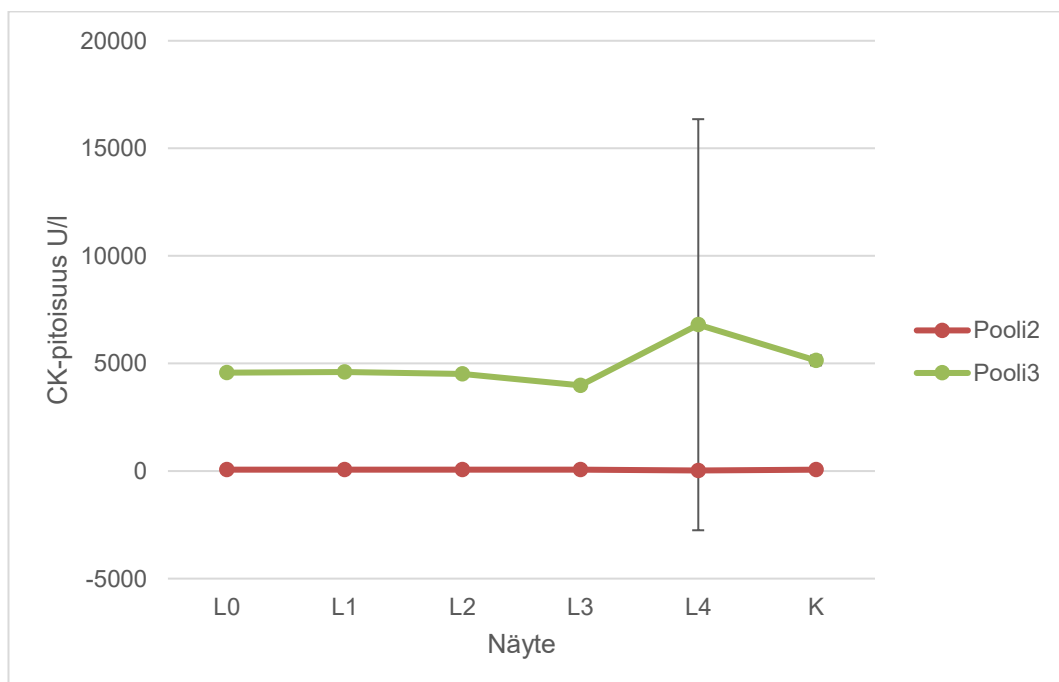
Työssä valmistettujen näytepoolien lipemiatasojen analysoinnin jälkeen kaikki näytteet kirkastettiin sentrifugoimalla. Kirkastettu seerumi eroteltiin uuteen näytekyvetiin. Kirkastetut näytteet analysoitiin, mutta vähäisen näytemäärän takia rinnakkaisia tuloksia ei saatu kaikista lipemiatasoista. Kirkastetut näytteet nimettiin lipemiatasojen mukaisesti K1-K4, jossa K tarkoitti kirkastusta ja numero kuvaa minkä suuruinen lipemiataso oli kyseessä.

Kuviossa 25 esitetään poolien 2 ja 3 lipemiatasojen kirkastukset. Poolista 1 ei saatu kirkastustuloksia vähäisen näytemäärän takia. Kuviossa nähdään, että poolien 1 ja 2 näytteiden CK-pitoisuudet ovat kirkastuksen jälkeen yhteneväiset riippumatta niiden lipemiatasosta ennen kirkastusta. Poolin 3 kirkastustulokset muuttuvat hieman, mutta pitoisuuden ollessa suuri ei muutoksella ole kliinistä merkitystä.



Kuvio 25. CK-entsyymien kirkastustulokset K1-K4 näytepooleille 2 ja 3.

Kuviossa 26 esitetään poolien 2 ja 3 lipemiatasot sekä poolikohtainen kirkastustulosten keskiarvo. Kuvioista voidaan nähdä, että kirkastettu K tulos palaa samalle tasolle kuin häiriötön nollanäyte L0. Tämän perusteella vaikuttaa, että lipemian aiheuttama häiriö saadaan poistettua sentrifugoinnilla ja tulostasoa tämän jälkeen vastaa häiriötöntä näytettä.

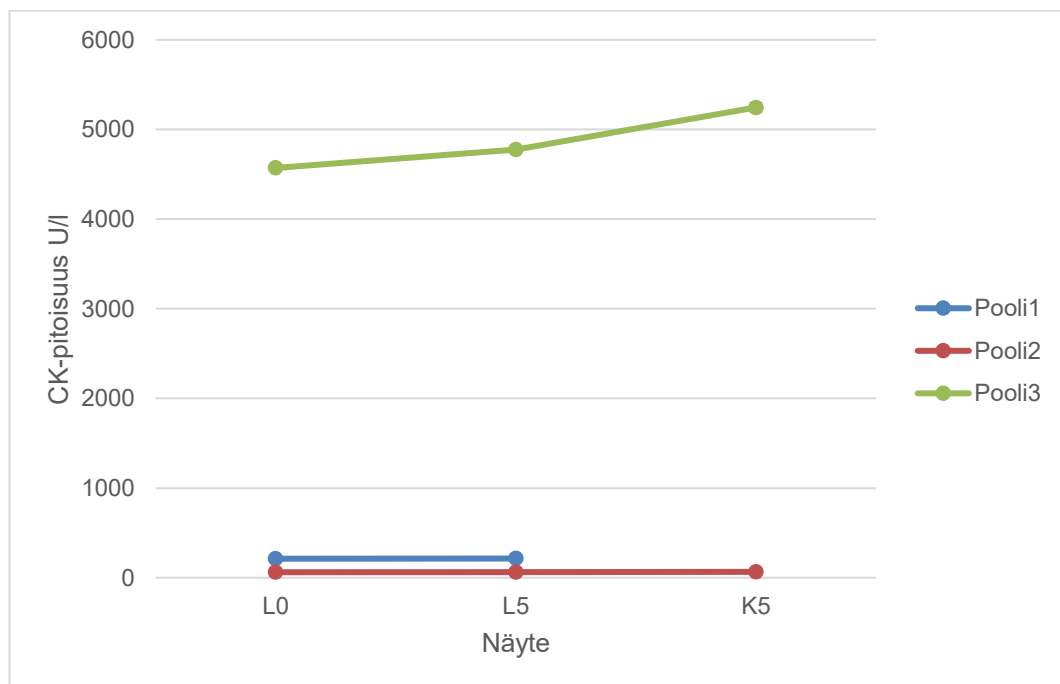


Kuvio 26. CK-entsyymin kirkastuksen suhde lipemiatasoihin näytepoolleissa 2 ja 3.

Pestyt lipidit

Pestyistä lipideistä luodun lipemiatason (L5) lipemia indeksi oli noin 600. Pestyistä lipideistä tehdyistä lipemiatasoista ei analysoitu rinnakkaisia mittauksia, joten rinnakkais-tulosten keskiarvoa sekä keskihajontaa ei saatu mitattua. Dahlbergin menetelmällä las-kettuna variaatiokertoimeksi saadaan 5,06%, jolloin taso ylittää asetetun laatutavoite-ajan.

Kuviossa 27 kuvataan näytepoolien 1-3 pestyjen lipidien lipemiatasoa L5 ja kirkastettua näytettä K5. Poolista 1 ei saatu kirkastustulosta vähäisen näytemäärän takia. Kuten kuviossa huomataan, ei poolien 1 ja 2 L5 tason arvo eroa huomattavasti häiriöttömästä nollanäytteestä, sillä lipemian vaikutus jäi häiriön raja-alueelle. Poolissa 3 L5 taso on suurempi kuin häiriötön nollanäyte ja kirkastustulos ei palaa samalle tasolle. Tällä pitoi-suudella tuloksella ei kuitenkaan ole kliinistä merkitystä.



Kuvio 27. CK-entsyymin pestyjen lipidien lipemiatasot ja kirkastus.

5.6 Kreatiniini

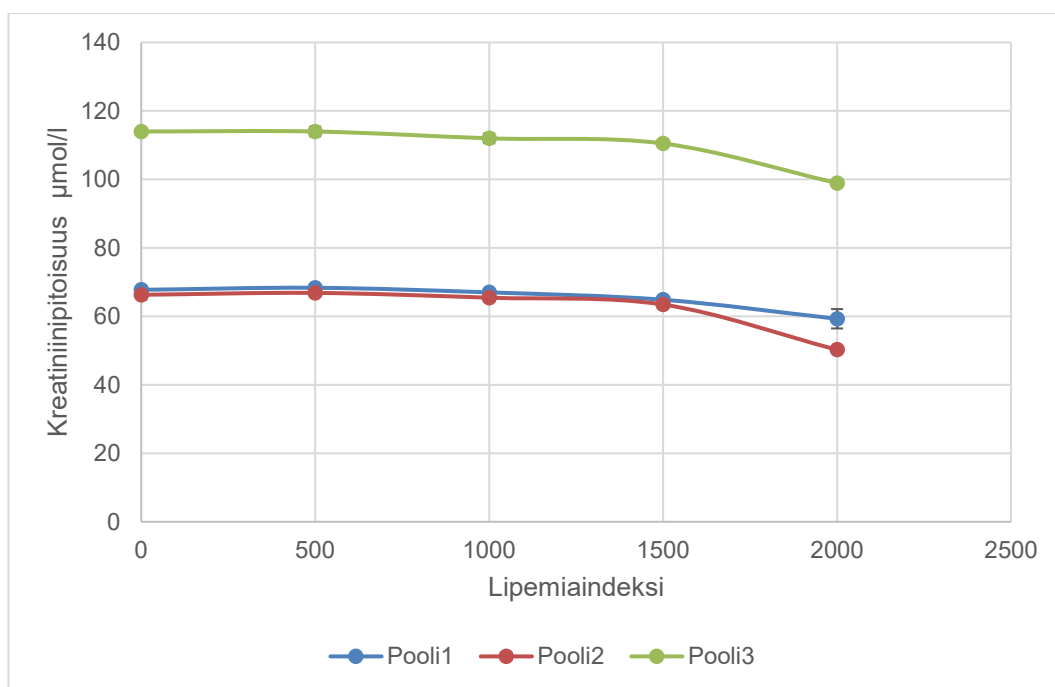
Kreatiniini analysoitiin näytepoolien 1-3 valmistetuista näytesarjoista. Kaikista näyt-teistä analysoitiin rinnakkaistulokset ja laskettiin tulosten keskiarvo sekä keskihajonta.

Taulukossa 13 esitellään näytepoolien 1-3 lipemiatasojen L0-L4 analysointitulokset, jossa L0 edustaa häiriötöntä nollanäytettä ja L1-L4 eri lipemiatasoja. Taulukoissa nähdään rinnakkaistuloksien keskiarvo ja keskihajonta. Työssä valmistettujen näytepoolien pitoisuudet L0-tasolla vaihtelivat 65,3-114 µmol/l välillä. Kaikissa pooleissa tulosten keskihajonta on pientä, suurin hajonta nähdään pooli 1 L4-tasolla hajonnan ollessa 2,83.

Taulukko 13. Näytepoolien 1-3 tuloskoostetaulukko kreatiniinille.

POOLI1	L0	L1	L2	L3	L4
Indeksi	0	500	1000	1500	2000
Tulos1	68,2	68,5	67,3	65	61,3
Tulos2	67,3	68,2	66,7	64,7	57,3
KA	67,75	68,35	67	64,85	59,3
sd	0,64	0,21	0,42	0,21	2,83
POOLI2	L0	L1	L2	L3	L4
Indeksi	0	500	1000	1500	2000
Tulos1	67,3	67	65,9	62,7	50,1
Tulos2	65,3	66,7	65	64,2	50,4
KA	66,3	66,85	65,45	63,45	50,25
sd	1,41	0,21	0,64	1,06	0,21
POOLI3	L0	L1	L2	L3	L4
Indeksi	0	500	1000	1500	2000
Tulos1	114	115	113	111	99,4
Tulos2	114	113	111	110	98,5
KA	114	114	112	110,5	98,95
sd	0	1,41	1,41	0,71	0,64

Kuviossa 28 esitellään näytepoolien 1, 2 ja 3 kreatiniinipitoisuudet lipemaiindeksin funktiona. Näytepoolit 1 ja 2 koostuivat viiterajoissa olevista kreatiniinipitoisuuksista ja näytepooli 3 viitealueen ylittävistä, suurista pitoisuuksista. Kuviossa nähdään, että kreatiniinipitoisuus pienenee lipemaiindeksin kasvaessa. Näin ollen lipemia johtaa virheellisen pieneen kreatiniinitulokseen.



Kuvio 28. Kreatiniinipitoisuudet näytepooleissa 1-3.

Häiriön aiheuttaman variaation tarkastelu

Lipemian aiheuttamaa häiriötä arvioitiin laskemalla Dahlbergin menetelmällä eri lipemiatasojen variaatio häiriöttömään näytteeseen nähden. Parinäytteinä toimivat häiriötön 0-näyte ja vastaava lipemianäyte.

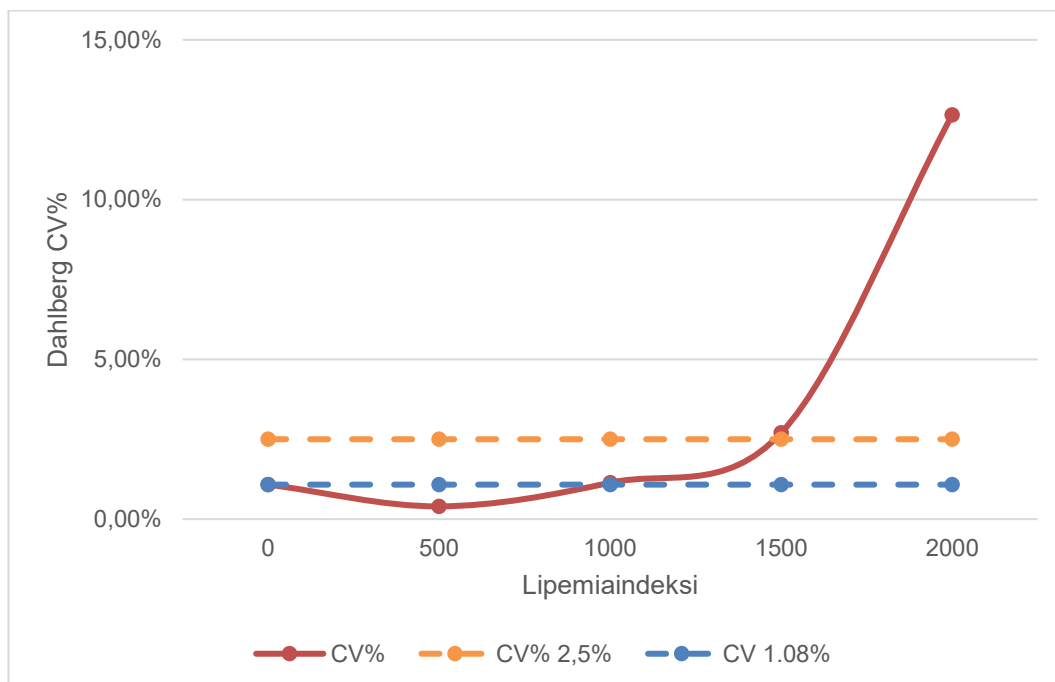
Vita Laboratorioiden oma laatutavoite kreatiniinimäärityksen sarjan sisäiselle variaatiolle on 2,5%. Työssä määritetty variaatio häiriöttömien parinäytteiden rinnakkaisissa oli 1,08%. Vita Laboratorioiden omaa laatutavoitetta sekä lisäksi häiriöttömien parinäytteiden tulosta (1,08%) käytettiin kriteerinä merkittävälle häiriölle.

Taulukossa 14 kuvataan Dahlbergin menetelmällä lasketut tulokset. Variaatiokerroin pysyi laboratorion asettamassa laatutavoiterajassa sarjan sisäiselle variaatiolle vielä lipemiatasolla 2 eli lipemaiindeksin ollessa noin 1000. Vita Laboratorioiden asettama laatutavoite 2,5% ylittyi lipemiatasolla 3 (CV% = 2,70%) lipemaiindeksin ollessa noin 1500. Lipemiatasolla 4 lipemaiindeksin ollessa 2000 CV% saatiin 12,65%, joka ylittää selvästi Vita Laboratorion oman laatutavoitteen 2,5% ja tätä muutosta voidaan myös pitää kliinisesti merkittävänä.

Taulukko 14. Variaatiokertoimet kreatiniinille Dahlbergin menetelmällä laskettuna.

Lipemiataso	Lipemiaindeksi	Dahlberg CV%	Vita Laboratorioi- den laatutavoite
L0	0	1,08%	2,5%
L1	500	0,40%	
L2	1000	1,14%	
L3	1500	2,70%	
L4	2000	12,65%	

Kuvioon 29 on koottu Dahlbergin menetelmällä lasketut variaatiokertoimet lipemiata-
soille havainnollistamaan poikkeamaprosentteja. Vaakatason kuvaajina on Vita Labora-
torion oma laatutavoite 2,5% sekä saatu variaatiokerroin häiriöttömille parinäytteille.
Nämä toimivat kriteereinä merkittävälle häiriölle.



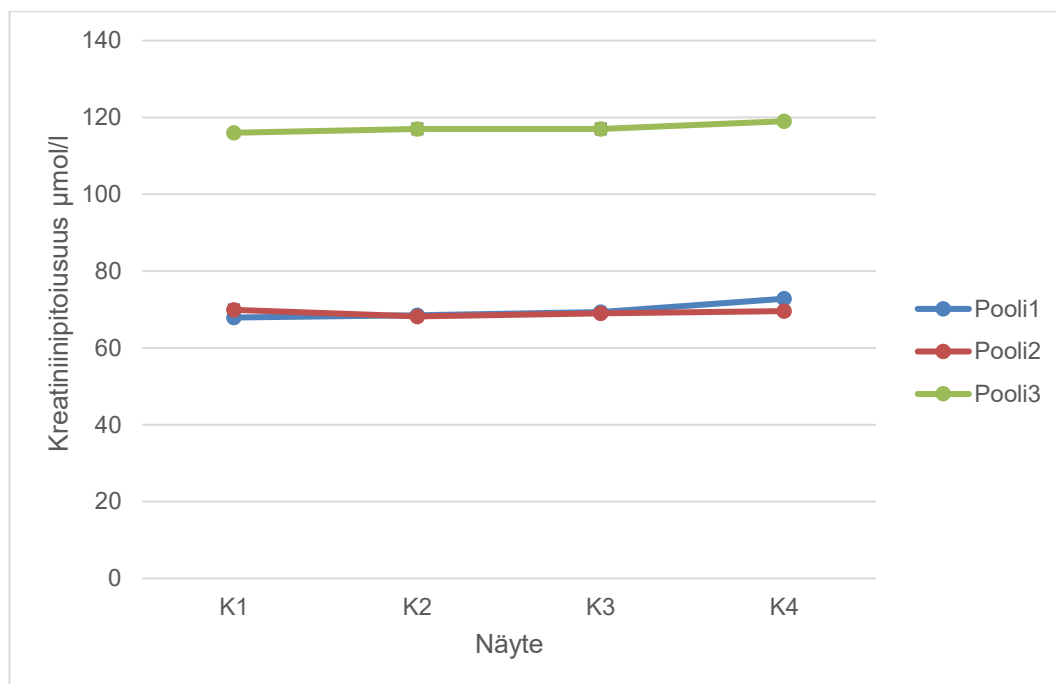
Kuvio 29. Kreatiniinin variaatiokertoimet. Variaatiokerroin ylitti kreatiniinille määrätyn 2,5% laa-
tutavoitteen (merkitty oranssilla katkoviivalla) lipemiaindeksillä 1500.

Häiriön poisto kirkastamalla

Työssä valmistettujen näytepoolien lipemiatasojen analysoinnin jälkeen kaikki näytteet
kirkastettiin sentrifugoimalla. Kirkastettu seerumi eroteltiin uuteen näytekyvetiin. Kir-
kastetut näytteet analysoitiin, mutta vähäisen näytemäärän takia rinnakkaisia tuloksia

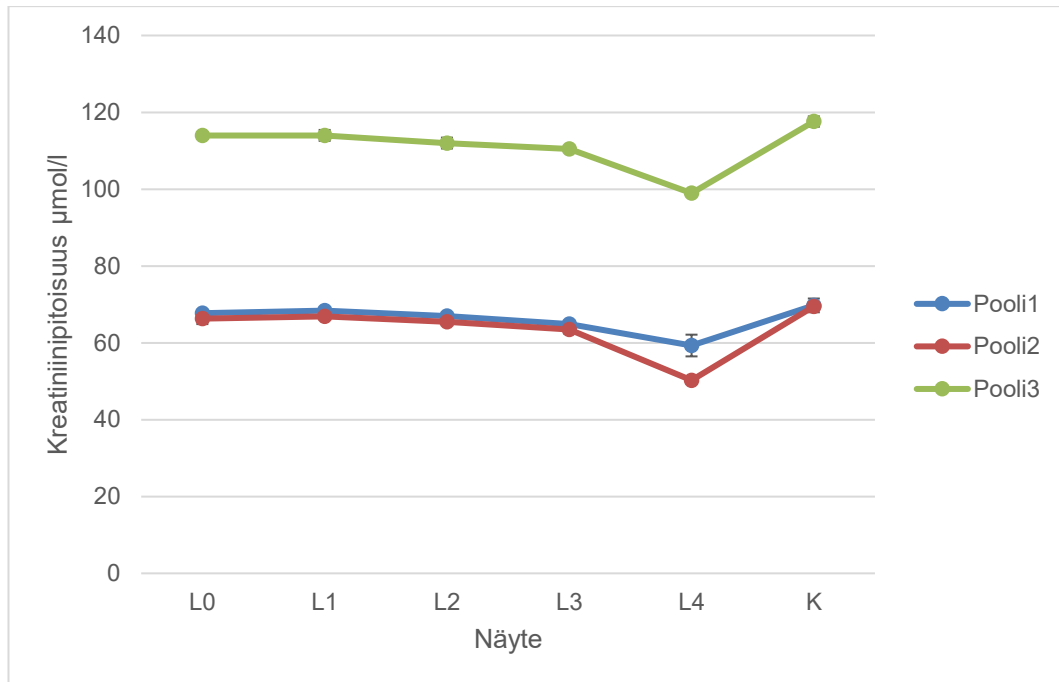
ei saatu kaikista lipemiatasoista. Kirkastetut näytteet nimettiin lipemiatasojen mukaisesti K1-K4, jossa K tarkoitti kirkastusta ja numero kuvaa minkä suuruinen lipemiataso oli kyseessä.

Kuviossa 30 esitetään poolien 1-3 lipemiatasojen kirkastukset. Kuviossa nähdään, että näytteiden kreatiniinipitoisuudet ovat kirkastuksen jälkeen yhteneväiset riippumatta niiden lipemiatasosta ennen kirkastusta.



Kuvio 30. Kreatiniinin kirkastustulokset K1-K4 näytepooleille 1-3.

Kuviossa 31 esitetään poolien 1-3 lipemiatasot sekä poolikohtainen kirkastustulosten keskiarvo. Kuvioista voidaan nähdä, että kirkastettu K tulos palaa samalle tasolle kuin häiriötön nollanäyte L0. Tämän perustella vaikuttaa, että lipemian aiheuttama häiriö saadaan poistettua sentrifugoinnilla ja tulostasoa tämän jälkeen vastaa häiriötöntä näytettä.

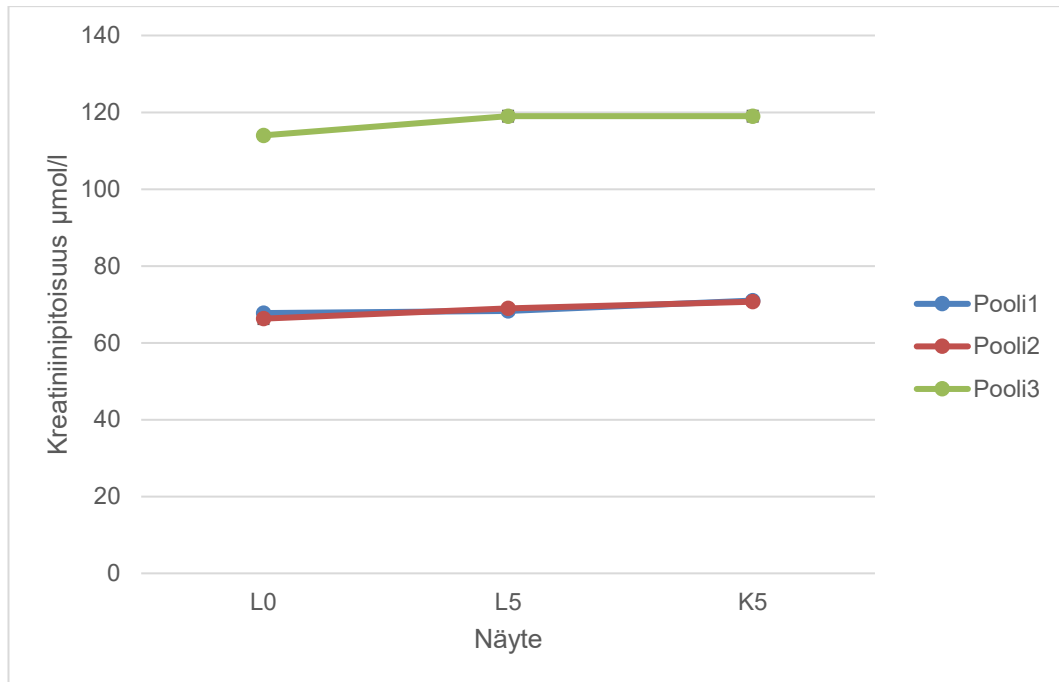


Kuvio 31. Kreatiinin kirkastuksen suhde lipemiatasoihin näytepooleissa 1-3.

Pestyt lipidit

Pestyistä lipideistä luodun lipemiatason (L5) lipemaiindeksi oli noin 600. Pestyistä lipideistä tehdyistä lipemiatasoista ei analysoitu rinnakkaisia mittauksia, joten rinnakkais tulosten keskiarvoa sekä keskihajontaa ei saatu mitattua. Dahlbergin menetelmällä laskettuna variaatiokertoimeksi saadaan 2,77%, jolloin taso ylittää hieman Vita Laboratorioiden oman laatutavoitteen 2,5%.

Kuviossa 32 kuvataan poolien 1-3 pestyjen lipidien lipemiatasoa L5 ja kirkastettua näytettä K5. Kuten kuviossa huomataan, ei L5 tason arvo eroa huomattavasti häiriöttömästä nollanäytteestä, sillä lipemian vaikutus jäi häiriön raja-alueelle.



Kuvio 32. Kreatiininin pestyjen lipidien lipemiatasot ja kirkastus näytepooleissa 1-3.

5.7 Sappihapot

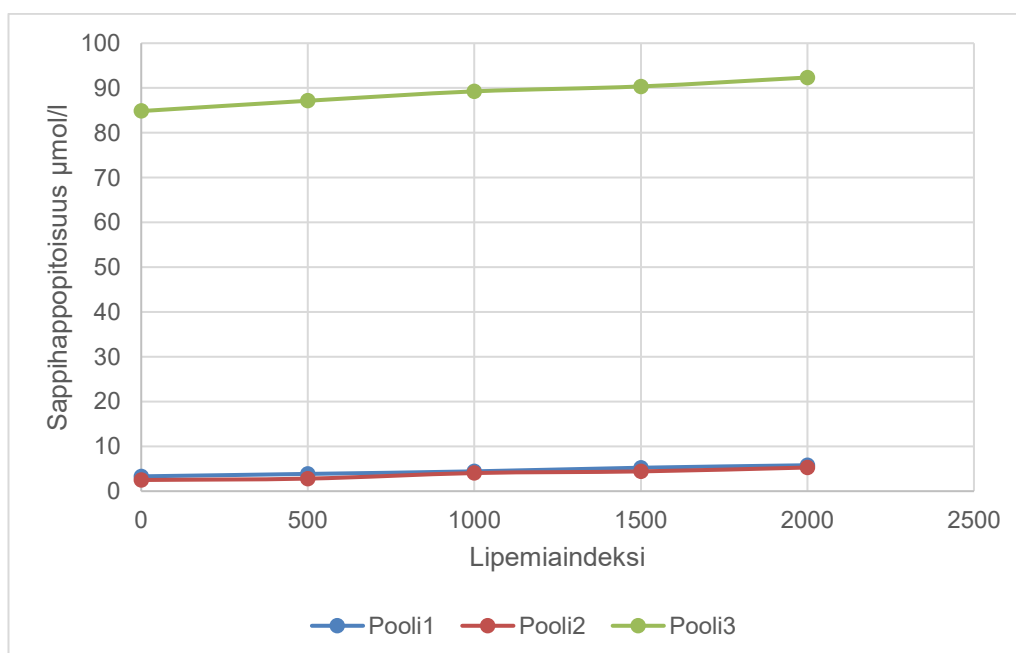
Sappihapot analysoitiin näytepooleista 1-3 valmistetuista näytesarjoista. Kaikista näytteistä analysoitiin rinnakkaistulokset ja laskettiin tulosten keskiarvo sekä keskihajonta.

Taulukossa 15 esitellään näytepoolien 1-3 lipemiatasojen L0-L4 analysointitulokset, jossa L0 edustaa häiriötöntä nollanäytettä ja L1-L4 eri lipemiatasoja. Taulukossa nähdään rinnakkaistuloksien keskiarvo ja keskihajonta. Työssä valmistettujen näytepoolien sappihappopitoisuudet L0-tasolla vaihtelivat 2,49-84,9 U/l välillä. Kaikissa pooleissa (1-3) tulosten keskihajonta on pientä, eli tulosten toistettavuus on hyvä.

Taulukko 15. Näytepoolien 1-3 tuloskoostetaulukko sappihapoille.

POOLI1	L0	L1	L2	L3	L4
Indeksi	0	500	1000	1500	2000
Tulos1	3,32	3,83	4,44	5,24	5,76
Tulos2	3,3	3,87	4,41	5,23	5,82
KA	3,31	3,85	4,425	5,235	5,79
sd	0,014	0,03	0,02	0,007	0,04
POOLI2	L0	L1	L2	L3	L4
Indeksi	0	500	1000	1500	2000
Tulos1	2,49	3,26	4,05	4,47	5,23
Tulos2	2,5	2,35	4,04	4,36	5,34
KA	2,495	2,805	4,045	4,415	5,285
sd	0,007	0,64	0,007	0,07	0,07
POOLI3	L0	L1	L2	L3	L4
Indeksi	0	500	1000	1500	2000
Tulos1	84,9	87,2	89,4	90,4	92,6
Tulos2	84,8	87,1	89,1	90,3	92,1
KA	84,85	87,15	89,25	90,35	92,35
sd	0,07	0,07	0,21	0,07	0,35

Kuviossa 33 esitellään näytepoolien 1, 2 ja 3 sappihappopitoisuudet lipemaiindeksin funktiona. Näytepoolit 1 ja 2 koostuivat viiterajoissa olevista sappihappopitoisuuksista ja pooli 3 viitealueen ylittävistä, suurista pitoisuuksista. Kuviossa nähdään, että sappihappopitoisuus suurenee lipemaiindeksin kasvaessa. Näin ollen lipemia johtaa virheelisen suureen sappihappopitoisuuteen.



Kuvio 33. Sappihappopitoisuus.

Häiriön aiheuttaman variaation tarkastelu

Lipemian aiheuttamaa häiriötä arvioitiin laskemalla Dahlbergin menetelmällä eri lipemiatasojen variaatio häiriöttömään näytteeseen nähden. Parinäytteinä toimivat häiriötön 0-näyte ja vastaava lipemianäyte.

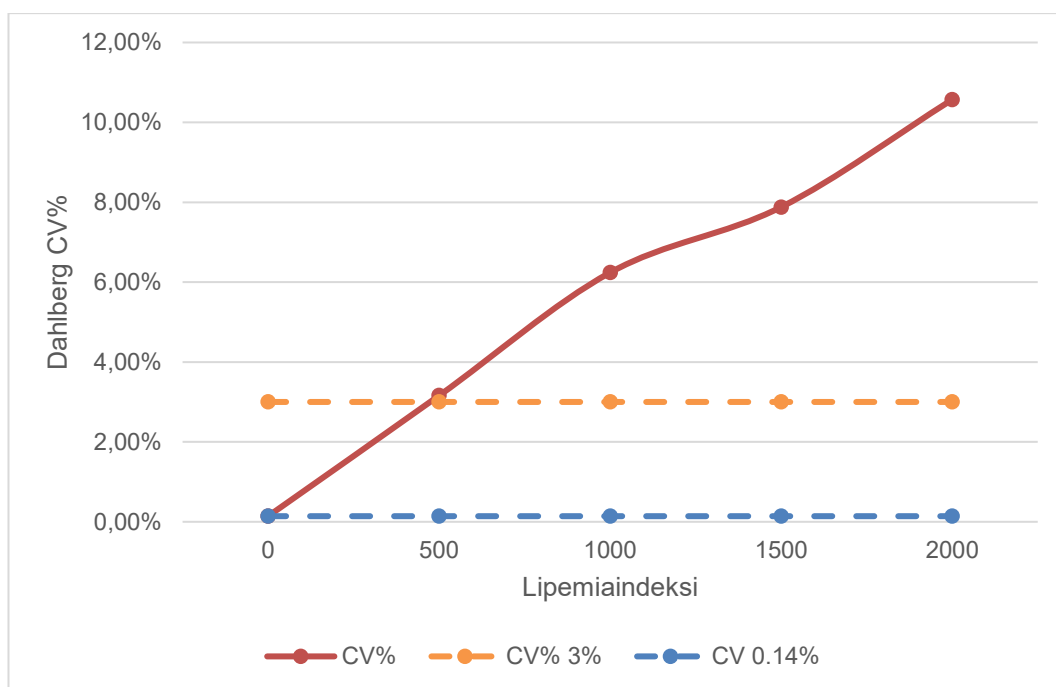
Vita Laboratorioiden oma laatutavoite sappihapon sarjan sisäiselle variaatiolle on 3%. Työssä määritetty variaatio häiriöttömien parinäytteiden rinnakkaisissa oli 0,14%. Vita Laboratorion omaa laatutavoitetta sekä lisäksi häiriöttömien parinäytteiden tulosta (0,14%) käytettiin kriteerinä merkittävälle häiriölle.

Taulukossa 16 kuvataan Dahlbergin menetelmällä lasketut tulokset. Variaatiokerroin ylitti Vita Laboratorion asettaman laatutavoite-ajan (3%) jo lipemiatasolla 1 eli lipemiaindeksin ollessa noin 500. Tällä lipemiatasolla muutosta voidaan myös pitää kliinisesti merkittävänä. Dahlbergin menetelmällä laskettu variaatiokerroin suureni lipemiaindeksin kasvaessa, eli häiriövaikutus kasvoi lipemian voimistuessa.

Taulukko 16. Variaatiokertoimet sappihapolle Dahlbergin menetelmällä laskettuna.

Lipemiataso	Lipemiaindeksi	Dahlberg CV%	Vita Laboratorioiden Laatutavoite
L0	0	0,14%	3%
L1	500	3,16%	
L2	1000	6,24%	
L3	1500	7,88%	
L4	2000	10,57%	

Kuvioon 34 on koottu Dahlbergin menetelmällä lasketut variaatiokertoimet eri lipemiatasoille havainnollistamaan poikkeamaprosentteja. Vaakatason kuvaajina on Vita Laboratorion oma laatutavoite 3% sekä tutkimuksessa saatu variaatiokerroin häiriöttömille parinäytteille. Nämä toimivat kriteereinä merkittävälle häiriölle.

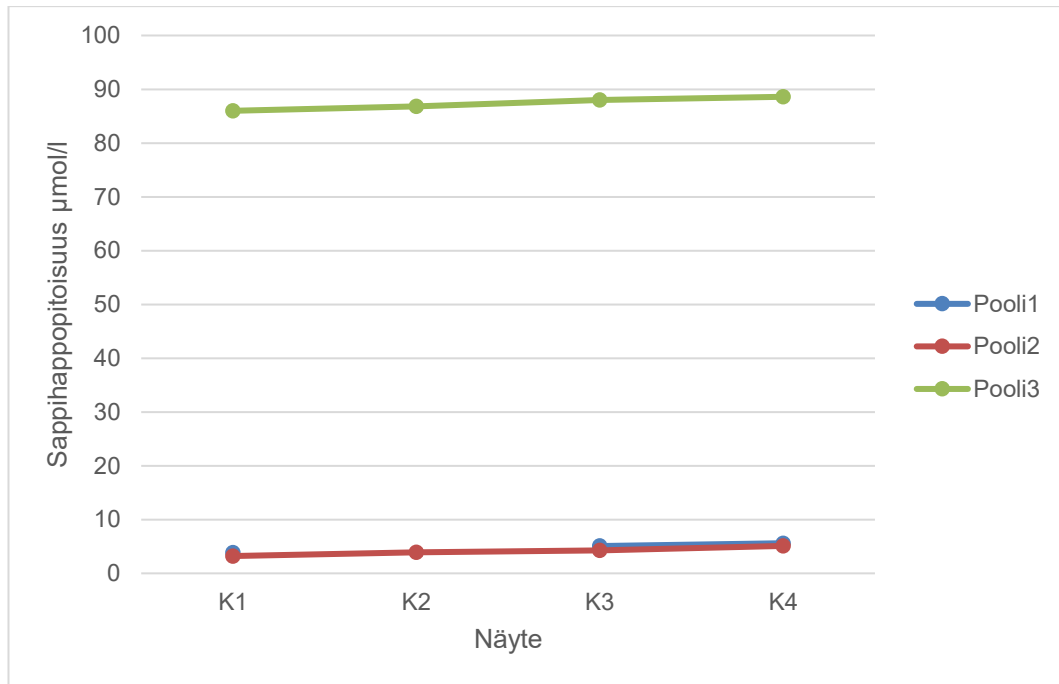


Kuvio 34. Sappihapon variaatiokertoimet. Variaatiokerroin ylitti sappihapolle määrätyn 3% laatu tavoitteen (merkitty oranssilla katkoviivalla) lipemiaindeksillä 500.

Häiriön poisto kirkastamalla

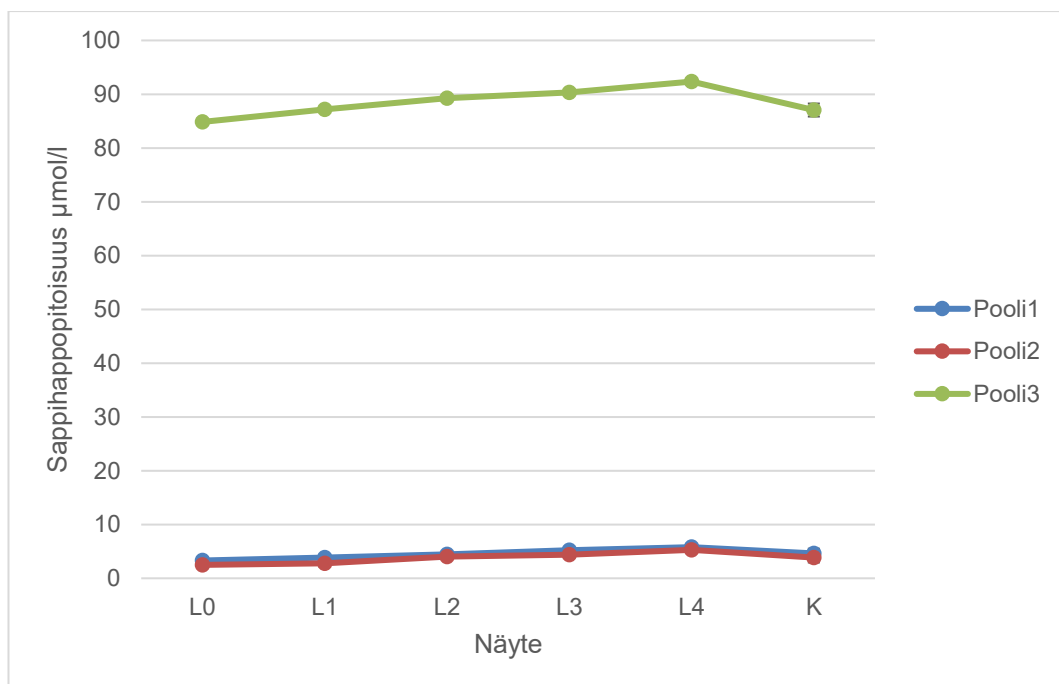
Työssä valmistettujen näytepoolien lipemiatasojen analysoinnin jälkeen kaikki näytteet kirkastettiin sentrifugoimalla. Kirkastettu seerumi eroteltiin uuteen näytekyvetiin. Kirkastetut näytteet analysoitiin, mutta vähäisen näytemäärän takia rinnakkaisia tuloksia ei saatu kaikista lipemiatasoista. Kirkastetut näytteet nimettiin lipemiatasojen mukaisesti K1-K4, jossa K tarkoitti kirkastusta ja numero kuvaa minkä suuruinen lipemiataso oli kyseessä.

Kuviossa 35 esitetään näytepoolien 1-3 lipemiatasojen kirkastukset. Kuviossa nähdään, että näytteiden sappihappopitoisuudet ovat kirkastuksen jälkeen yhteneväiset riippumatta niiden lipemia tasosta ennen kirkastusta. Analysointivirheen takia poolista 3 ei saatu kirkastustulosta K2 tasolle. Vähäisen näytemäärän takia näytettä ei pystytty analysoimaan uudestaan.



Kuvio 35. Sappihapon kirkastustulokset K1-K4 näytepooleille 1-3.

Kuviossa 36 esitetään poolien 1-3 lipemiatasot sekä poolikohtainen kirkastustulosten keskiarvo. Kuvioista voidaan nähdä, että kirkastettu K tulos palaa samalle tasolle kuin häiriötön nollanäyte L0. Tämän perusteella vaikuttaa, että lipemian aiheuttama häiriö saadaan poistettua sentrifugoinnilla ja tulostasoa tämän jälkeen vastaa häiriötöntä näyttettä.

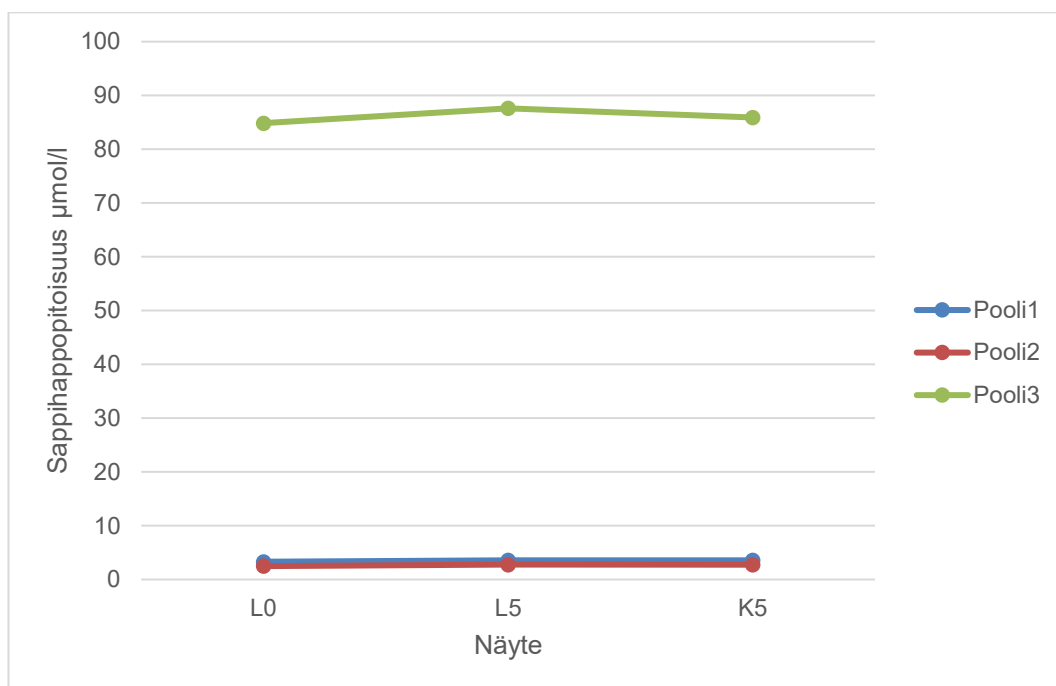


Kuvio 36. Sappihappojen kirkastuksen suhde lipemiatasoihin.

Pestyt lipidit

Pestyistä lipideistä luodun lipemiatason (L5) lipemaiindeksi oli noin 600. Pestyistä lipideistä tehdyistä lipemiatasoista ei analysoitu rinnakkaisia mittauksia, joten rinnakkais- tulosten keskiarvoa sekä keskihajontaa ei saatu mitattua. Dahlbergin menetelmällä las- kettuna variaatiokertoimeksi saadaan 3,68%, jolloin taso ylittää Vita Laboratorioiden oman laatutavoitteen 3%.

Kuviossa 37 kuvataan poolien 1-3 pestyjen lipidien lipemiatasoa L5 ja kirkastettua näy- tettä K5. Kuten kuviossa huomataan, ei L5 tason arvo eroa huomattavasti häiriöttö- määstä nollanäytteestä, sillä lipemian vaikutus jäi häiriön raja-alueelle. Suurilla sappi- happopitoisuuksilla lipemian häiriö tulee näkyviin jo pienemillä lipidipitoisuuksilla.



Kuvio 37. Sappihappojen pestyjen lipidien lipemiatasot ja kirkastus.

5.8 D-vitamiini

D-vitamiini analysoitiin näytepooleista 1-3 valmistetuista näytesarjoista. Kaikista näyt- teistä analysoitiin rinnakkaistulokset ja laskettiin tulosten keskiarvo sekä keskihajonta.

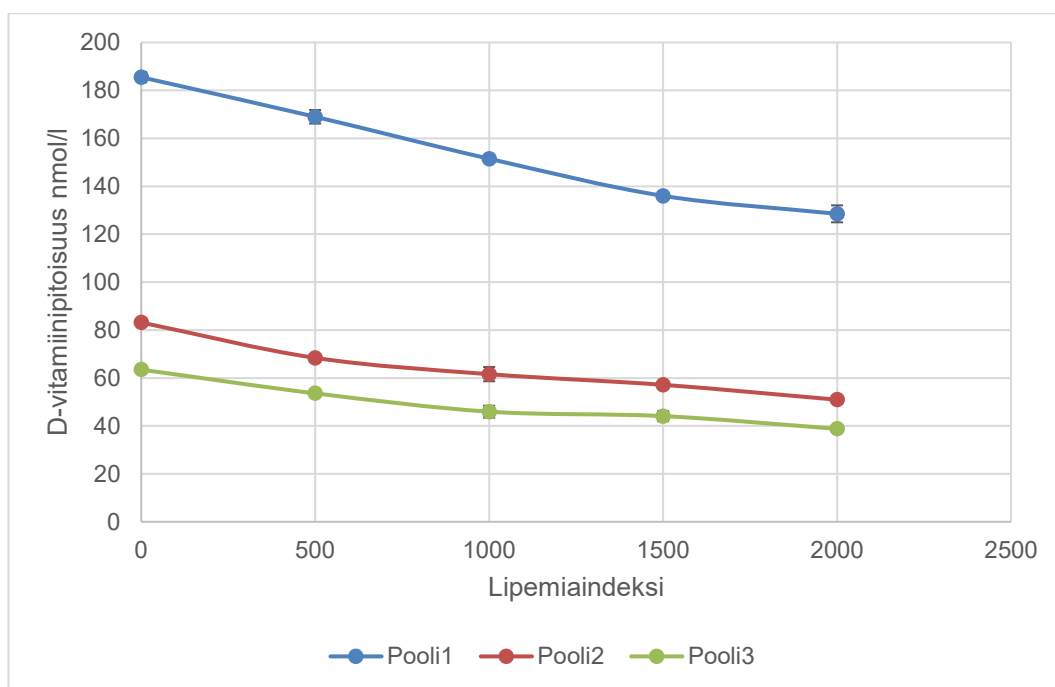
Taulukossa 17 esitellään näytepoolien 1-3 lipemiatasojen L0-L4 analysointitulokset, jossa L0 edustaa häiriötöntä nollanäytettä ja L1-L4 eri lipemiatasoja. Taulukoissa nähdään rinnakkaistuloksien keskiarvo ja keskihajonta. Työssä valmistettujen näytepoolien D-vitamiinipitoisuudet L0-tasolla vaihtelivat 62,6-187 nmol/l välillä. Kaikkien näytepoolien rinnakkaisten tulosten keskihajonta oli pientä, eli tulosten toistettavuus oli hyvä.

Taulukko 17. Näytepoolien 1-3 tuloskoostetaulukko D-vitamiinille.

POOLI1	L0	L1	L2	L3	L4
Indeksi	0	500	1000	1500	2000
Tulos1	184	167	152	136	126
Tulos2	187	171	151	136	131
KA	185,5	169	151,5	136	128,5
sd	2,12	2,82	0,70	0	3,53
POOLI2	L0	L1	L2	L3	L4
Indeksi	0	500	1000	1500	2000
Tulos1	84	67,4	59,5	56,2	50,3
Tulos2	82,3	69,4	63,7	58,1	51,6
KA	83,15	68,4	61,6	57,15	50,95
sd	1,20	1,41	2,97	1,34	0,92
POOLI3	L0	L1	L2	L3	L4
Indeksi	0	500	1000	1500	2000
Tulos1	62,6	53,4	44,2	42,6	38,2
Tulos2	64,4	53,8	47,7	45,6	39,4
KA	63,5	53,6	45,95	44,1	38,8
sd	1,27	0,28	2,47	2,12	0,85

Kuviossa 38 esitellään näytepoolien 1, 2 ja 3 D-vitamiinipitoisuudet lipemiaindeksin funktiona. Kaikki näytepoolit koostuivat viiterajoissa olevista pitoisuuksista, mutta näytepoolin 1 pitoisuus oli selvästi suurempi kuin näytepoolin 2 ja 3. Kuviossa nähdään, että D-vitamiini pitoisuus pienenee lipemiaindeksin kasvaessa. Näin ollen lipemia johtaa virheellisen pieneen D-vitamiinitulokseen.

D-vitamiinipitoisuus laskee tasaisesti lipemiaindeksin noustessa. Poolissa 1 nähdään suurin pitoisuuden lasku lipemiaindeksin kasvaessa. Tämän kokeen perusteella näyttää siltä, että suurempi D-vitamiinipitoisuus vaikuttaa lipemian aiheuttaman häiriön suuruuteen: Suurilla D-vitamiinipitoisuuksilla lipemian aiheuttama häiriö on suurempi kuin pienemmillä D-vitamiinipitoisuuksilla.



Kuvio 38. D-vitamiinipitoisuus näytepooleissa 1-3.

Häiriön aiheuttaman variaation tarkastelu

Lipemian aiheuttamaa häiriötä arvioitiin laskemalla Dahlbergin menetelmällä eri lipemiatasojen variaatio häiriöttömään näytteeseen nähden. Parinäytteinä toimivat häiriötön 0-näyte ja vastaava lipemianäyte.

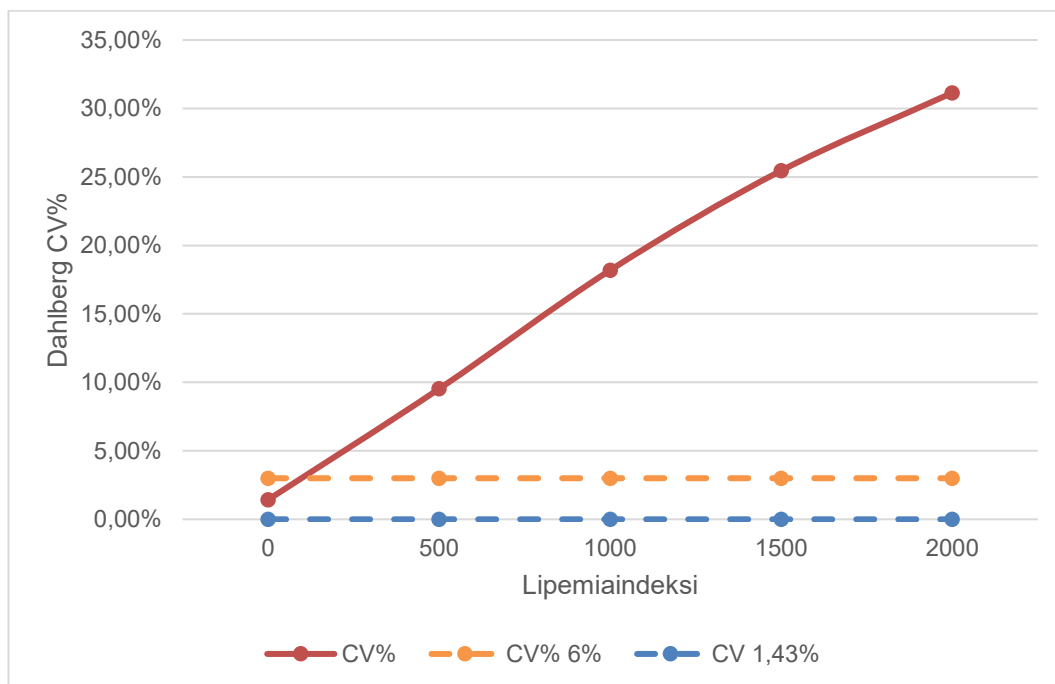
Vita Laboratorioiden oma laatutavoite D-vitamiini-määrityksen sarjan sisäiselle variaatiolle on 6%. Työssä määritetty variaatio häiriöttömien parinäytteiden rinnakkaisissa oli 1,43%. Vita Laboratorioiden omaa laatutavoitetta sekä lisäksi häiriöttömien parinäytteiden tulosta (1,43%) käytettiin kriteerinä merkittävälle häiriölle.

Taulukossa 18 kuvataan Dahlbergin menetelmällä lasketut tulokset. Variaatiokerroin ylitti laboratorion asettamassa laatutavoiterajassa sarjan sisäiselle variaatiolle jo lipemiatasolla 1 lipemiaindeksin ollessa 500. Variaatiokertoimeksi saatiin tällä tasolla 9,53%, joka ylittää selvästi Vita Laboratorioiden asettaman laatutavoitteen 6%. Tällä lipemiatasolla muutosta voidaan myös pitää kliinisesti merkittävänä. Dahlbergin menetelmällä laskettu variaatiokerroin suureni lipemiaindeksin kasvaessa, eli häiriövaikutus kasvoi lipemian voimistuessa.

Taulukko 18. Variaatiokertoimet D-vitamiinipitoisuuksille Dahlbergin menetelmällä laskettuna.

Lipemiataso	Lipemiaindeksi	Dahlberg CV%	Vita Laboratorion Laatumavoite
L0	0	1,43%	6%
L1	500	9,53%	
L2	1000	18,19%	
L3	1500	25,46%	
L4	2000	31,14%	

Kuvioon 39 on koottu Dahlbergin menetelmällä lasketut variaatiokertoimet eri lipemiatasoille havainnollistamaan poikkeamaprosentteja. Vaakatason kuvaajina on Vita Laboratorion oma laatumavoite 6% sekä tutkimuksessa saatu variaatiokerroin häiriöttömille parinäytteille. Nämä toimivat kriteereinä merkittävälle häiriölle.



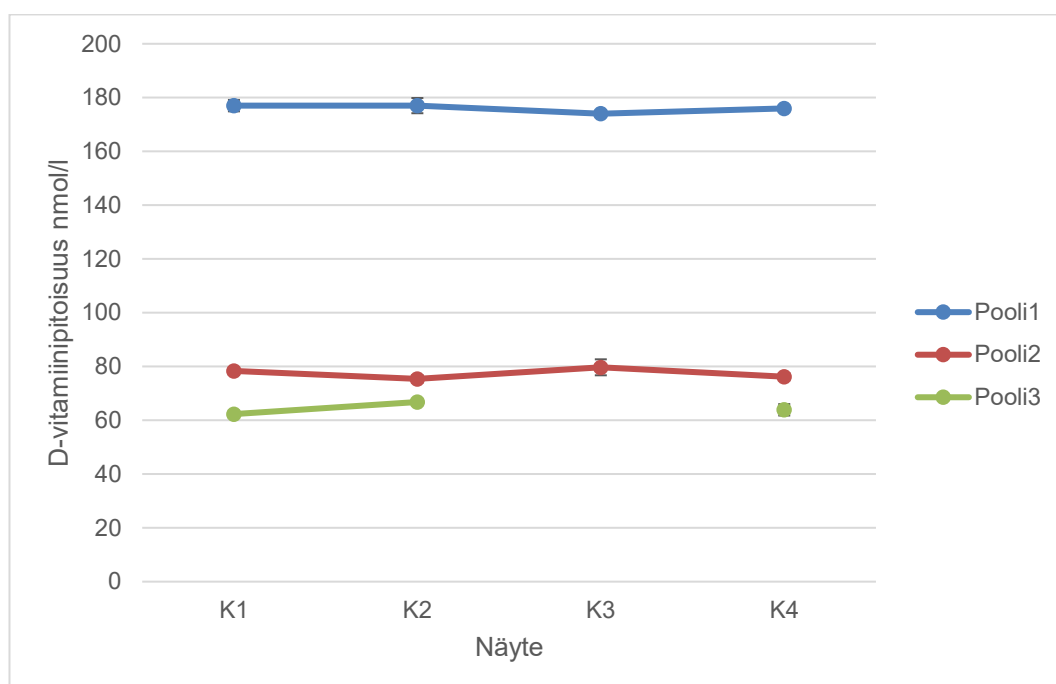
Kuvio 39. D-vitamiinin variaatiokertoimet. Variaatiokerroin ylitti kaliumille määritetyn 6% laatumavoitteen (merkitty oranssilla viivalla) lipemiaindeksillä 500.

Häiriön poisto kirkastamalla

Työssä valmistettujen näytepoolien lipemiatasojen analysoinnin jälkeen kaikki näytteet kirkastettiin sentrifugoimalla. Kirkastettu seerumi eroteltiin uuteen näytekyvetiin. Kirkastetut näytteet analysoitiin, mutta vähäisen näytemäärän takia rinnakkaisia tuloksia

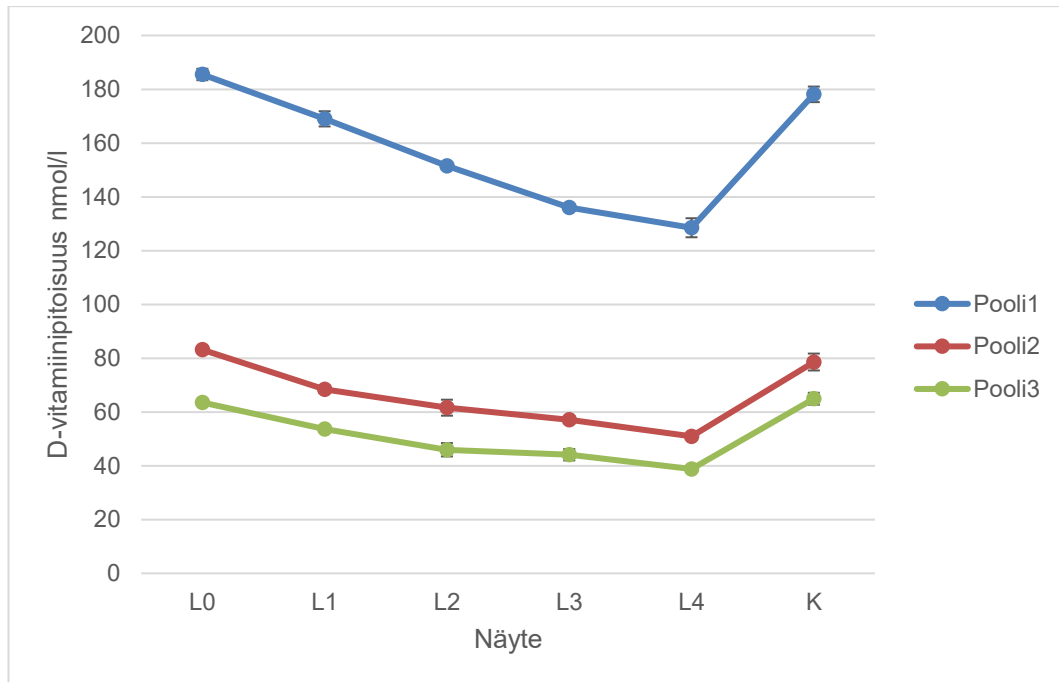
ei saatu kaikista lipemiatasoista. Kirkastetut näytteet nimettiin lipemiatasojen mukaisesti K1-K4, jossa K tarkoitti kirkastusta ja numero kuvaa minkä suuruinen lipemiataso oli kyseessä.

Kuviossa 40 esitetään poolien 1-3 lipemiatasojen kirkastukset. Kuviossa nähdään, että näytteiden D-vitamiinipitoisuudet ovat kirkastuksen jälkeen yhteneväiset riippumatta niiden lipemia tasosta ennen kirkastusta. Analysaattorin mittausvirheen takia näytepoolista 3 ei saatu kirkastustulosta K3 tasolle. Vähäisen näytemäärän takia näytettä ei pystytty analysoimaan uudestaan.



Kuvio 40. D-vitamiinin kirkastustulokset K1-K4 näytepooleille 1-3.

Kuviossa 41 esitetään poolien 1-3 lipemiatasot sekä poolikohtainen kirkastustulosten keskiarvo. Kuvioista voidaan nähdä, että kirkastettu K tulos palaa samalle tasolle kuin häiriötön nollanäyte L0. Tämän perustella vaikuttaa, että lipemian aiheuttama häiriö saadaan poistettua sentrifugoinnilla ja tulostasoa tämän jälkeen vastaa häiriötöntä näytettä.

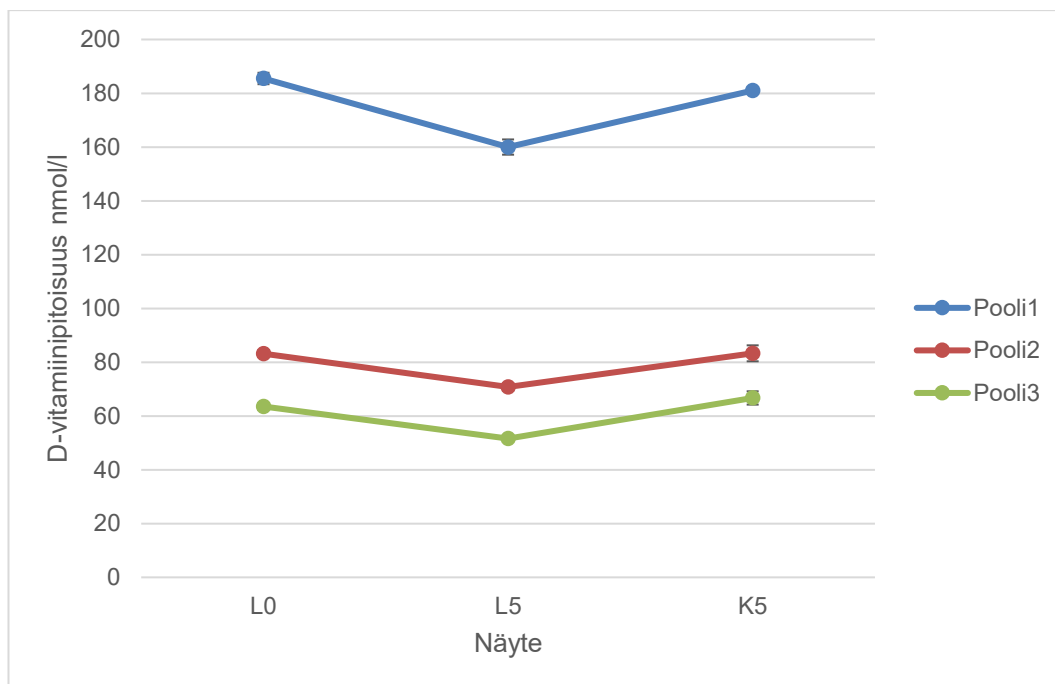


Kuvio 41. D-vitamiinin kirkastustulosten keskiarvon suhde lipemiatasoihin näytepooleissa 1-3.

Pestyt lipidit

Pestyistä lipideistä luodun lipemiatason (L5) lipemia indeksi oli noin 600. Pestyistä lipideistä tehdyistä lipemiatasoista ei analysoitu rinnakkaisia mittauksia, joten rinnakkais- tulosten keskiarvoa sekä keskihajontaa ei saatu mitattua. Dahlbergin menetelmällä las- kettuna variaatiokertoimeksi saadaan 12,25%, jolloin taso ylittää Vita Laboratorioiden laatutavoitteen 6%.

Kuviossa 42 kuvataan poolien 1-3 pestyjen lipidien lipemiatasoa L5 ja kirkastettua näy- tettä K5. Kuviossa nähdään lipemian aiheuttama häiriö jo lipemiaindeksin ollessa 600. D-vitamiinipitoisuus laskee huomattavasti L5 tasolla. Kirkastettunäyte K5 palaa samalle tasolle kuin häiriötön nollanäyte L0. Lipemian aiheuttama häiriö saadaan poistettua sentrifugoimalla.



Kuvio 42. D-vitamiinin pestyjen lipidien lipemiaso ja kirkastus näytepooleissa 1-3.

5.9 Testosteroni

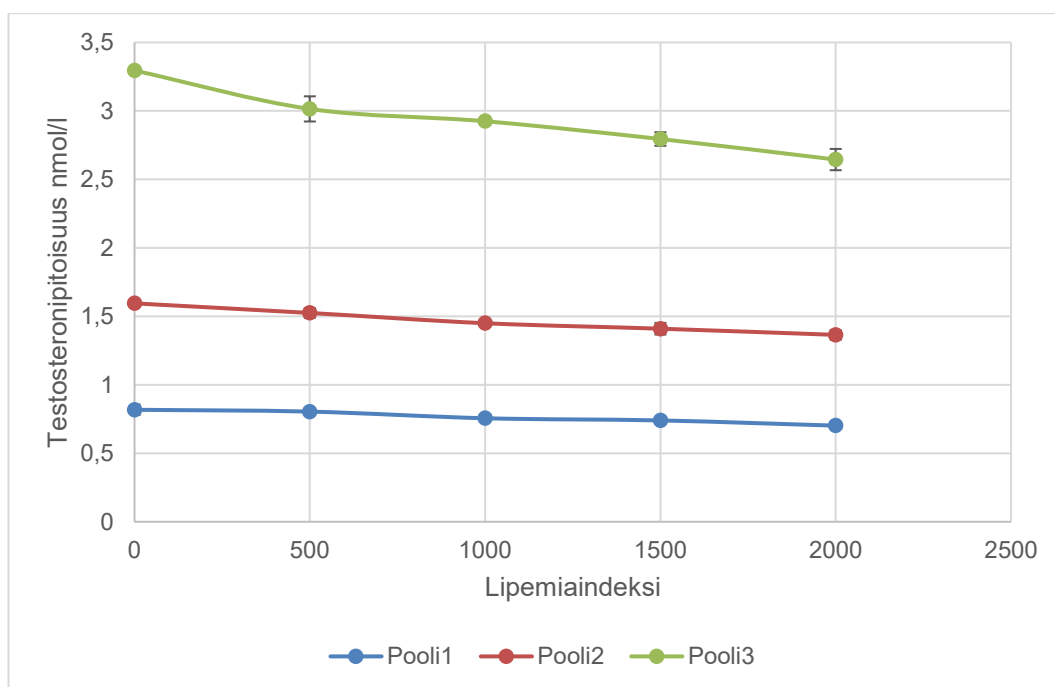
Testosteroni analysoitiin näytepooleista 1-3 valmistetuista näytesarjoista. Kaikista näytteistä analysoitiin rinnakkaistulokset ja laskettiin tulosten keskiarvo sekä keskihajonta.

Taulukossa 19 esitellään näytepoolien 1-3 lipemiasojen L0-L4 analysointitulokset, jossa L0 edustaa häiriötöntä nollanäytettä ja L1-L4 eri lipemiasoja. Taulukoissa nähdään rinnakkaistuloksien keskiarvo ja keskihajonta. Työssä valmistettujen näytepoolien testosteroni pitoisuudet L0-tasolla vaihtelivat 0,79-3,31 nmol/l välillä. Sarjojen välinen keskihajonta oli pientä.

Taulukko 19. Näytepoolien 1-3 tuloskoostetaulukko testosteronille.

POOLI1	L0	L1	L2	L3	L4
Indeksi	0	500	1000	1500	2000
Tulos1	0,791	0,798	0,769	0,748	0,705
Tulos2	0,845	0,811	0,743	0,732	0,699
KA	0,818	0,8045	0,756	0,74	0,702
sd	0,04	0,01	0,02	0,01	0,004
POOLI2	L0	L1	L2	L3	L4
Indeksi	0	500	1000	1500	2000
Tulos1	1,6	1,55	1,46	1,38	1,34
Tulos2	1,59	1,5	1,44	1,44	1,39
KA	1,595	1,525	1,45	1,41	1,365
sd	0,007	0,03	0,01	0,04	0,03
POOLI3	L0	L1	L2	L3	L4
Indeksi	0	500	1000	1500	2000
Tulos1	3,31	2,95	2,92	2,76	2,59
Tulos2	3,28	3,08	2,93	2,83	2,7
KA	3,295	3,015	2,925	2,795	2,645
sd	0,02	0,09	0,007	0,05	0,08

Kuviossa 43 esitellään näytepoolien 1, 2 ja 3 testosteroni pitoisuudet lipemiaindeksin funktiona. Kaikki näytepoolit koostuivat viiterajoissa olevista pitoisuuksista, mutta pooli 3 pitoisuus oli hieman suurempi kuin poolin 1 ja 2. Kuviossa nähdään, että testosteroni pitoisuus pienenee lipemiaindeksin kasvaessa. Näin ollen lipemia johtaa virheellisen pieneen testosteroni pitoisuuteen. Poolissa 3 nähdään suurin lasku, ja tämän kokeen perusteella näyttää siltä, että suurempi testosteroni pitoisuus vaikuttaa lipemian aiheuttaman häiriön suuruuteen: Suurilla testosteroni pitoisuuksilla lipemian aiheuttama häiriö on suurempi kuin pienemmillä testosteronipitoisuuksilla.



Kuvio 43. Testosteronipitoisuudet näytepooleissa 1-3.

Häiriön aiheuttaman variaation tarkastelu

Lipemian aiheuttamaa häiriötä arvioitiin laskemalla Dahlbergin menetelmällä eri lipemiatasojen variaatio häiriöttömään näytteeseen nähden. Parinäytteinä toimivat häiriötön 0-näyte ja vastaava lipemianäyte.

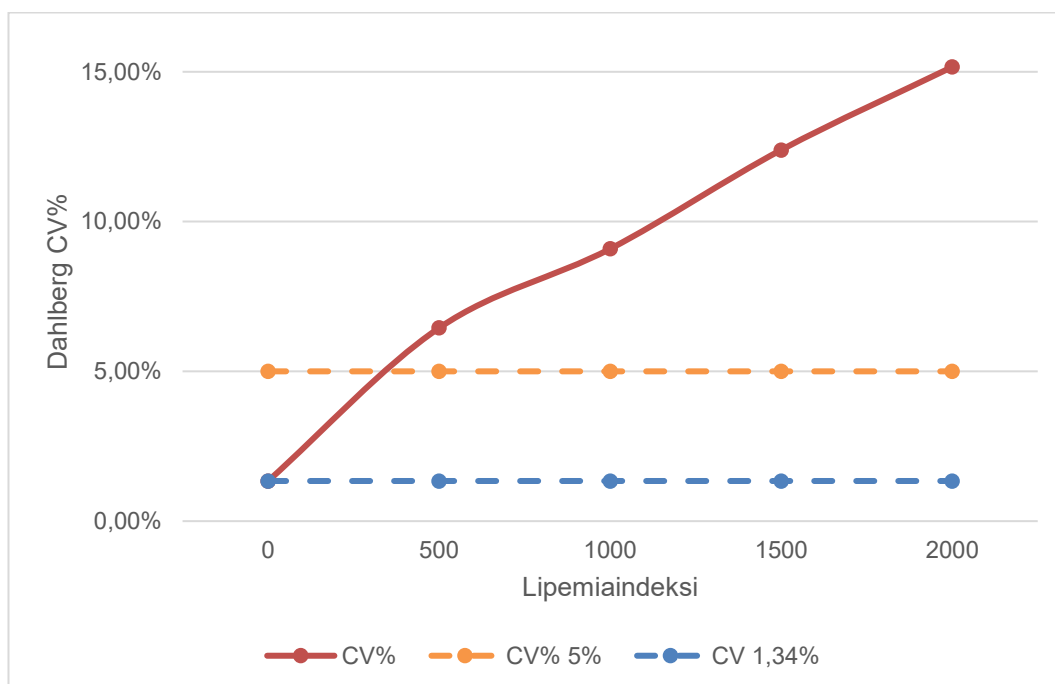
Vita Laboratorioiden oma laatutavoite testosteronimäärityksen sarjan sisäiselle variaatiolle on 5%. Työssä määritetty variaatio häiriöttömien parinäytteiden rinnakkaisissa oli 1,34%. Vita Laboratorion omaa laatutavoitetta sekä lisäksi häiriöttömien parinäytteiden tulosta (1,34%) käytettiin kriteerinä merkittävälle häiriölle.

Taulukossa 20 kuvataan Dahlbergin menetelmällä lasketut tulokset. Variaatiokerroin ylitti Vita Laboratorion asettaman laatutavoiterajan (5%) sarjan sisäiselle variaatiolle jo lipemiatasolla 1 lipemiaindeksin ollessa 500. Variaatiokertoimeksi saatiin tällä tasolla 6,45%. Tällä lipemiatasolla muutosta voidaan myös pitää kliinisesti merkittävänä. Dahlbergin menetelmällä laskettu variaatiokerroin suureni lipemiaindeksin kasvaessa, eli häiriövaikutus kasvoi lipemian voimistuessa.

Taulukko 20. Variaatiokertoimet testosteronille Dahlbergin menetelmällä laskettuna.

Lipemiataso	Lipemiaindeksi	Dahlberg CV%	Vita Laboratorion laatutavoite
L0	0	1,34%	5%
L1	500	6,45%	
L2	1000	9,09%	
L3	1500	12,39%	
L4	2000	15,16%	

Kuvioon 44 on koottu Dahlbergin menetelmällä lasketut variaatiokertoimet eri lipemiatasoille havainnollistamaan poikkeamaprosentteja. Vaakatason kuvaajina on Vita Laboratorion oma laatutavoite 5% sekä tutkimuksessa saatu variaatiokerroin häiriöttömille parinäytteille. Nämä toimivat kriteereinä merkittäväälle häiriölle.



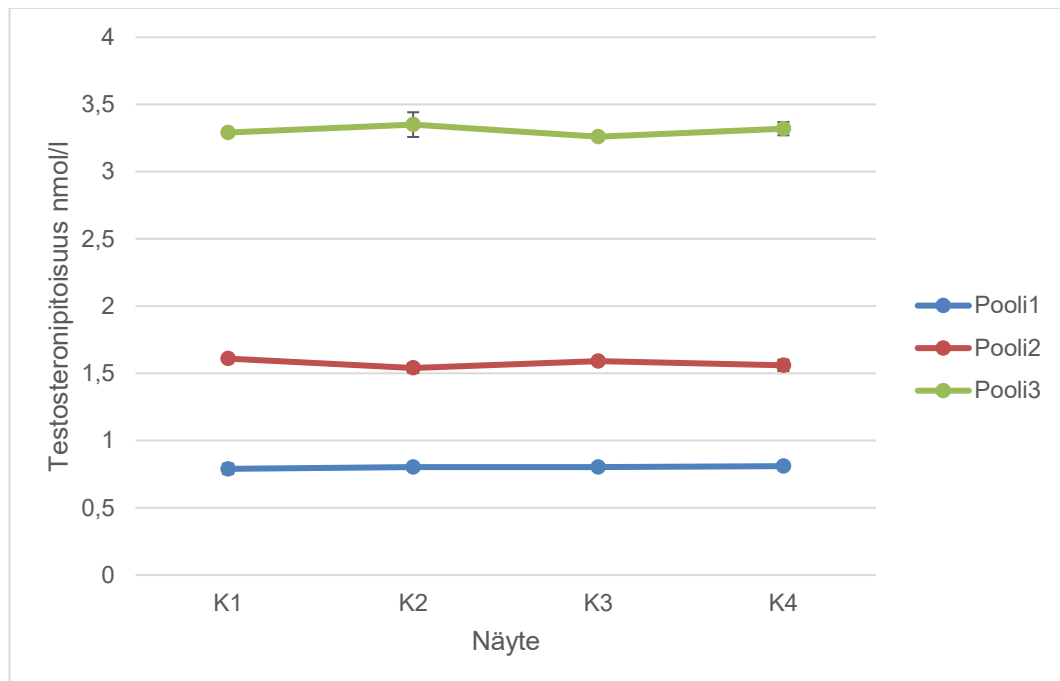
Kuvio 44. Testosteronin variaatiokertoimet. Variaatiokerroin ylitti testosteronille määrätyn 5% laatutavoitteen (merkitty oranssilla katkoviivalla) lipemiaindeksillä 500.

Häiriön poisto kirkastamalla

Työssä valmistettujen näytepoolien lipemiatasojen analysoinnin jälkeen kaikki näytteet kirkastettiin sentrifugoimalla. Kirkastettu seerumi eroteltiin uuteen näytekvyettiin. Kirkastetut näytteet analysoitiin, mutta vähäisen näytemäärän takia rinnakkaisia tuloksia

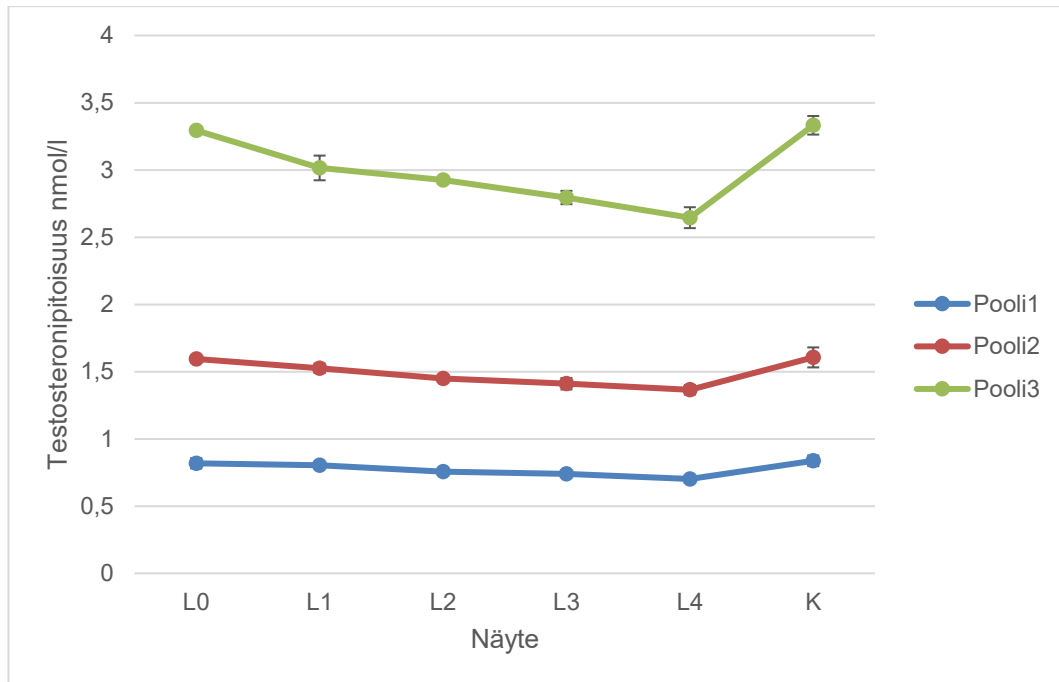
ei saatu kaikista lipemiatasoista. Kirkastetut näytteet nimettiin lipemiatasojen mukaisesti K1-K4, jossa K tarkoitti kirkastusta ja numero kuvaa minkä suuruinen lipemiataso oli kyseessä.

Kuviossa 45 esitetään näytepoolien 1-3 lipemiatasojen kirkastukset. Kuviossa nähdään, että näytteiden testosteroni pitoisuudet ovat kirkastuksen jälkeen yhteneväiset riippumatta niiden lipemiatasosta ennen kirkastusta.



Kuvio 45. Testosteronin kirkastustulokset K1-K4 näytepooleille 1-3.

Kuviossa 46 esitetään poolien 1-3 lipemiatasot sekä poolikohtainen kirkastustulosten keskiarvo. Kuvioista voidaan nähdä, että kirkastettu K tulos palaa samalle tasolle kuin häiriötön nollanäyte L0. Tämän perustella vaikuttaa, että lipemian aiheuttama häiriö saadaan poistettua sentrifugoinnilla ja tulostasoa tämän jälkeen vastaa häiriötöntä näytettä.

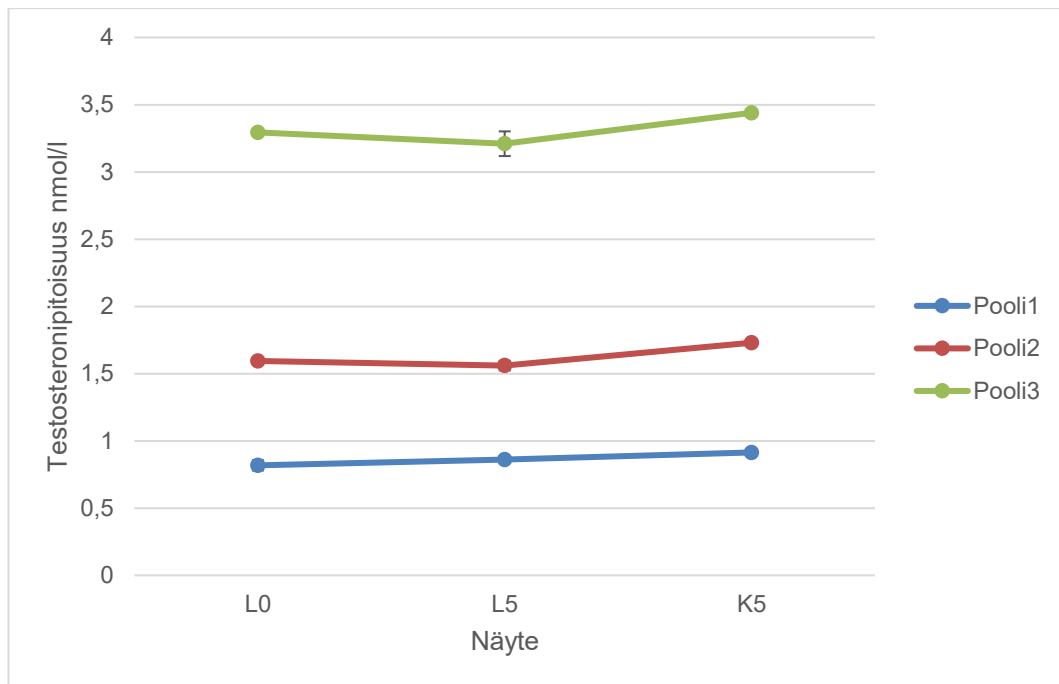


Kuvio 46. Testosteronin kirkastustulosten keskiarvon suhde lipemiatasoihin näytepooleissa 1-3.

Pestyt lipidit

Pestyistä lipideistä luodun lipemiatason (L5) lipemaiindeksi oli noin 600. Pestyistä lipideistä tehdyistä lipemiatasoista ei analysoitu rinnakkaisia mittauksia, joten rinnakkais- tulosten keskiarvoa sekä keskihajontaa ei saatu mitattua. Dahlbergin menetelmällä las- kettuna variaatiokertoimeksi saadaan 2,15%, jolloin taso pysyy Vita Laboratorioiden laatutavoitteen sisällä.

Kuviossa 47 kuvataan poolien 1-3 pestyjen lipidien lipemiatasoa L5 ja kirkastettua näy- tettä K5. Kuten kuviossa huomataan, ei L5 tason arvo eroa huomattavasti häiriöttö- mästi nollanäytteestä, sillä lipemian vaikutus jäi häiriön raja-alueelle.



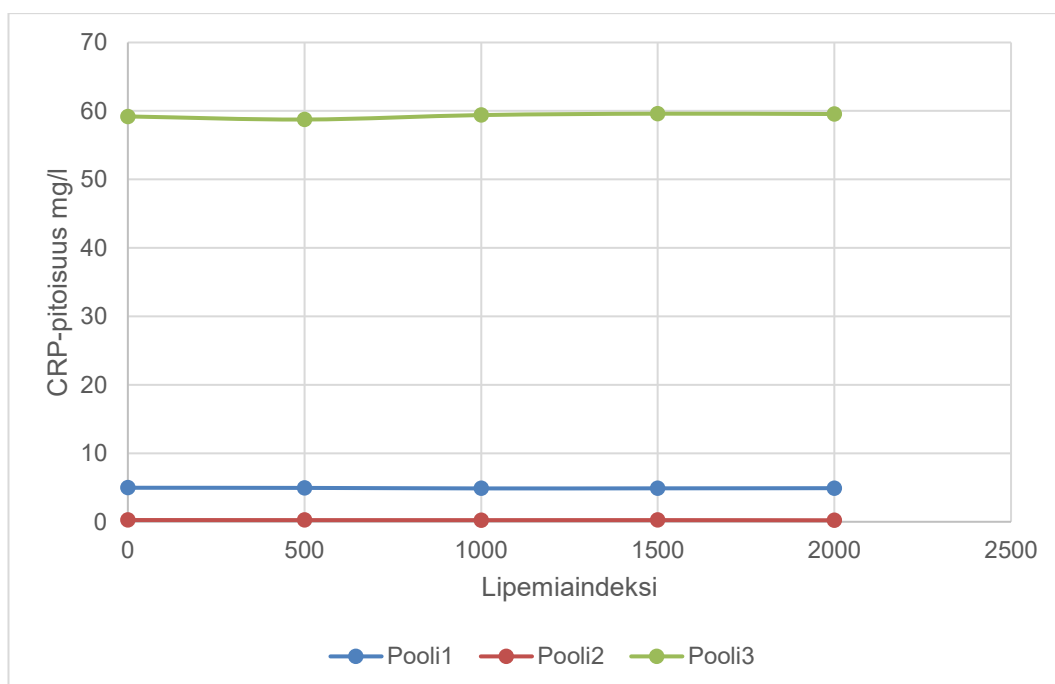
Kuvio 47. Testosteronin pestyjen lipidien lipemiatasot ja kirkastus.

5.10 Muut analyytit

Näytepooleista 1-3 valmistetuista näytesarjoista mitattiin C-reaktiivinen proteiini, eli CRP, ja kortisoli. Kaikista näytteistä analysoitiin rinnakkaistulokset ja laskettiin tulosten keskiarvo sekä keskihajonta.

5.10.1 CRP

Kuviossa 48 esitellään näytepoolien 1, 2 ja 3 CRP-pitoisuudet lipemian indeksin funktiona. Näytepoolit 1 ja 2 koostuivat viiterajoissa olevista CRP-pitoisuuksista ja näytepooli 3 viitealueen ylittävistä, suurista pitoisuuksista. Kuviossa nähdään, ettei CRP-pitoisuus muutu lipemian johdosta.



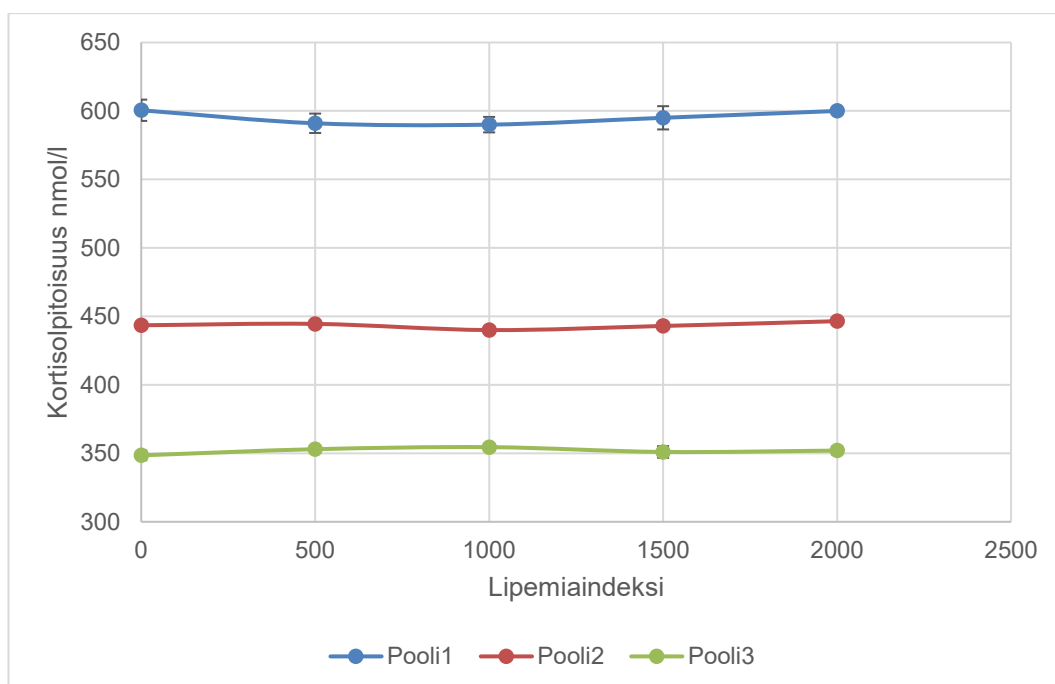
Kuvio 48. CRP-pitoisuudet näytepooleissa 1-3.

Lipemian aiheuttamaa häiriötä arvioitiin laskemalla Dahlbergin menetelmällä eri lipemiatasojen variaatio häiriöttömään näytteeseen nähden. Parinäytteinä toimivat häiriötön nollanäyte ja vastaava lipemianäyte.

Vita Laboratorioiden oma laatutavoite CRP:n sarjan sisäiselle variaatiolle on 2%. Työssä määritetty variaatio häiriöttömien parinäytteiden rinnakkaisissa oli 1,14%. Vita Laboratorioiden omaa laatutavoitetta sekä lisäksi häiriöttömien parinäytteiden tulosta käytettiin kriteerinä merkittäväälle häiriölle. Vita Laboratorioiden asettama laatutavoite-rajaja ei ylittynyt millään lipemiatasolla, jolloin voidaan todeta, ettei lipemia aiheuta näillä pitoisuuksilla häiriötä.

5.10.2 Kortisoli

Kuviossa 49 esitellään näytepoolien 1, 2 ja 3 kortisolipitoisuudet lipemiaindeksin funktiona. Näytepoolit 2 ja 3 koostuivat viiterajoissa olevista kortisolipitoisuuksista ja näytepooli 1 viitealueen ylittävistä, suurista pitoisuuksista. Kuviossa nähdään, ettei kortisolipitoisuus muutu lipemian johdosta.



Kuvio 49. Kortisolipitoisuudet näytepooleissa 1-3.

Lipemian aiheuttamaa häiriötä arvioitiin laskemalla Dahlbergin menetelmällä eri lipemiatasojen variaatio häiriöttömään näytteeseen nähden. Parinäytteinä toimivat häiriötön nollanäyte ja vastaava lipemianäyte.

Vita Laboratorioiden oma laatutavoite kortisolin sarjan sisäiselle variaatiolle on 5%. Työssä määritetty variaatio häiriöttömien parinäytteiden rinnakkaisissa oli 1,07%. Vita Laboratorioiden omaa laatutavoitetta sekä lisäksi häiriöttömien parinäytteiden tulosta käytettiin kriteerinä merkittävälle häiriölle. Vita Laboratorioiden asettama laatutavoite-rajaja ei ylittynyt millään lipemiatasolla, jolloin voidaan todeta, ettei lipemia aiheuta näillä pitoisuuksilla häiriötä.

6 Pohdinta

Tulosten tarkastelussa pohditaan opinnäytetyössä saatuja tuloksia ja niitä reflektoidaan teoriaosuudessa esitettyihin tietoihin sekä verrataan laitevalmistaja Roche Diagnostics Oy:n antamiin tietoihin. Johtopäätöksissä vastataan opinnäytetyössä esitettyihin tutkimuskysymyksiin. Opinnäytetyön eettisyyttä, luotettavuutta sekä kehittämissuhteita pohditaan omissa kappaleissaan. Lopuksi pohditaan opinnäytetyön tekijöiden ammatillista kasvua työn aikana.

6.1 Tulosten tarkastelu

Tutkimuksen tarkoituksena oli tutkia lipemian aiheuttaman häiriön vaikutusta kemian ja immunokemian analytyeissä. Tutkimusta varten luotiin lipemialaimennossarjat kaupallista Intralipid-valmistetta käyttäen sekä lisäksi hävitettävistä, lipeemisistä näytteistä kerättyjä lipidejä käyttäen. Lipemiatasot valmistettiin niin, että saatiin lipemiapitoisuuden suhteen kasvava näytesarja ja lipemiatasot vastasivat tavoiteltuja lipemiaindeksejä. Näytepoolit koostettiin sekä normaaleista viiterajoissa olevista näytteistä, että viitealueen ylittävistä näytteistä. Näytteisiin saatiin kattavasti eri pitoisuuksia kullekin analytytille. Lipemia aiheutti pitoisuuksien virheellistä nousua sekä laskua häiriön seurauksena. Tutkittavan analytytin pitoisuus laski antaen virheellisen matalia tuloksia ALAT- ja ASAT-entsyymien, kreatiniinin, D-vitamiinin ja testosteronin kohdalla. Kaliumin, bilirubiinikonjugaattien sekä sappihappojen pitoisuudet nousivat virheellisesti lipemian aiheuttaman häiriön takia.

Lipemian aiheuttaman häiriön kliinisen merkitsevyyden arvioinnissa käytettiin Vita laboratorioden analytytikohtaisia laatutavoitteita sarjan sisäiselle variaatiokertoimelle. Asetetut laatutavoitteet vaihtelivat analytytikohtaisesti 1-6% välillä. On kuitenkin huomattava, ettei analytyttiset laatutavoitteet ole suoraan käyttökelpoisia kliinisen merkityksen arvioinnissa. Analytyttinen laatutavoite voikin ylittyä ilman, että sillä on kliinistä merkitystä. Kliinisen merkityksen arvioinnissa tulee ottaa huomioon useita eri seikkoja, kuten analytytin viitealueen laajuus, biologinen vaihtelu sekä pysyvä häiriön aiheuttama muutos viitealueen sisäpuolella. On myös tarkasteltava johtaako häiriön aiheuttama muutos tuloksen siirtymisen viitearvoalueelta pois tai toisin päin eli siirtykö tulos viitearvoalueelle sen ulkopuolelta. Tällöin voidaan todeta, että häiriöllä on kliininen merkitys.

Biologinen variaatio, eli tulosten normaalivaihtelu yksilön sisällä sekä yksilöiden välillä, on myös hyvä ottaa huomioon tuloksia tarkasteltaessa (Kouri & Rotgers & Linko 2020: 89). Mikäli biologinen variaatio on suuri voi analytytin pitoisuus vaihdella paljon ilman kliinisen tilan muutosta, ja tällöin analytytti sietää häiriötä paremmin. Jos taas biologinen variaatio on pieni, voi analytytti olla todella häiriöherkkä eikä se tällöin siedä lipemian aiheuttaman häiriön tulostasomuutoksia yhtä paljon.

Analytytin viitearvoaluetta tarkasteltaessa tulee ottaa huomioon sen laajuus. Kapea viitearvoalue sietää vähemmän häiriötä, jolloin menetelmältä vaaditaan parempaa suorituskykyä, sillä analytytin tulostaso ei kestä suurta vaihtelua. Yleisesti laitevalmistajien käyttämä 10% laatutavoite ei siis ole sovellettavissa kaikille analytyteille. Esimerkkinä

voidaan vertailla CK-entsyymien sekä natriumin viitearvoalueita. CK-entsyymien viitearvoalue on miehillä 50-400 U/l ja natriumin viitearvoalue on 137-145 mmol/l (Vita Laboratoriot 2021a; Vita Laboratoriot 2021b). Kapean viitearvoalueen johdosta natrium on huomattavasti herkempi tulostason vaihtelulle, sillä 10% on noin 14 mmol/l, joka ylittää koko natriumin viitearvoalueen. CK-entsyymien kohdalla 10% ei välttämättä ylitä viitearvoaluetta eikä ole tällöin kliinisesti merkittävää. CK-entsyymien laajan viitearvoalueen johdosta se sietää enemmän häiriövaikutusta.

Opinnäytetyössä näytepoolien ALAT- ja ASAT-entsyymien pitoisuudet laskivat virheellisen mataliksi lipemian aiheuttaman häiriön seurauksena. Spektrofotometrisissä mitauksissa lipemia vaikuttaa eniten analyysiin, jotka mitataan matalilla aallonpituuksilla, sillä absorbanssi on tällöin suurinta. ALAT- ja ASAT-entsyymit mitataan 320nm aallonpituudella, jolloin ne ovat alttiita tämän tyyppiselle häiriölle (Cobbold & Crook 2015: 52). Tämä selittää virheellisen matalat pitoisuudet. Suurilla ALAT- ja ASAT-entsyymien pitoisuuksilla häiriö oli suurempaa. Lipemia voi häiritä myös immunokemiallisissa määrityksissä estäen vasta-aineiden sitoutumiskohtia antigeeni-vasta-aine reaktioissa. Menetelmä saattaa antaa virheellisen matalia tai korkeita tuloksia reaktiosta riippuen. (Roche 2007: 14.) Tämä saattaa selittää virheellisen matalat D-vitamiini ja testosteroni tulokset tutkimuksessa.

Näytepooleihin saatiin laajasti eri pitoisuuksia suurimmalle osalle analyyteistä. Opinnäytetyössä tarkasteltiin vaikuttaako analyytin pitoisuus lipemian aiheuttaman häiriön suuruuteen. Tutkimuksessa saatiin todennettua pitoisuuden vaikutusta kaikkien analyyttien kohdalla, jossa häiriötä havaittiin. ALAT- ja ASAT-entsyymien kohdalla nähdään selkeästi, että lipemian aiheuttama häiriövaikutus on suurempi suurilla ALAT- ja ASAT-entsyymien pitoisuuksilla. Tällöin häiriön vaikutusta ei voida poistaa laskennallisesti, sillä häiriön vaikutus ei ole saman suuruinen kaikilla pitoisuuksilla. On siis tärkeää, että tämän kaltaisissa tutkimuksissa tarkastellaan myös patologisen pitoisuuden omaavia näytteitä, jotta saadaan luotettavia tuloksia.

Taulukossa 21 esitellään rinnakkain lipemian aiheuttaman häiriön suunta kullekin opinnäytetyössä käsiteltävälle analyyttille sekä jokaiselle analyyttille työssä saatu lipemiaindeksi, jolla analyyttille määritetty variaatiokertoimen laatutavoite ylittyi. Lisäksi taulukossa esitellään laitevalmistaja Roche Diagnostics Oy:n antamat analyyttikohtaiset lipemiaindeksin rajat häiriölle ja laitevalmistajan antama tieto lipemian aiheuttaman häiriön suunnasta. D-vitamiinille ja testosteronille ei ollut laitevalmistajalta määritetty valmiiksi rajaa, jolla lipemia aiheuttaa häiriötä. Sappihappojen analysoinnissa käytettiin

kolmannen osapuolen reagenssia, jonka osalta ei myöskään ollut tietoa lipemian aiheuttaman häiriön vaikutuksesta.

Taulukko 21. Laitevalmistajan ehdottamia lipemiaindeksirajoja vertaillaan opinnäytetyössä saattuihin rajoihin. Lipemian aiheuttaman häiriön suuntaa kuvataan taulukossa nuolilla, nuoli ylöspäin (pitoisuus kasvoi) ja nuoli alaspäin (pitoisuus laski). CK:n kohdalla pitoisuuden suuntaa ei saatu määritettyä, vaan se vaihteli.

Analyytti	Analyytin pitoisuuden muutos	Lipemiaindeksi, jolla analyytille määritetty variatikerhoimen laatu tavoite ylittyi	Laitevalmistajan antama lipemiaindeksin raja häiriölle	Laitevalmistajan antama tieto häiriön suunnasta
ALAT	↓	1000	500	↓
ASAT	↓	1000	500	↓
CRP	ei muutosta	-	1000	↑
Kalium	↑	2000	2000	ei tiedossa
Bil-Kj	↑	500	750	↑
CK	häiriön suunta vaihtelee	1500	1000	↓
Krea	↓	1500	2000	↓
D-Vit	↓	500	ei tiedossa	ei tiedossa
Kortisoli	ei muutosta	-	1500	ei tiedossa
Testo	↓	500	ei tiedossa	ei tiedossa
Sappihappo	↑	500	ei tiedossa	ei tiedossa

Taulukosta 21 nähdään, että niiden analyyttien kohdalla, joille oli valmiiksi ehdotettu lipemian aiheuttaman häiriön suunta, opinnäytetyössä määritetyt häiriön suunnat vastasivat laitevalmistajalta saatuja tietoja. Ainoastaan CK-entsyymin osalta saatiin eriävä tulos, jossa häiriön suunnassa havaittiin vaihtelua. D-vitamiinin ja testosteronin kohdalla ei ollut ennalta tiedossa mahdollista häiriön suuntaa ja tämän tutkimuksen tulosten perusteella voidaan todeta, että analyytin pitoisuus laskee virheellisesti lipemian aiheuttaman häiriön takia eli häiriön suunta on alaspäin. Kaliumin ja sappihapon kohdalla analyytin pitoisuus nousi virheellisesti lipemian aiheuttaman häiriön takia eli myös näistä analyyteistä saatiin uutena tietoa häiriön mahdollinen suunta, joka ei ollut ennalta tiedossa. Laitevalmistajan antaman tiedon mukaan C-reaktiivisen proteiinin pitoisuuden muutos on ylöspäin eli analyytin pitoisuus nousee häiriön myötä. Tämän tutkimuksen perusteella analyytin pitoisuus ei kuitenkaan muuttunut vaan pysyi tasaisena, eli lipemia ei aiheuttanut häiriötä tutkimuksessa käytettävillä lipemiaindeksillä. Kortisolin pitoisuus ei myöskään muuttunut eri lipemiaindeksillä.

Opinnäytetyössä määritetyt lipemaiindeksirajat poikkesivat osittain laitevalmistajan antamista lipemaiindeksin rajoista häiriölle. ALAT- ja ASAT-entsyymien rajaksi saatiin opinnäytetyössä 1000, kun laitevalmistajan ehdottama raja häiriölle oli 500. Bilirubiinikojuagaattien ja kreatiniinin kohdalla häiriö havaittiin jo matalimmilla indeksirajoilla, kuin mitä laitevalmistajan ehdottamat rajat olivat. Kortisolin ja CRP:n pitoisuuksissa lipemia ei aiheuttanut häiriötä, jolloin variaatiokertoimen laatutavoite ei ylittynyt. Laitevalmistajan määrittämä häiriöraja CRP:lle oli 1000 ja kortisolille 1500. Testosteronille, D-vitamiinille ja sappihapoille ei ollut ennalta tiedossa lipemaiindeksirajaa. Tässä tutkimuksessa variaatiokertoimen laatutavoite ylittyi lipemaiindeksin ollessa 500, joten tätä voidaan pitää häiriön rajana. Kaliumin kohdalla laitevalmistajan antama tieto häiriön rajasta piti paikkansa.

Tutkimuksessa saatujen tulosten perusteella voidaan pohtia ovatko laitevalmistajan antamat lipemaiindeksirajat häiriölle oikeat sekä, onko häiriön aiheuttaman lipemaiindeksin suunnan muutos paikkansa pitävä. Tämän tutkimuksen perusteella saatiin uutta tietoa lipemian aiheuttaman häiriön suunnasta kaliumin, D-vitamiinin, testosteronin sekä sappihapon kohdalla. Tutkimuksessa saadut tulokset CK-entsyymille poikkesivat laitevalmistajan antamista tiedoista, jolloin laitevalmistajan antama tieto ei ollut laboratoriossa toistettavissa. Nämä tiedot ovat hyödynnettävissä jatkossa Vita Laboratorioiden toiminnassa.

Näytepoolien tutkimusnäytteet kirkastettiin sentrifugoimalla 50 000 G:n voimalla. Tutkimusten mukaan nopean sentrifugoinnin on todettu erottavan lipidikerroksen yhtä tehokkaasti kuin ultrasentrifugoinnin (Nikolac 2014: 62). Opinnäytetyössä tutkittavissa analyyteissä kirkastetut tulokset vastasivat häiriöttömien nollanäytteiden tulostasoa. Näiden tulosten perusteella voidaan todeta, että häiriö saadaan poistettua sentrifugoinnalla, eli sentrifugointia voidaan näiden analyyttien kohdalla käyttää luotettavana tapana poistaa lipemiaa. Hormonien kohdalla sentrifugointia ei suositella, sillä hormonit saattavat jakautua näytteen lipidikerrokseen aiheuttaen virheellisen matalia tuloksia (Nikolac 2014: 62). Tutkimuksessa analysoitujen näytepoolien kortisoli ja testosteronipitoisuuksissa ei nähty eroa häiriöttömään nollanäytteeseen kirkastuksen jälkeen. Tutkimuksen perusteella voidaan siis todeta, että testosteroni ja kortisoli sopivat analysoitavaksi kirkastuksen jälkeen, eivätkä ne jakaudu lipidifaasiin tutkituilla pitoisuuksilla.

Tutkimuksen lipemialaimennosarjat valmistettiin käyttämällä kaupallista Intralipid-valmistetta. Sen käyttöä on kuitenkin kritisoitu useissa tutkimuksissa, sillä Intralipid-valmiste ei vastaa täysin in vivo -lipemiaa, jolloin se vaikuttaa esimerkiksi valon sirontaan spektrofotometrisissä mittauksissa (Calmarza & Cordero 2011: 1; Férézou ym. 2001: 1;

Bornhorst & Roberts & Roberts 2004: 2197). Tästä syystä opinnäytetyössä käytettiin myös itse valmistettua lipidiseosta. Opinnäytetyössä käytetty lipidiseos eroteltiin potilasnäytteistä sentrifugoimalla ja eroteltu lipidikerros pestiin aqualla. Pestyistä lipidistä valmistetulle näytteelle L5 saatiin luotua 600 lipemiaindeksi ja lipidiseoksen vähäisen määrän vuoksi korkeampaa indeksiä ei saatu toteutettua. Alhaisen indeksin vuoksi lipemian aiheuttamaa häiriötä ei saatu esille suurimmassa osassa tutkimuksia. D-vitamiinin ja CK-entsyymin kohdalla nähtiin pieni tulostason muutos, mutta lipemian aiheuttama häiriö jää raja-alueelle. Lipemian aiheuttama häiriö saataisiin esiin luomalla korkeamman indeksitason näytesarja.

Laboratoriot luottavat usein valmistajien määrittämiin ohjeisiin. Jokaisen laboratorion tulisi tarkistaa aina valmistajien ilmoittamat tiedot sekä määritellä omat hyväksymiskriteerinsä, sillä valmistajien testaustavat sekä raportointi lipemiahäiriötiedoista poikkeavat suuresti toisistaan, eivätkä valmistajien ilmoittamat lipemiahäiriörajat kaikille analyysiteille ole toistettavissa laboratorioissa. (Nikolac ym. 2013: 34.)

6.2 Johtopäätökset

Lipemian aiheuttaman häiriön vaikutus valittujen analyyttien tulostasoon saatiin selvästi esille opinnäytetyössä. Lipemia vaikutti häiritsevästi suurimpaan osaan valituista analyyteistä ja aiheutti pitoisuuksien virheellistä nousua sekä laskua. Pitoisuus laski ALAT:in, ASAT:in, kreatiniinin, D-vitamiinin ja testosteronin kohdalla. Kaliumin, bilirubiinikonjugattien sekä sappihapon pitoisuudet nousivat virheellisesti lipemian aiheuttaman häiriön takia. CK-entsyymin pitoisuudet nousivat ja laskivat eri näytepooleissa, joten häiriön vaikutuksen suuntaa ei voitu todeta. CRP:n ja kortisolin kohdalla häiriövaikutusta ei ollut havaittavissa.

Opinnäytetyössä tutkittavissa analyyteissä kirkastetut tulokset vastasivat häiriöttömien nollanäytteiden tulostasoa. Näiden tulosten perusteella voidaan todeta, että häiriö saadaan poistettua sentrifugoimalla, eli sentrifugointia voidaan näiden analyyttien kohdalla käyttää luotettavana tapana poistaa lipemiaa tutkituilla pitoisuuksilla.

Tutkimuksessa saadut lipemiaindeksirajat poikkesivat osittain laitevalmistajan antamista lipemiaindeksin rajoista häiriölle. Analyyteissä Bil-Kj ja kreatiiniini havaittiin häiriö matalimmilla indeksirajoilla, kuin mitä laitevalmistajan ehdottamat rajat olivat. ASAT- ja ALAT-entsyymien kohdalla laitevalmistajan ehdottama raja oli matalampi kuin tutkimuksessa saatu häiriön raja. Kaliumin kohdalla laitevalmistajan antama häiriön raja piti

paikkansa. Lipemia ei aiheuttanut häiriötä CRP:n ja kortisolin mittauksessa, mutta laitevalmistajan asettama häiriön raja oli CRP:lle 1000 ja kortisolille 1500. Testosteronille, D-vitamiinille ja sappihapoille ei ollut ennalta tiedossa indeksirajaa laitevalmistajalta.

Opinnäytetyössä määritetyt häiriön suunnat vastasivat laitevalmistaja tietoja. Ainoastaan CK-entsyymien osalta saatiin eriävä tulos, jossa häiriön suunnassa havaittiin vaihtelua. D-vitamiinin ja testosteronin kohdalla ei ollut ennalta tiedossa mahdollista häiriön suuntaa. Tutkimuksen tulosten perusteella voidaan todeta, että näiden analyyttien pituus laskee lipemian aiheuttaman häiriön takia eli häiriön suunta on alaspäin. Kaliumin ja sappihapon kohdalla analyytin pituus nousi lipemian aiheuttaman häiriön takia eli myös näistä analyyteistä saatiin uutena tietona häiriön mahdollinen suunta, joka ei ollut ennalta tiedossa.

Opinnäytetyössä saatujen tuloksien perusteella voidaan todeta, ettei Vita Laboratorioiden ohjeistus ole riittävä. Analyyttien pystytään asettamaan hälytysrajat analyteille, joille ei entuudestaan ollut tiedossa lipemian häiriövaikutustietoja. Hälytysrajojen ansiosta lipeemiset näytteet jäivät autovalidoinnissa kiinni ja tällöin tulosten luotettavuus paranee. Vita Laboratorioilla ei ollut selkeitä ohjeita analyttien kirkastusta koskien ja opinnäytetyössä saatujen tulosten perusteella sentrifugointia voidaan käyttää luotettavasti lipeemisten näytteiden kirkastamiseen. Vita Laboratorioiden ohjeistuksia voidaan täsmentää opinnäytetyössä käsiteltyjen analyttien osalta.

6.3 Eettisyys

Tutkimusetiikka on laaja käsite rehellisyydestä, vastuullisuudesta ja eettisyydestä tutkimusta tehtäessä (Mustajoki & Kohonen 2021). Eettisyys otettiin huomioon koko opinnäytetyöprosessin aikana ja työssä noudatettiin tutkimusetiikan hyvän tieteellisen tutkimuksen toimintatapoja. Tutkimustyössä, tulosten tallentamisessa ja arvioinnissa sekä esittämisessä noudatettiin rehellisyyttä, huolellisuutta ja tarkkuutta. Työssä käytettiin myös kestäviä tiedonhankinta-, tutkimus- ja arviointimenetelmiä. (Tutkimuseettinen neuvottelukunta 2012: 6.)

Opinnäytetyössä käytettävät näytemateriaalit olivat potilasnäytteitä, joten niitä tuli käsitellä anonymisti kunnioittaen näytteen luovuttajan yksityisyyttä sekä oikeuksia. Näytteinä käytettiin vanhentuneita näytteitä, jotka olisivat menneet hävitykseen. Näytteet analysoitiin täysin nimettöminä ja niistä hankittiin vain tutkimukselle välttämätön tieto. (Suomen Bioanalytikkoliitto ry 2017: 2-3.)

Hyvän tieteellisen käytännön edellytyksiä ovat perustiedot viittauskäytännöistä ja tieteellisestä kirjoittamisesta. On tärkeää kunnioittaa muiden tekemää työtä ja viitata muiden julkaisuihin asianmukaisella tavalla. (Tutkimuseettinen neuvottelukunta 2012: 6.) Plagiointi eli toisen henkilön tuotannon luvaton lainaaminen on tekijänoikeuslaissa kielletty. Plagioinnin ehkäisemiseksi opinnäytetyöt tarkistetaan plagioinnintunnistusjärjestelmää käyttäen ennen hyväksymistä. (Arene 2018: 23.) Opinnäytetyössä käytettiin asianmukaisia lähdeviitteitä alkuperäisiä tekijöitä kunnioittaen. Opinnäytetyö tarkastettiin suunnittelu- ja raportointivaiheiden aikana Turnitin-plagiaatintunnistusohjelmalla. Tällä ehkäistiin hyvän tieteellisen käytännön loukkaukset. Hyvän tieteellisen käytännön loukkauksena tarkoitetaan epärehellisiä ja epäeettisiä toimia, jotka voivat vahingoittaa tutkimusta (Arene 2018: 7).

Toimeksiantajan, Metropolia Ammattikorkeakoulun, sekä opinnäytetyön tekijöiden välillä laadittiin kirjallinen sopimus. Sopimuksessa määriteltiin opinnäytetyöhön liittyvät oikeudet, aikataulut, vastuut sekä velvollisuudet. Sopimuksessa käsiteltiin myös opinnäytetyön tutkimusaineiston ja tulosten käyttö- ja omistusoikeuksia. Opinnäytetyön aikana saadut materiaalit ja tulokset, sekä valmis opinnäytetyön raportti toimitettiin toimeksiantajalle opinnäytetyöprosessin päätyttyä.

6.4 Luotettavuus

Kvantitatiivisen tutkimuksen perusvaatimuksia on tutkimuksen reliabiliteetti, eli luotettavuus ja validiteetti, eli pätevyys. Reliabiliteetilla viitataan tulosten tarkkuuteen sekä toistettavuuteen. Luotettavassa tutkimuksessa tarkkuus ja kriittisyys ovat tärkeitä työn teon aikana, eikä työn tuloksia tule yleistää niiden pätevyysalueen ulkopuolelle. Validiteetilla tarkoitetaan sitä, kuinka hyvin kyseisellä menetelmällä saadaan mitattua haluttua asiaa. (Heikkilä 2010: 27-28; Hiltunen 2009.) Tutkimuksen validiutta pyrittiin toteuttamaan tarkoilla tutkimuskysymyksillä ja hyvällä suunnitelmalla.

Opinnäytetyössä lipemian aiheuttaman häiriön rajan toteamisessa käytettiin Dahlbergin menetelmää. Dahlbergin menetelmän avulla voitiin tarkastella sarjan sisäistä variaatiota. Tätä menetelmää voitiin hyödyntää lipemian aiheuttaman häiriön arviointiin, ja voitiin luotettavasti osoittaa, milloin lipemian häiriön aiheuttama pitoisuuden muutos ylitti normaalin variaation rajan. Tutkimustuloksia tarkasteltiin myös analytytien kuvaajista, joista voitiin päätellä lipemian häiriön suuruus eri lipemiaindeksitasoilla.

Lipemiaa on vaikea simuloida sen heterogeenisuuden takia ja markkinoilla ei ole tällä hetkellä tuotteita, jotka vastaisivat täysin potilasnäytteissä olevaa lipemiaa (Calmarza &

Cordero 2011: 1). Potilasnäytteissä lipidipartikkelien koot sekä lukumäärät vaihtelevat, mutta käytettävä Intralipid-valmiste koostuu pääosin kahdesta pienestä lipidipartikkeli-tyypistä (Férezou ym. 2001: 1). Intralipid-valmisteen ja aidon lipemian välillä on siis eroja. Lipemialaimennossarjoja tehtäessä otettiin huomioon, että näytteet laimenivat Intralipid-valmistetta lisättäessä. Jokaiseen näytteeseen lisättiin saman verran laimennosta, jotta näytteet laimenivat saman verran. Täten tulokset olivat verrattavissa toisiinsa.

Reliabiliteetilla tarkoitetaan kykyä tuottaa ei-sattumanvaraisia tuloksia mittauksissa. Sisäistä reliabiliteettia voidaan todeta mittaamalla samaa tilastoyksikköä useampaan kertaan. Mittaus on reliaabeli, kun mittaustulokset ovat samat. Ulkoisella reliabiliteetilla tarkoitetaan sitä, että tutkimustulokset ovat toistettavissa muissa tutkimuksissa. (Heikkilä 2010: 178.) Opinnäytetyössä pyrittiin mittamaan kaikista näytteistä rinnakkaismittaukset. Rinnakkaismittausten avulla voitiin osoittaa, että menetelmän sisäinen variaatio oli riittävällä tasolla tutkimuksen tekemiseksi. Rinnakkaismittaukset todentavat tulosten luotettavuutta. Rinnakkaismittauksista käytettiin kahden tuloksen keskiarvoa tulosten raportoinnissa. Mikäli rinnakkaismittaukset poikkesivat paljon toisistaan, tuotiin variaatio esille käyttäen keskihajontaa. Työn jokainen vaihe raportoitiin tarkasti, jotta tutkimus on toistettavissa samalla tavalla. Kaikista näytteistä ei saatu työn aikana mitattua rinnakkaismittauksia, joten niiden sijasta on esitetty vain yksi tulos. Tämä vaikuttaa tutkimuksen luotettavuuteen. Rinnakkaismittauksia ei saatu tehtyä näyttemateriaalin vähyyden takia. Mikäli rinnakkaismittauksia ei saatu tehtyä, on se huomioitu tulosten tulkin-
nassa.

Opinnäytetyössä käytettäviä lähteitä tarkasteltiin kriittisesti sekä niihin viitattiin oikeaoppisesti. Työssä käytettiin laajasti lähteitä luotettavista tietokannoista. Työhön valikoitui myös varhaisempia tutkimuksia aiheesta, joiden luotettavuutta perusteltiin sillä, että tutkimukset olivat alkuperäistutkimuksia ja niissä käsitelty aihe on pysynyt samana tähän päivään asti.

Luotettavuutta heikentävistä seikoista huolimatta, opinnäytetyössä saaduista tuloksista saatiin loogisia. Tulokset esitettiin sellaisina kuin ne ovat ja työskentelyssä pyrittiin välttämään satunnaisvirheitä. Saadut tulokset ovat hyödynnettävissä laboratoriossa, jolle ne on tuotettu.

6.5 Kehittämisehdotukset

Opinnäytetyön toteutusvaiheessa näytepooleja suunniteltaessa arvioitiin analysointiin riittävä näytemäärä. Tässä otettiin huomioon analysaattorin vaatima menetelmäkohtainen näytetilavuus, putken kuollut tilavuus ja analysoitavat rinnakkaismittaukset. Lisäksi näytemäärä arvioitiin yläkanttiin mahdollisia uusintamittauksia varten. Joidenkin analyyttien kohdalla näytemäärä osoittautui silti liian vähäiseksi eikä kaikista analyyteistä saatu analysoitua tarvittavia rinnakkais- tai kirkastusmittauksia. Näytepooleihin olisi pitänyt kerätä enemmän näyttemateriaalia, jotta laimennossarjoihin olisi saatu suurempi näytetilavuus.

Jatkotutkimuksia varten näytepooleihin tulisi saada suurempia pitoisuuksia eri analyysiteille, jotta voitaisiin todentaa häiriön suuruus myös korkeilla pitoisuuksilla. Opinnäytetyössä tehdyssä tutkimuksessa testosteronipitoisuuksista ei saatu riittävän korkeita, jolloin ei pystytty osoittamaan pitoisuuden vaikutusta lipemian aiheuttaman häiriön suuntaan.

Tutkimuksessa pestyistä lipideistä valmistettu lipidiseoksen määrä oli liian niukka. Lipemisiä näytteitä ei saatu kerättyä tarpeeksi lipidipesuja varten eikä tällöin seosta saatu tehtyä riittävää määrää. Lipidiseoksen vähyyden takia ei saatu valmistettua useampia lipemiatasoja. Tämän vuoksi tutkimuksessa ei pystytty todentamaan pestyjen lipidien aiheuttamaa häiriötä analyysiteissä. Jatkoehdotuksena voisi valmistaa näytesarjat suuremmilla lipidipitoisuuksilla käyttäen itse pestyjä lipidejä, jotta voitaisiin todentaa niiden vaikutusta.

6.6 Ammatillinen kasvu

Opinnäytetyöprosessi oli kokonaisuudessaan laaja projekti ja vaati tekijöiltä kykyä hallita suurta kokonaisuutta. Aluksi kokonaisuuden hahmottaminen ja hallitseminen oli haastavaa, mutta opinnäytetyön aihe selkiytyi prosessin edetessä sekä hyvä kommunikatio ja viestintä ohjaajien välillä edesauttoi työn etenemistä. Opinnäytetyön tekijät käsitteivät laajaa aineistoa ja se vaati heiltä kykyä rajata aihetta aikatauluun sopivaksi jättämättä kuitenkaan mitään työn kannalta tärkeää pois. Työ valmistui aikataulun mukaan ja se edellytti tekijöiltä kykyä hahmottaa prosessin kesto sekä tarkkaa suunnittelua prosessin alusta alkaen.

Opinnäytetyöhön valitun aiheen myötä päästiin syventymään teorian tietoon lipemiasta sekä analyysiprosessiin. Aiheeseen perehtyminen lisäsi teorian tietoa aiheesta ja toi näin

lisää itsevarmuutta tekemiseen. Prosessin edetessä opittiin myös yhdistämään teoria käytännön työhön. Teoriaan perehtyminen kehitti tekijöiden tiedonhakutaitoja sekä lähdekriittisyyttä. Opinnäytetyön aikana opituista tiedoista ja taidoista on ollut hyötyä myös työelämässä sekä loppuopinnoissa ja ne ovat tuoneet valmiuksia parantaa oman työn laatua sekä luotettavuutta.

Opinnäytetyön analysointivaiheen toteutus edellytti tekijöiltä tarkkaa suunnittelua ja valmisteluja ennen näytteiden analysointia. Analysoinnin suunnittelu vaati koko prosessin hahmottamista muun muassa näytteiden riittävyyden arvioinnin sekä laimennossarjojen tekemisen yhteydessä.

Tekijät pääsivät vahvistamaan omia epävarmuusalueitaan prosessin edetessä ja tekijöiden keskinäinen yhteistyö sujui saumattomasti. Opinnäytetyöprojektin tuoma kokemus ja tieto on lisännyt kiinnostusta aihetta kohtaan sekä lisännyt arvostusta laboratoriotyötä kohtaan.

Lähteet

Agrawal, Yash P & Hall, Katie 2019. The Lipemia Index: An Underutilized Tool to Detect Monoclonal Proteins. *The Journal of Applied Laboratory Medicine* 3 (6): 1062-1064. <<https://academic.oup.com/jalm/article/3/6/1062/5603148>> Viitattu 23.1.2021.

Arene 2018. Opinnäytetyöprosessin eettiset suositukset – muistilista opiskelijalle ja ohjaajalle. <<https://www.arene.fi/julkaisut/raportit/opinnaytetoiden-eettiset-suositukset/>> Viitattu 27.1.2021.

Bornhorst, Joshua A & Roberts, Richard F & Roberts, William L 2004. Assay- Specific Differences in Lipemic Interference in Native and Intralipid- Supplement Sample. *Clinical Chemistry* 50 (11): 2197-2201.

Calmarza, Pilar & Cordero, José 2011. Lipemia interference in routine clinical biochemical tests. *Biochemia Medica* 2011; 21 (2): 160-166.

Castro-Castro, Maria-José & Candás-Estébanez, Beatriz & Esteban-Salán & Calmarza, Pilar & Arrobas-Velilla, Teresa & Romero-Román, Carlos & Pocoví-Mieras, Miguel & Aguilar-Dorester, José-Ángel 2018. Removing Lipemia in Serum/Plasma Samples: A Multicenter Study. *Ann Lab Med* 2018; 38 (6): 518-523. <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6056396/>> Viitattu 24.1.2021.

Cobbold, L & Crook M.A. 2015. The lipaemic index: clinical observations. *British Journal of Biomedical Science* 27 (2). 52-55.

De Souza Galvão, Maria Christina & Sato, João Ricardo & Coelho, Edvaldo Capobianco 2012. Dahlberg formula: a novel approach for its evaluation. *Dentall Press Journal of Orthodontics* 17 (1):115-124.

Férézou, Jacqueline & Gulik, Annie & Domingo, Nicole & Milliat, Fabien & Dedieu, Jean-Claude & Dunel-Erb, Suzanne & Chevalier, Claudine & Bach, Andre C. 2001. Intralipid 10 %: Physicochemical Characterization. *Nutrition* 17 (11-12): 930-933. <<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0899900701006670>> Viitattu 23.1.2021.

Heikkilä, Tarja 2014. Tilastollinen tutkimus. 9., uudistettu painos. Porvoo: Edita Publishing Oy.

Hiltunen, Leena 2009. Validiteetti ja reliabiliteetti. Jyväskylän yliopisto. <http://www.mit.jyu.fi/ope/kurssit/Graduryhma/PDFt/validius_ja_reliabiliteetti.pdf> Viitattu 1.11.2021.

Huynh, Toan & Lai, Michael J & Liu, Yang L & Ly, Linda & Gong, Xinwei & Rommel, Kathryn R & Young, Daniel L 2017. Spectral analysis Methods Based on Background Subtraction and Curvature Calculation Used in the Detection or Quantification of Hemolysis and Icterus in Blood-derived Clinical Samples. *Cureus* 9 (12).

Kallner, Anders & Theodorsson, Elvar 2019. Repeatability Imprecision from Analysis of Duplicates of Patient Samples and Control Materials. *Scandinavian journal of clinical and laboratory investigation* 80 (3): 210-214.

Kouri, Timo & Rotgers, Emmi & Linko, Solveig 2020. Kliinisen kemian tutkimusten analyttiset laatuvaatimukset – mallinnus mittausepävarmuusbudjetilla. *Kliinlab* 3/2020: 88-94.

Krasowski, Matthew D 2019. Educational Case: Hemolysis and Lipemia Interference With Laboratory Testing. *Academic pathology* 6: 1-5.

Lehtonen, Pekka O & Sihvonen Marja-Liisa 2004. *Laboratorioalan analyttinen kemia*. 1. painos. Edita Prima Oy.

Leino, Aila 2008. Ikteerinen, lipeeminen tai hemolyyttinen näyte kemian analyyseissä. *Moodi* 1/2008: 68.

Leiviskä, Jaana & Kouri, Timo & Pulkki, Kari 2017. Lipidipitoisuuksien mittaaminen- Paasto vai ei? *Lääketieteellinen aikakausikirja Duodecim* 133 (2): 127-128.

Lippi, Giuseppe & Ippolito, Luigi & Favalaro, Emmanuel J 2013. Technical Evaluation of the Novel Preanalytical Module on Instrumentation Laboratory ACL TOP: Advancing Automation in Hemostasis Testing. *Journal of Laboratory Automation* 18 (5): 382-390. <<https://journals.sagepub.com/doi/pdf/10.1177/2211068213491747>> Viitattu 15.11.2021.

Mahley, RW & Innerarity, TL & Rall, SC Jr & Weisgraber, KH 1984. Plasma lipoproteins: apolipoprotein structure and function. *Journal on Lipid Research* 25 (12): 1277-1294. <<https://europepmc.org/article/med/6099394>> Viitattu 22.1.2021.

Mainali, Sandhya & Davis, Scott R. & Krasowski, Mathew D 2017. Frequency and causes of lipemia interference of clinical chemistry laboratory tests. *Practical Laboratory Medicine* 8 (2017). 1-9.

Meisenberg, Gerhard & Simmons, William H 2012. *Principles of Medical Biochemistry*. 3. painos. Philadelphia: Elsevier/Saunders.

Miller, N.E. 1979. Plasma lipoproteins, lipid transport and atherosclerosis: Recent developments. *Journal of Clinical Pathology* 32 (7). 639-650. <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1145769/>> Viitattu 26.1.2021.

Mustajoki, Henriikka & Kohonen, Iina 2021. Mikä ihmeen tutkimusetiikka? <<https://vastuullinentiede.fi/fi/tutkimuksen-suunnittelu/mika-ihmeen-tutkimusetiikka>> Viitattu 1.11.2021.

Nikolac, Nora & Simund, Ana-Maria & Miksa, Manuela & Lima-Oliveira, Gabriel & Salvagno, Gian Luca & Caruso, Beatrice & Guidi, Gian Cesare 2013. Heterogeneity of manufacturers` declarations for lipemia interference – An urgent call for standardization. *Clinica Chimica Acta* 426: 33-40.

Nikolac, Nora 2014. Lipemia: causes, interference mechanisms, detection and management. *Biochemia Medica* 24 (1): 57-67.

Nordestgaard, Børge G. 2017. A Test in Context: Lipid profile, Fasting Versus Nonfasting. *Journal of the American College of Cardiology* 70 (13): 1637-1646.

Roche 2007. Serum Indices: Reduction of clinical errors in laboratory medicine. Esite.

Saarinen, Heikki & Lajunen, Lauri H.J 2004. Analyttisen kemian perusteet. 4. muuttamaton painos. Oulu: Oulun yliopistopaino.

Soleimani, Neda & Mohammadzadeh, Sahand & Asadian, Fateme 2020. Lipemia Interferences in Biochemical Tests, Investigating the Efficacy of Different Removal Methods in comparison with Ultracentrifugation as the Gold Standard. *Journal of Analytical Methods in Chemistry* 2020: 1-6.

Suomen Bioanalyttikoliitto ry 2017. Bioanalyttikon, laboratoriohoitajan eettiset ohjeet. <https://www.bioanalyttikoliitto.fi/@Bin/659271/Eettiset+periaatteet_FI_print_2017.pdf> Viitattu 1.11.2021.

Tutkimuseettinen neuvottelukunta 2012. Hyvä tieteellinen käytäntö ja sen loukkauseräilyjen käsitteleminen Suomessa. <https://tenk.fi/sites/tenk.fi/files/HTK_ohje_2012.pdf> Viitattu 1.11.2021.

Vita Laboratoriot 2021a. Kreatiiniakinaasi. Laboratoriokäsikirja. <<https://vita.fi/laboratoriokasikirja/tutkimus/163>> Viitattu 2.11.2021.

Vita Laboratoriot 2021b. Natrium. Laboratoriokäsikirja. <<https://vita.fi/laboratoriokasikirja/tutkimus/196>> Viitattu 2.11.2021.

Vita Laboratoriot 2021c. Triglyseridit. Laboratoriokäsikirja. <<https://vita.fi/laboratoriokasikirja/tutkimus/251>> Viitattu 2.11.2021.

Zheng, Yu Zi & Pearce, Ryan W & McShane, Adam J 2020. Lipemia Interference for ALT and AST: Effect from Native Lipid and Commercial Lipid Emulsion – Supplemented Samples. *The Journal of Applied Laboratory Medicine* 5 (4): 817-819.