

Opinnäytetyö AMK

Bioanalytiikka ko

Bioanalytiikka

2014

Essi Hautamäki & Roosa Repo

REFLOTRON® PLUS JA KONELAB 20i

- Kokonaiskolesteroliarvon tulostasojen vertailu



TURUN AMMATTIKORKEAKOULU
TURKU UNIVERSITY OF APPLIED SCIENCES

OPINNÄYTETYÖ (AMK) | TIIVISTELMÄ

TURUN AMMATTIKORKEAKOULU

Bioanalytiikan ko | Bioanalytiikka

2014 | 35

Raini Tuominen

Essi Hautamäki & Roosa Repo

REFLOTRON® PLUS JA KONELAB 20I – Kokonaiskolesteroliarvon tulostasojen vertailu

Vieritestauksella tarkoitetaan tutkimuksia, jotka tehdään varsinaisen laboratorion ulkopuolella ja tulokset ovat yksiköiden käytössä välittömästi ja vastausaika niissä on huomattavasti lyhyempi verrattuna liuoskemian analyyseihin.

Tämän opinnäyte työn tavoitteena on selvittää, kuinka yhtenevä tulostaso on Reflotron® Plus- vieritestilaitteella ja Konelab 20i- analyysointilaitteella, joka on kliinisen kemian analyysointilaitte. Tarkoituksena tässä opinnäytetyössä on analysoida ihopistosnäytteitä Reflotron® Plus- vieritestilaitteella ja verrata kokonaiskolesterolituloksia Konelab 20i- analyysointilaitteen vastaaviin laskimoverinäytetuloksiin. Se on osana Vieno- hanketta.

Reflotron® Plus- vieritestilaitteen ja Konelab 20i- analyysointilaitteen väliset tulokset korreloivat voimakkaasti ja niiden väliset erot olivat tilastollisesti merkittäviä. Tulokset erosivat toisistaan keskimäärin 0,5 mmol/l. Reflotron® Plus- vieritestilaitte antoi alhaisemman tuloksen kuin Konelab 20i- analyysointilaitte. Tulosten erot eivät kuitenkaan ole merkitseviä potilaan hoitoa suunniteltaessa, koska korkea tulos pysyy korkeana ja matala matalana.

ASIASANAT:

Kolesteroli, Vieritesti, Vieritestaus

BACHELOR'S THESIS | ABSTRACT

TURKU UNIVERSITY OF APPLIED SCIENCES

Biomedical laboratory science

2014 | Total number of pages: 35

Raini Tuominen

Essi Hautamäki & Roosa Repo

REFLOTRON® PLUS AND KONELAB 20I - Comparison of the total cholesterol levels

Point of Care– Testing (POC) means testing that are made outside the actual laboratory and the results are available immediately. The Response time is much shorter compared to the results of the chemical analyzes.

The objective of this thesis is to find out how congruent levels the Reflotron ® Plus- POC- device gives compared to Konelab 20i- analyzer, a clinical chemistry analyzer. The Purpose of this thesis is to analyze the capillary samples with Reflotron ® Plus- POC- device and to compare the results similarity to Konelab 20i- analyzer results. The Thesis is part of the Vieno- project.

The Results between Reflotron ® Plus- POC- device and Konelab 20i- analyzer were highly correlated and the differences between them were statistically significant. Results differed on average by 0.5 mmol / l. Reflotron ® Plus- POC- device gave a lower result than the Konelab 20i- analyzer. However the differences between the results are not significant when planning care for the patient, because of the high profit rate remains high and the low remains low.

KEYWORDS:

Cholesterol, Point of care – testing, Near patient

SISÄLTÖ

1 JOHDANTO	6
2 KOKONAISKOLESTEROLIARVON ANALYSOINTI VIERITESTILAITTEELLA JA ANALYSAATTORILLA	7
2.1 Kokonaiskolesteroli	7
2.1.1 Liiallisen kolesterolin haitat	7
2.1.2 Kolesterolin osana rasva-aineenvaihduntaa	8
2.2 Laadukkaan ihopistos- ja laskimoverinäytteen kriteerit kokonaiskolesteroliarvon määrittämiseksi	11
2.3 Vieritestaus	12
2.4 Fotometria	15
2.4.1 Konelab 20i- analysaattori	15
2.4.2 Reflotron® Plus- vieritestilaite	16
2.5 Aikaisemmat tutkimukset aiheesta	17
3 TUTKIMUKSEN TAVOITE JA TARKOITUS	19
4 OPINNÄYTETYÖN KÄYTÄNNÖN TOTEUTUS	20
4.1 Opinnäytetyön käytännön toteutus	20
4.1.1 Tutkimusnäytteidenotto ja ihopistonäytteiden analysointi	20
4.1.2 Laskimoverinäytteiden analysointi	22
4.2 Opinnäytetyön metodologiset lähtökohdat	23
4.3 Opinnäytetyön eettiset lähtökohdat	23
5 TUTKIMUKSEN TULOKSET	25
6 TULOSTEN TARKASTELU JA LUOTETTAVUUS	30
6.1 Tulosten tarkastelu	30
LÄHTEET	33

KUVAT

Kuva 1 kertoo ravintoperäisen ja maksaperäisten rasvojen aineenvaihdunnan eroista ja yhtäläisyyksistä. (Kovanen, Pentikäinen & Viikari 2013). Kuva on mukautettu opinnäytetyöhön sopivaksi.	10
Kuva 2. Tulostasovertailun tulokset	26
Kuva 3. Reflotron® Plus- vieritestilaitteen ja Konelab 20i- analysaattorin korrelaatio	26
Kuva 4. Reflotron® plus antamien vastausten ero % Konelab 20i vastauksiin nähden.	27
Kuva 5. Konelab 20i- analysaattorin ja Reflotron® Plus- vieritestilaitteen tulokset ja tulosten erot.	28
Kuva 6. Konelab 20i ja Reflotron® Plus – analysaattorien vastaukset.	29

1 JOHDANTO

Vieritestauksella tarkoitetaan tutkimuksia, jotka tehdään varsinaisen laboratorion ulkopuolella ja tulokset ovat yksiköiden käytössä välittömästi ja vastausaika niissä on huomattavasti lyhyempi verrattuna liuoskemian analyyseihin (Niemelä & Pulkki 2010). Reflotron® Plus on vieritestilaite, joka mittaa kokonaiskolesteroliarvon kuivakemian menetelmällä. Näyte syötetään testiliuskalle, jossa reagenssit ovat valmiina ja laite mittaa tuloksen fotometrisesti. (Roche 2007.) Konelab 20i- analysaattori mittaa kokonaiskolesteroliarvon liuoskemian menetelmällä, jossa käytetään laitevalmistajan valmiita reagensseja. Konelab 20i mittaa tuloksen yksikanavaisella suodatinfotometrillä. Laite käyttää kahta mittaumenetelmää, turbidimetristä ja kolorimetristä. (Thermo Scientific 2008.)

Tämän opinnäytetyön tavoitteena on selvittää, kuinka yhtenevä tulostaso on Reflotron® Plus- vieritestilaitteella ja Konelab 20i- analysaattorilla. Tarkoituksena tässä opinnäytetyössä oli analysoida ihopistosnäytteitä Reflotron® Plus- analysaattorilla ja verrata kokonaiskolesterolituloksia Konelab 20i- analysaattorin vastaaviin laskimoverinäytetuloksiin.

Terveysalan kannalta tutkimus on tärkeä, koska sen avulla saadaan tietoa vieritestauksen käytännöllisyydestä ja toimivuudesta. Vieritestaus on käytännöllistä, koska siinä vastausaika on lyhyempi. Vastaus saadaan potilaan läsnä ollessa, tämä lyhentää päätöksentekoa terveydenhoidossa (Tuokko, Rautajoki & Lehto 2008). Aiheen saimme Turun ammattikorkeakoululta ja se on osana Vieno-hanketta.

2 KOKONAISKOLESTEROLIARVON ANALYSOINTI VIERITESTILAITTEELLA JA ANALYSAATTORILLA

2.1 Kokonaiskolesteroli

Elimistö tarvitsee useita erilaisia rasvoja toimiakseen, joista yksi on kolesteroli. Kolesteroli on tärkeä eläinkudoksille ominainen rasvaliukoinen steroli. Elimistö käyttää sitä solukalvojen liukoisuuden ylläpitoon sekä kortisolin, estrogeenien ja testosteronin raaka-aineena. Kolesterolista muodostuu myös rasvojen imeytymiselle välttämättömät sappihapot. (Aro 2013.)

Rasva-aineenvaihdunnassa on useita osatekijöitä, kuten verestä mitattava kokonaiskolesteroli. Se koostuu LDL-kolesterolista, HDL-kolesterolista sekä triglyserideistä. Kokonaiskolesteroliarvo analysoidaan litiumhepariiniplasmasta ja näytteen tulee olla paastonäyte. Triglyseridien ja vapaiden rasvahappojen määrityksen kannalta yön yli ravinnotta olo on tärkeää. Paaston pituudeksi suositellaan 10- 12 tuntia. Liian pitkä paasto, kuten yli kaksi vuorokautta vaikuttaa triglyseridiarvoihin merkitsevästi nostamalla niitä. Kolesteroliarvoa arvioitaessa ei ole käytössä perinteisesti väestön jakaumaan perustuvia viitearvoja. Viitearvot ovat sydän- ja verisuonitautikuoleman riskiin liittyviä tavoitearvoja. Tavoitetasona pidetään 5 mmol/l. (Tykslab 2012; Mäkijärvi ym. 2011; Penttilä 2010.)

2.1.1 Liiallisen kolesterolin haitat

Liiallinen kolesterolin saanti on kuitenkin haitallista elimistölle. Kolesterolia syntyy elimistöön kehon itsensä tuottamana ja ravinnosta. Liiallinen kolesterolin saanti aiheuttaa sen kertymistä verisuoniin rasvapaakuiksi. Näitä rasvapaakkuja kutsutaan ateroomiksi. Ateroomat tukkivat valtimoita vuosien kuluessa aiheuttaen kovettumia, josta seuraa valtimokovettumatauti eli ateroskleroosi. Sepelvatimotauti on ateroskleroosia seuraava tauti. Kohonnut kolesteroliarvo

johtuu pääasiassa ylensyönnistä tai vääränlaisesta ruokavaliosta. (Mäkijärvi ym. 2011, 229.)

Liiallista kolesterolin saantia on tutkittu kauan, ja jo 1800-luvulla osattiin yhdistää kolesteroli valtimoita ahtauttavaksi tekijäksi. Tutkimukset ovat osoittaneet, että kohonneiden LDL-kolesteroliarvojen aiheuttamat rasva-aineenvaihdunnan häiriöt, kuten sepelvaltimotauti ovat lisääntyneet elintason noustessa 1950- 1960-luvuilla. Kuitenkin vuosien 1972- 1997 välillä Suomessa tehty sepelvaltimotautitutkimus osoittaa, että miesten kuolleisuus kyseiseen tautiin väheni 64 %:lla ja naisten 71 %:lla. (Mäkijärvi ym. 2011.) Tilastokeskuksen tilastojen mukaan nykyään useampi kuin, joka viides eli 22 % suomalaisista kuolee sepelvaltimotautiin (Tilastokeskus, 2011). Ihmisen rasva-aineenvaihduntaan vaikuttaa myös perintötekijät. On henkilöitä joilla rasvojen otto ravinnosta tai takaisin otto suolistosta on liian tehokasta. (Mäkijärvi ym. 2011.)

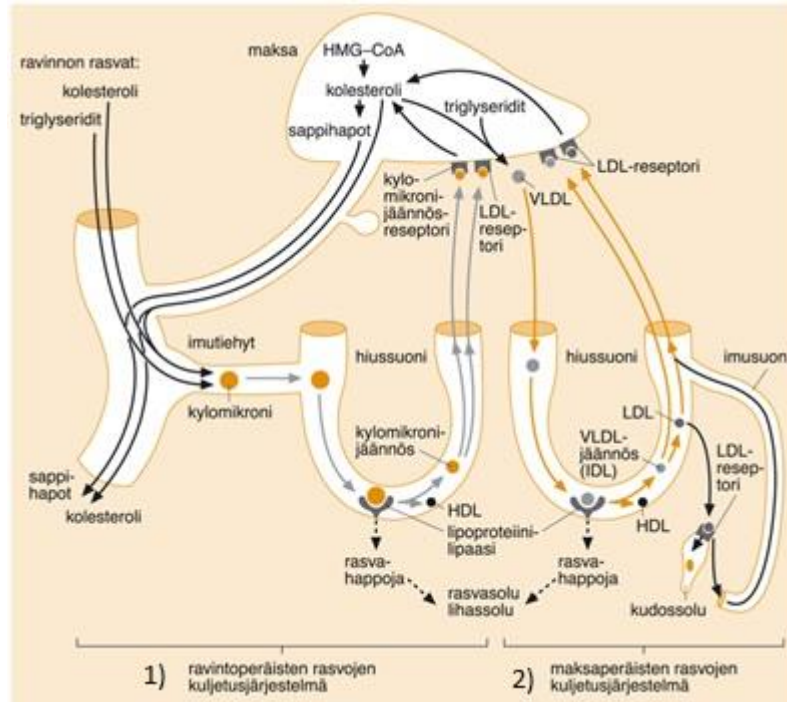
2.1.2 Kolesteroli osana rasva-aineenvaihduntaa

Rasvojen kuljetusjärjestelmä verenkierrossa koostuu lipoproteiineista. Plasman lipidit liukenevat huonosti veteen, ja ovat siksi sidottuina kantajaproteiineihin ja niiden avulla ne kulkevat verenkierrossa. Kantajaproteiinit ja niihin kiinnittyneet lipidit muodostavat lipoproteiineja. Lipoproteiinit ovat rakenteeltaan pallomaisia, niiden kuori koostuu vapaista kolesterolimolekyyleistä, polaarista fosfolipidistä ja apolipoproteiineista. Lipoproteiinien sisäosa koostuu triglyserideistä, kolesterolin rasvahappoestereistä sekä hydrofobisista nonpolaarisista lipideistä. (Niemi & Pulkki 2010.)

Esterimolekyylien lukumäärä vaikuttaa lipoproteiinien kokoon. Suurissa hiukkasissa on paljon estereitä, ne ovat kevyempiä ja niiden tiheys on pienempi. Pienissä hiukkasissa on vähemmän estereitä. Lipoproteiinit luokitellaan tiheydensä perusteella. Kylomikronit ovat kevyimpiä ja sitä seuraavat järjestyksessä VLDL (very low density lipoproteins), IDL (intermediate density lipoproteins), LDL (low density lipoproteins) sekä HDL (High density

lipoproteins). Näistä VLDL ja HDL syntyvät maksassa ja suolessa, kylomikronit suolessa. Maksan ulkopuolella VLDL:stä muodostuu IDL ja LDL. LDL sisältää runsaasti kolesterolia ja se kuljettaa kolesterolin kudossoluihin. Solut saavat tarvitsemansa kolesterolin LDL- partikkeleista, joita kutsutaan elimistön kolesterolivarastoiksi. Kolesteroli kulkeutuu maksaan metaboloitavaksi HDL:n avulla. (Penttilä 2004, Niemelä & Pulkki 2010.)

Rasvaliukoinen kolesteroli kulkee veressä paketoituna LDL-lipoproteiiniin. Mikäli LDL-lipoproteiinien määrä on veressä suuri, ne pääsevät kulkeutumaan verisuonten sisäkerrokseen. Suonen seinämiin takertunut LDL muuttuu kemiallisesti hapettumalla, minkä seurauksena kolesterolia kertyy vaahtosoluihin ja näin verisuonisairaus ateroskleroosi saa alkunsa. Kolesteroli poistuu elimistöstä maksan avulla ensin siirtymällä HDL-lipoproteiineihin. Kolesteroli poistuu elimistöstä sappihappoina ulosteisiin tai sellaisenaan. (Aro 2013.)



Kuva 1 kertoo ravintoperäisen ja maksaperäisten rasvojen aineenvaihdunnan eroista ja yhtäläisyyksistä (Kovanen, Pentikäinen & Viikari 2013). Kuva on mukautettu opinnäytetyöhön sopivaksi.

1) Ravinnosta imeytyvä kolesteroli pakkautuu suolessa kylomikroneiksi ja sitä kautta erittyy suolen imuteihin ja kulkeutuu vereen rintatiehyen kautta. Kudosten endoteelisolujen entsyymi lipoproteiinilipaasi hydrolysoi kylomikronien triglyderidejä. Vapautuneet rasvahapot voivat joutua joko tuottamaan energiaa lihassoluihin tai rasvasoluihin varastoitavaksi. Kun kylomikronit pienenee, niiden pinnasta alkaa irrota pintamateriaaleja, joista muodostuu levymäisiä HDL-hiukkasia. Kyseiset kylomikronit sisältävät kolesterolia, ja ne kuljettavat sen maksaan LDL- reseptoreiden ja kylomikronijäännösreseptoreiden välityksellä. Hiukkaset kulkeutuvat maksaan hajoamaan parenkyymisolujen lysosomeihin, jonka jälkeen hiukkasista vapautuva kolesteroli erittyy sappiteihin sappihapoksi muuttuneena tai sellaisenaan. Sappihappojen takaisin imeytymistä ei esitetä kuvassa. 2) Maksaperäisten rasvojen kuljetusjärjestelmä. Kolesteroli muodostuu hydroksimetyyliglutaryylikoentsyymi A:sta maksan parenkyymisolujen toimesta. Se pakataan ravintoperäisen kolesterolin, triglyseridien ja fosfolipidien kanssa VLDL-hiukkasiin. Nämä hiukkaset erittyvät

verenkiertoon, jossa lipoproteiinilipaasi hydrolysoi VLDL- hiukkasen triglyseridejä hiussuonissa. Tämän yhteydessä hiukkasista irronneista pintaosista muodostuu HDL-hiukkasia. VLDL- hiukkasista tulee VLDL-jäännehiukkasia, jotka kulkeutuvat maksaan LDL-reseptorien avulla. Maksassa osa niistä muuntuu runsaasti kolesterolia sisältäviksi LDL-hiukkasiksi. LDL-hiukkaset läpäisevät hiussuonen siirtyen solunulkoiseen kudostilanteeseen. Kudossoluissa olevat LDL-reseptorit keräävät osan LDL-hiukkasista ja ne siirtyvät solun käyttöön. Hiukkaset luovuttavat kolesterolinsa solujen käyttöön. Ylimääräiset LDL-hiukkaset siirtyvät takaisin verenkiertoon imutieverkoston kautta. Ne siirtyvät takaisin maksaan LDL-reseptorien välityksellä. Kun LDL-reseptorien ja imusuonien tasapainotila on kunnossa, ei ylimääräistä kolesterolia kerry elimistöön. (Kovanen, Pentikäinen & Viikari 2013.)

2.2 Laadukkaan ihopistos- ja laskimoverinäytteen kriteerit kokonaiskolesteroliarvon määrittämiseksi

Kokonaiskolesteroliarvoa mitattaessa preanalytiikassa tulee ottaa huomioon paasto, tupakointi ja fyysinen rasitus. Nautitulla ravinnolla voi olla huomattava vaikutus mitattavan arvon pitoisuuteen elimistössä ja siten laboratoriotutkimusten tuloksiin. Hyvin proteiinipitoinen ravinto vaikuttaa kokonaiskolesterolin ja hormonin tuloksiin nostavasti. Tämän takia suositellaan potilaita olemaan ravinnotta näytteenottoa edeltävästä illasta asti. Yleinen ohje kehoittaa olemaan ravinnotta kello 22 jälkeen. Myös tupakointi nostaa arvoja. Fyysinen rasituksen aiheuttama energian kulutus heijastuu myös kokonaiskolesteroliarvoon. Näyte otetaan joko ihopistosnäytteenä tai laskimoverinäytteenä. (Tuokko, Rautajoki & Lehto 2008; Tykslab 2012.)

Laadukkaita ihopistosnäytteitä otettaessa pätevät samat näytteenottoolosuhteet ja potilaan esivalmisteluohjeet, kuin laskimoverinäytteitä otettaessa. Käsihygienia on erittäin tärkeää näytteitä otettaessa. Ihopistosnäytteitä otettaessa suojahanskojen käyttö on välttämätöntä. Pistokohdaksi valitaan alue, josta näytteenotto onnistuu helposti, entisiä pistojälkiä on vähän ja iho on terve.

Pistokohta tulisi lämmittää ennen näytteenottoa hyvin, jotta näyte saadaan ilman turhaa puristamista. Liiallinen puristaminen ja näytteen kaapiminen ihon pinnalta voi aiheuttaa hemolyysiä ja näyte saattaa kontaminoitua kudostenesteelle. Näytteenottokohta puhdistetaan alkoholilla, annetaan kuivua ja piston jälkeen ainakin ensimmäinen pisara pyyhitään pois, koska se sisältää kudostenestettä. Näyte otetaan tarpeeksi suuresta pisarasta ja vältetään koskemasta ihoon näyteastialla. Kun näytettä on tarpeeksi on se valmis analysoitavaksi. (Tuokko, Rautajoki & Lehto 2008; Penttilä 2004; Ilanne-Parikka ym. 2009.)

Laadukas laskimoveri näyte otetaan kyynertaipeesta alueelta, jossa iho on terve ja potilaalle ei aiheudu turhaa kipua. Käsihygienia on hyvin tärkeä osa näytteenottoa. Kädet tulee pestä ja desinfioida huolellisesti ennen näytteenottoa, suojakäsineiden käyttö on suositeltavaa. Pistokohtaa tutkiessa liiallinen staasin käyttö tai liian kireä staasi saattaa nostaa kolesteroliarvoa. Kokonaiskolesteroliarvoa varten valitaan näyteastiaksi litium-hepariini-putki. Näyte tulee sentrifugoida 30minuutin kuluessa näytteenotosta. Tämän jälkeen näyte on valmis analysoitavaksi. (Tuokko, Rautajoki & Lehto 2008; Tykslab 2012.)

2.3 Vieritestaus

Vieritutkimuksilla tarkoitetaan tutkimuksia, jotka tehdään laboratorioyksikön ulkopuolella. Tutkimus tehdään potilaan välittömässä läheisyydessä laitteilla, jotka ovat yksinkertaisia ja helppokäyttöisiä. Tutkimusten tuloksia käytetään heti potilaan hoitoon. Vieritestejä tehdään erityisesti silloin, kun potilasta koskevan hoidon päätökset on tehtävä nopeasti, eikä laboratorio pysty antamaan vastausta tarpeeksi nopeasti tai palvelua ei ole saatavilla. Vieritestauksia tehdään monissa hoitoyksiköissä, esimerkiksi tehohoidossa, neuvoloissa ja vastaanotoilla. Näiden lisäksi vieritestauslaitteita käytetään laboratorioyksiköissä, kuten näytteenotossa ja päivystyslaboratorioissa. Vieritestauksesta käytetään myös englanninkielisiä nimiä ja lyhenteitä, kuten

NPT- near patient, out-of-laboratory-test sekä POC- point of care testing, joka on yleisimmin käytetty. (Niemelä & Pulkki 2010.)

Vieritesteistä yleisimpiä ovat veren glukoosi-, hemoglobiini-, C-reaktiivinen proteiini-, hyytymistutkimukset, raskaustestit sekä virtsan kemiallinen seulonta. Teknologian ja menetelmien kehittymisen johdosta on käyttöönotettu myös runsas määrä muitakin vieritestejä, esimerkiksi P-TT ja P-INR. Vieritestilaitteet ovat kehittyneet ja analytiikka yksinkertaistunut. Tämän seurauksena huomio on alkanut kohdistumaan pre- ja postanalytiikkaan. Tärkeimpiä asioita, joihin tulee kiinnittää huomiota vieritestauksen preanalyttisessä vaiheessa, on potilaanohjaus ja näytteenotto. (Penttilä 2004; Ilanne-Parikka ym. 2009.)

Vieritestit tehdään yleisesti ihopistosnäytteestä. Sillä tarkoitetaan kapillaariverinäytettä aikuisen sormenpästä tai korvanlehdestä ja lapselta sormenpästä, kantapästä tai korvanlehdestä. Huomiota tulee kiinnittää erityisesti näytteenotto-ohjeisiin. Esimerkiksi yleisesti näytettäottaessa piston jälkeen ensimmäinen pisara pyyhitään pois, koska se sisältää kudospäästä. Poikkeuksena hyytymistutkimukset, jossa tutkimus suoritetaan ilman näytteenottokohdan puhdistusta alkoholilla ja näyte otetaan ensimmäisestä pisarasta sekä hemoglobiinin mittausta, jossa puhdistuksen ja piston jälkeen pyyhitään kaksi pisaraa. Näytteenoton ja analyysivaiheen jälkeisessä postanalyttisessä vaiheessa tulee erityisesti kiinnittää huomiota tuloksen tulkintaan ja kirjaukseen. (Penttilä 2004; Ilanne-Parikka ym. 2009.)

Vieritutkimustoiminnan järjestämisessä on paljon huomioitavia asioita. Ennen toiminnan aloittamista on valittava vastuhenkilö, jonka tulee olla laboratorioalan ammattilainen esimerkiksi laboratoriolääkäri, kemisti tai bioanalytikko. Näillä toimilla pyritään saamaan vieritutkimuksista liiallinen kirjavuus pois, joka yleisimmin johtuu puutteellisesta ohjeistuksesta, koulutuksesta sekä perehdytyksestä. Labquality Oy on julkaissut tätä asiaa koskien vuonna 2009 suosituksen, joka on tarkoitettu ohjeeksi kaikille ammattilaisille, jotka ovat tekemisissä vieritestausrakenteiden kanssa tai ovat niistä vastuussa. Vieritestien käyttäminen on täysin verrattavissa laboratoriodiagnostiikkaan, jossa lainsäädäntö velvoittaa noudattamaan

laadunhallintaa ja sen työkaluja jokapäiväisessä laboratoriotoiminnassa. Kliininen laboratorio voi tarvittaessa toimia vieritestaustoiminnan taustavoimana eli tukilaboratoriona. (Ilanne-Parikka ym. 2009; Niemelä & Pulkki 2010.)

Perusedellytyksenä onnistuneelle vieritestaukselle on hyvin suunniteltu ja toteutunut laadunvarmistus. Sen tarkoituksena on varmistaa, että määritelty laatutaso saavutetaan. Vieritestauksen laadunvarmistuksen perustekijöinä on osaavat tekijät, kontrollointi, hyvät testit, tulosten jäljitettävyyys ja siirrettävyys. Vierilaitteiden laadunvarmistus jaetaan kahteen: sisäiseen ja ulkoiseen laadunvarmistukseen. Sisäinen laadunohjaus on omien toimintatapojen seuranta, jossa menetelmän toistettavuutta seurataan tunnettujen kontrollinäytteiden avulla. Jos sisäisellä laadunohjauksella havaitaan puutteita tai ongelmia ne korjataan oma-aloitteisesti laboratorion sisällä. Kontrollinäytteet ovat yleensä peräisin laitevalmistajalta. Tämän lisäksi on mahdollista verrata vieritestillä tutkittua potilasnäytettä samanaikaisesti otettuun suoniverinäytteeseen, joka on tutkittu laboratoriomenetelmällä. Kontrollinäytteet tulisi ajaa mahdollisimman useasti. Jos laitetta käytetään päivittäin, niin kontrollit tulisi ajaa joka päivä, kun taas harvemmin käytettävissä oleviin laitteisiin tulisi kontrolliajo tehdä aina käyttöön otettaessa. (Ilanne-Parikka ym. 2009.)

Ulkoinen laadunarviointi tarkoittaa testausta, jossa yksikkö vertaa omaa suoritusta muiden yksiköiden suoritukseen, jotka tekevät samaa tutkimusta. Tässä toiminnassa laadunarviointipalveluiden tuottaja, esimerkiksi Labquality Oy toimittaa yksikköön sokkonäytteitä, jotka analysoidaan vieritestillä samalla tavalla kuin potilasnäytteitä. Tulokset lähetetään tuottajalle, joka tekee niistä yhteenvedon, jonka jälkeen jokainen kierrokselle osallistunut yksikkö voi tarkistaa miten hyvin oma tulos vastaa muiden tulostasoa. (Ilanne-Parikka ym. 2009; Niemelä & Pulkki 2010.)

2.4 Fotometria

Fotometrialla tarkoitetaan valon mittaamista. Se on yleisimmin käytetty mittaussuomenetelmä liuoskemian ja kuivakemian analyyseissä. Fotometria on mittaussuomenetelmä, jossa käytetään hyväksi valon läpäisevyyttä eli transmittanssia tai imeytymistä eli absorptiota. Fotometrisissa mittauksissa kyvetissä olevan liuksen läpi johdetaan valoa, joka sisältää kyseisen aallonpituusalueen omaavaa valoa. Valon transmittanssin ja absorption avulla pystytään määrittämään näytteiden pitoisuuksia tunnettuja reagensseja käyttäen. Näyte ja reagenssi muodostavat liuksen, josta selviää valoa johtamalla halutun aineen määrä näytteessä. (Lehmann, Leiken & Ward 1994, Karselis 1994.)

2.4.1 Konelab 20i- analysaattori

Konelab 20i on klinisen kemian analysaattori. Konelab 20i – analysaattorissa mittaussuoritetaan yksikanavaisella suodatinfotometrillä, joka voi käyttää 11 eri aallonpituutta. Analyysit suoritetaan Konelab 20i- analysaattorilla plasmasta ja seerumista. Siinä on kaksi mittaussuomenetelmää, kolorimetrinen ja turbidimetrinen. Laite suorittaa analyysin joko kineettisesti tai päätepistemittauksella, riippuen analyysista. Päätepistemittauksella suoritetaan tärkeimmät rasva-aineenvaihdunnan tutkimukset eli Trigly, HDL, LDL ja Kol. Kineettiset mittaukset pitävät sisällään entsyymiaktiivisuusmittauksia, joilla mitataan entsyymin toimivuutta tai määrää. Tärkeimpiä entsyymitutkimuksia ovat maksan tutkimukset esimerkiksi ALAT-, ASAT-, ja AFOS- entsyymit. (Thermo Scientific 2008; Niemelä & Vilpo 2003; Penttilä 2004.)

Konelab 20i- analysaattori mittaa kokonaiskolesteroliarvon reagenssin, laboratorioveden ja näytteen seoksesta. Määritettäessä kokonaiskolesteroliarvoa, näytteessä esiintyvät esterit pitää ensin hydrolysoida vapaaksi kolesteroliksi, joka mitataan entsyymaattisesti peroksidaasi- ja kolesterolioksidaasientsyymien avulla. Kokonaiskolesterolin määrittämisen

ensimmäisessä vaiheessa kolesteroliesteraasi hydrolysoi kolesteroliesterit kolesteroliksi ja vapaiksi rasvahapoiksi. Seuraavassa vaiheessa kolesterolioksidaasin avulla kolesteroli hapetetaan kolest-4-en-3-ioniksi, joiden lisäksi reaktiossa syntyy vetyperoksidia. Mitattavissa oleva värillinen yhdiste syntyy hydroksidibentsoehapon avulla, joka mitataan laitteella aallonpituuksien 500- 550 nm välillä. Valon absorptio tai emissio on suoraan verrannollinen tutkittavassa näytteessä olevan analyytin pitoisuuteen. Analyysin alussa Konelab 20i- analysaattori annostelee mittauskyvetiin 200µl kolesteroli reagenssia sekä 20µl H₂O:ta ja suorittaa blankkauksen. Tämän jälkeen mittauskyvetiin annostellaan vielä 2µl näytettä sekä 20µl H₂O:ta ja inkuboidaan 600 sekuntia, jonka jälkeen laite mittaa seoksen aallonpituudella 510nm ja sivuaallonpituudella 620nm. (Thermo Scientific – CD; Konelab 20i – Testin määrittely.)

2.4.2 Reflotron® Plus- vieritestilaite

Reflotron® Plus- vieritestilaite määrittää kokonaiskolesterolituloksen kuivakemian fotometrisellä menetelmällä ihopistosnäytteestä tai laskimoverinäytteestä. Näyte syötetään laitevalmistajan testiliuskalle, jossa reagenssit ovat valmiina. (Roche 2007.) Kuivakemian yleisenä periaatteena on valon heijastumisen mittaus, joko näkyvän valon tai ultraviolettivalon aallonpituuksilla. Menetelmässä veri tai jonkin muun näytteen sisältämä neste liuottaa reagenssit testiliuskalta tai kasetilta ja syntynyt reaktiotuote tai sen lähettämä signaali mitataan, esimerkiksi fotometrisesti tai todetaan silmäämääräisesti. (Penttilä 2004.) Kuivakemiallisissa analyyseissa ja semikvantitatiivisissa liuskakokeissa mitataan reflektanssia eli valon heijastumista. Siinä valo johdetaan liuskassa olevan reaktiokerroksen läpi ja heijastetaan sen jälkeen valokennolle reflektanssin mittaamiseksi. (Niemelä & Vilpo 2003.)

Reflotron® Plus – vieritestilaitteen kokonaiskolesteroli reagenssiliuskassa käytettävät reagenssit erottavat 30µl ihopistosnäytteestä eli kokoverinäytteestä

erytrosyytit näytteen siirtyessä pipetointialustan läpi liuskan reaktioalueelle. Tämän jälkeen kolesterolin esterit lohkaistaan vastaaviksi rasvahapoiksi ja kolesteroliksi, jotka sitten hapetetaan kolestenonin ja vetyperoksidin kanssa hapen läsnä ollessa. Reaktiovaiheessa peroksidaasi katalysoi ja vetyperoksidi hapettaa redox-indikaattorin, jolloin näyte värjäytyy siniseksi. Väri on verrannollinen kolesterolin pitoisuuteen näytteessä. Tämän jälkeen laite analysoi fotometrisesti 37°C - asteeseen lämmitetyn testiliuskan laskemalla Ulbrichtin kammion testiliuskan päälle. Reflektanssin mittauksessa käytetään aallonpituutta 642nm. Laite mittaa vertailuantureiden avulla kammion seinästä heijastuvan valon ja testiliuskan kautta heijastetun valon. Antureiden sähkösignaalit siirretään AD- muuntimeen. Analogiset arvot muuttuvat sähkösignaaliksi, josta mikroprosessori laskee heijastuman. Reflotron® Plus-vieritestilaite mittaa kolesteroliarvon luotettavasti välillä 2,59- 12,9 mmol/l. (Roche Diagnostics 2010.)

2.5 Aikaisemmat tutkimukset aiheesta

Aikaisempia tutkimuksia on esimerkiksi tutkimus Reflotron® Plus-vieritestianalysointilaitteen luotettavuudesta. Tutkimuksessa tutkittiin kuinka luotettavasti Reflotron® Plus pystyy antamaan korkeita tuloksia kokonaiskolesteroliarvoa mitattaessa. Tutkimuksessa käytettiin 136 litium-hepariiniplasmanäytettä, joiden kolesteroliarvo tunnettiin entuudestaan. Tutkimuksen mukaan Reflotron® Plus pystyi antamaan luotettavasti myös korkeita kokonaiskolesteroliarvoja tunnetuista näytteistä. (Ng, Sparks & Statland 1991.)

Turun ammattikorkeakoulun analysointilaitteiden Konelab 20i ja Konelab 20XTi antamia tuloksia ja niiden vertailukelpoisuutta on tutkittu 2013 valmistuneessa opinnäytetyössä. Opinnäytetyö toteutettiin Turun Ammattikorkeakoulun tiloista löytyvillä analysointilaitteilla. Tutkitut analytyytit olivat Kol, Kol-HDL, Kol-LDL, Trigly, K, Na, Uraat, GT, Gluk, Krea, ASAT, ALAT ja AFOS. Vastauksia käsiteltiin tilastotieteen menetelmin ja niiden perusteella pystyttiin toteamaan, että tulokset

täsmäsivät ja koneet antavat yhtä luotettavasti tuloksia. Konelab 20i- ja Konelab 20XTi-analysaattoreita voidaan siis käyttää samanarvoisesti analyyseissä. (Mäkinen & Strengell 2013.)

TYKSLAB:issa tehdyssä tutkimuksessa vertailtiin tulostasojia i-STAT – vieritestianalysaattorin ja Roche Modular P800 – automaattianalysaattorin välillä. Tutkimus on julkaistu Kliinlab – lehdessä toukokuussa 2011. i-STATin analyytteinä oli Na, K, GLUK, KREA ja UREA joita vertailtiin Roche Modular P800 vastaaviin tuloksiin. Tutkimuksessa käytettiin testikasettia, joka sisälsi kyseisten analyyttien lisäksi hematokriitin ja laskennallisena muun muassa hemoglobiinin. Analysoitavina näytteinä käytettiin litiumhepariiniputkiin otettuja kokoveri- ja plasmanäytteitä, jotka oli poimittu rutiininäytteiden joukosta. Tuloksista ilmeni, että kokoverinäytteiden, jotka oli analysoitu vieritestauslaitteella (i-STAT) ja plasmanäytteiden (Modular) väliset korrelaatiot vaihtelivat välillä 0,88 -1,00. Tutkimuksessa testattujen analyyttien poikkeamat täyttävät pika-analytiikalle asetetut vaatimukset, kun tarkasteltiin analyyttien korrelaatioita ja keskimääräisiä prosentuaalisia poikkeamia. Joillakin yksittäisillä näytteillä havaittiin tulosten poikkeavuutta, joka todennäköisesti johtui mittausmenetelmien välisistä eroista tai herkkyseroista menetelmien välillä. (Leino & Kurvinen 2011.)

3 TUTKIMUKSEN TAVOITE JA TARKOITUS

Tämän opinnäytetyön tavoitteena on selvittää, kuinka yhtenevä tulostaso on Reflotron®Plus- vieritestilaitteella ja Konelab 20i- analysaattorilla. Tämän opinnäytetyön tarkoituksena on analysoida ihopistosnäytteitä Reflotron® Plus-analysaattorilla ja verrata kokonaiskolesterolituloksia Konelab 20i-analysaattorin vastaaviin laskimoverinäytetuloksiin. Empiirisen osuuden aikana saadut tulokset on tarkoitus käsitellä tilastollisin menetelmin. Vieritestaus mahdollistaa nopeamman vastausajan, näytteenotto on potilaalle miellyttävämpi ja myös tarvittava verimäärä on pienempi ja näytteenotto nopeampi, koska näyte pystytään ottamaan ihopistosnäytteenä. (Lehto, Rautajoki & Tuokko 2008.)

4 OPINNÄYTETYÖN KÄYTÄNNÖN TOTEUTUS

4.1 Opinnäytetyön käytännön toteutus

Opinnäyte työn aihe saatiin Turun ammattikorkeakoululta syyskuussa 2013. Tämän opinnäytetyön lähdemateriaalien haku ja raportin teoria osuutta aloitettiin kirjoittamaan syyskuussa 2013. Tutkimuslupaa opinnäytetyön toteuttamiseksi haettiin Turun ammattikorkeakoululta. Teoria osuus tälle opinnäytetyölle kirjoitettiin valmiiksi ennen tutkimusnäytteiden ottoa. Tietoa haettiin vieritestauksesta, kokonaiskolesterolista, laitteiden mittausten menetelmistä sekä laadukkaasta näytteenotosta. Tutkimuksessa käytettäviin laitteisiin ja niiden käyttöön perehdyttiin huolellisesti. Näytteenottoa ja näytteiden käsittelyä varten laadittiin kirjallinen ohje, johon käytettiin lähteenä TYKSLAB tutkimusohjekirjaa sekä Kliiniset laboratorionäytteet – opas näytteiden ottoa varten – kirjaa. Näytteitä kerättiin vapaa ehtoisilta Turun ammattikorkeakoulun opiskelijoilta. Näytteet otettiin vain suostumuslomakkeen täyttäneiltä ja paastonneilta henkilöiltä.

4.1.1 Tutkimusnäytteidenotto ja ihopistonäytteiden analysointi

Tutkimusnäytteet otettiin kirjallisen ohjeistuksen mukaisesti ja numeroitiin juoksevalla numerolla. Kaikista tutkimukseen osallistuneista otettiin ihopistosnäyte sekä laskimoverinäyte. Ihopistosnäytteet analysoitiin välittömästi Reflotron® Plus- vieritestilaitteella ja laskimoverinäytteet otettiin litium-hepariiniputkiin ja pakastettiin.

Kummallakin näytteenottokerralla Reflotron® Plus- vieritestilaitte valmisteltiin käyttövalmiiksi antamalla sen lämmitä aluksi sekä analysoimalla laitevalmistajan Check-liuska ja kontrolli. Laite mittaa käytettävät aallonpituudet Check-liuskan avulla (käytetty Check-liuska erä oli lot: 21148608,exp.:2016-10). Check-liuska tulokset ensimmäisellä analysointi kerralla: 638 (631-651), 637

(632-652), 633 (616-656) ja toisella: 637 (631-651), 636 (631-651), 630 (616-656), kummankin mittauksen tulokset osuivat laitevalmistajan viiterajoihin.

Kontrollin liuotus tapahtui jo laitteisiin peretyksen yhteydessä. Kontrolliksi liuotettiin laitevalmistajan tuottama Precinorm U, pakkauksen mukana tulleiden ohjeiden mukaisesti (kontrollin eränumero oli lot:170987-01). Ensin pipetoitiin täyspipetillä 2ml H₂O:ta kontrollipulloon ja suljettiin pullo sekä sekoitettiin huolellisesti. Tämän jälkeen kontrollin annettiin liueta rauhassa, välillä sekoittaen. Liuotuksen jälkeen kontrolli jaettiin 300µl:n eriin eppendorffputkiin ja pakastettiin -20°C (säilyy 30vrk -20°C asteessa).

Kontrolli otettiin sulamaan pakkasesta ennen sen analysointia Reflotron® Plus-vieritestilaitteella. Sulamisen jälkeen kontrolli sekoitettiin huolellisesti ja siirrettiin heparinisoidun kapillaarin avulla 30µl laitevalmistajan kolesterolitestiliuskalle (Reflotron Cholesterol – liuskojen eränumero lot:221111-04, exp.2014-10). Kontrollin tulos ensimmäisellä analysointikerralla: 4,95 ja toisella: 4,70, laitevalmistajan asettama viiterajat: 4.19-5.53. Kontrollit menivät viiterajoihin kummallakin kerralla.

Reflotron® Plus – vieritestilaitteella analysoitiin ensimmäisellä analysointikerralla tutkimusnäytteet 1-16 ja toisella tutkimusnäytteet 17-30. Niiden tulokset kirjattiin laboratoriopäiväkirjaan oman juoksevan numeron kohdalle sekä Excel-tulostaulukkoon tietokoneelle. Tulokset kirjattiin huolellisesti ja tarkistettiin Reflotron® Plus – vieritestilaitteen tulosteesta.

Ihopistosnäytteenoton yhteydessä kerätyt laskimoverinäytteet otettiin litium-hepariini-putkiin. Putket merkittiin samalla juoksevalla numerolla, kuin ihopistosnäyte ja niihin kirjattiin näytteenoton kellonaika. Näytteet sentrifugoitiin 30 minuutin kuluessa näytteenotossa, plasma siirrettiin erotteluputkiin ja pakastettiin -20°C asteeseen. Näytteenkäsittelyssä käytimme TYKSLAB-tutkimusohjekirjan ohjetta kokonaiskolesteroliarvon säilyvyydestä. Sen mukaan kokonaiskolesterolinäytteet säilyvät huoneenlämmössä kuusi (6) tuntia, jääkaapissa seitsemän (7) vuorokautta eroteltuna ja pidempi aikainen säilytys pakastettuna -20°C asteessa.

4.1.2 Laskimoverinäytteiden analysointi

Laskimoverinäytteet analysoitiin Konelab 20i – analysaattorilla. Konelab 20i – analysaattori valmisteltiin kalibraatiota ja kontrollien analysointia varten ohjeen mukaisesti. Laitteeseen haettiin uutta laboratoriovettä ja tarkistettiin ISE CAL-liuoksen päivämäärä sekä lisättiin reagenssit laitteeseen. Reagenssina käytettiin laitevalmistajan käyttövalmista kolesterolireagenssia (lot: J024, exp.2.4.2014), jota kului kaksi pullollista analyysien suorittamiseen. Reagenssien lisäämisen jälkeen ajettiin Start up – näyte (2ml). Start up -näytteenä käytettiin kahta pakastettua potilasnäytettä, jotka sulatettiin, sekoitettiin huolellisesti ja sentrifugoitiin ennen analysointia. Start up- näytteen syötön jälkeen kone analysoi vesiplankki tulokset. Vesiplankin tulokset: SD 0,7 (<2,0), Sign gain 1 (<4). Kuvaaja kyvetteihin pipetoitujen vesien välillä osoitti laitteen mittaavan tasaisesti eikä poikkeavuuksia havaittu. Analysaattori oli vesiplankkitulosten perusteella valmis kalibrointiin ja kontrolleihin.

Kontrollit ja kalibraattorit, joita käytettiin fP-Kol-analyysin laadunvarmistamiseen, olivat Daytrol 14, joka on Labqualityn kontrolli, Lipotrol (lot: J821A, exp. 2016-05) ja kalibraattori sCal (lot: H818G, exp. 2015-08). Kylmäkuivat tuotteet Daytrol 14, Lipotrol ja sCal liuotettiin yleisohjeen mukaisesti laboratorioveteen. Laboratorioveden määrä tarkistettiin tuotteiden kitti-insertistä. Tämän jälkeen pulloja pyöriteltiin huolellisesti siten, että kaikki liuetettava tuote jäisi nestepinnan alle. Tämän jälkeen pullojen annettiin seistä 25 min pimeässä, välillä sekoittaen. Lopuksi liuoksia sekoitettiin tasosekoittajalla 5 minuuttia.

Kalibraattori sCal, kontrolli Lipotrol sekä laboratoriovesi syötettiin analysaattoriin. Analysoinnin jälkeen tarkistettiin, että kalibraatio oli hyväksytty ja tarkistettiin Lipotrollin tulos, joka oli kunnossa (Lipotrollin tulos: 4,95, rajat 4,2-5,2). Tämän jälkeen syötettiin Daytroll 14 analysoitavaksi ja tarkistettiin tulos, joka myös osui rajoihin ja hyväksyttiin (Daytroll 14 tulos: 4,7, rajat 4,48-4,96). Tämän jälkeen Konelab 20i- analysaattori oli käyttövalmis.

Tutkimusnäytteet sulatettiin pakkasesta, sekoitettiin huolellisesti ja setrifugoitiin ennen analysointia. Näytteet siirrettiin näyteputkista 0,5ml mittauskyvetteihin ja

asetettiin järjestyksessä segmentteihin. Kaikista analysoiduista näytteistä pyydettiin rinnakkaismäärityksenä fP-Kol. Analyysin aikana laite antoi hälytyksen mistä ilmeni, että kyvetit olivat menneet jumiin eikä laite saanut niitä syötettyä. Tästä johtuen osa tuloksista oli virheellisiä eikä niitä voitu hyväksyä. Kyseisistä näytteistä ajettiin vielä uudet rinnakkaismääritykset. Pyysimme myös niistä näytteistä uusinta-ajon, mistä rinnakkaiset tulokset erosivat yli 5 % toisistaan.

4.2 Opinnäytetyön metodologiset lähtökohdat

Kvantitatiivisen tutkimuksen juuret ovat luonnontieteissä. Kvantitatiivisessa tutkimuksessa keskeisiä asioita ovat muun muassa johtopäätökset aiemmista tutkimuksista, aiemmat käsitellyt teoriat, käsitteiden määrittäminen, hypoteesien esittäminen ja koehenkilöiden valinta. Keskeinen asia kvantitatiivisessa tutkimuksessa on myös tutkimustulosten laittaminen taulukkomuotoon ja tulosten saattaminen tilastollisesti käsiteltävään muotoon. (Hirsijärvi, Remer & Sajavaara 2008.) Tutkimuksen luotettavuus riippuu kerätyistä tiedoista, mittaamisesta ja sen tarkkuudesta sekä tulosten oikeellisuudesta. Ne ovat kaikki sidoksissa toisiinsa. (Paunonen & Vehviläinen-Julkunen 1998.)

Opinnäytetyö toteutetaan kvantitatiivista tutkimusta käyttäen. Tästä opinnäytetyöstä tekee kvantitatiivisen se, että sen aineisto kerätään empiirisen osuuden aikana ja tämän jälkeen kerätty tieto käsitellään tilastotieteellisin menetelmin. Tarkoituksena on hankkia empiirisen osuuden aikana tietoa Reflotron® plus- vieritestilaitteen ja kliinisen kemian Konelab 20i- analysaattorin antamista tuloksista kokonaiskolesteroliarvon mittauksessa ja tehdä tulostasovertilu saaduista arvoista. Tulostasojen vertailu suoritetaan tilastotieteellisin menetelmin.

4.3 Opinnäytetyön eettiset lähtökohdat

Arvioidessa tutkimuksen mahdollisia haittoja ja riskejä, lähtökohtana ovat ihmistieteiden eettiset periaatteet esimerkiksi itsemääräämisoikeus, yksityisyys ja tietosuoja. Tutkimusnäytteet tulisi ottaa siten, että tutkittaville ei aiheudu

turhaa fyysistä kipua ja haittaa näytteenotosta. (Eriksson ym. 2012.) Tutkimusnäytteitä kerätessä tulee myös laatia suostumuslomake tutkittaville (Kuula 2011).

Tämän opinnäytetyön empiirisen osuuden aikana kerättiin ihopistos- ja laskimoverinäytteitä Turun ammattikorkeakoulun opiskelijoilta. Tutkimusnäytteenottoon osallistuvat allekirjoittivat suostumuslomakkeen ennen näytteiden ottoa. Suostumuslomakkeessa kerrottiin tutkimuksen periaatteista ja eettisistä lähtökohdista. Näytteet pyrittiin ottaamaan siten, osallistuvalla ei aiheudu turhaa fyysistä kipua tai haittaa näytteenotosta. Kaikki näytteet merkittiin ja analysoitiin juoksevin numeroin, eli henkilötietoja ei käytetty suostumuslomakkeen allekirjoituksen jälkeen missään tutkimuksen vaiheessa. Tutkimukseen osallistuneet saivat Reflotron® Plus- analysaattorin vastauksen välittömästi näytteenoton yhteydessä. Tämän ansiosta pystyimme käsittelemään näytteet juoksevin numeroin osallistujien yhteystietoja keräämättä.

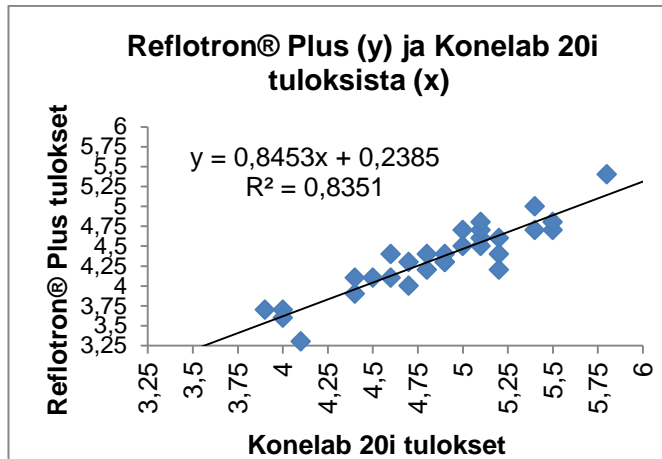
5 TUTKIMUKSEN TULOKSET

Tämän opinnäytetyön tarkoituksena oli tehdä Reflotron® Plus- vieritestilaitteen ja Konelab 20i- analysaattorin välinen laitevertailu kokonaiskolesteroliarvon mittauksesta. Tulokset syötettiin taulukkomuotoon Excel-ohjelmaan ja niitä käsiteltiin tilastotieteellisin menetelmin. Ensimmäiseksi tulosten välistä riippuvuutta lähdettiin selvitetään tutkimalla arvojen välisiä yhteyksiä.

Tulosten lineaarista riippuvuutta ja voimakkuutta voidaan tarkastella laskemalla Pearsonin korrelaatiokerroin. Korrelaatiokerroimen (R) vaihteluväli on arvojen +1:n ja -1:n välillä. Kerroin kuvaa, miten hyvin tuloksista muodostuvat arvoparit eli kuvaajan pisteet osuvat samalle suoralle. Kun kerroin osuu lähelle +1, on muuttujien välinen korrelaatio positiivinen ja voimakas, eli toisen arvon kasvaessa toinenkin kasvaa. Kun kerroin osuu lähelle -1, on muuttujien välillä voimakas negatiivinen korrelaatio, jolloin toisen arvon kasvaessa toinen pienenee. Jos kerroin taas on lähellä arvoa 0, ei lineaarista riippuvuutta ole. SPSS-ohjelman avulla voidaan laskea korrelaation p-arvo, joka kertoo sen tilastollisesta merkitsevyydestä. (Heikkilä 2008; Holopainen & Pulkkinen 2008.)

Reflotron® Plus- vieritestilaitteen ja Konelab 20i – analysaattorin välisen laitevertailun korrelaatio laskettiin Excel- ohjelman avulla. Tulosten välinen korrelaatio on $r=0,914$. Korrelaatio tulosten välillä on positiivinen ja voimakas. Tämä tarkoittaa, että Konelab 20i- analysaattorin tuloksen kasvaessa Reflotron® Plus- vieritestilaitteen tulos kasvaa myös, eli arvojen välillä on lineaarinen riippuvuus.

Regressiosuoralla voidaan selittää toisen muuttujan (y) käyttäytymistä toisen muuttujan (x) avulla ja todentaa mahdollista lineaarista riippuvuutta. R^2 – arvolla tarkoitetaan tulosten välistä selityssastetta. Selityssaste kertoo miten hyvin muuttujan (y) vaihtelu selittyy muuttujan (x) arvon perusteella. (Heikkilä 2008.)



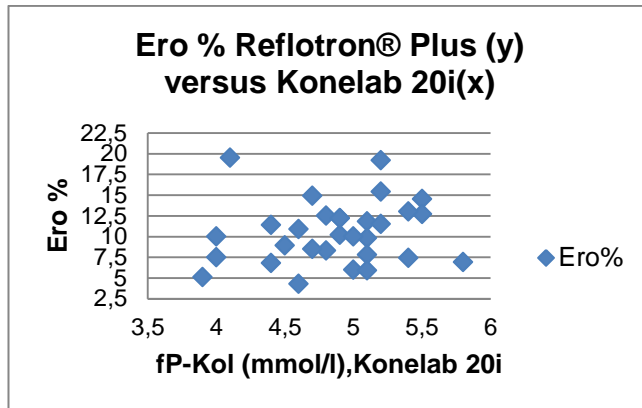
Kuva 2. Tulostasovertailun tulokset

Reflotron® Plus (y) ja Konelab 20i (x)					
Analyytti	n	Regressiosuoran yhtälö	R	R ²	P
Tulokset	30	$y = 0,8453x + 0,2385$	0,914	0,835	0.000

Kuva 3. Reflotron® Plus- vieritestilaitteen ja Konelab 20i- analysaattorin korrelaatio

Kuvan 2 regressiosuora kertoo vieritestilaitteen ja analysaattorin välisten tulosten korrelaatiokertoimen tavoin tulosten lineaarisesta riippuvuudesta. Muuttuja parit osuvat kaikki regressiosuoran tuntumaan. Kuvan 3 korrelaation selitysaste $r^2 = 0,835$ kertoo, että vieritestilaitteen antamien tulosten muutokset selittävät 84% analysaattorin antamien tulosten muutoksista. Korrelaation tilastollinen merkitsevyydeksi laskettiin $p=0.000$. P-arvon perusteella korrelaation tulos on tilastollisesti merkitsevä. Hajontakaaviossa olevan regressiosuoran perusteella pystytään myös toteamaan lineaarinen riippuvuus tulosten välillä.

Muuttujaparin välillä tehtiin myös t-testi SPSS -ohjelman avulla ja määritettiin p-arvo, joksi saatiin $p=0.000$. Sen perusteella pystytään sanomaan, että muuttujaparien tulosten väliset erot ovat tilastollisesti merkitseviä. Laitteiden antamien tulosten välisistä poikkeamista laskettiin eroprosentit ja tehtiin sirontakuvi Excel -ohjelman avulla.



Kuva 4. Reflotron® plus antamien vastausten ero % Konelab 20i vastauksiin nähden.

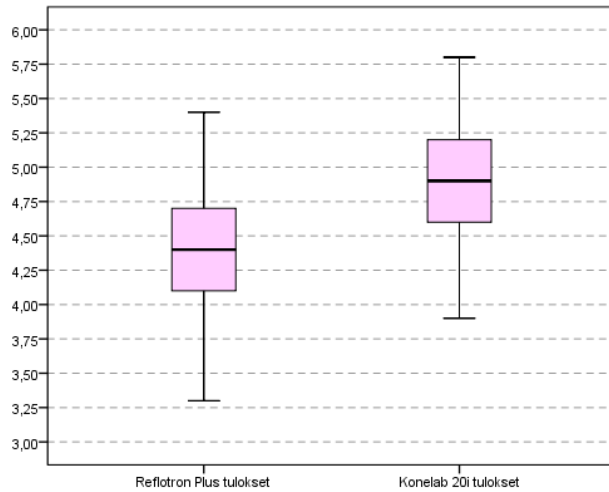
Kuvan 4 Reflotron® Plus- vieritestilaitteen antamat tulokset ovat 4,3-19,5 % Konelab 20i- analysaattorin antamia tuloksia matalammat. Tulokset eroavat keskimääräisesti 10,5 % toisistaan. Ero %- kuvaajan perusteella pystytään toteamaan, että tulokset eroavat toisistaan tasaisesti, eikä kokonaiskolesteroliarvon suuruudella ole yhtäläisyyttä ero %:n kanssa. Lineaarista riippuvuutta ei pystytä toteamaan. Tämän lisäksi laskettiin Reflotron® Plus- vieritestilaitteen ja Konelab 20i- analysaattorin ja niiden tulosten välisistä eroista laskettiin perustunnusluvut Excel -ohjelman avulla.

Tärkeimpiä tunnuslukuja ovat keskiarvo, mediaani, moodi, vaihteluväli, minimi sekä maksimi. Muuttujien määrän ollessa suuri voidaan keskiarvoa pitää vakaana suureena. Mediaani kertoo suuruusjärjestykseen asetetuista muuttujista keskimmäisen arvon. Moodi taas kertoo yleisimmin esiintyvän arvon. Vaihteluväli kuvaa väliä jolle muuttujat asettuvat. (Heikkilä 2008.)

	Reflotron® Plus tulokset	Konelab 20i tulokset	Erot Reflotron®Plus ja Konelab 20i tulosten välillä
Keskiarvo	4,3	4,86	0,51
Mediaani	4,4	4,9	0,5
Moodi	4,4	5,1	0,5
Vaihteluvälin pituus	2,1	1,9	0,8
Minimi	3,3	3,9	0,2
Maksimi	5,4	5,8	1
Yht.	30	30	30

Kuva 5. Konelab 20i- analysaattorin ja Reflotron® Plus- vieritestilaitteen tulokset ja tulosten erot.

Reflotron® Plus- vieritestilaitteen ja Konelab 20i –analysaattorin antamat tulokset eroavat toisistaan, kuten kuvasta 5 ilmenee. Vieritestilaitteen tulokset vaihtelevat välillä 3,3-5,4 mmol/l ja analysaattorin välillä 3,9-5,8 mmol/l. Tulosten erojen välinen keskiarvo on 0,5 mmol/l. Tulosta voidaan suuren näytemäärän (n=30) perusteella pitää vakaana arvona. Vaihteluvälin pituus (minimi-maksimi) on suhteellisen pieni eli 0,8 mmol/l. Mediaani osuu myös arvoon 0,5 mmol/l ja yleisimmin analysaattorien antamien tulosten ero on 0,5 mmol/l. Näiden arvojen perusteella pystytään toteamaan, että Reflotron® Plus ja Konelab 20i –analysaattorien antamien tulosten keskimääräinen ero on 0,5 mmol/l.



Kuva 6. Konelab 20i ja Reflotron® Plus – analysaattorien vastaukset.

Kuvassa 6 olevat neliöt kertovat välin, johon 50 % tuloksista sijoittui: Reflotron® Plus- vieritestilaitteen tuloksen noin välille 4,1- 4,7 mmol/l ja Konelab 20i-analysaattorin tulokset noin välille 4,6-5,2 mmol/l. Musta vaakaviiva neliöiden sisällä kertoo tulosten keskiarvon. Reflotron® Plus tulosten keskiarvo on 4,4mmol/l ja analysaattorin tulosten keskiarvo on 20i: 4,9mmol/l. Myös tämän kuvaajan perusteella pystytään toteamaan, että Reflotron® Plus antaa matalampia tuloksia kuin Konelab 20i.

6 TULOSTEN TARKASTELU JA LUOTETTAVUUS

6.1 Tulosten tarkastelu

Tämän opinnäytetyön tavoitteena oli vertailla Turun ammattikorkeakoulun Reflotron® Plus–vieritestianalysaattorin ja Konelab 20i–automaattianalysaattorin välistä tulostasoa kokonaiskolesteroliarvoista. Vieritestianalysaattorilla tulisi saada luotettavasti automaattianalysaattorin antamia tuloksia vastaavia arvoja.

Reflotron® Plus- vieritestilaitteen ja Konelab 20i-analysaattorien väliset tulokset olivat tilastollisesti merkitseviä ja korreloivat voimakkaasti ($r=0,914$). Vieritestilaitte antoi keskimäärin 0,5mmol/l pienemmän tuloksen kuin analysaattori. Todennäköisenä syynä eroille on menetelmäerot. Myös näytemateriaali on saattanut vaikuttaa eroihin. Reflotron® Plus- analysaattori mittasi kokonaiskolesteroliarvon ihopistosnäytteestä, joka otettiin heparinisoituun kapillaariin ja plasman erottelu tapahtuu vasta kokonaiskolesteroli reagenssiliuskalla. Konelab 20i – analysaattori analysoi kokonaiskolesteroliarvon laskimoverinäytteestä erotellusta litium-hepariini plasmasta.

Vastaavaa tutkimusta kokonaiskolesteroliarvon mittauksesta vieritestianalysaattorilla ja automaattianalysaattorilla ei löydy. Kuitenkin vieritestianalysaattorien ja automaattianalysaattorien välisistä vertailuista löytyi aikaisempia tutkimuksia, kuten tässä opinnäytetyössä referoitu tutkimus i-STAT-vieritestilaitteen ja Roche Modular P800- automaattianalysaattorin tulostasojen vertailusta. Kuten aikaisemmassa tutkimuksessa i-STAT- vieritestianalysaattorin ja Roche Modular P800- automaattianalysaattorin tulokset korreloivat voimakkaasti.

Vieritestilaitteen ja analysaattorin tulostasojen vertailussa tutkittuja analyyttejä oli enemmän ja ne korreloivat välillä 0.88-1.00. Erot vieritestilaitteen ja analysaattorin välillä eri tutkimuksista vaihtelivat keskimäärin 1,8 % ja -8,0 %

välillä. (Leino & Kurvinen 2011.) Reflotron® Plus- vieritestilaitteen ja Konelab 20i- analysaattorien antamat tulokset vaihtelivat keskimäärin 10,5 % ja tuloksien välisten erojen korrelaatio oli 0,914. Tulokset vastaavassa vertailussa ovat samankaltaisia, kuitenkin erojen syyksi siinä pohdittiin menetelmäeroa. Jos Reflotron® Plus- vieritestilaitteella ja Konelab 20i- analysaattorilla tehtäisiin myös laitevertailu, jossa vieritestilaitteella analysoitaisiin samaa laskimoverinäytettä kuin analysaattorilla saataisiin vastaus kysymykseen onko kyse menetelmäerojen aiheuttamista mittauseroista vai näytemateriaalista.

Vaikka Reflotron® Plus antaa matalampia tuloksia niiden erot eivät kuitenkaan ole kovinkaan merkitseviä. Erot olivat keskimäärin 0,5 mmol/l, eikä näin pieni ero ole merkittävä potilaan terveyden tai hoidon kannalta.

Tämän opinnäytetyön tulosten luotettavuus on varmistettu huolellisilla työtavoilla, noudattaen laitevalmistajien työohjeita sekä pitämällä laboratoriapäiväkirjaa kaikista työvaiheista. Laskimoverinäytteet tätä opinnäytetyötä varten otettiin ja käsiteltiin näytteenotto-ohjeiden mukaisesti, joiden laatimiseen käytettiin TYKSLAB -tutkimusohjekirjan ohjeistusta. Ihopistosnäytteenotossa käytimme ohjeena Kliiniset laboratorionäytteet – opas näytteiden ottoa varten - kirjaa ja Labqualityn vieritestausjulkaisua Moodista 6/2009. Tutkimusnäytteiden eettisyys varmistettiin ottamalla näytteet ja käsittelemällä niitä eettisiä lähtökohtia kunnioittaen.

Konelab 20i – analysaattorin tulosten luotettavuus varmistettiin ottamalla uudet reagenssit käyttöön sekä kalibroimalla ja kontrolloimalla kokonaiskolesterolitutkimus ennen laskimoverinäytteiden ajoa. Näytteet käsiteltiin huolellisesti pakastuksen jälkeen. Kaikista näytteistä ajettiin myös rinnakkaisajo. Tulokset kirjattiin laboratoriapäiväkirjaan ja Excel -taulukoon sekä otimme analysaattorin tulosteet, joista tarkistimme vastaukset vielä ennen analysointia.

Reflotron® plus – vieritestilaitteen tulosten luotettavuus varmistettiin tarkistamalla ensin mittausaallonpituudet laitevalmistajan Check -liuskillalla ja ajamalla laitevalmistajan Precinorm U- kontrollinäyte. Tulokset kirjattiin

laboratoriopäiväkirjaan ja Excel -taulukkoon sekä otimme analysaattorin tulosteet talteen. Tarkastimme tulosten kirjauksen analysaattoreiden tulosteista vastaukset vielä ennen analysointia.

Tutkimuslupa saatiin 2014 keväällä, jolloin raportin teoriaosuus oli lähes valmis. Tietoa haettiin laajasti ja lähteiden luotettavuudesta oltiin kriittisiä. Lähteenä käytettiin englannin- ja suomenkielistä lähdemateriaalia. Käytimme myös Labquality Oyn julkaisuja kirjallisessa ja empiirisessä osuuden toteutuksessa sekä tulosten analysoinnissa. Käytimme tietojen käsittelyyn Excel- ja SPSS – ohjelmia. Empiirinen osuus suoritettiin helmi-maaliskuun vaihteessa 2014.

Opinnäytetyön toteutus onnistui mielestämme hyvin. Saimme kerättyä tavoitteena olleen näytemäärän(n=30) sekä tulokset kaikista näytteistä ja tehtyä laitevertailun luotettavasti. Työmäärä jakautui tasaisesti kummallekin osapuolelle.

Jatkotutkimusaiheeksi ehdotamme laitevertailua Reflotron® Plus- vieritestilaitteen muista analyyteistä ja laitevertailua, jossa analyysit Reflotron® Plus- vieritestilaitteella tehdään myös laskimoverinäytteistä. Mielestämme voisi myös tutkia miten luotettavasti Reflotron® Plus- vieritestilaitte mittaa korkeita tai matalia arvoja eri analyyteistä.

LÄHTEET

Aro, A. 2013. 100 kysymystä ravinnosta. Duodecim. Viitattu 20.9.2013. http://www.terveyskirjasto.fi/terveyskirjasto/tk.koti?p_artikkeli=skr00048

Eriksson, K.; Isola, A.; Kyngäs, H.; Leino-Kilpi, H. 2012. Hoitotiede. 4., uudistettu painos. Helsinki: Sanoma Pro.

Heikkilä, T. 2008. Tilastollinen tutkimus. 7. uudistettu painos. Helsinki: Edita Prima Oy.

Hirsjärvi, S.; Remes, P. & Sajavaara, P. 2008. Tutki ja kirjoita. 13.-14., osin uudistettu painos. Helsinki: Tammi.

Holopainen, M. & Plukkinen, P. 2008. Tilastolliset menetelmät. 5-6.painos. Helsinki: WSOY.

Ilanne-Parikka, P.; Joutsu-Korhonen, L.; Jylhä A.; Lassila. R.; Linko, L.; Linko, S.; Linko-Parviainen A-M.; Meneses, E.; Muukkonen, L.; Nissinen, A.; Nokelainen, S.; Porkkala-Sarataho, E.; Puhakainen, E.; Savolainen E-R.; Siitonen, A.; Suni, J.; Vuento, R. & Åkerman, K. 2009. Vieritestaus terveydenhuollossa - Labqualityn asiantuntijasuositus. Moodi 6/2009, 33. vuosikerta. Helsinki: Yliopistopaino.

Karselis, T.C. 1994. The Pocket Guide to Clinical Laboratory Instrumentation. Canada: F. A. Davis Company.

Konelab 20i. Kokonaiskolesteroliarvon testin määrittely.

Kovanen, P.; Pentikäinen, M. & Viikari, J. 2013. Artikkelin Lipoproteiinit ja niiden aineenvaihdunta. Duodecim: Artikkelin tunnus: enk00275(020.003). Viitattu 13.2.2014. http://www.terveysportti.fi/dtk/oppi/koti?p_artikkeli=end02001&p_haku=lipidit

Kuula, A. 2011. Tutkimusetiikka – Aineistojen hankinta, käyttö ja säilytys. Jyväskylä: VASTAPAINO.

Lehmann, C.; Leiken, A. & Ward, K. 1994. Clinical Laboratory Instrumentation and Automation – Principles, Applications and selection. United states of America: W.B. Saunders Company.

Lehto, L.; Rautajoki, A. & Tuokko, S. 2008. Kliiniset laboratorionäytteet – opas näytteiden ottoa varten. Helsinki: Tammi.

Leino, A. & Kurvinen, K. 2011. i-STAT –vieritestianalysointilaitteen Na-, K-, GLUK-, KREA- ja UREA-tutkimusten tulostasojen vertailtavuus Roche Modular P800 –automaattianalysointilaitteeseen. KLIINLAB 5/2011.

Mäkinen, N. & Strengell, M. 2013. Opinnäytetyö: Tulostasovertilu Konelab 20i ja Konelab 20XTi välillä. Turun Ammattikorkeakoulu. Viitattu 27.9.2013. http://publications.theseus.fi/bitstream/handle/10024/57059/Tulostasovertilu_Konelab_20i_ja_20XTi.pdf?sequence=1

Mäkijärvi, M.; Kettunen, R.; Kivelä, A.; Parikka, H. & Yli-Mäyry S. 2011. Sydänsairaudet. 2., uudistettupainos. 229-245. Helsinki: Duodecim.

Ng, R.; Sparks, K. & Statland, B. 1991. Direct Measurement of High-Density Lipoprotein Cholesterol by the Reflotron Assay with No Manual Precipitation Step. 435-437. Clinical Chemistry 37/3.

- Niemelä, O. & Pulkki, K. 2010. Laboratoriolääketiede – Kliininen kemia ja hematologia. 3. uudistettu painos. Helsinki: Kandidaattikustannus Oy.
- Niemelä, O. & Vilpo, J. 2003. Laboratoriolääketiede – Kliininen kemia ja hematologia. Jyväskylä: Kandidaattikustannus Oy.
- Paunonen, M. & Vehviläinen-Julkunen, K. 1998. Hoitotieteen tutkimusmetodiikka. Juva: WSOY.
- Halonen, T.; Hänninen, A.; Katila, M-L.; Laatikainen, A.; Laitinen, M.; Länsimies, E.; Mahlamäki, E.; Penttilä, I.; Tapola, H. & Vanninen, E. 2004. Kliiniset Laboratoriotutkimukset. Porvoo: WSOY.
- Roche. 2007. Reflotron® Plus Operator's Manual. Helsinki: Mediq.
- Roche Diagnostics. 2010. Reflorton® Cholesterol. Germany: Roche.
- Thermo Scientific. 2008. Technical Specifications Konelab 20. Viitattu 13.2.2014. http://www.thermo.com/eThermo/CMA/PDFs/Product/productPDF_27380.pdf
- Thermo Scientific. . Konelab/ T Series Manuals & Applications and Inserts CD.
- Tilastokeskus. 2011. 2. Sepelvaltimotauti aiheuttaa useamman kuin joka viidennen ku.oleman. Viitattu 12.2.2014. http://www.stat.fi/til/ksyyt/2011/ksyyt_2011_2012-12-21_kat_002_fi.html
- Tykslab. 2012. Tutkimusohjekirja – fP-Kol. Viitattu 6.2.2014. <http://webohjekirja.mylabservices.fi/TYKS/4515.html>

