

Opinnäytetyö (AMK)

Bioanalytikkokoulutus

NBIOAS13

20.03.2017

Mira Saarinen & Heidi Virtanen

# RAUTA-AINEENVAIHDUNNAN TUTKIMUSTEN VALIDOINTI

Konelab 20XTi- ja Cobas e411- analysaattoreille

Mira Saarinen & Heidi Virtanen

# RAUTA-AINEENVAIHDUNNAN TUTKIMUSTEN VALIDOINTI

- Konelab 20XTi- ja Cobas e411 - analysaattorille

Rauta-aineenvaihdunnan tutkimukset rauta (fP-Fe) ja ferritiini (P-Ferriit) ovat yleisiä käytössä olevia rautamäärityksiä. Rauta on ihmisen elimistölle tärkeä hivenaine. Raudanpuute on yleisin anemian aiheuttaja.

Tämän opinnäytetyön tarkoituksena oli validoida Turun ammattikorkeakoulun bioanalytiikkokoulutuksen Konelab 20XTi- analysaattorin tutkimus rauta ja Cobas e411- analysaattorin tutkimus ferritiini. Validoinnin avulla varmistetaan, että menetelmä antaa täsmäviä ja toistettavia tuloksia. Validointi suoritettiin analysoimalla Tykslabin päiviystys- ja automaatiolaboratorion aiemmin analysoimilla laskimoverinäytteillä. Näytteistä tehtiin rinnakkaisajot opetuslaboratorion analysaattoreilla, joiden tuloksia vertailtiin sisäisen toistettavuuden varmistamiseksi. Opetuslaboratorion analysaattoreilla saatuja tuloksia verrattiin Tykslabin saamiin tuloksiin, jotta saatiin selville tulostasojen vastaavuus.

Tulosten tarkastelussa todettiin analysaattoreiden rinnakkaisajojen tulosten korreloivan vahvasti keskenään ja tarkemman tarkastelun avulla todettiin muutamat havaitut erot pieniksi ja merkityksettömiksi. Tutkimuksen fP-Fe kohdalla jatketaan rinnakkaisajojen täsmävyiden tarkastelua.

Tutkimuksessa voidaan todeta, että Konelab 20XTi- ja Cobas e411- analysaattorin sisäinen toistettavuus on hyvä ja tulostaso vertailu Cobas c502- ja Cobas e602- analysaattorin kanssa oli vastaava. Tutkimustulosten mukaan Turun ammattikorkeakoulu voi ottaa Tykslabin kanssa yhtenevät viitearvot käyttöön tutkimuksissa fP-Fe ja P-Ferriit.

## ASIASANAT:

Ferritiini  
Rauta  
Validointi

Mira Saarinen & Heidi Virtanen

## VALIDATION OF IRON METABOLISM ASSAYS

Konelab 20XTi- and Cobas e411- analyzers

Iron metabolism assays iron and ferritin are usually used iron assays. Iron is important trace substance for human body. Iron deficiency is most common cause of anemia

The purpose of this thesis was to validate iron and ferritin assays of the Cobas e411- and Konelab 20XTi analyzers of Turku University of Applied Sciences. With validation it can be ensured that the assays give repeatable and precise results. The validation was performed by analyzing iron tests with Konelab 20XTi analyzer from blood samples (n=22) that had already been analyzed by Tykslab's Cobas c502 analyzer and analyzing ferritin tests with Cobas e411 analyzer from blood samples (n=26) that had already been analyzed by Tykslab's Cobas e602 analyzer. To test the Konelab 20XTi- and Cobas e411 analyzers inner repeatability parallel measurements from the samples were made and compared with each other. The results from Konelab 20XTi- and Cobas c502- analyzers were compared to each other to examine correspond between the analyzers. The results from Cobas e411- and Cobas e602- analyzers were compared to each other to examine correspond between the analyzers.

Statistical analysis of the results showed that the parallel iron measurements with Konelab 20XTi analyzer and ferritin measurements with Cobas e411 analyzer responded well and they had high correlation with each other. The results correlated well with each other and more detailed analyze of the results showed that the differences between the analyzers were small. With analyzer Konelab 20XTi will continue testing the inner repeatability.

The results showed that the inner repeatability of the Konelab 20XTi- and Cobas e411 analyzers was good since the parallel measurements corresponded well with each other. The correspond between Konelab 20XTi and Cobas c502 analyzers and Cobas e411 and Cobas e602 analyzers can also be considered good as the differences between the results turned out to be small. Thus, the Turku University of Applied Sciences can start to use Tykslab's reference values of iron and ferritin assays.

### KEYWORDS:

Ferritin  
Iron  
Validation

# SISÄLTÖ

<b>1 JOHDANTO</b>	<b>6</b>
<b>2 RAUTA-AINEENVAIHDUNNAN TUTKIMUSTEN VALIDOINTI</b>	<b>7</b>
2.1 Rautamääritykset	7
2.1.1 Rauta (fP-Fe)	<b>Virhe. Kirjanmerkkiä ei ole määritetty.</b>
2.1.2 Konelab 20XTi ja Cobas c 502	8
2.1.3 Ferritiini (P-Ferriit)	9
2.1.4 Cobas e 411 ja Cobas e 602	10
2.2 Validointi	11
<b>3 TUTKIMUKSEN TARKOITUS, TAVOITTEET JA TEHTÄVÄT</b>	<b>12</b>
<b>4 OPINNÄYTETYÖN TOTEUTUS</b>	<b>13</b>
4.1 Tulosten tilastollinen tarkasteleminen	14
4.2 Opinnäytetyön metodologiset lähtökohdat	15
4.3 Opinnäytetyön eettiset lähtökohdat	16
<b>5 TUTKIMUSTULOKSET JA NIIDEN TARKASTELU</b>	<b>18</b>
5.1 Konelab 20XTi- analysaattorin sisäinen toistettavuus ja tulostason vertailu	18
5.2 Cobas e411- analysaattorin sisäinen toistettavuus ja tulostason vertailu	22
<b>6 POHDINTA</b>	<b>26</b>
<b>LÄHTEET</b>	<b>29</b>

## LIITTEET

- Liite 1. Validointisuunnitelma.
- Liite 2. Näyteiden tulokset

## KUVIOT

Kuvio 1. Konelab 20Xti- analysaattorin fP-Fe rinnakkaisajot .....	19
Kuvio 2. Konelab 20Xti- ja Cobas c502- analysaattorien fP-Fe tulosvertailu .....	21
Kuvio 3. Cobas e411- analysaattorin P-Ferrit rinnakkaisajot .....	23
Kuvio 4. Cobas e411- ja Cobas c602- analysaattorien P-Ferrit tulosvertailu .....	25

## TAULUKOT

Taulukko 1. Konelab 20 Xti-analysaattorin fP-Fe rinnakkaisajojen tunnusluvut .....	18
Taulukko 2. fP- Fe määrityksien tunnusluvut.....	20
Taulukko 3. Cobas e411- analysaattorin P-Ferrit rinnakkaisajojen tunnusluvut.....	22
Taulukko 4. P-Ferrit määrityksien tunnusluvut .....	24

# 1 JOHDANTO

Rauta on ihmiselle elintärkeä hivenaine ja sitä tarvitaan ennen kaikkea veren punasoluissa olevan hemoglobiinin valmistamiseen. Aikuisessa ihmisessä rautaa on noin 1.5-3 grammaa sukupuolesta riippuen. Raudanpuute on ihmisen yleisin anemian aiheuttaja. Raudanpuute johtuu veren menetyksestä, naisilla se saattaa johtua runsaista kuukautisista, mutta myös useat sisäiset verenvuototilat saattavat aiheuttaa raudanpuutoksen. Raudanpuutteen syy tulee aina selvittää ja se voidaan todeta laboratorion kokeilla tutkimalla veriplasmasta ferritiini-arvo eli raudan varastoproteiinin tai transferiini reseptorin pitoisuus eli raudan kuljetusvalkuaisen vastaanottajamolekyylä. (Terveyskirjasto, 2014.)

Turun ammattikorkeakoulun bioanalytikkokoulutuksen opetuslaboratoriossa Konelab 20XTi- sekä Cobas e411-analysaattoreiden tutkimusvalikoimiin otetaan uusina tutkimuksina rauta-aineenvaihdunnan tutkimukset rauta (fP-Fe) ja ferritiini (P-Ferritin). Tämän opinnäytetyön tarkoituksena on kyseisten rauta-aineenvaihduntatutkimusten ferritiinin sekä raudan validointi Turun ammattikorkeakoulun bioanalytikkokoulutuksen Konelab 20XTi- ja Cobas e411- analysaattoreille. Validoinnilla selvitetään menetelmän kykyä tuottaa oikeita tuloksia (Hiltunen ym. 2011; Jaarinen & Niiranen 2015). Validointi on välttämätön, jotta analyysistä saadut tulokset olisivat luotettavia (Matveinen ym. 2005). Validointi suoritetaan Tykslabin päivystys- ja automaatiolaboratoriosta saatavilla jo analysoiduilla laskimoverinäytteillä. Bioanalytikkokoulutuksen analysaattoreilla saatuja mittaustuloksia verrataan Tykslabin samoista näytteistä saatuihin mittaustuloksiin. Mikäli Konelab 20XTi- sekä Cobas e411- analysaattoreilla saadut tulokset ovat Tykslabin mittaustuloksien kanssa yhtenevät, voidaan bioanalytikkokoulutuksessa ottaa käyttöön Tykslabin kanssa yhteiset viitearvot. Tämän opinnäytetyön tavoitteena on varmistaa rauta- ja ferritiinimääritysten luotettavuus ja laajentaa opetuslaboratorion tutkimusvalikoimaa rauta-aineenvaihduntatutkimuksilla kevään 2017 aikana.

## 2 RAUTA-AINEENVAIHDUNNAN TUTKIMUSTEN VALIDOINTI

### 2.1 Rautamääritykset

#### 2.1.1 Rauta (fP-Fe)

Elimistö käyttää rautaa veren punasoluissa olevan hemoglobiinin valmistamiseen. Naisilla on rautaa elimistössään normaalisti noin 1,5 grammaa, kun taas miehillä noin 3 grammaa. Jos elimistössä on rautaa vähän pienenee punasolujen koko, jolloin veren MCV-arvo laskee. Tällaista tilaa kutsutaan raudanpuuteanemiaksi. (Terveyskirjasto 2014.)

Elimistön raudan määrästä kertoo tutkimus fP-Fe. Veren rautapitoisuus laskee runsaan verenvuodon jälkeen, jolloin elimistö alkaa tuottamaan normaalia enemmän punasoluja. Tämän lisäksi hoidettaessa megaloblastista anemias rautapitoisuus laskee. Muita vaikuttavia tekijöitä veren rautamäärään ovat mm. ravinnosta saadun raudan määrä ja laatu, raudan imeytyminen elimistöön, varastoituminen maksaan, pernaan ja luuytimeen ja niistä vapautuminen sekä hemoglobiinin muodostumisen ja hajoamisen tasapaino. Vuorokausivaihtelulla on suuri merkitys raudan määrään veressä. Veren rautapitoisuus on aamuyöstä matalimmillaan. Aamupäivän aikana pitoisuus voi nousta jopa 50-60 prosentilla, jonka jälkeen se lähtee taas laskuun. (Tykslab 2014a.)

Raudanpuuteanemiassa elimistön rautapitoisuus laskee eli myös fP-Fe tutkimuksen tulos on alhainen. Tästä huolimatta tätä tutkimusta käytetään kuitenkin lähinnä epäiltäessä rautamyrkytystä. (Huslab 2016.) Rautamyrkytys on melko harvinainen tila, koska elimistö säätelee ruuansulatuskanavassa raudan imeytymistä. Eniten rautamyrkytystä esiintyy lapsilla, jotka ovat ottaneet vanhempiansa rautatabletteja yliannostuksen tai aikuisilla, jotka ovat tahattomasti saaneet elimistönsä liikaa rautaa. Rautamyrkytyksen oireita ovat: oksentelu, ripuli, vatsakipu ja verinen uloste tai oksennus. Epäiltäessä rautamyrkytystä hoito pitäisi aloittaa välittömästi yleensä jo ennen verinäytteen tuloksia. (WebMD 2016.) Rautamäärityksen viitearvot ovat aikuisilla 9-34  $\mu\text{mol/l}$  (Tykslab 2014a).

Killip, Bennett & Chambers laativat yhdessä vuonna 2007 julkaistun kirjallisuuskatsauksen, jossa selvitettiin 43 julkaisun avulla raudanpuuteanemiaa, sen diagnosointia ja yleistä hoitoa. Katsauksen lopputuloksena oli, että raudanpuuteanemia on yleisin ravitsemuksellinen puutos maailmanlaajuisesti. Se voi aiheuttaa esimerkiksi alentunutta työkykyä aikuisilla. Lapsilla ja nuorilla on suuri mahdollisuus, että motorinen ja henkinen kehitys voi vaikeutua.

### 2.1.2 Konelab 20XTi ja Cobas c502

Tykslabin päivystys- ja automaatiolaboratoriossa rautamääritys (fP-Fe) analysoidaan analysaattorilla Cobas c502. Analysaattori Cobas c502 on osa Cobas 8000 modulaarisarjaa, jossa se toimii kliinisen kemian analysaattorina. Se pystyy analysoimaan jopa 600 näytettä tunnissa. Analysaattorin tutkimus valikoimaan kuuluu yli 70 tutkimusta mm. kaikki peruskemian tutkimukset. Cobas 8000 modulaarisarja on kehitetty suuriin laboratorioihin, joiden näytemäärä on monta tuhatta näytettä päivässä. (Roche 2016c.)

Kaikissa rautamäärityksissä on samat peruseriaatteet, joiden täytyy toteutua.  $\text{Fe}^{3+}$  ionit pitää erottaa transferriniin kompleksista hapon avulla.  $\text{Fe}^{3+}$  ionien pitää pelkistyä  $\text{Fe}^{2+}$  ioneiksi.  $\text{Fe}^{2+}$  ionit pitää saada reagoimaan siten, että aikaseksi saadaan värillinen kompleksi. Cobas c502 analysaattori käyttää rauta määrityksessä spektrofotometriasta mittaussuomenetelmää. Näytteeseen lisätään reagenssi 1, joka sisältää happoja, jolloin  $\text{Fe}^{3+}$  ionit erottuvat transferriniinistä. Lisätään reagenssi 2, joka sisältää hapetuksen estoainetta, jolloin  $\text{Fe}^{3+}$  ionit pelkistyvät  $\text{Fe}^{2+}$  ioneiksi. Reagenssi 2 sisältää myös FerroZineä, jonka kanssa  $\text{Fe}^{2+}$  reagoiessaan muodostaa värillisen kompleksin. Väriin vahvuus on suoraan verrannollinen raudan määrään näytteessä. Näytteinä voidaan käyttää seerumia tai litium-, ammonium- tai natriumhepariini plasmaa. Näytteet säilyvät viikon huoneenlämmössä, kolme viikkoa jääkaapissa ja useita vuosia pakkasessa. (Roche 2016d.)

Konelab 20XTi käyttää rautamääritykseen myös spektrofotometriasta menetelmää, jossa peruseriaate on täysin sama, kuin Cobas c502 analysaattorilla. Rauta erotetaan ensin kantaja proteiinista eli transferriniinistä. Tämän jälkeen se pelkistetään. Rauta muodostaa Ferene S reagenssin kanssa värillisen tuotteen, joka mitataan spektrofotometrisesti 600 nm. Väriin vahvuus on suoraan verrannollinen raudan määrään näytteessä. Näytteinä voidaan käyttää seerumia tai plasmaa. Plasmanäytteet säilyvät käyt-



tökelpoisina huoneenlämmössä 7 päivää, 3 viikkoa jääkaapissa ja tämän jälkeen vuosisia pakastettuna. (Thermo Science 2007.)

### 2.1.3 Ferritiini (P-Ferrit)

Ferritiini on raudan varastoproteiini. Se koostuu raudasta ja apoferritiinistä eli proteiinista, joka sitoo rautaa ja muodostaa näin ferritiiniä. Ferritiiniä esiintyy erityisesti maksassa, mutta myös muualla elimistössä. Ferritiinin pitoisuus on matala elimistön rautapitoisuuden ollessa normaalia pienempi. (Terveyskirjasto 2016.) Tutkimukset P-Ferrit ja transferrini-reseptori eli P-TfR antavat luotettavimman tuloksen diagnosoidessa raudanpuuteanemiaa (Huslab 2016). Ferritiini voi nousta tulehdustiloissa. Tästä syystä ferritiiniä ei voida käyttää raudanpuuteanemian diagnostiikassa, mikäli potilaalla on krooninen tulehdustila. (Terveyskirjasto 2016.)

Nykypäivänä on harvinaista, että raudanpuute johtuisi puutteellisesta ravinnosta. Helppoin raudanlähde ravinnossa on liha. Raudan imeytymistä elimistöön helpottaa C-vitamiini. Raudanpuutoksen syynä on melkein poikkeuksetta runsas verenvuoto mahalaukussa, suolistossa tai peräpukamista. Fertili-ikäisillä naisilla myös runsas kuukautisvuoto voi johtaa raudanpuutteeseen. Joissakin tapauksissa raudanpuutetta voi aiheuttaa myös keliakia tai jokin muu ravinnon imeytymiseen vaikuttava tila. Jos raudanpuuteanemia diagnosoidaan potilaalla, joka ei ole fertili-ässä oleva nainen suositeltavaa olisi tehdä mahalaukun ja suoliston täyhystys, jotta löydetään mahdollinen verenvuoto elimistössä. (Terveyskirjasto 2014.)

Hyvin korkeat arvot saattavat viitata esimerkiksi akuuttiin myeloiseen leukemiaan tai vaikeaan maksavaurioon. Matalat pitoisuudet viittaavat aina puutteellisiin rautavarastoihin. Viitealueella oleva tulos ei aina kuitenkaan sulje pois raudanpuutetta. Tykslabin viitearvot ferritiinille ovat naisilla 13-150µg/l, miehillä 30-400 µg/l ja 5-8 vuotiailla lapsilla 16-100µg/l. (Tykslab 2014b.) Raudanpuuteanemiassa elimistön ferritiini taso laskee ensimmäisenä jo ennen hemoglobiinin laskua. Jos kyseessä on sekundaarinen anemia ei ferritiini taso laske välttämättä ollenkaan vaan diagnoosi tehdään elimistön alentuneen rautapitoisuuden perusteella. (Huslab 2015.) Ferritiinitutkimuksen plasmanäytteet säilyvät huoneenlämmössä kaksi vuorokautta, jonka jälkeen viikon jääkaapissa. Näytteet säilyvät vuoden ajan pakastettuna ja ne voidaan pakastaa kahdesti (Roche 2016b).

#### 2.1.4 Cobas e411 ja Cobas e602

Tykslabin päivystys- ja automaatiolaboratoriossa ferritiinin (P-Ferrit) määrittämiseen käytetään analysaattoria Cobas e602. Opetuslaboratorion Cobas e411 on immunokemian analysaattori hieman pienemmän laboratorion tarpeisiin. Analysaattori pystyy analysoimaan 88 näytettä tunnissa. (Roche 2009.) Cobas e 602 on osa suurempaa Cobas 8000 modulaarisarjaa, joka on kehitetty suurien laboratorioden tarpeisiin. Cobase 602 toimii modulaarisarjan immunokemian analysaattorina. Analysaattori pystyy analysoimaan jopa 170 näytettä tunnissa. (Roche 2010.) Näillä molemmilla analysaattoreilla pystyy analysoimaan yli 80 erilaista tutkimusta mm. sydänmerkkiaineita, syöpämarkkereita ja luu merkkiaineita (Roche 2009; Roche 2010).

Molemmat analysaattorit käyttävät analysointimenetelmänä elektroluminesenssi menetelmiä. Elektroluminesenssimenetelmät takaavat laajan mittausalueen, erinomaisen mittaustarkkuuden ja nopean analysoinnin STAT-paikan näytteille. (Roche 2009; Roche 2016a.) Cobas e411 ja Cobas e602 -analysaattorit analysoivat P-Ferrit tutkimuksen samalla menetelmällä ja käyttämällä samoja reagensseja. Ferritiini analysoidaan sandwich-menetelmällä. Tässä menetelmässä näytteen antigeeniin sitoutuu rutenium leimattu vasta-aine ja biotiini leimattu vasta-aine. Tähän lisätään streptavidini leimattuja mikropartikkeleja. Näytteessä oleva antigeeni kiinnitetään mikropartikkeleihin streptavidini-biotiini sidoksella. Seos siirtyy mittauskammioon, jonka seinämiin mikropartikkelit kiinnittyvät magneettisesti. Tämän jälkeen kammioon lisätään procell liuosta, joka pesee pois sitoutumattomat immunokompleksit, jolloin jäljelle jäävät vain ne, joissa on näytteen antigeeni mukana. Kammioon kohdistetaan jännite, joka aktivoi ruteniumin, josta syntyy valoa. Tämä valo mitataan valomonistimella ja sen määrä on suoraan verrannollinen ferritiinin määrään näytteessä. (Roche 2016b.)

Näytteenä voidaan käyttää veren plasmaa tai seerumia. Plasmana voidaan käyttää litiumhepariini, K<sub>3</sub>-EDTA tai natriumhepariini -plasmaa. Myös sitraattiplasmaa voi käyttää, mutta se ei anna yhtä luotettavia tuloksia eikä säily yhtä hyvin. Näytteet säilyvät huoneenlämmössä vuorokauden, jonka jälkeen viikon jääkaapissa. Näytteet säilyvät vuoden ajan pakastettuna ja ne voidaan pakastaa kahdesti. (Roche 2016b.)

Opetuslaboratorion Cobas e411- analysaattoriin on validoitu vasta muutamia tutkimuksia. Vuonna 2016 Markkola validoi analysaattorille opinnäytetyönään PSA sekä vapaa PSA tutkimukset. Cobas e411 tuloksia verrattiin Tykslabin Cobas e602 analysaattorin

tuloksiin. Tutkimuksen seurauksena voitiin ottaa Tykslabin viitearvot käyttöön. Samana vuonna 2016 Kankare ja Toivonen validoivat analysaattorille B-12- ja D-vitamiinitutkimukset opinnäytetyönään. Tässä opinnäytetyössä käytettiin myös Cobas e602-analysaattorilla analysoituja näytteitä. Tutkimuksessa saatiin tuloksia, joiden perusteella opetuslaboratoriossa voitiin ottaa käyttöön Tykslabin viitearvot.

## 2.2 Validointi

Validoinnilla tarkoitetaan vertailtavan materiaalin avulla tehtävää tutkimusta, jossa selvitetään menetelmän kykyä tuottaa oikeita tuloksia. Validoinnista tulee laatia selvä validointiraportti, jossa tulee selvittää ainakin kyseisen validoinnin tavoite, tarkoitus ja saadut tulokset. (Hiltunen ym. 2011; Jaarinen & Niiranen 2015.) Validointi on välttämätön, jotta analyysistä saadut tulokset olisivat luotettavia (Matveinen ym. 2005). Laboratoriomäärittelyjen tulosten oikeellisuus voidaan todentaa osoittamalla, että kyseinen mittausjärjestelmä tuottaa haluttuja, oikeita tuloksia kyseisestä näytteestä. Jotta analyysitulosten laatuun voidaan luottaa, on toiminnan kaikkia osatekijöitä seurattava tarkasti. Näitä tekijöitä ovat näyte, analyysimenetelmä, mittalaite sekä mittaja ja ympäristö. Laadukkaat ja luotettavat tulokset saavutetaan oikeanlaisella ja harkitulla työskentelyllä ja etukäteen huolellisesti suunnitelluilla työvaiheilla. (Westgard 2003.)

Eräs usein käytetty menetelmä validoinnissa on tulosten vertailu. Tällöin mittalaitteet pidetään omissa laboratorioissaan ja molemmilla laitteilla määritetään samat näytteet, joiden tuloksia verrataan keskenään, jotta nähdään täsmäävätkö tulokset. Täsmävyys eli uusittavuus tarkoittaa tulosten yhtäpitävyyttä, kun sama mittasuure esimerkiksi sama näyte analysoidaan eri olosuhteissa eri laitteilla, mutta samalla menetelmällä. Laboratorion sisäistä uusittavuutta voidaan testata analysoimalla sama näyte monta kertaa uudelleen pitkän ajan sisällä. (Ehder ym. 2005.)

Yksi tärkeä osa validointia on menetelmän toistettavuuden tarkastelu. Toistettavuudella tarkoitetaan saman mittasuureen määrittämistä samoissa olosuhteissa, samalla laitteella ja saman henkilön suorittamana useita kertoja peräkkäin. Määrittäminen on tärkeää tehdä lyhyen aikavälin sisällä, jotta olosuhteet pysyvät varmasti samoina esim. lämpötila. Toistettavuuden varmistamiseen ei riitä yhden näytteen määrittäminen, vaan näytteitä täytyy olla monia eri pitoisia, jotta voidaan olla varmoja toistettavuudesta koko mittausalueella. (Ehder ym. 2005.)

### 3 TUTKIMUKSEN TARKOITUS, TAVOITTEET JA TEHTÄVÄT

Tämän opinnäytetyön tarkoituksena on validoida rauta-aineenvaihduntatutkimukset fP-Fe Konelab 20XTi- analysaattorille sekä P-Ferrit Cobas e411- analysaattorille. Validoinnin tarkoitus on olla luotettava osoitus siitä, että analysaattorilla voi suorittaa kyseessä olevia tutkimuksia. Validoinnin avulla varmistetaan, että kyseiset määrytykset ovat toistettavia analysaattoreilla ja selvitetään vastaavatko saadut tulokset Tykslabin analysaattorien antamia tuloksia. Jos tulokset vastaavat Tykslabin tuloksia voidaan opetuslaboratoriossa ottaa käyttöön Tykslabin kanssa yhteiset viitearvot. Validoinnin tavoitteena on osoittaa, että laite on luotettava ja sen kanssa saa toistettavia tuloksia. Tämän opinnäytetyön tavoitteena on rautamäärytysten ottaminen opetuslaboratorion tutkimusvalikoimiin, tällöin opetuslaboratorion käytössä oleva tutkimusvalikoima on entistä laajempi.

#### Tutkimusongelmat

1. Ovatko Konelab 20XTi- analysaattorin fP-Fe tulokset keskenään toistettavia?
2. Onko Konelab 20XTi- analysaattorin ja Tykslab osaston 930 päivystys- ja automaatiolaboratorion Cobas c502- analysaattorin tulokset keskenään täsmäviä määrytyksen fP-Fe kohdalla?
3. Ovatko Cobas e411-analysaattorin P-Ferrit tulokset keskenään toistettavia?
4. Onko Cobas e411- analysaattorin ja Tykslab osaston 930 päivystys- ja automaatiolaboratorion Cobas e602- analysaattorin tulokset keskenään täsmäviä määrytyksen P-Ferrit kohdalla?

## 4 OPINNÄYTETYÖN TOTEUTUS

Tämä opinnäytetyö toteutettiin lukuvuoden 2016-2017 aikana. Lopullinen opinnäytetyö sekä validoinnin tulokset julkaistiin alkukevällä 2017. Lähdemateriaalien hankinta ja teoreettisen osuuden työstäminen sekä tutkimussuunnitelma aloitettiin heti syksyllä 2016. Validointia varten laadittiin validointisuunnitelma, joka liitettiin tutkimuslupahakemukseen sekä opinnäytetyöhön (Liite1). Toimeksiantosopimus opinnäytetyölle tehtiin Turun ammattikorkeakoulun kanssa marraskuussa 2016. Opinnäytetyössä käytettävä tutkimusaineisto koostui laskimoverinäytteistä (n=48), jotka saatiin Tykslabin päivystys- ja automaatiolaboratoriosta. Näytteet oli kerätty noutoa edellisena päivänä, joten näytteitä oli säilytetty ohjeen mukaisesti huoneenlämmössä vuorokauden. Näytteiden noudosta oli sovittu osaston kemistin kanssa etukäteen sähköpostitse. Näytteistä 22 oli rauta määräyksiä ja 26 ferritiini määräyksiä. Ferritiini määräyksistä vertailuun otettiin vain 24 näytettä, sillä kaksi näytettä antoi korkeat vastaukset ja näitä ei laimennettu, joten näistä näytteistä ei saatu numeerista tulosta. Laskimoverinäytteiden rauta ja ferritiini pitoisuudet oli jo määritetty päivystys- ja automaatiolaboratorion toimesta ja nämä tulokset kirjattiin ylös ennen validointia.

Laskimoverinäytteet analysoitiin Turun ammattikorkeakoulun opetuslaboratoriossa analyysointilaitteilla Konelab 20XTi ja Cobas e411 näytteiden noutopäivänä joulukuussa 2016. Ennen validointipäivää oli molemmille analyysointilaitteille kalibroitu tutkimukset. Lisäksi analyysointilaitteilla ajettiin Labquality Oy:n ulkoiset laadunarviointinäytteet. Cobas e411-analyysointilaitteilla toimii odotusten mukaisesti ja laaduntarkkailusta saadut tulokset olivat tavoitteiden mukaiset. Konelab 20XTi-analyysointilaitteilla laadunarviointinäytteiden kohdalla keskenään eriäviä tuloksia, eikä vastauksia voitu pitää luotettavina. Tulosten eriävyyden syyksi epäiltiin reagenssin liuotusta. P-Fe tutkimus kalibroitiin uudelleen analyysointilaitteille uudella reagenssilla viikko ennen varsinaista validointia ja todettiin toimivaksi.

Varsinaisena validointipäivänä molemmille analyysointilaitteille kalibroitiin halutut tutkimukset. Konelab20XTi-analyysointilaitteille valittiin fP-Fe tutkimuksen mittaukseen käytettäväksi yhden reagenssin menetelmä. Kaikki tarvittavat kalibraattorit ja kontrollit olivat valmiiksi liuotettu opetuslaboratorion kylmäkuivatun tuotteen liuotus ohjeen mukaisesti ja ne otettiin huoneenlämpöön 20 minuuttia ennen analyysointilaitteeseen laittoa -80°C pakka-  
sesta. Kalibroinnissa käytettiin SCal kalibraattoria. Muita käytettäviä kontrolliliuoksia

olivat Nortrol, Abtrol, Daytrol sekä vesi. Kontrollien hyväksymisen jälkeen aloitettiin varsinainen näytteiden ajo. Näytteet ajettiin kahteen kertaan toistettavuuden selvittämiseksi.

Cobas e411- analysaattorille kalibroitiin ferritiini tutkimus. Ennen kalibrointia tarkastettiin ProCell ja CleanCell puskurien päiväykset. Ferritiinin kalibrointiin käytettiin kalibraattoria ferritin CalSet, joka oli käyttövalmis. Kontrollina käytettiin kahden tason PreciControl Varia eli PC Varia 1 ja PC Varia 2 sekä Seronorm jotka olivat kylmäkuivatun tuotteen liuotus ohjeen mukaisesti valmistettu edellisellä kerralla  $-80^{\circ}\text{C}$  pakkaseen. Validoinnista tehtiin raportit opetuslaboratorion laatukäsikirjaan.

Turun ammattikorkeakoulu maksoi tästä opinnäytetyöstä syntyvät kustannukset. Kustannukset hyväksyttiin koulutus- ja tutkimuspäälliköllä. Laskimoverinäytteiden hankinnasta syntyneet kustannukset olivat n. 7 euroa yhtä näytettä kohden eli yhteensä kustannuksia näytteiden hankinnasta tuli 336 euroa. Lisäksi kustannuksia syntyi muiden validoinnissa tarvittavien tarvikkeiden kuten reagenssien, kalibraattorien ja kontrollien käytöstä. Näytteiden ostamisesta tehtiin sopimus Tykslabin kanssa, johon kirjattiin näytteiden noutopäivä, käyttötarkoitus sekä hävittämispäivä.

#### 4.1 Tulosten tilastollinen tarkasteleminen

Tutkimusaineiston tilastollinen tarkastelu aloitettiin heti näytteiden ajon jälkeen joulukuussa 2016 ja tarkastelussa käytettiin Excel ja SPSS ohjelmia. Molempien tutkimusten tulokset kirjattiin (Liite 2.), jonka jälkeen tuloksia tarkasteltiin paremmin. Tarkastelu tilastollisesti aloitettiin analysaattoreiden rinnakkaisajojen vertailulla. Rinnakkaisajoista sekä yksittäisistä tuloksista laskettiin yleisimmät tunnusluvut. Rinnakkaisajojen tunnuslukuja vertailtiin keskenään. Rinnakkaisajojen välistä korrelaatiota tarkasteltiin hajontakuvioiden sekä korrelaatiokertoimien avulla. Hajontakuvioiden eli korrelaatiodiagrammien avulla voidaan tarkastella muodostavatko muuttujat säännöllisen pistejoukon. Havaintokuviossa ilmenevien yhdenmukaisuuksien seurauksena voidaan muuttujien välistä yhteyttä verrata tarkemmin. (Holopainen & Pulkkinen 2002.)

Korrelaatiokertoimella voidaan tarkastella muuttujien välistä yhteyttä matemaattisesti. Korrelaatiokerroin on tilastollinen tunnusluku, jolla mitataan muuttujien välisen yhteyden voimakkuutta. Korrelaatiokerroin voi olla välillä  $-1$  ja  $+1$ . Korrelaatiokertoimen arvo on  $+1$  silloin, kun hajontakuvioiden kaikki pisteet ovat nousevalla suoralla. Korrelaatioker-

toimen arvon ollessa -1 on hajontakuvion kaikki pisteet laskevalla suoralla. Mitä lähempänä korrelaatiokerroin on lukua 1 sitä voimakkaampi on muuttujien välinen yhteys. (Holopainen & Pulkkinen 2002.) Mikäli korrelaatiokerroin on 0, ei muuttujien välillä ole lineaarista yhteyttä (Heikkilä 2014).

Excel tarkastelujen jälkeen siirryttiin käyttämään SPSS ohjelmaa ja laskemalla rinnakkaisajojen tulosten normaalijakaumaa. Yhteensopivuus testeillä testataan ovatko muuttujat jakautuneet tasaisesti. T-testiä voidaan käyttää, kun muuttujat ovat jakautuneet normaalisti. (Holopainen & Pulkkinen 2002.) Normaalijakaumalla ja t-testillä tarkastellaan merkitsevyyseroja. Merkitsevyystesteillä voidaan todeta onko aineistolle tehty nollahypoteesi pätevä, testin vastaus annetaan p-arvon avulla. P-arvon ollessa  $>0,05$  on tulos merkittävä ja ei merkittävä, jos tulos on  $<0,05$ . (Uhari & Nieminen 2012.) Tässä opinnäytetyössä nollahypoteesien oletuksina oli, että Konelab 20XTi- tulokset ovat toistettavia ja vastaavia Cobas c502- analysaattorin kanssa ja Cobas e411 analysaattorin tulokset ovat toistettavia ja vastaavia Cobas e602- analysaattorin kanssa. T-testin mukaan molempien määritysten rinnakkaisajot korreloivat vahvasti keskenään eikä rinnakkaisajojen välillä ollut tilastollisesti merkittävää poikkeamaa p-arvon ollessa  $<0,05$ .

Opetuslaboratorion analysaattorien sisäiset rinnakkaisajot vastasivat hyvin toisiaan, joten näistä laskettiin keskiarvot joita verrattiin Tykslabin saamiin tuloksiin. Opetuslaboratorion ja Tykslabin saamia tuloksia vertailtiin samoin tilastollisin menetelmin kuin rinnakkaisajojen tuloksia. Rauta määrittelyn kodalla t-testin tulos oli ei merkityksellinen ( $P>0,05$ ). Ferritiini määrittelyn kohdalla t-testi ei ollut mahdollinen, joten nollahypoteesista luovuttiin. Ferritiinimäärittelyn tuloksia käsiteltiin vielä kliinisen merkityksen mukaan, voidaanko tuloksia pitää luotettavina p-arvosta riippumatta.

#### 4.2 Opinnäytetyön metodologiset lähtökohdat

Kvantitatiivinen tutkimus on määrällinen tutkimus, jota voidaan kutsua myös tilastolliseksi tutkimukseksi. Tutkimuksen tuloksia voidaan esittää numeroin ja erilaisten taulukoiden avulla. (Hirsjärvi ym. 1997.) Kvantitatiivisen tutkimuksen alkujuuret ovat luonnontieteissä ja se on paljon käytetty tutkimusmenetelmä sosiaali- ja yhteiskuntatieteissä. Keskeisiä asioita määrällisessä tutkimuksessa ovat käsitteiden määrittely, suunniteltu aineiston kerääminen, otantasuunnitelmat, hypoteesi ja havaintoaineiston soveltuvuus määrälliseen mittaamiseen sekä aineiston tilastollinen muotoilu. (Hirsjärvi, Remes & Sajavaara 2009.)

Tässä opinnäytetyössä toteutuu kvantitatiivisen tutkimuksen peruspiirteet. Opinnäytetyössä noudatettiin vertailevan tutkimuksen piirteitä, sillä näytteiden tulosten täsmävyyttä vertailtiin Tykslabin analysaattorin ja opetuslaboratorion (Konelab 20XTi tai Cobas e411) analysaattorien välillä. Tutkimuksessa analysoitiin näytteitä, joiden tulokset ovat määrällisiä eli numeerisia. Tulokset esitettiin taulukkomuodossa ja tulokset ovat tilastollisesti käsiteltävissä. Tutkittavien henkilöiden perusjoukko on tietyn aikavälin välillä Tykslabin päivytys- ja automaatiolaboratorion toimesta keräämät potilasnäytteet, joista on tehty Tykslabin analysaattoreilla samat rauta-aineenvaihdunnan tutkimukset.

### 4.3 Opinnäytetyön eettiset lähtökohdat

Tutkimus ja siitä saadut tutkimukset ovat eettisesti hyväksyttäviä sekä luotettavia, kun tutkimus on suoritettu hyvän tieteellisen käytännön mukaisesti. Tutkimusluvan hankkiminen, rehellisyyden, yleisen huolellisuuden ja tarkkuuden noudattaminen työssä, tulosten arvioinnissa ja niiden esittämisessä kuuluvat hyvän tieteellisen käytännön noudattamiseen. Muiden tekemät työt ja suoritukset tulee olla asianmukaisesti viitattuina tekstissä. (Tutkimuseettinen neuvottelukunta 2012-2014.) Eettisten lähtökohtien pohjalta opinnäytetyössä noudatettiin tarkkoja ohjeita. Plagointia tulee välttää ja suorat lainaukset tulee ilmetä tekstissä, lähdemerkinnät tulee löytyä niin kirjoitetusta tekstistä kuin lopusta löytyvästä lähdeluettelosta. (Hirsjärvi ym. 1997.) Ennen opinnäytetyön toteuttamista tehtiin Turun ammattikorkeakoulun kanssa toimeksiantosopimus.

Tässä opinnäytetyössä empiirisessä tutkimusvaiheessa käytettiin Tykslabilta ostettuja jo analysoituja näytteitä. Tutkimukseen osallistuvien henkilöllisyyttä ei tiedetty, eikä potilaiden lupaa näytteiden käsittelyyn erikseen tarvittu. Näytteet on kerätty Tykslabin päivystys- ja automaatiolaboratorion toimesta. Potilaiden henkilötiedot poistettiin, joten potilaiden yksityisyyttä ja oikeutta kunnioitetaan sen vaatimin perustein. (Suomen bioanalytikkoliitto ry 2006). Näytteiden noutamisen yhteydessä allekirjoitettiin näytteiden luovutuslomake, jossa määriteltiin näytteiden käyttötarkoitus ja hävittäminen.

Tutkimustyön eri vaiheissa noudatettiin huolellisuutta ja tarkkuutta joka osa-alueella virheiden minimoimiseksi. Käytännön toteutuksen aikana työskenneltiin etukäteen laaditun validointisuunnitelman mukaisesti ja pidettiin tarkkaa kirjanpitoa laboratoriopäiväkirjaan. Toteutettavaan käytännönsuuteen hankittiin ennen validointia mahdollisimman laaja ja kattava perehdytys tarvittavien tilastollistenohjelmien käyttöön sekä validoinnissa käytettäville analysaattoreille Konelab 20XTi ja Cobas e411 ja laitekohtaista



ohjeistusta noudatettiin analysoinnin aikana. Työn jälkeen tulokset on esitetty niiden rehellisessä muodossa, eikä niitä ole muutettu. Analysoinnin ja opinnäytetyön julkaisemisen jälkeen huolellisesti säilytetty näyttemateriaali hävitetään sen vaatimalla asianmukaisella tavalla.

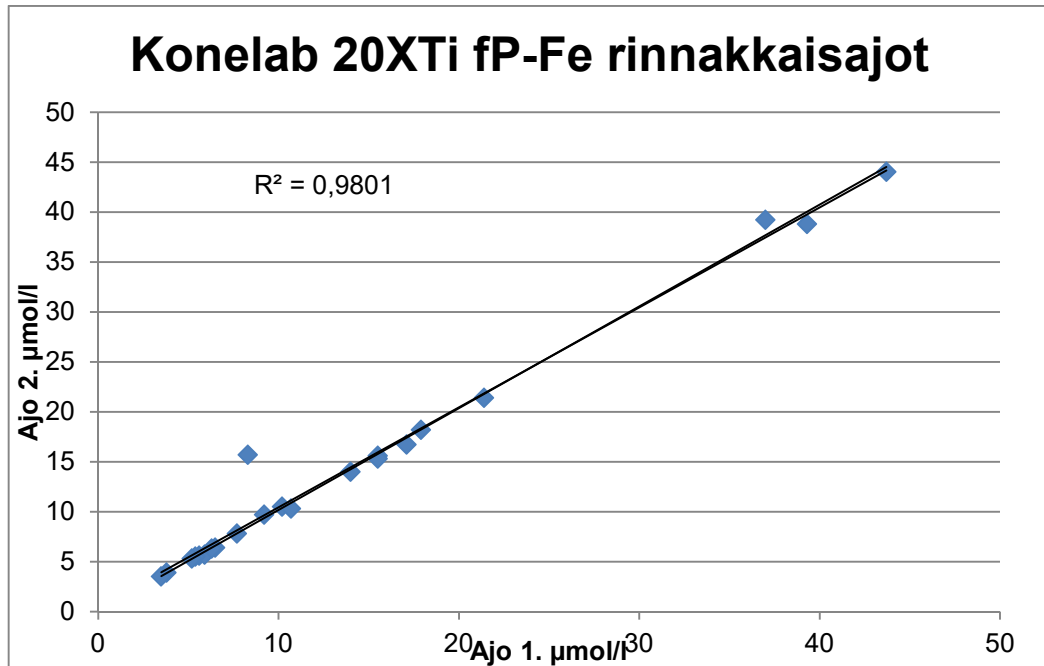
## 5 TUTKIMUSTULOKSET JA NIIDEN TARKASTELO

### 5.1 Konelab 20XTi- analysaattorin sisäinen toistettavuus ja tulostason vertailu

Konelab 20Xti- analysaattorilla analysoitiin 22 näytettä kahteen kertaan sisäisen toistettavuuden varmistamiseksi. Analysoitujen rautamäärytysten rinnakkaisajojen tuloksia verrattiin käyttäen samaa tilastollista menetelmää. Vertailu aloitettiin laskemalla keskeisimmät tunnusluvut; keskiarvo, keskihajonta, minimi, maksimi ja variaatiokerroin (Taulukko 1.). Tunnusluvuista huomataan arvojen olevan lähes samoja. Ajon 1. keskiarvo ja maksimi ovat hieman pienempiä kuin ajon 2. Rinnakkaisajojen keskiarvojen erotus oli hyvin pieni 0,42  $\mu\text{mol/l}$  eli 3,0%, minimiarvot olivat samat 3,50  $\mu\text{mol/l}$  ja maksimin erotus 0,30  $\mu\text{mol/l}$  eli vain 0,7%.

Taulukko 1. Konelab 20 Xti-analysaattorin fP-Fe rinnakkaisajojen tunnusluvut

Tunnusluvut	Konelab 20XTi ajo 1	Konelab 20Xti ajo 2
Keskiarvo ( $\mu\text{mol/l}$ )	14,10	14,52
Keskihajonta ( $\mu\text{mol/l}$ )	11,70	11,81
Minimi ( $\mu\text{mol/l}$ )	3,50	3,50
Maksimi ( $\mu\text{mol/l}$ )	43,7	44,00
Variaatiokerroin (%)	0,83	0,81



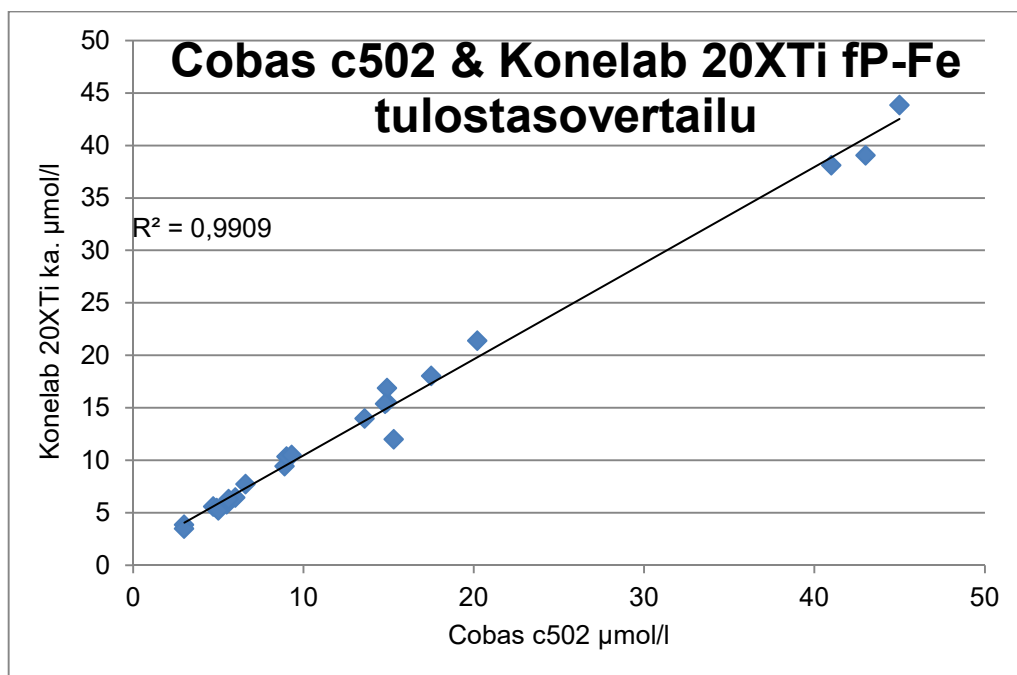
Kuvio 1. Konelab 20XTi- analysaattorin fP-Fe rinnakkaisajot

Tunnuslukujen laskemisen jälkeen Konelab 20XTi- analysaattorin rinnakkaisajoista tehtiin hajontakuvi, josta nähdään rinnakkaisajojen tulosten välinen yhteys (Kuvio 1.). Tulokset sijoittuivat regressiosuoralle hyvin.  $R^2$  eli hajontakuvion selitysaste oli 0.9801. Selitysaste eli  $R^2$  saadaan korottamalla korrelaatiokerroin potenssiin kaksi. Selitysaste ilmoittaa kuinka suuren osan muuttujan (x) vaihtelusta on selitettävissä muuttujalla (y). (Hekkilä 2014.) Rautamääritysten kohdalla tämä prosentuaalinen osuus oli siis 99%. Rinnakkaisajoille laskettu korrelaatiokerroin ( $r=0,99$ ) osoitti ajojen välillä voimakkaan positiivisen korrelaation. P-arvo rinnakkaisajoille oli tilastollisesti ei merkittävä ( $P>0,05$ ).

Konelab 20XTi- ja Cobas c502- analysaattorin rautamääritysten tulostason vertailu aloitettiin laskemalla keskiarvot rinnakkaisajoista 1. ja 2. sekä Tykslabin määrittämisistä. Koska opetuslaboratorion rinnakkaisajojen tulokset olivat yhteneväisiä ja laitetta voitiin pitää toistettavuutensa puolesta luotettavana. Vertailussa käytettiin automaatio- ja päivystyslaboratorion Cobas c502- analysaattorin tulosta ja Konelab 20XTi- analysaattorilla saatujen rinnakkaisajojen keskiarvoa, joista laskettiin yleisimmät tunnusluvut; keskiarvo, keskihajonta, mini, maksimi ja variaatiokerroin (Taulukko 2.). Tunnusluvuista huomataan arvojen olevan rinnakkaisia. Konelabin keskiarvona saatu 14,30  $\mu\text{mol/l}$  on 0,9% päivystys- ja automaatiolaboratorion keskiarvoa suurempi. Opetuslaboratorion minimi on 0,5  $\mu\text{mol/l}$  eli 16,7% suurempi kuin Tykslabin minimi 3,00  $\mu\text{mol/l}$ , kun taas maksimi on Tykslabin saamien tulosten mukaan 1,15  $\mu\text{mol/l}$  eli 2,6% suurempi kuin opetuslaboratorion maksimi 43,85  $\mu\text{mol/l}$ .

Taulukko 2. fP- Fe määrittämisien tunnusluvut

Tunnusluvut	Konelab 20XTi	Cobas c502
Keskiarvo ( $\mu\text{mol/l}$ )	14,30	14,17
Keskihajonta ( $\mu\text{mol/l}$ )	11,73	12,75
Minimi ( $\mu\text{mol/l}$ )	3,50	3,00
Maksimi ( $\mu\text{mol/l}$ )	43,85	45,00
Variaatiokerroin (%)	0,82	0,90



Kuvio 2. Konelab 20XTi- ja Cobas c502- analysaattorien fP-Fe tulosvertailu

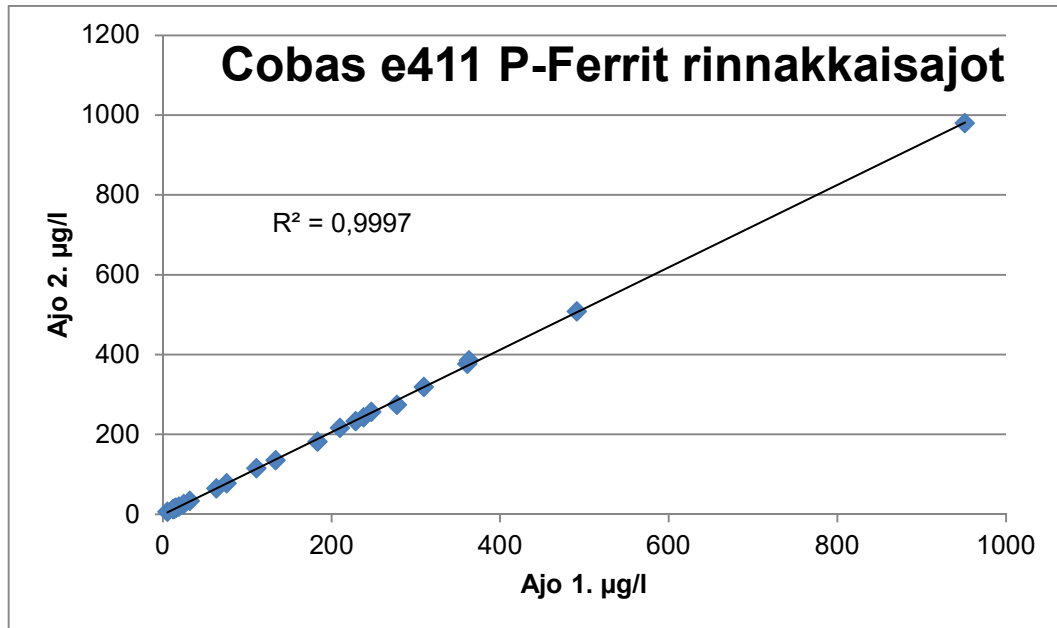
Tunnuslukujen lisäksi tulostasovertailusta tehtiin myös hajontakuviota. Hajontakuviosta nähdään selitysasteen  $R^2$  olevan 99%. (Kuvio 2.) Ajojen välillä oli vahva positiivinen korrelaatio ( $r=0,9954$ ) eikä tulosten välillä ollut tilastollisesti merkittävää eroa ( $P>0,05$ ). Tilastollisen tarkastelun pohjalta analysaattoreiden tulokset ovat yhteneviä.

## 5.2 Cobas e411- analysaattorin sisäinen toistettavuus ja tulostason vertailu

Cobas e 411- analysaattorilla tehtyjen ferritiini määritysten rinnakkaisajojen tuloksia verrattiin käytten samaa tilastollista menetelmää. Vertailu aloitettiin laskemalla keskeisimmät tunnusluvut; keskiarvo, keskihajonta, minimi, maksimi ja variaatiokerroin. (Taulukko 2.) Tunnuslukuja tarkasteltaessa ajon 1. keskiarvo 183,28 µg/l huomataan matalampana kuin ajon 2, keskiarvojen erotus on 4,98. Ajon 1. minimi ja maksimi ovat pienempiä kuin ajon 2. Minimien erotus on hyvin pieni 3,8% ja maksimien välinen ero 3,0%. Ajon 2. tulokset ovat olleet keskimäärin korkeampia kuin ajon 1.

Taulukko 3. Cobas e411- analysaattorin P-Ferrit rinnakkaisajojen tunnusluvut

Tunnusluvut	Cobas e 411 ajo1	Cobas e411 ajo2
Keskiarvo (µg/l)	183,28	188,26
Keskihajonta (µg/l)	215,39	222,38
Minimi (µg/l)	5,41	5,62
Maksimi (µg/l)	951,50	979,80
Variaatiokerroin (%)	1,18	1,18



Kuvio 3. Cobas e411- analysaattorin P-Ferrit rinnakkaisajot

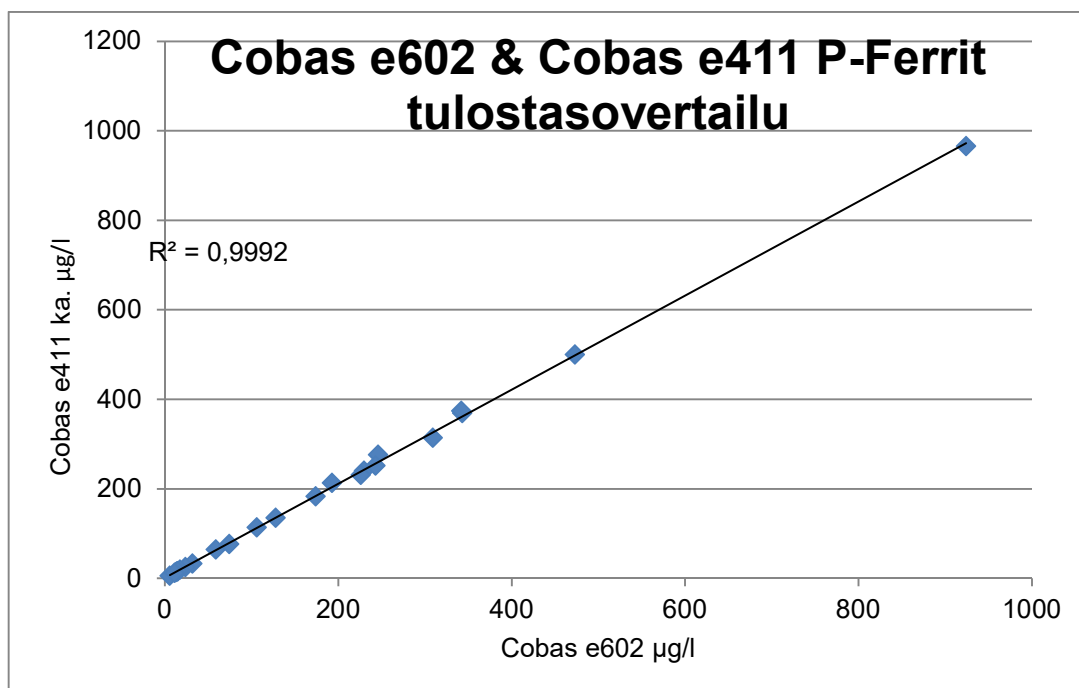
Rinnakkaisajojen tulokset olivat yhteneviä ja näistä tehtiin sirontakuviota. Kuviosta nähdään tulosten asettuvan regressiosuoralle melko hyvin (Kuvio 3.). Korrelaatiokertoimen ( $r=0.9998$ ) avulla havaitaan rinnakkaisajojen välisen korrelaation olevan hyvin vahva. Rinnakkaisajoja tarkasteltiin t-testin avulla ja todettiin ettei ferritiinimäärityksien rinnakkaisajojen välillä ollut tilastollisesti merkittäviä eroja ( $P>0,05$ ), jolloin nollahypoteesi jäi voimaan.

Cobas e 411- ja Cobas e602- analysaattorin ferritiini määritysten tulostason vertailu aloitettiin laskemalla sarjojen keskiarvot. Cobas e411- analysaattorilla saaduista tuloksista käytettiin keskiarvoa, näistä laskettiin yleisimmät tunnusluvut; keskiarvo, keskihajonta, mini, maksimi ja variaatiokerroin (Taulukko 4.). Opetuslaboratorion saama keskiarvo 185,77 $\mu\text{g/l}$  todetaan tunnuslukujen tarkastelussa korkeammaksi tulosten erotuksen ollessa 5,7% eli 10,05  $\mu\text{g/l}$ . Opetuslaboratorion tuloksista saatu maksimi arvo todetaan korkeammaksi kuin tykslabin maksimi ja minimi pienemmäksi kuin tykslabin saama minimiarvo. Minimien välinen erotus on 0,28 eli 4,9% ja maksimien välinen erotus 41,65  $\mu\text{g/l}$  eli 4,5%.

Taulukko 4. P-Ferrit määrityksien tunnusluvut

Tunnusluvut	Cobas e411	Cobas e602
Keskiarvo ( $\mu\text{g/l}$ )	185,77	175,72
Keskihajonta ( $\mu\text{g/l}$ )	218,90	208,22
Minimi ( $\mu\text{g/l}$ )	5,515	5,80
Maksimi ( $\mu\text{g/l}$ )	965,65	924
Variaatiokerroin (%)	1,18	1,18





Kuvio 4. Cobas e411- ja Cobas e602- analysaattorien P-Ferriit tulosvertailu

Tunnuslukujen lisäksi tulostasovertailusta tehtiin myös hajontakuvio. Selitysasteen  $R^2$  nähdään olevan 0,9992 ja ajojen välillä oli vahva positiivinen korrelaatio. P-arvon ollessa  $<0,05$  käsiteltiin tuloksia vielä kliinisen merkitsevyyden mukaan. Vaikka tutkimustulokset eroaisivat toisistaan tilastollisesti ei niiden välillä välttämättä ole käytännön merkitystä. Tutkimustulosten tilastollinen ero ei ole potilaan hoidon kannalta aina merkityksellinen. (Nummenmaa ym. 2014.) Tuloksia vertaillessa huomattiin, ettei tuloksissa ole kliinisesti merkityksellistä eroa.

## 6 POHDINTA

Tämän opinnäytetyön tutkimustehtävinä oli tarkastella Konelab 20XTi-analysaattorin sisäistä toistettavuutta tutkimuksella fP-Fe, sekä selvittää vastaako analysaattorin tulokset päivystys- ja automaatiolaboration Cobas c502- analysaattorin tulostasoa. Toisena tutkimustehtävänä oli tarkastella Cobas e411-analysaattorin sisäistä toistettavuutta tutkimuksella P-Ferriit, sekä selvittää vastaako saatu tulostaso päivystys- ja automaatiolaboration Cobas e602- analysaattorin tulostasoa. Jotta analysaattorin tuloksiin voidaan luottaa tulee sen tulosten olla toistettavia.

Tämän opinnäytetyön tulosten mukaan analysaattoreiden Konelab 20XTi ja Cobas e411 sisäinen toistettavuus oli rinnakkainen ja korreloi keskenään. Cobas e411 analysaattorin P-Ferriit määrityksen kohdalla rinnakkaisajot olivat toistettavia ja saatujen tulosten ero oli valmistajan antaman 10% sisällä, joten analysaattorin Cobas e411 voidaan todeta antavan toistettavia tuloksia (Roche 2016b). Rautamäärityksen (fP-Fe) kohdalla rinnakkaisajoista vain yksi poikkesi toisistaan yli laitevalmistajan antaman 10%, eroa poikkeavan rinnakkaisajon tulosten välillä oli 89% (Thermo Science 2007). Tulos ei kuitenkaan vaikuttanut tilastollisessa tarkasteluissa ja kliinistä merkitystä tarkasteltaessa voidaan todeta, että molemmat rinnakkaisajojen tulokset ovat viiterajoissa. Toistettavuuden varmistamiseksi tehdään kuitenkin toistaiseksi rinnakkaismäärityksiä tutkimuksen fP-Fe osalta lisänäytön keräämiseksi. Täsmävyvyyden varmistamista jatketaan analysoimalla ulkoisia laadunarviointinäytteitä.

Tämän opinnäytetyön tulosten perusteella opetuslaboration analysaattorin Konelab 20XTi automaatio- ja päivystyslaboration analysaattorin Cobas c502 todettiin käyttävän samaa mittausmenetelmää määrityksissä ja tulostasojen välillä ei todettu tilastollisesti merkittäviä eroja. 22 näytteestä tulostasojen vertailussa viiden näytteen tulokset kuitenkin poikkeavat yli Labqualityn asettaman tavoitevälin 15%. Tulosten prosentuaalinen ero on suuri, mutta kliinisesti merkityksetön sillä tulokset ovat kaikki viiterajoissa. Tutkimustulosten mukaan Tykslabin käyttämät viitearvot voidaan ottaa käyttöön tutkimukselle fP-Fe.

P-Ferriit määrityksen analysaattoreiden tulostasovertailussa ei todettu tilastollisia eroja opetuslaboration analysaattorin Cobas e411 ja automaatio- ja päivystyslaboration Cobas e602 välillä, tulostasovertailussa tulokset poikkesivat alle 15%, joka on Labquality Oyn asettama raja analysaattoreiden välisiin eroihin. Analysaattorit käyttävät tut-

kimuksessa samaa mittausmenetelmää ja opinnäytetyössä saatujen tutkimustulosten mukaan Tykslabin viitearvot tutkimukselle P-Ferriit voidaan ottaa opetuslaboratoriossa käyttöön.

Opinnäytetyö toteutettiin vääristelemättä ja hyviä eettisiä periaatteita noudattaen. Saatut tutkimustulokset on esitetty niiden oikeassa muodossa. Opinnäytetyön aikataulutusta venyi odotettua pidemmälle, mutta työn sisältöön tällä ei ollut vaikutusta. Lähteitä kerättiin monipuolisesti ja valittujen lähteiden suhteen oltiin tarkkoja.

Tutkimustyössä noudatettiin tarkkuutta, huolellisuutta ja kaikki oleellinen kirjattiin ylös. Tutkimukset kalibroitiin kokeilumielessä ennen validointeja Cobas e411 analysaattorille kertaalleen ja Konelab 20XTi- analysaattorille kahdesti, jotta validointi hetkellä saatu laitteiden käyttö sekä laitetetous olisi mahdollisimman kattava. Validoinnissa käytettyjen kontrollien, kalibraattoreiden sekä reagenssien tiedot kirjattiin ylös, jotta niiden jäljitäminen tarvittaessa olisi mahdollinen.

Opinnäytetyössä käytetyt näytemäärät olivat eri tulostasoisia, jolloin analysaattoreiden toimivuus saatiin testattua matalilla ja korkeilla arvoilla. Cobas e411 analysaattorin hyvin korkeita tuloksia antaneet kaksi näytettä jäivät kuitenkin laimentamatta mikä vaikuttaa tuloksien määrään ja laskee näin käytössä olevan aineiston määrää.

Tutkimuksissa käytettiin nimettömiä laskimoverinäytteitä ilman henkilötietoja. Koska ferritiinimäärityksen tuloksia jouduttiin tarkastelemaan tarkemmin myös kliinisen merkityksen pohjalta olisi saattanut olla tarpeellista tietää sukupuoli tai ikä, sillä Tykslabin viitearvot määritellään; miehet, naiset ja lapset. Tulokset kuitenkin osuivat joko viitearvoihin tai yli viitearvojen riippumatta sukupuolesta tai iästä.

Jatkotutkimuksen aiheeksi ehdotetaan opetuslaboratorion rauta-aineenvaihdunnan tutkimusten tutkimusvalikoiman kasvattamista tutkimuksella liukoinen transferrinireseptori. Liukoinen transferrini on yhä useammin mukana määriteltäessä rauta-aineenvaihdunnan sairauksia. Transferrini ja rauta määrityksen avulla voidaan lisäksi laskea transferrinin rautakylläisyys. Opetuslaboratorion tutkimusvalikoiman kasvattaminen entisestään mahdollistaa kattavan tarjonnan opetuskäyttöön ja tilausvalikoimiin.



## LÄHTEET

Ehder, T.; Matveinen, K.; Isotalo, H.; Kantanen, M-L.; Mäkinen, I.; Nuotio, K.; Pohjoja, V.; Riutta O. & Venäläinen E-R. 2005. Kemian metrologian opas. Viitattu: 26.2.2017. <http://www.vtt.fi/inf/pdf/MIKES/2005-J6.pdf>.

Heikkilä, T. 2014. Tilastollinen tutkimus. 9. uudistettu painos. Helsinki: Edita Prima Oy.

Hiltunen, E.; Linko, L.; Hemminki, S.; Hägg, M.; Järvenpää, E.; Saarinen, P.; Simonen, S. & Kärhä, P. 2011. Laadukkaan mittaamisen perusteet. <http://www.mikes.fi/oppaat>.

Hirsjärvi, S.; Remes, P. & Sajavaara P. 1997. Tutki ja kirjoita. 15, uudistettu painos. Hämeenlinna: Kariston kirjapaino Oy.

Huslab. 2015. Ferritiini, plasmasta. Viitattu 4.9.2016. <http://huslab.fi/ohjekirja/4826.html>.

Huslab. 2016. Rauta, plasmasta, paastotilassa. Viitattu 4.9.2016. <http://huslab.fi/ohjekirja/4529.html>.

Jaarinen, S. & Niiranen, J. 2005. Laboratorion analyysitekniikka. Edita Prima oy.

Kankare, T. & Toivonen, H. 2016. Cobas e411- analysaattorin validointi – B12- ja D-vitamiinitutkimukset. [http://www.theseus.fi/bitstream/handle/10024/110545/kankare\\_terttu\\_toivonen\\_hanna.pdf?sequence=1](http://www.theseus.fi/bitstream/handle/10024/110545/kankare_terttu_toivonen_hanna.pdf?sequence=1).

Killip, S.; Bennett, J. & Chambers, M. 2007. Iron Deficiency Anemia. American Family Physician. Vol. 75, No. 5, 671-678.

Markkola, L. 2016. Cobas e 411- analysaattorin psa- ja psa-v tutkimusten validointi. [https://www.theseus.fi/bitstream/handle/10024/109043/markkola\\_laura.pdf?sequence=1](https://www.theseus.fi/bitstream/handle/10024/109043/markkola_laura.pdf?sequence=1).

Matveinen, K.; Isotalo, H.; Kantanen, M-L.; Mäkinen, I.; Nuotio, K.; Pohjoja, V.; Riutta, O.; Venäläinen, E-R.; Ehder, T.; Hirvi, T.; Komppa, V.; Linko, S.; Nieminen, J.; Vartiainen, T & Walden, J. 2005. Kemian metrologian opas. Helsinki: Metrologian neuvottelukunta.

Niemelä, O. & Pulkki, K. 2010 Laboratoriolääketiede – Kliininen kemia ja hematologia. 3. uudistettu painos. Helsinki: Kandidaattikustannus Oy.

Nummenmaa, L.; Holopainen, M. & Pulkkinen, P. 2014. Tilastollisten menetelmien perusteet. Helsinki: Sanoma Pro Oy.

Roche. 2009. Cobas e 411 analyzer. Viitattu: 1.2.2017. [https://www.aub.edu.lb/fm/cmop/downloads/cobas\\_e\\_411\\_EN.pdf](https://www.aub.edu.lb/fm/cmop/downloads/cobas_e_411_EN.pdf).

Roche. 2010. Investor update. <http://www.roche.com/investors/updates/inv-update-2010-07-20.htm>. 27.1.2017.

Roche. 2016a. Cobas 602 module. Viitattu: 1.2.2017. [https://usdiagnostics.roche.com/en/core\\_laboratory/instrument/cobas-8000-analyzer-series.html#explore](https://usdiagnostics.roche.com/en/core_laboratory/instrument/cobas-8000-analyzer-series.html#explore).

Roche. 2016b. Ferritin method sheet. Viitattu: 2.2.2017. [https://pim-eservices.roche.com/eLD\\_SF/fi/en/Documents/GetDocument?documentId=95ffb088-4f38-e611-d6a6-00215a9b3428&referrer=Dialog](https://pim-eservices.roche.com/eLD_SF/fi/en/Documents/GetDocument?documentId=95ffb088-4f38-e611-d6a6-00215a9b3428&referrer=Dialog).

- Roche. 2016c. Cobas 502 module. Viitattu: 3.2.2017. [https://usdiagnostics.roche.com/en/core\\_laboratory/instrument/cobas-8000-analyzer-series.html#explore](https://usdiagnostics.roche.com/en/core_laboratory/instrument/cobas-8000-analyzer-series.html#explore).
- Roche. 2016d. Fe method sheet. Viitattu: 3.2.2017. [https://pim-eservices.roche.com/eLD\\_SF/fi/en/Documents/GetDocument?documentId=40854348-60f6-e511-5798-00215a9b3428&referrer=Dialog](https://pim-eservices.roche.com/eLD_SF/fi/en/Documents/GetDocument?documentId=40854348-60f6-e511-5798-00215a9b3428&referrer=Dialog).
- Suomen bioanalytikkoliitto ry. 2006. Bioanalytikon, laboratoriohoitajan eettiset ohjeet. Viitattu 17.09.2016. [http://www.bioanalytikkoliitto.fi/@Bin/220004/Eettiset+ohjeet+-suomi+2011+\(1\).pdf](http://www.bioanalytikkoliitto.fi/@Bin/220004/Eettiset+ohjeet+-suomi+2011+(1).pdf).
- Terveyskirjasto. 2014. Raudanpuute anemia. Viitattu: 27.1.2017. [http://www.terveyskirjasto.fi/terveyskirjasto/tk.koti?p\\_artikkeli=dlk00867](http://www.terveyskirjasto.fi/terveyskirjasto/tk.koti?p_artikkeli=dlk00867).
- Terveyskirjasto. 2016. Ferritiini, plasmasta (P-Ferriitti). Viitattu 4.09.2016. [http://www.terveyskirjasto.fi/terveyskirjasto/tk.koti?p\\_artikkeli=snk03356](http://www.terveyskirjasto.fi/terveyskirjasto/tk.koti?p_artikkeli=snk03356).
- Thermo Fisher Scientific. 2007. Iron Insert ref. 981236. Viitattu 3.2.2017. <https://static.thermoscientific.com/images/D00727~.pdf>.
- Tutkimuseettinen neuvottelukunta. 2012-2014. Hyvä tieteellinen käytäntö. Viitattu 22.11.2016. <http://www.tenk.fi/fi/htk-ohje/hyva-tieteellinen-kaytanta>.
- Tykslab. 2014a. Rauta. Viitattu 4.9.2016. <https://webohjekirja.mylabservices.fi/TYKS/4826.html>.
- Tykslab. 2014b. Ferritiini. Viitattu 4.9.2016. <https://webohjekirja.mylabservices.fi/TYKS/2566.html>.
- Uhari, M & Nieminen, P. 2012. Epidemiologia ja biostiikka. Uusittu 7. painos. Duodecim.
- WebMD. 2016. Iron poisoning. Viitattu: 28.1.2017. <http://www.webmd.com/a-to-z-guides/iron-poisoning#1>.
- Westgard, J. 2003. Basic method validation. 2 painos. Madison, USA: Westgard QC, Inc.

## Validointisuunnitelma

### Rauta-aineenvaihduntatutkimusten validointisuunnitelma Kone-lab 20xti – ja Cobas e411- analysaattorilla

Rauta-aineenvaihdunta tutkimusten validointi on suunniteltu toteutettavaksi syksyllä 2016 yhtenä päivänä. Validoinnista tehdään työpäiväkirjaa, johon kirjataan validoinnin eteneminen ja mahdolliset poikkeamat näytteissä ja/tai analysoinnissa.

Validoinnissa tarvittavat välineet:

1. Rauta tutkimuksen reagenssit ja kalibraattorit

Iron Reagent A-C.	(981236)
Scal	(981831)
Nortrol	(981043)
Abtrol	(981044)
Daytrol	(Labquality Oy)

2. Ferritiini tutkimuksen reagenssit ja kalibraattorit

Elecsys Ferritin	(03737551190)
Ferritin Calset	(03737586190)
PreciControl Varia	(05618860190)
Seronorm	(206105)

3. plasmanäytteet

Ennen validointia tehtävä:

- Perehdytään analysaattoreiden käyttöön.
- Tutkimusten lisääminen ja aktivointi analysaattoreille, kalibrointi ja kontrollit.
- 1-2vk ennen validointia tilataan tarvittavat reagenssit ja muut välineet.
- 1-2vk ennen ilmoitetaan Tykslab päivystys- ja automaatiolaboratorioon näytteiden tarpeesta
- 1-2vk ennen analysaattoriluokan varaaminen validointia varten.

Validointia edeltävänä päivänä tehtävä:

- kontrollien liuotus ja pakastus
- tutkimusnäytteiden hakeminen päivystys- ja automaatiolaboratoriosta ja niiden siirtäminen koulun pakastimeen. 20 näytettä tutkimusta kohden.

Validointipäivänä tehtävä:

- tutkimusten kalibrointi
- tutkimusten kontrollien ajaminen
- tutkimusnäytteiden ajot ja rinnakkaisajot
- saatujen tulosten kirjaus ja myöhemmin taulukointi exceliin.
- työpäiväkirjan täyttäminen
- näytteiden pakastaminen ajon jälkeen ja säilytys -20°C

Opinnäytetyön valmistuttua:

- näytteiden hävittäminen asianmukaisesti



## fP-Fe toistettavuuden tulokset

ajo 1. $\mu\text{mol/l}$	ajo 2. $\mu\text{mol/l}$	erotus $\mu\text{mol/l}$	ero%
43,7	44,0	-0,3	-0,69 %
39,3	38,8	0,5	1,27 %
37,0	39,2	-2,2	-5,95 %
21,4	21,4	0	0,00 %
17,9	18,2	-0,3	-1,68 %
17,1	16,7	0,4	2,34 %
15,5	15,3	0,2	1,29 %
15,5	15,6	-0,1	-0,65 %
14,0	14,0	0	0,00 %
10,7	10,3	0,4	3,74 %
10,2	10,5	-0,3	-2,94 %
9,2	9,7	-0,5	-5,43 %
8,3	15,7	-7,4	-89,16%
7,7	7,8	-0,1	-1,30 %
6,5	6,4	0,1	1,54 %
6,3	6,3	0	0,00 %
5,9	5,7	0,2	3,39 %
5,6	5,6	0	0,00 %
5,4	5,5	-0,1	-1,85 %
5,2	5,3	-0,1	-1,92 %
3,8	3,9	-0,1	-2,63 %
3,5	3,5	0	0,00 %

## fP-Fe tulostasovertailu

Cobas c502 μmol/l	Konelab 20XTi μmol/l	erotus μmol/l	ero%
45,0	43,85	1,15	2,56 %
43,0	39,05	3,95	9,19 %
41,0	38,1	2,9	7,07 %
20,2	21,4	-1,2	-5,94 %
17,5	18,05	-0,55	-3,14 %
15,3	12,0	3,3	21,57 %
14,9	16,9	-2	-13,42 %
14,9	15,55	-0,65	-4,36 %
14,8	15,4	-0,6	-4,05 %
13,6	14,0	-0,4	-2,94 %
9,3	10,5	-1,2	-12,90 %
9,0	10,35	-1,35	-15,00 %
8,9	9,45	-0,55	-6,18 %
6,6	7,75	-1,15	-17,42 %
6,0	6,45	-0,45	-7,50 %
5,6	6,3	-0,7	-12,50 %
5,5	5,8	-0,3	-5,45 %
5,0	5,25	-0,25	-5,00 %
4,9	5,45	-0,55	-11,22 %
4,7	5,6	-0,9	-19,15 %
3,0	3,85	-0,85	-28,33 %
3,0	3,5	-0,5	-16,67 %

## P-Ferriit toistettavuuden tulokset

ajo 1. µg/l	ajo 2. µg/l	erotus µg/l	ero%
951,5	979,8	-28,3	-2,97 %
491,2	508,1	-16,9	-3,44 %
363,2	384,9	-21,7	-5,97 %
361,1	376,8	-15,7	-4,35 %
309,7	318,5	-8,8	-2,84 %
277,9	274,0	3,9	1,40 %
247,4	256,0	-8,6	-3,48 %
238,1	242,5	-4,4	-1,85 %
228,8	233,0	-4,2	-1,84 %
210,1	215,9	-5,8	-2,76 %
183,5	181,8	1,7	0,93 %
133,9	135,3	-1,4	-1,05 %
111,2	115,3	-4,1	-3,69 %
75,65	77,4	-1,75	-2,31 %
63,44	64,23	-0,79	-1,25 %
32,01	33,15	-1,14	-3,56 %
24,67	25,48	-0,81	-3,28 %
19,21	19,08	0,13	0,68 %
15,64	15,74	-0,1	-0,64 %
15,17	15,21	-0,04	-0,26 %
14,69	14,93	-0,24	-1,63 %
13,3	13,06	0,24	1,80 %
11,91	12,44	-0,53	-4,45 %
5,41	5,64	-0,23	-4,25 %

Cobas e602 (µg/l)	Cobas e411 ajo 1. (µg/l)	Cobas e411 ajo 2. (µg/l)
3732	>2000	>2000
5216	>2000	>2000

## P-Ferrit tulostasovertailu

<b>Cobas e602 µg/l</b>	<b>Cobas e411 ka. µg/l</b>	<b>erotus µg/l</b>	<b>ero%</b>
924,0	969,65	-45,65	-4,94 %
473,0	499,65	-26,65	-5,63 %
343,0	368,95	-25,95	-7,57 %
342,0	374,05	-32,05	-9,37 %
309,0	314,1	-5,1	-1,65 %
246,0	275,95	-29,95	-12,17%
243,0	251,7	-8,7	-3,58 %
230,0	240,3	-10,3	-4,48 %
226,0	230,9	-4,9	-2,17 %
193,0	213,0	-20	-10,36%
174,0	182,65	-8,65	-4,97 %
128,0	134,6	-6,6	-5,16 %
106,0	113,25	-7,25	-6,84 %
74,5	76,525	-2,025	-2,72 %
59,0	63,835	-4,835	-8,19 %
32,0	32,58	-0,58	-1,81 %
23,8	25,075	-1,275	-5,36 %
17,7	19,145	-1,445	-8,16 %
15,0	15,19	-0,19	-1,27 %
14,8	15,69	-0,89	-6,01 %
13,7	14,81	-1,11	-8,10 %
12,7	13,18	-0,48	-3,78 %
11,2	12,175	-0,975	-8,71 %
5,8	5,151	0,649	11,19 %