



Heikki Nuortimo

# Likvorin glukoosin säilyvyys

Metropolia Ammattikorkeakoulu

Sosiaali- ja terveysalan ammattikorkeakoulututkinto

Bioanalytiikan tutkinto-ohjelma

Opinnäytetyö

19.04.2024

## Tiivistelmä

|                   |  |
|-------------------|--|
| Tekijä(t):        | Heikki Nuortimo  |
| Otsikko:          | Likvorin glukoosin säilyvyys   |
| Sivumäärä:        | 31 sivua   |
| Aika:             | 19.04.2024   |
| Tutkinto:         | Sosiaali- ja terveystieteiden ammattikorkeakoulututkinto   |
| Tutkinto-ohjelma: | Bioanalytiikan tutkinto-ohjelma  |
| Ohjaaja(t):       | Erikoistuva sairaalakemisti Olli Jääskeläinen, FT<br>Lehtori Kaisa Rajakylä<br>Lehtori Jaana Anttila |

Likvori eli aivo-selkäydinneste on plasmasta suodattumalla muodostuvaa kirkasta nestettä, jota voidaan ottaa näytteeksi lannepiston avulla. Likvoria tutkimalla voidaan arvioida keskushermoston tilaa ja sairauksia. Yksi tavallisimmista likvorista tehtävistä tutkimuksista on glukoosipitoisuuden määrittäminen, jota voidaan hyödyntää meningiittidiagnostiikassa. Pelkkää likvorin glukoosipitoisuutta käyttökelpoisempi määre on kuitenkin likvorin glukoosipitoisuuden suhde potilaan plasman glukoosipitoisuuteen.

Glykolyysi on olennainen osa solujen energiantuottoa. Glukoosinäytteiden tutkimisessa glykolyysi on kuitenkin ongelma, sillä glykolyysi voi saada veren tai muun solupitoisen biologisen nesteen glukoosipitoisuuden laskemaan näyteputkessa. Tätä voidaan pyrkiä ehkäisemään näytteiden kylmäsäilytyksellä ja nopealla erottelulla soluista sekä käyttämällä glykolyysin inhibiittoreita sisältäviä näyteputkia, joita ei kuitenkaan normaalisti likvorinäytteenotossa käytetä.

Tässä opinnäytetyössä selvitettiin glukoosin säilyvyyttä likvorinäytteissä. Opinnäytetyö tehtiin ISLABin toimeksiantona ja opinnäytetyön mittaukset suoritettiin ISLABin kliinisen kemian laboratoriossa Joensuussa. Opinnäytetyön aineistona oli 15 potilasnäytettä, jotka analysoitiin ohjeistuksen mukaisesti 30 minuutin sisällä näytteenotosta, minkä jälkeen näytteet jätettiin huoneenlämpöön. Näytteet analysoitiin uudelleen, kun oli kulunut 60 ja 90 minuuttia näytteenotosta. Näiden analyysien tuloksia verrattiin alkuperäisen analyysin tulokseen ja selvitettiin, miten likvorin glukoosipitoisuus muuttui. Lisäksi selvitettiin, muuttuiko likvorin ja plasman glukoosipitoisuuksien suhde likvorinäytteiden säilytyksen seurauksena.

Aineiston perusteella havaittiin, että sentrifugoitujen likvorinäytteiden glukoosipitoisuuksissa ei tapahtunut kliinisesti merkittäviä muutoksia huoneenlämmössä säilytyksen aikana. Myös likvorin ja plasman glukoosipitoisuuksien suhde pysyi lähes muuttumattomana. On kuitenkin huomioitava, että tämän opinnäytetyön näytemäärä jäi melko alhaiseksi, joten tuloksien yleistämiseen on suhtauduttava varauksella. Glukoosin säilyvyyttä likvorinäytteissä on myös kuitenkin tutkittu aikaisemmin, ja tämän opinnäytetyön tulokset vastasivat aikaisempien tutkimuksien tuloksia.

Avainsanat: aivo-selkäydinneste, likvori, glukoosi, glykolyysi, säilyvyys

Tämän opinnäytetyön alkuperä on tarkastettu Turnitin Originality Check -ohjelmalla.

## Abstract

Author(s): Heikki Nuortimo  
Title: Stability of Glucose in Cerebrospinal Fluid Samples  
Number of Pages: 31 pages  
Date: 19 April 2024

Degree: Bachelor of Health Care  
Degree Programme: Biomedical Laboratory Science  
Instructor(s): Olli Jääskeläinen, Specializing Clinical Chemist, PhD  
Kaisa Rajakylä, Senior Lecturer  
Jaana Anttila, Senior Lecturer

---

Cerebrospinal fluid is a clear fluid that is a filtrate of blood plasma. CSF samples are collected by lumbar puncture. The state of the central nervous system and the diseases affecting it can be investigated by analyzing CSF samples. One of the most common CSF laboratory tests is the CSF glucose test, which is an important tool to diagnose meningitis. Instead of just relying on the CSF glucose value for diagnostic purposes, it is often more useful to determine the CSF-plasma glucose ratio.

Glycolysis is a crucial part of cellular energy production, but it can become a problem when analyzing glucose samples. Glycolysis can make the glucose level decrease in any biological fluid containing cells. The tools to combat this process include refrigeration and rapid sample separation. Sample tubes containing glycolysis inhibitors can also be used, but those are not commonly used for CSF samples.

The purpose of this thesis was to investigate glucose stability in CSF samples. This thesis was made for ISLAB laboratory center. The measurements for this thesis were conducted in ISLAB's clinical chemistry laboratory in Joensuu. Fifteen patient samples were analyzed within 30 minutes of sampling after which they were left at room temperature. The samples were analyzed again 60 and 90 minutes after the sampling and the results were compared to the results of the original analysis. Plasma glucose levels were also checked to see how the CSF-plasma glucose ratio changed after the CSF samples were left at room temperature.

It was found out that there was no clinically significant change in the glucose levels in the centrifuged CSF samples. The CSF-plasma glucose ratio also remained virtually unchanged. Something to consider is that the total sample size in this thesis study was rather low so the results should be interpreted with caution. However, the stability of glucose in CSF samples has been studied before with similar results to this thesis study.

Keywords: cerebrospinal fluid, CSF, glucose, glycolysis, stability

---

The originality of this thesis has been checked using Turnitin Originality Check service.

## Sisälllys

|     |   |    |
|-----|---|----|
| 1   | Johdanto  | 1  |
| 2   | Likvori eli aivo-selkäydinneste                           | 2  |
| 3   | Glukoosi  | 3  |
| 3.1 | Glykolyysi  | 3  |
| 3.2 | Likvorin glukoosi   | 5  |
| 4   | Glukoosin määrittäminen                                   | 6  |
| 4.1 | Heksokinaasimenetelmä                                     | 6  |
| 4.2 | Glukoosinäytteiden näyteastiat                            | 7  |
| 4.3 | Säilytyksen vaikutukset likvorin glukoosipitoisuuteen     | 7  |
| 4.4 | Likvorin glukoosimäärittäminen eri laboratorioissa        | 8  |
| 5   | Opinnäytetyön tarkoitus, tavoitteet ja tutkimuskysymykset | 9  |
| 5.1 | Tarkoitus   | 9  |
| 5.2 | Tavoitteet  | 10 |
| 5.3 | Tutkimuskysymykset  | 10 |
| 6   | Opinnäytetyön menetelmät                                  | 10 |
| 6.1 | Menetelmälliset lähtökohdat                               | 10 |
| 6.2 | Aineiston keruu   | 11 |
| 6.3 | Aineiston analysointimenetelmä                            | 12 |
| 7   | Tulokset ja tulosten tarkastelu                           | 13 |
| 7.1 | Likvorin glukoosimäärittäminen                            | 13 |
| 7.2 | Likvorin ja plasman glukoosipitoisuuksien suhde           | 18 |
| 8   | Pohdinta  | 21 |
| 8.1 | Luotettavuus  | 21 |
| 8.2 | Eettisyys   | 22 |
| 8.3 | Johtopäätökset  | 23 |
| 8.4 | Kehittämisehdotukset                                      | 25 |
| 8.5 | Ammatillinen kasvu  | 26 |
|     | Lähteet   | 28 |

# 1 Johdanto

Tämän opinnäytetyön aiheena on likvorin glukoosin säilyvyys. Aivo-selkäydinneste eli likvori on selkäytimen ympärillä olevaa kirkasta, väritöntä nestettä. Sitä syntyy aivojen alueella plasmasta suodattamalla. Likvorista voidaan määrittää glukoosipitoisuus, jonka avulla voidaan selvittää esimerkiksi bakteeritulehdusten mahdollisuutta, sillä syynä alentuneeseen glukoosipitoisuuteen voi olla bakteerien aiheuttama lisääntynyt glukosin kulutus. (Halonen & Laitinen & Penttilä 2004: 168–171.) Likvorinäytteet otetaan tavallisesti lumbaalipunktiolla eli lannepistolla. Toimenpide on työläs ja invasiivisuudestaan johtuen siihen liittyy aina riskejä, joita voidaan kuitenkin minimoida oikeilla toimintatavoilla. Aseptiikka on likvorinäytteenotossa erityisen tärkeää. Vakavat komplikaatiot ovat harvinaisia, mutta punktion jälkeinen päänsärky on melko yleinen seuraus likvorinäytteenotosta. Näyte taas voi herkästi kontaminoitua verellä. (Atula 2021; Doherty & Forbes 2014; Lehtiharju & Anttonen & Lempiäinen 2023: 306–307; Soinila 2015b.) Koska näytteenotto on suuren työn takana, on erityisen tärkeää, että näytteet saadaan myös analysoitua luotettavasti. Tästä syystä onkin tärkeää, että likvorinäytteiden käsittely laboratoriossa tapahtuu verifioitua ja standardoitua ohjeistusta noudattaen.

Glukoosi niin kuin moni muukaan kemian analytytti ei säily ikuisesti. Väärä näytteen käsittely tai säilytys voi pilata näytteen. Tutkimuksien välillä erot ovat kuitenkin suuria. Jotkut näytteet säilyvät huoneenlämmössäkin päiviä, toiset näytteet taas vaativat nopeaa jäädyttämistä. Näytteessä olevat elävät solut, etenkin bakteerit ja leukosyytit, voivat myös vaikuttaa määritettävien analytyttien pitoisuuksiin joko niitä kuluttamalla, kuten käyttämällä glukoosia ravinnokseen, tai tuottamalla niitä lisää, joten on tärkeää, että näytteen analysointi voidaan tehdä riittävän nopeasti. (Lakkisto & Hotakainen 2023; Sacks 2015: 383.)

Tämä opinnäytetyö tehtiin ISLAB hyvinvointiyhtymän toimeksiantona. ISLAB on Pohjois-Savon, Etelä-Savon ja Pohjois-Karjalan hyvinvointialueiden omistama laboratorokeskus, joka tuottaa julkisen terveydenhuollon laboratoriopalveluita Itä-Suomen alueella (ISLAB 2022). Opinnäytetyöhön liittyvät glukoosimääritykset tehtiin Joensuussa ISLABin klinisen kemian laboratoriossa. Opinnäytetyön tarkoituksena oli selvittää, miten likvorinäytteiden glukoosipitoisuus muuttuu huoneenlämmössä säilytettäessä. Tämä oli olennaista selvittää, jotta tutkimuksen tiukkoja aikavaatimuksia voidaan katsoa objektiivisesti. Tärkeää on kuitenkin pitää huoli siitä, että potilasnäytteiden laadukas ja luotettava analysointi varmistuu.

## 2 Likvori eli aivo-selkäydinneste

Likvoria muodostuu plasmasta suodattamalla aivojen verisuonipunosten ja ependymisolujen eli aivokammioiden epiteelisolujen läpi aivokammioihin. Ependymisolut osallistuvat myös likvorin koostumuksen säätelyyn. Aivokammioiden läpi kulkeuduttuaan likvori virtaa subaraknoidaalitilaan eli lukinkalvonalaaiseen tilaan. Likvori absorboituu takaisin verenkiertoon kallonsisäisen paineen ja laskimopaineen välisen painegradientin edistämänä. Aivoverenkierron pulssi toimii pumppuna likvorikierrolle. Yhteensä likvoria on aikuisella noin 150 ml ja sitä syntyy noin 500 ml vuorokaudessa. Nopean likvorikierron ansiosta likvori voi toimia myös puskurina kallonsisäisten rakenteiden tilavuuksien muuttuessa. Likvorin muodostama nestevaippa toimii myös iskunvaimentajana aivoille ja selkäytimelle. (Soinila 2015a.) Likvori osallistuu myös keskushermoston säätelytoimintoihin (Sakka & Coll & Chazal 2011).

Likvorinäytteet otetaan lumbaalipunktion eli lannepiston avulla. Näytteenoton tekee aina lääkäri. Ennen pistoa tarkistetaan, että aivopaine on normaali, mikä on edellytys turvalliselle lannepistolle. Näytettä otettaessa potilas makaa kylkiasennossa jalat koukussa rintaa vasten. Normaali pistopaikka on L3- ja L4-nikamien välissä. Kun mandriinilla varustettu neula on saatu likvoritilaan huolellisten valmistelujen ja tarkan piston jälkeen, mandriinin ulosvetämisen jälkeen likvoria alkaa tippua neulasta vaihtelevalla nopeudella. Mikäli likvoria tippuu hyvin, ensimmäiset 10–15 tippaa otetaan hukkaputkeen, jotta artefaktiveri ei aiheuttaisi tulkintavaikeuksia. Likvorinäyteputket numeroidaan ottojärjestyksessä. Normaalisti potilaan tutkimukseen tarvittava kokonaismäärä on 4–5 millilitraa likvoria, mutta tarvittaessa kerralla voidaan ottaa jopa 30 millilitraa. (Atula 2021; Doherty & Forbes 2014; Soinila 2015b.)

Likvoria tutkimalla voidaan arvioida keskushermoston sekä veri-aivoesteen tilaa ja sairauksia. Veri-aivoeste pitää likvorin kemiallisen koostumuksen plasman koostumuksesta eroavana. Koska molekyylien kulku veri-aivoesteen yli on tarkasti säädeltyä, voidaan likvorista näitä molekyyliä tutkimalla arvioida keskushermoston sairauksia. (Lehtiharju ym. 2023: 306, 310.)

Yksi tyypillisimmistä likvorista tehtävistä tutkimuksista on likvorin solut, johon sisältyy likvorin ulkonäön arviointi, erytrosyyttien ja leukosyyttien laskeminen sekä leukosyyttien erittelylaskenta. Tutkimusindikaationa likvorin soluille on yleisimmin epäily keskushermoston infektiosta tai vuodosta. Likvorista voidaan tehdä myös useita erilaisia kemiallisia analyyseja, kuten likvorin kokonaisproteiinin määrittäminen, jota voidaan hyödyntää keskushermoston epäselvien oireiden selvittelyssä, sekä likvorin glukoosin määrittäminen, jolla

on keskeinen rooli pääasiassa bakteerimeningiittidiagnostiikassa. (Lehtiharju ym. 2023: 307–311.) Bakteerimeningiitti on aivoja ja selkäydintä suojaavien kalvojen bakteeriperäinen tulehdus. Se on hengenvaarallinen sairaus, joka täytyy diagnosoida ja hoitaa nopeasti. (Runde & Anjum & Hafner 2023.)

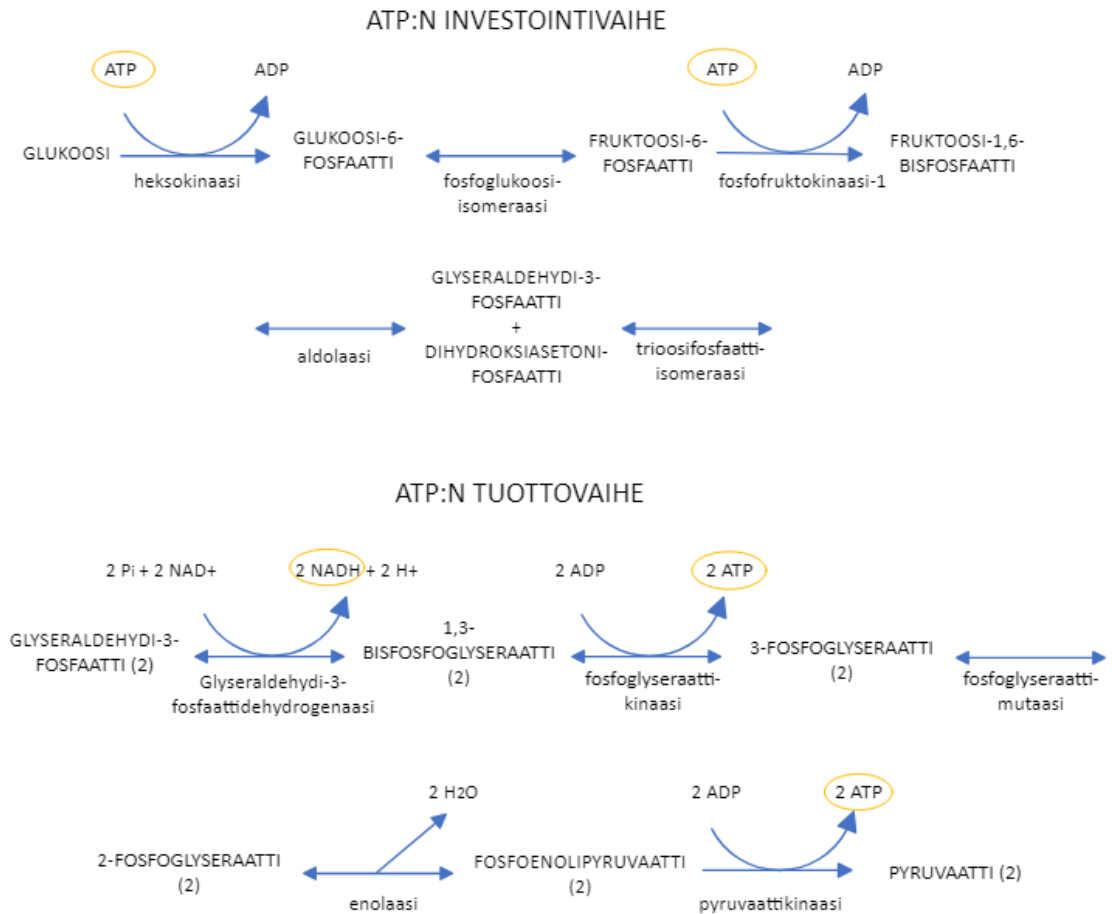
### 3 Glukoosi

Solut tarvitsevat energiaa toimiakseen. Energiaa tuotetaan solujen mitokondrioissa ravintoaineista. (Leppäluoto & Rintamäki & Vakkuri & Vierimaa & Lauri 2019: 42–43.) Glukoosi ( $C_6H_{12}O_6$ ) on monosakkaridi, joka muodostuu kuuden hiiliatomin muodostamasta ketjusta. Se on elimistön tärkein lyhytaikainen energianlähde. Veren glukoosipitoisuus on tarkasti säädelty. Ravinnosta saadut hiilihydraatit pilkkoutuvat glukoosiksi, joka imeytyy verenkiertoon. Glukoosia voidaan tuottaa myös glukoneogeenin avulla rasvojen glyserolista ja proteiinien aminohapoista. Glukoosi varastoituu elimistössä glykokeeniä. Glykokeeni on pallomainen molekyyli, joka muodostuu haarautuvista glukoosiketjuista. Glykokeenimolekyylissä on kymmeniä tuhansia glukoosimolekyylejä. (Leppäluoto ym. 2019: 22, 292.) Glukoosipitoisuuksia voidaan tutkia useista eri biologisista nesteistä. Plasmasta tehtävät glukoosimääritykset ovat tavallisimpia, ja niitä käytetään tutkittaessa diabetesta ja muita glukoosiaineenvaihdunnan häiriöitä sekä glukositasapainoa seurattaessa. (Kubihal & Goyal & Gupta & Khadgawat 2021.)

#### 3.1 Glykolyysi

Glykolyysilla tarkoitetaan glukoosin hajoamista ilman hapen mukanaoloa prosessissa. Glykolyysi tapahtuu solulimassa ja se on olennainen osa solujen energiantuottoa. Yhden glukoosimolekyylin pilkkoutumisesta syntyy kaksi pyruvaattimolekyyliä ja kaksi adonosiinitrifosfaattimolekyyliä eli ATP:tä. (Leppäluoto ym. 2019: 43.)

Glykolyysi jakautuu kymmeneen entsyymattiseen reaktioon. Alkuvaiheen reaktioissa investoidaan ATP:tä ja loppuvaiheen reaktioissa tuotetaan ATP:tä. Lukuun ottamatta ensimmäistä, kolmatta ja viimeistä reaktiota, kaikki glykolyysin reaktiot voivat tapahtua myös käänteiseen suuntaan. Näin tapahtuu glukoneogeenisissä, jossa pyruvaatti muuttuu takaisin glukoosiksi. Glykolyysin ensimmäistä reaktiota katalysoi heksokinaasi, kolmatta reaktiota fosfofruktokinaasi-1 ja kolmatta reaktiota pyruvaattikinaasi. Nämä kolme yksisuuntaista reaktiota ovat tärkeitä glykolyysin säätelyn kannalta. Säätely on tärkeää, jotta solut eivät kuluta resursseja ATP:n tuottamiseen silloin, kun ATP:tä on runsaasti saatavilla. (Chandel 2021.)



Kuvio 1. Glykolyysin vaiheet (Chandel 2021 mukailleen).

Kymmenvaiheisen glykolyysin lopputuloksena syntyy pyruvaattia, joka aerobisissa olosuhteissa kulkeutuu mitokondrioihin sitruunahappokiertoon, jossa energian tuottaminen jatkuu. Sitruunahappokierron reaktioissa syntyy ATP:tä, vetyioneja, elektroneja sekä hiilidioksidia. Seuraava vaihe energiantuotannossa on oksidatiivinen fosforylaatio, jossa vetyioneista ja elektroneista tuotetaan suuri määrä ATP:tä. Anaerobisessa energiantuotannossa pyruvaatti puolestaan pelkistyy laktatiksi. (Chandel 2021; Leppäluoto ym. 2019: 43.)

Vaikka glykolyysi on olennainen osa solujen aineenvaihduntaa, on se glukoosipitoisuuksia määritettäessä kuitenkin ongelma, etenkin jos näytteessä on bakteeri-infektio tai leukosytoosia, jonka syynä likvorissa infektioiden lisäksi voivat myös olla muun muassa tulehdukset sekä neurodegeneratiiviset, neoplastiset tai verenkierron sairaudet. Viivästynyt analyysi voi johtaa näytteiden alentuneisiin glukoosipitoisuuksiin, etenkin jos näyte on otettu säilöntäaineettomaan putkeen, jossa ei ole glykolyysin inhibiittoreita. (Baunbæk Egelund ym. 2017; Grzych & Roland & Beauvais & Maboudou & Lippi 2020; Sacks 2015: 383.)



## 3.2 Likvorin glukoosi

Likvoriin glukoosia suodattuu verestä. Glukoosia päätyy likvoriin sekä pitoisuusgradientin mukaisella diffuusiolla että aktiivisesti endoteelisolujen kuljettamana. (Brunzel 2013: 327.) Likvorin glukoosipitoisuuden diagnostinen merkitys onkin riippuvainen vertailusta plasman glukoosipitoisuuteen. Tyypillisesti likvorin glukoosipitoisuus on 60–70 prosenttia plasman glukoosipitoisuudesta. (Strasinger & Di Lorenzo 2008: 191.) Toisen lähteen mukaan taas normaalia on, että likvorin glukoosipitoisuuden on noin 50–80 prosenttia plasman glukoosipitoisuudesta (Lehtiharju ym. 2023: 310). Kolmannessa lähteessä taas normaaliksi arvoksi kerrotaan 50–60 prosenttia ja vasta alle 40 prosentin arvot olivat patologisia (Deisenhammer ym. 2006: 917). Lääkärin käsikirjassa akuutin avosyntyisen bakterimeningiitin tyyppilöydöksi kerrotaan alle 2 mmol/l glukoosipitoisuus tai alle 0,4 likvorin ja seerumin glukoosin suhde (Kolho & Saarela 2021). Plasamalla ja seerumilla ei glukoosimäärityksen kannalta ole selkeitä eroja, vaikka plasman käyttö mahdollistaakin nopeamman analyysin ja siten vähäisemmän glykolyysin vaikutuksen (Kim 2016).

Likvorin suodattumisessa menee kuitenkin aikaa, joten likvorin glukoosipitoisuus on verrannollinen 1–4 tuntia aiempaan veren glukoosipitoisuuteen. Tämän vuoksi glukosiverinäyte tulisi ottaa 2–3 tuntia ennen likvorinäytteen ottoa. (Lehtiharju ym. 2023: 310.) Kuitenkin potilailta, joilla on epänormaali glukoosiaineenvaihdunta, kuten diabeetikoilta, voi likvorin ja plasman glukoosipitoisuuksien suhteen määrittäminen olla haastavampaa (Tan ym. 2023). Tyypillisesti likvorin alhainen glukoosipitoisuus on yhteydessä kohonneeseen laktaatin pitoisuuteen, koska laktaattia muodostuu glykolyysissä syntyvän pyruvaatin maitohappokäymisessä. Mikäli likvorissa sekä glukoosi- että laktaattipitoisuudet ovat alentuneet, viittaa se glukoosin kuljettajaproteiinin häiriöön. Näissä tapauksissa likvorin ja plasman glukoosipitoisuuksien suhdekin voi olla huomattavan alhainen. (De Vivo 1991; Lehtiharju ym. 2023: 311; Leppäluoto ym. 2019: 43.)

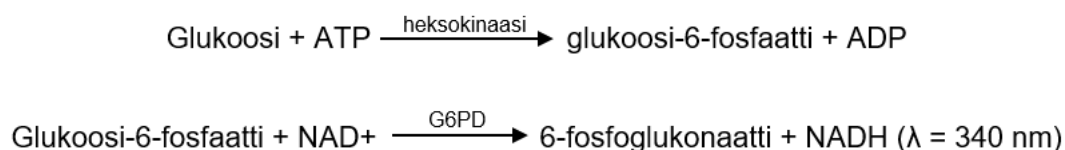
Jos likvorin glukoosipitoisuus on normaalia alempi, viittaa se glukoosin lisääntyneeseen käyttöön lukinkalvo-ontelossa. Lisääntyneen kulutuksen syynä voivat olla mikrobit ja leukosyytit, mutta myös aivosolujen lisääntynyt glukoosin kulutus. Selittäväenä tekijänä likvorin alhaiselle glukoosipitoisuudelle voi olla myös veri-aivoesteen suodatusongelmat. Bakterimeningiitti voi aiheuttaa merkittävän glukoosipitoisuuden laskun. Tämän vuoksi likvorin glukoosipitoisuuden määrittäystä käytetään meningiittien diagnostiikassa. Bakterimeningiittiin liittyy alentuneen glukoosipitoisuuden lisäksi kasvanut leukosyyttien määrä ja suuri neutrofiilien osuus. Jos taas leukosyytit ovat etupäässä lymfosyyttejä, voidaan epäillä tuberkuloosin aiheuttamaa aivokalvontulehdusta. Virusperäiseen

aivokalvontulehdukseenkin liittyy kasvanut lymfosyyttien määrä, mutta tällöin likvorin glukoosipitoisuus pysyy tavallisesti viiterajojen mukaisena. Muitakin mahdollisia syitä alhaiseen likvorin glukoosipitoisuuteen on monia, kuten esimerkiksi kasvaimet ja syövä, virus- ja bakteerienkefaliitit sekä hypoglykemia. Näissä tapauksissa glukoosipitoisuuden lasku on kuitenkin lievempää. Kohonneet likvorin glukoosipitoisuudet johtuvat yleensä hyperglykemiasta. Kohonneilla likvorin glukoosipitoisuuksilla ei kuitenkaan ole diagnostista merkitystä. Ne ovatkin aina yhteydessä myös kohonneisiin plasman glukoosipitoisuuksiin. (Brunzel 2013: 327; Lehtiharju & Anttonen & Lempiäinen 2023: 310–311; Strasinger & Di Lorenzo 2008: 191–192; Verkkoniemi-Ahola 2021.)

## 4 Glukoosin määrittäminen

### 4.1 Heksokinaasimenetelmä

Näytteiden glukoosipitoisuus voidaan määrittää useaa eri menetelmää käyttäen. Näitä menetelmiä ovat esimerkiksi heksokinaasimenetelmä, glukoosioksidaasimenetelmä ja glukoosidehydrogenaasimenetelmä. (Sacks 2015: 382–385.) Heksokinaasimenetelmän tarkkuus tekee siitä yhden käytetyimmistä menetelmistä eri biologisten nesteiden glukoosipitoisuuksien määrittämiseksi (Sonagra & Motiani 2023). Myös ISLAB käyttää heksokinaasimenetelmää likvorin glukoosipitoisuuden määrittämisessä (ISLAB a).



Kuvio 2. Heksokinaasimenetelmän vaiheet (Duxbury 2004).

Ensimmäisessä vaiheessa ATP fosforyloi näytteen glukoosin heksokinaasientsyymin katalysoimassa reaktiossa ja muodostuu glukoosi-6-fosfaattia. Muodostunut glukoosi-6-fosfaatti muuttuu 6-fosfoglukonaatiksi glukoosi-6-fosfaattihydrogenaasin katalysoimassa reaktiossa ja samalla NAD<sup>+</sup> muuttuu NADH:ksi. NADH mitataan fotometrisesti 340 nm:n aallonpituudella. Muodostuneen NADH:n määrä on suoraan verrannollinen näytteen glukoosipitoisuuteen. (Duxbury 2004; Kubihal ym. 2021: 46–47; Sacks 2015: 383–384; Sonagra & Motiani 2023.)

## 4.2 Glukoosinäytteiden näyteastiat

Glukoosiverinäytteille tyypillisesti käytetään näyteputkia, jotka sisältävät fluoridia, joka toimii glykolyysin inhibiittorina. Natriumfluoridiputketkaan eivät kuitenkaan kykene pysäyttämään glykolyysiä riittävän nopeasti. Tämä johtuu siitä, että fluoridin toimintamekanismi perustuu enolaasin inhiboimiseen. Enolaasi on entsyymi, joka on osana glykolyysin yhdeksättä vaihetta. Glykolyysin aikaisemmissa vaiheissa siis glukoosin metabolointi jatkuu. Täydelliseen glykolyysin pysähtymiseen voi mennä jopa neljä tuntia ja tänä aikana näytteen glukoosipitoisuus voi laskea useita prosentteja. Muitakin näyteputkivaihtoehtoja on käytössä. Fluoridisitraattiputkien on havaittu toimivan hyvin glykolyysin pysäyttämiseksi verinäytteissä. Myös kylmäsäilytyksellä voidaan hidastaa glykolyttistä toimintaa huomattavasti. Punktionesteissä yleisesti näyteastiana käytetyt litiumhepariiniputket eivät kylmähauteessa säilytettyinäkään kuitenkaan täysin pysäytä glykolyysiä. (van den Berg & Thelen & Salden & van Thiel & Boonen 2015; Chandel 2021; Gambino ym. 2009; Mikesch & Bruns 2008.)

Muista punktionesteistä poiketen likvorinäytteet otetaan normaalisti lisäaineettomiin muoviputkiin, joten likvorinäytteissä glykolyysin vaikutusta voidaan ehkäistä vain kylmäsäilytyksellä ja näytteen nopealla erottelulla (Fimlab 2022; HUSLAB; ISLAB a; Nordlab, Tyks laboratoriot). Suomen ulkopuolella muitakin toimintatapoja on käytössä. Likvorinäytteiden näyteastiana glukoosimääritystä varten voidaan käyttää esimerkiksi fluoridioksalaattiputkea (Weiland & Hanning & Mouhamadou & Wearmouth 2015).

## 4.3 Säilytyksen vaikutukset likvorin glukoosipitoisuuteen

Brasilialaisessa tutkimuksessa vuodelta 2019 tutkittiin säilytyksen vaikutusta likvorin sytologiisiin ja biokemiallisiin parametreihin. Tutkimuksessa aineistona oli likvorinäyte 20 potilaalta. Jokainen näyte jaettiin viiteen putkeen, joita säilytettiin huoneenlämmössä. Näytteistä analysoitiin proteiini-, laktaatti- ja glukoosipitoisuudet sekä laskettiin erytrosyytit ja leukosyytit ja tehtiin erittelylaskenta. Ensimmäisen analyysin jälkeen seuraavat analyysit olivat 2, 3, 4 ja 12 tunnin kuluttua. Glukoosin määrittämiseen käytettiin kolorimetristä menetelmää. Tutkimuksessa ei löydetty juurikaan muutosta tuloksissa glukoosin, laktaatin tai proteiinien pitoisuuksissa edes 12 tunnin kuluttua alkuhetkestä. Solulaskennan tuloksissakaan ei tapahtunut tilastollisesti merkittävää muutosta 12 tunnin aikana. Huoneenlämmössä säilytys 12 tunnin ajan ei vaikuttanut analyysien tuloksista tehtäviin kliinisiin johtopäätöksiin. (Domingues & Brunale & Bruniera & Senne 2019.)

Dujmovic ja Deisenhammer selvittivät vuoden 2010 tutkimuksessaan säilytyksen vaikutusta likvorin ja seerumin glukoosin suhteeseen sekä likvorin laktaattipitoisuuksiin. Näytteitä säilytettiin  $+4^{\circ}\text{C}$ :n lämpötilassa. Mittauksia tehtiin 1, 2, 4 ja 24 tunnin kuluttua lähtötilanteesta. Glukoosipitoisuuksissa ei ollut merkittävää muutosta lähtötilanteeseen verrattuna edes 24 tunnin kuluttua lähtötilanteesta. Likvorin solujen määrällä ei havaittu olevan vaikutusta glukoosipitoisuuksiin. Myös laktaattipitoisuudet säilyivät vakaana. Likvorin ja seerumin glukoosin suhde kuitenkin kasvoi, sillä seerumin glukoosipitoisuuksien havaittiin selkeästi laskeneen 24 tunnin kohdalla. (Dujmovic & Deisenhammer 2010.)

#### 4.4 Likvorin glukoosimääritykset eri laboratorioissa

Jokainen laboratorio määrittää itsenäisesti tutkimustensa ohjeistuksen luotettavaan tietoon perustuen, mutta muita laboratorioita voi tuki käyttää vertailukohtana ja niistä voi myös saada inspiraatiota tutkimusohjeistuksien päivittämiseksi. Suomen eri laboratorioiden tutkimusohjekirjoissa onkin selkeitä eroja vertailtaessa likvorin glukoosinäytteiden säilyvyysaikoja.



Kuvio 3. Likvorin glukoosinäytteiden vaiheet (ISLAB).

Likvorin osalta Fimlab ilmoittaa vain, että glukoosimääritys tehdään välittömästi (Fimlab 2022). HUSLABin ohjekirjan mukaan likvorin glukoosimääritys on tehtävä tunnin kuluessa näytteenotosta, eikä kylmäkuljetusvaatimusta ole (HUSLAB). Nordlabin ilmoittama Li-glukoosinäytteen säilyvyys on 30 minuuttia näytteenotosta kylmässä, mikä vastaa myös ISLABin ohjeistusta (ISLAB a; Nordlab). Tyks laboratorioden ohjekirjan mukaan likvorin glukoosinäyte on analysoitava mahdollisimman nopeasti (Tyks laboratoriot).

Taulukko 1. Li-Gluk-näytteet eri laboratorioiden tutkimusohjekirjojen mukaan (Fimlab 2022; HUSLAB; ISLAB a; Nordlab; Tyks laboratoriot).

|         | Analysointi näytteenoton jälkeen | Kylmäkuljetus laboratorioon | Näyteastia              | Miniminäytemäärä (ml) | Menetelmä                                       |
|---------|----------------------------------|-----------------------------|-------------------------|-----------------------|---|
| Fimlab  | Välittömästi                     | -                           | Tehdaspuhdas muoviputki | 0,5                   | Entsyaattinen                                   |
| HUSLAB  | 60 minuutin kuluessa             | -                           | Tehdaspuhdas muoviputki | 0,5                   | Fotometrinen (heksokinaasi)                     |
| ISLAB   | 30 minuutin kuluessa             | Kyllä                       | Steriili näyteastia     | 0,5                   | Entsyaattinen (heksokinaasi)                    |
| Nordlab | 30 minuutin kuluessa             | Kyllä                       | Steriili muoviputki     | 0,5                   | Amperometrinen tai entsyaattinen (heksokinaasi) |
| Tykslab | Mahdollisimman nopeasti          | -                           | Steriili muoviputki     | 0,5                   | Fotometrinen                                    |

Kaikissa laboratorioissa likvorin glukoosimääritys ohjeistetaan siis tekemään nopeasti. Vain ISLABin ja Nordlabin ohjeistuksessa edellytetään näytteen kylmäkuljetusta laboratorioon. Ajallisesti HUSLABin ohjeistus on muita hieman anteeksiantavampi eikä vaadi aivan yhtä nopeaa näytteen analysointia.

## 5 Opinnäytetyön tarkoitus, tavoitteet ja tutkimuskysymykset

### 5.1 Tarkoitus

Tämän opinnäytetyön tarkoituksena on selvittää likvorin glukoosin säilyvyyttä. ISLABin tutkimusohjekirjan mukaan likvorin glukoosinäytteet tulee säilyttää kylmässä ja analysoida 30 minuutin kuluessa näytteenotosta. Likvorinäytteet otetaan säilöntäaineettoa putkeen. (ISLAB a.) 30 minuutin vastausaika näytteille aiheuttaa haasteita laboratorioon. Näytteiden saapumiseen laboratorioon, näytteiden käsittelyyn laboratoriossa, sentrifugointiin ja analysointiin analysaattorilla kuluu aikaa, eikä viivästyksille ole sijaa, mikäli näytteet halutaan saada aikarajan puitteissa analysoitua.

## 5.2 Tavoitteet

Opinnäytetyön tavoitteena on tuottaa luotettavaa tietoa glukoosin säilymisestä likvori-näytteissä. Mikäli tutkimustulosten perusteella voidaan havaita näytteiden glukoosipitoisuuksien säilyvän riittävän kauan muuttumattomina, voitaisiin potilasnäytteiden vastaavaa mahdollisesti pidentää puolesta tunnista esimerkiksi tuntiin. Tämä helpottaisi laboratorion arkea etenkin laboratorion kiireisimpinä hetkinä, kun näytteen käsittelyn ja analysoinnin pieni viivästyminen ei heti johtaisi laatu-poikkeamaan.

## 5.3 Tutkimuskysymykset

Tutkimuksen voidaan katsoa olevan onnistunut, jos sen avulla pystytään luotettavasti vastaamaan tutkimuskysymyksiin (Heikkilä 2014: 27). Tämän opinnäytetyön tutkimuskysymykset on pyritty pitämään yksinkertaisina ja sellaisina, johon voidaan aineiston perusteella luotettavasti vastata.

- Miten sentrifugoitujen huoneenlämmössä säilytettyjen likvori-näytteiden glukoosipitoisuus 60 minuutin ja 90 minuutin kuluttua näytteenotosta eroaa alkuperäisen glukoosimäärityksen tuloksesta?
- Tapahtuuko likvorin glukoosipitoisuuden suhteessa plasman glukoosipitoisuuden kliinisesti merkittävää muutosta viivästyneen analyysin vuoksi?

Näihin tutkimuskysymyksiin etsitään vastausta tutkimalla riittävä määrä likvori-näytteitä.

# 6 Opinnäytetyön menetelmät

## 6.1 Menetelmälliset lähtökohdat

Tässä opinnäytetyössä tehdään kvantitatiivista tutkimusta. Testisarjan analysoinnin tuloksia verrataan aikapisteittäin näytteen alkuperäiseen glukoosimäärityksen tulokseen. Määritysten tulosten perusteella voidaan tehdä johtopäätöksiä glukoosipitoisuuden muutoksista huoneenlämmössä säilytetyissä sentrifugoiduissa likvori-näytteissä. Tutkimusasetelmassa esitettyihin kysymyksiin kyetään vastaamaan riittävällä luotettavuudella, kun aineiston kerääminen ja analysointi suoritetaan tarkoitukseen sopivia menetelmiä asianmukaisesti käyttäen. Kvantitatiivinen tutkimus edellyttää kuitenkin riittävän suurta ja edustavaa otosta (Heikkilä 2014: 15).

## 6.2 Aineiston keruu

Aineisto opinnäytetyöhön kerättiin vuoden 2024 alussa ISLABin kliinisen kemian laboratorioissa Joensuussa. Näyteaineistona oli Joensuun keskussairaalan ensiavusta ja poliklinikoilta laboratorioon saapuvat potilasnäytteet. Likvorinäytteet tuodaan normaalisti välittömästi näytteenoton jälkeen laboratorioon eritetyöpisteeseen, jossa näytteet kuitataan saapuneeksi. Jokaisen laboratorioon saapuvan likvorinäytteen soveltuminen tutkimukseen arvioitiin erikseen. Tapauskohtaiset poissulkukriteerit olivat näytteen puutteellinen määrä tai sellaiset näytteen laadulliset tai preanalyttiset ongelmat, jotka kokonaan olisivat estäneet analyysin. Esimerkiksi selkeästi veristä likvorinäytettä ei otettu mukaan opinnäytetyön aineistoon. Kaikkia muuten soveliaita näytteitä ei voitu hyödyntää opinnäytetyössä näytteiden myöhäisen saapumisajan tai laboratorion muiden kiireiden vuoksi. Päivystysaikaan otettuja näytteitä ei huomioitu aineistoa kerätessä. Opinnäytetyön aineistoon saatiin kerättyä yhteensä 15 likvorinäytettä.

Likvorinäytteet saapuvat laboratorioon numeroiduissa tai tarroitetuissa putkissa, mutta opinnäytetyön mittauksissa käytettiin samaa putkea, josta normaalistikin analysoitaisiin näytteen glukoosipitoisuus. Biosuojakaapissa tätä näyteputkea sekoitettiin kääntelemällä, minkä jälkeen siitä pipetoitiin 300 µl likvoria Eppendorf-putkeen. Tämän määrän todettiin olevan riittävä kolmea analyysia varten. Samasta alkuperäisestä näyteputkesta analysoidaan normaalisti myös likvorin solut, jota varten likvoria täytyi myös riittävästi säästää. Eppendorf-putki sentrifugoitiin 1500 g:ssä 10°C:n lämpötilassa 10 minuutin ajan. Sentrifugoinnin jälkeen näyte toimitettiin analysaattoriyöpisteelle analysoitavaksi.

Analysaattoriyöpisteellä supernatantti pipetoitiin näyteräkkiin sopivaan näyteastiaan, ja näyte analysoitiin käyttäen entsyymaattista heksokinaasimenetelmää, ja potilastulokset vastattiin ohjeistuksen mukaisesti. Analyysin jälkeen näytteen annettiin vanheta samassa näyteastiassa huoneenlämmössä. Seuraava analyysi tehtiin 60 minuutin kuluttua näytteenottoajankohdasta ja viimeinen analyysi 90 minuutin kuluttua näytteenottoajankohdasta. Tulokset kirjattiin ylös. Potilasvastauksen tuottamisen hoitivat kulloinkin analysaattoriyöpisteillä työskentelevät henkilökunnan jäsenet työohjeistuksen mukaisesti. Lisäanalyysit suoritettiin yhteistyönä työpisteen, opiskelijan ja ohjaajan kanssa. Koska normaalisti likvorin glukoosiarvoja verrataan plasman glukoosiarvoihin, tarkistettiin myös potilaiden samana päivänä plasmasta tehdyn glukoosimäärityksen tulokset. Kaikki mittaukset suoritettiin Cobas 6000 -analysaattorin c 501 -yksiköllä. Kaikkien näytekohtaisten aikapisteiden määritykset suoritettiin samalla analysaattorilla. Menetelmä

vakioitiin ISLABin ja menetelmävalmistajien ohjeistuksien mukaisesti menetelmän toimittajan materiaalilla.

ISLABin tutkimusohjekirjan mukaan likvorin glukosinäytteiden tulisi saapua laboratorioon kylmävaraajaan käärittynä (ISLAB a). Kaikki opinnäytetyössä käytetyt näytteet saapuivat laboratorioon kuitenkin ilman kylmäsäilytystä. Osassa näytteistä oli näyteputkiin osastolla kiinnitetyt tarrat, joista selviää henkilötietojen lisäksi muun muassa kellonaika. Laboratorion tietojärjestelmästä voidaan myös tarkistaa lähetteen kellonaika. Nämä eivät kuitenkaan kerro koko totuutta todellisesta näytteenottoajankohdasta, vaan näytteenottoajankohta arvioitiin näiden kellonaikojen sekä näytteen laboratorioon saapumisen ajankohdan avulla. Absoluuttista totuutta näytteenottoajankohdasta ei voida näin saavuttaa, mutta lopputulos on kuitenkin totuudenmukaisempi, kuin pelkästään luottamalla välillä hyvinkin selkeästi epätosiin lähetteen kellonaikatietoihin.

### 6.3 Aineiston analysointimenetelmä

Mittaustulosten perusteella muodostetaan taulukko, josta ilmenee tutkittavien näytteiden glukosipitoisuudet alkuperäisessä analyysissä sekä näytteiden glukosipitoisuudet tunnin ja puolentoista tunnin kuluttua näytteenotosta. Mittaustuloksia analysoidaan tarkoitukseen soveltuvia matemaattisia ja tilastollisia työkaluja käyttäen, joilla mahdollisimman selvästi tuodaan ilmi se, kuinka paljon näytesarjojen tulokset muuttuvat alkuperäisen analyysin tulokseen verrattuna. Tulokset esitetään graafisesti, jotta ne olisivat mahdollisimman selkeästi tulkittavissa. Tulosten taulukointiin ja graafiseen esittämiseen käytetään Microsoft Excel -taulukkolaskentaohjelmaa.

Mittaustulosten tulkitsemiseen käytetään erilaisia tunnuslukuja. Näitä ovat keskiarvo, keskihajonta sekä variaatiokerroin (CV%). Keskihajonta eli standardipoikkeama kertoo mittaustulosten hajonnasta keskiarvon ympärillä. Variaatiokerroin voidaan laskea keskiarvon ja keskihajonnan suhteena. Se kertoo suhteellisesta hajonnasta. (Heikkilä 2014: 83, 86–87.)

Opinnäytetyössä tutkitaan 60 minuutin ja 90 minuutin analyysituloksien yhteyttä alkuperäisiin tuloksiin. Pearsonin korrelaatiokerroin soveltuu kahden muuttujan välisen lineaarisen riippuvuuden tutkimiseen. Selitysaste kertoo siitä, kuinka suuren osan toinen muuttuja selittää toisen muuttujan vaihteluista. Selitysaste lasketaan korottamalla korrelaatiokerroin toiseen potenssiin. Näitä riippuvuuksia havainnollistetaan hajontakuvioiden avulla.



den avulla. Hajontakaavioon voidaan sijoittaa myös regressiosuora, jonka avulla voidaan mallintaa muuttujien välistä lineaarista riippuvuutta. (Heikkilä 2014: 192–193, 223.)

Mittaustuloksia analysoimalla voidaan selvittää muun muassa kuinka monta prosenttia 60 ja 90 minuutin analyysien tulokset eroavat alkuperäisistä tuloksista. Eroprosentit paljastavat myös sen ovatko 60 ja 90 minuutin analyysien tulokset asetetun hyväksymisrajan sisällä. Mikäli glukoosin säilyvyys todetaan riittävän hyväksi, voidaan varmistua siitä, että potilasnäytteitä voidaan luotettavasti vastata, vaikka näytteenotosta olisi kulunut pidempäänkin kuin 30 minuuttia, kunhan näyte saadaan sentrifugoitua riittävän nopeasti.

## **7 Tulokset ja tulosten tarkastelu**

### **7.1 Likvorin glukoosimääritykset**

Yhteensä likvorinäytteitä opinnäytetyössä oli 15. Kaikille näytteille saatiin onnistuneesti tehtyä kolme määritystä. Määritysten tulokset on koottu taulukkoon 2. Siinä verrataan 60 ja 90 minuutin määritysten tuloksia alkuperäisen määrittelyn tulokseen erotuksien ja eroprosenttien avulla. Lisäksi variaatiokertoimet on laskettu jokaisen näytteen kohdalla erikseen, mikä kertoo tulosten hajonnasta kolmen eri määrittelyn välillä.

Taulukko 2. Likvorinäytteiden mitatut glukoosipitoisuudet, erotukset, eroprosentit sekä variaatiokertoimet (CV%).

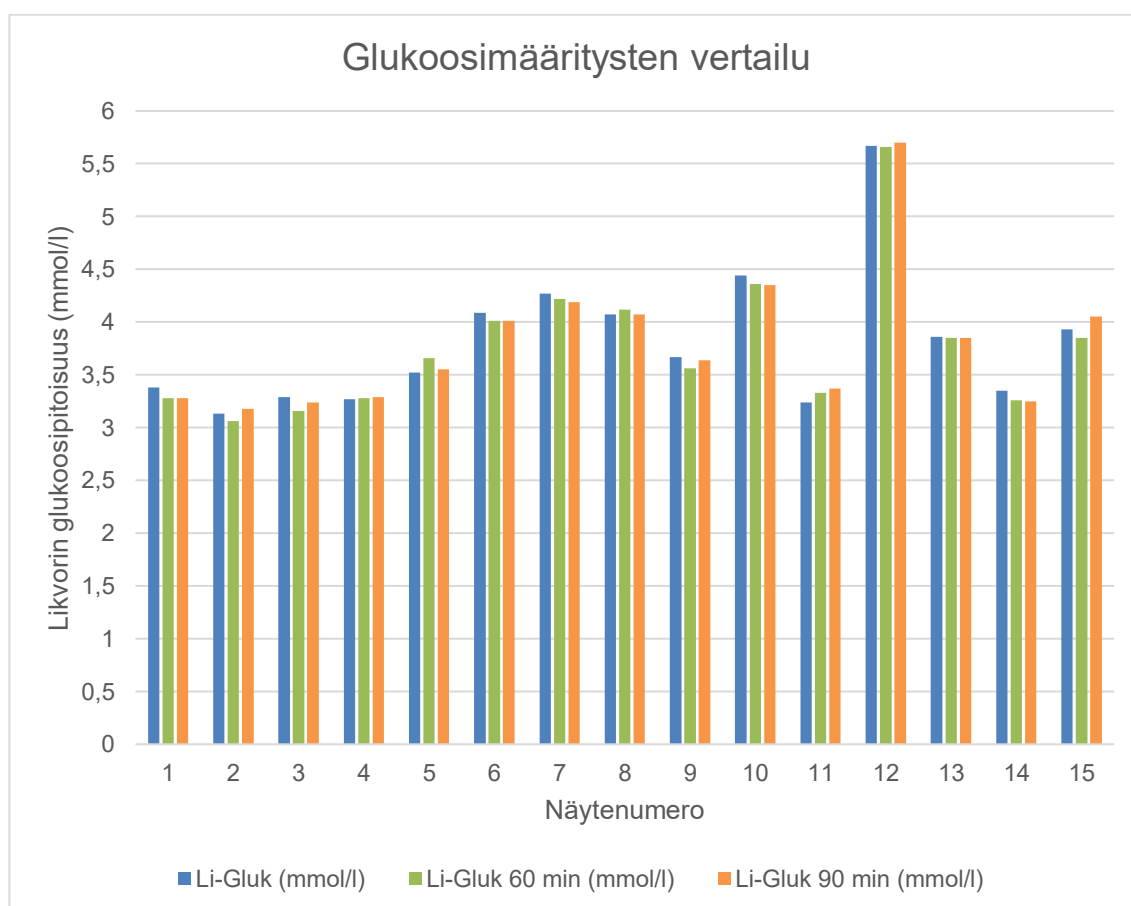
| Näyte     | Li-Gluk (mmol/l) | Li-Gluk 60 min (mmol/l) | Li-Gluk 90 min (mmol/l) | Ero 60 min (mmol/l) | Ero 90 min (mmol/l) | Ero% 60min | Ero% 90 min | Li-Gluk CV% |
|-----------|------------------|-------------------------|-------------------------|---------------------|---------------------|------------|-------------|-------------|
| 1         | 3,38             | 3,28                    | 3,28                    | -0,10               | -0,10               | -3,0 %     | -3,0 %      | 1,7 %       |
| 2         | 3,13             | 3,06                    | 3,18                    | -0,07               | 0,05                | -2,2 %     | 1,6 %       | 1,9 %       |
| 3         | 3,29             | 3,16                    | 3,24                    | -0,13               | -0,05               | -4,0 %     | -1,5 %      | 2,0 %       |
| 4         | 3,27             | 3,28                    | 3,29                    | 0,01                | 0,02                | 0,3 %      | 0,6 %       | 0,3 %       |
| 5         | 3,52             | 3,66                    | 3,55                    | 0,14                | 0,03                | 4,0 %      | 0,9 %       | 2,1 %       |
| 6         | 4,09             | 4,01                    | 4,01                    | -0,08               | -0,08               | -2,0 %     | -2,0 %      | 1,1 %       |
| 7         | 4,27             | 4,22                    | 4,19                    | -0,05               | -0,08               | -1,2 %     | -1,9 %      | 1,0 %       |
| 8         | 4,07             | 4,12                    | 4,07                    | 0,05                | 0,00                | 1,2 %      | 0,0 %       | 0,7 %       |
| 9         | 3,67             | 3,56                    | 3,64                    | -0,11               | -0,03               | -3,0 %     | -0,8 %      | 1,6 %       |
| 10        | 4,44             | 4,36                    | 4,35                    | -0,08               | -0,09               | -1,8 %     | -2,0 %      | 1,1 %       |
| 11        | 3,24             | 3,33                    | 3,37                    | 0,09                | 0,13                | 2,8 %      | 4,0 %       | 2,0 %       |
| 12        | 5,67             | 5,66                    | 5,70                    | -0,01               | 0,03                | -0,2 %     | 0,5 %       | 0,4 %       |
| 13        | 3,86             | 3,85                    | 3,85                    | -0,01               | -0,01               | -0,3 %     | -0,3 %      | 0,1 %       |
| 14        | 3,35             | 3,26                    | 3,25                    | -0,09               | -0,10               | -2,7 %     | -3,0 %      | 1,7 %       |
| 15        | 3,93             | 3,85                    | 4,05                    | -0,08               | 0,12                | -2,0 %     | 3,1 %       | 2,6 %       |
| Keskiarvo | 3,81             | 3,78                    | 3,80                    | -0,03               | -0,01               | -0,9 %     | -0,3 %      | 1,4 %       |

Erot mittausten välillä ovat pieniä. Suurin ero alkuperäiseen mittaukseen verrattuna on viidennen näytteen 60 minuutin glukoosimäärityksen kohdalla. Erotus alkuperäiseen siinä on 0,14 mmol/l. Prosentteina se on 4,0 %. Sama 4,0 % ero on myös havaittavissa myös kahden muun määrityksen kohdalla. Keskiarvoja verrattaessa alkuperäisen määrityksen tulokset ovat niukasti suuremmat kuin 60 ja 90 minuutin määritysten tulokset. Variaatiokertoimet ovat kaikkien näytteiden osalta pieniä. Suurin variaatiokerroin on 2,6 % ja variaatiokertoimien keskiarvo on 1,4 %. Laatutavoitetyöryhmän glukoosimäärityksen variaatiokertoimelle asettama tavoite on 2,1 % (Sorto & Törmä & Kaihola 1996). Yhtä näytettä lukuun ottamatta kaikki variaatiokertoimet täyttävät tämän tavoitteen. Variaatiokertoimien perusteella voidaan todeta, että hajonta on vähäistä.

ISLABin ilmoittama viitearvo likvorin glukoosille on 3,2–4,5 mmol/l (ISLAB a). Eri laboratorioilla on käytössä hieman eritasoisia viitearvoja likvorin glukoosille. Lääkärin käsi-

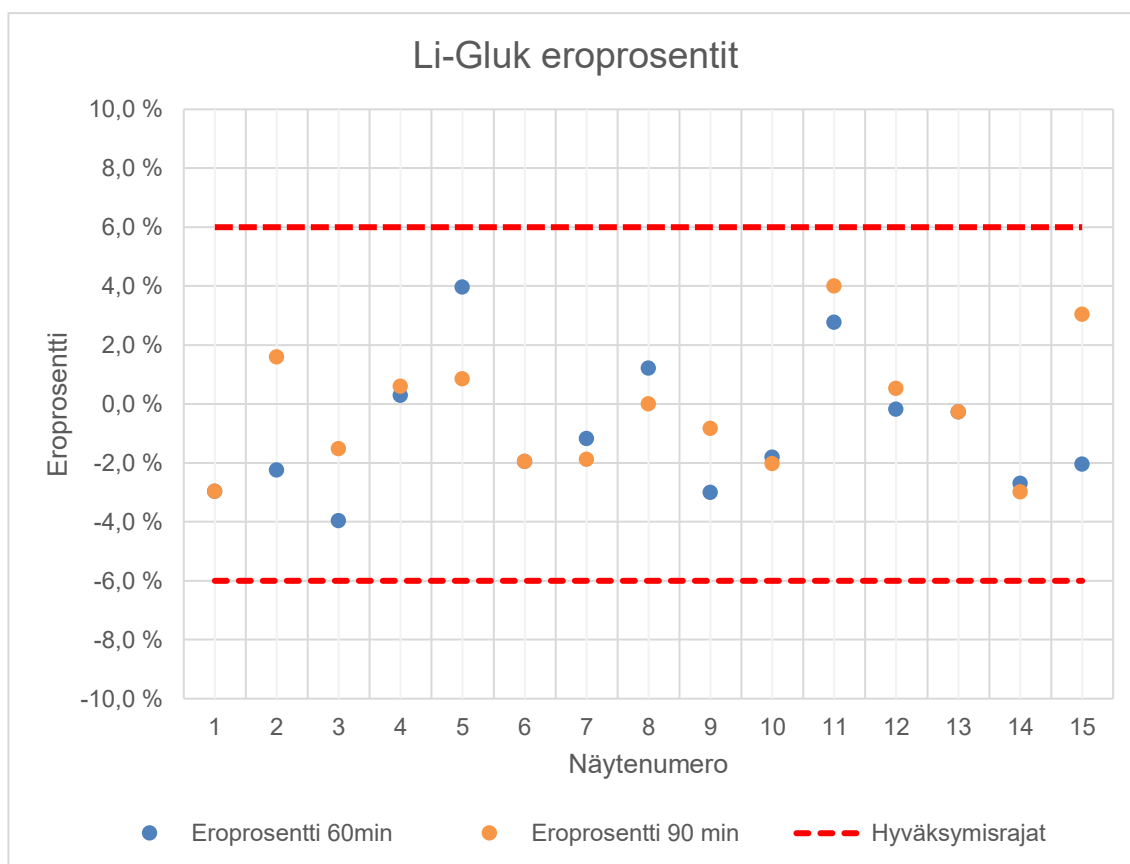
kirjassa likvorin glukoosin normaaliarvoksi todetaan 2,2–4,2 mmol/l (Atula 2021). Taulukosta 2 voidaan havaita, että melkein kaikki tulokset ovat ISLABin ilmoittamien viitearvojen rajoissa. Yksi tuloksista on viitearvojen yläpuolella ja yksi hieman viitearvojen alapuolella. Tulosten keskiarvot ovat kaikilla määrittymishetkillä viitealueella (Taulukko 3). On kuitenkin muistettava, että likvorin ja plasman glukoosipitoisuuksien suhteella on suuri diagnostinen merkitys, joten pelkkään likvorin glukoosin viitearvoon vertaaminen ei ole kovin hyödyllistä.

Pylväsdiagrammi soveltuu glukoosimääritysten erojen havainnollistamiseen. Sitä tarkastelemalla voidaan havaita, että kaikkien näytteiden rinnakkaisanalyysien tulokset olivat hyvin samantasoisia. Kahdeksassa näytteessä viidestätoista 60 ja 90 minuutin määritysten tulokset laskivat hieman alkuperäisestä tuloksesta.



Kuvio 4. Pylväsdiagrammissa jokaisen näytteen kohdalla ovat rinnakkain kaikkien kolmen määrittymisen tulokset.

Eroprosentteja tarkastellaan tarkemmin kuviossa 5. Siinä määritysten eroprocentit on esitetty yhdessä hyväksymisrajojen kanssa, mikä tekee siitä soveliaan havainnollistamaan rinnakkaismääritysten erojen merkityksellisyyttä.



Kuvio 5. 60 ja 90 minuutin analyysien eroprocentit yhdessä hyväksymisrajojen kanssa.

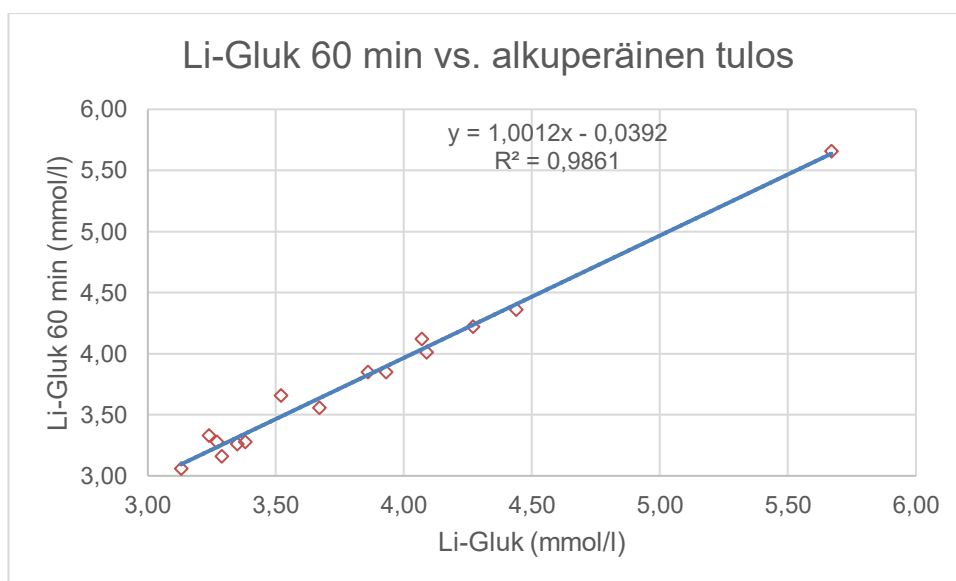
Kaikki 60 minuutin ja 90 minuutin jälkeen tehdyt glukoosimääritykset erosivat alkuperäisestä määrityksestä korkeintaan 4 %. Hyväksymisraja glukoosimäärityksen pitoisuuserolle on  $\pm 6$  %, joten kaikki tulokset olivat hyväksymisrajojen sisällä (Sorto ym. 1996). Asiantuntijaryhmän asettama hyväksymisraja saadaan ulkoiselta laadunarviointipalvelulta ja se perustuu biologisen variaation ja kliinisen diagnostiikan asettamiin tarvevaatimuksiin. Kuvio 5 voidaan helposti havaita, että vaihtelua on kumpaankin suuntaan alkuperäisestä tuloksesta, ja osassa näytteistä 90 minuutin tulos eroaa alkuperäisestä vähemmän kuin 60 minuutin tulos.

Taulukko 3. Keskiarvot ja keskihajonta sekä keskiarvojen erotukset ja eroprocentit.

|                                | Keskiarvo   | Keskihajonta | Ero (mmol/l) | Eroprosentti  |
|--------------------------------|-------------|--------------|--------------|---------------|
| <b>Li-Gluk (mmol/l)</b>        | <b>3,81</b> | <b>0,66</b>  |              |               |
| <b>Li-Gluk 60 min (mmol/l)</b> | <b>3,78</b> | <b>0,66</b>  | <b>-0,03</b> | <b>-0,9 %</b> |
| <b>Li-Gluk 90 min (mmol/l)</b> | <b>3,80</b> | <b>0,66</b>  | <b>-0,01</b> | <b>-0,3 %</b> |

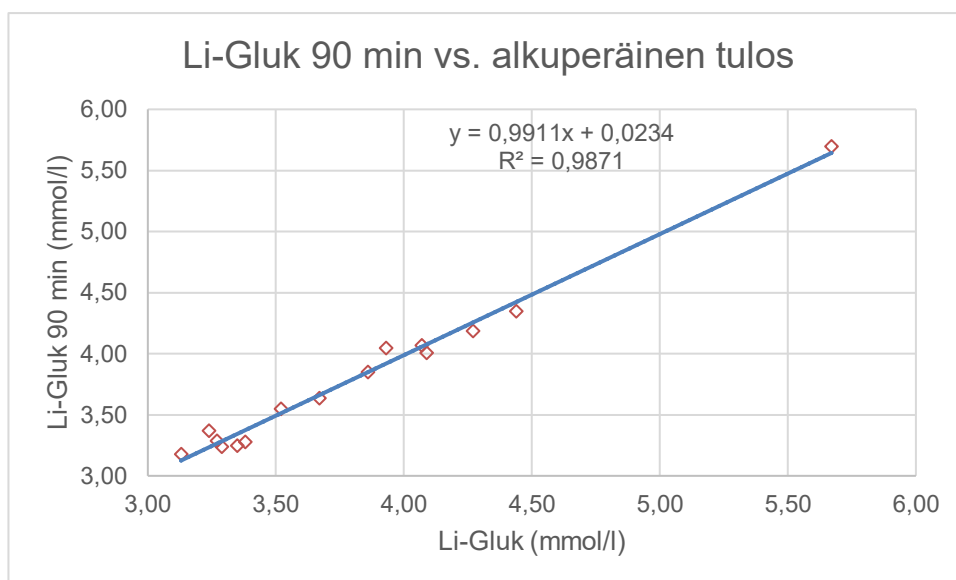
Taulukossa 3 keskitytään keskiarvojen tarkasteluun. Likvorinäytteiden glukoosimääritysten keskiarvo 60 minuutin kohdalla on 0,03 mmol/l pienempi kuin alkuperäisessä määrittämissä. 90 minuutin keskiarvo on vain 0,01 mmol/l pienempi kuin alkuperäisessä määrittämissä. Nämä erot eivät ole merkityksellisiä ja ero prosentitkin ovat hyvin pienet. Keskihajonnat ovat kaikilla määrittämissä hetkillä hyvin yhtäläiset. Lisäksi voidaan laskea variaatiokerroin keskiarvoille, ja saadaan tulokseksi 0,5 %. Tämä pieni variaatiokerroin osoittaa keskiarvojen hajonnan olevan hyvin pientä.

Riippuvuuksia voidaan havainnollistaa hajontakuvioiden ja regressiosuorien avulla. Kuviossa 6 verrataan 60 minuutin jälkeen tehdyn glukoosimäärittämissä tulosta alkuperäisen glukoosimäärittämissä tulokseen.



Kuvio 6. Alkuperäisen glukoosimäärittämissä tulos verrattuna 60 minuuttia näytteenoton jälkeen tehdyn glukoosimäärittämissä tulokseen

Hajontakuviiossa pisteet ovat sijoittuneet varsin lineaarisesti, mikä kertoo siitä, että tulokset ovat varsin yhteneviä. Pearsonin korrelaatiokerroin  $R=0,99301$ , joten muuttujilla on vahva lineaarinen riippuvuus. Selitysaste  $R^2=0,9861$ , mikä tarkoittaa sitä, että 98,6% muuttujan y vaihteluista voidaan selittää muuttujan x avulla, eli 60 minuutin kohdalla tehtyjen likvorin glukoosimäärittämissä tulokset ovat selkeästi selitettävissä alkuperäisten glukoosimäärittämissä tulosten perusteella.



Kuvio 7. Alkuperäisen glukoosimäärityksen tulos verrattuna 90 minuuttia näytteenoton jälkeen tehdyn glukoosimäärityksen tulokseen

Kuviossa 7 vertaillaan vastaavasti 90 minuutin jälkeen tehdyn glukoosimäärityksen tulosta alkuperäisen glukoosimäärityksen tulokseen. 90 minuutin tulosten hajontakuviossa ei ole suurta eroa 60 minuutin hajontakuviioon. Pearsonin korrelaatiokerroin tässä tapauksessa on 0,99352. Tämä tarkoittaa sitä, että lineaarinen riippuvuus muuttujien välillä on jopa vahvempi kuin 60 minuutin tulosten kohdalla. Selitysaste on 0,9871, joten alkuperäisen glukoosimäärityksen avulla voidaan selittää 98,7% tuloksista 90 minuutin kohdalla.

## 7.2 Likvorin ja plasman glukoosipitoisuuksien suhde

Tämän opinnäytetyön toiseen tutkimuskysymystä varten tarvitaan myös plasman glukoosipitoisuudet. Taulukossa 4 ne on esitetty yhdessä likvorin ja plasman glukoosipitoisuuksien suhteiden kanssa.

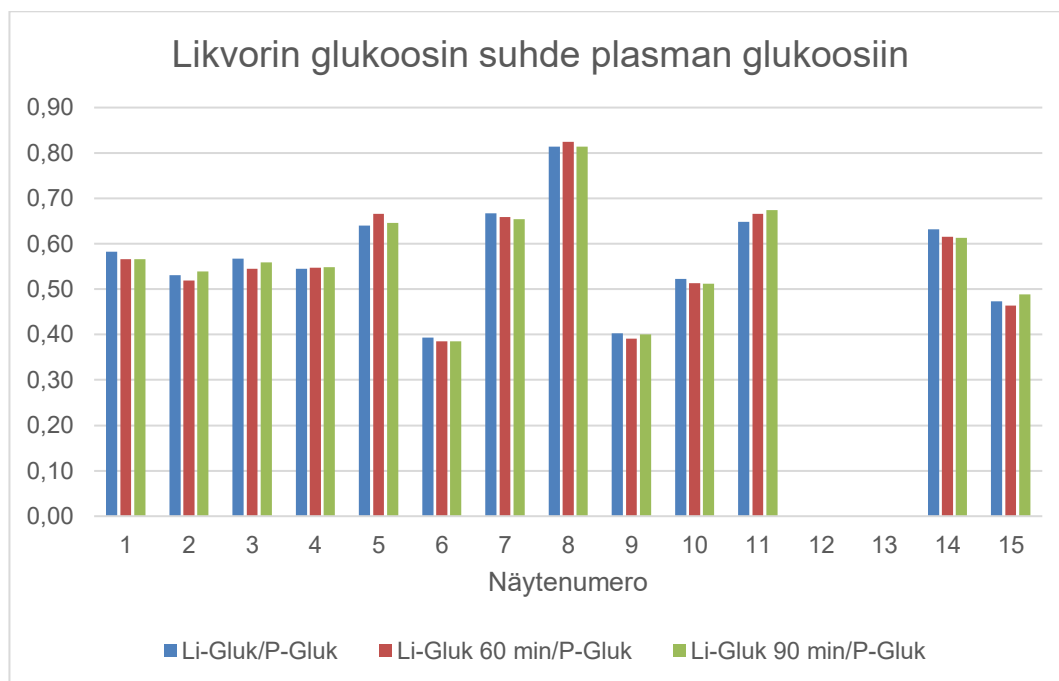
Taulukko 4. Plasman glukoosipitoisuudet ja likvorinäytteiden glukoosipitoisuuksien suhde plasman glukoosipitoisuuteen

| Näyte            | P-Gluk (mmol/l)     | Li-Gluk/P-Gluk | Li-Gluk 60 min/ P-Gluk | Li-Gluk 90 min/ P-Gluk |
|------------------|---------------------|----------------|------------------------|------------------------|
| 1                | 5,8                 | 0,58           | 0,57                   | 0,57                   |
| 2                | 5,9                 | 0,53           | 0,52                   | 0,54                   |
| 3                | 5,8                 | 0,57           | 0,54                   | 0,56                   |
| 4                | 6,0                 | 0,55           | 0,55                   | 0,55                   |
| 5                | 5,5                 | 0,64           | 0,67                   | 0,65                   |
| 6                | 10,4                | 0,39           | 0,39                   | 0,39                   |
| 7                | 6,4                 | 0,67           | 0,66                   | 0,65                   |
| 8                | 5,0                 | 0,81           | 0,82                   | 0,81                   |
| 9                | 9,1                 | 0,40           | 0,39                   | 0,40                   |
| 10               | 8,5                 | 0,52           | 0,51                   | 0,51                   |
| 11               | 5,0                 | 0,65           | 0,67                   | 0,67                   |
| 12               | Ei samalta päivältä |                |                        |                        |
| 13               | Ei samalta päivältä |                |                        |                        |
| 14               | 5,3                 | 0,63           | 0,62                   | 0,61                   |
| 15               | 8,3                 | 0,47           | 0,46                   | 0,49                   |
| <b>Keskiarvo</b> | <b>6,7</b>          | <b>0,57</b>    | <b>0,57</b>            | <b>0,57</b>            |

Plasman glukoosimääritysten tulokset ovat samalta päivältä, kuin vastaava likvorin glukoosimääritys, mutta tarkkaa näytteenottoajankohtaa ei selvitetty. Kahdelle likvorinäytteelle ei löytynyt vastaavaa plasman glukoosimääritystä samalta päivältä, joten likvorin ja plasman glukoosipitoisuuksien suhdetta ei ollut mahdollista määrittää.

Viitearvo plasman glukoosimääritykselle on 4,0–6,0 mmol/l (Tunturi 2021). Kahdeksan näytteen glukoosipitoisuus 13:sta oli viitealueen sisällä, loput viisi yli viitealueen (Taulukko 4). Eri lähteissä on hieman vaihtelevia arvoja likvorin ja plasman glukoosin terveen viitteelliselle suhdeluvulle, mutta mikäli viitealueen alarajaksi katsotaan 50%, niin kolme näytettä jää tämän rajan alle. Nämä näytteet jäivät rajan alle kaikilla ajanhetkillä tehdyissä määrityksissä. Näitä kaikkia kolmea näytettä yhdistävät myös selkeästi kohonneet plasman glukoosipitoisuudet. Jos potilailla on epänormaali glukoosiainevaihdunta, ei yksittäinen verikoe välttämättä kerro totuudenmukaista kuvaa plasman

glukoosipitoisuudesta, ja tällöin myös likvorin ja plasman glukoosipitoisuuksien suhde voi olla vääristynyt (Tan ym. 2023).



Kuvio 8. Pylväsdiagrammi likvorinäytteiden glukoosipitoisuuksien suhteesta plasmanäytteiden glukoosipitoisuuksiin

Likvori- ja plasmanäytteiden glukoosipitoisuuksien suhteen havainnollistamiseen voidaan käyttää pylväsdiagrammia. Aineisto jää kahden puuttuvan plasman glukoosimäärityksen tuloksen takia hieman pienemmäksi, mutta muiden 13 näytteen osalta voidaan kuvaajasta visuaalisesti havaita, että likvorinäytteen analysointi eri ajankohtina vaikuttaa vain vähän likvorin ja plasman glukoosipitoisuuksien suhteeseen. Minkään näytteen kohdalla myöhäisempi likvorin glukoosimääritys ei todennäköisesti johtaisi kliinisesti merkittävään eroon likvorin ja plasman glukoosipitoisuuksien suhteessa. Likvorin ja plasman glukoosipitoisuuksien suhdetta verrataan keskiarvoja käyttäen taulukossa 5.

Taulukko 5. Likvorin ja plasman glukoosimääritysten keskiarvojen suhde

|                      | alkuperäinen määrittäminen | 60 min | 90 min |
|----------------------|----------------------------|--------|--------|
| Li-Gluk ka (mmol/l)  | 3,81                       | 3,78   | 3,80   |
| P-Gluk ka (mmol/l)   | 6,7                        |        |        |
| Li-Gluk ka/P-Gluk ka | 0,57                       | 0,56   | 0,57   |



Likvorin glukoosin kliininen merkitys on kytkeytynyt likvorin ja plasman glukoosipitoisuuksien suhteeseen. Koska likvorin glukoosipitoisuuksissa ei tapahtunut muutosta huoneenlämmössä säilytyksen aikana, pysyi myös likvorin ja plasman glukoosipitoisuuksien suhde lähes muuttumattomana.

## 8 Pohdinta

Alkuperäisessä suunnitelmassa tarkoitus oli sisällyttää opinnäytetyöhön myös muiden punktionesteiden glukoosinäytteitä. Tästä suunnitelmasta kuitenkin luovuttiin, sillä haluttiin keskittyä vain likvorinäytteisiin, joiden säilyvyyden selvittäminen oli ISLABille olennaista. Askites- ja pleuranestenäytteiden kokonaismäärät olisivat myös jääneet hyvin vähäisiksi, sillä niitä saapuu laboratorioon huomattavasti harvemmin kuin likvorinäytteitä. Nivelnestenäytteistä taas glukoosia ei yleensä pyydetä analysoitavan. Alkuperäisestä suunnitelmasta toisesta näytesarjasta jääkaapissa säilytetyille näytteille luovuttiin myös. Likvoria ei kaikissa tapauksissa olisi ollut riittävästi toiseen näytesarjaan, joten haluttiin keskittyä laboratorion normaalia arkea vastaavaan tilanteeseen. Normaalistikin näyte odottaisi analysointia huoneenlämmössä, jos esimerkiksi analysaattori olisi ruuhkautunut, joten näin toimittiin myös tässä opinnäytetyössä. Jääkaappisäilytyksen vaikutuksen selvittäminen olisi toki ollut mielenkiintoinen lisä, mutta ISLABin kannalta se ei kuitenkaan ollut olennaista.

Opinnäytetyön aineiston keräämisessä oli omat haasteensa. Näytteitä kerättiin yli kahden kuukauden ajan ja tänä aikana laboratorioon saapui runsaasti likvorinäytteitä. Aikatauluhaasteiden ja laboratorion muiden kiireiden vuoksi kaikkia näitä näytteitä ei kuitenkaan voitu käyttää opinnäytetyön aineistona. Likvorinäytteet olivat tutkimuksen kannalta ennalta-arvaamattomia. Ne saapuivat laboratorioon ilman ennakkotietoa, joskus useita päivässä, joskus taas ei yhtään näytettä moneen päivään. Opinnäytetyön aineistoksi saatiin kerättyä yhteensä 15 likvorinäytettä. Vaikka aineisto ei ole suuri, mahdollistaa se kuitenkin johtopäätösten tekemisen.

### 8.1 Luotettavuus

Luotettavuus on tämän tutkimuksen kannalta tärkeää, jotta saadaan käyttökelpoista tietoa likvorin glukoosin säilyvyydestä. Opinnäytetyön aineisto on kerätty hyvää tieteellistä käytäntöä noudattaen. Hyvään tieteelliseen käytäntöön kuuluu rehellisyys, huolellisuus ja tarkkuus tutkimustyössä, tulosten käsittelyssä ja tutkimusten arvioinnissa. Tiedon-

hankinta- ja tutkimusmenetelmien täytyy myös olla eettisesti kestäviä. (Tutkimuseettinen neuvottelukunta.) Opinnäytetyötä varten on käytetty vain luotettavia tietolähteitä lähdekritiikki huomioiden.

Mittaukset olivat keskeinen osa tätä opinnäytetyötä, joten mittauksien luotettavuutta on syytä arvioida. Mittauksien kokonaisluotettavuus koostuu validiteetista ja reliabiliteetista. Luotettavuuteen alentavasti vaikuttavat taas aineistoa hankittaessa syntyneet virheet. Tutkimusaineiston laatuun vaikuttavat virheet voidaan luokitella käsittelyvirheisiin, mittausvirheisiin, peitto- ja katovirheisiin sekä otantavirheisiin. Mittausvirheiden syntyyn vaikuttavia tekijöitä ovat muun muassa mittausvälineiden epätarkkuus ja mittaukseen vaikuttavat häiriötekijät. (Heikkilä 2014: 176–177.) Tässä opinnäytetyössä käytetyt analysaattorit on asianmukaisesti kalibroitu ja kontrolloitu ja häiriötekijöiden vaikutusta on pyritty minimoimaan. Tutkimusaineiston käsittely on myös tehty mahdollisimman huolellisesti.

Validiteetti kertoo siitä, miten on onnistuttu mittaamaan sitä, mitä oli tarkoitus mitata. Tässä opinnäytetyössä tutkimuskysymyksiin vastaukset etsittiin puhtaasti numeerista dataa tulkitsemalla, joten epäselvyyksiä tai tulkinnanvaraisuuksia ei opinnäytetyön mittauksiin jäänyt. Systemaattinen virhe voi syntyä, jos joku aineiston keräämiseen liittyvä tekijä vaikuttaa koko aineistoon samansuuntaisesti. Otokokoa kasvattavammallakaan ei voida systemaattista virhettä vähentää. (Heikkilä 2014: 177.) Tämä opinnäytetyön tutkimusjärjestelyt on huolellisesti suunniteltu niin, että merkittäville systemaattisen virheen mahdollisuuksille ei ole jätetty tilaa.

Reliabiliteetti kertoo mittauksen kyvystä tuottaa ei-sattumanvaraisia tuloksia. Syynä heikkoon reliabiliteettiin ovat yleensä satunnaisvirheet, joiden syynä voivat olla mittaus- tai käsittelyvirheet. Tutkimuksen pieni otos johtaa sattumanvaraisempiin tuloksiin esimerkiksi keskiarvoja käsitellessä, mikä voi myös johtaa satunnaisvirheisiin. Tässä opinnäytetyössä otos on melko pieni, mutta tutkimusaineiston perusteella voidaan kuitenkin tehdä selkeitä johtopäätöksiä. Reliabiliteetti voidaan käytännössä määritellä kahden riippumattoman mittauksen korrelaatioksi. Tätä varten mittaustuloksista voidaan laskea korrelaatiokertoimet, jotka olivat tässä opinnäytetyössä hyvin lähellä ykköstä, mikä kertoo siitä, että mittaus on ollut luotettava. (Heikkilä 2014: 178.)

## 8.2 Eettisyys

Luotettavuus kulkee käsi kädessä eettisyyden kanssa. Tutkimuksen tuloksiin voidaan luottaa, kun tutkimus on tehty avoimesti ja rehellisesti, virheitä peittelemättä tai tuloksia

vääristelemättä. Eettisyyden tarkastelu jaetaan tässä kolmeen osaan. Ammattietiikkaan, potilaan oikeuksiin sekä tutkimuseetiikkaan.

Opinnäytetyö tehtiin bioanalyytikon eettisiä periaatteita noudattaen. Näihin eettisiin periaatteisiin kuuluu muun muassa hyväksytyjen menettelytapojen käyttäminen, laboratorioprosessin korkean laadun varmistaminen sekä näytemateriaalin luovuttajien yksityisyyden ja oikeuksien kunnioittaminen. (Bioanalyytikon, laboratoriohoitajan eettiset ohjeet 2017.) Opinnäytetyössä käytettiin potilasnäytteitä, mutta opinnäytetyön mittaustuloksia ei ole yhdistetty henkilötietoihin.

Potilailla on oikeus hyvään terveyden- ja sairaanhoitoon. Potilasturvallisuus on siinä keskeisessä roolissa. Hoidon haitat tulisi minimoida. Kliinisestä laboratoriotoiminnasta aiheutuva mahdollinen haitta voi olla esimerkiksi väärä tai viivästynyt diagnoosi. (Potilaan oikeudet ja potilasturvallisuus.) Potilasturvallisuuden kannalta keskeistä laboratoriotoiminnassa on virheiden välttäminen. Laadunhallinnalla on tärkeä rooli virheiden ehkäisyssä. (Lippi & Plebani & Simundic 2010.) Tämän opinnäytetyön mittaukset suoritettiin mahdollisimman laadukkaasti potilasturvallisuudesta tinkimättä. Potilastulosten vastaanminen ei viivästynyt eikä potilastulosten luotettavuus kärsinyt tutkimuksen kustannuksella.

Opinnäytetyötä varten tehtiin sopimus Metropolia-ammattikorkeakoulun ja ISLAB hyvinvointiyhtymän välille. Tutkimusta varten hankittiin myös tutkimuslupa ISLABilta. Tutkimustyö pyrittiin tekemään mahdollisimman huolellisesti ja rehellisesti ja tulokset julkaistaan avoimesti. Muihin tutkimuksiin viitattiin asianmukaisella tavalla. Mahdollisen plagioinnin tunnistamiseksi käytettiin Turnitin-työkalua.

### 8.3 Johtopäätökset

Tämän opinnäytetyön tulosten perusteella ei voida havaita selkeää eroa 60 ja 90 minuutin kuluttua näytteenotosta analysoitavien likvorinäytteiden glukoosipitoisuudessa verrattuna ohjeistuksen mukaisesti 30 minuutin sisällä näytteenotosta analysoituihin näytteisiin. Koska glukoosipitoisuuksissa 60 ja 90 minuutin kohdilla ei havaittu selkeää eroa, myös likvorin ja plasman glukoosipitoisuuksien suhde pysyi muuttumattomana. Eroprosentit 60 ja 90 minuutin glukoosimäärityksille olivat kaikki hyväksymisrajojen sisällä. Vertailtaessa glukoosimääritysten tuloksia, ei voida havaita selkeää johdonmukaista linjaa glukoosipitoisuuksien muutoksesta ajan kuluessa. Osassa näytteistä suurin glukoosipitoisuus mitattiin alkuperäisessä määrityksessä, osassa 60 minuutin koh-

dalla ja osassa 90 minuutin kohdalla. Mitään selittävää mekanismia likvorin glukoosipitoisuuden kasvulle näyteastiassa ei ole. Näiden havaintojen perusteella vaikuttaa siltä, että glukoosipitoisuuksien erot johtuvat lähinnä analyysimenetelmän suorituskykyyn liittyvästä mittausepävarmuudesta. Erot mittaustuloksissa ovat siis vain menetelmän satunnaisvaihtelua, eikä todellista näytteiden glukoosipitoisuuksien muutosta tapahdu huoneenlämmössä säilytyksen aikana.

Likvorin ja plasman glukoosipitoisuuksien suhteella on keskeinen diagnostinen merkitys. Koska likvorinäytteiden glukoosipitoisuuksissa 60 ja 90 minuutin kohdalla ei havaittu selkeää eroa näytteiden alkuperäisen glukoosimäärityksen tulokseen, myös likvorin ja plasman glukoosipitoisuuksien suhde pysyi muuttumattomana. Glukoosimäärityksen viivästyminen ei siis aiheuta kliinisesti merkittävää muutosta likvorin ja plasman glukoosipitoisuuksien suhteeseen. Opinnäytetyön aineistona käytetyt plasman glukoosimääritykset tuli olla samalta päivältä kuin vastaavat likvorin glukoosimääritykset. Suositeltavaa olisi, että glukoosimääritystä varten otettavat verinäytteet otettaisiin 2–3 tuntia ennen likvorinäytteenottoa, jotta glukoosipitoisuuksien suhde kuvaisi mahdollisimman totuudenmukaisesti likvorin ja plasman glukoosipitoisuuksien suhdetta (Lehtiharju ym. 2023: 310). Tässä opinnäytetyössä tarkkaa näytteenottoajankohtaa ei kuitenkaan selvitetty. Opinnäytetyön tulosten kannalta se ei kuitenkaan ole merkityksellistä. Vaikka alkuperäinen likvori- ja plasmanäytteiden glukoosipitoisuuksien suhde ei vastaisikaan täysin totuudenmukaisesti tilannetta elimistössä, ei sillä ole merkitystä suhdeluvun muutoksen selvittämisen kannalta.

On kuitenkin huomattava, että tämän opinnäytetyön koejärjestelyllä pystyttiin selvittämään vain sentrifugoitujen näytteiden säilyvyyttä. Sentrifugoinnin seurauksena näytteen solut jäävät Eppendorf-putken pohjalle, ja analysointia varten näyteastian siirrettävässä supernatantissa ei pitäisikään olla soluja jäljellä. Ilman soluja likvorissa ei ole glykolyyttistä toimintaa, eikä näytteen glukoosipitoisuus enää laske. Nopea sentrifugointi on keskeistä, jotta glykolyysin vaikutus näytteissä voidaan pysäyttää, mikä on olennaista likvorin glukoosimääritysten luotettavuuden kannalta.

Likvorin glukoosimääritykseen käytettävä aika ei ole pelkästään laboratorion toimintaan vaikuttava asia, vaan se vaikuttaa myös tutkimuksen pyytäjään, hoitoyksikköön sekä potilaaseen. Potilasturvallisuuden kannalta päivystyslikvorinäytteiden analysointi tulisi-kin suorittaa viipymättä. Vaikka hoitoyksikkö voikin bakteerimeningiittia epäiltäessä tarvittaessa aloittaa mikrobilääkehoidon heti likvorinäytteenoton jälkeen, on vastaukset syytä tuottaa mahdollisimman nopeasti, jotta mahdollisesti vakavat keskushermoston tilat saadaan diagnosoitua ja asianmukainen hoito aloitettua ilman turhaa viivettä (Atula

2021; Kolho & Saarela 2021). Vaikka laboratorion ohjeistusta muutettaisiinkin analysointi-aikarajan suhteen esimerkiksi 30 minuutista 60 minuuttiin, olisi glukoosimääritykset likvorista silti siis syytä tehdä mahdollisimman nopeasti. Likvorinäytteiden käsittely joka tapauksessa aloitettaisiin mahdollisimman nopeasti niiden laboratorioon saapumisen jälkeen. Toiminta laboratoriossa likvorinäytteitä käsiteltäessä ei juuri muuttuisi, mutta väljempi aikaraja auttaisi välttämään analyysin viivästymiseen liittyviä laatu- ja keamia laboratorion kaikista kiireellisimpinä hetkinä ja muissa mahdollisissa poikkeustilanteissa, jotka viivästyttävät näytteen analysointia.

Tämän opinnäytetyön tulokset ovat yhteneväisiä aikaisemman tutkimuksen kanssa, sillä siinä ei havaittu merkittävää muutosta huoneenlämmössä säilytettyjen likvorinäytteiden glukoosipitoisuuksiin edes 12 tunnissa (Domingues ym. 2019). Toisessa tutkimuksessa näytteitä säilytettiin vuorokauden ajan +4°C:n lämpötilassa, eikä glukoosipitoisuudessa havaittu sinä aikana merkittävää muutosta (Dujmovic & Deisenhammer 2010).

Tulosten perusteella voidaan todeta, että likvorin glukoosinäytteiden analysoinnin viivästyminen tunnilla tai puolellatoista tunnilla ei vaikuttanut likvorinäytteen glukoosipitoisuuteen tai potilastulosten luotettavuuteen. ISLAB näiden tulosten perusteella voisi mahdollisesti hieman lieventää likvorin glukoosinäytteiden aikataulullisesti tiukkaa analysointivaatimusta ja näin helpottaa laboratorion arkea potilastulosten luotettavuutta vaarantamatta.

#### 8.4 Kehittämisehdotukset

Tämän opinnäytetyön tulokset antavat ISLABille hyvän pohjan likvorin glukoosimäärityksen ohjeistuksen päivittämiseksi. Kuitenkaan aivan kaikkiin avoimiin kysymyksiin likvorin glukoosin säilyvyydestä tämä opinnäytetyö ei pysty vastaamaan. Kylmäsäilytystä koskevaa ristiriitaa ohjeistuksen ja käytännön välillä jää ratkaisematta. ISLABin tutkimusohjekirja ohjeistaa, että glukoosimääritystä varten likvorinäyte tulee toimittaa välittömästi laboratorioon kylmävaraajaan käärittynä (ISLAB a). Näin ei kuitenkaan tapahdu. Sentrifugoinnin jälkeen säilyvyydessä ei ole ongelmaa huoneenlämmössäkään, joten kylmäsäilytyksen selvittäminen siinä vaiheessa ei todennäköisesti tuottaisi laboratorion kannalta erityisen merkittävää tietoa glukoosin säilyvyydestä likvorinäytteissä. Avoimeksi kysymykseksi jää se, kuinka paljon näytteiden glukoosipitoisuus muuttuu matkalla laboratorioon puuttuvan kylmäsäilytyksen vuoksi. Tämän selvittäminen voisi olla hyödyllistä. Toteuttaminen vaatisi yhteistyötä hoitoyksikön kanssa. Likvorinäytteenotto-

jen yhteydessä tarvittaisiin vain ylimääräinen kylmässä ohjeistuksen mukaisesti laboratorioon toimitettu näyteputki, josta voitaisiin tehdä rinnakkainen glukoosimääritys huoneenlämmössä laboratorioon toimitetun näytteen kanssa.

Aihepiirin tutkimista voisi muutenkin laajentaa. Glukoosin säilyvyyden tutkimista voisi tarvittaessa jatkaa myös esimerkiksi tutkimalla glukoosin säilyvyyttä huomattavasti pidemmällä aikavälillä ja ottamaan huomioon myös tästä opinnäytetyöstä pois jääneet muut punktionesteet. Hyödyllistä olisi myös selvittää kuinka paljon likvorinäytteiden sentrifugoinnin viivästyminen vaikuttaa niiden glukoosipitoisuuksiin. Eritetyöpiirteen ruuhkautuminen tai muut poikkeustilanteet voivat aiheuttaa viivästystä jo ennen kuin likvorinäytettä ehditään sentrifugoida, ja glykolyysin vaikutus likvorinäytteissä voi jatkua pidempään. Tämän viivästyksen vaikutuksen selvittäminen olisi myös hyödyllistä.

Solujen määrä näytteessä on muuttuja, jonka vaikutusta näytteen glukoosipitoisuuden muutokselle olisi myös mielenkiintoista selvittää. Terveen ihmisen likvorissa soluja on normaalisti hyvin vähän (Soinila 2015c). Tällöin näytteen glykolyyttisen toiminnan määräkin on vähäistä verrattuna näytteisiin, joissa solujen määrä on eri kertaluokkaa, kuten esimerkiksi bakteerimeningiitin yhteydessä. Likvorinäytteistä tehdään solulaskenta lähes poikkeuksetta, joten solujen määrän vaikutuksen yhdistäminen mahdollisiin lisätutkimuksiin likvorin glukoosin säilyvyydestä ei olisi mahdotonta toteuttaa.

## 8.5 Ammatillinen kasvu

Opinnäytetyön tekeminen kaikkine vaiheineen oli mielenkiintoinen ja opettavainen prosessi. Heti aiheen saamisen jälkeen alkoi miettiminen, kuinka työn toteuttaminen järjestyy, ja mikä on realistista ja mikä ei. Huolellisesta suunnittelusta huolimatta suuriakin muutoksia täytyi tehdä vielä toteuttamisvaiheessa. Se auttoi ymmärtämään, että myös laboratoriotyöskentelyssä on kyettävä sopeutumaan muutoksiin. Monivaiheisen ja pitkäkestoisen opinnäytetyöprosessin myötä myös projektinhallintataidot kehittyivät.

Tämän opinnäytetyön mittaukset tehtiin muun työn ohessa, mikä välillä saattoi aiheuttaa ajankäytöllisiä haasteita ja muita ongelmatilanteita. Onneksi apua oli aina saatavilla laboratorion muulta henkilökunnalta. Vaikka tämä opinnäytetyö onkin tehty yksilötyönä, mittauksien suorittaminen ei olisi onnistunut ilman kemistin ja analysaattoriyöpiirteen bioanalytikkojen moniammatillista yhteistyötä.

Opinnäytetyön tekeminen opetti paljon syvälle menevää tietoa likvorin glukoosista ja sen säilyvyydestä, mutta samalla syntyi laajempikin ymmärrys siitä, mitä kaikkea laboratorioden tutkimusohjekirjojen ohjeiden taustalla on. Samalla selkeni myös kokonaiskuva näiden ohjeiden merkityksestä ja niiden vaikutuksesta laboratorion toimintaan. Valmiudet tutkimustoimintaan ja monipuoliseen työskentelyyn kliinisessä laboratoriossa työskentelyyn kehittyivät myös. Opinnäytetyöprosessi kokonaisuudessaan opetti paljon ja antoi hyvän pohjan ammatilliselle kasvulle myös jatkossakin.

## Lähteet

Atula, Sari 2021. Lannepisto (lumbaalipunktio). Teoksessa Jousimaa, Jukkapekka (toim.). Lääkärin käsikirja. E-kirja. Helsinki: Kustannus Oy Duodecim.

van den Berg, S.A.A. & Thelen, M. H. M. & Salden, L. P. W. & van Thiel, S. W. & Boonen, K. J. M. 2015. It takes acid, rather than ice, to freeze glucose. *Scientific Reports* 5 (1). <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4352852/>>. Viitattu 29.3.2024.

Baubæk Egelund, Gertrud & Ertner, Gideon & Langholz Kristensen, Kristina & Vestergaard Jensen, Andreas & Benfield, Thomas L. & Brandt, Christian T. 2017. Cerebrospinal fluid pleocytosis in infectious and noninfectious central nervous system disease: A retrospective cohort study. *Medicine (Baltimore)* 96 (18). <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5419909/>>. Viitattu 14.4.2024.

Bioanalyttikon, laboratoriohoitajan eettiset ohjeet 2017. Suomen Bioanalyttikkoliitto ry. <[https://www.bioanalyttikkoliitto.fi/@Bin/659271/Eettiset+periaatteet\\_FI\\_print\\_2017.pdf](https://www.bioanalyttikkoliitto.fi/@Bin/659271/Eettiset+periaatteet_FI_print_2017.pdf)>. Viitattu 14.3.2024.

Brunzel, Nancy A. 2013. *Fundamentals of Urine and Body Fluid Analysis*. 3. painos. St. Louis: Saunders.

Chandel, Navdeep S. 2021. Glycolysis. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology* 13 (5). <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8091952/>>. Viitattu 29.3.2024.

Deisenhammer, F. & Bartos A. & Egg R. & Gilhus N. E. & Giovannoni G. & Rauer S. & Sellebjerg F. 2006. Guidelines on routine cerebrospinal fluid analysis. Report from an EFNS task force. *European Journal of Neurology* 13 (9). 913–922. <<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.1111/j.1468-1331.2006.01493.x>>. Viitattu 14.4.2024.

De Vivo, Darryl C. & Trifiletti, Rosario R. & Jacobson, Ronald I. & Ronen, Gabriel M. & Behmand, Ramin A. & Harik, Sami I. 1991. Defective Glucose Transport across the Blood-Brain Barrier as a Cause of Persistent Hypoglycorrhachia, Seizures, and Developmental Delay. *The New England Journal of Medicine* 325 (10). 703–709. <<https://www.nejm.org/doi/full/10.1056/NEJM199109053251006>>. Viitattu 14.4.2024.

Doherty, Carolynne M. & Forbes, Raeburn B. 2014. Diagnostic Lumbar Puncture. *Ulster Medical Journal* 83 (2). 93–102. <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4113153/>>. Viitattu 14.4.2024.

Domingues, Renan & Brunale, Fernando & Bruniera, Gustavo & Senne, Carlos 2019. Assessment of cytological and biochemical parameters stability in cerebrospinal fluid. *Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial* 55 (3). <<https://www.scielo.br/j/jbpm/a/LHcKpjp6drmdgDyTjd3t77f/?format=pdf>>. Viitattu 1.4.2024.

Dujmovic, Irena & Deisenhammer, Florian 2010. Stability of cerebrospinal fluid/serum glucose ratio and cerebrospinal fluid lactate concentrations over 24 h: analysis of repeated measurements. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine* 48 (2). 209–212.

Duxbury, Max 2004. An Enzymatic Clinical Chemistry Laboratory Experiment Incorporating an Introduction to Mathematical Method Comparison Techniques. *Biochemistry and Molecular Biology Education* 32 (4). 246–249. <<https://iubmb.onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/bmb.2004.494032040366>>. Viitattu 18.4.2024.



Fimlab 2022. Glukoosi, aivo-selkäydinneste. Tutkimusohjekirja. <<https://fimlab.fi/tutkimus/6035>>. Viitattu 15.4.2023.

Gambino, Raymond & Piscitelli, Janet & Ackattupathil, Tomy A. & Theriault, Judy L. & Andrin, Reynaldo D. & Sanfilippo, Michael & Etienne, Monina 2009. Acidification of Blood Is Superior to Sodium Fluoride Alone as an Inhibitor of Glycolysis. *Clinical Chemistry* 55 (5). 1019–1021. <<https://academic.oup.com/clinchem/article/55/5/1019/5629295>>. Viitattu 27.3.2024.

Grzych, Guillaume & Roland, Estelle & Beauvais, David & Maboudou, Patrice & Lippi, Giuseppe 2020. Leukocytosis interference in clinical chemistry: Shall we still interpret test results without hematological data? *Journal of Medical Biochemistry* 39 (1). 66–71. <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7282239/>>. Viitattu 29.3.2024.

Halonen, Toivo & Laitinen, Matti & Penttilä, Ilkka 2004. Menetelmäperiaatteet ja kliiniset kemian tutkimukset. Teoksessa Penttilä, Ilkka (toim.). *Kliiniset laboratoriotutkimukset*. 1. painos. WSOY: Porvoo. 63–262.

Heikkilä, Tarja 2014. Tilastollinen tutkimus. E-kirja. Helsinki: Edita Publishing Oy.

HUSLAB. Glukoosi, aivo-selkäydinnesteestä. Tutkimusohjekirja. Päivitetty 2.6.2023. <<https://huslab.fi/ohjekirja/1470.html>>. Viitattu 15.4.2024.

ISLAB a. Li-glukoosi. Tutkimusohjekirja. Päivitetty 13.4.2023. <<http://webohjekirja.mylabservices.fi/ISLAB/index.php?test=1470>>. Viitattu 15.4.2024.

ISLAB b. P-Glukoosi. Tutkimusohjekirja. Päivitetty 17.4.2023. <<https://webohjekirja.mylabservices.fi/ISLAB/index.php?test=1471>>. Viitattu 23.3.2024.

ISLAB 2022. ISLABin palvelut vuonna 2023. Asiakastiedote. Julkaistu 19.12.2022. <<https://www.islab.fi/wp-content/uploads/2022/12/Asiakastiedote-19.12.2022.pdf>>. Viitattu 14.10.2023.

Kim, Hye Soon 2016. Blood Glucose Measurement: Is Serum Equal to Plasma? *Diabetes and Metabolism Journal* 40 (5). 365–366. <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5069392/>>. Viitattu 14.4.2024.

Kolho, Elina & Saarela, Mika 2021. Aivokalvotulehdukset aikuisella. Teoksessa Jousimaa, Jukkapekka (toim.). *Lääkärin käsikirja*. E-kirja. Helsinki: Kustannus Oy Duodecim.

Kubihal, Suraj & Goyal, Alpesh & Gupta, Yashdeep & Khadgaway, Rajesh 2021. Glucose measurement in body fluids: A ready reckoner for clinicians. *Diabetes & Metabolic Syndrome: Clinical Research & Reviews* 15 (1). 45–53.

Lakkisto, Päivi & Hotakainen, Kristina 2023. Preanalytiikka ja näytteenotto. Teoksessa Hotakainen, Kristina & Lakkisto, Päivi & Lempiäinen, Anna (toim.). *Laboratoriolääketiede – kliininen kemia ja hematologia*. 5. painos. Helsinki: Kandidaattikustannus. 18–33.

Lehtiharju, Tapio & Anttonen, Mikko & Lempiäinen, Anna 2023. Keskushermoston tutkimukset. Teoksessa Hotakainen, Kristina & Lakkisto, Päivi & Lempiäinen, Anna (toim.). *Laboratoriolääketiede – kliininen kemia ja hematologia*. 5. painos. Helsinki: Kandidaattikustannus. 306–317.

Leppäluoto, Juhani & Rintamäki, Hannu & Vakkuri, Olli & Vierimaa, Heidi & Lauri, Timo 2019. Anatomia ja fysiologia: rakenteesta toimintaan. E-kirja. Helsinki: Sanoma Pro Oy.

Lippi, Giuseppe & Plebani, Mario & Simundic, Ana-Maria 2010. Quality in laboratory diagnostics: from theory to practice. *Biochemia Medica* 20 (2). 126–130. <<https://www.biochemia-medica.com/en/journal/20/2/10.11613/BM.2010.014/fullArticle>>. Viitattu 15.4.2024.

Mikesh, Leann M. & Bruns, David E. 2008. Stabilization of Glucose in Blood Specimens: Mechanism of Delay in Fluoride Inhibition of Glycolysis. *Clinical Chemistry* 54 (5). 930–932. <<https://academic.oup.com/clinchem/article/54/5/930/5628471>>. Viitattu 27.3.2024.

Nordlab. Glukoosi, aivo-selkäydinnesteestä. Tutkimusohjekirja. <[https://tutkimusohjekirja.nordlab.fi/ohjekirja/nayta.tmp?siivu\\_id=146&setid=1470](https://tutkimusohjekirja.nordlab.fi/ohjekirja/nayta.tmp?siivu_id=146&setid=1470)>. Viitattu 15.4.2024.

Potilaan oikeudet ja potilasturvallisuus. Suomi.fi. Digi- ja väestötietovirasto. Päivitetty 5.4.2024. <<https://www.suomi.fi/kansalaiselle/terveys-ja-sairaanhoito/sairastaminen/opas/sairausloma-tyosuhte-ja-potilaan-oikeudet/potilaan-oikeudet-ja-potilasturvallisuus>>. Viitattu 15.4.2024.

Runde, Tyler J. & Anjum, Fatima & Hafner, John W. 2023. Bacterial Meningitis. Päivitetty 8.8.2023. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing. <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK470351/>>. Viitattu 17.4.2024.

Sacks, David B. 2015. Carbohydrates. Teoksessa Burtis, Carl A. & Bruns, David E. (toim.). *Tietz Fundamentals of Clinical Chemistry and Molecular Diagnostics*. 7. painos. St. Louis: Elsevier Saunders.

Sakka, L. & Coll, G. & Chazal J. 2011. Anatomy and physiology of cerebrospinal fluid. *European Annals of Otorhinolaryngology, Head and Neck Diseases* 128 (6). 309–316. <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1879729611001013>>. Viitattu 14.4.2024.

Soinila, Seppo 2015a. Aivokammiot ja likvorikierto. Teoksessa Soinila, Seppo & Kaste, Markku (toim.). *Neurologia*. E-kirja. Helsinki: Kustannus Oy Duodecim.

Soinila, Seppo 2015b. Lannepisto. Teoksessa Soinila, Seppo & Kaste, Markku (toim.). *Neurologia*. E-kirja. Helsinki: Kustannus Oy Duodecim.

Soinila, Seppo 2015c. Likvoritutkimukset. Teoksessa Soinila, Seppo & Kaste, Markku (toim.). *Neurologia*. E-kirja. Helsinki: Kustannus Oy Duodecim.

Sonagra, Amit D. & Motiani, Anita 2023. Hexokinase Method. Päivitetty 23.3.2023. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing. <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK587446/>>. Viitattu 25.9.2023.

Sorto, Aira & Törmä, Ari & Kaihola, Hanna-Leena 1996. Laadunvarmistus kliinisessä laboratoriossa. Sisäisen laadunohjauksen periaatteet. Moodin erillisjulkaisu 5.

Strasinger, Susan King & Di Lorenzo, Marjorie Schaub 2008. *Urinalysis and Body Fluids*. 5. painos. Philadelphia: F. A. Davis Company.

Tan, Qing Che & Xing, Xiao Wei & Zhang, Jia Tang & He, Mian Wang & Ma, Yu Bao & Wu, Lei & Wang, Xiaolin & Wang, Hong Fen & Yu, Sheng Yuan 2023. Correlation between blood glucose and cerebrospinal fluid glucose levels in patients with differences in glucose metabolism. *Frontiers in neurology* 14.

<<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC10174426/>>. Viitattu 29.3.2024.

Tunturi, Satu 2021. Glukoosi, paastosokeri (fP-Gluk) ja P-Glukoosi (P-Gluk). Duodecim Terveyskirjasto. <<https://www.terveyskirjasto.fi/snk03091>>. Viitattu 15.4.2024.

Tutkimuseettinen neuvottelukunta. Hyvä tieteellinen käytäntö (HTK). Päivitetty 6.9.2023. <<https://tenk.fi/fi/tiedevilppi/hyva-tieteellinen-kaytanta-htk>>. Viitattu 1.4.2024.

Tyks laboratoriot. Li-glukoosi. Tutkimusohjekirja. Päivitetty 21.11.2022.

<<https://webohjekirja.mylabservices.fi/TYKS/index.php?test=1470>>. Viitattu 15.4.2024.

Verkkoniemi-Ahola, Auli 2021. Enkefaliitit. Teoksessa Jousimaa, Jukkapekka (toim.). Lääkärin käsikirja. E-kirja. Helsinki: Kustannus Oy Duodecim.

Weiland, Daniel & Hanning, Ian & Mouhamadou, Moussa & Wearmouth, Debbie 2015. Crystals seen on CSF microscopy in a case of suspected subarachnoid haemorrhage. *BMJ Case Reports*. <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4493194/>>. Viitattu 15.4.2024