

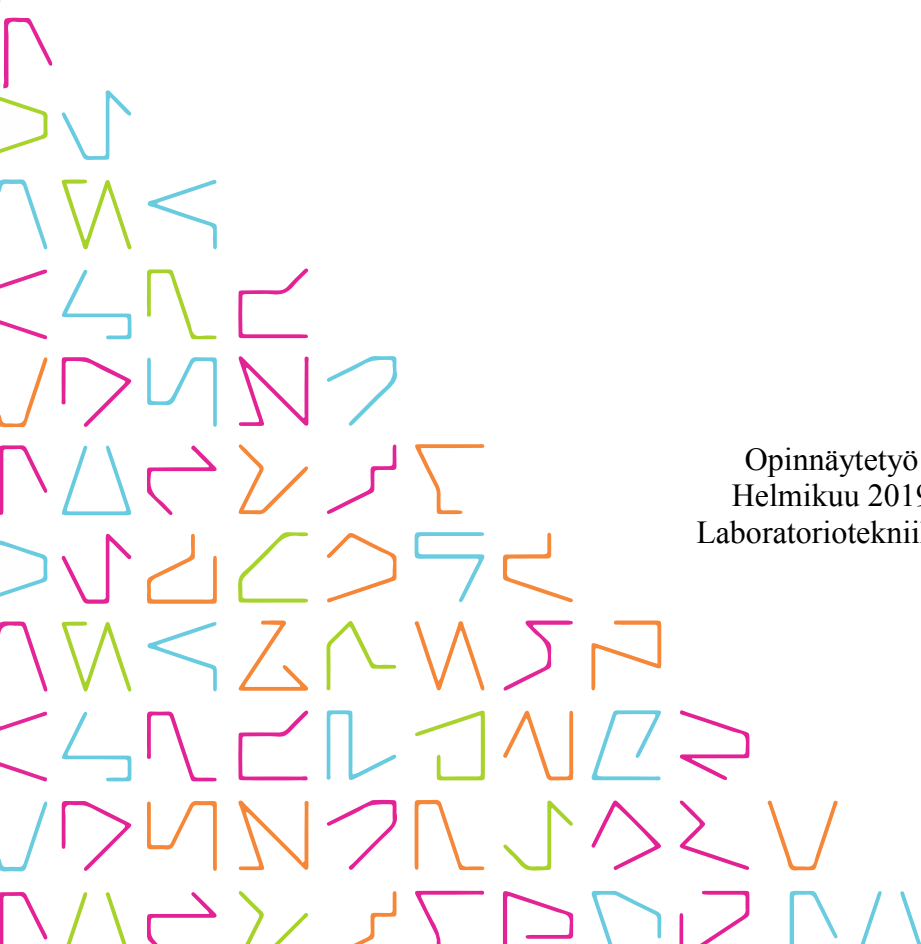


TAMPEREEN  
AMMATTIKORKEAKOULU

# **VIRTSAN BAKTEERIVILJELYSEULONNAN VERIFIOINTI SYSMEX UF-5000 -VIRTAUSSYTOMETRILLE**

Lotta Laihotie

Opinnäytetyö  
Helmikuu 2019  
Laboratoriotekniikka



## TIIVISTELMÄ

Tampereen ammattikorkeakoulu  
Laboriotekniikka

LAIHOTIE, LOTTA:

Virtsan bakteeriviljelyseulonnan verifiointi Sysmex UF-5000 -virtaussytometrille

Opinnäytetyö 50 sivua, joista liitteitä 12 sivua  
Helmikuu 2019

---

Opinnäytetyön toimeksiantaja oli Fimlab Laboriot Oy ja työn kokeellinen osa suoritettiin yrityksen Tampereen keskuslaboratoriossa syksyllä 2018. Vuoden 2018 aikana Fimlab Laboriot Oy:ssä toteutettiin mittava kokonaispalveluhankinnan käyttöönottoprojekti, jonka yhteydessä uusittiin myös virtsa-analytiikan laitteistot. Virtsan partikkelilaskentaan otettiin käyttöön Sysmexin valmistama UF-5000-virtaussytometri Tampereen keskuslaboratoriossa sekä Keski-Suomen ja Kanta-Hämeen keskussairaaloiden laboratorioissa.

Opinnäytetyön tavoite oli kehittää Fimlab Laboriot Oy:n virtsa-analytiikkaa verifioidulla virtsan bakteeriviljelyseulontaa uusille Sysmex UF-5000 -analysaattoreille. Seulonta oli käytössä jo aikaisemmalla laitteistolla Keski-Suomen keskussairaalan laboratoriossa. Tavoitteena oli laajentaa seulontakäytäntö lisäksi myös Tampereen keskuslaboratorioon ja Kanta-Hämeen keskussairaalan laboratorioon. Opinnäytetyön tarkoituksena oli verifioida seulontarajat virtsan bakteeriviljelyyn vertailemalla noin 500 virtsanäytteen virtaussytometrisen solulaskennan ja bakteeriviljelyn tuloksia keskenään. Verifiointin yhteydessä menetelmän käyttökelpoisuutta arvioitiin ROC-kuvaajien avulla. Lisäksi menetelmän erottelukykyä arvioitiin määrittelemällä sille herkkyys, tarkkuus, sekä positiivinen ja negatiivinen ennustearvo. Seulontarajat määriteltiin lapsille (16-vuotiaat ja sitä nuoremmat), naisille ja miehille kullekin ryhmälle erikseen virtsan leukosyytti- ja bakteeripitoisuuksille.

Opinnäytetyön tavoite ja tarkoitus toteutuivat. Sysmex UF-5000 osoittautui soveltuvaksi laitteeksi virtsan bakteeriviljelyn seulontaan. Verifiointin perusteella lasten bakteeripitoisuuden mukaista seulontarajaa päädyttiin muuttamaan aiemmin Keski-Suomen keskussairaalan laboratoriossa käytössä ollut seulontarajaa alhaisemmaksi. Muut seulontarajat pidetään ennallaan. Menetelmä osoittaa ROC-analyysin perusteella hyvää käyttökelpoisuutta kaikilla seulontaryhmillä.

Menetelmä on otettu Keski-Suomen keskussairaalan laboratoriossa käyttöön uusille laitteille ja käyttöönottoa valmistellaan Tampereen keskuslaboratorion ja Kanta-Hämeen keskussairaalan laboratorion osalta. Jatkotutkimuksena olisi aiheellista toteuttaa perusteellinen siirtymävirheen testaus. Jatkossa menetelmän toimivuutta tulee seurata säännöllisesti.

---

Asiasanat: virtaussytometria, virtsatieinfektio, seulonta, bakteeriviljely, verifiointi

## ABSTRACT

Tampereen ammattikorkeakoulu  
Tampere University of Applied Sciences  
Degree Programme in Laboratory Engineering

LAIHOTIE, LOTTA:

Verification of a Screening Test for Urinary Tract Infection Using Sysmex UF-5000 Flow Cytometer

Bachelor's thesis 50 pages, appendices 12 pages  
February 2019

---

The objective of this thesis was to develop the urine analysis of Fimlab Laboratoriot Oy by verifying a screening method for urinary tract infection. The method was verified with Sysmex UF-5000, a fully automated flow cytometer. The purpose was to analyse 500 urine samples by using the particle analyser and bacterial culture. The results obtained by the two methods were compared to define cut-off values. The urinary tract infection screening method was based on the leukocyte and bacterial concentrations of the urine samples.

The cut-off values were defined separately for children (16-year-olds and younger), women and men. The data was analysed using ROC curve analysis. The sensitivity, specificity, positive predictive value and negative predictive value of the screening test were defined.

The objective and the purpose of this thesis were fulfilled. The Sysmex UF-5000 showed a good performance in the screening process. The cut-off values were kept unchanged for women and men. The cut-off value for children's bacterial concentration was lowered. It is suggested here that the carryover of the screening test be evaluated in the future. Furthermore, the method should be monitored regularly.

---

Key words: flow cytometry, urinary tract infection, screening test, bacterial culture, verification

## SISÄLLYS

1	JOHDANTO.....	5
2	VIRTAUSSYTOTOMETRIA.....	7
2.1	Virtaussytometriän periaate.....	7
2.1.1	Valon sironta.....	8
2.1.2	Fluoresenssi.....	9
2.2	Sysmex UF-5000.....	10
2.2.1	Järjestelmät.....	11
2.2.2	Reagenssit.....	12
2.2.3	Toiminnan kuvaus.....	13
3	VIRTSA-ANALYTIKKA.....	14
3.1	Virtsatieinfektio.....	14
3.2	Virtsan perustutkimukset.....	15
3.2.1	Virtsan partikkelien laskenta.....	15
3.2.2	Virtsan bakteeriviljely.....	16
3.2.3	Virtsan bakteeriviljelyn seulonta virtaussytometrillä.....	17
4	VERIFIOINTI.....	19
4.1	Tutkimuksen käyttökelpoisuuden arviointi ROC-kuvaajalla.....	19
4.2	Herkkyys, tarkkuus ja ennustearvo.....	21
5	BAKTEERIVILJELYSEULONNAN VERIFIOINNIN SUORITUS.....	24
5.1	Näytteet ja niiden analysointi virtaussytometrillä.....	24
5.2	Näytteiden viljely ja maljojen luku.....	25
5.3	Tulosten käsittely.....	27
6	TULOKSET JA TULOSTEN TARKASTELU.....	28
6.1	Seulontarajojen määrittäminen.....	28
6.2	Tutkimuksen käyttökelpoisuuden arviointi.....	28
6.3	Herkkyys, tarkkuus ja ennustearvo.....	31
7	JOHTOPÄÄTÖKSET JA POHDINTA.....	33
	LÄHTEET.....	36
	LIITTEET.....	39
	Liite 1. Lasten näytteet.....	39
	Liite 2. Naisten näytteet.....	40
	Liite 3. Miesten näytteet.....	44
	Liite 4. ROC-kuvaajat.....	48

## 1 JOHDANTO

Suomessa tehdään vuosittain noin 10 kliinistä laboratoriotutkimusta asukasta kohden. Laboratoriotutkimusten rooli on hyvin merkittävä potilaan hoitoon vaikuttavissa päätöksissä, vaikkakin laboratorioskustannukset ovat verrattain melko alhaiset tarkasteltaessa sairaaloiden ja terveyskeskusten kokonaiskustannuksia. Kustannus- ja laatusyistä harvemmin tehtävät tutkimukset ovat usein keskitetty tehtäväksi suuremmissa laboratorioissa. Virtsatieinfektioiden diagnosointia ja hoidon seuranta varten pyydetään yli miljoona virtsan bakteeriviljelyä joka vuosi. Tutkimuksen suuresta volyymistä, viljelyn työvoimavaltaisuudesta ja pitkästä vastausviiveestä johtuen nopealle ja tarkalle seulontatutkimukselle on tarvetta. (Niemelä 2010, 14; Virtsatieinfektiot: Käypä hoito -suositus 2015, 3.)

Tänä päivänä virtaussytometria on hyvin tunnettu mittaustekniikka, jonka jatkuvasti monipuolistuvat käyttömahdollisuudet ovat tehneet siitä arvostetun menetelmän useiden laboratorioden päivittäisessä diagnostiikassa. Virtaussytometrejä käytetään esimerkiksi veren, virtsan ja punktionesteiden solujen peruslaskentaan. (Leach, Drummond & Doig 2013, 1.) Virtaussytometriaa voidaan hyödyntää myös virtsan bakteeriviljelyn seulontaan, sillä virtaussytometrisillä tutkimuksilla saadaan selville näytteiden leukosyytti- eli valkosolu- ja bakteeripitoisuudet, joiden on useissa tutkimuksissa todettu korreloivan positiivisesti virtsan bakteeriviljelytuloksen kanssa. Seulonnan myötä negatiiviset tulokset voidaan vastata nopeammin ja vain seulontapositiiviset näytteet viljellään maljoille.

Fimlab Laboratoriot Oy (myöhemmin Fimlab) on Suomen suurin laboratorioalan yritys ja ensimmäinen julkisen terveydenhuollon puolelle perustettu laboratorioyhtiö. Fimlab on Pirkanmaan, Keski-Suomen ja Kanta-Hämeen sairaanhoitopiirien kuntayhtymien sekä Päijät-Hämeen hyvinvointikuntayhtymän omistama. Yhteensä näissä maakunnissa Fimlabin toimipisteitä on yli 100 ja henkilöstöä lähes 1000. (Yritysesittely 2019.) Fimlab on uudistanut tuotantoaan laajasti vuonna 2018, jonka yhteydessä myös virtsa-analytiikan partikkelilaskijat on uusittu Sysmexin UF-5000-mallisiin virtaussytometreihin Tampereen keskuslaboratoriossa sekä Keski-Suomen ja Kanta-Hämeen keskussairaaloiden laboratorioissa.

Tämän opinnäytetyön tavoite on kehittää Fimlabin virtsa-analytiikkaa verifioimalla virtsan bakteeriviljelyseulonta uusille Sysmex UF-5000 -analysaattoreille. Virtsan bakteeriviljelyn seulonta on ollut jo aiemmin käytössä Keski-Suomen keskussairaalan laboratoriossa edellisillä virtsan partikkelilaskijoilla (Sysmex UF-1000i) ja nyt menetelmä verifioidaan uudelle analysaattorille. Tavoitteena on laajentaa seulontakäytäntö myös Tampereen keskuslaboratorioon ja Kanta-Hämeen keskussairaalan laboratorioon. Sekä Fimlab että Fimlabin asiakkaat hyötyvät taloudellisesti bakteeriviljelyseulonnan laajemmasta käyttöön otosta virtsa-analytiikan kustannuksien alenemisella, sillä esimerkiksi viljelymaljojen ja näyteputkien sekä työvoiman tarve vähenee. Seulonnan myötä vastausajat lyhenevät ilman lisäkustannuksia asiakkaalle.

Tämän opinnäytetyön tarkoituksena on analysoida noin 500 satunnaista virtsanäytettä, joista on pyydetty solulaskenta U-Solut. Näytteet analysoidaan ensin UF-5000-analysaattorilla, jonka jälkeen ne viljellään CLED-maljoille (*Cystine-Lactose-Electrolyte Deficient*). Maljoilta luetaan kasvun määrä ja alustava lajitunnistus, jonka jälkeen viljelytuloksia verrataan partikkelilaskijan tuloksiin leukosyyttien ja bakteerien osalta. Tulosten avulla verifioidaan Keski-Suomen keskussairaalassa käytössä olevat seulontarajat leukosyytti- ja bakteeripitoisuuksille. Rajoja tarkastellaan erikseen lasten, naisten ja miesten osalta, ja menetelmän tarkkuus, herkkyys ja ennustearvo määritellään rajojen perusteella. Testin käyttökelpoisuutta arvioidaan ROC-kuvaajien (*Receiver Operating Characteristic*) avulla.

Verifiointiin osallistuivat lisäksi kaksi mikrobiologian laboratorion laboratoriohittajaa maljojen luvuissa, mikrobiologi seulontarajojen määrittämisessä, sekä tuotannonohjauspäällikkö tulosten käsittelyssä ja seulontarajojen määrittämisessä. Verifiointi suoritettiin Fimlabin Tampereen keskuslaboratoriossa.

## 2 VIRTAUSSYTOTOMETRIA

Virtausytometria on mittaustekniikka, jonka avulla voidaan mitata yksittäisten solujen ja muiden biologisten partikkelien fyysisiä ja kemiallisia ominaisuuksia. Ensimmäiset virtausytometrit kehitettiin 1940-luvulla ja niiden mittaus perustui Coulter-periaatteeseen eli sähkönjohtokyvyn ja impedanssin muutokseen, kun huonosti sähköä johtavat solut virtaavat hyvin sähköä johtavaan suolaliuokseen laimennettuina pienen aukon läpi. (Flickinger 2010, 2451–2452; Savolainen 2010, 71.)

Mittaustekniikkana virtausytometria on nopea, objektiivinen, tarkka ja herkkä, vaikka sitä ei voida suositella absoluuttisten solukonsentraatioiden määrittämiseen. Virtausytometria on kuitenkin tällä hetkellä paras menetelmä solujen luokitteluun. (Flickinger 2010, 2452.) Perinteisesti solulaskentaan käytetään mikroskopiaa, jossa on kuitenkin suuria rajoitteita laskettavan solumäärän suhteen. Pienestä otoksesta seuraa menetelmän huono toistettavuus, mikä lisää tuloksen epätarkkuutta (Savolainen 2010, 73). Mikroskoopissa ei myöskään pystytä havainnoimaan samanaikaisesti yhtä paljon erilaisia solujen piirteitä kuin virtausytometrillä. (Flickinger 2010, 2451–2452.)

Tässä kappaleessa esitellään virtausytometrian periaatteita ja niihin liittyviä fysikaalisia ilmiöitä tämän opinnäytetyön kannalta olennaisista näkökulmista. Verifioinnissa käytettyä Sysmexin UF-5000-analysointilaitetta sekä sen ominaisuuksia ja toimintaa tarkastellaan hieman tarkemmin.

### 2.1 Virtausytometrian periaate

Virtausytometriassa solujen erottelu perustuu niiden valon sirontaominaisuuksiin sekä merkkiaineiden fluoresenssiin. Virtausytometreissä käytetään valonlähteenä useimmiten laseria, joita voi olla laitteistossa myös useampi erillinen. Laser on hyvä valonlähde, sillä se on koherenttia valoa eli se tuottaa valoa yhdellä aallonpituudella. Lasereita saa useilla eri aallonpituuksilla vaihdellen ultravioletista punaiseen valoon. (Leach, Drummond & Doig 2013, 3; Savolainen, Pelliniemi & Koski 2010, 87.)

Yksi virtausytometrian peruseriaatteista on, että solujen ominaisuuksia pystytään mittaamaan yksitellen. Tämä tarkoittaa sitä, että solususpensio tulee ohjata valonsäteelle yksi solu kerrallaan. Tämä tapahtuu hydrodynaamisella fokuoinnilla eli johtamalla solususpensio laitteistossa vaipanesteen laminaarivirtauksen keskelle. Solususpensiota paremmin sähköä johtavassa vaipanesteessä on korkeampi paine ja se liikkuu solususpensiota nopeammin siten, että nesteet eivät sekoitu keskenään. Vaippaliuos muodostaa virratessaan vetovoiman, joka saa aikaan näytteen virtaamisen sen keskellä kapeassa tilassa yksi solu kerrallaan. Lasersäde kohdistuu virtaukseen 90 asteen kulmassa. (Flickinger 2010, 2452; Leach, Drummond & Doig 2013, 4; Savolainen, Pelliniemi & Koski 2010, 87.)

### 2.1.1 Valon sironta

Kun valo osuu partikkeliin tai molekyyliin, se absorboituu tai muuttaa suuntaansa. Suunnan muutosta kutsutaan valon sironnaksi. (Flickinger 2010, 2452; Øgendal 2019, 5.) Kun solu osuu virtauksessa valonsäteen kohdalle, solusta siroava valo mitataan kahdesta suunnasta. Pienessä kulmassa eteenpäin siroava valo kertoo solun koosta ja valonläpäisevyydestä: tyypillisesti suuret solut heijastavat enemmän valoa kuin pienet solut. Eteenpäin siroavan valon detektointiin käytetään yleensä fotodiodidetektoria, joka sijaitsee samassa linjassa lasersäteen kanssa, mutta näytevirtauksen toisella puolella. Sivulle siroava valo kertoo solun monimutkaisuudesta, kuten granulaarisuudesta ja sisäisestä rakenteesta. Solun rakenteista sivulle siroava valo detektoidaan noin 90 asteen kulmassa lasersäteeseen nähden ja signaalin heikkoudesta johtuen usein valomonistintputkidetektorilla. Tietojenkäsittelyjärjestelmien avulla tulokset voidaan muokata havainnolliseen muotoon, kuten histogrammeiksi ja sirontakuvioiksi. Laitteistosta riippuen tulokset saadaan kvantitatiivisessa muodossa joko laitteiston omien algoritmien tai sisäisen standardin käyttämisen avulla. (Leach, Drummond & Doig 2013, 5; Maltsev, Chernyshev & Strokotov 2013, 82; Savolainen, Pelliniemi & Koski 2010, 90.)

Valon sironnan ohjauksessa käytetään erilaisia suodattimia, jotka säätelevät detektorille pääsevän valon aallonpituusaluetta. Suodatin voidaan asettaa päästämään lävitseen vain tietyn raja-arvon ylittävät tai alittavat aallonpituudet, tai jonkin tietyn aallonpituusalueen kahden raja-arvon välistä. Polarisoitua suodatinta voidaan käyttää erottelemaan polarisoiva valo muusta valosta. Suodattimien käyttö on tarpeellista, kun halutaan analy-



soida useita signaaleja samanaikaisesti. (Leach, Drummond & Doig 2013, 5–7; Savolainen, Pelliniemi & Koski 2010, 88–90.)

### 2.1.2 Fluoresenssi

Fluoresenssi on valoilmio, joka liittyy valon fotoneihin ja atomin virittymiseen. Valo on sähkömagneettista aaltoliikettä, jonka energia on kvantittunutta. Yhtä valon kvanttia kutsutaan fotoniksi. Jos atomiin kohdistuu valoa sopivalla aallonpituudella, voi atomi absorboida fotonin. Tällöin fotonin energia siirtyy atomille ja aikaansaa valenssielektronin siirtymisen korkeammalle energiatasolle eli atomin virittymisen. Atomin virittyminen tapahtuu hyvin nopeasti. Fluoresenssi tapahtuu, mikäli siirtynyt elektroni palaa välittömästi takaisin matalammalle energiatasolle. Prosessin aikana energiaa hukkaantuu esimerkiksi lämpönä tai molekyylien törmätessä toisiinsa. Sen vuoksi atomin emittoima foton on energialtaan aina pienempi kuin absorboitu foton, eli emittoitun valon aallonpituus on pidempi. Valon väri vaihtuu aallonpituuden muuttuessa. Fluoresenssin intensiteetti riippuu hukatun energian määrästä, jonka suuruuteen vaikuttavat atomia ympäröivät olosuhteet. (Christie 2015, 13–14; Kubitscheck 2017, 87–89.)

Virtausytometriassa voidaan käyttää fluoresoivia merkkiaineita eli fluoresenssimarkkereita avuksi solujen tunnistuksessa. Fluoresenssimittaukset voivat tarjota tietoa solun pinnan reseptoreista tai solun sisäisistä molekyyleistä, kuten DNA:sta. Solut värjätään fluoresoivalla väriaineella eli fluoroforilla, joita voidaan käyttää myös useita erilaisia samanaikaisesti. Erilaiset fluoroforit emittoivat valoa eri aallonpituuksilla. Erityisesti hematologian analysointilaitteissa käytetään solun antigeeneja tunnistavia vasta-aineita, jotka ovat merkitty fluoroforilla. Fluoresenssimarkkereiden käyttö virtausytometriassa mahdollistaa mm. immunofenotyypityksen, jota käytetään esimerkiksi akuuttien leukemiaiden diagnostiikassa ja jäännöstautien seurannassa. (Leach, Drummond & Doig 2013, 6–8; Savolainen, Pelliniemi & Koski 2010, 87.)

## 2.2 Sysmex UF-5000

Sysmexin valmistama UF-5000 on kolmannen sukupolven täysin automaattinen virtaus-sytometriaan perustuva virtsan partikkelilaskija, jota voidaan käyttää myös punktionesteiden solujen laskentaan. Solulaskennan lisäksi analysaattori mittaa näytteen sähköjohtokykyä erillisellä johtokykyanturilla. Laite soveltuu ainoastaan ihmisperäisten näytteen analysointiin. Sysmex toi laitteen ensimmäiseksi Japanin markkinoille syyskuussa 2015 ja Fimlabin Tampereen keskuslaboratorioon keväällä 2018 asennetut laitteet ovat ensimmäiset Pohjoismaissa. UF-5000 mittaa näytteestä samanaikaisesti eteenpäin siroavaa valoa, sivulle siroavaa valoa, sivulle siroavaa fluoresenssivaloa sekä uutena mittaamenetelmänä Sysmexin edelliseen malliin verraten sivulle siroavaa depolarisoidua valoa. (About Sysmex 2015; UF-5000 Manual: General Information 2016, 5–6, 63.)

Fimlabin Tampereen keskuslaboratoriossa on kaksi UF-5000-analysaattoria, joista kumpikin on kytketty linjastoon UC-3500-analysaattorin (virtsan kemiallinen seulonta) kanssa. Laitteilla on CV-11-malliset näytteensyöttäjäyksiköt ja erilliset PU-17 painelaitteet. Näytteensyöttäjän tehtävä on kuljettaa näytteet näytetelineissä aspiroitavaksi ja lukea näytteiden viivakoodit, jotka sisältävät näytteiden pyyntötiedot. Tietoliikenne kulkee näytteensyöttäjältä analysaattorille ja sitä kautta isäntätietokoneelle (U-WAM), joka on laitteiston toimintaa ohjaava yksikkö. (CV-11: Instructions for Use 2016, 5-2.) Kuvassa 1 on verifiointissa käytetty analysaattori ja näytteensyöttäjä. Kuvan oikeassa laidassa näkyy Sysmex UC-3500, jonka kanssa UF-5000 on kytketty linjastoon CV-11-näytteensyöttäjän avulla.

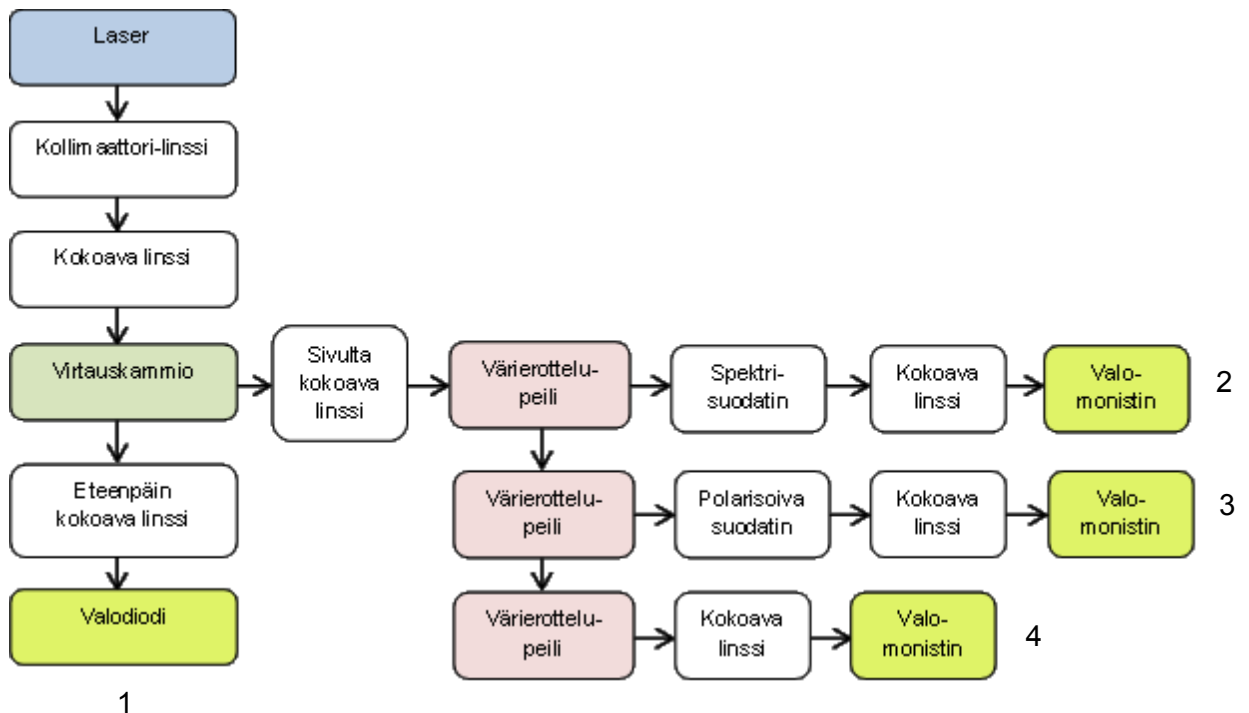


KUVA 1. Verifiointissa käytetty Sysmex UF-5000 -virtausytometri (Laihotie 2018)

## 2.2.1 Järjestelmät

UF-5000-analysaattori voidaan jakaa kolmeen eri järjestelmään, jotka ovat hydraulinen, optinen ja sähköinen järjestelmä. Kaikilla on oma tehtävänsä näytteiden analysoinnin kulussa. Laitteen hydraulinen järjestelmä muodostuu virtauskammioista, jossa on paineenalainen vaippavirtaus. Vaipaneste muodostaa virtauskammioon nestemäisen tunnelin, jonka lävitse värjätty näyte kulkee yksi solu kerrallaan. Lasersäde ohjataan virtauksen keskellä kulkeviin soluihin laitteen optisen järjestelmän avulla. (UF-5000 Manual: General Information 2016, 62.)

Laitteen optiseen järjestelmään kuuluu sininen puolijohdelaser, jonka aallonpituus on 488 nm. UF-5000-laitteessa lasersäteestä muodostetaan keilapiste kokoajalinssellä käyttäen, jonka jälkeen keilapiste tarkennetaan virtauskammiossa näytteeseen. Erilaisten linssien, peilien ja suodattimien avulla näytteestä siroava valo päätyy lopulta valomonistimien ja -diodien kautta laitteen sähköiseen järjestelmään. Optisen järjestelmän rakenne on kuvattu pääpiirteissään kuviossa 1, jossa nuolet kuvaavat valonsäteen kulkusuuntaa. Kuviossa kohta 1 kuvaa eteenpäin sironneen valon kulkua, kohta 2 sivufluoresenssin kulkua, kohta 3 depolarisoidun valon kulkua ja kohta 4 sivulle sironneen valon kulkua. (UF-5000 Manual: General Information 2016, 63.)



KUVIO 1. Optisen järjestelmän rakenne

Sähköisessä järjestelmässä sironnut valo ja fluoresenssi muutetaan detektoinnin jälkeen sähköisiksi signaaleiksi. Eteenpäin sironneen valon detektoimiseen käytetään valodiodia, mutta muut signaalit kulkevat valomonistimien kautta, sillä sivulle siroava valo, sivufluoresenssi ja depolarisoitu sivulle siroava valo ovat muutoin liian heikkoja. Partikkelit tunnistetaan mm. sähköisen signaalin voimakkuuden ja pulssin keston perusteella. (UF-5000 Manual: General Information 2016, 63, 65.)

### 2.2.2 Reagenssit

Kaikki UF-5000-laitteen käyttämät reagenssit ovat Sysmexin tuotteita, jotka ovat tarkoitettu käytettäväksi vain Sysmexin laitteilla. UF-5000-analysaattorin eniten kuluttama reagenssi on UF-CELLSHEAT eli vaippaliuos, joka on 0,14 % Tris-puskuria. Laitteiston puhdistukseen käytetään voimakkaan emäksistä CELLCLEAN U -liuosta. Lisäksi laite käyttää puhdastettä mm. aspirointineulan huuhtelemiseen. (UF-5000 Manual: General Information 2016, 75, 81.)

Solujen värjäykseen käytetään laimentimia UF-CELLPACK SF ja CR sekä väriaineita UF-Fluorocell SF ja CR. Väriaineet koostuvat etyleeniglykolista ja polymeitiini-väriaineesta. Värjäysreagensseissa SF tarkoittaa solun pintaa (*surface*) ja CR solujen sisäisiä elementtejä (*core*). SF-värjäystä käytetään tumattomien partikkelien, kuten punasolujen ja lieriöiden tunnistukseen. SF-kanavalla värjätään solukalvon komponentteja. CR-värjäys puolestaan auttaa erottelmaan esimerkiksi valkosolut, epiteelisolut ja bakteerit niiden sisäisten rakenteiden erojen perusteella. CR-värjäystä käytetään siis nukleiinihappoja sisältävien solujen tunnistukseen ja erotteluun. UF-CELLPACK-laimentimien tehtävänä on väriaineen laimentamisen lisäksi käsitellä soluja siten, että värjäytyminen on optimaalista. SF-laimennin liuottaa näytteestä pois amorfiset suolat ja hajottaa liman, kun taas CR-laimennin hajottaa tai liuottaa näytteen punasolut ja kiteet. CR-laimennin myös tekee solujen kalvorakenteista huokoisia, jotta DNA- ja RNA-rakenteiden värjäytyminen mahdollistuu. (UF-5000 Manual: General Information 2016, 75, 77–80; Yuno 2017, 8.)

Laitteen toiminta ja tulosten laatu varmistetaan päivittäin ajamalla UF-CONTROL-kontrolliliuokset. Kontrolleja on kahta eri tulostasoa, korkea (H) ja matala (L), ja kontrollit säilytetään jääkaappilämpötilassa. Muut laitteen reagenssit säilytetään huoneen-

lämmössä. Taulukkoon 1 on koottu yhteen tiedot kaikista laitteen käyttämistä reagensseista ja kontrolleista.

TAULUKKO 1. UF-5000-analysointilaitteen reagenssit ja kontrollimateriaalit (UF-5000 Manual: General Information 2016, 75)

Tuotteen nimi	Koostumus
UF-CELLSHEAT	0,14 % Tris-puskuri
UF-CELLPACK SF	1,2 % HEPES, < 0,01 % bentsisotiatsolinoni
UF-CELLPACK CR	< 0,1 % etikkahappo
UF-Fluorocell SF	99,9 % etyleeniglykoli, 0,05 % polymeitiniväri
UF-Fluorocell CR	99,9 % etyleeniglykoli, 0,02 % polymeitiniväri
CELLCLEAN U	natriumhypokloriitti, klooripitoisuus 5,0 %
UF-CONTROL-H	0,4 % lateksipartikkelit
UF-CONTROL-L	0,1 % lateksipartikkelit

### 2.2.3 Toiminnan kuvaus

Näytettä aspiroidaan näyteputkesta neulalla UF-5000-analysointilaitteen tulokammioon, josta sitä annostellaan toisella neulalla yhtä paljon kahteen eri reaktioyksikköön. SF-yksikkö on tarkoitettu partikkelien pintarakenteiden värjäykseen ja CR-yksikkö sisäisten rakenteiden värjäykseen. Kyseisissä yksiköissä näytteeseen sekoitetaan värjäykseen tarvittavat laimentimet ja väriaineet. Molemmissa yksiköissä näyte laimennetaan 1:4 ja näytettä värjätään 39 °C lämpötilassa noin yhdeksän sekunnin ajan. (UF-5000 Manual: General Information 2016, 66.)

Värjäyksen jälkeen näyte kulkee kappaleessa 2.2.1 kuvattujen laitteen järjestelmien läpi. Eteenpäin ja sivulle sironneen valon sekä sivufluoresenssin ja depolarisoituneen valon sähköiset signaalit analysoidaan aallonmuotoanalyysillä, jossa tarkastellaan erityisesti aallon korkeutta ja leveyttä. Aallonmuotoanalyysin avulla saadaan selville mm. partikkelien koko, pinnanlaatu ja värjättyjen rakenteiden ominaisuudet. Näiden perusteella mikrotietokone laskee algoritmien perusteella numeeriset arvot kullekin parametrille. (UF-5000 Manual: General Information 2016, 66–68.)

### 3 VIRTSA-ANALYTIikka

Virtsanäytteiden avulla voidaan saada tietoa munuaisten, virtsarakon ja virtsateiden tilasta. Virtsa analysoimalla voidaan tutkia myös joitain muita yleissairauksia. Yleisimmin virtsasta tutkitaan bakteerien, valkuaisen ja veren määrää. Virtsanäytteiden käyttö dopingaineiden analytiikassa on myös yksi hyvin yleisesti tunnettu virtsa-analytiikan sovellutus. Oikea näytteenottotapa korostuu luotettavien tulosten saamiseksi virtsa-analytiikassa, erityisesti virtsatieinfektioiden diagnostiikassa. Näytteenotto-ohjeiden lisäksi laboratorion antamia ohjeita näytteen säilytykseen ja kuljetukseen liittyen tulee noudattaa huolellisesti tulosten luotettavuuden takaamiseksi. (Eskelinen 2016a; Virtsatieinfektiot: Käypä hoito -suositus 2015, 5.)

#### 3.1 Virtsatieinfektio

Virtsatieinfektiot ovat yleisimpiä lääkärin hoitoon johtavia infektioita Suomessa heti hengitystieinfektioiden jälkeen. Virtsatieinfektioiden esiintyvyyteen aikuisilla vaikuttavat erityisesti ikä ja sukupuoli. Bakteriuria eli bakteerikasvu virtsassa on huomattavasti yleisempää naisilla kuin miehillä. Erityisesti nuorilla ja keski-ikäisillä miehillä virtsatieinfektiot ovat harvinaisia. Vanhimmissa ikäryhmissä infektiot ovat yleisempiä ja sukupuolen merkitys infektioiden yleisyydessä vähenee. Alle 1-vuotiailla lapsilla sukupuolten välillä esiintyy suunnilleen yhtä paljon infektioita. Vanhemmilla lapsilla virtsatieinfektioita on vähemmän ja niitä esiintyy pääsääntöisesti tytöillä. Lapsilla virtsatieinfektio voi johtaa munuaiskudoksen vaurioitumiseen ja vanhemmalla iällä havaittavaan munuaisten vajaatoimintaan, minkä vuoksi virtsatieinfektion oikea epäily sekä tarkka diagnostiikka ja hoito ovat lasten kohdalla erityisen tärkeitä. (Lumio 2011, 504; Uhari 2011, 516; Virtsatieinfektiot: Käypä hoito -suositus 2015, 2–3.)

Virtsatieinfektiot voidaan jaotella kolmella tavalla. Infektiotason mukaisessa lajittelussa uretriitti tarkoittaa virtsaputken infektiota, kystiitti virtsarakon infektiota ja pyelonefriitti munuaisaltaan, virtsanjohtimen tai munuaiskudoksen infektiota, joka on huomattavasti harvinaisempi infektio kuin rakkotason infektiot. Toinen tapa on jaotella virtsatieinfektiot komplisoitumattomiin ja komplisoituneisiin. Komplisoitumaton tarkoittaa sellaista naisen virtsatieinfektiota, joka on satunnainen, ja jolle ei ole erityistä altistavaa tekijää.

Suurin osa virtsatieinfektioista luokitellaan kuuluvaksi tähän luokkaan. Komplisoituneiksi virtsatieinfektioiksi luokitellaan sellaiset, joissa potilaalla on lääkehoidon epäonnistumista ennustavia tekijöitä. Lisäksi tähän luokkaan kuuluvat esimerkiksi raskaudenaikaiset infektiot ja kaikki miesten infektiot. Näiden lisäksi luokitellaan vielä erikseen oireeton bakteriuria, joka on naisilla melko yleinen. Virtsatieinfektion luokittelu ohjaa diagnostiikkaa ja hoitoa. Pääsääntöisesti komplisoitumattomat kystiitit voidaan hoitaa mikrobilääkityksellä ilman bakteeriviljelyä. (Uhari 2011, 505–507; Virtsatieinfektiot: Käypä hoito -suositus 2015, 3.)

Avohoidossa yleisin virtsatieinfektioita aiheuttava bakteeri naisilla ja lapsilla on *Escherichia coli* eli *E. coli*. Sairaalasynnytyisissä ja miesten virtsatieinfektioissa aiheuttajabakteerien kirjo on laajempi. Virtsatieinfektio syntyy yleensä siten, että välilihaa kolonisoiivat bakteerit pääsevät nousemaan virtsaputkea pitkin virtsarakkoon. Näin ollen sukupuolten väliset anatomiset erot selittävät virtsatieinfektioiden yleisyyden naisilla miehiin verraten. (Lumio 2011, 506; Uhari 2011, 516; Virtsatieinfektiot: Käypä hoito -suositus 2015, 3.)

### **3.2 Virtsan perustutkimukset**

Virtsan perustutkimuksia ovat U-KemSeul, U-Solut, U-Diffi ja U-BaktVi. Tässä kappaleessa käsitellään tarkemmin virtsan partikkelien peruslaskentaa U-Solut, bakteeriviljelyä U-BaktVi ja bakteeriviljelyn seulontaa virtausytometrillä, sillä ne ovat olennaisia tämän opinnäytetyön kannalta. Virtsan kemiallinen seulonta U-KemSeul toimii pikatestinä, jonka avulla voidaan seuloa mm. proteiuriaa, glukosuriaa ja hematuriaa. U-KemSeul-tulokset vastataan semikvantitatiivisesti. (Eskelinen 2016b; Kouri 2010, 125, 127–128.)

#### **3.2.1 Virtsan partikkelien laskenta**

Virtsan partikkelien laskenta on tutkimus, jonka tarkoituksena on täydentää munuaissairauksien perusselvitystä. Partikkeleita voidaan osittain seuloa jo kemiallisen seulan tutkimuksessa (U-KemSeul), sillä testiliuskalla voidaan osoittaa erytrosyyttejä eli punasoluja ja leukosyyttejä. (Estridge & Reynolds 2012, 559–560; Kouri 2010, 127.)

Virtsan partikkelitutkimuksia ovat peruslaskenta U-Solut ja erittelylaskenta U-Diffi. Peruslaskennassa tunnistetaan erytrosyytit, leukosyytit, bakteerit, epiteelisolut (levyepiteelit, välimuotoiset ja tubulusepiteelit), lieriöt (eriteltyinä hyaliinilieriöihin ja muihin lieriöihin), hiiva ja siittiöt. Erittelylaskennassa keskitytään erilaisten munuaisperäisten löydösten, kuten lieriöiden ja tubulussolujen tarkempaan erittelyyn. Tulokset vastataan kvantitatiivisesti. (Estridge & Reynolds 2012, 576–580, 584; Kouri 2010, 127.)

Virtsan partikkelilaskentaan, erityisesti erittelylaskentaan, käytetään perinteisesti mikroskopioita. Virtsan solujen mikroskopointia varten näyte sentrifugoidaan ja sakka värjätään. Tänä päivänä virtsan partikkelien peruslaskentaan käytetään usein automaattisia partikkelilaskijoita, jotka nopeuttavat analyysin tekoa. Automaattilaskijaa käytettäessä näyte vaatii vähemmän esikäsittelyä. Mikäli partikkelilaskijalla näytteen tuloksissa on jotain epätavallista tai epävarmuutta, ohjautuu näyte mikroskopointiin tulosten tarkistamiseksi. (Estridge & Reynolds 2012, 584–585; Kouri 2010, 127–128.)

### 3.2.2 Virtsan bakteeriviljely

Virtsan bakteeriviljely U-BaktVi on menetelmä, jota käytetään virtsatieinfektioiden diagnosointiin. Virtsan bakteeriviljelyn avulla voidaan selvittää uropatogeenin eli virtsatieinfektion taudinaiheuttajan tyyppi sekä sen mikrobilääkeherkkyys. U-BaktVi-tutkimuksessa elatusaineena voidaan käyttää esimerkiksi CLED-agaria (*Cystine-Lactose-Electrolyte Deficient Agar*). Uropatogeenien erottelu CLED-maljalla perustuu niiden kykyyn käyttää laktoosia hyödykseen. CLED-agarin pH-indikaattori bromitymolisininen muuttuu keltaiseksi laktoosin fermentaatioreaktiossa muodostuvan hapon vaikutuksesta. Näin ollen laktoosipositiiviset bakteerit, kuten *E. coli*, kasvavat maljalla keltaisina pesäkkeinä. Menetelmän toteamisraja on  $10^3$  bakteeria millilitrassa, kun maljalle viljellään 1 µl näytettä. (Kouri 2010, 131; Sigma-Aldrich 2013.)

Virtsan bakteeriviljelyn tuloksen saaminen kestää noin vuorokauden. Yli  $10^5$  bakt/ml kasvu on lähes aina merkki infektiosta ja tietyissä tapauksissa myös  $10^3$ – $10^5$  bakt/ml kasvu voi olla kliinisesti merkittävää. Bakteeriviljelyn negatiivinen tulos ei sulje pois infektion mahdollisuutta. Siitä syystä tulosten tulkinnessa tulisi ottaa huomioon potilaan kliininen tila, näytteenottotapa ja rakko aika. Yleensä näytteestä on tapana nimetä vain yksi, enintään kaksi kasvavaa uropatogeeniä. Mikäli maljalla kasvaa useampia lajeja,



merkitsee se todennäköisesti kontaminaatiota esimerkiksi näytteenoton yhteydessä tai sitä, etteivät bakteerit ole uropatogenejä. Jos potilaalla epäillään siitä huolimatta virtsatieinfektiota, tulee potilaalta tutkia uusi näyte. (Eskelinen 2016c; Lumio 2011, 508–509.)

### **3.2.3 Virtsan bakteeriviljelyn seulonta virtaussytometrillä**

Suomen kliinisissä laboratorioissa on laajasti käytössä virtsan bakteeriviljelyn seulonta partikkelilaskijoilla. Seulonnan avulla negatiiviset tulokset voidaan vastata päivystysluontoisesti ja vain seulontarajat ylittävät näytteet ohjautuvat bakteeriviljelyyn. Partikkelilaskenta ei kuitenkaan ole luotettava virtsatieinfektion seulontatesti kaikille potilasryhmille. Mikäli bakteeriviljely halutaan tehtävän joka tapauksessa, esimerkiksi potilaille, jotka eivät pysty tuottamaan riittävää leukosyyttivastetta, voidaan seulontatesti ohittaa pyytämällä näytteestä virtsan bakteerien erikoisviljely U-BaktEVi. Seulontaryhmien määrittely, seulontarajat ja vastauskäytännöt vaihtelevat hieman laboratorioittain. (Lumio 2011, 513; Virtsatieinfektio: Käypä hoito -suositus 2015, 6–7.)

Jolkosen, Paattiniemen, Kärpänojan ja Sarkkisen (2010) tekemässä tutkimuksessa arvioitiin Sysmexin toisen sukupolven UF-500i-virtaussytometrin soveltuvuutta bakteeriviljelyseulontaan ja kehitettiin mahdollisimman hyvä seulontamenetelmä. Tutkimuksen mukaan seulonnassa on kannattavaa asettaa ikä- ja sukupuolispesifiset seulontarajat. Aineistoa kerättiin myöhemmin vielä lisää ja 2343 näytteen otannalla tehdyn tutkimuksen perusteella virtaussytometriä käyttäen virtsatieinfektioiden seulonnassa vähentää tarvittavien viljelyiden määrää noin 60 %. (Sarkkinen, Paattiniemi, Kärpänoja & Karumaa 2012, 1413–1415.)

Fimlabin Keski-Suomen keskussairaalassa Sysmexin UF-1000i-virtaussytometrillä käytössä olleet seulontarajat (taulukko 2) mukailivat Sarkkisen ym. (2012) tutkimuksen tuloksia. Mikäli joko leukosyytti- (WBC) tai bakteeriraja (BACT) ylittyy, ohjautuu näyte bakteeriviljelyyn.

TAULUKKO 2. Fimlabin aikaisemmat seulontarajat Keski-Suomen keskussairaalan laboratoriossa

	WBC (kpl/ $\mu$ l)	BACT (kpl/ $\mu$ l)
Lapset < 16	17	40
Naiset	17	560
Miehet	27	80

Sysmexin kolmannen sukupolven UF-5000-partikkelilaskijan soveltuvuutta bakteeriviljelyn seulontaan on tutkittu mm. Italiassa. De Rosan ym. tutkimuksessa otantana oli 2719 virtsanäytettä. Tutkimuksen mukaan virtsan bakteeripitoisuus on optimaalinen indikaattori positiiviselle viljelytulokselle. Bakteeripitoisuuden raja-arvo 58 bakt/ $\mu$ l yhdistettynä näytteen korkeaan hiivapitoisuuteen on tutkimuksen mukaan optimaalisin seulontamenetelmä. Näytteen leukosyyttipitoisuuden mukaisen seulonnan ei puolestaan todettu parantavan seulontatestin diagnostista tarkkuutta. Tutkimuksessa ei otettu huomioon potilaan ikää tai sukupuolta. Sysmex UF-5000 -virtaussytometrin todettiin tutkimuksen perusteella olevan hyvin soveltuva bakteeriviljelyseulontaan ja osoittavan korkeaa diagnostista tarkkuutta. (De Rosa ym. 2018.)

## 4 VERIFIOINTI

Suomessa lääketieteellisten laboratorioiden laatua ja pätevyyttä ohjaa eurooppalainen standardi SFS-EN ISO 15189, joka perustuu standardeihin ISO/IEC 17025 ja ISO 9001. Laatu lääketieteellisessä laboratoriossa on hyvin tärkeää, jotta pystytään vastaamaan potilaiden ja heidän hoidostaan vastaavien lääkäreiden tarpeisiin. Vaikka akkreditointi on terveydenhuollon sektorilla vapaaehtoista, ovat akkreditoinnin piirissä kaikki alan suuret toimijat, jotka tuottavat pääosin kliiniset laboratoriopalvelut Suomessa. Laboratorioiden akkreditoinnista eli pätevyyden osoittamisesta Suomessa vastaa FINAS-akkreditointipalvelu, joka kuuluu Turvallisuus- ja kemikaaliviraston alaisuuteen. (SFS-EN ISO 15189 2013, 5; FINAS 2016.)

Verifiointi on olennainen osa akkreditoitun kliinisen laboratorion toimintaa. Verifiointi tarkoittaa todentamista eli näyttöön perustuvaa varmistumista vaatimusten täyttymisestä. Kaikkien akkreditoitun kliinisen laboratorion menetelmien tulee olla validoituja tai verifioituja. Validointi eli kelpuutus täytyy tehdä silloin, kun jo ennestään validoituun menetelmään tehdään muutoksia tai otetaan käyttöön uusia menetelmiä, jotka eivät ole standardimenetelmiä tai ovat laboratorion itse kehittämiä. Tutkimusmenetelmän verifiointi puolestaan tehdään silloin, kun laboratorio haluaa ottaa käyttöön sellaisenaan jo aiemmin validoidun menetelmän. Validointiin ja verifiointiin kuuluu aina objektiivisuus ja huolellinen raportointi. Validointiin ja verifiointiin liittyviä mittauseräparametreja ovat mm. oikeellisuus, tarkkuus, toistettavuus, mittaus- ja määrittämiss raja, mittauserävarmuus sekä analyttinen ja diagnostinen spesifisyys ja herkkyys. (SFS-EN ISO 15189 2013, 10, 35.)

### 4.1 Tutkimuksen käyttökelpoisuuden arviointi ROC-kuvaajalla

Kun validoidaan tai verifioidaan menetelmä kliiniseen käyttöön, tulee määrittää sen käyttökelpoisuus. Käyttökelpoisuus on optimaalinen silloin, kun vääriä positiivisia tai vääriä negatiivisia tuloksia ei tule lainkaan (tarkkuus ja herkkyys = 1). Täysin optimaalista testiä ei kuitenkaan voida käytännössä saavuttaa (Kairisto 2010, 45). Kun kliinistä päätöksentekorajaa asetetaan, tulee pyrkiä mahdollisimman hyvään kompromissiin si-

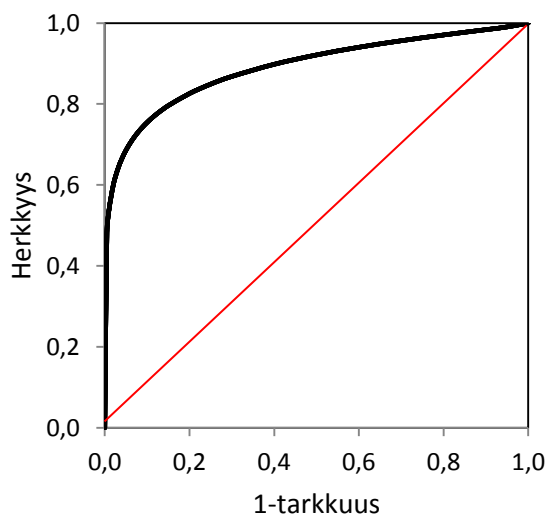
ten, että tutkimuksen herkkyys ja tarkkuus olisivat mahdollisimman hyviä tai muuten tarkoituksenmukaisia.

ROC-kuvaajaa (*Receiver Operating Characteristic*) voidaan käyttää päätöksentekorajan määrittämiseen sekä kuvaamaan testin käyttökelpoisuutta: ROC-kuvaaja esittää graafisesti kliinisen herkkyuden ja tarkkuuden yhteyden kaikilla päätöksentekorajoilla. Kuvaajaa piirtäessä x-akselilla on 1 – testin tarkkuus ja y-akselilla on testin herkkyys. Kuvaajan alle jäävä pinta-ala AUC (*Area Under the Curve*) kertoo testin käyttökelpoisuudesta: mitä lähempänä AUC on arvoa 1, sitä parempi testi on. AUC-arvolla 0,5 testi on täysin hyödytön: todennäköisyys saada oikea ja väärä tulos on yhtä suuri. (Ekelund 2011; Kairisto 2010, 45.) Taulukossa 3 on esitetty testin käyttökelpoisuus eri AUC-arvoilla.

TAULUKKO 3. Testin käyttökelpoisuus (Ekelund 2011)

AUC	Käyttökelpoisuus
0,9–1,0	Erittäin hyvä
0,8–0,9	Hyvä
0,7–0,8	Kohtalainen
0,6–0,7	Heikko
0,5–0,6	Käyttökelvoton

Kuviossa 2 musta käyrä on esimerkki ROC-kuvaajasta, jonka AUC-arvo on 0,8–0,9 ja punainen suora ( $y = x$ ) kuvaa AUC-arvoa 0,5. Mitä lähempänä ROC-kuvaaja kulkee pistettä (0;1), sitä lähempänä AUC on arvoa 1 eli sitä parempi testi on.



KUVIO 2. Esimerkki ROC-kuvaajasta

ROC-analyysin laskentaan käytetään suurimman uskottavuuden estimointia (*Maximum likelihood estimation*). Estimaation avulla arvioidaan kyseessä olevan tulospopulaation todennäköinen keskiarvo ja hajonta tuntematta aineistoa kokonaan. (Metz & Pesce 2007.)

#### 4.2 Herkkyyys, tarkkuus ja ennustearvo

Jotta menetelmän herkkyyys ja tarkkuus sekä positiivinen ja negatiivinen ennustearvo voidaan määrittää, tulee näytteet luokitella päätettyjen seulontarajojen mukaisesti oikeisiin ja väriin positiivisiin näytteisiin sekä oikeisiin ja väriin negatiivisiin näytteisiin. Standardimenetelmänä tässä verifiointissa on bakteeriviljely, jonka tulokseen partikkelilaskijan tulosta verrataan. Näytteet luokitellaan taulukon 4 mukaisesti.

TAULUKKO 4. Näytteiden luokittelu (Kairisto 2010, 42)

	Selitys
<b>A</b> = oikea positiivinen	Näyte on partikkelilaskijalla seulontapositiivinen ja myös bakteeriviljelyn tulos on positiivinen.
<b>B</b> = väärä positiivinen	Näyte on partikkelilaskijalla seulontapositiivinen, mutta bakteeriviljelyn tulos on kuitenkin negatiivinen.
<b>C</b> = väärä negatiivinen	Näyte on partikkelilaskijalla seulontanegatiivinen, mutta bakteeriviljelyn tulos on kuitenkin positiivinen.
<b>D</b> = oikea negatiivinen	Näyte on partikkelilaskijalla seulontanegatiivinen ja myös bakteeriviljelyn tulos on negatiivinen.

Menetelmän herkkyys *Se* (*sensitivity*) kuvaa tässä tapauksessa sitä, kuinka suuri osa maljalla kasvavista näytteistä on seulontapositiivisia. Herkkyys voidaan laskea taulukon 4 määrittelyn mukaan kaavalla (1).

$$Se = \frac{A}{A + C} \quad (1)$$

Menetelmän tarkkuus *Sp* (*specificity*) kertoo puolestaan siitä, kuinka suuri seulontanegatiivisten osuus on maljalla kasvamattomista näytteistä. Tarkkuus voidaan laskea kaavalla (2).

$$Sp = \frac{D}{B + D} \quad (2)$$

Menetelmän positiivinen ennustearvo *PPV* (*Positive Predictive Value*) kuvaa tässä tapauksessa sitä, kuinka hyvin seulontapositiivinen tulos ennustaa maljaviljelyn tuloksen olevan myös positiivinen. Positiivinen ennustearvo voidaan laskea kaavalla (3).

$$PPV = \frac{A}{A + B} \quad (3)$$

Menetelmän negatiivinen ennustearvo *NPV* (*Negative Predictive Value*) kertoo, kuinka hyvin seulontanegatiivinen tulos ennustaa maljaviljelyn tuloksen olevan myös negatiivinen. Negatiivinen ennustearvo voidaan laskea kaavalla (4).

$$NPV = \frac{D}{C + D} \quad (4)$$

Seulontatestin osalta on tarkoituksenmukaista tavoitella hyvän herkkyuden sijaan mahdollisimman tarkkaa testiä, sillä testin tarkoitus on seuloa varmasti negatiiviset näytteet pois jatkotutkimuksista. Näin ollen seulontatestin negatiivinen ennustearvo pyritään saamaan mahdollisimman lähelle arvoa 1. (Hoitosuositusryhmien käsikirja: Käypä hoito -suositus 2012, 53; Kairisto 2010, 41–44.)

## 5 BAKTEERIVILJELYSEULONNAN VERIFIOINNIN SUORITUS

Virtsan bakteeriviljelyseulonnan kokeellinen osuus alkoi verifiointisuunnitelman laatimisella. Suunnitelmaan kirjattiin ylös mahdollisimman tarkasti aikataulu, osallistuva henkilöstö, käytettävä laitteisto ja muut välineet, sekä näytemäärä ja näytteiden tyyppi. Tässä työssä kyse on verifiointista sen vuoksi, että menetelmä on ollut jo aiemmin käytössä Fimlabin Keski-Suomen keskussairaalan laboratorioissa edellisen sukupolven virtsan partikkelilaskijalla, mutta nyt menetelmä on tarkoitus ottaa käyttöön uusille laitteille ja useammassa toimipisteessä.

Näytteiden analysoinnit laitteella, maljojen luvut ja datan käsittely tehtiin kolmen viikon aikana syksyllä 2018. Verifiointiin osallistuivat lisäksi kaksi mikrobiologian laboratorion laboratoriohoitajaa maljojen luvuissa, mikrobiologi seulontarajojen määrittämisessä, sekä tuotannonohjauspäällikkö tulosten käsittelyssä ja seulontarajojen määrittämisessä.

### 5.1 Näytteet ja niiden analysointi virtaussytometrillä

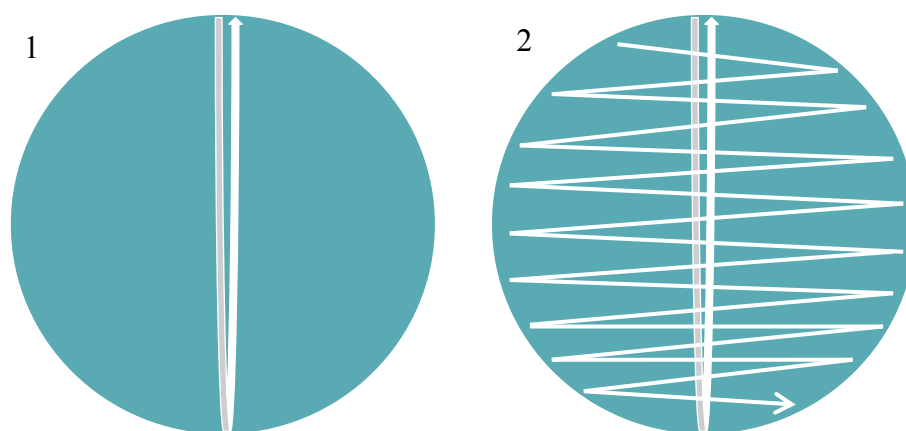
Verifiointissa käytettiin materiaalina U-Solut-pyynnöillä tulleita potilasnäytteitä. Näytteet oli otettu säilöntäaineellisiin virtsanäyteputkiin (BD Vacutainer, tuotenumero 364955). Potilasnäytteiden käyttöön verifiointissa ei tarvittu näytteenantajan suostumusta, sillä näytteitä ei pysty identifioimaan verifiointidatasta, eikä siitä jää merkintää potilastietoihin. Verifiointia varten ei tarvittu ylimääräisiä näytteitä. Näytteet valittiin täysin sattumanvaraisesti, ja tavoitteeksi asetettiin noin 500 näytteen analysointi. Lopulta verifiointiin saatiin mukaan 547 näytettä.

Näytteet analysoitiin Sysmex UF-5000 -virtaussytometrillä normaalisti laboratorion käytäntöjen mukaan. Ennen analysointia näytteet sekoitettiin huolellisesti kääntelemällä putkia ylösalaisin ja samalla tarkistettiin näytteiden soveltuvuus laitteelle: laitteiston tukkeutumisen vuoksi limaisia tai muuten kovin heterogeenisiä näytteitä ei voida analysoida laitteella. Myös voimakkaan verisistä tai sakkaisista näytteistä ei välttämättä saada oikeellisia tuloksia. Näytteiden tulee lisäksi olla huoneenlämpöisiä.



## 5.2 Näytteiden viljely ja maljojen luku

Kaikki näytteet viljeltiin mahdollisimman pian laitteella analysoinnin jälkeen. Näytteet viljeltiin kertakäyttöisillä 1 µl tilavuisilla viljelysilmukoilla CLED-maljoille, jotka olivat Fimlabin itse valmistamia. Käytetty viljelytekniikka on kuvion 3 mukainen. Ensimmäisessä vaiheessa silmukalla vedetään edestakainen viiva maljan poikki, jonka jälkeen silmukka nostetaan ylös. Toisessa vaiheessa loput maljan pinnasta viljellään tiheästi samaa silmukkaa käyttäen. Maljoja inkuboitiin aerobisesti yön yli (noin 16–18 tuntia) 35 °C lämpötilassa.



KUVIO 3. Viljelytekniikka

Maljat luettiin laboratoriohoitajan avustuksella seuraavana aamuna viljelystä. Luvussa käytettiin muuten samaa tekniikkaa ja tarkkuutta kuin tavallisten potilasnäytteidenkin luvussa, mutta tulosten tulkinnassa ei otettu huomioon potilaan kliinistä tilaa, näytteenottotapaa tai rakkoaikaa. Maljoilta tarkasteltiin kasvun määrää ja tehtiin alustava lajitunnistus, joiden perusteella normaalissa päivittäisessä työskentelyssä tehtäisiin tarvittaessa jatkoviljelyt herkkyysmaljoille. Kasvun määrä merkittiin näytetietoihin taulukon 5 mukaisesti. Taulukossa on pesäkkeiden määrä maljalla kappalemääränä ja näytteen bakteeripitoisuus millilitraa kohden.

TAULUKKO 5. Bakteerikasvun määrän tulkinta

Pesäkkeiden määrä maljalla (kpl)	Näytteen bakteeri- pitoisuus (bakt/ml)	Kirjattava kasvun määrä
0	$< 10^3$	0
1	$10^3$	4
< 10	$10^3 - 10^4$	5
10–100	$10^4 - 10^5$	6
> 100	$> 10^5$	7

Maljalla kasvavista näytteistä nimettiin 1–2 todennäköistä uropatogeeniä tai mikäli maljalla kasvoi useampia eri lajeja, merkittiin ”sekafloora”. Sekaflooran kasvun määrää ei arvioitu. Uropatogeenien tunnistuksessa käytettiin taulukon 6 mukaisia lyhenteitä. Lyhenteet kertovat alustavan lajitunnistuksen mukaisesta jatkotutkimusmenetelmästä ja mikrobilääkeherkkyyden määrittämisestä.

TAULUKKO 6. Uropatogeenien tunnistuksessa käytetyt lyhenteet (Valtonen 2019)

Lyhenne	Alustava tunnistus
krc	<i>E. coli</i> (kromogeeninen malja, c-herkkyys)
sez	enterokokki (sappieskuliinimalja, z-herkkyys)
malc	enterobakteeri (MALDI-TOF, c-herkkyys)
malä	stafylokokki (MALDI-TOF, ä-herkkyys)
koä	beetahemolyttinen streptokokki (koagglutinaatiotesti, ä-herkkyys)
q	pseudomonas
pvvm	puhdasviljely verimaljalle
sf	sekafloora

### 5.3 Tulosten käsittely

Kaikki Sysmex UF-5000-analysaattorilta saadut tulokset tallennettiin välitieto-ohjelmasta (U-WAM) muistitikulle CSV-tiedostona sekä kirjattiin maljojen lukujen tulosten kanssa Excel-taulukkoon. Tulokset järjestettiin omille sivuillensa naisten, lasten ja miesten osalta. Lisäksi tulokset jaettiin kaikille edellä mainitulle kolmelle ryhmälle bakteri- ja leukosyyttitulosten mukaiseen suuruusjärjestykseen. Lapset määriteltiin 16-vuotiaiksi (päivälleen) ja sitä nuoremmiksi.

Bakteeriviljelyseulonnan rajojen määrittämiseen kunkin ryhmän osalta käytettiin apuna muodostettuja bakteri- ja leukosyyttitaulukoita. Tuloksia vertailtiin aiemmin Keski-Suomen keskussairaalassa edellisellä virtsan partikkelilaskijalla käytössä olleisiin seulontarajoihin. Jotta menetelmän käyttökelpoisuus voidaan määrittää ROC-kuvaajan avulla, tulee menetelmälle asettaa merkitsevän bakterikasvun raja. Rajat määritettiin datan perusteella mikrobiologin ja tuotannonohjauspäällikön yhteisellä päätöksellä.

## 6 TULOKSET JA TULOSTEN TARKASTELU

### 6.1 Seulontarajojen määrittäminen

Saaduista tuloksista muodostettiin kuusi taulukkoa (liitteet 1–3), joiden tarkastelun perusteella tehtiin päätökset seulontarajoista: lasten leukosyytit, lasten bakteerit, naisten leukosyytit, naisten bakteerit, miesten leukosyytit ja miesten bakteerit. Taulukoissa näytteet järjestettiin leukosyytti- ja bakteeripitoisuuksien mukaan kasvavaan järjestykseen. Aiemmin Keski-Suomen keskussairaalassa käytössä olleita rajoja (taulukko 2) verrattiin saatuihin tuloksiin. Taulukoista tarkasteltiin erityisesti sitä, kuinka paljon väärä negatiivisia vastuksia jäisi rajojen alle suhteutettuna näytteiden kokonaismäärään, ja kuinka paljon väärät negatiiviset näytteet kasvoivat maljoilla.

Taulukoiden tarkastelun jälkeen mikrobiologin ja tuotannonohjauspäällikön päätöksellä päädyttiin ottamaan käyttöön taulukon 7 mukaiset seulontarajat leukosyyteille (WBC) ja bakteereille (BACT). Raja-arvo on merkitty liitteiden 1–3 taulukoissa poikkiviivalla. Lasten bakteeriseulontarajaa lasketaan, mutta muut seulontarajat pysyvät ennallaan.

TAULUKKO 7. Käyttöön otettavat seulontarajat

	WBC (kpl/ $\mu$ l)	BACT (kpl/ $\mu$ l)
Lapset $\leq$ 16	17	<b>20</b>
Naiset	17	560
Miehet	27	80

### 6.2 Tutkimuksen käyttökelpoisuuden arviointi

Tutkimuksen käyttökelpoisuutta määritetyillä seulontarajoilla arvioidaan ROC-kuvaajan avulla. Mikrobiologin ja tuotannonohjauspäällikön kanssa päätettiin, että merkitsevän bakteerikasvun rajaksi asetetaan  $10^3$  bakteeria millilitraa kohden (tuloksissa kasvun määräksi merkitty 4). Sekaflooranäytteet määriteltiin ei-kasvaviksi näytteiksi eli niiden viljelytulos on negatiivinen. Näytteet, jotka olisivat CLED-maljalle viljelyn jälkeen oh-

jautuneet puhdasviljelyyn verimaljalle, määritettiin merkitseväksi kasvuksi eli positiiviseksi viljelytulokseksi. Toisin sanoen kaikki näytteet, jotka normaalisti ohjautuisivat jatkoviljelyyn, määritettiin verifiointissa merkitseväksi kasvuksi. Taulukossa 8 on esitetty, miten standardimenetelmän tulos merkitään ROC-analyysiä varten. Analyysissä 1 tarkoittaa positiivista tulosta eli merkitsevää kasvua ja 0 tarkoittaa negatiivista tulosta eli ei-merkitsevää kasvua.

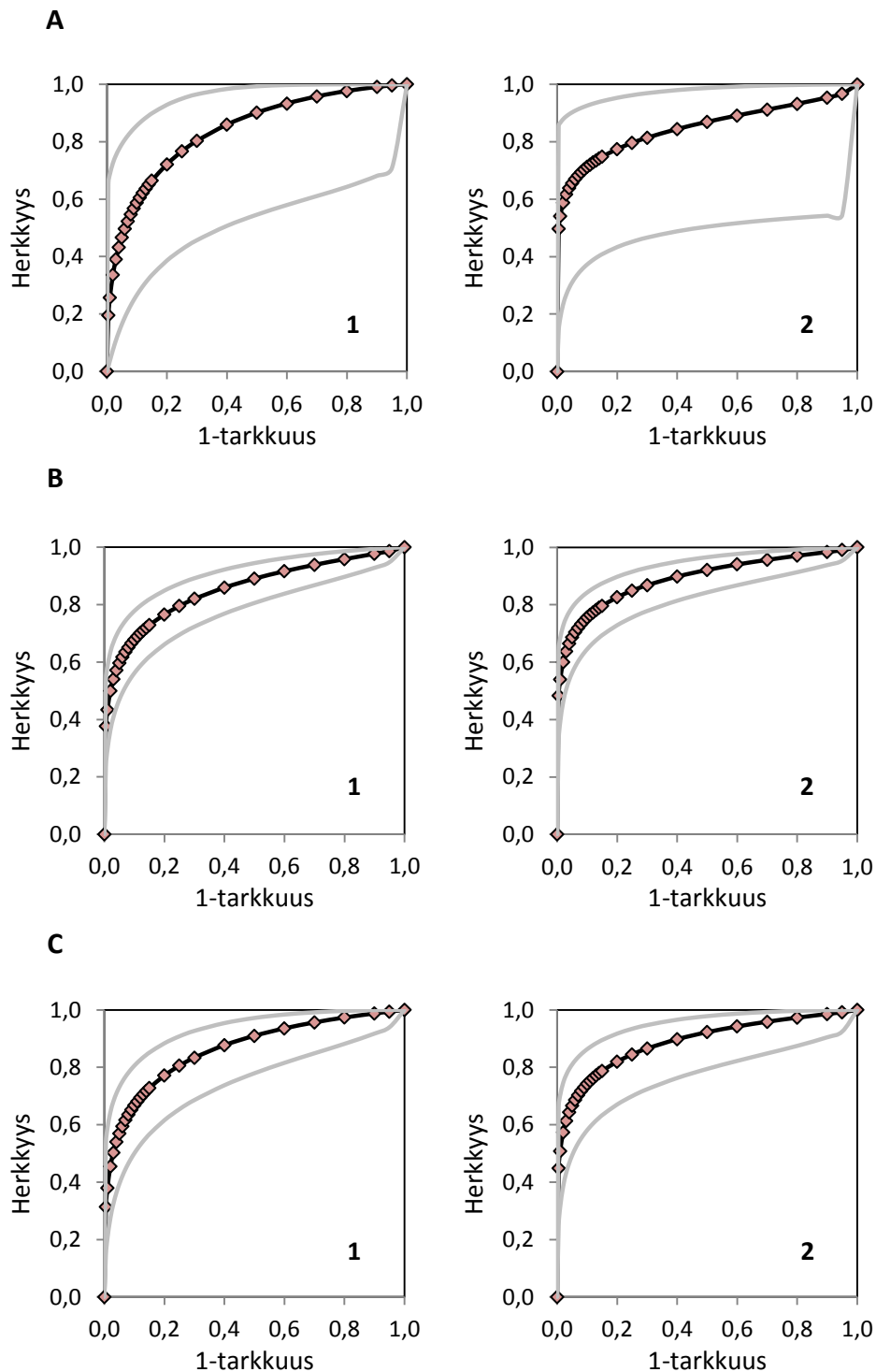
TAULUKKO 8. Kasvun merkitsevyyden määrittäminen ROC-analyysiä varten

Näytteen bakteeripitoisuus (bakt/ml)	Kirjattava kasvun määrä	Kasvun merkitsevyys (0 tai 1)
$< 10^3$	0	0
$10^3$	4	1
$10^3 - 10^4$	5	1
$10^4 - 10^5$	6	1
$> 10^5$	7	1
ei arvioitu	sf	0
ei arvioitu	pvvm	1

Tulostarkastelussa ei havaittu maljalla kasvavan bakteerilajin korreloivan väärin negatiivisten tai väärin positiivisten tulosten kanssa, joten merkitsevää menetelmän käyttökelpoisuuden arvioinnissa on ainoastaan todellinen kasvu maljalla (0 tai 1) sekä näytteen partikkelimäärä (leukosyytit ja bakteerit).

ROC-kuvaajat piirrettiin erikseen lasten, naisten ja miesten leukosyyteille ja bakteereille. Kuvaajien datapisteiden määrittämiseen sekä AUC-arvojen laskemiseen käytettiin Johns Hopkins lääketieteen laitoksen ylläpitämää sovellusta *ROC Analysis – Web-based Calculator for ROC Curves* (Eng 2017).

Kuviossa 4 on piirretty ROC-kuvaajat lasten, naisten ja miesten leukosyyteille ja bakteereille. Datapisteiden tiedot ovat liitteessä 4. Kuviossa mustat käyrät ovat ROC-kuvaajia ja harmaat käyrät kuvaavat niiden 95 % luottamusväliä.



KUVIO 4. ROC-kuvaajat. (A) 1 lasten leukosyytit ja 2 lasten bakteerit, (B) 1 naisten leukosyytit ja 2 naisten bakteerit, (C) 1 miesten leukosyytit ja 2 miesten bakteerit.

Lasten kuvaajissa (A1 ja A2) virhemarginaalit ovat suuret johtuen pienestä näytelmästä. Naisten (B1 ja B2) virhemarginaalit ovat pienimmät ja naisten näytteitä oli kokonaismäärästä eniten. Taulukossa 9 on koottuna kuvaajien AUC-arvot eli kuvaajan alle jäävä pinta-ala.

TAULUKKO 9. ROC-kuvaajien AUC-arvot

	Lapset ≤ 16		Naiset		Miehet	
	WBC	BACT	WBC	BACT	WBC	BACT
AUC	0,839	0,848	0,854	0,891	0,863	0,888

Kaikki kuusi testiä ovat AUC-arvon perusteella käyttökelpoisuudeltaan hyviä (AUC = 0,8–0,9). Jokaisen ryhmän osalta bakteerituloksen mukainen seulonta on parempi testi kuin leukosyyttituloksen mukainen seulonta.

### 6.3 Herkkyys, tarkkuus ja ennustearvo

Luokitellaan näytteet asetettujen seulontarajojen ja kasvun merkitsevyyden mukaisesti oikeisiin ja väärin positiivisiin sekä oikeisiin ja väärin negatiivisiin näytteisiin. Taulukon 10 tietojen avulla voidaan laskea menetelmän herkkyys, tarkkuus, sekä positiivinen ja negatiivinen ennustearvo. Taulukossa 10 näytteet on luokiteltu kaikille kolmelle ryhmälle molempien seulontarajojen suhteen.

TAULUKKO 10. Näytteiden luokittelu asetettujen seulontarajojen mukaan

	Lapset ≤ 16		Naiset		Miehet	
	WBC	BACT	WBC	BACT	WBC	BACT
<b>A</b> = oikeat positiiviset (kpl)	4	5	44	40	18	17
<b>B</b> = väärät positiiviset (kpl)	7	15	25	11	16	13
<b>C</b> = väärät negatiiviset (kpl)	3	2	15	19	9	10
<b>D</b> = oikeat negatiiviset (kpl)	49	41	176	190	181	184
Näytteitä yhteensä (kpl)	63		260		224	

Lasketaan menetelmän herkkyys kaavalla (1), tarkkuus kaavalla (2), positiivinen ennustearvo kaavalla (3) ja negatiivinen ennustearvo kaavalla (4). Alla olevassa laskussa on käytetty esimerkkinä taulukon 10 mukaisia lasten leukosyyttituloksia herkkyuden laskemisessa.

$$\begin{aligned}
 Se &= \frac{A}{A + C} \\
 &= \frac{4}{4 + 3} \\
 &\approx 0,57
 \end{aligned}$$

Sijoitetaan muut tulokset samaan tapaan kaavoihin herkkyuden, tarkkuuden ja ennustearvojen laskemiseksi. Tulokset ovat koottuna taulukkoon 11.

TAULUKKO 11. Herkkyys, tarkkuus ja ennustearvot

	Lapset $\leq 16$		Naiset		Miehet	
	WBC	BACT	WBC	BACT	WBC	BACT
<b>Herkkyys (Se)</b>	0,57	0,71	0,75	0,68	0,67	0,63
<b>Tarkkuus (Sp)</b>	0,88	0,73	0,88	0,95	0,92	0,93
<b>Positiivinen ennustearvo (PPV)</b>	0,36	0,25	0,64	0,78	0,53	0,57
<b>Negatiivinen ennustearvo (NPV)</b>	0,94	0,95	0,92	0,91	0,95	0,95

Taulukosta 11 nähdään, että kaikissa ryhmissä testien tarkkuudet ovat tavoitteiden mukaisesti parempia kuin herkkyudet. Kaikkien testien negatiivinen ennustearvo on erittäin hyvä. Paras herkkyys, tarkkuus ja positiivinen ennustearvo löytyvät naisten ryhmästä, jossa oli eniten näytteitä.



## 7 JOHTOPÄÄTÖKSET JA POHDINTA

Tämän opinnäytetyön tavoitteena oli kehittää Fimlab Laboratoriot Oy:n virtsa-analytiikkaa verifioimalla virtsan bakteeriviljelyseulonta uusille Sysmex UF-5000 -virtaussytometreille. Sekä Fimlab että Fimlabin asiakkaat hyötyisivät taloudellisesti bakteeriviljelyseulonnan laajemmasta käyttöön otosta virtsa-analytiikan kustannuksien alenemisella. Seulonnan myötä vastausajat lyhenisivät ilman lisäkustannuksia asiakkaalle. Seulontarajojen verifioimiseksi oli tarkoitus kerätä 500 näytteen otanta.

Opinnäytetyön tavoite ja tarkoitus toteutuivat. Verifiointiin saatiin kerättyä mukaan yli 500 näytteen otanta määritellyn aikataulun puitteissa ja muutoinkin verifiointi suoritettiin suunnitelman mukaisesti. Otanta oli menetelmän verifiointiin riittävä. Bakteeriviljelyn seulonta voidaan ottaa käyttöön UF-5000-analysaattoreille määritellyillä seulontarajoilla. Menetelmän käyttöönotto toteutettiin jo Keski-Suomen keskussairaalan laboratoriossa ja käyttöönottoa valmistellaan Tampereen keskuslaboratorion ja Kanta-Hämeen keskussairaalan laboratorion osalta. Tampereen ja Kanta-Hämeen käyttöönottojen myötä tullaan aikanaan saavuttamaan seulonnan taloudellinen ja vastausaikojen lyhenemisen hyöty.

Seulontaryhmien jakaminen lapsiin, naisiin ja miehiin on perusteltua. Lapsilla on syytä olla tiukemmat seulontarajat, koska lasten virtsatieinfektioiden oikea epäily sekä tarkka diagnostiikka ja hoito ovat erityisen tärkeitä (Uhari 2011, 526). Anatomisista eroista johtuen virtsan normaali leukosyytti- ja erityisesti bakteeripitoisuus on erilainen naisilla ja miehillä (Virtsatieinfektiot: Käypä hoito -suositus 2015, 2–3). Lähtökohtana seulontarajojen määrittämiselle oli Keski-Suomen keskussairaalan laboratoriossa käytössä olleet rajat, jotka pohjautuivat Sarkkisen ym. (2012) tutkimukseen.

Lasten bakteerituloksen mukaisen seulonnan rajaa päädyttiin laskemaan ( $40 \text{ bakt}/\mu\text{l} \rightarrow 20 \text{ bakt}/\mu\text{l}$ ). Seulontarajaa tiukennettiin, jotta menetelmän negatiivinen ennustearvo olisi riittävän hyvä. Lasten näytteiden otanta, 63 näytettä, jäi melko pieneksi, mikä asettaa haasteita seulontarajojen määrittämiselle. Kun seulontaraja asetettiin 20 bakteeriin mikrolitrassa, jäi seulontarajan alle kaksi väärää positiivista näytettä, joissa molemmissa epäiltiin kasvavan *E. coli*. Toisessa näytteessä bakteerikasvu maljalla oli  $10^3 \text{ bakt/ml}$  ja toisessa  $10^3 - 10^4 \text{ bakt/ml}$ . Merkitsevänä *E. coli*-kasvun rajana lapsilla pidetään yle-

sesti  $10^5$  bakt/ml, joten pelkästään kasvun määrän perusteella arvioituna kyseiset väärät positiiviset näytteet eivät viittaa virtsatieinfektioon (Uhari 2011, 516–517).

Standardimenetelmän merkitsevän kasvun rajaksi asetettiin  $10^3$  bakt/ml (yksi pesäke maljalla), vaikka yleisesti ottaen vasta  $10^5$  bakt/ml tulkitaan kliinisesti merkitseväksi kasvuksi. Koska maljojen luvuissa ei otettu huomioon potilaan kliinistä tilaa, näytteenottotapaa tai rakkoaikaa, on merkitsevän kasvun raja perusteltua asettaa ROC-analyysiä varten alhaisemmaksi. Sysmexin UF-5000-analysaattorin bakteerimittauksen herkkyys riittää kvantitoimaan tässä verifiointissa merkittävän kasvun rajaksi asetettuja pitoisuuksia ( $10^3$  bakt/ml) (UF-5000 Manual: General Information 2016, 45).

ROC-analyysin mustavalkoisuus asettaa haasteita menetelmän käyttökelpoisuuden arviointiin. Sekafloorien osalta kasvua ei määritelty merkitseväksi (ROC-analyysissä  $sf=0$ ) huolimatta siitä, kuinka runsasta kasvu maljalla oli. Useissa tapauksissa UF-5000-analysaattori on havainnut lukuisia partikkeleja ja maljalla nähdään kasvua, joka on sekaflooraa. Tästä huolimatta laitteen tulkinta katsotaan ikään kuin virheelliseksi. Koska sekaflooran kasvua ei määritellä kliinisesti merkittäväksi, on sekaflooranäytteet perusteltua tulkita myös ROC-analyysiä varten standardimenetelmällä negatiivisiksi. Tämä kuitenkin heikentää tulosten ROC-analyysin mukaista käyttökelpoisuutta sekä menetelmän muita verifiointiparametreja. Sekaflooranäytteiden aiheuttama virhe huomioon ottaen, menetelmä osoitti kuitenkin kaikilla seulontaryhmillä hyvää käyttökelpoisuutta, tarkkuutta ja negatiivista ennustearvoa seulonnan käyttöönoton kannalta.

Jatkossa menetelmän toimivuutta tulee seurata säännöllisesti. Seuranta voidaan toteuttaa pienemmillä otannoilla. Seulontamenetelmällä karsiutuvien näytteiden osuutta kaikista seulotuista U-BaktVi-näytteistä olisi hyvä seurata: seulontatestin perusteella on tarkoituksenmukaista pyrkiä vastaamaan noin 60 % seulotuista näytteistä suoraan negatiivisina (Sarkkinen ym. 2012, 1415).

Bakteeriviljelyseulonnan käyttöönoton myötä on mahdollista, että virtsanäyteputki kulkee kahden laitteiston (Sysmex UC-3500 ja UF-5000) läpi ennen bakteeriviljelyä, koska tutkimukset U-KemSeul, U-Solut ja U-BaktVi tehdään jatkossa samasta näyteputkesta. Tästä syystä siirtymävirheen testaamiseksi olisi aiheellista toteuttaa oma laajamittainen tutkimus.

Sysmex UF-5000 -virtaussytometrillä on valmius määrittää näytteen bakteerien jakauma gram-negatiivisten ja gram-positiivisten bakteerien välillä, mutta tätä ominaisuutta ei ole vielä testattu Fimlabilla. Tieto seulontapositiivisen näytteen bakteerien luokittelusta gram-negatiivisiin tai gram-positiivisiin bakteereihin voisi tuoda tutkimuksen tilaajalle lisäarvoa, sillä se voitaisiin vastata päivystysluontoisesti seulontapositiivisista näytteistä. Viljelyn tulos on kuitenkin edelleen mahdollista saada aikaisintaan noin vuorokauden kuluttua näytteen saapumisesta laboratorioon, mutta tieto gram-värjäytyvyydestä voisi ohjata potilaan hoitoa oikeaan suuntaan jo ennen bakteeriviljelytuloksen saamista.

Fimlab Laboratoriot Oy otti Sysmexin UF-5000-analysaattorit ensimmäisenä käyttöön Pohjoismaissa. Sysmexin kolmannen sukupolven virtsan partikkelilaskijaa ja sen käyttöä bakteeriviljelyseulonnassa kohtaan on valtavasti yleistä mielenkiintoa. Tässä opinäytetyössä toteutettu bakteeriviljelyseulonnan verifiointi on merkittävä osa kliinisen laboratorion virtsa-analytiikan kehitystyötä Suomessa. Siitä syystä opinäytetyön jatkoimenpiteenä verifiointiprotokollasta ja saaduista tuloksista on tarkoitus julkaista tieteellinen artikkeli kliinisen laboratorioalan lehdessä.

## LÄHTEET

About Sysmex. 2015. Sysmex Launches its Next-Generation Models in the Sediment Urinalysis Testing Field, the UF-5000/4000/3000 Fully Automated Analysers of Formed Elements in Urine. Press Releases. Luettu 20.11.2018. <https://www.sysmex.co.jp/en/corporate/news/2015/150901.html>

Christie, R. M. 2015. Colour Chemistry. 2. painos. Cambridge: The Royal Society of Chemistry. Saatavilla: Knovel Corporation.

CV-11: Instructions for Use. 2016. Käyttöohje. Kobe: Sysmex Corporation.

De Rosa, R., Grosso, S., Lorenzi, G., Bruschetta, G. & Camporese, A. 2018. Evaluation of the new Sysmex UF-5000 fluorescence flow cytometry analyser for ruling out bacterial urinary tract infection and for prediction of Gram negative bacteria in urine cultures. *Clinica Chimica Acta* 484, 171–178. Tulostettu 11.6.2018. [www.elsevier.com/locate/cca](http://www.elsevier.com/locate/cca)

Ekelund, S. 2011. ROC curves – what are they and how are they used?. Radiometer Medical ApS. Luettu 21.1.2019. <https://acutecaretesting.org/en/articles/roc-curves-what-are-they-and-how-are-they-used>

Eng, J. 2017. ROC Analysis: Web-based Calculator for ROC Curves. Baltimore: John Hopkins University. <http://www.rad.jhmi.edu/jeng/javarad/roc/JROCFITi.html>

Eskelinen, S. 2016a. Virtsanäytteet. Laboratoriotutkimusten tulkinta. Kustannus Oy Duodecim. Artikkelin tunnus: snk02040 (002.040). Luettu 28.1.2019. [https://www.terveyskirjasto.fi/kotisivut/tk.koti?p\\_artikkeli=snk02040](https://www.terveyskirjasto.fi/kotisivut/tk.koti?p_artikkeli=snk02040)

Eskelinen, S. 2016b. Virtsan kemiallinen seulonta (U-KemSeul). Laboratoriotutkimusten tulkinta. Kustannus Oy Duodecim. Artikkelin tunnus snk03151 (003.151). Luettu 31.1.2019. [https://www.terveyskirjasto.fi/terveyskirjasto/tk.koti?p\\_artikkeli=snk03151](https://www.terveyskirjasto.fi/terveyskirjasto/tk.koti?p_artikkeli=snk03151)

Eskelinen, S. 2016c. Virtsan bakteeriviljely (U-BaktVi). Laboratoriotutkimusten tulkinta. Kustannus Oy Duodecim. Artikkelin tunnus: snk03153 (003.153). Luettu 31.1.2019. [https://www.terveyskirjasto.fi/kotisivut/tk.koti?p\\_artikkeli=snk03153](https://www.terveyskirjasto.fi/kotisivut/tk.koti?p_artikkeli=snk03153)

Estridge, B. H. & Reynolds, A. P. 2012. Basic Clinical Laboratory Techniques. 6. painos. Clifton Park (NY): Cengage Learning.

FINAS. 2016. Akkreditointi. Kliiniset laboratoriot. Luettu 21.1.2019. <https://www.finas.fi/akkreditointi/Akkreditointialueet/Sivut/Kliiniset-laboratoriot.aspx>

Flickinger, M. C. 2010. Encyclopedia of Industrial Biotechnology, Bioprocess, Bioseparation and Cell Technology. Volumes 1–7. Flow Cytometry. Hoboken: John Wiley & Sons, Inc. Saatavilla: Knovel Corporation.

Hoitosuositusryhmien käsikirja. 2012. Käypä hoito -suositus. Helsinki: Suomalainen Lääkäriseura Duodecim. Tulostettu 31.1.2019. <http://www.kaypahoito.fi>

- Jolkkonen, S., Paattiniemi, E-L., Kärpänoja, P. & Sarkkinen, H. 2010. Screening of Urine Samples by Flow Cytometry Reduces the Need for Culture. *Journal of Clinical Microbiology* 48 (9), 3117–21. Luettu 31.1.2019. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2937741/>
- Kairisto, V. 2010. Laboratoriotuloksen tulkinta. Teoksessa Niemelä, O. & Pulkki, K. (toim.) *Laboratoriolääketiede. Kliininen kemia ja hematologia*. 3. painos. Helsinki: Kandidaattikustannus Oy.
- Kouri, T. 2010. Munuaiset ja virtsa. Teoksessa Niemelä, O. & Pulkki, K. (toim.) *Laboratoriolääketiede. Kliininen kemia ja hematologia*. 3. painos. Helsinki: Kandidaattikustannus Oy.
- Kubitscheck, U. 2017. *Fluorescence Microscopy. From Principles to Biological Applications*. 2. painos. Weinheim: John Wiley & Sons, Inc. Saatavilla: Knovel Corporation.
- Leach, R. M., Drummond, M., & Doig, A. 2013. *Practical Flow Cytometry in Haematology Diagnosis*. Hoboken: John Wiley & Sons, Inc. Saatavilla: ProQuest Ebook Central.
- Lumio, J. 2011. Aikuisten virtsatieinfektiot. *Virtsateiden infektiot*. Teoksessa Hedman, K., Heikkinen, T., Huovinen, P., Järvinen, A., Meri, S. & Vaara, M. (toim.) *Infektiosairaudet. Mikrobiologia, immunologia ja infektiosairaudet*. 1. painos. Helsinki: Kustannus Oy Duodecim.
- Metz, C. E. & Pewsce L. L. 2007. Reliable and computationally efficient maximum-likelihood estimation of "proper" binormal ROC curves. *Acad Radiol* 14 (7), 814–829. Luettu 24.1.2019. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2693394/>
- Niemelä, O. 2010. Laboratoriotoiminta suomalaisessa terveydenhuollossa. Teoksessa Niemelä, O. & Pulkki, K. (toim.) *Laboratoriolääketiede. Kliininen kemia ja hematologia*. 3. painos. Helsinki: Kandidaattikustannus Oy.
- Øgendal, L. 2019. *Light Scattering*. University of Copenhagen. Luettu 28.1.2019. [http://www.nbi.dk/~ogendal/personal/lho/LS\\_brief\\_intro.pdf](http://www.nbi.dk/~ogendal/personal/lho/LS_brief_intro.pdf)
- Maltsev, V. P., Chernyshev, A. V. & Strokotov, D. I. 2013. *Light-Scattering Flow Cytometry: Advanced Characterization of Individual Particle Morphology*. Teoksessa Papandreou, S. (toim.) *Flow Cytometry: Principles, Methodology and Applications*. Hauppauge, New York: Nova Science Publishers, Inc.
- Sarkkinen, H., Paattiniemi, E-L., Kärpänoja, P. & Karumaa, S. 2012. Virtauscytometriä tehostaa virtsatietulehduksen laboratorioseulontaa. *Suomen Lääkärilehti* 18/2012 vsk 67, 1411–1415.
- Savolainen, E-R. 2010. Laboratorion perusmenetelmät. Solulaskenta. Teoksessa Niemelä, O. & Pulkki, K. (toim.) *Laboratoriolääketiede. Kliininen kemia ja hematologia*. 3. painos. Helsinki: Kandidaattikustannus Oy.
- Savolainen, E-R., Pelliniemi T-T. & Koski, T. 2010. Hematologian analysaattorit. Teoksessa Niemelä, O. & Pulkki, K. (toim.) *Laboratoriolääketiede. Kliininen kemia ja hematologia*. 3. painos. Helsinki: Kandidaattikustannus Oy.

Sigma-Aldrich. 2013. 55420 CLED Agar. Product Information. Luettu 31.1.2019. <https://www.sigmaaldrich.com/content/dam/sigma-aldrich/docs/Sigma-Aldrich/Datasheet/1/55420dat.pdf>

SFS-EN ISO 15189. 2013. Lääketieteelliset laboratoriot. Laatu ja pätevyyttä koskevat vaatimukset. Helsinki: Suomen Standardoimisliitto SFS. Luettu 9.10.2018. Vaatii käyttöoikeuden. <https://online.sfs.fi/fi/in-dex.html.stx>

UF-5000 Manual: General Information. 2016. Laitemanuaali. Kobe: Sysmex Corporation.

Uhari, M. 2011. Lasten virtsatieinfektiot. Virtsateiden infektiot. Teoksessa Hedman, K., Heikkinen, T., Huovinen, P., Järvinen, A., Meri, S. & Vaara, M. (toim.) Infektiosairaudet. Mikrobiologia, immunologia ja infektiosairaudet. 1. painos. Helsinki: Kustannus Oy Duodecim.

Valtonen, P. 2019. Henkilökohtainen tiedonanto 1.2.2019. Laboratoriohoitaja. Fimlab Laboratoriot Oy. Kliininen mikrobiologia.

Virtsatieinfektiot. 2015. Käypä hoito -suositus. Suomalaisen Lääkäriseura Duodecimin ja Suomen Nefrologiyhdistys ry:n, Kliiniset mikrobiologit ry:n, Suomen Infektiolääkärit ry:n, Suomen Kliinisen Kemian Erikoislääkäriyhdistys ry:n, Suomen Lastenlääkäriyhdistys ry:n, Suomen Urologiyhdistyksen ja Suomen yleislääketieteen yhdistys ry:n asettama työryhmä. Helsinki: Suomalainen Lääkäriseura Duodecim. Tulostettu 25.10.2018. <http://www.kaypahoito.fi>

Yritysesittely. 2019. Fimlab Laboratoriot Oy. PowerPoint-esitys. Luettu 14.1.2019.

Yuno, T. 2017. UF-Series Clinical Case Study. Fully Automated Particle Analyser. Kobe: Sysmex Corporation.

## LIITTEET

## Liite 1. Lasten näytteet

TAULUKKO 12. Lasten tulokset

WBC (kpl/μl)	KASVU (0/4/5/6/7)	TUNNISTUS	BACT (kpl/μl)	KASVU (0/4/5/6/7)	TUNNISTUS
0	0		0	0	
0	0		0	0	
0,2	0		1,1	0	
0,3	0		1,1	0	
0,4	0		1,1	0	
0,4	0		1,1	0	
0,5	0		1,1	0	
0,6	0		2,2	0	
0,6	0		2,2	0	
0,7	0		2,2	0	
0,7	0		2,2	0	sf
0,7	0		2,2	0	
0,8		sf	2,2	0	
1,0	0		2,2	0	
1,0	0		3,3	0	
1,1	0		4,4	0	
1,3	0		4,4	0	
1,3	0		4,4	0	
1,4	0		4,4	0	
1,5	0		4,4	0	
1,5	0		5,5	0	
1,6	0		5,5	0	
1,9	0		5,5	0	
1,9	0		6,6	5	krc
2,1	0		6,6	0	
2,2	0		6,6	0	
2,3	0		7,8	0	
3,0	5	krc	7,8	0	
3,0		sf	7,8	0	
3,1	0		7,8	0	
3,3	0		8,9	0	
3,3	0		8,9	0	
3,4	0		10,0	0	
3,5	0		10,0	4	krc
3,9		sf	11,1	0	
3,9	5	sez	12,2		sf
4,5	0		12,2	0	
4,6		sf	14,5	0	
4,8	0		14,5	0	
5,7	0		15,6	0	
6,4	0		16,7		sf
6,6	0		18,9	0	
7,5		sf	18,9	0	
7,6	0		23,4	0	
8,4	0		24,5	5	sez
8,7		sf	24,5	0	
9,9	0		25,6		sf
10,6	0		25,6	0	
12,2	0		29,0		sf
12,5	4	krc	44,6	0	
14,6		sf	46,8	0	
16,7	0		53,5		sf
18,9	0		53,5	0	
19,7		sf	89,2		sf
26,9	0		121,6		sf
29,9	6	krc	127,1	0	
33,9	0		2296,5	0	
53,0		sf	2606,7	0	
56,0	7	krc	2822,2		sf
63,1	0		4122,4	6	krc
663,6	0		21164,1	7	krc
1628,2	7	malc	++++	7	malc
6415,6	7	malc	++++	7	malc

++++ &gt; 99999,9 bakt/μl (lukema yli analysaattorin mittausalueen)

## Liite 2. Naisten näytteet

TAULUKKO 13. Naisten leukosyyttitulokset

1(4)

WBC (kpl/ $\mu$ l)	KASVU (0/4/5/6/7)	TUNNISTUS			
0	0		1,1	0	
0	0		1,1	0	
0	0	sf	1,2		sf
0	0		1,2		sf
0	0		1,2	6	sez
0	0		1,2	0	
0	0		1,2	0	
0	0		1,3	0	
0	0		1,3	0	
0	4	malc	1,3	0	
0	0		1,3	0	
0,1	0		1,3	6	krc
0,1	0		1,3	0	
0,2	0		1,3	0	
0,2	0		1,4	0	
0,2	0		1,4	0	
0,2	0		1,5		sf
0,3	0		1,5	0	
0,3	0		1,5	0	
0,3	0	sf	1,6	0	
0,4	0		1,6	0	
0,4	0		1,6	0	
0,4	0		1,8		sf
0,4	0		1,9		sf
0,4	0		1,9	0	
0,4	0		1,9	0	
0,4	0		2,1	0	
0,4	0		2,1	0	
0,4	0		2,1	0	
0,4	0		2,2		sf
0,4	0		2,2		sf
0,4	0		2,3	0	
0,5	0		2,4	0	
0,5	0		2,4		sf
0,5	0		2,5		sf
0,5	0		2,5	0	
0,6	0		2,5	7	malc
0,6	0		2,6		sf
0,6	0		2,6	6	sez
0,6	0		2,7	0	
0,6	0		2,8	0	
0,6	0		2,8	0	
0,6	4	krc	3,0	0	
0,7	0		3,0	0	
0,7	0		3,1	0	
0,7	0		3,1	0	
0,7	0		3,1	0	
0,7	5	krc	3,1	0	
0,7	0		3,3		sf
0,8	0		3,4	0	
0,9	6	koä	3,4	0	
0,9	0		3,4	0	
0,9		sf	3,4	0	
0,9		sf	3,6	0	
1,0	0		3,7	0	
1,0	0		3,7	0	
1,0	0		3,7	0	
1,0	0	sf	3,9	0	
1,0	0		3,9	0	
1,0	0		4,0	0	
1,0	0		4,0	0	
1,0	0		4,0	0	
1,0	0		4,0	0	
1,0	0		4,0	0	
1,0	0		4,1	0	
1,0	0		4,2		sf
1,0	0		4,2	0	
1,1	0		4,2	0	
1,1	0		4,3		sf
1,1	0		4,3	0	



4,5	0		22,1	0	
4,5	6	sez	23,5	0	
4,6		sf	25,4	0	
4,6	0		27,1		sf
4,6	0		28,6	0	
4,9	0		29,3	0	
4,9	0		31,5	0	
5,0	0		31,8	0	
5,1	0		32,3	0	
5,1	0		33,7	7	sez
5,1	0		35,7	0	
5,2		sf	37,0	7	krc
5,4		sf	38,8		sf
5,4	0		38,8		sf
5,5	0		48,2		sf
5,5	0		51,2	0	
5,5		sf	53,3		sf
5,7	4	krc	53,8	0	
5,7	0		55,1	7	krc
5,8	0		56,8	7	sez
6,0		sf	61,0	7	malc
6,0	0		63,3		sf
6,0	0		64,3	7	krc
6,0	0		66,9	0	
6,1	0		68,8	7	krc
6,4	0		69,1	0	
6,4		sf	70,9	7	krc
6,6	0		76,8	7	krc
6,6	7	malc	86,0	6	malc
6,7	0		86,8	7	sez
6,7	0		86,9	7	krc
6,7	0		88,7	7	krc
6,9	0		100,3	7	sez
7,2		sf	122,2	7	koã
7,2		sf	127,3	0	
8,2	0		132,0	0	
8,4	0		132,6	0	
8,5	7	sez	132,8	7	krc
9,1	0		146,3	0	
9,3	0		146,6	7	krc
9,4	7	krc	168,5	6	krc
9,4	0		236,7	7	krc
10,4	0		296,6	7	malc
10,5	0		319,2	7	krc
10,7	0		319,7	7	malc
10,7	0		403,5	6	krc
11,3		sf	411,5	7	krc
11,7	7	krc	502,2		pwm
11,9	0		519,5	0	
13,1	5	sez	546,3	7	sez
13,1	0		589,3	7	malc
13,7	0		617,9	7	malc
13,7	0		778,8	7	malc
14,4	0		856,6	7	krc
15,0	0		1364,1	7	q
16,1	0		1374,1	7	krc
16,2	0		1741,0	7	krc
16,8	0		2764,2	6	krc
17,3	5	krc	3528,9	7+7	krc+sez
17,7	0		3805,2	7	krc
18,8	5	krc	6518,3	7	krc
19,3	6	krc	6575,7	7	krc
20,4	5+5	krc+malã	11298,8	6+6	krc+malc
			30145,0	7	sez



23,4	0		296,8	0	
23,4		sf	297,9	0	
23,4	6	krc	313,4	0	
24,5	5	krc	322,4	0	
24,5	0		323,4	6	krc
25,6	0		323,6	0	
25,6	0		344,8	6	malc
26,7	0		382,7		sf
26,7		sf	409,4	0	
26,7	0		434,0		sf
27,8		sf	477,6	7	krc
27,8	0		503,2		sf
29,0	0		543,4	0	
30,1	0		668,4		sf
31,2	0		715,1	6	krc
33,4		sf	719,7	0	
37,9	0		802,2	0	
40,1	0		820,2		sf
41,2	6	koä	904,9	0	
41,2	0		1229,5	7	krc
42,3		sf	1327,9	0	
47,9	0		1885,9	0	
50,2	0		2075,4		sf
51,2	0		2176,1	0	
54,6		sf	2348,4	7	malc
54,6		sf	3390,3	7	koä
59,1	0		3545,2	7	sez
62,4	4	krc	4042,8	7	krc
64,7	0		4241,7	7	sez
69,1		sf	4550,9	0	
72,5	0		5741,5	7+7	krc+sez
73,5	0		6409,9	7	malc
75,8	6	krc	7007,7	7	malc
76,9	0		7555,1	7	krc
78,0	5+5	krc+malä	9020,6	7	sez
81,4	0		9500,0	7	krc
82,5	0		9874,1	7	sez
85,9	0		12620,6	7	malc
91,5		sf	13526,8	7	q
95,9	0		14623,9	7	malc
109,3	0		19148,1	7	krc
109,3	6	krc	19806,6	7	krc
119,4		sf	20675,2	6+6	krc+malc
127,2	0		27520,4	0	
128,2		sf	29689,7	7	malc
131,6	0		32268,6	7	krc
133,9	5	sez	32786,4	7	krc
148,3		sf	36615,0	7	malc
148,4		sf	39053,2	7	krc
151,7		sf	39768,5	7	krc
152,8	0		43184,5	7	krc
161,8	0		45065,6	7	sez
175,2	0		48508,4	7	krc
187,4		sf	50013,4	7	krc
190,8	0		53806,3	7	krc
193,0	0		53882,5	7	krc
199,7	5	krc	61433,0	7	krc
214,2	0		61669,7	7	sez
226,3	6	sez	64204,4		pwm
252,1	7	sez	66849,2	7	malc
254,3	0		68005,1	7	krc
278,9	0		69756,2	7	krc
281,1	0		80888,7	7	krc
285,6	0		++++	7	krc
292,3	0				

++++ > 99999,9 bakt/μl (lukema yli analysaattorin mittausalueen)

## Liite 3. Miesten näytteet

TAULUKKO 14. Miesten leukosyyttitulokset

1 (4)

WBC (kpl/ $\mu$ l)	KASVU (0/4/5/6/7)	TUNNISTUS			
0	0		0,9	0	
0	0		0,9	0	
0	0		0,9	4	krc
0	0		0,9	0	
0	0		1,0	0	
0	0		1,0	0	
0	0		1,0	0	
0	0		1,0	0	
0	0		1,0	0	
0,1	0		1,0	0	
0,1	0		1,0	0	
0,2	0		1,0	0	
0,2	0		1,1	0	
0,2	0		1,1	0	
0,2	0		1,1	0	
0,2	0		1,1	0	
0,2	0		1,1	0	
0,2	0		1,2	0	
0,2	0		1,2	0	
0,3	0		1,2	0	
0,3	0		1,2	0	
0,3		sf	1,3	0	
0,3		sf	1,3		sf
0,4	0		1,3	0	sf
0,4	0		1,3	0	
0,4	0		1,3	0	
0,4	0		1,4	0	
0,4	0		1,4	0	
0,4	0		1,5	0	
0,4	0	sf	1,5	5	malc
0,4	0		1,5	0	sf
0,4	0		1,6	0	sf
0,4	0	sf	1,6	0	
0,5	0		1,6	0	
0,5	4	krc	1,6	0	
0,5	0		1,7	0	
0,6	0		1,8	0	
0,6	0		1,9	0	
0,6	0		1,9	0	sf
0,6	0		1,9	0	
0,6	0		2,0	0	
0,6	0		2,0	0	
0,6	0		2,0	0	
0,6	0		2,0	0	
0,6	0		2,1		sf
0,6	0		2,1	0	
0,7	0		2,2	0	
0,7	0		2,2	0	
0,7	0		2,2	0	
0,7	0		2,2	0	
0,7	0		2,2	0	
0,7	0		2,4	0	
0,7	0		2,4	0	
0,7	0		2,5	0	
0,7	0		2,5	0	
0,8		sf	2,5	0	
0,8	0		2,6	0	
			2,7	0	

2,7	0		12,5		sf
2,7	0		12,9	0	
2,8	0		13,7	0	
2,8	0		13,8	0	
3,0	0		14,7	0	
3,0	0		14,7		sf
3,1	0		15,0	5	krc
3,3	0		15,2	0	
3,4	0		16,8	0	
3,4	0		17,3		sf
3,6	0		18,2	0	
3,6	0		19,1	0	
3,6	0		19,2	0	
3,6	0		19,5	0	
3,7	0		20,1	0	
3,7	0		21,5	0	
3,7	0		21,6	0	
3,9	0		21,8	0	
3,9	0		22,6	0	
4,0	0		22,7	6	sez
4,2	0		24,1	0	
4,2		sf	25,4	0	
4,2	0		25,6	0	
4,3	0		28,7	0	
4,6	0		32,2	6	sez
4,6	0		34,3	0	
4,8	0		39,3	0	
4,8	0		47,9	0	
4,8	0		48,0	5	krc
5,1	0		48,3	0	
5,2	0		50,6	7	malc
5,2	0		56,0	0	
5,2	0		88,4	7	malc
5,5	0		90,1	7	sez
5,7	0		101,3	0	
5,7	0		109,4		sf
5,7	5	malc	123,8	7	malc
5,7	0		134,7		sf
6,1	0		180,5		sf
6,1	0		200,3	0	
6,3	6	malc	360,4	7	krc
6,4	0		389,5	0	
6,6	0		423,6		sf
6,7	0		487,7		sf
7,3	0		537,9	0	
7,5	0		571,6	7	malc
7,6	0		1067,2	7	krc
7,6	0		1328,1	7	malä
8,1	7	malä	1678,7	7	krc
8,1	0		1772,6		sf
8,1		sf	1983,9	7	malc
8,8	0		2574,8	7	krc
9,3	0		2647,1	6	sez
10,2		pwm	2843,2	7	krc
10,6	0		3420,4	7	malc
11,6	0		8153,7	6	sez
12,1	0		19217,4	7	malc



3,3	0		13,3	0	
3,3	0		14,5	0	
3,3	0		14,5	0	
3,3	0		16,7	0	
3,3	0		16,7	0	
3,3	5	malc	17,8	0	
3,3	0		20,0	0	
3,3	0		20,0	0	
3,3	0		21,2		sf
3,3	0		22,3	0	
3,3	0		22,3	0	
3,3	0		23,4	0	
3,3	0		23,4	6	sez
3,3	0		23,4	0	
3,3	0		24,5	0	
3,3	0		26,7	0	
3,3	0		26,7	6	sez
3,3	0		27,8	0	
3,3	0		32,3	0	
3,3	0		33,4		sf
3,3	0		39,0		sf
4,4	0		45,7	5	krc
4,4	0		47,9	0	
4,4	0		49,1	6	sez
4,4	5	malc	51,3	0	
4,4	0		54,6	0	
4,4	0		78,1	0	
4,4	0		97,0	0	
4,4	0		102,6		sf
4,4	0		102,6	0	
4,4	0		114,9	0	
4,4	0		114,9	0	
5,5	0		131,6		sf
5,5	0		181,8	0	
5,5	0		255,5	6	malc
5,5	0		362,6	0	
6,6		sf	542,3	7	krc
6,6	0		584,7		sf
6,6	0		617,9	7	malc
6,6	0		653,9		sf
7,7	0		672,8		sf
7,8	0		709,7	0	
7,8	0		1374,7	7	malc
7,8	0		2586,7	7	sez
7,8		sf	3917,1	0	
8,9		sf	4573,2	7	malä
8,9		sf	5627,8	7	krc
10,0	0		5964,7	7	malc
10,0		sf	7773,7	7	malc
10,0	0		9269,4	7	malä
10,0	0		12063,8	7	krc
10,0		sf	25085,6	6	sez
10,0	0		25407,7	7	malc
11,1	0		41564,6	7	malc
11,1		pwm	53046,5	7	krc
11,1	0		79208,1	7	krc
12,2	0		++++	7	malc

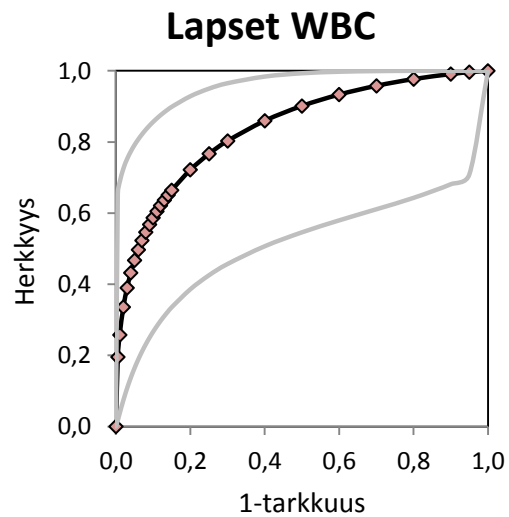
++++ > 99999,9 bakt/ $\mu$ l (lukema yli analysaattorin mittausalueen)

## Liite 4. ROC-kuvaajat

1 (3)

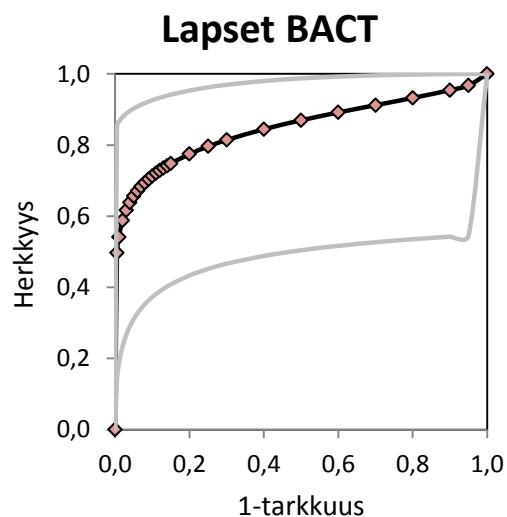
TAULUKKO 16. Lasten leukosyyttikuvaajan datapisteet

y	x (ROC)	x (alaraja)	x (yläraja)
0,0000	0,0000	0,0000	0,0000
0,0050	0,1951	0,0171	0,6548
0,0100	0,2574	0,0368	0,6866
0,0200	0,3358	0,0741	0,7251
0,0300	0,3899	0,1075	0,7520
0,0400	0,4321	0,1374	0,7734
0,0500	0,4670	0,1642	0,7915
0,0600	0,4969	0,1885	0,8073
0,0700	0,5232	0,2106	0,8214
0,0800	0,5467	0,2308	0,8342
0,0900	0,5678	0,2493	0,8458
0,1000	0,5872	0,2664	0,8564
0,1100	0,6050	0,2822	0,8662
0,1200	0,6214	0,2969	0,8753
0,1300	0,6367	0,3106	0,8837
0,1400	0,6511	0,3234	0,8915
0,1500	0,6645	0,3354	0,8988
0,2000	0,7215	0,3859	0,9285
0,2500	0,7664	0,4251	0,9498
0,3000	0,8029	0,4569	0,9651
0,4000	0,8595	0,5068	0,9838
0,5000	0,9013	0,5459	0,9931
0,6000	0,9332	0,5795	0,9974
0,7000	0,9578	0,6108	0,9992
0,8000	0,9768	0,6428	0,9999
0,9000	0,9908	0,6811	1,0000
0,9500	0,9961	0,7088	1,0000
1,0000	1,0000	1,0000	1,0000



TAULUKKO 17. Lasten bakteerikuvaajan datapisteet

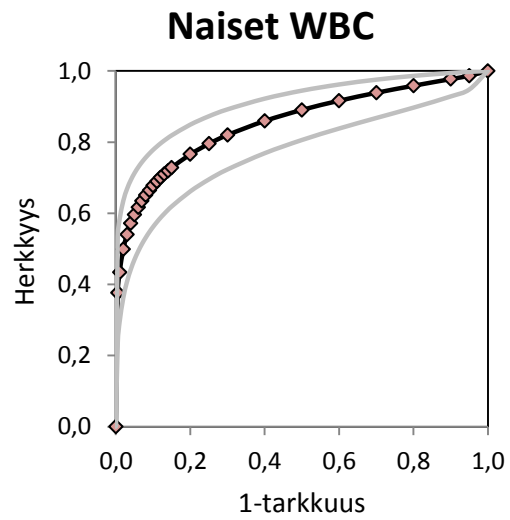
y	x (ROC)	x (alaraja)	x (yläraja)
0,0000	0,0000	0,0000	0,0000
0,0050	0,4968	0,1410	0,8554
0,0100	0,5405	0,1834	0,8656
0,0200	0,5876	0,2338	0,8788
0,0300	0,6169	0,2666	0,8884
0,0400	0,6385	0,2910	0,8961
0,0500	0,6558	0,3105	0,9026
0,0600	0,6703	0,3267	0,9083
0,0700	0,6827	0,3405	0,9134
0,0800	0,6937	0,3525	0,9180
0,0900	0,7036	0,3631	0,9221
0,1000	0,7125	0,3726	0,9260
0,1100	0,7207	0,3811	0,9296
0,1200	0,7283	0,3889	0,9329
0,1300	0,7353	0,3960	0,9360
0,1400	0,7419	0,4025	0,9389
0,1500	0,7481	0,4085	0,9416
0,2000	0,7746	0,4333	0,9532
0,2500	0,7961	0,4518	0,9622
0,3000	0,8142	0,4664	0,9694
0,4000	0,8444	0,4882	0,9801
0,5000	0,8695	0,5042	0,9874
0,6000	0,8916	0,5166	0,9924
0,7000	0,9121	0,5267	0,9959
0,8000	0,9324	0,5352	0,9981
0,9000	0,9542	0,5425	0,9995
0,9500	0,9676	0,5456	0,9998
1,0000	1,0000	1,0000	1,0000





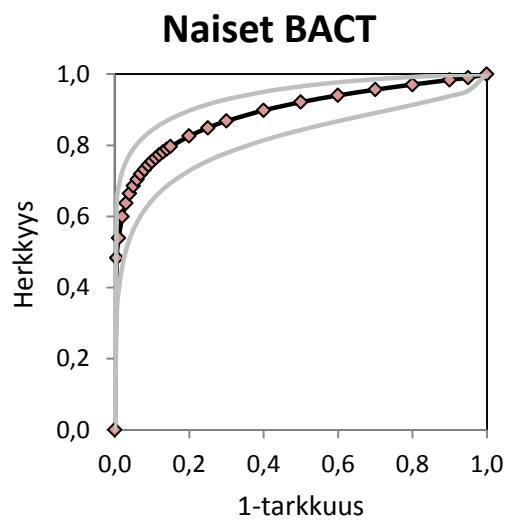
TAULUKKO 18. Naisten leukosyyttikuvaajan datapisteet

y	x (ROC)	x (alaraja)	x (yläraja)
0,0000	0,0000	0,0000	0,0000
0,0050	0,3761	0,2358	0,5352
0,0100	0,4340	0,2940	0,5829
0,0200	0,4989	0,3627	0,6353
0,0300	0,5402	0,4078	0,6683
0,0400	0,5711	0,4420	0,6929
0,0500	0,5958	0,4697	0,7127
0,0600	0,6166	0,4930	0,7293
0,0700	0,6346	0,5133	0,7437
0,0800	0,6504	0,5311	0,7564
0,0900	0,6646	0,5472	0,7677
0,1000	0,6774	0,5617	0,7781
0,1100	0,6892	0,5750	0,7875
0,1200	0,7000	0,5873	0,7963
0,1300	0,7101	0,5986	0,8044
0,1400	0,7195	0,6093	0,8119
0,1500	0,7283	0,6192	0,8190
0,2000	0,7656	0,6615	0,8491
0,2500	0,7952	0,6951	0,8727
0,3000	0,8199	0,7232	0,8920
0,4000	0,8593	0,7688	0,9222
0,5000	0,8905	0,8059	0,9447
0,6000	0,9163	0,8382	0,9620
0,7000	0,9386	0,8678	0,9756
0,8000	0,9585	0,8969	0,9862
0,9000	0,9771	0,9284	0,9943
0,9500	0,9866	0,9480	0,9975
1,0000	1,0000	1,0000	1,0000



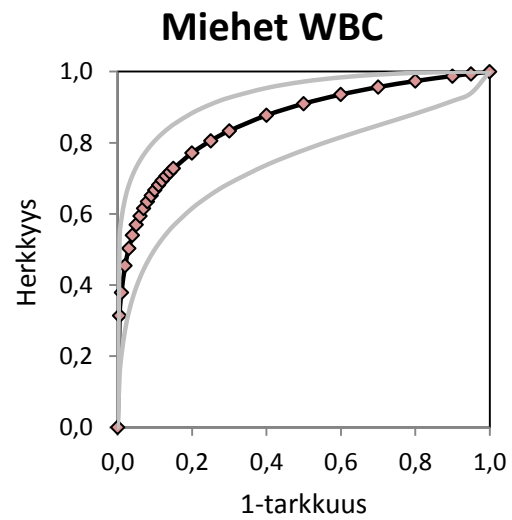
TAULUKKO 19. Naisten bakteerikuvaajan datapisteet

y	x (ROC)	x (alaraja)	x (yläraja)
0,0000	0,0000	0,0000	0,0000
0,0050	0,4831	0,3269	0,6419
0,0100	0,5392	0,3903	0,6828
0,0200	0,5997	0,4609	0,7268
0,0300	0,6369	0,5051	0,7542
0,0400	0,6642	0,5376	0,7744
0,0500	0,6857	0,5633	0,7905
0,0600	0,7035	0,5846	0,8039
0,0700	0,7188	0,6028	0,8154
0,0800	0,7321	0,6186	0,8255
0,0900	0,7440	0,6326	0,8346
0,1000	0,7546	0,6452	0,8427
0,1100	0,7643	0,6566	0,8502
0,1200	0,7732	0,6671	0,8570
0,1300	0,7814	0,6767	0,8633
0,1400	0,7890	0,6856	0,8691
0,1500	0,7961	0,6940	0,8746
0,2000	0,8259	0,7287	0,8974
0,2500	0,8491	0,7559	0,9149
0,3000	0,8681	0,7782	0,9290
0,4000	0,8981	0,8141	0,9503
0,5000	0,9212	0,8430	0,9656
0,6000	0,9402	0,8679	0,9770
0,7000	0,9563	0,8908	0,9857
0,8000	0,9706	0,9134	0,9922
0,9000	0,9837	0,9381	0,9969
0,9500	0,9904	0,9537	0,9987
1,0000	1,0000	1,0000	1,0000



TAULUKKO 20. Miesten leukosyyttikuvaajan datapisteet

<i>y</i>	<i>x (ROC)</i>	<i>x (alaraja)</i>	<i>x (yläraja)</i>
0,0000	0,0000	0,0000	0,0000
0,0050	0,3140	0,1461	0,5336
0,0100	0,3791	0,2026	0,5858
0,0200	0,4543	0,2747	0,6439
0,0300	0,5030	0,3244	0,6811
0,0400	0,5397	0,3628	0,7090
0,0500	0,5694	0,3944	0,7315
0,0600	0,5943	0,4212	0,7504
0,0700	0,6158	0,4446	0,7668
0,0800	0,6348	0,4653	0,7812
0,0900	0,6518	0,4838	0,7942
0,1000	0,6672	0,5006	0,8058
0,1100	0,6812	0,5160	0,8165
0,1200	0,6941	0,5302	0,8262
0,1300	0,7061	0,5434	0,8353
0,1400	0,7173	0,5556	0,8436
0,1500	0,7277	0,5671	0,8514
0,2000	0,7715	0,6157	0,8837
0,2500	0,8057	0,6541	0,9080
0,3000	0,8336	0,6859	0,9269
0,4000	0,8771	0,7375	0,9540
0,5000	0,9098	0,7793	0,9719
0,6000	0,9356	0,8156	0,9838
0,7000	0,9564	0,8489	0,9916
0,8000	0,9735	0,8817	0,9964
0,9000	0,9877	0,9174	0,9991
0,9500	0,9939	0,9397	0,9997
1,0000	1,0000	1,0000	1,0000



TAULUKKO 21. Miesten bakteerikuvaajan datapisteet

<i>y</i>	<i>x (ROC)</i>	<i>x (alaraja)</i>	<i>x (yläraja)</i>
0,0000	0,0000	0,0000	0,0000
0,0050	0,4484	0,2488	0,6624
0,0100	0,5082	0,3121	0,7022
0,0200	0,5732	0,3850	0,7458
0,0300	0,6136	0,4316	0,7733
0,0400	0,6432	0,4660	0,7937
0,0500	0,6667	0,4934	0,8100
0,0600	0,6862	0,5162	0,8237
0,0700	0,7028	0,5356	0,8354
0,0800	0,7174	0,5525	0,8457
0,0900	0,7304	0,5675	0,8549
0,1000	0,7420	0,5810	0,8631
0,1100	0,7526	0,5933	0,8706
0,1200	0,7623	0,6045	0,8775
0,1300	0,7713	0,6148	0,8838
0,1400	0,7796	0,6243	0,8896
0,1500	0,7873	0,6333	0,8951
0,2000	0,8198	0,6706	0,9174
0,2500	0,8450	0,6997	0,9341
0,3000	0,8656	0,7238	0,9471
0,4000	0,8978	0,7628	0,9658
0,5000	0,9224	0,7945	0,9783
0,6000	0,9422	0,8223	0,9869
0,7000	0,9588	0,8484	0,9927
0,8000	0,9730	0,8747	0,9966
0,9000	0,9858	0,9047	0,9990
0,9500	0,9921	0,9247	0,9996
1,0000	1,0000	1,0000	1,0000

