



CELLTAC α MEK-6400K-VERENKUVA- ANALYSAATTORIN VALIDOINTI

Opinnäytetyö

**Susanna Laakso
Minna Matilainen
Kati Sutinen**

Bioanalytiikan koulutusohjelma

Hyväksytty ____.

SAVONIA- AMMATTIKORKEAKOULU

Terveysala, Kuopio

OPINNÄYTETYÖ

Tiivistelmä

Koulutusohjelma: Bioanalytiikan koulutusohjelma	
Suuntautumisvaihtoehto:	
Työn tekijä(t): Laakso Susanna, Matilainen Minna ja Sutinen Kati	
Työn nimi: Celltac α MEK-6400 K-verenkuva-analysaattorin validointi	
Päiväys: 30.11.2009	Sivumäärä / liitteet: 51/10
Ohjaajat: Päätoiminen tuntiopettaja Reetta Pylkkönen ja sairaalakemisti Sakari Eskelinen	
Työyksikkö / projekti: ISLAB, Itä-Suomen Laboratoriokeskus liikelaitoskuntayhtymä, Kuopio	
<p>Verisolujen eli erytrosyyttien, leukosyyttien ja trombosyyttien laskenta on yksi yleisimmistä laboratoriotutkimuksista. Verenkuvatutkimuksen tarkoituksena on määrittää solujen lukumääriä sekä erilaisia pitoisuuksia soluista. Verenkuvatutkimuksen avulla pystytään diagnosoimaan monia sairauksia. Yleisimmin sitä käytetään väsymyksen, mustelmataipumuksen ja vatsakipujen syiden selvittämiseen sekä syöpähoitojen seurantaan.</p> <p>Laadunvalvonnan tavoitteena on tuottaa luotettavia tuloksia muun muassa tarkkojen analyysimenetelmien avulla. Edellytys luotettavien tuloksien saamiselle on oikeanlaisen analysaattorin valinta validoinnin avulla. Validoinnilla selvitetään analysaattorin sekä analyysimenetelmän soveltuvuutta käyttöön. Validointiprosessi koostuu suunnittelusta, mittausten suorittamisesta, tulosten arvioinnista ja tilastollisista laskuista. Validoinnista saadut tulokset ja johtopäätökset esitellään validointiraportissa.</p> <p>Tässä opinnäytetyössä oli tarkoituksena validoida Celltac α MEK-6400 K -verenkuva-analysaattori Itä-Suomen Laboratoriokeskuksen liikelaitoskuntayhtymän Puijon sairaalan laboratoriossa. Validoinnissa käytetty aineisto muodostui potilasnäytteistä sekä tunnetuista kontrollinäytteistä. Validoitavan analysaattorin tuloksia verrattiin referenssilaitteen toimineen Advia 2120:n tuloksiin korrelaation ja regression avulla. Toisena tehtävänä oli tutkia validoitavan analysaattorin käytettävyyttä omien havaintojen avulla.</p> <p>Tutkimuksessa saatujen tulosten perusteella todettiin validoitavan verenkuva-analysaattorin tuloksien korreloivan hyvin referenssilaitteen tuloksiin. Tutkimustulosten perusteella voitiin todeta, että Celltac α MEK-6400 K -verenkuva-analysaattorin tuloksien toistettavuus ja täsmävyys olivat hyvät. Käyttökokemukset puolsivat laitteen sopivuutta pienempiin laboratorioihin.</p>	
Avainsanat: (1-5) Laatu, Laadunvalvonta, Validointi, Verisolut, Perusverenkuva ja erittelylaskenta	
Julkinen <input checked="" type="checkbox"/>	Salainen <input type="checkbox"/>

SAVONIA UNIVERSITY OF APPLIED SCIENCES

Health Professions Kuopio

THESIS

Abstract

Degree Programme: Biomedical Laboratory Science	
Option:	
Authors: Laakso Susanna, Matilainen Minna and Sutinen Kati	
Title of Thesis: Validation of the Celltac α MEK-6400 K -blood count analyzer	
Date: 30.11.2009	Pages / appendices: 51/10
Supervisor: Senior lecturer Reetta Pylkkönen and hospital chemist Sakari Eskelinen	
Contact persons: Eastern Finland Laboratory Centre Joint Authority Enterprise (ISLAB)	
<p>Counting of the blood cells - erythrocytes, leukocytes and thrombocytes - is one of the most in common laboratory tests. The aim of blood count is to count the amount and different concentrations of the blood cells. Blood count can be used to diagnose different diseases. It is commonly used for diagnosing fatigue, tendency for bruising, stomach cramps and also to follow up cancer treatments.</p> <p>The aim of quality controlling is to produce reliable results using specific analyse methods. Choosing the right method with validation is a requirement for getting reliable results. Validation is used for evaluating the applicability of the analyzer and the analyse method. The validation process consists of elaboration, performing the measurements, evaluating the results and performing the statistical calculations. The results and conclusions are shown in the validation report.</p> <p>The purpose of this thesis was to validate Celltac α MEK-6400 K -blood count analyzer in the laboratory of Eastern Finland Laboratory Centre Joint Authority Enterprise, hospital of Puijo. The material used in the validation consisted of patient samples and control samples. The results of the analyzer under validation were compared to the results of Advia 2120, the reference analyzer by testing the correlation and regression. The other task was to go through the observations of the usability of the analyzer.</p> <p>Based on the research results the results of the analyzer being validated correlate with the results of the reference analyzer. As a conclusion the results of the Celltac α MEK-6400 K -blood count analyzer are repeatable and precise. The observations of the usability support the fact that the analyzer is proper for usage in smaller laboratories.</p>	
Keywords: (1-5) Quality, Quality control, Validation, Blood cells, Blood count and differential count	
Public <input checked="" type="checkbox"/>	Secure <input type="checkbox"/>

SISÄLTÖ

1	JOHDANTO.....	5
2	TUTKIMUKSEN TEOREETTISET LÄHTÖKOHDAT.....	8
2.1	Laboratorion laadunvalvonta.....	8
2.2	Validointi.....	9
2.3	Verisolujen muodostus.....	12
2.4	Perusverenkuva ja valkosolujen kolmiosainen erittelyjakauma.....	14
2.5	Validoitava analysaattori Celltac α MEK-6400 K.....	16
2.6	Referenssilaitte Advia 2120.....	20
3	TUTKIMUKSEN TARKOITUS JA TUTKIMUSONGELMAT.....	23
4	TUTKIMUKSEN TOTEUTUS.....	25
4.1	Tutkimusmenetelmä.....	25
4.2	Tutkimuksen luotettavuus.....	26
4.3	Tutkimuksen eettisyys.....	28
4.4	Tutkimusaineiston keruu ja validoinnin toteutus.....	30
4.5	Tutkimuksessa käytetyt tilastolliset menetelmät.....	32
5	TUTKIMUKSEN TULOKSET JA NIIDEN TARKASTELU.....	34
5.1	Tutkimuksen tulokset.....	34
5.2	Tulosten tarkastelu.....	41
5.2.1	Celltac α MEK-6400 K:n vertailukelpoisuus Advia 2120:n tulostasoon.....	41
5.2.2	Celltac α MEK-6400 K -verenkuva-analysaattorin käytettävyys.....	43
5.3	Päätelmät.....	44
6	POHDINTA.....	46
	LÄHTEET.....	48

LIITTEET

Liite 1.	Tutkimuslupa.....	54
Liite 2.	Validointisuunnitelma.....	57
Liite 3.	Celltac α MEK 6400 K -verenkuva-analysaattorin tulosliuskat.....	58
Liite 4.	Rinnakkaisnäytteiden ja referenssilaitteen analysointitulokset.....	59
Liite 5.	Parametrien korrelaatiot.....	62

1 JOHDANTO

Verisolujen laskenta on yksi yleisimmistä laboratoriotutkimuksista. Verenkuvatutkimuksen tarkoituksena on määrittää solujen lukumääriä sekä erilaisia pitoisuuksia soluista. (Savolainen 2006, 14.) Perusveren kuvan (B-PVK) avulla saadaan selville yleiskuva verisoluista sekä hemoglobiinista. Perusveren kuvaa käytetään monissa tilanteissa, sillä sen avulla pystytään toteamaan monia eri sairauksia. Yleisimmin tätä tutkimusta käytetään, mikäli potilas valittaa väsymystä, vatsakipua tai mustelmataipumusta. Tutkimus on myös aina mukana potilaan yleistilan tarkkailussa syöpähoitojen aikana. (Terveyskirjasto 2009a.) Perusveren kuvan ohella paljon käytetty tutkimus on täydellinen verenkuvaa (B-TVK). Tämä tutkimus sisältää perusveren kuvan lisäksi myös valkosolujen erittelylaskennan. Täydellistä verenkuvaa käytetään paljon muun muassa reuman tutkimiseen. (Terveyskirjasto 2009b.)

Verenkuvaa-analyysit ovat alttiita monille erilaisille virhelähteille. Nämä on tärkeää pyrkiä estämään eri keinoin. Yksi tärkeä keino estää virhelähteitä on laadunvalvonta. (Savolainen 2007, 88–89.) Laadunvalvonta kliinisissä laboratorioissa varmistaa tutkimusten luotettavuutta. Tavoitteena on tuottaa luotettavia tuloksia käyttämällä tarkkoja mittausmenetelmiä. Luotettavien tulosten edellytyksenä on tarkoituksenmukaisen määritysmenetelmän valinta, laitteelle soveltuvien reagenssien, kontrollinäytteiden ja käyttöliuosten käyttö sekä mittauslaitteen kalibrointi halutulle tasolle. (Lewis 2001, 565.) Laboratorion laadun kehittämisen edellytyksenä on jatkuva laadun seuranta. Toiminnassa havaittujen poikkeamien tallentaminen ja arviointi ovat keskeinen osa työntekoa. (Linko 2007a.)

Ennen laitteen hankkimista on suoritettava laitteen validointi, joka tarkoittaa analysaattorin toimivuuden ja sopivuuden selvittämistä käytäntöön (Rajamäki & Laitinen 1990, 202). Validointi tehdään aina laitetyypeittäin, kun harkitaan uusien laitetyyppien hankkimista (ISLAB 2009, 27). Pääasiallisia valintaperusteita uutta analysaattoria valittaessa ovat analysaattorin mittaustarkkuus, tulosten toistettavuus ja vertailukelpoisuus referenssilaitteen

tulosten kanssa sekä laitteen helppokäyttöisyys (Guerti, Vertessen, Daniëls & Van der Planken 2007, 132–133). Tämän tutkimuksen perustana on Itä-Suomen Laboratoriokeskuksen liikelaitoskuntayhtymän (ISLAB) toimintakäsikirja.

ISLABin toimintakäsikirjan mukaan ISLAB on Mittatekniikkakeskuksen (FINAS, Finnish Accreditation Service) akkreditoima testauslaboratorio, jonka pätevyysalueina ovat kliininen kemia ja hematologia. Akkreditointi kattaa kaikki toiminnot näytteenotosta analyysitulokseen, ja se sisältää toimintajärjestelmän sekä menetelmien arvioinnin. ISLABin toimintajärjestelmä on rakennettu täyttämään sairaanhoitopiirien laboratoriotoiminnan tarpeet. Se noudattaa standardia SFS-EN ISO/IEC 17025. (ISLAB 2009, 8-9.)

Laboratorioprosessi koostuu useista vaiheista, tutkimuspyynnön tekemisestä tulosten vastaamiseen. Prosessi jaetaan kolmeen vaiheeseen: preanalytiikkaan, analytiikkaan ja postanalytiikkaan. Laboratorioprosessin jokaiseen vaiheeseen liittyy virhemahdollisuuksia. Valtaosa virheellisistä laboratoriotuloksista on seurausta puutteellisesta preanalyttisestä vaiheesta. (Laitinen 2004, 32; Tandberg 2008, 18; Wians, Jr. 2009, 105.) Laboratoriohoitajan on tiedostettava, että laadukkaan laboratoriotuloksen varmistamiseksi tarvitaan laadukkaat, asianmukaiset näytteet. Jotta preanalyttinen vaihe kokonaisuudessaan onnistuisi niin, että analyysi voidaan suorittaa luotettavasti, tulee näytteenottajan ja -käsittelijän olla tarkasti selvillä tutkimuksen preanalyttisistä vaatimuksista. (Laitinen 2004, 32; Markkanen 2000, 172–174.)

Opinnäytetyön aiheena on verenkuvaa-analysointilaitteen validointi. Tarkoituksena on selvittää validoitavan verenkuvaa-analysointilaitteen käytettävyyttä laitevertailun sekä käyttäjien kokemusten perusteella. Kyseessä on Celltac α MEK-6400 K -verenkuvaa-analysointilaitte, jota harkitaan otettavaksi käyttöön ISLABin pienempiin aluelaboratorioihin, mikäli laite osoittautuu validointiprosessin sekä ISLABin laitekilpailutuksen myötä vaatimusten mukaiseksi. Tavoitteena on, että näytteitä ei tarvitse lähettää eteenpäin, vaan pienet laboratoriot voivat itse tehdä ottamistaan näytteistä perusverenkuvan sekä kolmiosaisen leukosyyttien erittelylaskennan, jolloin tulokset saadaan pienemmällä viiveellä ja

vähäisemmin kustannuksin. Tämä kvantitatiivinen tutkimus suoritetaan ISLABille ja opinnäytetyö Savonia-ammattikorkeakoululle.

Opinnäytetyön teoriaosassa käsitellään laboratorion laadunvalvontaa, validointia, verisoluja ja verenkuvaa sekä esitellään käytettäviä verenkuvanalyysiaattoreita. Tässä työssä käytetään tutkimustuloksien tarkastelun yhteydessä validoitavasta verenkuvanalyysaattorista nimeä Celltac ja referenssilaitteena toimineesta verenkuvanalyysaattorista nimeä Advia. Tutkimuksen toteutus -luvussa esitetään teoretieto tutkimusmenetelmistä, tutkimuksen luotettavuudesta ja eettisyydestä sekä kuvataan tutkimusprosessi. Avainsanoja tässä tutkimuksessa ovat laatu, laadunvalvonta, validointi ja verisolut sekä perusverenkuv ja erittelylaskenta.

2 TUTKIMUKSEN TEOREETTISET LÄHTÖKOHDAT

2.1 Laboratorion laadunvalvonta

Lainsäädäntö velvoittaa keskussairaaloiden laboratorioita vastaamaan alueensa laboratorioiden laadunvalvonnasta. Toiminta on jaettu Labquality Oy:n määrittämiin kokonaisuuksiin, eli laadunvalvontatermein sisäiseen ja ulkoiseen laadunvalvontaan. (Penttilä 2004, 36.) Labquality Oy on sairaanhoitopiirien, kuntaliiton sekä ammatillisten järjestöjen omistama puolueeton organisaatio, joka tarjoaa laboratorioille ja laboratoriotutkimuksia tekeville yksiköille laadunarvioimispalveluita (Labquality 2009). Suomen standardisoimisliitto SFS:n (2000, 10) mukaan laboratoriolle tulee olla käytössään laboratorion toimintaan soveltuva laatujärjestelmä, jonka toimintaperiaatteet ja tavoitteet määritellään laboratorion laatukäsikirjassa. Laboratorion sisäinen laadunvalvonta koostuu tarkkailunäyte- eli kontrollimäärittämisistä, joita analysoidaan jokaisen näytesarjan alussa ja joiden tuloksia verrataan tiedossa oleviin tuloksiin (Jaarinen & Niiranen 2005, 38). Omilla tai kaupallisilla kontrollinäytteillä seurataan laboratorion omien menetelmien tasoa. Ennalta määritettyjen tavoiterajojen tarkoitus on, että analyysien toistettavuus pysyisi analyttisen kokonaisvirheen rajoissa. (Penttilä 2004, 36–38.) Sisäisten laadunvalvontanäytteiden tarkoituksena on havaita muutokset välittömästi menetelmien toistettavuudessa sekä tulostasossa (ISLAB 2009, 29). Laboratorioiden tulee itse suunnitella tarpeisiinsa sopiva sisäinen laadunvalvontajärjestelmä, jonka tulee varmistaa tulosten laatutason saavutettavuus. (Draft international standard ISO/DIS 15189 1998, 42.)

Ulkoisen laadunvalvonnan tarkoitus on määrittää omien menetelmien taso vertaamalla saatuja tuloksia muiden laboratorioiden tuloksiin. Määrittävä laboratorio ei tiedä ennalta määrittämisessä käytettävien näytteiden arvoja. (Penttilä 2004, 36–38.) ISLABin laboratoriot osallistuvat tehokkaiksi katsottuihin

sekä riittävän kattaviin kotimaisiin ja kansainvälisiin ulkoisiin laadunvalvontaohjelmiin (ISLAB 2009, 30). Labquality Oy järjestää sekä Suomessa että kansainvälisesti ulkoisia laadunvalvontapalveluita kliinisille laboratorioille (Labquality 2009).

Laadunvalvontaan kuuluu systemaattisen virheen ja satunnaisvirheen seuranta, jossa käytetään hyväksi validoinnin yhteydessä määritettyä menetelmän toistettavuutta. Satunnaisvirheellä tarkoitetaan ennustamatonta ja kaikissa analyyseissa läsnä olevaa poikkeamaa. Sitä on mahdollista pienentää huolellisella työskentelyllä ja vakioiduilla olosuhteilla. Satunnaisvirhe vaikuttaa tuloksiin sattumanvaraisesti pienentäen tai suurentaen. (Jaarinen & Niiranen 2005, 31–32.) Systemaattinen virhe puolestaan aiheuttaa usein tuloksiin vääristymää, eikä sen vaikutus vähene otoskoon kasvaessa, toisin kuin satunnaisvirheessä. Systemaattisen virheen suuruutta on vaikea arvioida. Se vaikuttaa koko aineistoon samansuuntaisesti. (Heikkilä 2005, 186.) Myös laboratorion tulosten vertailukelpoisuutta ja luotettavuutta seurataan jatkuvasti ulkoisten laadunarviointiohjelmien avulla. Johtoryhmä asettaa toiminnalle yleiset laatutavoitteet. Analyttiset laatutavoitteet asetetaan osaamisalueittain. (ISLAB 2009, 29.)

ISLABin laadunvalvonnan tavoitteena on varmistaa tulosten oikeellisuus ja se, että tulokset vastaavat ISLABin vaatimustasoa. Laadunvalvonnalla on tarkoitus selvittää mahdollisia ongelmakohtia ja pyrkiä korjaamaan niitä. ISLABin päivittäiseen laadunvarmistukseen kuuluu kontrollinäytteitä ja tilastollisia menetelmiä hyödyntävä sisäinen analyysisarjojen laadunvalvonta. (ISLAB 2009, 29.)

2.2 Validointi

Kliinisten laboratorioiden tutkimusmenetelmät perustuvat validoituihin analyysimenetelmiin. Validoinnilla selvitetään analyysimenetelmän ja analyysoijan soveltuvuus laboratorion aiottuun käyttötarkoitukseen. (Jaarinen & Niiranen 2005, 11.) Suoritetun validoinnin tulee olla tarpeisiin nähden

riittävän laaja, jotta kliiniset laboratoriot voivat varmistua käytettävän menetelmän tai analysaattorin sopivuudesta käyttötarkoitukseen nähden (Draft international standard ISO/DIS 15189 1998, 38). Analysaattorin soveltuvuutta selvitetään laaditun validointisuunnitelman mukaisesti. Soveltuvuuden arvioinnin hyväksymiskriteereinä käytetään sisäisen ja ulkoisen laadunvalvonnan hyväksymiskriteerejä. (Jaarinen & Niiranen 2005, 11.) Laboratorioiden tulee hankkia uusia analyysilaitteita hankintasääntöjen ja -lain mukaisesti. (ISLAB 2009, 27). Laitteen tulee olla käyttötarkoitukseensa sopiva ja sen tulee saavuttaa sille asetettu toimivuus ja suorituskyky käyttötarkoituksensa mukaisesti. Laitteen käyttäjän on oltava ammattitaitoinen ja ennen laitteen käyttöä on tehtävä tarvittavat toimenpiteet laitteen kunnon ja toiminnan varmistamiseksi. (Laki terveydenhuollon laitteista ja tarvikkeista 29.12.1994/1505.)

The International Council for Standardisation in Haematology (ICSH) on laatinut ohjeet hematologian automaattisten verenkuvaa-analysointilaitteiden validointia varten, joiden mukaan validointiprosessi yleensä suoritetaan. Tämän perusteella on laadittu myös suomenkieliset validointiohjeet, jotka on julkaistu *Moodissa* 4/1990. (Rajamäki & Laitinen 1990, 202–208.) Nämä ohjeet ovat edelleen käytössä validointiprosessien suorittamisessa. ICSH antaa myös suosituksia käytettävistä referenssimenetelmistä (Nagai, Kondo & Tatsumi 2005, 235). Referenssimenetelmällä tarkoitetaan perusteellisesti tutkittua mittausmenetelmää, jota voidaan hyödyntää muiden mittausmenetelmien arvioinnissa (Linko 2007b, 25).

Ennen uuden analyysilaitteen käyttöönottoa ja hankintaa tulee valinnan perusteeksi tehdä validointi, jonka laajuuden määrittää kyseisen osaamisalueen vastuuhenkilöt. Toteutuksesta laaditaan suunnitelma ja raportti. (ISLAB 2009, 27–28.) Validointi koostuu seuraavista vaiheista: suunnittelu, mittausten suorittaminen, tulosten arviointi, tilastolliset laskut sekä menetelmäohjeen ja menetelmään liittyvän laadunvalvonnan laatiminen. Validoinnin vaiheet ja siihen liittyvät mittaukset ja johtopäätökset tulee aina kirjata validointiraporttiin. Validoinnin tarkoituksena on varmistaa vertailumateriaalien avulla, että menetelmä antaa oikeita tuloksia, ja että tulokset ovat toistettavia. Näiden

tarkastus suoritetaan suunnitellun pitoisuusalueen alarajalla, keskivaiheilla ja ylärajalla. Validoinnissa tulee kiinnittää myös erityistä huomiota häiriöiden ja käytännön työssä odotettavissa olevien olosuhdemuutosten sietokykyyn. Mitä enemmän toistoja tehdään, sitä luotettavampana tuloksista tehtyjä tulkintoja voidaan pitää. Validoinnin kohteena olevan menetelmän valinnassa otetaan huomioon analyysille asetetut vaatimukset, kuten määritettävien analyyttien pitoisuudet, tulosten tarkkuus, menetelmän soveltuvuus eri materiaaleille, sekä nopeus ja hinta. (Jaarinen & Niiranen 2005, 30–31.)

Rajamäen ja Laitisen (1990, 202-208) mukaan validointiprosessin erillisprosesseja ovat sarjan sisäinen toistettavuus, kokonaisvaihtelu, siirtymävirhe, vertailu tunnettuun aikaisemmin käytössä olleeseen menetelmään, lineaarisuuden tutkiminen, suoriutuminen ongelmanäytteistä ja -tilanteista sekä käytännöllinen nopeus. Näitä erillisprosesseja edeltää perehdytysjakso, jonka aikana on mahdollista ratkoa käyttöön liittyviä kysymyksiä ja pulmatilanteita yhdessä laitteen toimittajan kanssa.

Sisäisen toistettavuuden tarkoituksena on testata laitteen toistettavuutta analysoimalla samaa näytettä useamman kerran samassa näytesarjassa. Toistotarkkuutta tutkittaessa analysoidaan samalla kertaa suuri määrä näytteitä rinnakkaisina. Nämä näytteet tulee sijoittaa sattumanvaraisesti muiden tutkittavien näytteiden joukkoon. Siirtymävirheellä tutkitaan edellisen näytteen vaikutusta seuraavaan näytteeseen. Tätä kutsutaan myös nimellä carry over. Siirtymävirheen tarkasteluun tulee valita kolme näyteparia siten, että ne edustavat matalaa ja korkeaa tasoa. Siirtymävirheen arviointiin soveltuvia parametreja ovat esimerkiksi trombosyytit ja leukosyytit. Arviointi suoritetaan analysoimalla ensin korkean tason näytettä kolme kertaa peräkkäin ja välittömästi tämän jälkeen matalan tason näytettä kolme kertaa peräkkäin. Näiden avulla voidaan laskea siirtymävirheen prosentti. (Rajamäki & Laitinen 1990, 204–205.)

Lineaarisuus tulee mitata laajalla alueella, johon on huomioitu fysiologiset vaihtelualueet, kuin myös kaikki tavallisimmat patologiset muutokset. Tämä on kuitenkin mahdollista jättää myös tekemättä, mikäli tutustumisjakson tai muiden

testauksien perusteella on saatu varmuus lineaarisuudesta ja siitä, että sitä kuvaava suora kulkee origon eli nollapisteen kautta. Lineaarisuuden tarkastelu suoritetaan analysoimalla kolme rinnakkaismääritystä kymmenestä tasavälein laimennetusta verinäytteestä. (Rajamäki & Laitinen 1990, 205–207.)

Tässä tutkimuksessa käytettävät validoinnin termit ovat toistotarkkuus, sarjan sisäinen toistettavuus ja siirtymävirhe. Toistotarkkuus ilmenee tässä tutkimuksessa vertailemalla rinnakkaismääritysten tuloksia keskenään sekä sarjan sisäinen toistettavuus analysoimalla kolmea eritasoista näytettä kymmenen kerran sarjoissa, ISLABin sairaalakemistin Sakari Eskelisen ohjeiden mukaan. Siirtymävirhettä tarkastellaan analysoimalla potilasnäytettä ja keittosuolaliuosta (NaCl) vuorotellen (S. Eskelinen, henkilökohtainen tiedonanto 7.6.2008).

2.3 Verisolujen muodostus

Verisolut valmistuvat pääosin luuytimessä hematopoieettisista kantasoluista solunjakautumisen, linjavalinnan, erilaistumisen ja kypsymisen seurauksena. Verisolujen muodostumista kutsutaan hematopoiesiksi, joka jatkuu läpi elämän. (Siitonen & Koistinen 2007, 16.) Verisoluja ovat erytrosyytit eli punasolut, leukosyytit eli valkosolut ja trombosyytit eli verihiutaleet (Savolainen, 88).

Erytrosyyttien muodostusta säätelee erytropoietiini-hormoni (EPO). Suuntautuneesta kantasolusta muodostuu kypsä erytrosyytti seuraavien kehitysvaiheiden mukaisesti noin seitsemän vuorokauden aikana: proerytroblasti – basofiilinen erytroblasti – polykromaattinen erytroblasti – ortokromaattinen erytroblasti – retikulosyytti – erytrosyytti. Erytrosyyttien keskimääräinen elinikä on 120 vuorokautta, jonka jälkeen ne hajoavat. (Hänninen 2004, 265–266.) Kypsä erytrosyytti on muodoltaan kaksoiskovera, 6–8,5 µm läpimittainen kiekko. Erytrosyyttien tärkein tehtävä on elimistön hapen kuljetus. Happea kuljettava molekyyli hemoglobiini edustaa noin puolta erytrosyyttien proteiinien kokonaismäärästä. Koko erytrosyytin rakenne ja

hemoglobiinimolekyylit ovat kehittyneet palvelemaan hapen kuljetusta. (Vilpo 2005, 21.)

Leukosyyttejä ovat granulosyytit, monosyytit ja lymfosyytit. Granulosyytit jaetaan granulan perusteella neutrofiilisiin, eosinofiilisiin ja basofiilisiin granulosyytteihin. Granulopoieesi eli granulosyyttien muodostuminen etenee seuraavien vaiheiden kautta: myeloblasti – promyelosyytti – myelosyytti – metamyelosyytti – sauvatumainen granulosyytti – liuskatumainen granulosyytti. Monosyttopoieesi eli monosyyttien muodostuminen tapahtuu luuytimessä granulosyyttisarjan kanssa yhteisestä kantasolusta. Kypsä monosyytti muodostuu promonosyyttivaiheen kautta, jonka jälkeen se vapautuu verenkiertoon. Lymfosyytit kehittyvät lymfaattisiksi kantasoluiksi monikykyisistä kantasoluista luuytimessä. (Hänninen 2004, 266–267.)

Neutrofiilisten granulosyyttien tärkein tehtävä on mikrobien tuhoaminen. Neutrofiilisten granulosyyttien läpimitta sivelyvalmisteessa on noin 13 µm. Eosinofiiliset granulosyytit fagosytoivat antigeeni-vasta-ainekomplekseja ja näin ollen estävät allergisia reaktioita ja tappavat parasiittejä. Basofiilisten granulosyyttien pinnalla on IgE-reseptoreita, joiden avulla ne tunnistavat spesifisen allergeenin ja tehostavat immuunivastetta. (Hänninen 2004, 267; Vilpo 2005, 22–26.) Monosyytit ovat elimistön tärkeimpiä fagosytoivia soluja. Ne tuhoavat mikrobeja ja ovat tärkeä tekijä immunologisessa puolustuksessa. Monosyyttien läpimitta on 15–18 µm. Lymfosyytit ovat pieniä ja kypsän näköisiä soluja, jotka jaetaan B- ja T-lymfosyytteihin sekä NK -soluihin. B-lymfosyytit tuottavat immunologisen puolustusjärjestelmän vasta-aineita eli immunoglobuliineja. Soluun sidotusta immunitetista vastaavat T-lymfosyytit. NK -solut pystyvät tunnistamaan ja tappamaan elimistölle vieraita soluja, niin mikrobeja kuin nisäkässolujakin immunologisen tunnistuksen avulla. (Vilpo 2005, 22–26.)

Megakaryopoieesi eli trombosyyttien muodostus tapahtuu normaalisti vain luuytimessä. Suuntautuneesta myelooisesta kantasolusta syntyy megakaryoblasti, joka on ensimmäinen morfologisesti tunnistettava solu. Siitä kypsyminen jatkuu promegakaryosyytistä megakaryosyytiksi. Trombosyytit

kuroutuvat kypsistä megakaryosyyteistä. Jokainen megakaryosyytti tuottaa noin 1000–5000 trombosyyttiä. Trombosyytti on perifeerisen verenkierron pienin, tumaton, kiekkomainen solu, joka on läpimitaltaan 2-4 μm . (Hänninen 2004, 268; Siitonen & Koistinen 2007, 28.) Trombosyyttien tehtävänä on ylläpitää verisuonen seinämän kuntoa, muodostaa trombosyyttitulppa primaarissa hemostaasissa sekä veren hyytyminen (Hänninen 2004, 268).

2.4 Perusverenkuva ja valkosolujen kolmiosainen erittelyjakauma

Verisolujen laskenta on laboratorioissa yleisimmin tehtävä tutkimus. Usein potilaan diagnoosin tekemiseen ja hoitoon riittää perusveren kuvan antamat tiedot. Perusveren kuvaa voidaan epäselvissä tapauksissa täydentää valkosolujen erittelylaskennalla. (Savolainen 2006, 14.) Veren kuvatutkimusten kliininen merkitys on mitata verisolujen ominaisuuksia kuvaavia suureita, joiden muutokset liittyvät erilaisiin solutuotannon häiriötiloihin (Mahlamäki 2004, 268). Veren kuvatutkimuksessa mitataan verinäytteestä erytrosyyttien, leukosyyttien ja trombosyyttien määrät, veren hemoglobiinipitoisuus ja erytrosyyttien tilavuus. Näiden avulla lasketaan veren hematokriittiarvo eli erytrosyyttien tilavuusosuus sekä punasoluvakiot. Leukosyyttien kolmiosainen erittelyjakauma sisältää näiden arvojen lisäksi lymfosyyttien, monosyyttien ja granulosityttien erittelylaskennan. Lisäksi useat automaattilaitteet tuottavat näytteistä useita erilaisia soluja kuvaavia parametreja. (Savolainen 2007, 88–90.) Perusveren kuvatutkimuksen tarkoituksena on määrittää solujen todellinen pitoisuus ja jakauma veressä haluttuna hetkenä. Tällöin oletetaan, että tutkimusta varten otettu näyte kuvaa haluttua tilannetta, eikä muutu koostumukseltaan laboratoriotutkimusprosessin preanalyttisessä vaiheessa. Preanalyttinen vaihe sisältää näytteenoton, kuljetuksen, säilytyksen ja mahdollisen esikäsitteilyn. (Siloaho 2000, 185.)

Muutokset näytteessä alkavat heti näytteenottohetkellä ja jatkuvat analysointihetken saakka. On tavallista, että klinisiä näytteitä joudutaan kuljettamaan paljon sairaanhoitopiirien sisällä. Nykyiset tekniikat, näytteenottovälineet ja näyteasiat mahdollistavat näytteiden paremman

säilyvyyden. (Siloaho 2000, 185; Tapola 2004, 29.) Yleisiä fysikaalisia, kemiallisia ja mikrobiologisia muutoksia, joita verinäytteessä kuljetuksen ja säilytyksen aikana tapahtuu ovat verisolujen aineenvaihdunta, näytteen haihtuminen, mikrobiologinen hajoaminen ja kaasujen diffuusio. Näiden muutosten vähentämiseksi näyte pyritään analysoimaan mahdollisimman lyhyen kuljetuksen ja säilytyksen jälkeen. Näytettä tulee käsitellä varoen, jotta näyte ei hemolysoituisi. Verenkuvatutkimusta varten näyte otetaan putkeen, joka sisältää antikoagulanttia, eli hyytymistä estävää ainetta. Näytteen säilyvyyteen vaikuttavat käytettävä antikoagulantti ja sen konsentraatio näytteessä, näytteen säilytysaika sekä näytteen sekoitustapa. Näyteputkien ylitäi alitäyttö vaikuttaa näytteen säilyvyyteen. Verisolut ovat biokemiallisesti aktiivisia ja niiden määrän, koon ja koostumuksen määrittäminen perustuu solujen menetelmäkohtaiseen reagointiin käytettävässä analysaattorissa. (Siloaho 2000, 185–188.)

K₂EDTA-antikoagulantin käyttäminen estää EDTA-suolojen käytön aiheuttamaa solujen kutistumista. Säilytysajan pidentyessä solut turpoavat. Nämä aiheuttavat muutoksia soluindekseihin, joista useimmiten tarkastellaan punasoluindeksejä. EDTA-antikoagulantti vaikuttaa myös leukosyyttien ominaisuuksiin. Näytteen huolellinen sekoittaminen takaa homogeenisuuden lisäksi soluille lähes normaalia vastaavan osmoottisen ympäristön. (Siloaho 2000, 188.) Verenkuvatutkimuksen suureiden arvoihin vaikuttavat edellä mainittujen tekijöiden lisäksi tutkittavan ikä ja sukupuoli. Kaikki preanalyttisen vaiheen virhelähteet voivat vaikuttaa tuloksiin, joten ne on pyrittävä vakiomaan. Iän ja sukupuolen suhteen viitearvot ilmoitetaan vakioituna. Jotta tuloksia voidaan verrata viitearvoihin, tulee näytteenä käyttää paastonjälkeistä EDTA-laskimoverta. (Mahlamäki 2004, 268–273.) Taulukossa 1. on esitetty perusverenkuvan viitearvot aikuisilla, ja taulukossa 2. on esitetty leukosyyttien kolmiosaisen erittelylaskennan viitearvot (ISLAB 2008).

Taulukko 1. Perusveren kuvan viitearvot aikuisilla (ISLAB 2008.)

Osatutkimus	Miehet	Naiset	Yksikkö
fB-Leukosyytit	3,4–8,2	3,4–8,2	10 ⁹ /l
fB-Erytrosyytit	4,25–5,7	3,9–5,2	10 ¹² /l
B-Hemoglobiini	134–167	117–155	g/l
B-Hematokriitti	0,39–0,5	0,35–0,46	(osuus)
E-MCV	82–98	82–98	fl
E-MCH	27–33	27–33	pg
E-MCHC	315–360	315–360	g/l
B-Trombosyytit	150–360	150–360	10 ⁹ /l

Taulukko 2. Kolmiosaisen erittelylaskennan viitearvot aikuisilla (ISLAB 2008.)

Osatutkimus	10 ⁹ /l	%-osuus
B-Lymfosyytit	1,0–4,5	20–45
B-Monosyytit	0,2–0,8	2–12
B-Granulosyytit	1,6–7,9	41–82

Nykyaikaiset kehittyneet solulaskijat ovat erittäin luotettavia ja tehokkaita siinä tehtävässä, jota varten ne on suunniteltu. Laitteiden käyttäminen vaatii syvällistä ymmärrystä teknologian ja tuloksen tulkitsemisen saralla. (Savolainen 2006, 14.) Koneellisen solulaskennan rinnalla käytetään solujen kammiolaskentaa, joka toimii referenssimenetelmänä koneelliselle tutkimukselle (Savolainen 2007, 88–90).

2.5 Validoitava analyysointilaitteisto Celltac α MEK-6400 K

Validoinnin kohteena on Fennolabin maahantuoma, Nihon Kohden valmistama 18 parametrinen verenkuvaa-analysointilaitteisto Celltac α MEK-6400 K (Kuva 1)

(Nihon Kohden Corporation 2008a). Verenkuva-analysaattorin tutkimusvalikoima esitellään kuviossa 1, jossa tässä tutkimuksessa tarkasteltavat parametrit esitetään taulukossa vahvennettuina.



Kuva 1. Celltac α MEK 6400 K -verenkuva-analysaattori. (Nihon Kohden 2009.)

WBC	Leukosyytit	PCT	Trombokriitti
RBC	Erytrosyytit	MPV	Trombosyyttien keskitilavuus
HGB	Hemoglobiini	PDW	Trombosyyttien kokojakauman leveys
HCT	Hematokriitti	LY	Lymfosyytit
MCV	Punasolujen keskitilavuus	LY%	Lymfosyyttien prosentuaalinen määrä
MCH	Punasolujen keskimassa	MO	Monosyytit
MCHC	Punasolujen keskimassakonsentraatio	MO%	Monosyyttien prosentuaalinen määrä
RDW	Punasolujen kokojakauma-arvo	GR	Granulosyytit
PLT	Trombosyytit	GR%	Granulosyyttien prosentuaalinen määrä

Kuvio 1. Celltac α MEK-6400 K – verenkuva-analysaattorin parametrit.

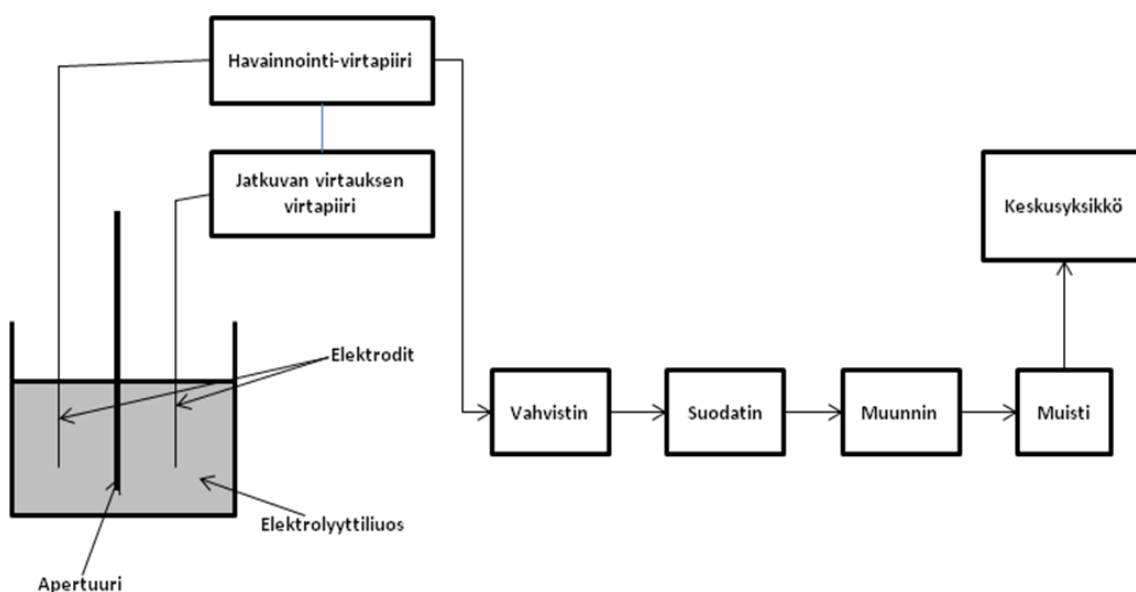
Celltacin laite-esitteen mukaan verenkuva-analysaattorilla on hyvä toistettavuus, tarkkuus ja korkea luotettavuustaso käsiteltäessä ja tutkittaessa näytteiden tulostasoa. Verenkuva-analysaattoriin on automatisoitu näytteiden uudelleen analysointi sekä näytteen laimennus, jos arvo poikkeaa

huomattavasti asetetusta mittausvälistä. Poikkeavan näytteen tuloksen verenkuv-analysaattori mittaa aina kolmeen kertaan ennen kuin antaa käyttäjän nähtäväksi tuloksen sekä virheilmoituksen epäonnistuneesta määrittämisestä. Verenkuv-analysaattoriin on mahdollista asentaa hälytysrajat, jolloin laite automaattisesti hälyttää huomattavan korkeiden tai matalien leukosyytti- tai trombosyyttiarvojen kohdalla (Nihon Kohden Corporation 2008a). Käytettävyyden helpottamiseksi verenkuv-analysaattori suorittaa jokaisen käynnistyskerran yhteydessä kalibroititason tarkistuksen sekä huuhtelun mahdollisten kontaminaatioiden ja häiriöiden poistamiseksi. Jokaisen näytteen välissä verenkuv-analysaattori suorittaa huuhtelun näytteenottosuuttimelle sekä mittausaltaille (Nihon Kohden Corporation 2008b.) Pienestä koostaan huolimatta verenkuv-analysaattorilla on mahdollista analysoida tunnin aikana 63 näytettä (Nihon Kohden Corporation 2008a).

Potilasnäytteiden, laaduntarkkailunäytteiden sekä kalibroititulosien tallentaminen verenkuv-analysaattorin muistiin on mahdollista. Tiedot analysoiduista potilasnäytteistä tallentuvat verenkuv-analysaattorin muistiin sekä numeerisina tietoina että histogrammeina. Tuloksien käsittely on mahdollista ilman histogrammien tulostamista. Tiedot histogrammeista ovat aina näkyvillä verenkuv-analysaattorin näyttöruudulla. (Nihon Kohden Corporation 2008b.)

Verenkuv-analysaattorin kalibrointi on tärkeä osa sen luotettavuutta arvioitaessa. Käyttäjä suorittaa kalibroinnin oman laboratorion toimintatapojen ja -ohjeiden mukaisesti. Kalibrointiin tulee lisäksi sisällyttää päivittäinen kontrollinäytteiden analysointi. Celltacilla on mahdollista suorittaa kalibrointi automaattisesti, yhtä aikaa useille parametreille määritettyjen arvojen avulla tai erikseen jokaiselle parametrille. Näytteitä on mahdollista analysoida joko suljetulla tai avoimella puolella. Avointa puolta käytettäessä käyttäjä joutuu poistamaan näyteputkista korkit ennen näytteen analysoinnin aloitusta. Tämä vaihtoehto on hyvä näytemäärän ollessa vähäinen. Kalibrointia ei ole välttämätöntä suorittaa molemmille puolille, vaikka niitä kumpaakin käytetään. Pakollista kalibrointi on vain suljetulle näytteenajopuolelle. (Nihon Kohden Corporation 2008b.)

Celltacin määrittäminen perustuu sähkövastuksen ja pinta-aktiivisuuden mittaamiseen sekä histogrammeista saatuihin numeerisiin arvoihin (Nihon Kohden Corporation 2008a). Solujen laskentamenetelmänä käytetään sähkövastuksen mittaamista. Menetelmä perustuu kahden elektrodin, ulkoisen ja sisäisen, väliseen muuttumattomaan sähkövastukseen. Elektrodit on asetettu hyvin lähelle apertuuria eli aukkoa, jonka läpi verisolut kulkevat ja saavat elektrodien välisen sähkövastuksen hetkellisesti kasvamaan. Sähköjännitteen vahvistuessa jännite kulkee läpi suodattimen, joka poistaa liasta tai verisoluja pienemmistä ja suuremmista partikkeleista aiheutuvat häiriöt. Jotta saataisiin selville verisolujen määrä signaali kulkee muuntimen läpi, josta tiedot tallentuvat muistiin. Tämän jälkeen tiedot ovat luettavissa tietokoneelta sekä verenkuvanalyysiaattorin näyttöruudulta. Tiedot verisoluista ovat tulkittavissa näyttöruudulta histogrammeina, joista voidaan havaita eri solujen lukumäärät sekä laskettujen solujen kokoluokat. (Nihon Kohden Corporation 2008b.) Kuviossa 2 on havainnollistettu kahden elektrodin sijaintia joiden välillä sähkösignaali muuttuu hetkellisesti ja kuinka jännite kulkee eteenpäin.



Kuvio 2. Sähkösignaalin kulku. (Nihon Kohden Corporation 2008b.)

Hemoglobiinin mittaaminen perustuu pinta-aktiivisuuden määrittämiseen. Mittaaminen edellyttää hemolysoivaa reagenssia, joka hajottaa aspiroidissa

näytteessä olevat erytrosyytit. Turvallisuus- ja ympäristösyistä käytössä on syanidi-vapaa hemolysoiva reagenssi. Erytrosyyttien hajotessa hemoglobiini vapautuu solukalvolta. Tämän jälkeen mittaaminen tapahtuu fotometrisen menetelmän avulla. (Nihon Kohden Corporation 2008b.) Menetelmä mittaa näkyvän valon alueella absorbansseja eli valon imeytymistä hemoglobiinimolekyyleihin suodattimien avulla ennalta määrätyillä aallonpituuksilla (Halonen 2004, 67). Absorbanssi on siten suoraan verrannollinen näytteessä olevaan hemoglobiinin määrään ja tulos voidaan lukea tietokoneelta sekä verenkuvaa-analysaattorin näyttöruudulta. (Nihon Kohden Corporation 2008b.)

2.6 Referenssilaitte Advia 2120

Referenssilaitteena käytettävän Advia 2120:n mittausmenetelmän soveltuvuus käyttötarkoitukseensa on osoitettu. Sen antamat mittaustulokset edustavat sellaista tarkkuutta, että menetelmää voidaan käyttää muiden mittausmenetelmien tarkkuuden arviointiin. (Linko 2007b, 25.) Validoinnissa käytetty referenssilaitte on ISLABin Puijon sairaalan laboratorion täysiautomaattinen verisolulaskija. Verenkuvaa-analysaattorilla voidaan analysoida täydellinen verenkuvaa (B-TVK) perifeerisestä verestä sekä aivoselkäydinnesteenäytteitä. Advia pystyy analysoimaan 120 B-TVK -näytettä tai 74 retikulosyyttinäytettä (E-Retik) tunnissa. Standardoidut menetelmät käsittävät täydellisen verenkuvan, leukosyyttien kuusiosaisen erittelylaskennan, retikulosyyttilaskennan, syanidi-vapaan hemoglobiinin mittauksen ja selkäydinnesteen analysoinnin. Laboratorion potilasaineiston mukaan voidaan analysaattorille asentaa viitearvoista poikkeavia tuloksia varten hälytysrajoja. (Kling, Canfield & Kunicka 2004, A179; D'Agostino, Canfield & Kunicka 2004, A38.) Puijon laboratoriossa Advia on tarkoitettu ainoastaan perifeerisen veren analysointiin. (ISLAB 2008, 1). Advia 2120 toimintakykyä on arvioitu esimerkiksi kuudessa eri tutkimuksessa, jotka on tehty ympäri maailmaa. Suorituskyvyltään Advia 2120 on verrattavissa edeltäjänsä Advia 120 -verenkuvaa-analysaattoriin ja tutkimustulokset osoittavat laitteiden tulostason korreloivan erinomaisesti toisiinsa nähden. (Kling ym. 2004, A179.)

Advia 2120 tarvitsee täydellisen verenkuvan analysointiin 175 µl näytettä, sekä suljetulta että avoimelta puolelta. Erytrosyyttien mittauksessa käytettävä reagenssi aiheuttaa solujen pyöristymistä ja osittaista kiinnittymistä. Solujen pyöristyminen poistaa solujen muodon vaihtelua ja pienentää siten virheellisten tulosten syntymistä. Erytrosyyttien mittauksessa käytetään virtausytometrian periaatetta, jossa Advia 2120 -pesureagenssi sekoittuu näytevirtaan. Mittaus tapahtuu valonsironnan avulla (laserdiodilla) matalasta ja korkeasta kulmasta. Matalan kulman mittaus muutetaan solutilavuudeksi ja korkean kulman mittaus hemoglobiini-konsentraatioksi. (Siemens AG, 2009a.) Trombosyyttien analysointi sironnan avulla mahdollistaa tarkan trombosyyttien laskennan ja tunnistamisen. Verenkuva-analysointori pystyy erottamaan esimerkiksi isot trombosyytit mikrosyyttisistä erytrosyyteistä ja solufragmenteista. Trombosyyttien laskennassa käytetään matalan ja korkean kulman mittausta valonsironnan avulla. Trombosyyteistä johtuvat erytrosyyteille tulevat hälytykset voivat johtua isoista trombosyyteistä tai trombosyyttikasoista. (Siemens AG, 2009b.)

Leukosyyttien laskennassa ja erittelyssä Advia käyttää mittaamisessa yhdistelmää virtausytometriasta, solukemiallisesta leimauksesta ja tuman tiheyden mittaamisesta kahden itsenäisen kanavan avulla (Siemens AG, 2009c). Ensin BASO-reagenssilla lysoidaan kaikista valkosoluista sytoplasma, basofiilejä lukuun ottamatta. Reagenssikäsittelyn jälkeen solujen tumarakenne analysoidaan valonsirontaan perustuen baso-kanavassa, jossa saadaan leukosyyteille arvo koon ja granulan määrän mukaan. Toinen mittaus suoritetaan perox-kanavassa, jossa lasketaan leukosyyteille arvo valonsirontaan perustuvalla menetelmällä. Perox-kanavassa lasketaan myös valkosolujen erittely. (Itä-Suomen laboratorokeskuksen liikelaitoskuntayhtymä 2008, 2; Siemens AG, 2009c.)

Hemoglobiinin määrittäminen on syanmethemoglobiiniin perustuva kolorimetrinen mittaus, jossa käytetään emäksistä syanidi-vapaata reagenssia. Ennen mittausta reagenssi aiheuttaa erytrosyyttien hemolyysin, jolloin hemoglobiini vapautuu soluista hemi-rautana. Syanidin puuttuminen edistää hemoglobiini-

proteiinien rakenteellista hajaannusta saaden aikaan hemi-raudan liittymisen vesimolekyylisiin ja hydroksidi-ioniin. Sitoutuneet hemit värjäytyvät vihreäksi lopputuotteeksi ja ovat mitattavissa aallonpituudella 546 nm. (ISLAB 2008, 2; Bayer & Moritz 2008, 593.)

3 TUTKIMUKSEN TARKOITUS JA TUTKIMUSONGELMAT

Tutkimuksella on aina jokin tarkoitus tai ongelma, joka halutaan ratkaista. Tarkoituksen avulla päätetään sopiva tutkimusstrategia. Tiettyyn tutkimukseen voi liittyä useampia kuin yksi tarkoitus, ja tarkoitus voi muuttua tutkimuksen edetessä. (Hirsjärvi, Remes & Sajavaara 2007, 128.) Tutkimuksen lähtökohtana on siis tutkimusongelma, joka ratkaistaan hankitulla tiedolla (Kananen 2008, 11).

Tässä tutkimuksessa on tarkoitus selvittää Celltac α MEK-6400 K -verenkuva-analysaattorin soveltuvuus käyttöön vertailemalla tuloksia referenssilaitte Advia 2120:n tulosten kanssa ja käyttökokemusten perusteella. Käyttökokemusten raportoinnin avulla voidaan arvioida Celltacin soveltuvuutta ja toimivuutta aluelaboratorioiden käyttöön, joissa käyttäjät joutuvat suoriutumaan päivittäisistä käyttö- ja huoltotoimenpiteistä ilman sairaalakemistin läsnäoloa. ISLAB harkitsee Celltac α MEK-6400 K -verenkuva-analysaattorin käyttöön ottoa pienempiin aluelaboratorioihin, mikäli laite osoittautuu validointiprosessin myötä vaatimusten mukaiseksi. ISLABin tavoite on, että verenkuva-näytteitä ei tarvitse lähettää pienistä laboratorioista analysoitaviksi isompiin yksiköihin, vaan ne voivat itse tehdä ottamistaan näytteistä perusverenkuvan sekä kolmiosaisen leukosyyttien erittelylaskennan. Tulokset saadaan pienemmällä viiveellä ja vähäisemmin kustannuksin.

Tutkimuksella pyritään saamaan vastauksia seuraaviin tutkimusongelmiin:

1. Onko Celltac α MEK-6400 K -verenkuva-analysaattori vertailukelpoinen referenssilaitteen Advia 2120:n tulostasoon?
2. Millainen on Celltac α MEK-6400 K -verenkuva-analysaattorin käytettävyys?

4 TUTKIMUKSEN TOTEUTUS

4.1 Tutkimusmenetelmä

Kvantitatiivinen eli määrällinen tutkimus on vallitseva tutkimusstrategia sosiaali- ja yhteiskuntatieteissä ja sen alkujuuret ovat luonnontieteissä. Kvantitatiivisessa tutkimuksessa ovat keskeisiä hypoteesien esittäminen, käsitteiden määrittely, aineiston keruun suunnitelmat ja havaintoaineiston soveltuvuus määrälliseen eli numeeriseen mittaamiseen, otantasuunnitelmat ja aineiston saattaminen tilastollisesti käsiteltävään muotoon. Edellä mainittujen tutkimuksen osien perusteella on helppo tehdä päätelmiä tilastolliseen analysointiin perustuen. (Hirsjärvi ym. 2007, 135-136.)

Aineiston käsittely perustellaan ja määritellään hyvin, mikä mahdollistaa tarvittaessa uusintamittaukset. (Kananen 2008, 16–18.) Lähdekritiikki on tutkimuksessa tärkeä asia, koska lähteen ja aineiston laatu vaikuttavat suoraan tutkimuksen luotettavuuteen. Tutkimuksessa käytettävistä lähteistä arvioidaan aineiston ja lähteen laatua ennen niiden käyttämistä. (Vilkkä 2007, 34.)

Kvantitatiivisen tutkimuksen avulla voidaan selvittää tutkimustulosten välisiä riippuvuuksia, lukumääriin ja prosentiosuuksiin liittyviä kysymyksiä. Kvantitatiivinen tutkimus edellyttää riittävän suurta otosta, jotta tutkimustulokset olisivat luotettavia. Asioita kuvataan numeeristen suureiden avulla. (Heikkilä 2005, 16–18.) Tässä tutkimuksessa tulosten vertailu tehdään kokeellisen tutkimuksen menetelmien mukaan laboratorio-oloissa. Kokeelliselle tutkimukselle on olennaista, että tutkittujen muuttujien vaikutusta tutkitaan vakioimalla kaikki muut tekijät (Heikkilä 2005, 21).

Tilastolliset menetelmät perustuvat mittauksiin ja mitattavia ominaisuuksia kutsutaan muuttujiksi. Muuttujan arvot kerätään aineistoksi, joka käsitellään

tilastollisin menetelmin. Muuttujan ominaisuudet vaikuttavat siihen, mitä tilastollisia menetelmiä voidaan käyttää aineiston käsittelyssä. Tämän tutkimuksen tulokset perustuvat Celltacilla määritettyihin numeerisiin arvoihin, joita verrataan Advian tuloksiin. Validoinnin voi Suomen standardisoimisliitto SFS:n (2000, 25) mukaan suorittaa muun muassa vertaamalla tuloksia muilla menetelmillä saatuihin tuloksiin, kuten validointi on tässä tutkimuksessa suoritettu.

4.2 Tutkimuksen luotettavuus

Tutkijan tehtävänä on tuottaa luotettavaa tietoa tutkimuskohteesta. Luotettavuus tarkoittaa tutkitun tiedon kriittistä tarkastelua kokeellisten testien ja havaintomenetelmien avulla. Päästäkseen hyvään lopputulokseen tulee tutkijan perustella esittämänsä tulokset hyvin oman ammattiosaamisensa kautta. Pystyäkseen tuottamaan luotettavaa tietoa tutkijan täytyy olla perehtynyt muiden tutkijoiden tekemiin tutkimuksiin sekä hänen tulee hallita käyttämänsä tutkimusmenetelmät. (Pietarinen 1999.)

Kaikissa tutkimuksissa pyritään arvioimaan tehdyn tutkimuksen luotettavuutta reliabiliteetin ja validiteetin avulla. Reliabiliteetti tarkoittaa mittaustulosten toistettavuutta ja validiteetti tarkoittaa mittarin tai tutkimusmenetelmän kykyä mitata sitä, mitä on tarkoituskin mitata. Validiteetin tarkastelu on jälkikäteen hankalaa, joten validius täytyy etukäteen varmistaa huolellisella tutkimussuunnitelman laatimisella ja hyvin suunnitellulla tiedonhaulla. Tuloksia ei voida pitää tosina ja pätevinä, jos tutkija antaa omien vakaumustensa ja periaatteidensa vaikuttaa tulosten tulkintaan. Luotettavuuden jäädessä alhaiseksi, on tutkijan tuotava se esille raportissaan. (Hirsjärvi ym. 2007, 226–227; Heikkilä 2005, 29; Kananen 2008, 13, 79–81.) Oleellista luotettavan tutkimuksen suorittamiselle on riittävän suuri otos. Yksi reliabiliteettiin paljon vaikuttava tekijä on käytettävien muuttujien määrä. Suuri muuttujien määrä aiheuttaa todennäköisesti suurempaa hajontaa tuloksien välille ja tämä kasvattaa tutkimuksen reliabiliteettia. (Heikkilä 2005, 30; Metsämuuronen 2000b, 34.)

Koko tutkimuksen ajan tutkijan täytyy käsitellä tutkimusaineistoaan tarkasti ja kriittisesti. Yksi tärkeimmistä tutkijan taidoista on tuloksien oikein tulkitseminen ja oikeiden analyysimenetelmien valinta. (Heikkilä 2005, 30.) Tietojen tallettamisen jälkeen tuloksille suoritetaan koeajo, jonka avulla tarkastetaan mahdolliset aineiston siirtämisen yhteydessä tapahtuneet näppäilyvirheet ja ei-sallittujen muuttujien esiintyminen aineistossa. Koeajon päätteeksi mahdolliset virheet on vielä helppo korjata aineistoon, jonka jälkeen voidaan suorittaa tarpeelliset laskennat aineistolle. Tilasto-ohjelma ei pysty yleensä ilmoittamaan väärän menetelmän käytöstä, vaan vastuu on aina tutkijalla. (Kananen 2008, 13, 51; Vilka 2007, 113–114.)

Hyvän ja luotettavan tutkimuksen edellytys on taloudellisuus ja tehokkuus. Opinnäytetyön kohdalla tätä ajatusmaailmaa joudutaan hieman soveltamaan, sillä usein opinnäytetyön hyötyä ei pystytä taloudellisesti mittaamaan. Yleensä opinnäytetyöstä saatu hyöty ilmenee arvostettuna, hyvin tehtynä työnä, jonka seurauksena tutkija voi saada ensimmäisen koulutustaan vastaavan työpaikan. (Heikkilä 2005, 30.) Opinnäytetyön luotettavuuteen vaikuttaa olennaisesti myös saatu ohjaus ja saadun ohjauksen laatu ja kattavuus. Ohjaustilanteiden kautta opinnäytetyön tekijät saavat uudenlaisia näkökulmia asioiden käsittelyyn, joiden pohjalta heidän on helpompi muodostaa objektiivisempi näkemys esimerkiksi saaduista tutkimustuloksista.

Tämä tutkimus perustuu ISLABin Puijon sairaalan laboratorion laatuavoitteisiin ja toimintaohjeisiin. Tutkimuksessa käytetyt näytteet ovat laboratorion koulutettujen bioanalytikoiden ja laboratoriohoitajien ottamia. Kaikki tutkimuksessa käytetyt näyteputket olivat täyttyneet määrämerkkiin asti, eikä näkyviä hyytymiä ollut havaittavissa. Kontrollinäytteet ja ohjeet niiden käytöstä ja säilytyksestä ovat peräisin tutkimuksen vastuuhenkilöltä.

Validoinnin aikana Celltac osallistui Labqualityn järjestämään kansainväliseen hemoglobiinimittauksen ulkoiseen laadunarviointikierrokseen ISLABin Puijon sairaalan laboratorion toimesta. Laadunarviointikierrokselle osallistuminen ja siitä saadut hyvät tulokset antoivat opinnäytetyön tekijöille varmuutta luottaa

tutkimuksessa saatuihin tuloksiin ja analysaattorin toimivuuteen. Taulukossa 3 on esitetty Celltacin tulokset laadunarviointikierröksellä. Labqualityn (2008) laadunarviointikierröksellä oli käytetty vertailuarvoina Labqualityn referenssimenetelmällä saatuja arvoja. Vertailuarvoista oli määritetty tavoiteväli +/- 5,0 %. Celltacin ja vertailuarvojen ero on laskettu prosentuaalisesti. Eroprosentista voidaan päätellä Celltacin tulosten sijoittuvan tavoitevälille, hyvin lähelle vertailuarvoja.

Taulukko 3. Laadunarviointikierröksen tulokset. (Labquality 2008)

Näyte	Celltac	Vertailuarvot	Tavoitevälit	Ero %
1.	81,5	80,6	76,5 - 84,6	1,1
2.	119,5	120,8	114,7 - 126,8	-1,1
3.	157,0	159,9	151,9 - 167,9	-1,8

4.3 Tutkimuksen eettisyys

Tieteellisen tutkimuksen eettisen hyväksyttävyyden, luotettavuuden ja tulosten uskottavuuden lähtökohtana on, että tutkimus on suoritettu hyvän tieteellisen käytännön edellyttämällä tavalla. Hyvä tieteellinen käytäntö edellyttää muun muassa tutkijoiden asiantuntijuutta. Tutkijoiden tulee noudattaa yleisesti tunnustettuja toimintatapoja: rehellisyyttä, huolellisuutta, yleistä tarkkuutta niin tutkimustyössä kuin myös tulosten tallentamisessa, esittämisessä ja arvioinnissa. Sitoutumisesta hyvään tieteelliseen tutkimuskäytäntöön vastaa pääsääntöisesti tutkija itse, mutta myös tutkimusryhmän on sitouduttava siihen kokonaisuudessa, jotta tutkimus olisi luotettava ja noudattaisi näitä periaatteita. (Tutkimuseettinen neuvottelukunta 2009.) Tutkimusta tehtäessä tulee tutkijan noudattaa ammattietiikkaa, joka tarkoittaa eettisten periaatteiden, sääntöjen, normien, arvojen ja hyveiden noudattamista omaa ammatinalaa harjoittaessa. (Pietarinen 1999.)

Eettiset kysymykset ovat tärkeä osa kaikkea tutkimustyötä. Arkisten kysymysten pohdinta ja eettinen perusteltavuus ovat osa tutkijan ammattitaitoa. Tutkimusta tehtäessä pyrkimyksenä olisi tehdä tietoisia ja eettisesti perusteltuja ratkaisuja eri tutkimustoiminnan vaiheissa. Tutkimusaiheen valinnassa on otettava huomioon kenen ehdoilla tutkimusaihe valitaan ja miksi tutkimukseen ryhdytään. (Clarkeburn & Mustajoki 2007, 52; Hirsjärvi ym. 2007, 23-25.) Huomio on kohdistettava tiedonhankintatapoihin ja koejärjestelyihin. Aineiston keräämisessä on otettava huomioon luottamuksellisuus, aineiston tallentaminen asianmukaisesti ja anonyymiuden takaaminen. Tutkimustyössä on vältettävä epärehellisyyttä kaikissa tutkimuksen osavaiheissa; tekstiä lainattaessa lainaus on osoitettava riittävin lähdemerkinnöin, toisten tutkijoiden osuutta ei saa vähätellä, tutkimustuloksia ei yleistetä kriittittömästi eikä niitä kaunistella sekä raportoinnin tulee olla huolellista esimerkiksi menetelmien ja tutkimuksen puutteiden osalta. (Hirsjärvi ym. 2007, 25–27.) Tavoitteena on mahdollisimman objektiivinen tutkimus, joka sisältää puolueettoman tutkimusprosessin ja puolueettomat tutkimustulokset (Vilka 2007, 16).

Laboratoriotyön eettisiä periaatteita ovat potilaan hyvinvointi ja hänen oikeuksiensa kunnioittaminen laboratoriotutkimusprosessin kaikissa vaiheissa. Bioanalyytikon velvollisuus on ylläpitää ja kehittää ammattitaitonsa edellyttämää osaamista ja omaksua uusia tieteellisiä menetelmiä ja hyväksytyjä menetelmiä ja toimintatapoja. Bioanalytikko vastaa laboratoriotutkimusten laadusta ja luotettavuudesta tutkimusprosessin kaikissa vaiheissa. Tutkimuksia varten hankitaan vain tutkimuksen kannalta välttämätön tieto. Bioanalytikko sitoutuu noudattamaan salassapitovelvollisuutta ja hän pyrkii oman alansa asiantuntijana edistämään terveyttä. (Suomen Bioanalytikkoliitto ry 2006.)

Tähän tutkimukseen tutkimusluvan on myöntänyt ylilääkäri Kari Punnonen ISLABista (Liite 1.) ja yhteyshenkilönä ISLABissa toimii sairaalakemisti Sakari Eskelinen. Tutkimuksessa käytettävät näytteet tulivat tutkijoille anonyymeina. Tutkimuksessa käytettävien näytteiden tunnistetietona käytetään itse luotuja tunnistenumeroita, joista ei käy ilmi minkäänlaisia potilaan henkilötietoja. Käytettävien tunnistetietojen perusteella ei voida päästä potilaan jäljille, eikä tutkijoilla ollut tutkimusaineiston keräämisen aikana oikeuksia laboratorion

tietojärjestelmien käyttämiseen. Tutkimuspyynnön ulkopuolisiin tarkoituksiin käytettävien potilasnäytteiden käyttäminen ilman erillistä lupaa potilaalta on mahdollista, kun jäännösnäytteet on saatettu anonyymeiksi (Draft international standard ISO/DIS 15189 1998, 43).

4.4 Tutkimusaineiston keruu ja validoinnin toteutus

Validointiprosessi alkoi validointisuunnitelman laatimisella (Liite 2). Suunnitelmasta ei käy ilmi siirtymävirheen ja sarjan sisäisen toistettavuuden tutkiminen, joihin ohjeet saatiin mittausten yhteydessä. Suunnitelmasta poiketen kontrollinäytteitä oli käytössä kaksi. Suunnitelman laatimisen jälkeen validointiprosessin toteutus alkoi analysaattorin käyttökoulutuksesta. Maahantuojaan edustaja neuvoi näytteiden analysointikäytännöt, analysaattorin käytön ja huollon. Celltacin käyttökoulutus järjestettiin ISLABin tiloissa, jossa myös mittaukset suoritettiin. Käytettävyyden arviointia varten kerättiin aineistoa havainnoimalla Celltacin toimintaa kirjaamalla muistiin käyttökokemukset.

Näytteiden analysoinnit tapahtuivat ajalla 7.6.2008 - 28.6.2008, kolmena erillisenä analysointikertana. Tutkimusnäytteet kerättiin analysointipäivien aikana. Tutkimusaineisto koostui Advialla määritetyistä jäännös- K_2EDTA -verinäytteistä (VACUETTE). Näytteiden hyväksymiskriteereitä olivat K_2EDTA -näyte, näytettä merkkiviivaan asti ilman silmämääräisesti havaittavia hyytymiä sekä tutkimuspyyntönä B-PVK+T tai B-TVK. Kaikista hyväksytyistä näytteistä määritettiin täydellinen verenkuvatulos, jonka tuloksia käytettiin analyyseissa. Ensimmäisellä analysointikerralla analysoitiin 29 rinnakkaisnäytettä (N = 29), toisella analysointikerralla analysoitiin kuusi rinnakkaisnäytettä (N = 6), ja kolmannella analysointikerralla analysoitiin 29 rinnakkaisnäytettä (N = 29). Kokonaisnäytemääräksi rinnakkaismäärittelyissä kertyi 64 näytettä (N = 64). Toisella analysointikerralla tutkittiin myös analysaattorin toistettavuutta kolmella trombosyyttien ja leukosyyttien osalta eritasoisella näytteellä (N = 3). Siirtymävirhettä tutkittiin kolmannella analysointikerralla yhdellä näytteellä (N = 1) ja keittosuolaliuoksella (NaCl).

Tutkittavasta aineistosta jouduttiin rinnakkaismääritysten osalta hylkäämään kahden näytteen leukosyyttien erittelylaskennan tulokset. Ensimmäinen näyte hylättiin erittelylaskennan osalta kokonaan, koska rinnakkaismäärittämisessä ei saatu kahta luotettavaa tulosta. Toinen näyte hylättiin erittelylaskennan osalta kokonaan, koska referenssilaitteen antama hälytys olisi vaatinut näytteen mikroskooppisen tarkastelun luotettavan tuloksen takaamiseksi. Liitteessä 4 on taulukoitu rinnakkaismääritysten ja referenssilaitteen analysointitulokset. Trombosyttimäärityksessä ilmeni selviä eroja sekä rinnakkaismäärittämisissä että validoitavan analysaattorin ja referenssilaitteen välillä. Tuloksia ei kuitenkaan hylätty, sillä erot johtuivat systemaattisesta virheestä, joka oli seurausta trombosyttipuolen kalibraation puutteesta referenssilaitteeseen nähden (S. Eskelinen, henkilökohtainen tiedonanto, 16.9.2009).

Käytettävät kontrollinäytteet ovat teollisesti valmistettuja punasolususpensioita, jotka ovat potilasnäytteiden kaltaisia, pitoisuuksiltaan tunnettuja liuoksia. Päivittäinen kontrollinäytteiden analysointi antaa tietoa tulostason yllättävistä muutoksista. (Linko 2004, 60; Jaarinen & Niiranen 2005, 25.) Kontrollinäytteet analysoidaan samalla tavalla kuin potilasnäytteet. Niiden tuloksia verrataan tavoitearvoihin erilaisten kontrollisääntöjen kautta. Edellytyksenä luotettavien tulosten saamiseksi tulee kontrollinäytteiden tulosten olla tavoitearvojen sisällä. (Sorto, Törmä & Kaihola 1996. 6).

Celltacin kontrollointiin käytettiin laitevalmistajan omaa MEK 3DN -kontrollinäytettä ja referenssilaitteen B-Trol -kontrollinäytettä. Advia kontrolloitiin päivittäin B-Trol -kontrollinäytteellä laboratoriohoitajien toimesta, jonka perusteella referenssilaitteen toimintaan voitiin luottaa. Aamulla ennen mittauksen aloittamista sekä uudelleen iltapäivällä viimeisen näytteen mittauksen jälkeen määritettiin Celltacilla molemmat kontrollinäytteet. Celltacilla määritettyjen MEK 3DN ja B-Trol -kontrollinäytteiden tulokset olivat hyväksytyissä rajoissa jokaisella määrittäiskerralla.

4.5 Tutkimuksessa käytetyt tilastolliset menetelmät

Analyttisen laadun kliinisissä laboratorioissa tulee perustua kliinisiin laatuvaatimuksiin. Näiden täytyminen edellyttää, että tutkimukselle asetetaan suurin sallittava analyttinen kokonaisvirhe. Se on yleensä kliinisissä laboratorioissa laadunohjauksen keinoin määritetty todennäköisyys (90 %). Tämän vuoksi tulosten tarkastelun lähtökohtana on, että tutkittavat suureet eivät poikkeaa rinnakkaisissa näytteissä yli 10 %:a (Sorto ym. 1996, 5.)

Kvantitatiivisessa tutkimuksessa valitaan aina sellainen analyysimenetelmä, joka antaa vastauksen kysymykseen, mitä ollaan tutkimassa (Vilkkä 2007, 119). Kvantitatiivisessa tutkimuksessa ollaan usein kiinnostuneita muuttujien välisistä riippuvuussuhteista. Yksi riippuvuuden tunnusluku on korrelaatio, jota saadaan tarkasteltua ristiintaulukoinnin avulla. Ristiintaulukoinnissa voi ilmetä kuitenkin ongelmia, kuinka muuttujat sijoitetaan taulukkoon, riveille vai sarakkeille. Pääsääntönä on se, että selittävät muuttujat sijoitetaan sarakkeille ja selitettävät muuttujat riveille. (Kananen 2009, 44.) Tässä tutkimuksessa taulukot on tehty siten, että selittävät muuttujat eli verisolut ovat sarakkeilla ja näytteet riveillä.

Useat tilasto-ohjelmat testaavat automaattisesti korrelaatiokertoimen, jolloin ohjelma laskee annettua riskitasoa ja otoskokoa vastaavan kriittisen arvon (p-arvo) (Holopainen & Pulkkinen 2008, 242). P-arvoa voidaan ilmaista merkitsevyytason kautta. Tällöin p-arvo tulkitaan prosenttilukuna, jonka perusteella korrelaation merkitsevyytason voidaan luokitella. (Metsämuuronen 2000a, 34-35.) Muuttujien välistä riippuvuutta ilmaistaan korrelaatiokertoimella. Jos muuttujien välillä ei ole riippuvuutta, riippuvuus saa arvon nolla (0). Täydellinen lineaarinen riippuvuus edellyttää arvoa yksi (-1 tai +1). Yleisin kahden muuttujan jakaumaa kuvaava luku on Pearsonin korrelaatiokerroin (r), joka edellyttää muuttujien olevan vähintään intervalli- eli välimatka-asteikollisia ja riippuvuuden oletetaan olevan lineaarinen. (Holopainen & Pulkkinen 2008, 233–235; Kananen 2008, 46–47.)

Korkea korrelaatio johtaa yleensä tarkempaan analysointiin siitä, millaisen matemaattisen muodon riippuvuus saa eli regressioanalyysiin (Kananen 2008, 46–47). Havaintoyksiköiden määrän jäädessä pieneksi voivat yksittäiset tulokset vaikuttaa suuresti r :n arvoon. Luotettavuuden kannalta tilastoyksiköitä tulisi olla riittävästi. (Kananen 2008, 63.) Korkea korrelaatiokerroin tarkoittaa voimakasta riippuvuutta, jonka seurauksena selvitetään riippuvuuden tarkempi matemaattinen muoto. Hajontakuviolle pyritään löytämään sellainen suora, joka parhaiten kuvaa riippuvuutta. (Holopainen & Pulkkinen 2008, 261; Kananen 2008, 64.) Regressiosuoran yleinen muoto on $Y = a + bX$, jossa Y = riippuva muuttuja, X = riippumaton muuttuja ja b = kerroin, ja se kuvaa miten Y muuttuu X :n muuttuessa. Regressiosuora kuvaa kahden muuttujan välistä lineaarista riippuvuutta. (Heikkilä 2005, 92.) Regressiokerroin on samalla myös suoran kulmakerroin. Regressiosuoran hyvyyden ilmoittaa R^2 -arvo, jonka ollessa 0,5-1,00 selityskyky on hyvä. Merkintä $R^2 = 1,00$ tarkoittaa, että suoran selityssaste on 100 % eli suora kulkee havaintoaineiston jokaisen xy -pisteen kautta. R^2 -arvot väliltä 0,25 - 0,50 kertovat kohtalaisesta selityskyvystä. (Kananen 2008, 64–65.)

Eritasoisten jakaumien välistä hajontojen keskinäistä vertailua tutkitaan CV %:n eli variaatiokertoimen avulla, joka saadaan ilmoittamalla keskihajonta prosentteina keskiarvosta. Variaatiokerroin ilmoittaa prosentuaalisen keskihajonnan poikkeaman keskiarvosta. (Rajamäki & Laitinen 1990, 208; Sorto ym. 1996, 7.)

5 TUTKIMUKSEN TULOKSET JA NIIDEN TARKASTELU

5.1 Tutkimuksen tulokset

Tarkasteltavat verenkuvan parametrit ovat erytrosyytit, hemoglobiini, hematokriitti, leukosyytit, granulositytit, lymfosyytit ja trombosyytit. Aineiston koeajossa tarkasteltiin keskiarvoja, keskihajontaa, mediaaneja, minimi- ja maksimiarvoja sekä tulosten jakautuneisuutta vinouden ja huipukkuuden avulla. Holopaisen ja Pulkkisen (2008, 78–79) mukaan edellä mainittujen tunnuslukujen avulla pyritään löytämään mahdollisia virheitä, joita on voinut sattua arvojen siirtämisessä sähköiseen muotoon. Koeajon jälkeen suoritettiin tulosten analysointi korrelaation ja regression avulla sekä tutkittiin toistotarkkuutta. Sarjan sisäisen toistettavuuden analysointiin käytettiin keskiarvoa, keskihajontaa ja CV %:a. Siirtymävirhettä tutkittiin tarkastelemalla mahdollisten verinäytejäämien ilmenemistä.

Toistotarkkuutta tutkittiin vertaamalla rinnakkaisnäytteiden tuloksia toisiinsa. Tuloksia tarkasteltiin silmämääräisesti, jotta voitiin varmistua siitä, että rinnakkaisten tulosten välillä ei ole yli 10 prosentin eroja. Tutkittavasta aineistosta löytyi muutamia tätä suurempia eroja trombosyyttien tuloksissa, mutta sairaalakemistin ohjeistuksen mukaan tulokset olivat kuitenkin käyttökelpoisia (S. Eskelinen 16.9.2009).

Korrelaation tarkastelussa nollahypoteesi H_0 on, että rinnakkaisnäytteiden tulokset korreloivat keskenään. Vastahypoteesina H_1 on, että rinnakkaisnäytteet eivät korreloi keskenään. Taulukossa 4 esitetään rinnakkaisnäytteiden korrelaatiokertoimet sekä kaksisuuntaiset p-arvot (Liite 5). Tulosten perusteella rinnakkaisnäytteet korreloivat toisiinsa nähden voimakkaasti ja p-arvon perusteella H_0 jää voimaan jokaisen parametrin osalta.

Taulukko 4. Rinnakkaisnäytteiden korrelaatio ja p-arvo Celltac -verenkuva-analyysaattorilla.

Tarkasteltavat parametrit	N	Pearsonin korrelaatio (r)	p-arvo (Sig 2-tailed)
B-Leuk 1 - B-Leuk 2	64	,999	<0,001
B-Eryt 1 - B-Eryt 2	64	,995	<0,001
B-Hb 1 – B-Hb 2	64	,998	<0,001
B-Hkr 1 – B-Hkr 2	64	,995	<0,001
B-Trom 1 – B-Trom 2	64	,992	<0,001
B-Ly 1 – B-Ly 2	63	,947	<0,001
B-Gran 1 – B-Gran 2	62	,997	<0,001

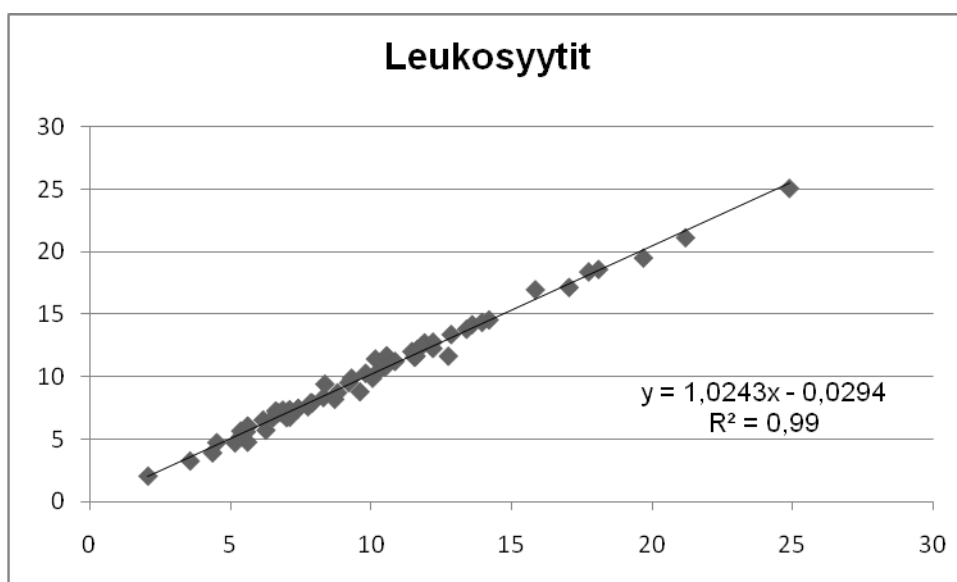
Taulukossa 5 esitetään validoitavalla verenkuva-analyysaattorilla saatujen keskiarvojen ja referenssilaitteella saatujen tulosten korrelointia toisiinsa nähden. Kuten taulukossa 4 osoitetaan rinnakkaisnäytteet korreloivat jokaisen parametrin kohdalla hyvin, eli rinnakkaisnäytteet ovat riippuvia toisistaan, jolloin tuloksia voidaan tarkastella niistä saatavilla keskiarvoilla. Korrelaatio ilmoitetaan Pearsonin korrelaatiokertoimella. Kaikilla parametreilla on korkeat positiiviset korrelaatiot, koska kaikkien parametrien korrelaatiokerroin on lähellä arvoa yksi (1), joka tarkoittaa täydellistä lineaarista riippuvuutta. Heikoin korrelaatio ($r=0,866$) on lymfosyyteillä (B-Ly), ja korkein korrelaatio ($r=0,997$) on hemoglobiinilla (B-Hb).

Taulukko 5. Rinnakkaisnäytteiden keskiarvojen ja referenssilaitteen tulosten välinen korrelaatio.

Tarkasteltavat parametrit	Pearsonin korrelaatio (r)	N
B-Leuk ka - B-Leuk ref	,995	64
B-Eryt ka - B-Eryt ref	,994	64
B-Hb ka – B-Hb ref	,997	64
B-Hkr ka – B-Hkr ref	,990	64
B-Trom ka – B-Trom ref	,980	64
B-Ly ka – B-Ly ref	,866	63
B-Gran ka – B-Gran ref	,994	62

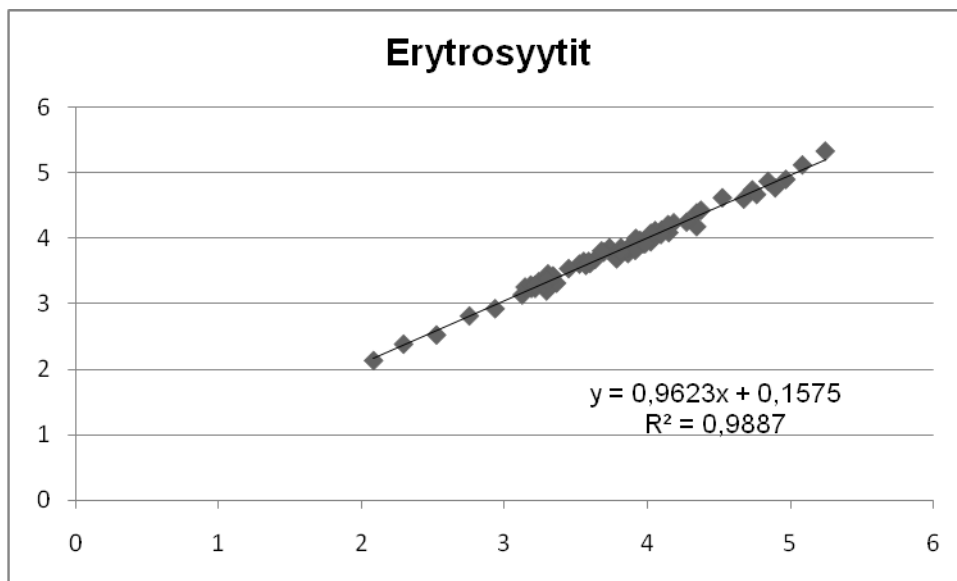
Vaikka korrelaatiokertoimet osoittavat lähes täydellistä riippuvuutta Advian ja Celltacin tulosten välillä, on lisäksi kuvaavaa laskea arvoille **regressiokerroin** sekä piirtää **regressiosuora**. Regressiokuvaajissa ($Y = a + bX$) y-akselilla on esitetty Advian tulokset ja x-akselilla Celltacin tulokset.

Leukosyyttien regressiokerroin $R^2=0,99$ osoittaa, että muuttujat voivat selittää toisistaan 99 %. Korrelaatiokerroin $r=0,995$ osoittaa vahvaa positiivista korrelaatiota. (Kuvio 3.)



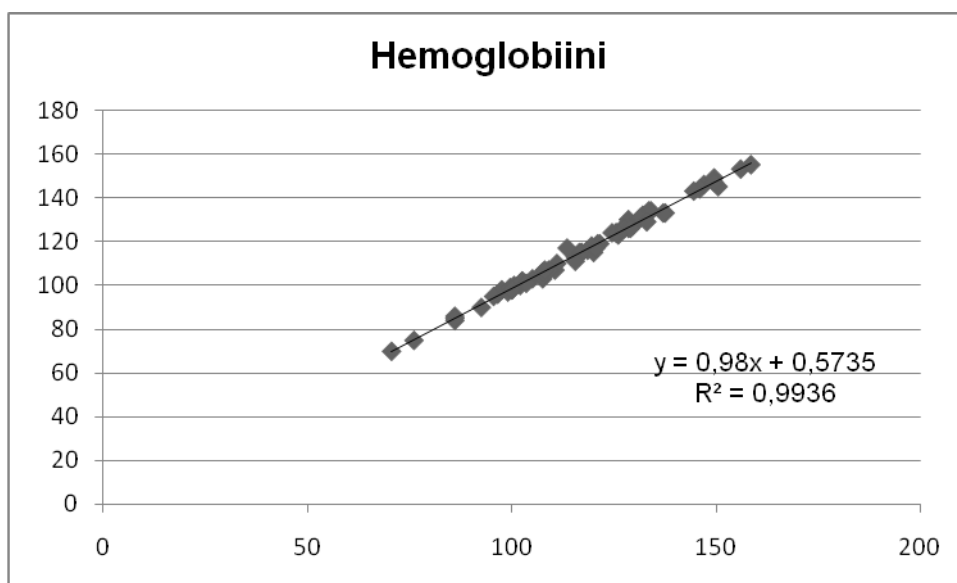
Kuvio 3. Leukosyyttien regressio verenkuvaa-analysointilaitteiden välillä.

Erytrosyyttien regressiokerroin $R^2=0,989$ osoittaa, että muuttujat voivat selittää toisistaan 99 %. Korrelaatiokerroin $r=0,994$ osoittaa vahvaa positiivista korrelaatiota. (Kuvio 4.)



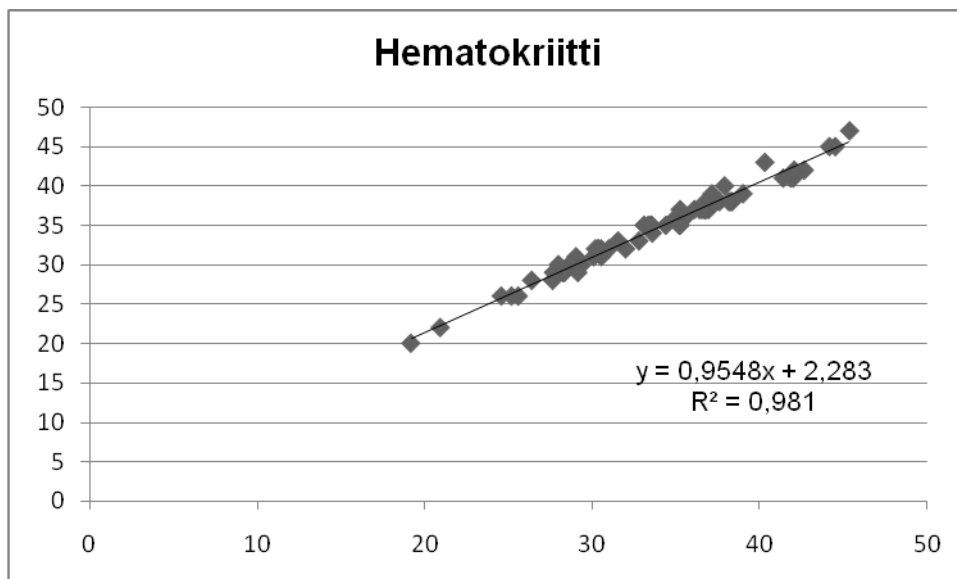
Kuvio 4. Erytrosyyttien regressio verenkuvaa-analysaattoreiden välillä.

Hemoglobiinin regressiokerroin $R^2=0,994$ osoittaa, että muuttujat voivat selittää toisistaan 99 %. Korrelaatiokerroin $r=0,997$ osoittaa vahvaa positiivista korrelaatiota. (Kuvio 5.)



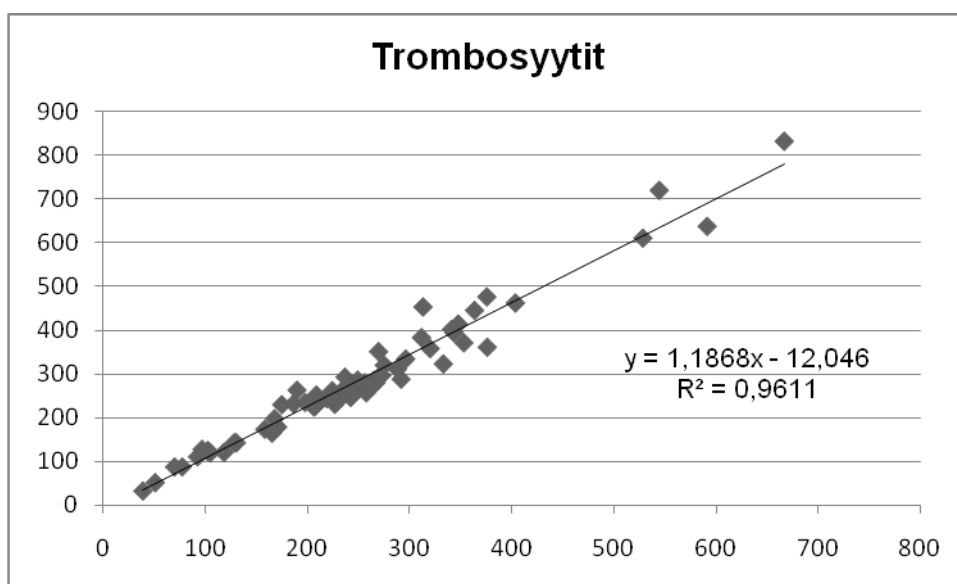
Kuvio 5. Hemoglobiinin regressio verenkuvaa-analysaattoreiden välillä.

Hematokriitin regressiokerroin $R^2=0,981$ osoittaa, että muuttujat voivat selittää toisistaan 98 %. Korrelaatiokerroin $r=0,990$ osoittaa vahvaa positiivista korrelaatiota. (Kuvio 6.)



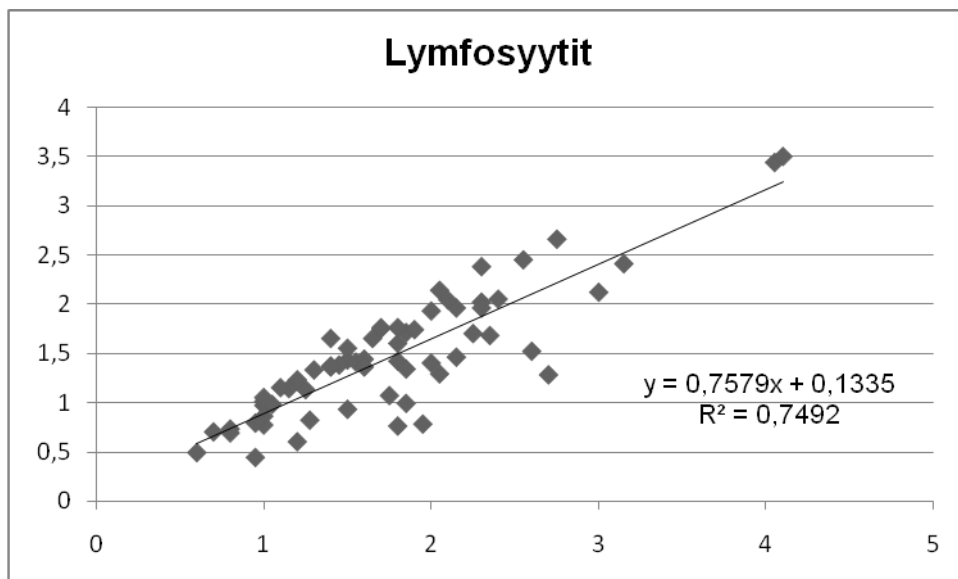
Kuvio 6. Hematokriitin regressio verenkuvaa-analysaattoreiden välillä.

Trombosyyttien regressiokerroin $R^2=0,961$ osoittaa, että muuttujat voivat selittää toisistaan 96 %. Korrelaatiokerroin $r=0,980$ osoittaa vahvaa positiivista korrelaatiota. (Kuvio 7.)



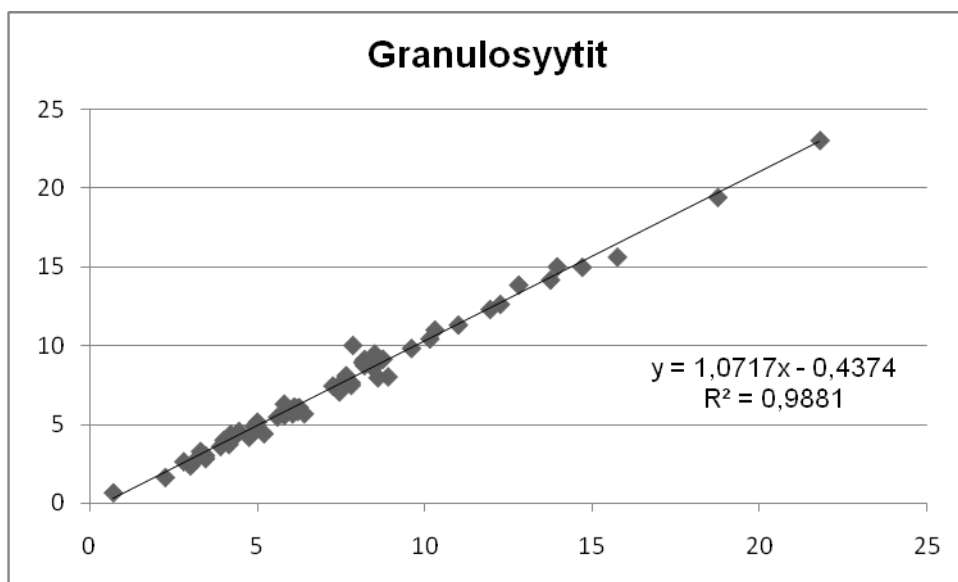
Kuvio 7. Trombosyyttien regressio verenkuvaa-analysaattoreiden välillä.

Lymfosyyttien regressiokerroin $R^2=0,749$ osoittaa, että muuttujat voivat selittää toisistaan 75 %. Korrelaatiokerroin $r=0,866$ osoittaa vahvaa positiivista korrelaatiota. (Kuvio 8.)



Kuvio 8. Lymfosyyttien regressio verenkuvanaalysaattoreiden välillä.

Granulosyyttien regressiokerroin $R^2=0,988$ osoittaa, että muuttujat voivat selittää toisistaan 99 %. Korrelaatiokerroin $r=0,994$ osoittaa vahvaa positiivista korrelaatiota. (Kuvio 9.)



Kuvio 9. Granulosyyttien regressio verenkuvanaalysaattoreiden välillä.

Regressiot kaikkien muuttujien osalta ovat hyvin selitettäviä, koska R^2 -arvot ovat yli 0,5. Heikoin regressio $R^2=0,749$ sekä korrelaatio $r=0,866$ on lymfosyyteillä, mutta nämäkin arvot ovat merkitseviä.

Sarjan sisäinen toistettavuus esitetään taulukossa 6 keskiarvon (ka), keskihajonnan (SD) ja CV %:n avulla. Esimerkiksi ensimmäisessä näytteessä B-Leuk keskiarvo on 2,05. Tällöin keskihajonta 0,05 kertoo toistettavien mittaustulosten sijoittuvan välille 2,0–2,1.

Taulukko 6. Sarjan sisäinen toistettavuus määritettynä kolmella eritasoisella potilasnäytteellä 10 toiston sarjoissa.

Tarkasteltavat parametrit	Näyte 1			Näyte 2			Näyte 3		
	ka	SD	CV %	ka	SD	CV %	ka	SD	CV %
B-Leuk ($10^9/l$)	2,05	,05	2,57	12,22	,15	1,21	5,05	,12	2,33
B-Eryt ($10^{12}/l$)	3,38	,04	1,28	4,22	,04	1,06	5,04	,06	1,13
B-Hb (g/l)	113,4	,97	,85	134,1	1,10	,82	148,4	1,35	,91
B-Hkr	32,49	,40	1,23	38,36	,44	1,15	43,83	0,45	1,04
B-Trom ($10^9/l$)	47,9	6,62	13,83	261,6	9,89	3,78	236,6	11,39	4,82
B-Ly ($10^9/l$)	1,22	,04	3,46	2,35	,07	3,01	1,55	,05	3,40
B-Gran ($10^9/l$)	,64	,07	10,93	9,08	,14	1,54	3,06	,16	5,16

Siirtymävirhe esitetään taulukossa 7. Siirtymävirheellä tutkitaan edellisen näytteen vaikutusta seuraavan näytteen tuloksiin.

Taulukko 7. Siirtymävirheen mittaaminen.

Tarkastettavat parametrit	Näyte			NaCl			Näyte			NaCl		
	I	II	III	I	II	III	I	II	III	I	II	III
B-Leuk	10	9,8	9,8	,1	,1	0	9,6	9,8	10	0,1	0	0
B-Eryt	3,3	3,22	3,3	,02	,01	,01	3,3	3,3	3,3	,001	,01	0
B-Hb	102	102	102	1	0	0	100	102	102	1	1	1
B-Hkr	29	28,6	30	,2	,1	,1	29	29	30	,1	0	0
B-Trom	333	338	337	25	16	16	314	313	300	12	6	4
B-Ly	1,6	1,7	1,7	0	0	0	1,7	1,8	1,7	0	0	0
B-Gran	7,8	7,7	7,7	0	0	0	7,4	7,5	7,9	0	0	0

5.2 Tulosten tarkastelu

Ensimmäinen tutkimusongelma oli selvittää Celltac α MEK-6400 K -verenkuva-analysaattorin vertailukelpoisuus referenssilaitte Advia 2120:n tulostasoon nähden. Tutkimustulosten tarkastelu perustuu tutkimuksen teoreettiseen taustaan. Toinen tutkimusongelma oli selvittää omien havaintojen avulla Celltac α MEK-6400 K -verenkuva-analysaattorin käytettävyys.

5.2.1 Celltac α MEK-6400 K:n vertailukelpoisuus Advia 2120:n tulostasoon

Aineistoa tarkasteltaessa Celltacilla suoritettujen rinnakkaismääritykset osoittavat rinnakkaisten tulosten vastaavan toisiaan kaikissa parametreissa, sillä niiden välillä ei esiintynyt suurta vaihtelua. Rinnakkaismääritysten tuloksia verrattiin referenssilaitteena toimineen Advian antamiin tuloksiin. Saatujen tulosten

perusteella analysaattorit korreloivat kaikkia parametreja mitattaessa hyvin toisiinsa nähden. Heikoin korrelaatio (lymfosyytit $r=0,866$) osoittaa tilastollista merkitsevyyttä. Tulokset on esitetty taulukossa 5. Lymfosyyttien heikompi, muista parametreista poikkeava korrelaatio voi johtua laitteen virheellisestä solujen tunnistamisesta. Tämä vaikuttaa myös havaintopisteiden sijoittumiseen regressiokuvaajalla.

Sarjan sisäistä toistettavuutta testattiin kolmella eritasoisella potilasnäytteellä. Vertailemalla näytesarjojen keskihajontoja ja CV %:a voitiin havaita, että korkeiden arvojen suurella keskihajonnalla ei ole niin suurta merkitystä CV %:iin, kuin vastaavasti matalien arvojen suurella keskihajonnalla. Esimerkiksi taulukossa 6 näytteessä 3 trombosyyttien keskihajonta (SD) on 11,39 ja CV % on 4,82 ja vastaavasti granulosyyttien keskihajonta on 0,16 ja CV % on 5,16.

Siirtymävirhettä mitattiin analysoimalla potilasnäytettä ja natriumkloridia (NaCl) vuorotellen kolmen peräkkäisen mittauksen sarjoissa (Taulukko 7). Natriumkloridimäärityksen oletuksena oli saada nollatulokset kaikilla parametreilla. Näytteen kolmen peräkkäisen analysointikerran jälkeen trombosyytit jättivät laitteeseen huomattavia taustoja. Muissa parametreissa esiintyvät vähäiset näytejäämät ovat merkityksettömiä seuraavan näytteen analysoinnin kannalta.

Mittaukset suoritettiin päivystysaikaan, jolloin laboratorion toiminta on hiljaisempaa kuin arkipäivinä. Siksi käytettävä näytemateriaali jäi melko suppeaksi eritasoisten arvojen osalta, mikä vaikutti muun muassa sarjan sisäisen toistettavuuden testaukseen. Tutkimuspäivän näytemateriaali ei sisältänyt toistettavuuden mittaukseen suunniteltuja erityisen korkeita trombosyytti- ja leukosyyttiarvoja. Validointi kuitenkin suoritettiin käytettävissä olevalla näytemateriaalilla, minkä tutkimuksen tilaaja hyväksyi. Tutkimuksen luotettavuuden kannalta olisi ollut tärkeää, että korkeita arvoja olisi mitattu.

5.2.2 Celltac α MEK-6400 K -verenkuvaa-analysointilaitteen käytettävyys

Yksi validoinnin erillisprosessi on käytettävyyden raportointi. Siinä arvioidaan validoitavan analysointilaitteen yleistä käytettävyyttä, suoritumista ongelmanäytteistä ja -tilanteista sekä analysointilaitteen käytännöllistä nopeutta. (Rajamäki, A. & Laitinen, M. 1990, 202–208.)

Validoitavan verenkuvaa-analysointilaitteen käyttäminen oli helppoa. Käyttövalikot olivat selkeitä, ymmärrettäviä ja helppokäyttöisiä. Valikkojen käyttämisen oppi helposti ja nopeasti. Analysointilaitteet käyttivät automaattisesti juoksevaa näytteenumerointia, mutta tämän lisäksi jokaiselle yksittäiselle näytteelle pystyy kirjaamaan oman tunnistetiedon, esimerkiksi näytteenumeron tai henkilötunnuksen. Laitevalmistaja ilmoittaa näytteenkapasiteetiksi 60 näytettä yhden tunnin aikana, eli yhden analyysin suoritus-aika on näin ollen keskimäärin yksi minuutti. Analyysin suoritus-aika mitattiin normaalisti, ongelmattomasti edenneiden analyysikertojen aikana, jolloin varsinaisen analyysin kesto saatiin yksi minuutti 15 sekuntia. Mittauksen aloituksesta paperitulosten saamiseen kesti yhden minuutin 46 sekuntia. Seuraavan näytteen määrittämisen pystyi aloittamaan tasan kahden minuutin jälkeen mittauksen aloittamisesta, ja tähän aikaan ei sisällynyt mahdollinen näytteen tunnistetietojen syöttäminen. Kokonaisuudessaan yhden analyysin kesto ei todellisuudessa vastannut laitevalmistajan lupaamaa aikaa, eikä seuraavan näytteen tunnistetietoja voinut syöttää ennen kuin analysointilaitteet on saattanut edellisen analyysin loppuun saakka paperitulosten kera. Paperitulosteet olivat selkeitä tulosten havainnoinnin kannalta. (Liite 3.)

Käytössä olevan näyteputken ominaisuudet vaikuttivat siihen, pystyikö analyysin suorittamaan suljetulta puolelta. Analysointilaitteen näyteputken pidike oli niin tarkasti mitoitettu, että kun käytössä oli kahta hieman erilaista saman valmistajan näyteputkea, toinen niistä ei mahtunut kunnolla pidikkeeseen, mikä aiheutti ongelmia pidikeluukun automaattisessa avautumisessa. Sama ongelma aiheutui myös, jos näyteputken kylkeen oli liimattu useampi tunnistetarra.

Pesutoimintojen suorittaminen oli helppoa. Käyttäjä valitsi valikosta haluamansa pesutoiminnon, jonka jälkeen pesu tapahtui analysaattoriin kytkettyjen pesuliuosten avulla ilman, että käyttäjän tarvitsi syöttää analysaattorille erillisiä pesuliuoksia. Kuitenkin muiden huoltotoimenpiteiden suorittaminen oli vaivalloista, koska analysaattorin sisältöä tarkastellessaan käyttäjä joutui ruuvaamaan analysaattorin sivupellin auki.

Mittauksia suoritettaessa jouduttiin tekemään melko paljon ylimääräisiä pesuja, vaikka analysoitavat näytemäärät mittauskertaa kohden eivät olleet kovin suuria. Jokaisella mittauskerralla syntyi ongelmia leukosyyttipuolen analyysien kanssa. Analysaattori ilmoitti näytteen laimennustarpeesta ja antoi valmiin ehdotuksen käytettävästä laimennussuhteesta, joten laimennuksen toteuttaminen oli helppoa. Jokaisella kerralla, kun laimennos jouduttiin tekemään, oli valkosolupuolen tulosten saamisessa ongelmia. Analysaattori ei laimennuksesta huolimatta pystynyt mittaamaan leukosyyttiparametreja ja ilmoitti vasta laimennuksen suorittamisen ja uuden mittausyrityksen jälkeen, että leukosyyttipuolella on tukos. Tällöin käyttökouluttajan antamien ohjeiden mukaan analysaattorin valikosta täytyi valita lyhyt pesutoiminto, mutta pesusta huolimatta analysaattori ei selviytynyt leukosyyttianalyysistä. Näin ollen analysaattori piti laittaa pitkäkestoiseen, kahdeksan minuuttia kestäväan pesuun. Pitkän pesun jälkeen leukosyyttianalyysikin onnistui, mutta eräällä mittauskerralla sama ongelma toistui uudestaan, aina neljän määrittämisen välein.

5.3 Päätelmät

Tämän opinnäytetyön tarkoituksena oli tutkia Celltacin vertailukelpoisuutta Advian tulostasoon ja arvioida Celltacin käytettävyyttä. Tutkimuksessa saatujen tilastollisten testien tulosten perusteella voitiin todeta validoitavan verenkuvan analysaattorin olevan käyttötarkoitukseensa sopiva. Sisäinen toistettavuus ja toistotarkkuus sekä vertailukelpoisuus referenssilaitteeseen olivat hyviä. Laadunarviointikierroksen tulosten perusteella pystyttiin arvioimaan Celltacin tulostasoa hemoglobiinin osalta verrattuna muihin laadunarviointikierrokselle

osallistuneisiin vastaavan kokoluokan analysointilaitteisiin. Nämä tulokset tukivat validointiprosessissa saamiamme hemoglobiinituloksia. Laadunarviointikierroksen tulosten perusteella Celltacin hemoglobiinin mittaustarkkuus oli kansainvälisellä tasolla vertailukelpoinen.

Mittausten päätteeksi saimme palautetta tuloksista ja käyttökokemuksista ohjaavalta sairaalakemistiltä. Vaikka analysointilaitteen laajemmat huoltotoimenpiteet on tehty hankaliksi, päivittäinen käyttö pesuineen on helppoa. Celltacin käyttökokemukset osoittivat verenkuvan analysointilaitteen käyttövalikon olevan helppokäyttöinen ja selkeä. Celltac ei täytä laitevalmistajan esittämiä lupauksia nopeudesta, mutta verenkuvan analysointilaitetta ei ole suunniteltukaan selviytymään suurten laboratorioiden näytemääristä. Edellä mainittujen osatekijöiden perusteella päädyttiin lopputulokseen, että analysointilaitteen tulokset ja käyttökokemukset puoltavat analysointilaitteen sopivuutta pieniin laboratorioihin.

6 POHDINTA

Opinnäytetyön tarkoituksena oli validoida uusi verenkuvaa-analysointilaitteisto, Celltac α MEK-6400 K tilastollisten tutkimusten ja käytettävyyden arvioinnin avulla. Tutkimus oli ISLABin Puijon sairaalan laboratorion tilaustyö. ISLABissa on huomattu olevan tarvetta pienelle verenkuvaa-analysointilaitteistolle, sillä pienten laboratorioden lähettämät tutkimusmäärät ruuhkauttavat isojen sairaaloiden näytteiden käsittely- ja analysointipisteet. Verenkuvaa-analysointilaitteiston täyttäessä ISLABin laatuvaatimukset se olisi validoinnin jälkeen mahdollista ottaa käyttöön pienempiin laboratorioihin. Tämä vähentäisi pienten laboratorioden lähettämien näytteiden määriä, mikä nopeuttaisi tulosten saantia.

Bioanalyttikoiden ammattitaito pohjautuu kliiniseen laboratoriotieteeseen. Ammattipätevyys vaatii laboratorion palveluprosessin hallitsemista. Laboratorion palveluprosessin mukaan bioanalyttikon ydintehtäviin kuuluu asiakaspalvelu, tutkimuspyynnön mukainen näytteiden otto ja tutkimusten suorittaminen. Näiden lisäksi laadunhallinta, toiminnan kehittäminen, opetus- ja ohjaus- sekä muut asiantuntijatehtävät ovat oleellinen osa tätä prosessia. (Opetusministeriö 2006, 22-23.) Bioanalyttikoilta edellytetään osallistumista laitehankintoihin, uusien menetelmien kehittämiseen sekä laitteiden ja menetelmien validointiin (Opetusministeriö 2006, 24). Opintojemme aikana koimme validoinnin käsittelyn olleen vähäistä. Mutta opinnäytetyöprosessin edetessä oivalsimme validoinnin tärkeyden ja merkityksen jokapäiväisessä laboratoriotyössä. Aiheeseen perehtyminen on vahvistanut bioanalytiikan alan perustiedon hallintaamme, ja validointiprosessin suorittaminen antaa valmiuksia työelämään. Ammattikorkeakoulututkimuksen tavoitteena onkin luoda vankka ammatillinen pohja, joka täyttää työelämän osaamis- ja kehittämisvaatimuksia.

Opinnäytetyöprosessiin liittyviin työpajoihin ja suunnitteluseminaariin osallistuminen oli mahdollista vasta keväällä 2009, koko syksyn 2008 kestäneiden harjoitteluiden jälkeen. Näin ollen aiheeseen sekä tutkimuksen tekemiseen liittyvä teoretinen tieto oli puutteellista mittauksen aikana.

Opinnäytetyöllemme nimettiin ohjaava opettaja vasta kevättalvella 2009. Saimme kuitenkin apua validoinnin suorittamiseen ohjaajaltamme sairaalakemisti Sakari Eskeliseltä, joka oli jokaisella mittauskerralla laboratoriossa tavoitettavissa. Olimme myös aiemmin osallistuneet maahantuojan järjestämään käyttökoulutukseen.

Tämän opinnäytetyön tutkimusongelmat olivat menetelmällisesti erilaisia mutta merkittäviä kysymyksiä validoitavan verenkuvaa-analysaattorin toiminnan selvittämiseksi. Ensimmäinen tutkimusongelma, validoitavan analysaattorin vertailukelpoisuus, oli työläämpi, koska tulosten käsittely vaati useita eri vaiheita. Toiseen tutkimusongelmaan, validoitavan verenkuvaa-analysaattorin käytettävyyteen, kerättiin aineisto mittausten aikana havaintojen ja käyttökokemusten pohjalta. Tutkimuksesta löytyy vastaukset molempiin tutkimusongelmiin.

Tutkimuksen tekemiseen liittyvä osaamisemme on lisääntynyt muun muassa aineistonhaun ja tulosten käsittelyn osalta. Tulosten tilastollinen tarkastelu SPSS-tilasto-ohjelman avulla oli meille haastavaa vähäisen aiemman kokemuksen vuoksi. Saimme kuitenkin tarvitessamme apua, ja onnistuimme tuottamaan tarvittavat tulokset. Haastavinta opinnäytetyöprosessissa oli yhteisen ajan löytäminen sekä ajan käytön realisointi. Opinnäytetyön alkuvaiheessa olisi voinut suunnitella ajan käyttöä paremmin, sillä aina tulee eteen vastoinkäymisiä, joiden vuoksi työn tekeminen ei suju suunnitellulla tavalla. Vaiheikkaiden kokemusten kautta olemme kuitenkin päässeet haluttuun lopputulokseen - valmiiseen työhön.

Tämän opinnäytetyön tekeminen on antanut meille ammatillista näkemystä laboratoriotyön laitehankintoihin ja hankittavien analysaattoreiden käytettävyyden selvittämisessä. Siirtyessämme valmistumisen jälkeen työelämään omaamme valmiudet olla osallisina laboratorion uusien analysaattoreiden hankinnassa ja käyttöönotossa.

LÄHTEET

Bayer, N. & Moritz, A. 2008. Evaluation of three methods for measurement of hemoglobin and calculated hemoglobin variables with the ADVIA 120H and ADVIA 2120H systems in goats. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation* 20 (5): 593-597.

Clarkeburn, H. & Mustajoki, A. 2007. Tutkijan arkipäivän etiikka. Tallinna: Raamatutriikikoda.

D'Agostino, A., Canfield, W. & Kunicka, J. 2004. Laboratory productivity using the ADVIA[®] 2120 Hematology System with Autoslide. *Clinical Chemistry* 50 (6): A38-A38.

Draft International Standard ISO/DIS 15189 1998. Quality management in the medical laboratory.

Eskelinen, S. 2009. Celltac-koestus. kati.sutinen@student.savonia.fi
16.9.2009.

Guerti, K., Vertessen, F., Daniëls, L. & Van der Planken, M. 2007. Performance evaluation of the PENTRA 60C⁺ automated hematology analyzer and comparison with the ADVIA 2120. *International Journal of Laboratory Hematology* 31 (2): 132-141.

Halonen, T. 2004. Fotometriset menetelmät. Teoksessa I. Penttilä (toim.) *Kliiniset laboratoriotutkimukset*. Helsinki: WSOY, 66-67.

Heikkilä, T. 2005. Tilastollinen tutkimus. 5-6 painos. Helsinki: Edita Prima Oy.

Hirsjärvi, S., Remes, P. & Sajavaara, P. 2007. Tutki ja kirjoita. 13. osin uudistettu painos. Helsinki: Tammi.

Holopainen, M. & Pulkkinen, P. 2008. Tilastolliset menetelmät. 5. uudistettu painos. Helsinki: WSOY.

Hänninen, A. 2004. Kliinisen hematologian tutkimukset. Teoksessa I. Penttilä (toim.) Kliiniset laboratoriotutkimukset. Helsinki: WSOY, 263-264.

ISLAB 2008. Itä-Suomen Laboratoriokeskuksen liikelaitoskuntayhtymän web-ohjekirja. Viitattu 14.2.2009. <http://islab.fi/index.asp?tz=-2>

ISLAB 2009. Itä-Suomen Laboratoriokeskuksen liikelaitoskuntayhtymä. Toimintakäsikirja.

Itä-Suomen laboratoriokeskuksen liikelaitoskuntayhtymä 2008. Perusverenkuva ja trombosyytit Advia 2120:lla. Työohje. Päivitetty 5.2.2008.

Jaarinen, S. & Niiranen, J. 2005. Laboratorion analyysitekniikka. 5. painos. Helsinki: Edita Prima Oy.

Kananen, J. 2008. Kvantti. Kvantitatiivinen tutkimus alusta loppuun. Jyväskylän ammattikorkeakoulun julkaisuja –sarja. Jyväskylä.

Kling, G.M., Canfield, W. & Kunicka, J. 2004. Analytic performance of the ADVIA[®] 2120 hematology analyzer. Clinical Chemistry 50 (6): A179-A179.

Labquality 2009. Labquality Oy. Viitattu 12.9.2009.
http://www.labquality.fi/labquality_oy/

Labquality 2008. Hemoglobiinipikamittarit, 3-tasonäytteet 1, 2008. Tulosraportti.

Laitinen, M. 2004. Analytiikan ja vierianalytiikan virhelähteet. Teoksessa I. Penttilä (toim.) Kliiniset laboratoriotutkimukset. Helsinki: WSOY, 32-34.

Laki terveydenhuollon laitteista ja tarvikkeista 29.12.1994/1505. Finlex. Viitattu 30.9.2009. <http://www.finlex.fi/fi/laki/ajantasa/1994/19941505>

Lewis, S.M. 2001. Quality Assurance. Teoksessa S.M. Lewis, B.J. Bain & I. Bates (toim.) Dacie and Lewis Practical Haematology. 9. painos. Churchill Livingstone: Harcourt Publishers Limited, 565-578.

Linko, S. 2007a. Preanalytiikka; tärkeä osa analytiikan laatua. Moodi 31 (1): 21.

Linko, S. 2007b. Referenssimenetelmä – mikä se on? Moodi 31 (1): 25.

Linko, S. 2004. Kontrollien merkityksestä käytännön laboratoriotyössä. Moodi 28 (2): 60-62

Mahlamäki, E.K. 2004. Veren kuvan tutkimukset. Teoksessa I. Penttilä (toim.) Kliiniset laboratoriotutkimukset. Helsinki: WSOY, 268-273.

Markkanen, H. 2000. Preanalytiikan yleisimpiä virhelähteitä ja mihin toiminnan parantamisessa tulisi kiinnittää huomiota. Moodi 24 (6): 172-174.

Metsämuuronen, J. 2000a. Tilastollisen päättelyn perusteet. Metodologia -sarja 3. Helsinki: Methelp International Ky.

Metsämuuronen, J. 2000b. SPSS aloittelevan tutkijan käytössä. Metodologia –sarja 5. Helsinki: Methelp International Ky.

Nagai, Y., Kondo, H. & Tatsumi, N. 2005. Validation of Platelet Counting Accuracy With the Celltac F Automated Hematology Analyzer. Journal of Automated Methods & Management in Chemistry (4): 235-239.

Nihon Kohden 2009. Automatic analyzer with 18 parameters and WBC 3 part diff. Celltac α MEK-6400. Viitattu 28.9.2009.

<http://www.nihonkohden.com/products/type/hem/mek6400.html>

Nihon Kohden Corporation 2008a. Celltac α MEK-6400 series –laite-esite.

Nihon Kohden Corporation 2008b. Celltac α Hematology analyzer MEK 6400 K. Operators Manual. Fennolab.

Opetusministeriö 2006. Ammattikorkeakoulusta terveydenhuoltoon. Koulutuksesta valmistuvien ammatillinen osaaminen, keskeiset opinnot ja vähimmäisopintopisteet. Opetusministeriön työryhmämuistioita ja selvityksiä 2006:24. Viitattu 1.11.2009. Saatavilla www-muodossa: <http://www.minedu.fi/export/sites/default/OPM/Julkaisut/2006/liitteet/tr24.pdf?lang=fi>

Penttilä, I. 2004. Tutkimustulosten laatu ja laadunvarmistus. Teoksessa I. Penttilä (toim.) Kliiniset laboratoriotutkimukset. Helsinki: WSOY, 35-39.

Pietarinen, J. 1999. Tutkijan ammattietiikan perusta. Teoksessa S. Lötjönen (toim.) Tutkijan ammattietiikka. Koulutus- ja tiedepolitiikan osaston julkaisusarja 1999, 69. Helsinki: Opetusministeriö. Viitattu 31.10.2009. Saatavilla www-muodossa: http://www.minedu.fi/export/sites/default/OPM/Julkaisut/1999/liitteet/tutkijan_ammattietiikka_99.pdf?lang=fi

Rajamäki, A. & Laitinen, M. 1990. Automaattisen verisoluanalysointilaitteen koestusohjelma. Moodi 14 (4): 202–208.

Savolainen, E.-R. 2006. Mitä uuden polven solulaskija pystyy tekemään? Moodi 30 (1): 14.

Savolainen, E.-R. 2007. Verinäytteet ja verenkuvatutkimukset. Teoksessa A. Ruutu, A. Rajamäki, R. Lassila & K. Porkka, (toim.) Veritaudit. Helsinki: Kustannusosakeyhtiö Duodecim, 85-99.

Siemens AG. 2009a. ADVIA 2120 Red Blood Cell Analysis. Viitattu 6.10.2009.

http://diagnostics.siemens.com/webapp/wcs/stores/servlet/PSGenericDisplay~q_catalogId~e_-111~a_langId~e_-111~a_pageId~e_78667~a_storeId~e_10001.htm

Siemens AG. 2009b. ADVIA 2120 Platelet Analysis. Viitattu 6.10.2009.

http://diagnostics.siemens.com/webapp/wcs/stores/servlet/PSGenericDisplay~q_catalogId~e_-111~a_langId~e_-111~a_pageId~e_78660~a_storeId~e_10001.htm

Siemens AG. 2009c. ADVIA 2120 White Blood Cell Technology. Viitattu 6.10.2009.

http://diagnostics.siemens.com/webapp/wcs/stores/servlet/PSGenericDisplay~q_catalogId~e_-111~a_langId~e_-111~a_pageId~e_78670~a_storeId~e_10001.htm

Siitonen, T. & Koistinen, P. 2007. Verisolujen tuotanto ja sen säätely. Teoksessa A. Ruutu, A. Rajamäki, R. Lassila & K. Porkka, (toim.) Veritaudit. Helsinki: Kustannusosakeyhtiö Duodecim, 16-31.

Siloaho, M. 2000. Miten saada näyte säilymään analysointiin saakka? *Moodi* 24 (6): 185-188.

Sorto, A., Törmä, A. & Kaihola, H.L. 1996. Laadunvarmistus kliinisessä laboratoriossa. Sisäisen laadunohjauksen periaatteet. *Moodi* 20 (5) erillisjulkaisu.

Suomen bioanalytikkoliitto 2006. Bioanalytikon, laboratoriohoitajan eettiset ohjeet. Päivitetty 18.11.2006. Viitattu 14.2.2009.

http://www.bioanalytikkoliitto.fi/mp/db/file_library/x/IMG/33715/file/Eettisetohjeet_suomi.pdf

Suomen standardisoimisliitto SFS 2000. Testaus- ja kalibrointilaboratorioiden pätevyys. Yleiset vaatimukset. SFS-EN ISO/IEC 17025. Helsinki: Edita.

Tandberg, B. 2008. Hur kan patientsäkerheten vid blodprovstagning förbättras? Laboratoriet (4): 18-19.

Tapola, H. 2004. Näytteiden käsittely ja lähettäminen sekä kuljetus. Teoksessa I.Penttilä (toim.) Kliiniset laboratoriotutkimukset. Helsinki: WSOY, 29-31.

Terveyskirjasto 2009a. Perusverenkuva (B-PVK). Viitattu 29.10.2009.

http://www.terveyskirjasto.fi/terveyskirjasto/tk.koti?p_artikkeli=snk03030

Terveyskirjasto 2009b. TVK. Viitattu 29.10.2009.

http://www.terveyskirjasto.fi/terveyskirjasto/tk.koti?p_artikkeli=ltt03565&p_haku=täydellinen%20verenkuva

Tutkimuseettinen neuvottelukunta 2009. Hyvä tieteellinen käytäntö ja sen loukkausten käsitteleminen. Viitattu 31.10.2009.

<http://www.tenk.fi/HTK/index.htm>

Vilkka, H. 2007. Tutki ja mittaa. Määrällisen tutkimuksen perusteet. Helsinki: Tammi.

Vilpo, J. 2005. Verisolujen rakenne ja funktiot. Teoksessa J. Vilpo (toim.) Ilmari Palvan Veritaudit. Helsinki: Miktor Oy, 21-26.

Wians, Jr F.H. 2009. Which, Why, and What Do The Results Mean? Labmedicine 40 (2): 105-113.

Liite 1. Tutkimuslupa


 ITÄ-SUOMEN LABORATORIOKESKUKSEN
 LIIKELAITOSKUNTAYHTYMÄ

 HOITOTIETEEN JA MUIDEN TERVEYS-
 TIETEIDEN TUTKIMUSLUPAHAKEMUS

Nro _____ / 20 _____

Hakemuksen käsittely on kuvattu hallinnollisessa ohjeessa "Hoitotieteen ja muiden terveystieteiden tutkimuksen ohjeet Kuopion yliopistollisessa sairaalassa". Hakemukseen liitetään tutkimussuunnitelma aineiston keruulomakkeineen ja saatteineen, rahoitussuunnitelma.

HAKIJA

Vastuullinen tutkija

Susanna Laakso

 Valkeisenkatu 9 A 3, 70600 Kuopio, 040-5394762,
 susanna.laakso@student.savonia.fi

Nimi

Osoite, puh, s-posti

Muut tutkijat

Kati Sutinen

 Äestie 2 as 2, 77600 Suonenjoki, 040-7189471,
 kati.sutinen@student.savonia.fi

Minna Matilainen

 Niiralankatu 18 A 7, 70600 Kuopio, 044-3315148,
 minna.matilainen@student.savonia.fi

Työ- tai opiskelupaikka

Savonia-ammattikorkeakoulu, terveysala, Kuopio

Virka/toimi (ei koske opiskelijoita)

Opiskelupaikka

 AMK mikä

Savonia-amk

 yliopisto mikä

 muu mikä

Suorittava tutkinto

bioanalytiikan ko

TUTKIMUS

Tutkimuksen nimi

Pienen verenkuva-analysaattorin Celltac MEK-6400 validointi

Tutkimuksen lyhyt kuvaus (mm. tutkimuksen tarkoitus, kohderyhmä ja tutkimusmenetelmät) sekä julkaisusuunnitelma (maksimissaan 300 sanaa)

Kyseessä on Celltac α MEK-6400J/K -verenkuva-analysaattori, jota harkitaan otettavaksi käyttöön pienempiin aluelaboratorioihin, mikäli laite osoittautuu validointi-prosessin myötä vaatimusten mukaiseksi. Tavoitteena on, että näytteitä ei tarvitsisi lähettää eteenpäin, vaan pienet laboratoriot voisivat itse tehdä ottamistaan näytteistä täydellisen verenkuvan, jolloin tulokset saataisiin pienemällä viiveellä ja vähäisemmin kustannuksin. Avainsanoja tässä tutkimuksessa ovat verisolut, leukosyytti, täydellinen verenkuva, ja validointi. Tutkimus on kvantitatiivinen ja suoritetaan yhteistyössä Islab:n kanssa. Aineisto kerätään Puijon kliinisen hematologian laboratoriossa ja tutkimus julkaistaan opinnäytetyönä.

Tutkimus on

 amk-tutkinto

 ylempi amk-tutkinto

 pro gradu

 lisensiaattityö

 väitöskirja

 muu, mikä

Monikeskustutkimus

 ei

 kyllä

 kansallinen

 kansainvälinen

 Tutkimuksen kokonaisaikataulu
 toukokuu 2008- marraskuu 2009


 Aikataulu KYSissä/Islabissa
 kesä-heinäkuu 2008

Kustannukset

 Arvio KYSille ja Islabille koituvista kustannuksista _____ €

Tarkempi kustannuserittely esitettävä erillisellä liitteellä.

 Ei aiheuta kustannuksia KYSille/Islabille

Tutkimuseettisen toimikunnan lausunto	
<input type="checkbox"/> annettu <input type="checkbox"/> käsittelyssä <input checked="" type="checkbox"/> ei ole haettu	
Toimikunta _____	Lausunto nro _____ pvm _____
Johtajayliääkärin lupa rekisteritutkimuksia varten	
<input type="checkbox"/> annettu <input type="checkbox"/> käsittelyssä <input checked="" type="checkbox"/> ei ole haettu	
pvm _____	
STM:n lupa rekisteritutkimuksia varten	
<input type="checkbox"/> annettu <input type="checkbox"/> käsittelyssä <input checked="" type="checkbox"/> ei ole haettu	
pvm _____	
Henkilöstöpäällikön lupa henkilökuntaa koskevia tutkimuksia varten	
<input type="checkbox"/> annettu <input type="checkbox"/> käsittelyssä <input checked="" type="checkbox"/> ei ole haettu	
pvm _____	
Muu lupa (mikä)	
<input type="checkbox"/> annettu <input type="checkbox"/> käsittelyssä	
pvm _____	
ALLEKIRJOITUS JA SITOUMUS	
Allekirjoittaneet tutkijat sitoutuvat noudattamaan tulosyksikön esimiesten antamia ohjeita, sairaalan yleisiä sääntöjä sekä salassapito- ja vaitiolovelvollisuutta ja lähettämään tutkimusraportin yksikköön jossa tutkimus on tehty sekä luvan myöntäjälle.	
<u>1.6.2008</u>	
	
Tutkijan allekirjoitus	Tutkijan allekirjoitus
<u>SUSANNA LAAKSO</u>	<u>MINNA MATILAINEN</u>
Nimen selvennys	Nimen selvennys
	
Tutkijan allekirjoitus	Tutkijan allekirjoitus
<u>KATI SUTINEN</u>	
Nimen selvennys	Nimen selvennys
OPINNÄYTETYÖN OHJAAJAT	
	
Ohjaajan allekirjoitus	Ohjaajan allekirjoitus
<u>Reetta Pyhälä</u>	
Nimen selvennys	Nimen selvennys
Osoite, puhelin, s-posti	Osoite, puhelin, s-posti
	<u>reetta.pyhala@savonia.fi</u>
PUOLTO Potilastutkimuksissa puolto tarvitaan joko tulosyksikön ylilääkäriltä (yksi tulosyksikkö) tai johtajayliääkäriltä (useita tulosyksiköitä).	
<input type="checkbox"/> Puollan hakemusta	
<input type="checkbox"/> En puolla, perustelut	
_____ _ / _ / 20__	
Allekirjoitus	
Nimen selvennys, virka-asema	



ITÄ-SUOMEN LABORATORIOKESKUKSEN
LIIKELAITOSKUNTAYHTYMÄ

HOITOTIETEEN JA MUIDEN TERVEYS-
TIETEIDEN TUTKIMUSLUPAHAKEMUS

PÄÄTÖS	
<input checked="" type="checkbox"/>	Myönän tutkimusluvan
<input type="checkbox"/>	Myönän tutkimusluvan, mutta ennen tutkimuksen aloittamista tutkimukselle tulee hakea tutkimuseettisen toimikunnan lausunto / johtajaylilääkärin lupa rekisteritutkimuksia varten / STM:n lupa rekisteritutkimuksia varten / KYS:n henkilöstöpäällikön lupa henkilökuntaa koskevia tutkimuksia varten / muu lupa, mikä

<input type="checkbox"/>	Tulosyksikön / -alueen ylihoitajan / hallintoylihoitajan päätös nro _____
<input type="checkbox"/>	Islabin aluelaboratorion johtajan päätös _____
<u>1.12.2008</u>	
	Allekirjoitus
	Nimen selvennys <u>KARL PUNNONEN</u>
Yhteyshenkilö Islabissa/KYSissä (Tulosyksikön /-alueen ylihoitaja tai hallintoylihoitaja nimeää)	
	
Nimi <u>SAKARI ESKELIN</u>	Työyksikkö _____
S-posti <u>SAKARI.ESKELIN@ISLAB.FI</u>	Puhelin _____

LIITTEET

<input type="checkbox"/>	Tutkimussuunnitelma	_____	sivua
<input type="checkbox"/>	Rahoitussuunnitelma	_____	sivua
<input type="checkbox"/>	Muita liitteitä	_____	sivua

Liite 2. Validointisuunnitelma

Itä-Suomen laboratorokeskus-
liikelaitoskuntayhtymä (ISLAB)/
Kuopion aluelaboratorio

Celltac α MEK-6400-analysaattorin validointisuunnitelma

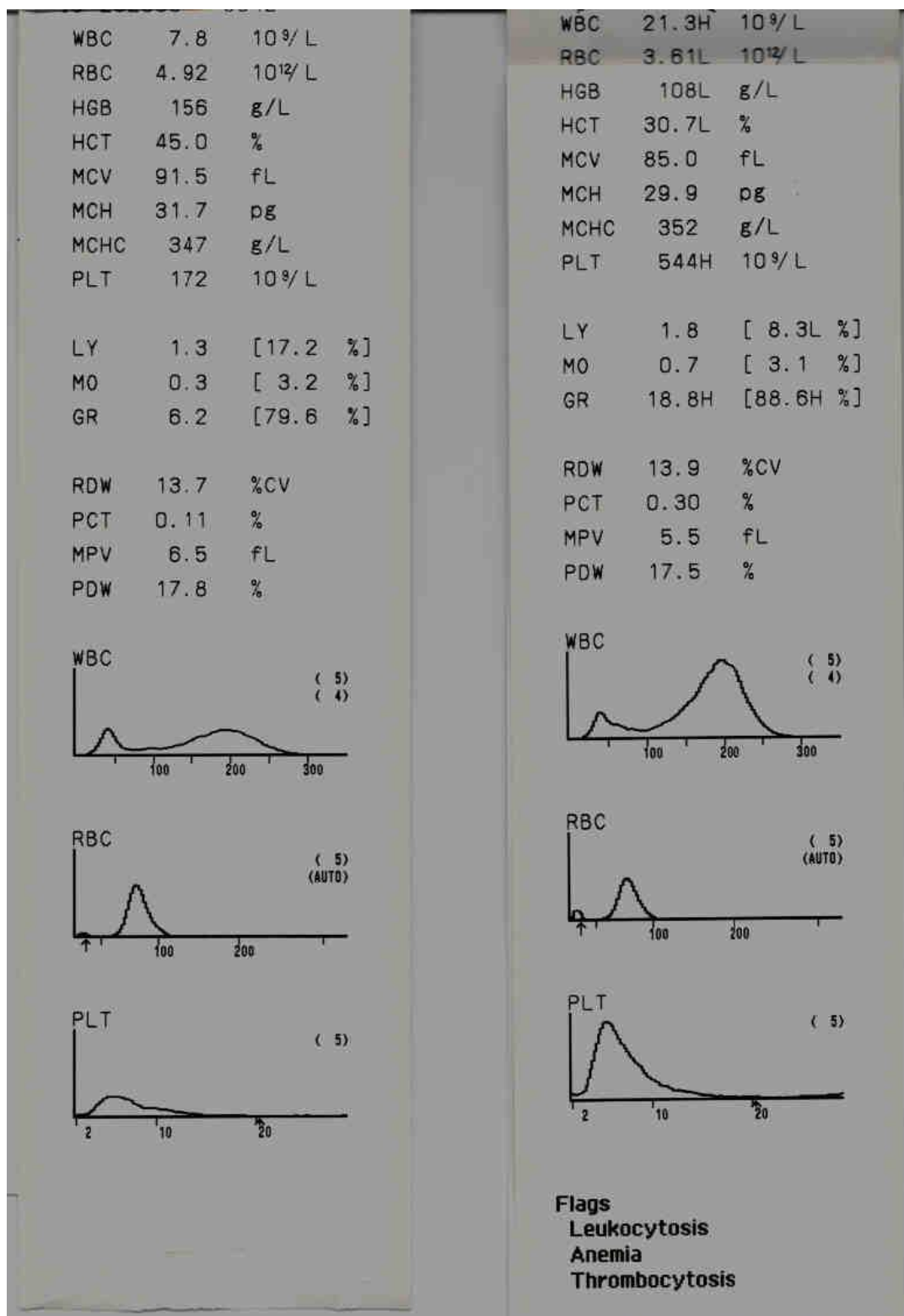
Celltac α MEK-6400 analysaattorin tuloksia verrataan käytössä olevan Advia 120-analysaattorilla saatuihin tuloksiin. Celltac α MEK-6400 analysaattorille suoritetaan validointi.

Laitteen teknisen tarkastuksen, maahantuojan suorittamien laite- ja ohjelmistoasennusten ja käyttökoulutuksen jälkeen uudella laitteella määritetään

1. toistettavuus laitteen parametreilla (n=60–70).
2. laitteen tulostaso kolmella eri kontrolli verellä kahdesti päivässä. Käyttäen jokaiseen määrityskertaan samoja reagensseja. Kontrollimateriaalien ja kalibraattoreiden tulee olla samaa valmistuserää.
3. näytteet rinnakkaisina sarjoina.
4. potilasnäytevertailu suoritetaan nykyisen analysaattorin Advia 2120 tuloksiin.

Laitteen hyväksymiskriteereinä käytetään sisäisen ja ulkoisen laadunvalvonnan hyväksymiskriteerejä sekä laitevalmistajan antamia laitespesifikaatioita.

Liite 3. Celltac α MEK 6400 K -verenkuva-analysaattorin tulosluskat



Liite 4. Rinnakkaisnäytteiden ja referenssilaitteen analysointitulokset

20	19	18	17	16	15	14	13	12	11	10	9	8	7	6	5	4	3	2	1	
5,5	21,3	14,3	11,5	13,5	7,8	18	6,9	9,3	7,5	11,9	11,5	4,5	9,3	5,7	5,4	8,5	11,5	12,2	10,1	B-Leuk 1
5,7	21,1	14,1	11,8	13,3	7,7	18,2	6,7	9,1	7,3	11,9	11,4	4,5	9,3	5,5	5,3	8,1	11,6	12,2	10,2	B-Leuk 2
5,6	21,2	14,2	11,65	13,4	7,75	18,1	6,8	9,2	7,4	11,9	11,45	4,5	9,3	5,6	5,35	8,3	11,55	12,2	10,15	B-Leuk ka
4,77	21,16	14,57	12,21	13,83	7,61	18,62	7,14	9,53	7,47	12,73	12,04	4,73	9,9	6,03	5,66	8,35	11,57	12,28	11,44	B-Leuk ref
2,92	3,61	3,6	3,94	4,06	4,92	3,18	3,98	3,93	3,88	3,77	3,26	3,36	3,32	4,22	3,9	4,94	3,85	2,53	4,68	B-Eryt 1
2,94	3,58	3,66	3,95	4,13	5,01	3,19	3,95	3,87	3,88	3,8	3,31	3,35	3,25	4,13	3,82	4,83	3,86	2,51	4,65	B-Eryt 2
2,93	3,595	3,63	3,945	4,095	4,965	3,185	3,965	3,9	3,88	3,78	3,29	3,36	3,29	4,18	3,86	4,89	3,86	2,52	4,67	B-Eryt ka
2,92	3,61	3,67	3,96	4,12	4,89	3,23	3,91	3,93	3,86	3,68	3,19	3,31	3,29	4,23	3,84	4,76	3,76	2,52	4,59	B-Eryt ref
85	108	121	127	120	156	97	129	126	117	105	97	117	103	134	132	148	121	86	147	B-Hb 1
87	107	121	130	117	156	98	128	125	116	105	96	117	102	133	132	144	122	86	147	B-Hb 2
86	107,5	121	128,5	118,5	156	97,5	128,5	125,5	116,5	105	96,5	117	102,5	133,5	132	146	121,5	86	147	B-Hb ka
86	103	119	130	116	153	98	126	124	115	103	96	115	102	133	132	144	119	84	146	B-Hb ref
25,5	30,7	34,2	36,7	34,8	45	27,7	37,1	35,8	33,3	30,3	28,2	33,5	29,5	38,5	37,2	43,3	37,1	24,8	42,1	B-Hkr 1
25,7	30,4	34,6	36,9	35,7	45,7	27,6	36,8	35,1	33,4	30,5	28,5	33,7	28,9	37,3	36,3	42	37,2	24,37	41,6	B-Hkr 2
25,6	30,55	34,4	36,8	35,25	45,35	27,65	36,95	35,45	33,35	30,4	28,35	33,6	29,2	37,9	36,75	42,65	37,15	24,59	41,85	B-Hkr ka
26	31	35	37	37	47	28	37	36	35	32	29	34	30	40	37	42	39	26	41	B-Hkr ref
345	544	306	75	585	172	135	271	347	250	208	154	104	184	237	124	303	249	171	263	B-Trom 1
351	514	318	80	599	159	126	264	341	251	208	163	100	189	221	133	281	236	171	253	B-Trom 2
348	529	312	77,5	592	165,5	130,5	267,5	344	250,5	208	158,5	102	186,5	229	128,5	292	242,5	171	258	B-Trom ka
414	610	383	88	637	165	143	280	394	276	227	174	124	232	236	143	288	247	179	257	B-Trom ref
1,8	1,8	2,2	2,3	4,5	1,3	3,1	1,9	0,9	1	1,8	1,7	1	1,1	1,2	1,5	2,3	2	1,1	1,5	B-Ly 1
1,9	1,7	2,1	2,3	3,6	1,2	2,3	1,8	1	1	2,1	2,3	1	1,1	1,1	1,5	2	2,1	1,3	1,5	B-Ly 2
1,85	1,75	2,15	2,3	4,05	1,25	2,7	1,85	0,95	1	1,95	2	1	1,1	1,15	1,5	2,15	2,05	1,2	1,5	B-Ly ka
0,99	1,07	1,46	2,02	3,44	1,13	1,28	1,71	0,44	0,86	0,78	1,4	0,97	1,15	1,14	1,55	1,96	1,29	0,6	1,43	B-Ly ref
3	18,8	11	8,3	7,7	6,2	13,4	4,5	7,5	6	8	8,6	3,2	7,4	4,2	3,5	5,6	8,8	10,2	8,1	B-Gran 1
3	18,7	11	8,6	8,6	6,2	14,5	4,4	7	5,8	7,7	7,8	3,2	7,6	4,1	3,4	5,6	8,7	10,1	8,2	B-Gran 2
3	18,75	11	8,45	8,15	6,2	13,95	4,45	7,25	5,9	7,85	8,2	3,3	7,5	4,15	3,45	5,6	8,75	10,15	8,15	B-Gran ka
2,39	19,39	11,31	8,6	8,93	5,84	15	4,57	7,45	5,93	10,02	9,13	3,3	7,66	4,12	3,03	5,48	9,15	10,43	8,97	B-Gran ref

43	42	41	40	39	38	37	36	35	34	33	32	31	30	29	28	27	26	25	24	23	22	21
10,6	8,8	6,6	8,3	13,8	6,9	11,6	10,2	12,2	16,8	7,1	19,8	13,7	6,7	10,6	3,5	7,1	17,8	12,8	25	5,4	4,3	7,4
10,5	8,6	6,6	8,4	14,1	7,07	12	10,1	12,2	17,3	7,1	19,6	13,5	6,7	10,8	3,6	7	17,7	12,9	24,8	5,3	4,4	7,4
10,55	8,7	6,6	8,35	13,95	6,985	11,8	10,15	12,2	17,05	7,1	19,7	13,6	6,7	10,7	3,55	7,05	17,75	12,85	24,9	5,35	4,35	7,4
11,7	8,2	7,27	9,42	14,37	6,73	12,49	10,24	12,79	17,17	7,37	19,53	14,19	7,12	11,31	3,26	7,27	18,42	13,4	25,11	5,21	3,91	7,46
4,26	3,21	3,87	4,01	3,58	2,02	3,16	3,41	3,32	3,17	4,32	5,25	4,06	3,94	3,67	4,12	3,58	3,8	3,53	3,77	4,05	3,08	4,16
4,47	3,21	3,94	4,02	3,55	2,14	3,12	3,48	3,35	3,3	4,36	5,23	4,03	3,89	3,71	4,16	3,52	3,82	3,51	3,69	4,01	3,16	4,13
4,37	3,21	3,91	4,02	3,565	2,08	3,14	3,445	3,335	3,235	4,34	5,24	4,045	3,915	3,69	4,14	3,55	3,81	3,52	3,73	4,03	3,12	4,145
4,42	3,23	3,81	3,94	3,58	2,13	3,25	3,53	3,42	3,33	4,38	5,32	4,01	3,99	3,78	4,2	3,64	3,85	3,6	3,85	4,02	3,13	4,08
126	100	120	134	126	69	100	109	107	101	150	158	137	125	117	86	110	108	115	111	100	98	131
127	100	120	134	126	72	100	109	108	103	151	159	138	124	117	86	112	107	116	110	99	100	128
126,5	100,5	120	134	126	70,5	100	109	107,5	102	150,5	158,5	137,5	124,5	117	86	111	107,5	115,5	110,5	99,5	99	129,5
125	100	115	134	123	70	98	107	106	100	145	155	133	124	115	85	110	104	113	107	99	97	127
35,6	29,1	34,8	38,3	35,8	18,8	27,9	30,3	30	27,7	41,8	44,5	39,1	35,2	33	26,4	31,9	30,2	33	31,2	29,6	28	36,7
37,2	28,9	35,6	38,4	35,3	19,6	27,5	30,8	30,2	28,9	42,2	44,5	38,9	34,8	33,2	26,4	31,2	30,5	32,6	30,8	29,2	28,6	36,7
36,4	29	35,2	38,35	35,55	19,2	27,7	30,55	30,1	28,3	42	44,5	39	35	33,1	26,4	31,55	30,35	32,8	31	29,4	28,3	36,7
37	30	35	38	36	20	29	32	31	29	41	45	39	36	35	28	33	32	33	32	30	29	37
346	57	269	260	111	158	187	219	284	226	195	259	269	231	547	324	76	660	244	173	345	211	119
337	45	271	253	95	178	209	199	258	244	185	272	282	207	543	343	64	675	242	177	362	202	118
341,5	51	270	256,5	103	168	198	209	271	235	190	265,5	275,5	219	545	333,5	70	667,5	243	175	353,5	206,5	118,5
402	52	351	280	125	198	235	252	295	264	263	286	320	244	719	323	88	831	248	230	371	225	121
2,2	4	1,8	2,1	1,4	1	1,7	1,9	2,8	2,5	1	3,1	1	1,4	2,3	1	0,3	2,7	1,9	1,8	2	0,6	0,8
2,3	4,2	1,8	2	1,7	1,55	1,1	1,9	2,7	2,7	0,9	2,9	1	1,4	2,3	1		1,9	1,7	1,8	2	0,6	0,8
2,25	4,1	1,8	2,05	1,55	1,275	1,4	1,9	2,75	2,6	0,95	3	1	1,4	2,3	1		2,3	1,8	1,8	2	0,6	0,8
1,7	3,5	1,76	2,14	1,41	0,82	1,65	1,74	2,66	1,52	0,79	2,12	0,77	1,36	2,38	1,01	0,15	1,96	1,6	0,76	1,93	0,49	0,73
7,7	4,5	4,1	5,7	12	5,3	9,4	7,8		13,6	5,9	15,8	12,3	5	7,7	2,2	6,7	14,3	10,2	21,9	2,8	3,3	6,2
7,6	4,1	4,3	5,9	11,9	4,65	9,8	7,8		13,9	6,1	15,7	12,2	5	7,9	2,3		15,1	10,4	21,7	2,8	3,6	6,3
7,65	4,3	4,2	5,8	11,95	4,975	9,6	7,8		13,75	6,1	15,75	12,25	5	7,8	2,25		14,7	10,3	21,8	2,8	3,45	6,25
8,1	4,2	4,39	6,3	12,3	4,84	9,83	7,65		14,16	6,12	15,61	12,62	5,16	7,49	1,65	6,85	14,97	11	23	2,65	2,85	6,08

64	63	62	61	60	59	58	57	56	55	54	53	52	51	50	49	48	47	46	45	44
10,8	6,3	15,7	7,8	10	6,6	11,5	7	6,9	5,7	10	7,8	8,9	5,6	9,9	7,1	9,6	6,2	12,3	5,2	2
10,9	6,2	16	8	10,1	6,4	11,7	7	6,8	5,5	10,1	7,9	8,7	5,5	9,7	7,1	9,6	6,1	13,2	5,1	2,1
10,85	6,25	15,85	7,9	10,05	6,5	11,6	7	6,85	5,6	10,5	7,85	8,8	5,55	9,8	7,1	9,6	6,15	12,75	5,15	2,05
11,24	5,73	16,99	7,91	9,89	6,72	11,67	7,02	7,34	6,06	10,79	7,93	8,73	5,6	10,29	6,76	8,81	6,55	11,66	4,71	2,05
3,56	3,98	3,71	3,2	3,28	3,84	3,15	4,81	4,28	4,04	4,07	2,76	2,32	4,55	3,3	4,03	4,75	4,7	4,19	5,17	3,3
3,61	3,98	3,64	3,22	3,3	3,77	3,2	4,86	4,26	4	4,1	2,73	2,26	4,48	3,23	4,07	4,76	4,76	4,28	4,99	3,3
3,585	3,98	3,675	3,21	3,29	3,81	3,18	4,84	4,27	4,02	4,09	2,75	2,29	4,52	3,27	4,05	4,76	4,73	4,34	5,08	3,3
3,64	3,91	3,8	3,28	3,36	3,79	3,28	4,86	4,24	4,07	4,05	2,81	2,38	4,61	3,28	4,11	4,66	4,73	4,17	5,11	3,45
95	120	119	109	100	130	104	136	116	128	132	92	76	150	102	131	144	125	133	150	114
96	121	120	107	100	128	103	138	115	127	134	93	76	149	103	132	145	126	134	149	113
95,5	120,5	119,5	108	100	129	103,5	137	115,5	127,5	133	92,5	76	149,5	102,5	131,5	144,5	125,5	133,5	149,5	113,5
95	117	118	107	98	126	101	133	111	126	129	90	75	147	102	131	143	124	134	149	117
27,8	35,2	33,8	30,1	28,6	36,9	28,8	40	33,7	36,3	37,9	25,3	21,2	42,3	29,5	37,6	41,4	36,5	37,9	44,9	32
28,2	35,3	33,2	30,3	28,7	36,2	29,3	40,6	33,4	35,9	38,4	25,1	20,7	41,8	28,8	37,6	41,4	37	38,6	43,4	32
28	35,25	33,5	30,2	28,65	36,55	29,05	40,3	33,55	36,1	38,15	25,2	20,95	42,05	29,15	37,6	41,4	36,75	38,25	44,15	32
30	35	35	32	30	37	31	43	35	37	38	26	22	42	29	38	41	38	38	45	32
418	108	92	273	325	246	216	362	344	248	235	95	292	313	297	221	230	377	255	241	38
390	102	93	273	316	253	234	366	408	234	263	99	285	314	296	228	224	376	269	233	40
404	105	92,5	273	320,5	249,5	225	364	376	241	249	97	288,5	313,5	296,5	224,5	227	376,5	262	237	39
462	120	111	297	358	286	245	445	476	265	280	128	311	453	334	262	231	361	269	293	33
1,5	1,6	1,9	1,4	0,8	1	3,1	2,1	1,7	0,7	1,5	1	2,5	1,3	1,7	1,9	2,5	1,7	2,4	1,6	1,2
1,5	1,6	1,8	1,4	0,8	1	3,2	2,1	1,7	0,7	1,4	1,1	2,6	1,3	1,7	1,7	2,3	1,6	2,3	1,6	1,2
1,5	1,6	1,85	1,4	0,8	1	3,15	2,1	1,7	0,7	1,45	1,05	2,55	1,3	1,7	1,8	2,4	1,65	2,35	1,6	1,2
0,93	1,36	1,34	1,37	0,69	1,05	2,41	2,04	1,76	0,7	1,38	0,98	2,45	1,33	1,75	1,42	2,05	1,65	1,68	1,44	1,23
8,5	4,2	12,6	5,9	8,6	5,3	7,5	4,4	4,8	4,5	8,1	6,2	6	4	7,7	4,8	6,3	4	8,9	3,2	0,6
8,5	4,1	13	6,2	8,6	5,1	7,4	4,3	4,7	4,3	8,3	6,2	5,6	3,8	7,6	5	6,5	4	8,9	3	0,8
8,5	4,15	12,8	6,05	8,6	5,2	7,45	4,35	4,75	4,4	8,2	6,2	5,8	3,9	7,65	4,9	6,4	4	8,9	3,1	0,7
9,48	3,74	13,84	5,68	7,97	4,42	7,07	4,36	4,2	4,43	8,74	6,04	5,58	3,61	7,66	4,91	5,68	4,02	8,03	2,64	0,68

Liite 5. Parametrien korrelaatiot.

		Correlations									
		B-Leuk ka	B--Leuk ref	B-Eryt ka	B-Eryt ref	B-Hb ka	B-Hb ref	B-Hkr ka	B-Hkr ref	B-Trom ka	B- Trom ref
B-Leuk ka	Pearson Correlation	1,000	,995**	-,069	-,053	-,058	-,081	-,087	-,081	,204	,213
	Sig. (2-tailed)		,000	,587	,680	,651	,522	,492	,524	,106	,091
	N	64,000	64	64	64	64	64	64	64	64	64
B-Leuk ref	Pearson Correlation	,995**	1,000	-,066	-,048	-,048	-,072	-,079	-,073	,208	,219
	Sig. (2-tailed)	,000		,606	,705	,707	,574	,533	,569	,098	,081
	N	64	64,000	64	64	64	64	64	64	64	64
B-Eryt ka	Pearson Correlation	-,069	-,066	1,000	,994**	,872**	,867**	,905**	,915**	,212	,183
	Sig. (2-tailed)	,587	,606		,000	,000	,000	,000	,000	,093	,147
	N	64	64	64,000	64	64	64	64	64	64	64
B-Eryt ref	Pearson Correlation	-,053	-,048	,994**	1,000	,867**	,862**	,894**	,909**	,220	,197
	Sig. (2-tailed)	,680	,705	,000		,000	,000	,000	,000	,080	,118
	N	64	64	64	64,000	64	64	64	64	64	64
B-Hb ka	Pearson Correlation	-,058	-,048	,872**	,867**	1,000	,997**	,992**	,978**	-,011	-,003
	Sig. (2-tailed)	,651	,707	,000	,000		,000	,000	,000	,929	,980
	N	64	64	64	64	64,000	64	64	64	64	64
B-Hb ref	Pearson Correlation	-,081	-,072	,867**	,862**	,997**	1,000	,989**	,973**	-,036	-,032
	Sig. (2-tailed)	,522	,574	,000	,000	,000		,000	,000	,777	,804
	N	64	64	64	64	64	64,000	64	64	64	64
B-Hkr ka	Pearson Correlation	-,087	-,079	,905**	,894**	,992**	,989**	1,000	,990**	,021	,020
	Sig. (2-tailed)	,492	,533	,000	,000	,000	,000		,000	,866	,876
	N	64	64	64	64	64	64	64,000	64	64	64
B-Hkr ref	Pearson Correlation	-,081	-,073	,915**	,909**	,978**	,973**	,990**	1,000	,059	,057
	Sig. (2-tailed)	,524	,569	,000	,000	,000	,000	,000		,643	,656
	N	64	64	64	64	64	64	64	64,000	64	64
B-Trom ka	Pearson Correlation	,204	,208	,212	,220	-,011	-,036	,021	,059	1,000	,980**
	Sig. (2-tailed)	,106	,098	,093	,080	,929	,777	,866	,643		,000
	N	64	64	64	64	64	64	64	64	64,000	64

	Pearson										
B-Trom	Correlation	,213	,219	,183	,197	-,003	-,032	,020	,057	,980**	1,000
ref	Sig. (2-tailed)	,091	,081	,147	,118	,980	,804	,876	,656	,000	
	N	64	64	64	64	64	64	64	64	64	64,000

** . Correlation is significant at the 0.01 level (2-tailed).

Correlations

		B-Gran ka	B-Gran ref
B-Gran ka	Pearson Correlation	1,000	,994**
	Sig. (2-tailed)		,000
	N	62,000	62
B-Gran ref	Pearson Correlation	,994**	1,000
	Sig. (2-tailed)	,000	
	N	62	62,000

Correlations

		B-Ly ka	B-Ly ref
B-Ly ka	Pearson Correlation	1,000	,866**
	Sig. (2-tailed)		,000
	N	63,000	63
B-Ly ref	Pearson Correlation	,866**	1,000
	Sig. (2-tailed)	,000	
	N	63	63,000

** . Correlation is significant at the 0.01 level (2-tailed).