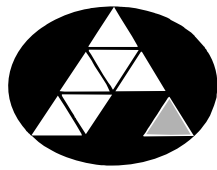


POHJOIS-KARJALAN AMMATTIKORKEAKOULU  
Bioanalytiikan koulutusohjelma

Anna Havukainen

SITRAATIN JA ETYLEENIDIAMIINITETRAETIKKAHAPON (EDTA)  
YHTEISVAIKUTUS LASKOTULOKSEEN SEKÄ LASKONÄYTTEEN  
SÄILYVYYDEN TUTKIMINEN

Opinnäytetyö  
Marraskuu 2010



POHJOIS-KARJALAN  
AMMATTIKORKEAKOULU

**OPINNÄYTETYÖ**  
**Lokakuu 2010**  
**Bioanalytiikan koulutusohjelma**

Tikkarinne 9  
80200 JOENSUU  
p. (013) 260 6600

Tekijä  
Anna Havukainen

Nimeke  
Sitraatin ja etyleenidiamiinitetraetikkahapon (EDTA) yhteisvaikutus laskotulokseen sekä laskonäytteen säilyvyyden tutkiminen

Tiivistelmä

Tässä opinnäytetyössä tutkittiin miten etyleenidiamiinitetraetikkahappo (EDTA) vaikuttaa laskotulokseen, kun laskimoverinäyte siirretään mittausta varten EDTA-putkesta sitraattia sisältävään laskoputkeen. Opinnäytetyössä tutkittiin myös laskimoverinäytteen säilyvyyttä kahdeksan tunnin ajan sekä EDTA-, että laskoputkessa. Tutkimusmenetelmä oli kvantitatiivinen ja tutkimusasetelma kokeellinen.

Tutkimusaineisto kerättiin Itä-Suomen laboriokeskuksen liikelaitoskuntayhtymään kuuluvan aluelaboratorion 50 vapaaehtoisesta asiakkaasta. Jokaisesta tutkimukseen osallistuvasta henkilöstä otettiin näytteet yhteen EDTA-putkeen ja yhteen laskoputkeen. EDTA-putkesta siirrettiin näytettä kahteen laskoputkeen. Yhden henkilön näytteistä tutkimukseen tuli neljä mitattavaa putkea, joten mitattavia näytteitä oli yhteensä 200. Ote-  
tut näytteet jaettiin ryhmiin sen perusteella, mihin putkeen näyte otettiin ja kuinka kauan sitä säilytettiin ennen mittausta huoneenlämmössä.

Mitatut laskoarvot käsiteltiin näyteryhmittäin SPSS 17.0 -tilasto-ohjelmalla. Sen avulla määritettiin tilastollisia tunnuslukuja, joiden avulla selvitettiin aineiston jakauma. Näyteryhmien tulosten välille piirrettiin hajontakuviot, laskettiin korrelaatiokertoimet ja ryhmät testattiin Wilcoxonin merkittyjen järjestyslukujen testillä. Vertailtavat ryhmät valittiin siten, että vertailulla saataisiin vastaus tutkimusongelmiin.

Tässä tutkimuksessa saatujen tulosten perusteella EDTA-putkesta laskoputkeen siirretty laskimoverinäyte soveltuu laskon mittaukseen. Laskotulos pienenee, mutta ei tilastollisesti merkittävästi. Tutkimustulosten perusteella laskimoverinäyte säilyy mittauskelpoisena huoneenlämmössä kahdeksan tunnin ajan sekä EDTA- että laskoputkessa. Näyte säilyi kahdeksan tunnin ajan keskimäärin paremmin EDTA-putkessa kuin laskoputkessa.

Kieli  
suomi

Sivuja 43  
Liitteet 4  
Liitesivumäärä 5

Asiasanat  
lasko, etyleenidiamiinitetraetikkahappo (EDTA), sitraatti



NORTH KARELIA  
UNIVERSITY OF APPLIED SCIENCES

**THESIS**  
**November 2010**  
**Degree Programme in**  
**Biomedical Sciences**  
Tikkariinne 9  
FIN 80200 JOENSUU  
FINLAND  
Tel. 358-13-260 6600

Author  
Anna Havukainen

Title  
The Combined Effect of Ethylenediaminetetraacetic Acid (EDTA) and Citrate on the Result of Erythrocyte Sedimentation Rate (ESR) and Study of ESR -Sample Preservation

Abstract

The purpose of this thesis was to investigate the effects of ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA) on the result of erythrocyte sedimentation rate (ESR) when the venous blood samples are transferred from EDTA-tubes into ESR-tubes which contain citrate. This thesis also investigates the preservation of a venous blood sample for the measurement of ESR. The samples were preserved at room temperature in EDTA -tubes and ESR -tubes and measured after eight hours. This study was quantitative and experimental.

The research material for this study was gathered from the 50 voluntary subjects from the regional laboratory of the Eastern Finland Laboratory Centre Joint Authority Enterprise (ISLAB). The samples were taken from each of the 50 customers into one EDTA- and one ESR -tube. During the investigation the sample was transferred from the EDTA-tube into two ESR-tubes. Samples from each subject were gathered into four tubes. Thus there were 200 samples to measure. The samples were divided into four groups based on the type of tube and the time of preservation at room temperature.

The measured values of ESR were processed statistically by using the software SPSS 17.0. Means, medians and standard deviations were determined from the data and thus the distribution was found. Then a scatter diagram was drawn and Pearson's correlations were assessed between the results of the sample groups. Finally, the results of the groups were tested by using Wilcoxon signed rank test. The groups were compared in order to resolve the research problems.

On the basis of the results, it can be concluded that venous blood sample transferred from an EDTA-tube into an ESR-tube is suitable for measuring the ESR. The ESR result decreased but there were no significant differences between the results. On average, the samples in the EDTA-tubes were preserved better than the ones in ESR-tubes.

Language  
Finnish

Pages 43  
Appendices 4  
Pages of Appendices 5

Keywords  
erythrocyte sedimentation rate (ESR), ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA), citrate

# SISÄLTÖ

## TIIVISTELMÄ ABSTRACT

|       |  |    |
|-------|--|----|
| 1     | JOHDANTO.....  | 5  |
| 2     | LASKO .....  | 6  |
| 2.1   | Laskon kliininen merkitys ja viitearvot.....   | 7  |
| 2.2   | Preanalyytiset tekijät laskomäärityksessä.....   | 8  |
| 2.2.1 | Asiakkaan ohjeistus.....   | 8  |
| 2.2.2 | Näytteenotto .....   | 8  |
| 2.2.3 | Näytteen säilytys ja kuljetus.....   | 10 |
| 2.3   | Laskomäärityksessä käytettävät näyteputket.....  | 11 |
| 2.3.1 | Antikoagulanttina sitraatti .....  | 11 |
| 2.3.2 | Antikoagulanttina EDTA .....   | 12 |
| 2.4   | Laskon mittausperiaate.....  | 13 |
| 2.5   | Laskon mittausmenetelmä ja tuloksen virhelähteet .....   | 14 |
| 3     | LAADUNVARMISTUS KLIINISESSÄ LABORATORIO-<br>TYÖSKENTELYSÄ .....  | 16 |
| 3.1   | Laboratoriotutkimusprosessi .....  | 16 |
| 3.2   | Sisäinen laadunohjaus ja ulkoinen laadunarviointi osana<br>laskomäärityksen laboratoriotutkimusprosessia ..... | 17 |
| 4     | AIKAISEMMAT TUTKIMUKSET .....  | 18 |
| 5     | OPINNÄYTETYÖN TARKOITUS JA TUTKIMUSONGELMAT .....  | 20 |
| 6     | TUTKIMUSMENETELMÄ JA TUTKIMUKSEN TOTEUTUS.....   | 20 |
| 6.1   | Tutkimusaineisto ja tutkimuksen toteutus .....   | 21 |
| 6.2   | Tutkimustulosten tilastollinen käsittely .....   | 25 |
| 6.2.1 | Tilastolliset tunnusluvut .....  | 25 |
| 6.2.2 | Pearsonin korrelaatiokerroin.....  | 26 |
| 6.2.3 | Wilcoxonin merkittyjen järjestyslukujen testi.....   | 26 |
| 7     | TULOKSET .....   | 27 |
| 7.1   | Sitraatin ja EDTA:n yhteisvaikutus laskotulokseen .....  | 28 |
| 7.2   | Laskonäytteen säilyvyyden tutkiminen.....  | 29 |
| 8     | TULOSTEN TARKASTELU JA JOHTOPÄÄTÖKSET .....  | 31 |
| 8.1   | Sitraatin ja EDTA:n yhteisvaikutuksen tulosten tarkastelu .....  | 32 |
| 8.2   | Laskonäytteen säilyvyystutkimuksen tulosten tarkastelu .....   | 33 |
| 8.3   | Johtopäätökset .....   | 34 |
| 9     | POHDINTA.....  | 35 |
| 9.1   | Tutkimuksen luotettavuus .....   | 35 |
| 9.2   | Tutkimuksen eettisyys.....   | 38 |
| 9.3   | Tutkimuksen hyödynnettävyys ja jatkotutkimusaiheet .....   | 39 |
|       | LÄHTEET.....   | 40 |

## LIITTEET

- Liite 1 Manleyn Taulukko
- Liite 2 Tutkimuksessa käytettyjen näyteputkien tunnistetiedot
- Liite 3 Sed Rate Timer -laskoanalysaattorin antamat tulokset
- Liite 4 Tilastollisin menetelmin saadut tulokset

## 1 JOHDANTO

Lasko on yleisesti tunnettu perustutkimus. Sen määrittäminen perusta, eli punasolujen laskeutuminen pohjalle näytteen seistessä pystysuorassa putkessa, keksittiin jo lähes sata vuotta sitten. Lasko onkin yksi varhaisimmista potilaiden tutkimiseen käytetyistä laboratoriotutkimuksista. Sillä mitataan elimistön tulehduksellista tilaa. Laskoarvoon vaikuttavat tulehduksesta aiheutuvat muutokset veren koostumuksessa. Laskon mittaaminen menetelmä on ajan myötä automatisoitunut, mutta näyteveren hyytymisen estävä sitraatti on ollut osa menetelmää alusta asti. (Mustajoki & Kaukua 2008a; Mustajoki & Kaukua 2008b.) Laskossa, kuten monissa muissakin laboratoriotutkimuksissa, verinäytteen tulee olla näyteputkessa ollessaan hyytymätöntä. Siksi näyteputkiin on lisätty veren hyytymistä estäviä aineita eli antikoagulantteja. Kaikkiin tutkimuksiin ei sovi sama antikoagulantti, joten potilaasta kulloinkin tarvittava näyte otetaan tiettyä antikoagulanttia sisältävään näyteputkeen. (Savolainen 2007, 85.)

Laboratoriopalveluissa on tapahtunut 2000-luvulla suuria rakenteellisia muutoksia, joiden tarkoituksena on ollut laboratoriotuotannon tehostaminen (Lindén 2007, 101). Käytännössä se tarkoittaa sitä, että laboratorionäytteiden analysointia on monin paikoin keskitetty terveyskeskuksista ja muista pienistä yksiköistä keskuslaboratorioihin. Keskeytyksen johdosta näytteiden kuljetus paikasta toiseen on lisääntynyt, ja näytteitä joudutaan säilyttämään pitkiäkin aikoja ennen analysointia. Tämä vaatii tutkittuun tietoon perustuvaa pohdintaa siitä, miten säilytettyinä näytteet säilyvät parhaiten. (Tanner 2007, 22.) Suositeltavat säilytysajat ja -lämpötilat ovat näytekohtaisia (Pohjala 2009, 37).

Tämän opinnäytetyön tarkoituksena oli selvittää antikoagulanttina käytettävän etyleenidiamiinitetraetikkahapon eli EDTA:n vaikutusta laskotulokseen. Opinnäytetyössä tutkittiin myös laskonäytteen säilyvyyttä kahdeksan tunnin ajan sitraatissa ja EDTA:ssa. Alkuperäinen aihe-ehdotus opinnäytetyöhön tuli sairaalaja laboratoriotarvikkeita toimittavan yrityksen taholta, jonka tuotevalikoimaan kuuluvat muun muassa verinäyteputket. Osa heidän asiakkainaan olevista kliinisistä laboratorioista on ollut kiinnostuneita siitä, onko näytteen siirtämisellä

EDTA-putkesta laskoputkeen vaikutusta laskotulokseen. Tätä menettelyä nähtiin kesätöiden ja harjoitteluiden aikana käytettävän työelämässä useassa eri paikassa. Laskonäyte otettiin EDTA-putkeen, ja siitä se siirrettiin laskoputkeen esimerkiksi silloin, kun näytteenotto oli jostakin syystä hankalaa. Näytteenottovaikeuksia oli esimerkiksi tilanteissa, joissa näyte otettiin lapsilta tai hennoista ja pienistä suonista.

Opinnäytetyöllä ei ole toimeksiantajaa. Tutkimus tehtiin yhteistyössä sairaala- ja laboratoriotarvikkeita toimittavan yrityksen kanssa, josta tutkimuksessa tarvittavat näyteputket sekä näytteiden siirtoon tarvittavat adapterit saatiin veloituksetta. Yhteistyökumppanina oli myös Itä-Suomen laboratoriokeskuksen liikelaitoskuntayhtymään (ISLAB) kuuluva aluelaboratorio, josta kerättiin tutkimusaineisto ja jonka laskoanalysaattorilla näytteet mitattiin. Molemmilta yhteistyökumppaneilta saatiin lisäksi arvokasta asiantuntija-apua.

## **2 LASKO**

Lasko tarkoittaa erytrosyyttien eli punasolujen laskeutumista millimetreinä henkilön omassa veriplasmassa, kun verinäyte seisoo tunnin ajan pystysuorassa mittaputkessa. Laskotulos on riippuvainen plasman proteiinipitoisuudesta sekä punasolujen koosta ja määrästä. (Hoffbrand, Moss & Pettit 2006, 333; International Council for Standardization in Haematology 1993, 198.) Plasma on veren nestemäinen ainesosa, joka sisältää tuhansia eri proteiineja (Nienstedt, Hänninen, Arstila & Björkqvist 2009, 165, 177). Laskoon, kuten muihinkin laboratoriotuloksiin, vaikuttaa myös oleellisesti preanalytiikka, eli tapahtumat ja tekijät ennen näytteenottoa (Linko 2007, 21). Myös näytteenotto, näytteen käsittely, kuljetus ja säilytysolosuhteet sekä säilytysaika ennen analysointia vaikuttavat tulokseen (Joutsu-Korhonen 2010, 206).

## 2.1 Laskon kliininen merkitys ja viitearvot

Laskolla mitataan elimistön tulehduksellista tilaa (Mustajoki & Kaukua 2008a). Tulehdus saa aikaan sen, että plasmassa olevien proteiinien määrä kasvaa (Rajamäki 1992, 103). Lasko reagoi näiden proteiinien lisääntymisestä johtuviin muutoksiin melko hitaasti, joten siitä ei ole hyötyä akuutin tulehduksen diagnosoinnissa. Kroonisessa tulehduksessa lasko voi olla ainoa koholla oleva tulehdukselta ilmaiseva arvo. Laskoa käytetään myös reumaattisten sairauksien tulehdusaktiivisuuden seurantaan. Nivelreumapotilailla kohonnut laskoarvo kertoo meneillään olevasta nivelkalvon tulehduksesta. (Mustajoki & Kaukua 2008a.) Lihastreuman eli polymyalgia rheumatican diagnosointiin riittää oireiden lisäksi kohonnut lasko (Mustajoki 2009).

Laboratoriotuloksia tulkitaan vertaamalla niitä kunkin tutkittavan analyysin viitearvoihin. Viitearvot on laadittu terveistä ihmisistä vakioituissa olosuhteissa otettujen näytteiden avulla. Tällöin niiden avulla on teoriassa mahdollista erottaa sairastuneet terveistä. On kuitenkin hyvä muistaa ihmisten yksilöllisyys eli se, että myös viitearvorajojen ulkopuolella oleva laboratoriotulos voi olla normaali. Viitearvoja voidaan määrittää erilaisille ryhmille esimerkiksi ikään tai sukupuoleen perustuen. (Penttilä 2004a, 18; Irjala 2004, 21; Tuokko, Rautajoki & Lehto 2008, 119–121.)

Laskolle on käytössä useita eri tavalla luokiteltuja viitearvoja, mutta esimerkiksi Itä-Suomen Laboratoriokeskuksen käyttämät viitearvot laskolle ovat alle 15 -vuotiailla 1-15 mm/h, 15–49 -vuotiailla naisilla 1-15 mm/h, ja samanikäisillä miehillä 1-10 mm/h. Laskon viitearvo on yli 50 -vuotiailla miehillä 1-15 mm/h ja yli 50 -vuotiailla naisilla 1-20 mm/h. Raskauden aikana viitearvo on naisilla 1-50 mm/h. Erilaisten tulehdusten lisäksi laskoarvoa kohottavat ikä, raskaus, anemia, kasvaimet sekä sairaudet, joissa fibrinogeenin määrä elimistössä on lisääntynyt. (ISLAB 2010.)

## **2.2 Preanalyttiset tekijät laskomäärityksessä**

Preanalyttiset tekijät ovat ennen näytteen analysointia tapahtuvia asioita. Niillä käsitetään myös ihmisen elimistössä ennen näytteenottoa vallitsevaa tilaa, johon vaikuttavat muun muassa paasto, ruokavalio, ikä ja fyysinen rasitus. (Pohjavaara, Malminiemi & Kouri 2003, 399.) Kaikkiin preanalyttisiin tekijöihin ei voida vaikuttaa, mutta ne on tärkeää huomioida, sillä niillä on suuri vaikutus potilaan saamaan laboratoriotulokseen. Virheet näytteenotossa, näytteen säilytyksessä tai kuljetuksessa voivat pahimmassa tapauksessa pilata näytteen. (Markkanen 2000, 172–173.)

### **2.2.1 Asiakkaan ohjeistus**

Näytteenottoon valmistautuvaa asiakasta varten on olemassa potilasohjeet. Niillä pyritään minimoimaan sellaisten preanalyttisten tekijöiden osuutta, joihin potilaalla on mahdollisuus itse vaikuttaa. Näitä tekijöitä ovat esimerkiksi ravinto, nautintoaineet, rasitus ja lääkkeet. (Tuokko ym. 2008, 29.) Potilasohjeissa kehoitetaan muun muassa ennen näytteenottoa istumaan rauhassa 15 minuuttia sekä välttämään vuorokauden ajan alkoholia, tupakkaa ja raskasta liikuntaa (ISLAB 2008; HUSLAB 2007). Laskomääritykseen juuri syöty ravinto ei vaikuta siinä määrin kuin esimerkiksi veren glukoosi- tai kolesterolipitoisuutta mitattaessa (HUSLAB 2010), mutta juuri ennen näytteenottoa nautitun ravinnon rasvasta johtuva näytteen lipeemisyys voi häiritä laskon automaattimittausta (Mekalasi 2008, 30–31).

### **2.2.2 Näytteenotto**

Laskomääritys tehdään laskimoverestä. Yleisimmin laskimoverinäyte otetaan kyynärtaipeen laskimosta vakuuminenettelällä. Se on suljettu menetelmä, jossa laskimosta tuleva veri menee suoraan ohjaimessa olevan neulan kautta näyteputkeen. Vakuuminenettelässä näyte ei ole lainkaan ilman kanssa kosketuksissa. Näyteputkissa on vakioitu alipaine, joten näytettä tulee putkeen vain



tarkoituksenmukainen määrä. Tällöin näytteen ja antikoagulantin suhde on oikea. (Savolainen 2007, 86; Tuokko ym. 2008, 46.) Väärä suhde antikoagulantin ja verinäytteen välillä voi aiheuttaa näytteen hyytymistä, punasolujen hajoamista eli hemolysoitumista tai näytteen laimenemista ja täten virheellisiä laboratoriotuloksia (Rautajoki 1998, 30). Hiljattain markkinoille tulleissa pitkissä muovisissa laskoputkissa on näytteen minimi- ja maksimimäärän osoittavat merkkiviivat. Näyteputken tulee antaa täytyä täyteen saakka merkkiviivojen välisellä alueella. Putkea ei saa poistaa ohjaimesta ennen kuin veren virtaus näyteputkeen on lakannut. (Mekalasi 2010.)

Aina näytteenotto ei onnistu vakuuminenettelällä. Mikäli näyte otetaan hyvin pienestä laskimosta tai potilaalla on hennot suonet, jotka litistyvät vakuumiputkien alipaineen aiheuttaman imun johdosta, näyte otetaan avomenetelmällä. Siinä alipaineistetut näyteputket avataan, jolloin putkien alipaine poistuu. Verinäyte menee avoimesta neulan kannasta omalla paineellaan avattuun putkeen. Koska neulan kanta on laskimoon vietäessä avoin, ensimmäisellä näytteellä on muita suurempi riski kudostenestekontaminaatioon. Useampia näytteitä otettaessa näytteen hemolysoitumisen ja mikrohyytymien muodostumisen riski kasvaa. (Tuokko ym. 2008, 49–50.)

Itä-Suomen laboratorokeskuksen työohjeen mukaan laskon kohdalla avonäytteenotossa toimitaan siten, että verinäyte otetaan EDTA-putkeen (ISLAB 2009). Näytteen siirto laskoputkeen tapahtuu adapterin avulla laskoputkea avaamatta, jottei avattu laskoputki pääse aukeamaan analysaattorissa mittauksen aikana kerran löystytetyn korkin johdosta. Myös laskoputken ulkopuolella olevat veritahrat häiritsevät analysaattorissa tapahtuvaa mittauksia. Tahrat voivat estää infrapunasäteen kulkemisen laskoputken läpi mittauksen aikana. (Greiner Bio-One/Mekalasi 2003.) Laskoanalysointoreissa käytettävien laskoputkien halkaisija on niin pieni, että avonäytteenotossa veri tekee helposti ilmakuplan näyteputken suulle. Tämä edesauttaa putken ulkopinnan tahriintumista verellä. (Aapa 2010.)

Verinäyteputkien näytteenottojärjestyksestä on luotu kansainvälinen standardi, jonka tarkoituksena on välttää putkissa olevien antikoagulanttien sekoittumista

toisiinsa. Standardissa kuvatussa näytteenottojärjestyksessä laskoputki otetaan vakuuminenettelmiä käytettäessä toisena. (NCCLS 2003, 17.) Käytännössä kapea ja pitkä laskoputki otetaan kuitenkin usein näytteenottojärjestyksen loppupäässä (Tuokko ym. 2008, 40; Matikainen, Miettinen & Wasström 2010, 77). Vakuuminäytteenottoon verrattaessa avonäytteenotossa näytteenottojärjestyksellä on suurempi merkitys (Tuokko ym. 2008, 49). Mikäli näytteenotto on hankalaa, on oleellista ottaa näytteet siinä järjestyksessä, että potilaan hoidon kannalta tärkeimmät näytteet otetaan ensin (Mäki 2000, 174–175).

### 2.2.3 Näytteen säilytys ja kuljetus

Näytteen on tarkoitus kuvata potilaan fysiologista tilaa näytteenottohetkellä, ja siksi näytteiden säilytyksen ja kuljetuksen on tapahduttava ohjeiden mukaisesti. Laitte- ja putkivalmistajilla on säilytys-suosituksia erilaisille näytteille. Mikäli säilyvyystietoja ei ole muulta taholta ilmoitettu, ne täytyy selvittää joko itse tutkimalla tai kirjallisuuden avulla. (Siloaho 2000, 185.) Laskonäyte kuuluu säilyttää huoneenlämmössä auringonvalolta suojattuna (ISLAB 2010), ja on suositeltavaa analysoida se 3-4 tunnin kuluessa näytteenotosta (Greiner Bio-One/Mekalasi 2003). Kylmässä säilytetystä, sitraatilla antikoaguloidusta laskonäytteestä voidaan saada virheellisesti liian pieni tulos, sillä liian kylmä säilytyslämpötila aiheuttaa muutoksia punasolujen muodossa. Se puolestaan vaikeuttaa niiden yhteenliittymistä joka on edellytys punasolujen laskeutumiselle eli laskolle. (Hall & Malia 1991, 91.)

Oikeasta säilytyksestä huolimatta näytteissä alkaa tapahtua biokemiallisia sekä mikrobiologisia muutoksia heti näytteenoton jälkeen. Muutoksia aiheuttavat esimerkiksi auringonvalo sekä solujen aineenvaihdunta. Verinäytteen pitkä säilytys EDTA:ssa johtaa lopulta solujen turpoamiseen. (Siloaho 2000, 185, 188.) Jo aiemmin johdannossa mainittiin, että keskitettyjen laboratoriopalveluiden vuoksi näytteiden kuljetus paikasta toiseen on lisääntynyt, ja niitä joudutaan säilyttämään pidempään ennen analysointia (Lindén 2007, 101). Näytteet analysoitavaksi lähetettävä laboratorio on velvollinen seuraamaan, että sopiva aika,

lämpötila ja turvallisuus toteutuvat näytteiden kuljetuksessa (Suomen standardisoimisliitto SFS 2007, 46).

### **2.3 Laskomäärityksessä käytettävät näyteputket**

Laskoa määritettäessä näytemuotona on kokoveri, joka sisältää sekä verisolut että plasman. Veren tulee olla hyytymätöntä, jonka takia näyte on otettava veren hyytymisen estävää antikoagulanttia sisältävään näyteputkeen. Antikoagulantin riittävän toiminnan edellytys on sen huolellinen sekoittaminen näytteeseen heti putken täytyttyä. (Savolainen 2007, 85–86.)

Laskon määrityksessä käytetään siihen tarkoitukseen valmistettuja laskoputkia. Niissä antikoagulanttina on puskuroitu natriumsitraatti. (Mekalasi 2010, 11; Oriola 2010, 242.) Laskon määrittäminen on mahdollista myös automatisoidulla analysaattorilla, jossa näytteenä käytetään EDTA-antikoaguloitua verta. Tällöin näyte otetaan EDTA-putkeen, ja laite tekee näytteestä sitraattilaimennoksen. (Kurkijärvi, Vanharanta & Pelliniemi 2009, 5.) Sama tilanne syntyy, kun näyte siirretään EDTA-putkesta laskoputkeen.

#### **2.3.1 Antikoagulanttina sitraatti**

Veren hyytyminen on monimutkainen tapahtumasarja, jossa tarvitaan muun muassa plasman hyytymistekijöitä, sekä kalsiumia aktivoimaan niitä (Lassila 2007, 37). Sitraatin antikoaguloiva eli hyytymisen estävä vaikutus perustuu kalsiumin sitomiseen verestä. Se sitoo ionisoituneet kalsiumit löyhiksi komplekseiksi, jolloin kalsium ei pääse vaikuttamaan hyytymistekijöihin. (Hall & Malia 1991, 88.) Sitraattia käytetään laskon määrityksen lisäksi antikoagulanttina hyytymistutkimuksissa, koska sillä ei ole vaikutusta hyytymistekijöihin. (NCCLS 1996, 23.)

Laskoputkissa käytetään antikoagulanttina nestemäistä, puskuroitua, 3,2 %:n vahvuista natriumsitraattia (Mekalasi 2010, 11; Oriola 2010, 242). Sitraatin pus-

kuroimisen tarkoituksena on estää pH-arvon vaihtelua näytteessä. Puskurijärjestelmän muodostavat heikko happo ja sitä vastaava emäs, tai heikko emäs ja sitä vastaava happo. (Lehtonen 1998, 47–48.) Natriumsitraatti on puskuroitu sitruunahapolla, jotta sen pH on lähempänä fysiologista pH-arvoa (NCCLS 1996, 23; Guder, Narayanan, Wisser & Zawta 1996, 52).

### 2.3.2 Antikoagulanttina EDTA

Aivan kuten sitraatti, myös EDTA estää veren hyytymisen sitomalla hyytymistä aiheuttavaa kalsiumia (Savolainen 2007, 86; Lassila 2007, 37). Veriplasmassa kalsium on joko ionisoituneessa muodossa, sitoutuneena proteiineihin tai anionikomplekseissa esimerkiksi fosfaatissa (Endres & Rude 1999, 1396; Uotila 2003, 99). EDTA kelatoi ionisoituneen kalsiumin eli sitoo kalsiumionit niin, että ne ovat kiinni toisissaan useammalla kuin yhdellä sidoksella (Hall & Malia 1991, 87; Horton, Moran, Scrimgeour, Perry & Rawn 2006, 813, 818). Jotta EDTA:n vaikutus punasolujen kokoon olisi mahdollisimman pieni, 1,5 mg EDTA/1 ml verta pidetään optimaalisena EDTA-suhteena (NCCLS 1996, 15).

EDTA sellaisenaan, eli happona, ei ole helposti liukeneva, ja siksi siihen lisätään natrium-, litium- tai kaliumsuoloja. Tavallisesti käytetyin muoto EDTA:sta on di-kalium (K<sub>2</sub>) EDTA, koska sillä on muita parempi liukenevuus. EDTA:n tri-kalium (K<sub>3</sub>) -muoto on puolestaan paremmin kelatoiva aine. Sillä on kuitenkin muun muassa punasolujen kutistava vaikutus EDTA-pitoisuuden kasvaessa, ja siksi di-kalium EDTA on sopivampi antikoagulantti. (Hall & Malia 1991, 87–88.) K<sub>2</sub>-EDTA:n happamampi pH myös korvaa EDTA-suoloista aiheutuvaa solujen osmoottista kutistumista (Siloaho 2000, 188). Mahdollisia, mutta harvoin ilmeneviä ongelmia EDTA:n käytöstä johtuen on esimerkiksi punasolujen, trombosyyttien ja valkosolujen agglutinaatio eli yhteen liimautuminen (Hall & Malia 1991, 87–88). Siloahon (2000, 188) mukaan sitraatti estää tämän agglutinaation.

## 2.4 Laskon mittausperiaate

Lasko mittaa punasolujen laskeutumista plasmassa. Tällöin tulokseen vaikuttavat henkilön plasman koostumus ja punasolujen ominaisuudet, punasolutekijät. Punasolujen ja plasman keskinäisestä tiheyserosta johtuen punasolut laskeutuvat pohjalle kokoverinäytteen seistessä putkessa. (Rajamäki 1992, 102.)

Punasolut ovat joustavia kaksoiskoveria kiekkoja. Niiden tehtävä on hapen ja hiilidioksidin kuljetus elimistössä. Verenkierrossa olevat punasolut ovat tumattomia, eikä niissä ole muitakaan soluorganelleja. Punasolut koostuvat tukirankansa lisäksi pääasiassa hemoglobiinista, entsyymeistä ja solukalvosta. Punasolun solukalvo puolestaan muodostuu suurimmaksi osaksi rasva- ja valkuaisaineista. Kalvossa on myös esimerkiksi kolesterolia ja hiilihydraatteja. (Hoffbrand, Moss & Pettit 2006, 18–19, 46; Nienstedt ym. 2009, 30, 168–169.)

Punasolujen solukalvot ovat negatiivisesti varautuneita, minkä vuoksi solut hylkivät toisiaan. Kun solukalvon varaus muuttuu positiiviseksi, punasolut pääsevät lähemmäs toisiaan ja tarrautuvat yhteen eli aggregoituvat. Aggregaatio ilmenee yleensä raharullamuodostuksena. (Hall & Malia 1991, 181). Se on yksi tärkeimmistä laskoarvoon vaikuttavista tekijöistä (NCCLS 2000). Raharullamuodostus tarkoittaa punasolujen pinoutumista yhteen näyttäen kolikkokasoilta tai ketjulta (Hall & Malia 1991, 181). Punasolujen pinnan negatiivista varausta vähentää ympäröivän plasman proteiinien, etenkin fibrinogeenin ja gammaglobuliinin kaksoisjännitevaikutus. Näiden proteiinien lisääntyessä punasolujen raharullamuodostus siis kasvaa, koska punasolut aggregoituvat. (Kjeldsberg 1993, 30–31.) Yksittäiset punasolut laskeutuvat yhteen liittyneitä eli aggregoituneita punasoluja hitaammin (Hall & Malia 1991, 181).

Punasolutekijöistä anisosytoosi, poikilosytoosi, sferosytoosi, akantosytoosi sekä mikrosytoosi vähentävät raharullamuodostusta, kun taas makrosytoosi lisää sitä. Edellä mainitut eri sytoosit ovat punasolujen muotoa ja kokoa kuvaavia määreitä. Tärkein tekijä raharullamuodostuksen kannalta on kuitenkin punasolujen lukumäärä. Mikäli punasolumäärä on vähentynyt, raharullan muodostus on nopeampaa. Lisääntynyt punasolumäärä vaikuttaa päinvastoin. (Horsti 2007,

71–72; Rajamäki 1992, 102.) Esimerkiksi vaikeissa anemioissa punasolupitoisuus veressä on pieni, ja tällöin laskokin on korkea. Polysytemia verä - nimisessä sairaudessa veren punasolupitoisuus on korkea, ja se aiheuttaa luonnollisesti pienen laskotuloksen. (Hoffbrand ym. 2006, 335.)

Punasolut laskeutuvat mittauspaikkana toimivassa näyteputkessa kolmessa vaiheessa. Ensimmäisessä vaiheessa punasolut aggregoituvat muodostaen raharullaa. Tällöin punasolut laskeutuvat vain vähän. Toisessa vaiheessa punasoluaggregaattien laskeutuminen on nopeampaa. Kolmannessa vaiheessa lähekkäin pakkautuneet aggregaatit hidastavat laskeutumista ja punasoluaggregaatit kasautuvat ja pakkautuvat näyteputken pohjalle. (NCCLS 2000.)

## **2.5 Laskon mittausmenetelmä ja tuloksen virhelähteet**

Laskon mittauksessa käytetään useita eri mittausmenetelmiä kliinisestä laboratoriosta riippuen (Horsti 2007, 71). Tässä opinnäytetyössä mittausmenetelmien esittely on rajattu referenssimenetelmänä toimivan Westergrenin menetelmän ja työhön liittyvässä tutkimuksessa käytetyn laskoanalysaattorilla tapahtuvan menetelmän esittelyyn. Käytetyn laskoanalysaattorin menetelmä on Westergrenin menetelmälle verrannollinen.

Jotta kliinisissä laboratorioissa analysoiduista laboratorionäytteistä saadut tulokset olisivat keskenään vertailukelpoisia, laboratorioden tulostasot täytyy yhdenmukaistaa kalibroimalla ne referenssimenetelmän mukaiseksi (Jaarinen & Niiranen 2005, 13). Tällöin kalibroinnilla tarkoitetaan eri mittausmenetelmien antamien tulosten vertaamista ja tarkastamista toisiinsa nähden (Eurachem-Suomi 1997, 37). Referenssimenetelmä on kansainvälisesti hyväksytty testimenetelmä (Jaarinen & Niiranen 2005, 13). Sitä ei yleensä käytetä rutiinianalytiikassa eli päivittäin tapahtuvassa näytteiden analysoinnissa sen työvaiheiden monimutkaisuuden takia. Sen sijaan referenssimenetelmää käytetään vakioinneissa ja rutiinimenetelmien toimivuuden tarkastelussa sekä tutkimuskäytössä. (Jokela 2003, 42–43; Penttilä 2004a, 19–20.) Laskon mittauksen referenssimen-

netelmänä käytetään Westergrenin menetelmää, ja eri menetelmien tulostaso kalibroidaan sitä vastaavaksi (Horsti 2007, 70; NCCLS 2000).

Westergrenin menetelmässä laskimoverinäyte laimennetaan vahvuudeltaan 109 mmol/l olevalla sitraatilla niin, että näytteestä 1 osa on sitraattia ja 4 osaa laskimoverta. Hyvin sekoitettu näyte asetetaan mittausta varten pipettiin, jonka mittausosan pituus on 200 mm, ja halkaisijaltaan pipetti on 2,55 mm. Tunnin kestävä mittaus aloitetaan viimeistään kahden tunnin kuluttua näytteenotosta. Mittauslämpötilan on oltava 18 – 25 °C. (Horsti 2000, 57.)

Automaattisen laskoanalysointilaitteen mittakanavaan asetetaan laskoputki pystyasentoon. Analysointilaitteen toiminta perustuu laskoputken sisällä tapahtuvan punasolujen sedimentoitumisen eli laskeutumisen havaitsemiseen. Laskeutumista seurataan infrapunasäteen avulla jokaisesta mittakanavasta erikseen kolmen minuutin välein. Analysointilaitteen sisäinen infrapunasäde ja sen vastaanotin toimivat yhdessä. Vastaanotin rekisteröi infrapunasäteen, mikäli säde läpäisee näyteputkessa olevan, mittakanavaan asetetun näytteen. Infrapunasäde ei kohtaa vastaanotinta punasolupatsaan läpi, vaan pelkästään sen yläpuolella. Analysointilaitteella tallentaa koko analyysin aikaiset rekisteröinnit, ja näin laite rekisteröi tapahtuneen laskeutumisen. (Greiner Bio-One/Mekalasi 2003.)

Virheelliseen laskotulokseen voivat johtaa näytteen väärä mittauslämpötila, epätasaisesta mittausalustasta johtuva vino putken asento, poikkeamat näytteen ja antikoagulanttien suhteessa, värinä mittausalustalla sekä ongelmat tai virheet tulostason muuttamisessa Westergrenin referenssimenetelmän tasolle (Horsti 2000, 57–58). Laskotulosta voivat vääristää myös näytteessä oleva vaahto ja ilmakuplat (ISLAB 2009). Näytteen antaneen henkilön verenkiertoon annetut hepariini ja plasmakorvikkeet vaikuttavat tulosta kohottavasti (Hall & Malia 1991, 182–183; Horsti 2000, 57–58). Plasmakorvikkeiden laskoa kohottava vaikutus johtuu siitä, että ne edesauttavat punasolujen raharullamuodostusta (Rautajoki 1998, 106–107).

### **3 LAADUNVARMISTUS KLIINISESSÄ LABORATORIOTYÖSKENTELYSSÄ**

Laadunvarmistus on oleellinen osa kliinistä laboratoriotyöskentelyä, ja sen tavoitteena on saada asiakkaalle luotettava tulos. Laatu rakentuu koko laboratoriotutkimusprosessista, johon sisältyy suuri määrä yksittäisiä asioita. Henkilökunnan osaaminen ja näytteen laatu ovat erittäin tärkeitä asioita kokonaislaadun kannalta. (Liimatainen 2010, 57.) Analyyttisen laadun varmistusta ovat sisäinen laadunohjaus ja ulkoinen laadunarviointi (Törmä 2003, 24).

#### **3.1 Laboratoriotutkimusprosessi**

Laboratoriotoinnin laatu koostuu koko laboratoriotutkimusprosessin aikana tapahtuvista toiminnoista. Laboratoriotutkimusprosessi muodostuu preanalyttisestä, analyttisestä ja postanalyttisestä vaiheesta. Kuten kappaleessa 2 mainittiin, preanalytiikalla tarkoitetaan näytteen analysointia edeltäviä tapahtumia. Preanalyttinen vaihe alkaa laboratoriotutkimuksen tarpeen toteamisesta ja päättyy ennen analysointia tapahtuvaan, kustakin näytteestä riippuvaan esikäsitteilyyn. Näiden tapahtumien väliin sijoittuvat tutkimuspyynnön tekeminen, potilaan ohjaus, ohjeistuksen noudattamisen tarkistus, näytteenotto, säilytys, mahdollinen kuljetus laboratorioon sekä näytteen vastaanotto dokumentointineen. (Tuokko ym. 2008, 7.)

Analyttisessä vaiheessa näyte analysoidaan, eli esikäsitelty näyte tutkitaan. Postanalyttinen vaihe sisältää kaikki analysoinnin jälkeiset tapahtumat, jotka johtavat potilaan hoitopäätökseen. Näitä ovat esimerkiksi tuloksen hyväksyminen, sen lähetys eteenpäin tutkimuksen tilaajalle sekä tuloksen arkistointi ja näytteen mahdollinen säilytys. (Tuokko ym. 2008, 7,12.) Jokainen näistä laboratoriotutkimusprosessin vaiheista on potilaan tuloksen kannalta tärkeä. Erityisesti tulokseen vaikuttavat preanalyttisen vaiheen tapahtumat, sillä sen on havaittu olevan muita vaiheita alttiimpi virheille. (Puukka 2007, 23.)



### **3.2 Sisäinen laadunohjaus ja ulkoinen laadunarviointi osana laskomäärityksen laboratoriotutkimusprosessia**

Suomen standardisoimisliiton vahvistamassa kansainvälisessä SFS-EN ISO 15189 -standardissa on määritelty laatu- ja pätevyysvaatimukset kliiniselle laboratoriotuotinnalle. Standardin mukaan laboratorioden tulee täyttää sen ”asetamat oleelliset vaatimukset toimiessaan vakituksessa toimipaikassaan tai vastuullaan olevissa muissa tiloissa”. Näitä vaatimuksia noudattaessaan laboratorion kuuluu suunnitella sisäinen laadunohjausjärjestelmä osana laadunvarmistusta. (Suomen standardisoimisliitto SFS 2007, 8, 16, 50.)

Laadunohjauksella tarkoitetaan sellaista toimintaa, joka tukee laatuvaatimusten täyttymistä (Eurachem-Suomi 1997, 37). Sisäinen laadunohjaus on laboratorion sisäistä toimintaa, ja sen tarkoituksena on seurata menetelmien tulostasoa ja pitää analytiikka toistettavana. Sisäistä laadunohjausta toteutetaan päivittäin kaupallisten kontrollinäytteiden ja laboratorion omien potilasnäytteiden avulla. (Penttilä 2004b, 36; Törmä 2003, 24.) Kontrollinäytteet ovat potilasnäytteiden kaltaisia, tunnetun pitoisuuden omaavia näytteitä (Jaarinen & Niiranen 2005, 25). Laskolle on saatavana eri valmistajilta normaalin ja poikkeavan tason kontrollinäytteitä. Niitä ei ole esilaimennettu, joten ne käsitellään potilasnäytteiden tavoin. Lisäksi ne soveltuvat sekä automaatti- että manuaalimäärityksiin. Kontrollinäytteiden säilyvyysaika ja säilytyslämpötila ovat valmistajakohtaiset. (Bio-clin Oy 2010; Polymedco Inc. 2008; Bio-Rad Laboratories 2010.)

Suomessa ulkoinen laadunarviointi on vapaaehtoista (Penttilä 2004b, 38). Suomen standardisoimisliitto SFS on kuitenkin todennut standardissaan laadun ja pätevyyden erityisvaatimuksista, että klinisten laboratorioden on laatua ylläpitääkseen osallistuttava laboratorioden välisiin vertailuihin (Suomen standardisoimisliitto SFS 2007, 50). Tulostason vertailu muiden laboratorioden kesken onnistuu osallistumalla ulkoisiin laadunarviointikierroksiin, sillä jälkeinpäin kierroksen tulokset ovat osallistujien saatavilla (Törmä 2003, 24).

Ulkoinen laadunarviointi tapahtuu laboratoriossa, mutta toiminta on muun tahon kuin laboratorion organisoimaa. Suomessa ulkoinen laadunarviointi tapahtuu

pääasiassa Labquality Oy:n toimesta ja se toteutetaan käytännössä osallistamalla sen järjestämiin laadunarviointikierroksiin. Kierroksilla toimitaan siten, että Labquality lähettää osallistuville laboratorioille analysoitavaksi laadunarviointinäytteitä. (Penttilä 2004b, 38; Törmä 2003, 24.)

Laadunarviointinäytteet ovat tunnetun pitoisuuden omaavia, ja ne analysoidaan potilasnäytteen tavoin. Laadunarviointinäytteet poikkeavat kontrollinäytteistä siten, että analysoiva laboratorio ei tiedä näytteen pitoisuutta tai tavoiteltavaa tulosta sitä määrittäessään. (Penttilä 2004b, 38.) Laskon laadunarviointikierroksella käytetty verisolususpensionäyte analysoidaan kierrokseen osallistuvassa laboratoriossa, ja tuloslomake lähetetään määräaikaan mennessä järjestäjälle eli Labquality Oy:lle. Laskon laadunarviointikierroksella laadunarviointinäytteelle ei ole määritetty ennakkoon referenssimenetelmäarvoa, vaan kierrokseen osallistuneiden vastausten keskiarvo toimii oletusvastauksena. (Tikka 2010.)

Koska laboratorioilla on erilaisia laskonmääritysmenetelmiä, tämä otetaan huomioon laadunarvioinnissa. Tulokset jaetaan ensin kolmeen eri pääryhmään: Westergrenin, manuaalilaitteiden sekä automaattilaitteiden ryhmiin. Näiden ryhmien tulokset jaetaan vielä alaryhmiin menetelmittain. Jokaiselle eri analysointimenetelmän perusteella jaotellulle ryhmälle on oma vastausten oletusarvona toimiva keskiarvo. Laskolle suunnattuja laadunarviointikierroksia järjestetään neljä kertaa vuodessa, ja niiden osallistujamäärä vaihtelee kierroksesta riippuen 90:n ja 250:n välillä. (Tikka 2010.)

#### **4 AIKAISEMMAT TUTKIMUKSET**

Aiempia, täysin samalla tavalla toteutettuja tutkimuksia ei onnistuttu löytämään. Laskoa on kuitenkin tutkittu monilla eri tavoilla. On selvitetty muun muassa näytteen säilyvyyttä laskoputkessa 4 °C:ssä 24 tunnin ajan, ja todettu sen tällöin säilyvän analysointikelpoisena (Patton, Meyer & Stuart 1989, 313).

1990-luvun lopussa on tutkittu EDTA-antikoaguloitun verinäytteen sopivuutta laskomääritykseen. Tutkimuksessa verrattiin Westergrenin menetelmän mukaisesti sitraatilla laimennetusta näytteestä saatua tulosta sekä EDTA-antikoaguloitusta verestä tehdyn mittauksen tulosta. Mittausmenetelmä siis oli sama, mutta näytteen antikoagulantti ja konsentraatio muuttuivat. Tutkimustulosten perusteella tutkija suosittelee EDTA-näytteestä suoraan tehtävää laskon määritystä perinteisen sitraattiantikoaguloitun näytteen sijasta. Tutkimuksessa putkissa käytetty antikoagulantti oli nestemäistä tri-kalium (K3) EDTA:ta. Tutkimuksesta kertovassa artikkelissa viitataan Tampereen terveydenhuolto-opilaitoksessa vuonna 1995 tehtyyn julkaisemattomaan tutkielmaan, jossa on havaittu sitraatin ja EDTA:n yhteisvaikutuksen olevan haitaksi laskotulokselle. (Horsti & Kovanen 1999, 246–249.)

Helmikuussa 2008 tehdyssä StaRRsed AutoCompact -laskoanalysointilaitteen koestuksessa tutkittiin samalla EDTA-näytteiden säilyvyyttä laskoanalyysiä varten. Artikkelissa ei mainita, onko EDTA ollut putkessa kiinteänä, nestemäisenä vai sumutteena, ja onko se ollut di- vai tri-kalium -muodossa. Laskot analysoitiin laitteella täysin automaattisesti suoraan EDTA-antikoaguloitusta verestä Westergrenin menetelmään perustuen. EDTA-näytteen säilyvyydestä koestuksen tekijät toteavat, että ”näytteiden kohtuullinen säilyvyys huoneenlämpötilassa työpäivän ajan n. 8 tuntia ja jääkaappilämpötilassa ainakin 36 tuntia vaikuttaa lupaavalta”. Pitkässä jääkaappisäilytyksessä (24–48 h) näytteisiin kerrotaan kuitenkin muodostuneen analysointia häiritseviä hyytymiä. (Kurkijärvi ym. 2009, 5–11.)

Koestuksen ohessa näytteen säilyvyyttä huoneenlämmössä tutkittiin kolmesta toista EDTA-putkeen otetusta näytteestä. Näitä näytteitä säilytettiin huoneenlämmössä noin kahdeksan tunnin ajan ennen analysointia. Jääkaappilämpötilassa säilytetyjä näytteitä oli 38. Ne analysoitiin heti näytteenoton jälkeen, sekä 24, 38 ja 48 tunnin kuluttua näytteenotosta. Tutkijat pohtivat säilyvyydestä johtuvan suppeutta, koska harvassa näytteessä laskoarvo oli suuri ja tutkimuksessa mukana olleiden näytteiden määrä oli pienempi. (Kurkijärvi ym. 2009, 5–11.)

## 5 OPINNÄYTETYÖN TARKOITUS JA TUTKIMUSONGELMAT

Tämän opinnäytetyön tarkoituksena oli tutkia EDTA-antikoaguloitun laskimoverinäytteen soveltuvuutta laskon määrittämiseen sekä sitä, säilyykö laskimoverinäyte kahdeksan tuntia huoneenlämmössä sitraatilla antikoaguloituna. Tarkoituksena oli myös selvittää, säilyykö laskimoverinäyte kahdeksan tuntia laskon määrittämistä varten yhtä hyvin sitraatissa ja EDTA:ssa. Säilytysajaksi valitun kahdeksan tunnin tarkoituksena oli vastata työpäivän kestoa, sillä keskitetysti analysoidut laboratorionäytteet otetaan ja kuljetetaan pääsääntöisesti saman työpäivän aikana. Näin laskonäytteiden säilytysajaksi tulee käytännössä korkeintaan kahdeksan tuntia.

Opinnäytetyön tutkimusongelmat:

1. Soveltuuko EDTA-putkesta laskoputkeen siirretty laskimoverinäyte laskon mittaukseen?
2. Säilyykö laskimoverinäyte laskon mittausta varten huoneenlämmössä laskoputkessa kahdeksan tunnin ajan?
3. Säilyykö laskimoverinäyte laskon mittausta varten huoneenlämmössä yhtä hyvin EDTA-putkessa ja laskoputkessa kahdeksan tunnin ajan?

## 6 TUTKIMUSMENETELMÄ JA TUTKIMUKSEN TOTEUTUS

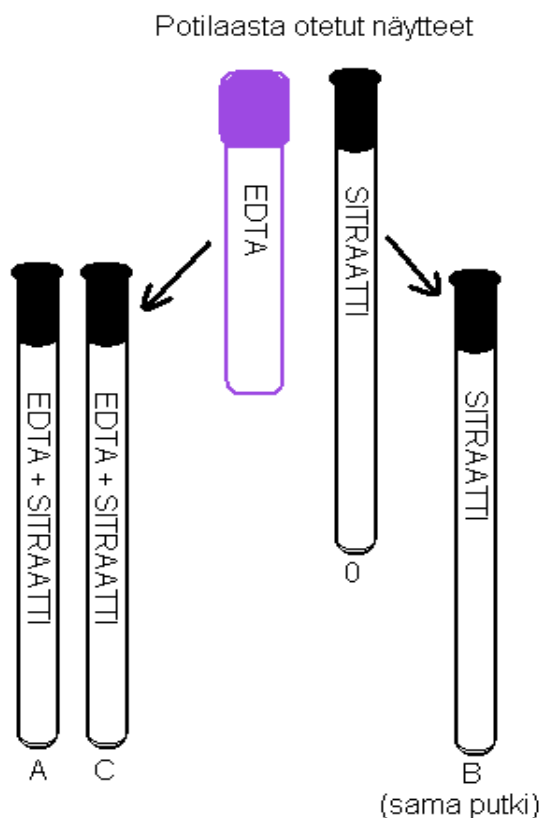
Tämä opinnäytetyö on kvantitatiivinen eli määrällinen tutkimus (vrt. Hirsjärvi 2009, 140). Kvantitatiivinen tutkimus perustuu numeeriseen tietoon, jota tutkitaan tilastollisin menetelmin. Aineisto tutkimukseen voidaan saada muun muassa tilastoista, rekistereistä tai itse keräämällä. Mikäli aineisto hankitaan itse, tutkijan täytyy pohtia, miten tieto kerätään. Myös kerättävän tiedon määrä on päätettävä. Se on osattava suhteuttaa käytettävissä oleviin resursseihin, mutta tiedon on oltava tutkimuksen luotettavuuden kannalta riittävä. (Heikkilä 2002, 16–19.) Tässä opinnäytetyössä tutkimusaineiston koko määräytyi aineiston kerää-

miseen käytettävissä olevan ajan perusteella, mutta aineiston koon haluttiin kuitenkin olevan tutkimuksen luotettavuuden takaamiseksi tarpeeksi suuri.

Tämä opinnäytetyönä tehty tutkimus luokitellaan kokeelliseksi tutkimukseksi (vrt. Heikkilä 2002, 21), sillä tutkimuksessa verrattiin tietyn antikoagulantin ja näytteenotosta mittaukseen kuluneen ajan vaikutusta laskotulokseen. Koska kokeellisessa tutkimuksessa on tarkoitus tutkia tiettyjen muuttujien vaikutusta ilmiöön, muut vaikuttavat tekijät pyritään vakioimaan. (Heikkilä 2002, 21; Karjalainen 2010, 11–12.) Tässä tutkimuksessa muuttujina ovat antikoagulantti ja aika, ilmiönä laskoanalyysi. Mitattavien näytteiden sekoitusajat sekä säilytys- ja analysointiolosuhteet pidettiin vakioituina.

## **6.1 Tutkimusaineisto ja tutkimuksen toteutus**

Tutkimusaineisto koostui Itä-Suomen laboratorokeskuksen liikelaitoskuntayhtymään (ISLAB) kuuluvan aluelaboratorion asiakkaiden näytteistä. Näytteet otettiin viidestäkymmenestä vapaaehtoisesta henkilöstä, joilla oli tutkimuspyyntö laskoa varten. Pyydetyn laskon lisäksi henkilöstä otettiin tutkimuskäyttöön tarvittava yksi 6 ml:n EDTA-putki, josta näytettä jaettiin tutkimuksen aikana kahteen eri laskoputkeen. Näytteen riittävyttä EDTA-putkesta laskoputkiin testattiin tutkimuksen suunnitteluvaiheessa. Kukin laskoputki edusti tiettyä näyteryhmää (kuvio 1). Näytteenoton jälkeen potilasnäyte ja tutkimuskäyttöön otettu putki numeroitiin samalla numerolla ja näytteenottoaika kirjattiin ylös sekä putkiin että laboratoriapäiväkirjaan. Kaikkien tutkimukseen tulevien näytteiden kanssa toimittiin samalla tavalla. Tutkimusaineiston keruu ja näytteiden analysointi tapahtuivat 31.5. – 4.6.2010.



Kuvio 1. Potilaasta otettujen näytteiden jakautuminen näytteryhmiksi.

Näytteryhmät:

**0** = Näytteessä antikoagulanttina sitraatti, mittaus kahden tunnin kuluessa näytteenotosta.

**A** = Näytteessä antikoagulanttina EDTA ja sitraatti, mittaus kahden tunnin kuluessa näytteenotosta.

**B** = Näytteessä antikoagulanttina sitraatti, mittaus kahdeksan tunnin kuluessa näytteenotosta.

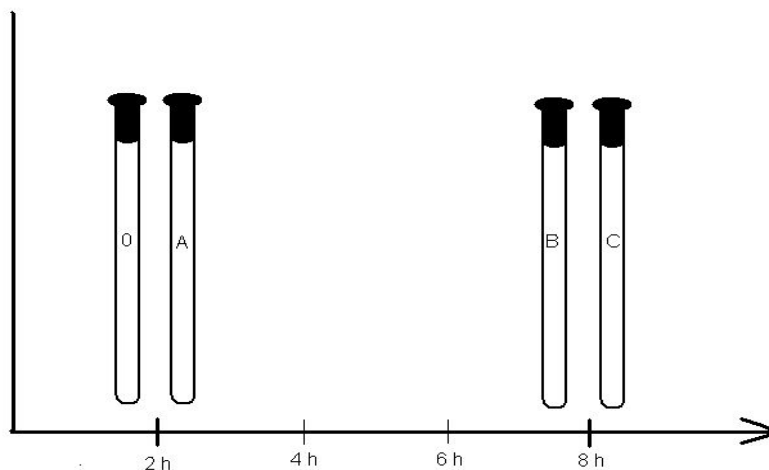
**C** = Näytteessä antikoagulanttina EDTA ja sitraatti, mittaus kahdeksan tunnin kuluessa näytteenotosta.

Näytteet analysoitiin Sed Rate Timer -laskoanalysaattorilla. Sillä voitiin tehdä laskomäärityksiä jatkuvatoimisesti kahdestakymmenestä putkesta yhtä aikaa. Analysaattori hylkäisi automaattisesti tiettyjen kriteerien mukaisesti ne putket, joista laskoa ei voida määrittää. Tällaisia olisivat esimerkiksi vajaat tai liian täydet näyteputket. Tässä tutkimuksessa käytetyn laitteen tehdasasetusten mukaisesti mittaus kesti 30 minuuttia ja laite antoi tuloksen yksikössä mm/1h Wester-

gren, eli tulostaso oli automaattisesti referenssimenetelmän mukainen. Laite mittasi koko ajan huoneen lämpötilaa ja muunsi laskotuloksen suoraan 18 °C:en referenssilämpötilatulosta vastaavaksi Manleyn taulukon (Liite 1) mukaan. Käytetyn analysaattorin optinen määrittystarkkuus on +/- 0,2 mm, toistotarkkuus: cv < 5 % ja mittausalue 1-140mm/h. (Greiner Bio-One/Mekalasi 2003.)

Yhden henkilön näytteistä tehtiin kaikkiaan neljä mittausta, jotka suoritettiin kahdena eri ajankohtana (kuvio 2). Näytteet analysoitiin porrastetusti näytteenottoajan perusteella. Ensimmäisen mittauksen tarkoituksena oli selvittää, muuttuuko laskotulos, kun laskimoverinäyte on antikoaguloitu sitraatin lisäksi ensin EDTA:lla. Ensimmäisessä mittauksessa mitattiin laskoputkessa oleva tutkimuksen vertailunäytteenä käytetty potilasnäyte (0), sekä EDTA-putkesta laskoputkeen siirretty näyte (A). Näytteiden vertailukelpoisuuden vuoksi ensimmäisen mittauksen aikarajaksi asetettiin kaksi tuntia näytteenotosta. Näytteet analysoitiin 45 minuutin - kahden tunnin kuluessa näytteenotosta, kuitenkin siten, että samasta henkilöstä peräisin olevat näytteet mitattiin täysin samanaikaisesti. Tutkimuksessa käytetyn analysaattorin ohjeessa analysoinnin aikarajaksi annetaan korkeintaan kolmesta neljään tuntia, mutta tutkimuksessa haluttiin minimoida säilytyksen vaikutusta näytteen laatuun ensimmäisen mittauksen osalta.

Toisessa mittauksessa tutkittiin, säilyykö näyte huoneenlämmössä analyysikelpoisena kahdeksan tunnin ajan sitraatissa ja EDTA:ssa säilytettynä. Toinen mitaus tehtiin tarkalleen kahdeksan tunnin kuluessa näytteenotosta molempien näyteryhmien (B ja C) kullekin näytteelle. Näytteet laitettiin analysaattoriin seitsemän ja puolen tunnin kuluttua näytteenotosta, sillä analysointiaika (30 minuuttia) laskettiin säilytysajaksi. Näyteryhmien samaan aikaan otetut näytteet mitattiin yhtäaikaisesti. Näin ollen näytteen säilytysaika sitraatissa eli laskoputkessa säilytetyille näytteille oli kahdeksan tuntia ja EDTA:ssa säilytetyille näytteelle 7 tuntia 25 minuuttia. Tämä selittyy sillä, että C-ryhmän näytteet siirrettiin EDTA-putkesta laskoputkeen ja sekoitettiin viisi minuuttia ennen putken analysaattoriin laittoa. Toisessa, kahdeksan tunnin kuluessa näytteenotosta tehdyssä mittauksessa mitattiin alkuperäinen potilasnäyte (0), joka tässä mittauksessa sai ryhmätunnuksen B, sekä hieman ennen analysointia EDTA-putkesta laskoputkeen siirretty näyte C (kuvio 2).



Kuvio 2. Näytteiden 0, A, B ja C analysointiajat

Ennen jokaista mittausta laskoputkessa olevia näytteitä sekoitettiin vähintään viisi minuuttia. Samoin toimittiin EDTA-putkien kanssa ennen näytteen siirtoa laskoputkeen. Laskoputkissa näytteen sekoittuvuuteen kiinnitettiin huomiota, jotta kaikki näytteet sekoittuivat tasaisesti.

Tutkimuksen aikana analyttistä laatua varmistettiin Sed-Chek<sup>®</sup>2 -nimisen kaupallisen kontrollin avulla. Laboratoriossa oli käytössä normaalin (Normal) ja korkean (Abnormal) tason kontrollit, joita käytettiin vuorotellen kuukausi kerrallaan. Opinnäytetyön käytännön työskentelyn aikana käytettiin normaalin tason kontrolloita. Kontrollinäyte analysoitiin normaalisti joka aamu, mutta tutkimuksen aikana kontrolleja analysoitiin useammin, jotta kaikki näytepaikat tulivat testattua. Kontrollimittaukset osoittivat näytepaikkojen olevan mittauskunnossa. Tutkimuksen luotettavuuden ylläpitämiseksi tutkimuksen ajan pidettiin laboratoriotyöskentelyn tukena päiväkirjaa, johon kirjattiin muun muassa kaikkien näytteiden tutkimusnumerot, näytteiden analysointiajat, tulokset ja mahdolliset poikkeamat näytteiden sekoittuvuudessa tai sekoitustavassa.

Tutkimuksessa käytetyt näyteputket (liite 2) ja näytteen siirtoon käytetyt adapterit saatiin opinnäytetyöhön Mekalasi Oy:ltä. Tutkimuksen toteutus tapahtui yhteistyössä Itä-Suomen laboratoriokeskuksen liikelaitoskuntayhtymään kuuluvan aluelaboratorion kanssa.



## 6.2 Tutkimustulosten tilastollinen käsittely

Kahden laboratorioanalytiikassa käytettävän menetelmän asianmukainen vertailu on hyvä tehdä tilastollisiin menetelmiin perustuen (Mocák, Balla, Bobrowski & Blažíček 2002, 143). Sed Rate Timer -laskoanalysointorilla saadut tulokset (liite 3) käsiteltiin tilastollisesti SPSS 17.0 -ohjelmalla. Näyteryhmille määritettiin tutkimuksen kannalta oleelliset tilastolliset tunnusluvut. Kaikista keskenään verrattavista näyteryhmistä piirrettiin hajontakuviot, joihin sovitettiin regressiosuorat kuvaamaan riippuvuuden lineaarisuutta. Vertailtaville ryhmille laskettiin korrelaatiokertoimet ja testattiin ryhmät vielä Wilcoxonin merkittyjen järjestyslukujen testillä.

### 6.2.1 Tilastolliset tunnusluvut

Tilastolliset tunnusluvut antavat tietoa aineiston jakauman muodosta (Heikkilä 2008, 169). Jakauman muoto puolestaan vaikuttaa siihen, mitkä tilastolliset analyysit soveltuvat aineiston analysointiin (Metsämuuronen 2003, 356). Kun aineiston jakauma on normaali, mediaani ja keskiarvo ovat lähellä toisiaan (Karjalainen 2010, 91). Mikäli ne poikkeavat paljon toisistaan, jakauma on vino (Holopainen, Tenhunen & Vuorinen 2004, 138).

Keskiarvo on havaintoarvojen summa jaettuna niiden määrällä. Mediaani ilmoittaa jakauman keskimmäisen arvon, kun havaintoarvot on sijoitettu suuruusjärjestyksessä peräkkäin. Mikäli havaintoarvoja on parillinen määrä, mediaani on kahden keskimmäisen arvon keskiarvo. Keskihajonnasta puolestaan käy ilmi havaintoarvojen etäisyys keskiarvosta. Aineiston jakauman ollessa vino, poikkeavat havainnot vaikuttavat keskiarvoon, mutta eivät mediaaniin. Siksi voidaan ajatella, että keskiarvo ei kerro mitään oleellista sellaisesta aineistosta. (Karjalainen 2010, 87, 88, 90.)

## 6.2.2 Pearsonin korrelaatiokerroin

Muuttujien välistä yhteyttä voidaan tarkastella korrelaatiokertoimen avulla. Kun muuttujat ovat vähintään välimatka-asteikollisia, voidaan käyttää Pearsonin korrelaatiokerrointa. Sillä mitataan muuttujien välisten lineaaristen yhteyksien suuruutta. (Heikkilä 2008, 203.) Pearsonin korrelaatiokerroin on järkevää selvittää, mikäli kahden muuttujan välillä on hajontakuviossa havaittavissa edes jonkinlainen lineaarinen yhteys. Jos yhteys ei ole lineaarista, Pearsonin korrelaatiokertoimella ei saa oikeaa kuvaa muuttujien välisestä yhteydestä. (Holopainen ym. 2004, 173.)

Pearsonin korrelaatiokertoimen numeerinen arvo on aina  $-1:n$  ja  $+1:n$  välillä. Mitä lähempänä nollaa korrelaatiokerroin on, sitä pienempi on muuttujien välinen lineaarinen riippuvuus. Mikäli korrelaatiokertoimen arvo on positiivinen, verrattavat muuttujat muuttuvat samaan suuntaan. Tämä tarkoittaa sitä, että toisen muuttujan arvon kasvaessa myös toisen muuttujan arvo kasvaa. Kun korrelaatiokerroin on negatiivinen, muutokset muuttujissa tapahtuvat eri suuntaan. Tällöin toisen muuttujan arvon kasvaessa toisen arvo pienenee. (Karjalainen 2010, 125–126.)

Korrelaatiokertoimen tilastollisesti merkitsevä ero nollasta riippuu kuitenkin aineiston koosta eli havaintojen lukumäärästä (Karjalainen 2010, 128). Tilastollinen merkitsevyys saadaan selville merkitsevyytason avulla. Se voidaan ilmoittaa muun muassa  $p$ -arvona. Mitä pienempi  $p$ -arvo on, sitä paremmin korrelaatiokertoimen tilastolliseen merkitsevyyteen voi luottaa. (Heikkilä 2008, 194, 206.)

## 6.2.3 Wilcoxonin merkittyjen järjestyslukujen testi

Wilcoxonin merkittyjen järjestyslukujen testillä verrataan kahden toisistaan riippuvan otoksen keskiarvoja. Testiä käytetään toistettujen mittausten testaamiseen, kun aineiston jakauma on vino. Testausta varten aineistosta täytyy muodostaa hypoteesiparit eli nollahypoteesi ja vaihtoehtoinen hypoteesi. Nollahypo-

teesina Wilcoxonin merkittyjen järjestyslukujen testissä on kahden järjestysluku-jakauman identtisyys ja vaihtoehtohypoteesina se, etteivät ne ole identtisiä. (Nummenmaa 2004, 167, 169, 253.) Tässä tutkimuksessa nollahypoteesi tarkoittaa sitä, että kahden verrattavan näyteryhmän keskiarvot ovat samat. Vaihtoehtoinen hypoteesi määritellään niin, että kahden näyteryhmän keskiarvot eivät ole samat.

Wilcoxonin testistä saadaan T-testisuureen arvo, jonka perusteella nollahypoteesi hylätään tai jätetään voimaan. Kun saatu T-arvo on pienempi kuin kriittinen arvo, nollahypoteesi jää voimaan. Tässä tutkimuksessa nollahypoteesin voimaanjääminen tarkoittaisi sitä, että verrattavien ryhmien tuloksilla ei ole eroa. T-arvon ollessa kriittistä arvoa suurempi nollahypoteesi vastaavasti hylätään. Tällöin se tarkoittaisi tässä tutkimuksessa sitä, että verrattavien ryhmien tuloksissa on eroa. Wilcoxonin merkittyjen järjestyslukujen testissä käytetään taulukoitua kriittistä arvoa, joka määräytyy aineiston koon perusteella. Kriittinen arvo vaihtelee myös halutun merkitsevyytason mukaan. (Nummenmaa 2004, 253–254, 388.) Usein käytetään 0,05 merkitsevyytaso, eli tällöin tilastollinen testaaminen tehdään 5 %:n merkitsevyytastolla. Tämä tarkoittaa sitä, että hypoteesin hylkäämisvirheen todennäköisyys on 5 prosenttia. (Heikkilä 2008, 194–195.)

## 7 TULOKSET

Sed Rate Timer -laskoanalysointorilla saadut laskotulokset käsiteltiin SPSS -tilasto-ohjelmalla näyteryhmittäin. Ryhmät määriteltiin kappaleessa 6.1. Aluksi selvitettiin ryhmien tilastolliset tunnusluvut. Ne ovat nähtävissä taulukossa 1.

Taulukko 1. Aineistosta saadut tilastolliset tunnusluvut.

|   | Mediaani (md)<br>mm/h | Keskiarvo ( $\bar{x}$ )<br>mm/h | Keskihajonta (SD)<br>mm/h |
|---|-----------------------|---------------------------------|---------------------------|
| 0 | 12,5                  | 21,7                            | 25,521                    |
| A | 10,5                  | 22,34                           | 26,053                    |
| B | 8,5                   | 19,58                           | 25,304                    |
| C | 10,5                  | 22,48                           | 27,185                    |

Näyteryhmiä 0, A, B ja C verrattiin sillä periaatteella, että näyteryhmien vertailut antaisivat vastaukset kappaleen 5 tutkimusongelmiin. Keskenään verrattiin ryhmiä 0 ja A, 0 ja B sekä 0 ja C. Vertailtavien ryhmien välisistä laskoanalysaattorin antamista tuloksista piirrettiin hajontakuviot (kuvio 3 kappaleessa 7.1, kuviot 4 ja 5 kappaleessa 7.2), joihin asetettiin lineaarisuuden kuvaamiseksi regressiosuorat (vrt. Karjalainen 2010, 136). Seuraavaksi edellä mainittujen ryhmien välille laskettiin korrelaatiokertoimet (liite 4), ja ryhmät testattiin myös Wilcoxonin merkittyjen järjestyslukujen testillä. Testin numeeriset tulokset ovat nähtävissä liitteessä 4.

### **7.1 Sitraatin ja EDTA:n yhteisvaikutus laskotulokseen**

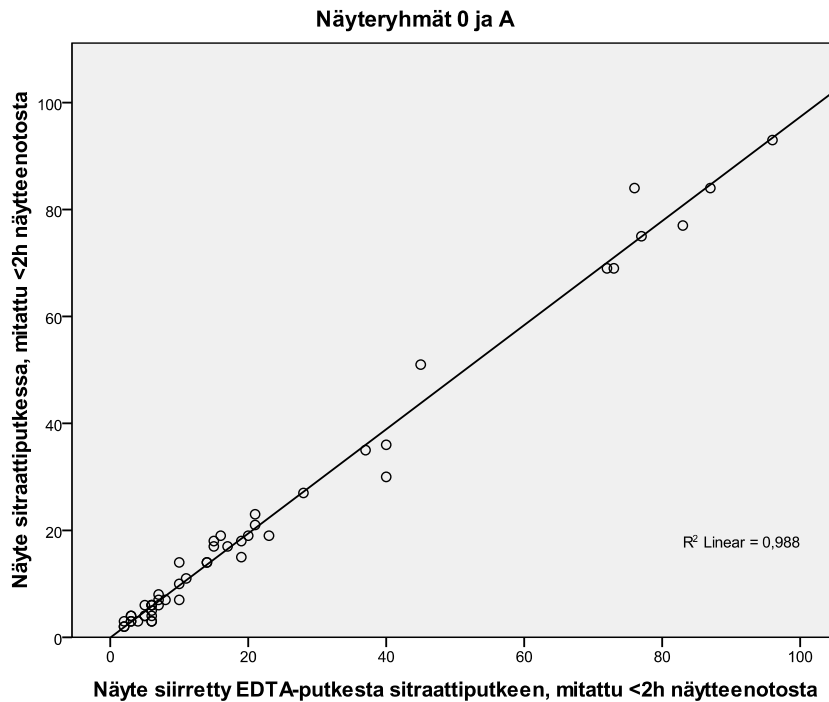
Näyteryhmiä 0 ja A testatessa selvitettiin, onko EDTA:lla vaikutusta laskotulokseen, kun näytteet analysoidaan kahden tunnin kuluessa näytteenotosta.

Wilcoxonin merkittyjen järjestyslukujen testiä varten näyteryhmille 0 ja A asetetut hypoteesit olivat:

$H_0$ : EDTA ei vaikuta laskotulokseen, kun näytteet analysoidaan kahden tunnin kuluessa näytteenotosta.

$H_1$ : EDTA vaikuttaa laskotulokseen, kun näytteet analysoidaan kahden tunnin kuluessa näytteenotosta.

Näyteryhmien välisistä tuloksista piirrettiin hajontakuviot (kuvio 3). Ryhmien välinen korrelaatiokerroin oli 0,994. P-arvo oli 0,000.



Kuvio 3. Hajontakuvio ja regressiosuora näyteryhmien 0 ja A tuloksista.

Wilcoxonin merkittyjen järjestyslukujen testissä näyteryhmiä 0 ja A testatessa saatiin T-testisuureen arvoksi 217. Kun aineiston koko oli 50, taulukoitu kriittinen arvo 5 %:n merkitsevyydellä on 434. Testissä saatu T-testisuure on siis pienempi kuin kriittinen arvo. Tällöin nollahypoteesi jää voimaan. SPSS – tilasto-ohjelman antama Z-arvo on -1,8 ja sen p-arvo 0,060.

## 7.2 Laskonäytteen säilyvyyden tutkiminen

Näyteryhmiä 0 ja B testatessa selvitettiin, eroavatko laskotulokset toisistaan, kun näytettä säilytetään huoneenlämmössä laskoputkessa ja analysoidaan kahden ja kahdeksan tunnin kuluessa näytteenotosta.

Wilcoxonin merkittyjen järjestyslukujen testiä varten näyteryhmille asetetut hypoteesit olivat:

$H_0$ : Laskotulokset eivät muutu, kun näytettä säilytetään huoneenlämmössä 8 h laskoputkessa.

$H_1$ : Laskotulokset muuttuvat, kun näytettä säilytetään huoneenlämmössä 8 h laskoputkessa.

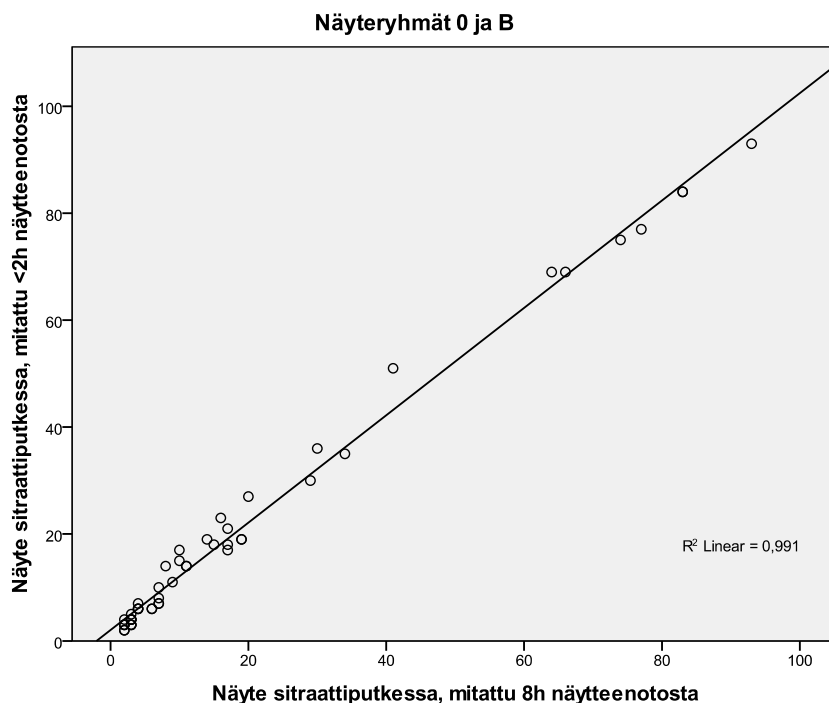
Näyteryhmiä 0 ja C testatessa selvitettiin, muuttuuko laskotulos alkuperäisen potilasnäytteen tuloksesta, kun näytettä säilytetään huoneenlämmössä noin 7 tuntia 25 minuuttia EDTA-putkessa.

Wilcoxonin merkittyjen järjestyslukujen testiä varten näyteryhmille asetetut hypoteesit olivat:

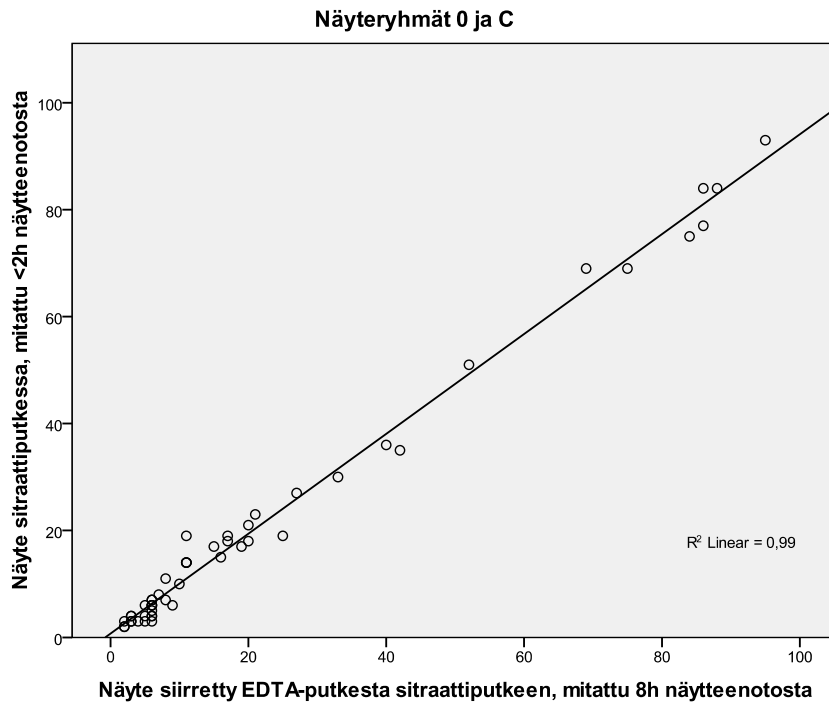
$H_0$ : Laskotulokset eivät muutu, kun näytettä säilytetään huoneenlämmössä EDTA-putkessa, ja mitataan kahdeksan tunnin kuluessa näytteenotosta.

$H_1$ : Laskotulokset muuttuvat, kun näytettä säilytetään huoneenlämmössä EDTA-putkessa, ja mitataan kahdeksan tunnin kuluessa näytteenotosta.

Näyteryhmien 0 ja B sekä 0 ja C tuloksista piirrettiin hajontakuviot (kuviot 4 ja 5). Ryhmien väliset korrelaatiokertoimien arvot olivat 0,996 ja 0,995. P-arvot olivat molemmissa 0,000.



Kuvio 4. Hajontakuviot ja regressiosuora näyteryhmien 0 ja B tuloksista.



Kuvio 5. Hajontakuvio ja regressiosuora näyteryhmien 0 ja C tuloksista.

Wilcoxonin merkittyjen järjestyslukujen testillä 0 ja B -näyteryhmiä testatessa saatiin T-testisuureen arvoksi 0. Kun aineiston koko on 50, taulukoitu kriittinen arvo 5 %:n merkitsevyytasolla on 434. Testissä saatu T-testisuure on siis pienempi kuin kriittinen arvo. Tällöin nollahypoteesi jää voimaan. Z-arvo on -5,3 ja sen p-arvo on 0,0.

Näyteryhmiä 0 ja C testatessa T-testisuureen arvoksi saatiin 287,5. Myös näiden näyteryhmien kriittinen arvo 5 %:n merkitsevyytasolla on 434. Tällöin nollahypoteesi jää voimaan. Z-arvo on -1,7 ja sen p-arvo 0,0.

## 8 TULOSTEN TARKASTELU JA JOHTOPÄÄTÖKSET

Tilastollisia tunnuslukuja tarkasteltaessa voidaan huomata, että aineiston havainnot ovat kaukana toisistaan ja jakauma on vino. Jakauman vinous on nähtävissä siitä, että mediaani ja keskiarvo poikkeavat toisistaan huomattavasti. Tämä rajoittaa aineiston analysointia muun muassa siltä osin, että testejä, jotka

edellyttävät aineiston normaalijakaumaa, ei voida käyttää. Tästä syystä aineisto analysoitiin Wilcoxonin merkittyjen järjestyslukujen testillä.

### 8.1 Sitraatin ja EDTA:n yhteisvaikutuksen tulosten tarkastelu

Sitraatin ja EDTA:n yhteisvaikutusta laskotulokseen tutkittaessa verrattiin keskenään näyteryhmiä 0 ja A. Ryhmän 0 näytteet otettiin laskoputkeen, ja mitattiin kahden tunnin kuluessa näytteenotosta. Ryhmän A näytteet otettiin EDTA-putkeen, josta näyte siirrettiin juuri ennen mittausta laskoputkeen. Myös nämä näytteet mitattiin kahden tunnin kuluessa näytteenotosta. Näin tutkittiin sitä, eroaako EDTA-putkesta laskoputkeen siirretyn näytteen tulos suoraan laskoputkeen otetun näytteen tuloksesta, kun näytteet mitataan kahden tunnin kuluessa näytteenotosta.

Näyteryhmien välisistä tuloksista piirretystä hajontakuviosta on nähtävissä lineaarinen riippuvuus (kuvio 3). Korrelaatiokertoimen arvo (0,994) p-arvo (0,000) huomioon ottaen puolestaan kertoo riippuvuuden olevan voimakasta, positiivista ja tilastollisesti merkitsevää. Tämä tarkoittaa sitä, että näyteryhmän 0 tulosten kasvaessa myös näyteryhmän A tulokset kasvavat. Mikäli 0-ryhmän tulokset pienenevät, myös A-ryhmän tulokset pienenevät.

Wilcoxonin merkittyjen järjestyslukujen testissä nollahypoteesi jäi voimaan. Tämä tarkoittaa sitä, että EDTA ei vaikuta laskotulokseen, kun näytteet analysoidaan kahden tunnin kuluessa näytteenotosta. Negatiivinen Z-arvo (-1,8) tarkoittaa sitä, että A-näyteryhmän tulokset ovat keskimääräisesti 1,8 mm/h pienempiä kuin 0-näyteryhmän. P-arvon ollessa 0,060 tulosten eron ei voida sanoa olevan tilastollisesti merkitsevää käytetyn 5 %:n merkitsevyystasolla. Näytteen siirto EDTA-putkesta laskoputkeen ei siis vaikuta tilastollisesti merkitsevästi laskotulokseen.



## 8.2 Laskonäytteen säilyvyyttutkimuksen tulosten tarkastelu

Laskonäytteen säilyvyyttä tutkittaessa verrattiin ensin keskenään näyteryhmiä 0 ja B. Ryhmän 0 näytteet otettiin laskoputkeen, ja mitattiin kahden tunnin kuluessa näytteenotosta. Myös ryhmän B näytteet otettiin laskoputkeen, ja mitattiin kahdeksan tunnin kuluessa näytteenotosta. Kyseisten ryhmien näytteet olivat yksi ja sama näyteputki, joka mitattiin vain eri aikoina. Näin tutkittiin sitä, säilyykö näyte laskoputkessa kahdeksan tunnin ajan huoneenlämmössä.

Näyteryhmien välisistä tuloksista piirretystä hajontakuviosta on nähtävissä lineaarinen riippuvuus (kuvio 4). Korrelaatiokertoimen arvo (0,996) p-arvo (0,000) huomioon ottaen puolestaan kertoo riippuvuuden olevan voimakasta, positiivista ja tilastollisesti merkitsevää. Tämä tarkoittaa sitä, että näyteryhmän 0 tulosten kasvaessa myös näyteryhmän B tulokset kasvavat. Mikäli 0-ryhmän tulokset pienenevät, myös B-ryhmän tulokset pienenevät.

Wilcoxonin merkittyjen järjestyslukujen testissä nollahypoteesi jäi voimaan. Tämä tarkoittaa sitä, että laskotulokset eivät muutu, kun näytettä säilytetään huoneenlämmössä kahdeksan tuntia laskoputkessa. Negatiivinen Z-arvo (-5,3) tarkoittaa sitä, että B-näyteryhmän tulokset ovat keskimääräisesti 5,3 mm/h pienempiä kuin 0-näyteryhmässä. P-arvon ollessa 0,000 tulosten ero on tilastollisesti erittäin merkitsevä (vrt. Heikkilä 2008, 195). Vaikka tuloseron todettiin olevan tilastollisesti erittäin merkitsevä, on muistettava, että nollahypoteesi jäi voimaan.

Säilyvyyttä vertailtaessa verrattiin seuraavaksi keskenään näyteryhmiä 0 ja C. Ryhmän 0 näytteet otettiin laskoputkeen, ja mitattiin kahden tunnin kuluessa näytteenotosta. Ryhmän C näytteet otettiin EDTA-putkeen, josta näyte siirrettiin juuri ennen mittausta laskoputkeen. Näyte mitattiin kahdeksan tunnin kuluessa näytteenotosta. Näin tutkittiin sitä, säilyykö näyte EDTA-putkessa huoneenlämmössä, kun se mitataan kahdeksan tunnin kuluessa näytteenotosta.

Näyteryhmien välisistä tuloksista piirretystä hajontakuviosta on nähtävissä lineaarinen riippuvuus (kuvio 5). Korrelaatiokertoimen arvo (0,995) p-arvo (0,000)

huomioon ottaen puolestaan kertoo riippuvuuden olevan voimakasta, positiivista ja tilastollisesti merkitsevää. Tämä tarkoittaa sitä, että näyteryhmän 0 tulosten kasvaessa myös näyteryhmän C tulokset kasvavat. Mikäli 0-ryhmän tulokset pienenevät, myös C-ryhmän tulokset pienenevät.

Wilcoxonin merkittyjen järjestyslukujen testissä nollahypoteesi jäi voimaan. Tämä tarkoittaa sitä, että laskotulokset eivät muutu, kun näytettä säilytetään huoneenlämmössä EDTA-putkessa, ja mitataan kahdeksan tunnin kuluessa näytteenotosta. Negatiivinen Z-arvo (-1,7) tarkoittaa sitä, että C-näyteryhmän tulokset ovat keskimääräisesti 1,7 mm/h pienempiä kuin 0-näyteryhmässä. P-arvon ollessa 0,097 tulosten ero ei ole tilastollisesti merkitsevää. Näytteen mittaus kahdeksan tunnin kuluessa näytteenotosta EDTA-putkesta laskoputkeen siirretystä näytteestä ei siis vaikuta tilastollisesti merkitsevästi laskotulokseen.

### **8.3 Johtopäätökset**

Edellä esitetyt tulokset ja niiden tarkastelut huomioon ottaen voidaan sanoa, että tämän tutkimuksen perusteella EDTA-putkesta laskoputkeen siirretty laskimoverinäyte soveltuu laskon mittaukseen. Laskimoverinäytteen siirto EDTA-putkesta laskoputkeen laskon mittaamista varten ei muuta laskotulosta tilastollisesti merkitsevästi. Kun lasko mitattiin EDTA-putkesta siirretystä näytteestä kahden tunnin kuluessa näytteenotosta, tulos oli keskimäärin 1,8 mm/h pienempi, kuin vertailunäytteessä. Vertailunäytteenä oli suoraan laskoputkeen otettu, samaan aikaan mitattu laskimoverinäyte. Tämän tutkimuksen perusteella ei siis voitane olla täysin samaa mieltä, kuin kappaleessa 4 mainitussa julkaisemattomassa tutkimuksessa, jossa laskimoverinäytteen siirron EDTA-putkesta laskoputkeen on havaittu olevan haitaksi laskotulokselle.

Wilcoxonin merkittyjen järjestyslukujen testin perusteella laskimoverinäyte säilyy laskon määrittystä varten huoneenlämmössä laskoputkessa kahdeksan tuntia analysointikelpoisena. Tulokset olivat kuitenkin kahdeksan tunnin kuluessa mitatussa näytteessä keskimäärin 5,3 mm/h pienemmät, mikä havaittiin tilastollisesti erittäin merkitseväksi eroiksi.

Laskimoverinäytteen todettiin tässä tutkimuksessa säilyvän laskon mittausta varten EDTA-putkessa kahdeksan tunnin ajan huoneenlämmössä. EDTA-putkessa noin kahdeksan tunnin ajan säilytetyn näytteen tulokset olivat keskimäärin 1,7 mm/h pienemmät, kuin vertailunäytteessä. Tästä voisi päätellä, että mikäli laskonäytettä otettaessa tiedetään näytteen joutuvan odottamaan mittausta useampia, esimerkiksi kahdeksan tuntia, näytteen säilyvyyden kannalta se olisi parempi ottaa EDTA-putkeen. On kuitenkin muistettava, että jokaisen pu-nasolut säilyvät ja käyttäytyvät eri tavalla, mikä on havaittavissa liitteessä 3 olevista laskotuloksista.

## 9 POHDINTA

Tällaisia tutkimuksia, joka tässä toteutettiin opinnäytetyönä, voisi kuvitella tehtävän myös työelämässä työn ohessa. Opinnäytetyöprosessin läpikäyminen havainnollisesti hyvin, mitä kaikkea tutkimusta tehdessä on otettava huomioon. Tämä oli sopivan laajuinen perustutkimus, jonka myötä oppi tutkimuksen suunnittelua, käytännön toteutusta ja tilastollisten menetelmien perusasioiden soveltamista käytännössä. Vaikka eri vaiheissa tehdyt virheet ja huolimattomuudet harmittavat jälkeenpäin, niiden tunnistaminen helpottaa välttämään samoja virheitä mahdollisesti tulevaisuudessa. Opinnäytetyötä tehdessä konkretisoitui erittäin vahvasti se, ettei tutkimusprosessi mene eteenpäin nopealla tempolla. Se vaatii paljon aikaa, tarkkuutta, keskittymistä ja kärsivällisyyttä, mutta on kai-kin puolin opettavainen kokemus. Toisaalta oli hyvä ottaa välillä etäisyyttä työhön. Tällöin sitä pystyi tarkastelemaan hieman eri tavalla.

### 9.1 Tutkimuksen luotettavuus

Tutkimuksen luotettavuutta tarkastellaan arvioimalla sen reliabiliteettia ja validiteettia. Reliabiliteetti tarkoittaa tulosten tarkkuutta, sitä, etteivät tulokset ole satumanvaraisia, vaan mahdollisimman toistettavia myös muiden tekemänä. (Heikkilä 2002, 30.) Tässä tutkimuksessa vain yksi henkilö käsitteli näytteitä

näytteenoton jälkeen. Tällöin näytteiden siirtäminen, sekoitus, analysointi ja säilytys tapahtuivat samoilla vakioituilla tavoilla. Tutkimuksen luotettavuuden kannalta olisi ollut parempi, että jokaista mitattavaa näytettä varten asiakkaasta olisi otettu oma putki. Näin olisi välttytty näytteiden toiselta sekoittamiselta. Nyt ei voida varmuudella sanoa, onko näytteen sekoituksella ollut vaikutusta saatuun laskoarvoon. Tutkimuksen kulku on pyritty ilmaisemaan niin, että se olisi toistettava myös jonkun muun tekemänä.

Heikkilän mukaan tutkimusta tehtäessä on oltava kriittinen ja tarkka sekä huomioitava otoskoon merkitys (Heikkilä 2002, 30). Tutkimuksessa tutkittujen näytteiden otoskoko oli pienehkö, eli suurempi otoskoko olisi johtanut luotettavampiin tutkimustuloksiin. Lähdekritiikki huomioitiin tutkimusta tehdessä esimerkiksi siten, että tutkimuksen suunnitelmaa ja teoreettista viitekehystä kirjoitettaessa pyrittiin löytämään mahdollisimman uusia lähteitä, jotta tutkimus ei perustuisi vanhaan tietoon. Lähteiden alkuperää pohdittiin, ja tutkimuksessa käytettiin vain luotettavina pidettyjä lähteitä.

Koko laboratoriotyöskentelyn ajan työskenneltiin mahdollisimman tarkasti ja toimittiin laboratorion edellyttämien laatuvaatimusten mukaisesti. Tämä toteutui esimerkiksi tutustumalla käytettävään analysaattoriin ennen tutkimuksen alkua, näytteiden tarkoituksenmukaisella käsittelyllä ja tulosten huolellisella kirjaamisella tutkimuspäiväkirjaan. Tutkimuksen aikana pidetty päiväkirja lisäsi osaltaan tutkimuksen luotettavuutta. Siitä kävivät ilmi näytteiden otto- ja analysointiajat sekä mahdolliset poikkeamat näytteiden käsittelyssä tai muissa vastaavissa toimissa.

Lisäluotettavuutta tutkimukseen olisi saatu analysoimalla normaalin tason kontrollin lisäksi myös korkean tason kontrolli. Tältä osin tutkimuksen etukäteissuunnittelu petti ja analysaattorin antamien tulosten luotettavuus hieman kärsi, sillä tutkimusnäytteissä oli korkeitakin laskoarvoja. Korkean ja matalan tulostason kontrolleja analysoitiin tutkimuspaikkana käytetyssä laboratoriossa vuorokuukausin. Korkean tulostason kontrollia oli analysoitu kuukauden ajan noin kuukausi ennen tutkimusajankohtaa.

Tutkimuspaikan ammattitaitoinen henkilökunta kontrolloi laboratorion laskomääritystä päivittäin normaalin tai korkean tulostason kontrolleilla sekä määrätyn väliajoin muilla toimenpiteillä. Muita kirjattuja toimenpiteitä olivat esimerkiksi analyysointipaikan kontrollointi kontrollikyveteillä ja laitteen lämpötilan tarkastus. Laboratoriossa oli nähtävissä lomakkeet, joihin oli merkattu päivittäin kontrollinäytteiden tulokset ja näytteen mittakanava eli näyteputken analysointipaikka analyysointipaikassa. Jokaisessa lomakkeessa oli selkeästi nähtävissä kontrollinäytteiden tulokset koko kuukauden ajalta sekä muut toimenpiteet, joita oli tehty laadun varmistamiseksi. Lomakkeista ilmenevien tietojen perusteella analyysointipaikan antamat tulokset olivat luotettavia, sillä kontrollointitoimenpiteet oli tehty määrätyn väliajoin. Tutkimuksen luotettavuutta olisi kuitenkin parantanut kontrollikyveteiden mittaus tutkimuksen aikana.

Tutkimuksen luotettavuutta olisi voitu parantaa myös sillä, että analyysointipaikat olisi kontrolloitu ennen tutkimuksen aloitusta. Nyt ne kontrolloitiin tutkimuksen alussa samalla kun tutkimusnäytteitä mitattiin. Jos jokin näytepaikoista olisi osoittautunut olevan epäkunnossa, siihen asti mitattuja tutkimustuloksia ei olisi voitu hyväksyä.

Validiteetilla tarkastellaan, missä määrin tutkimus on mitannut sitä, mitä oli tarkoitus mitata (Heikkilä 2002, 186). Tällä tutkimuksella saatiin vastaukset määritettyihin tutkimusongelmiin, joten sillä tavalla mitattuna tutkimus on validi. Validiutta on kuitenkin hankala tarkastella tutkimuksen teon jälkeen, sillä se tulisi varmistaa etukäteen käsitteiden ja muuttujien huolellisella määrittelyllä (Heikkilä 2002, 186). Tämä tutkimus olisi ollut validimpi eli pätevämpi (vrt. Heikkilä 2002, 29), mikäli näytteiden säilyvyyttä tarkasteleva mittaus olisi aloitettu C-näyteeryhmän näytteiltä vasta sitten, kun näytteiden ottamisesta oli kulunut aikaa kahdeksan tuntia. Tällöin myös sen näyteeryhmän näytteiden säilytysaika anti-koagulantissaan EDTA:ssa olisi ollut sama kuin B-näyteeryhmän näytteillä sitraatti-antikoagulantissaan. Toisaalta tällöin C-ryhmän näytteitä olisi säilytetty kaikkiaan 30 minuuttia kauemmin ennen analysointia kuin B-ryhmän näytteitä. Yksi vaihtoehto ongelman ratkaisemiseksi olisi ollut se, että näytteitä olisi säilytetty anti-koagulantissaan kahdeksan tuntia, ja puoli tuntia kestävää mittausaika ei olisi laskettu säilytysaikaan kuuluvaksi ajaksi.

## 9.2 Tutkimuksen eettisyys

Eettisesti hyväksyttävä tutkimus tehdään hyvän tieteellisen käytännön mukaisesti. Tämä tarkoittaa rehellisyyttä, tarkkuutta, avoimuutta ja muiden saavutusten kunnioitusta. Myös tutkimuksen yksityiskohtainen suunnittelu, toteutus sekä raportointi tieteelliselle tiedolle vaaditulla tavalla ovat osa tätä käytäntöä, johon sitoutumisesta vastaa ensisijaisesti tutkija. (Tutkimuseettinen neuvottelukunta 2002.) Tässä tutkimuksessa eettisyys huomioitiin pyrkimällä toimimaan hyvän tieteellisen käytännön mukaisesti, eli toiminta oli rehellistä, tarkkaa ja avointa. Tutkimus suunniteltiin ensin, ja käytännön toteutukseen ryhdyttiin vasta hyväksytyn suunnitelman kanssa. Työskentelyssä noudatettiin huolellisuutta ja tarkkuutta, ja raportointi suoritettiin rehellisesti mitään missään vaiheessa vääristelemättä.

Tutkimuksen eettisyys konkretisoituu muun muassa valinnoissa, sanoissa, teoissa ja toisten ihmisten kohtelussa. Etiikka pyrkii muun muassa ohjaamaan valintaa oikean ja väärän välillä, antamatta kuitenkaan valmiita vastauksia. (Valtakunnallinen terveydenhuollon eettinen neuvottelukunta ETENE, 2001.) Tutkimuslupa tälle tutkimukselle saatiin suullisesti aluelaboratorion johtajalta. Tällöin sovittiin myös, että näytteenantajilta kysyttäisiin henkilökohtaisesti lupa ennen näytteenottoa ylimääräisen putken ottamiseen sekä heidän näytteensä käyttämiseen tutkimusmateriaalina. Jälkeenpäin pohdittuna tutkimuslupa olisi ollut hyvä pyytää myös kirjallisena, ja tutkimuksen tekoon liittyviin lakeihin olisi ehdottomasti pitänyt kiinnittää tarkempaa huomiota. Asiakkaasta otettujen näytteiden määrä on yksi tutkimuksen eettisistä valinnoista.

Tutkimusnäytteet tulivat laboratorion asiakkaista joilta oli määrätty otettavaksi laskonäyte, joten näytteenottoon ei ryhdytty tutkimuksen takia. Tutkimuksen luotettavuuden kannalta olisi ollut parempi ottaa potilaasta kaksi putkea enemmän kuin tässä tutkimuksessa otettiin. Eettisesti oli kuitenkin hyväksyttävämpää minimoida otettavien näyteputkien määrä, sillä kaikilta tutkimukseen osallistuneilta henkilöiltä oli määrätty myös muita laskimoverinäytteitä otettavaksi ja otettavien näyteputkien määrä olisi kasvanut entisestään.

Näytteenantajat olivat täysi-ikäisiä henkilöitä. Heille kerrottiin ennen tutkimukseen suostumista, mitä näytteillä tehdään. Heille selvitettiin myös, etteivät heidän henkilötietonsa olisi mukana tutkimuksessa. Näytteenantajilla oli myös täysi oikeus olla osallistumatta tutkimukseen. Näytteenantajien nimet ja henkilötiedot poistettiin näyteputkista siinä vaiheessa, kun tulos oli vastattu potilastietojärjestelmään. Tämän jälkeen näytteitä tai tuloksia ei voitu mitenkään yhdistää näytteenantajaan. Anonymiteetin vuoksi lupaa näytteiden käyttöön ei tarvittu laboratorion ulkopuolelta (Ihalainen 2002, 136). Näytteenantajista ei tutkimuksen misään vaiheessa kirjattu muistiin ikää, sukupuolta tai muitakaan tietoja, sillä näillä tiedoilla ei ollut merkitystä tutkimuksen kannalta.

### **9.3 Tutkimuksen hyödynnettävyys ja jatkotutkimusaiheet**

Tutkimustuloksia voidaan hyödyntää käytännön laboratoriotyöskentelyssä, kun pohditaan EDTA-putkesta laskoputkeen siirretyn laskonäytteen tuloksen luotettavuutta. Vaikka asiaa on tutkittu aiemminkin, siitä ei löydetty julkaistuja tutkimuksia. Näytteiden säilyvyyden tutkiminen on tärkeää, sillä laboratorionäytteiden analysointia on viime vuosina keskitetty Suomessa. Keskittäminen toteutuu paikoin siten, että näytteet kuljetetaan kerran päivässä näytteet ottavasta paikasta näytteet analysoivaan laboratorioon. Tällöin on hyvin yleistä esimerkiksi laskonäytteen kohdalla, että näyte on otettu kello 7.00 ja se analysoidaan vasta kello 14.00 tai myöhemminkin, kun näytekuljetus on tuonut näytteet keskuslaboratorioon.

Tässä tutkimuksessa havaittiin, että näyte säilyy laskoputkessa ja EDTA-putkessa huoneenlämmössä kahdeksan tunnin ajan analysointikelpoisena. Tällöin tulokset olivat tilastollisten menetelmien mukaan vertailukelpoisia kahden tunnin sisällä näytteenotosta analysoituihin näytteisiin verrattuna. Jatkotutkimusaiheena voisi vertailla laskotutkimukseen tarkoitettua laskimoverinäytteen säilyvyyttä huoneenlämmössä ja jääkaappilämpötilassa sekä EDTA- että laskoputkessa kauemmin, kuin kahdeksan tunnin ajan.

## LÄHTEET

- Aapa, T. 2010. Aluepäällikkö. Mekalasi Oy. Sähköposti 15.11.2010.
- Bioclin Oy. 2010. B-Trol Plus Laskokontrolli. Bioclin Oy. [http://www.bioclin.fi/tuotteet/hematologia\\_ja\\_hyytymistutkimuks/b-trol\\_plus\\_laskokontrolli/](http://www.bioclin.fi/tuotteet/hematologia_ja_hyytymistutkimuks/b-trol_plus_laskokontrolli/). 23.9.2010.
- Bio-Rad Laboratories, Inc. 2010. Quality Control Products. Hematologu Controls. Liquicheck Sedimentation Rate Conrol. <http://www3.bio-rad.com/B2B/BioRad/product>. 18.11.2010.
- Endres, D.B. & Rude, R.K. 1999. Mineral and Bone Metabolism. Teoksessa Burtis, C.A. & Ashwood, E.R. Tietz Textbook of Clinical Chemistry. Third Edition. Philadelphia: Saunders, 1395–1457.
- Eurachem. 1997. Analyttisen ja kliinisen kemian laadunvarmistussanasto. Helsinki: Eurachem-Suomi, KRP, Rikostekninen laboratorio.
- Greiner Bio-One/Mekalasi. 2003. Sed Rate Timer -laskoanalysaattori. Käyttöohje.
- Guder, W.G., Narayanan, S., Wisser, H. & Zawta, B. 1996. Samples: From the Patient to the Laboratory. The Impact of preanalytical variables on the quality of laboratory results. Darmstadt: Git Verlag.
- Hall, R. & Malia, R.G. 1991. Medical Laboratory Haematology. Second Edition. Oxford; Butterworth-Heinemann.
- Heikkilä, T. 2002. Tilastollinen tutkimus. Helsinki: Edita.
- Hirsjärvi, S. 2009. Metodologiset ja teoreettiset lähtökohdat. Teoksessa Hirsjärvi, S., Remes, P. & Sajavaara, P. Tutki ja kirjoita. Helsinki: Tammi, 123–165.
- Hoffbrand, A.V., Moss, P.A.H. & Pettit, J.E. 2006. Essential Haematology. Oxford: Blackwell Publishing.
- Holopainen, M., Tenhunen, L. & Vuorinen, P. 2004. Tutkimusaineiston analysointi ja SPSS. Järvenpää: Yrityssanoma Oy.
- Horsti, J. 2000. Laskon virhelähteet ja viitearvot. Moodi 24 (2), 57–59.
- Horsti, J. 2007. Lasko – aina suosittu tutkimus. Moodi 31 (2), 70–73.
- Horsti, J. & Kovanen, M. 1999. Sitraattilaskosta EDTA-laskon käyttöön. Moodi 23 (6), 246–249.
- Horton, H.R., Moran, L.A, Scrimgeour, K.G., Perry, M.D. & Rawn, J.D. 2006. Principles of Biochemistry. Fourth Edition. Upper Saddle River (N.J.): Pearson Prentice Hall.
- HUSLAB. 2007. Ohjeita laboratoriotutkimuksiin tulevalle. [http://huslab.fi/ohjekirjan\\_liitteet/potilasohjeet/kliininen\\_kemia\\_ja\\_kliininen\\_mikrobiologia/\\_suomi/\\_ohjeita\\_laboratoriotutkimuksiin\\_tulevalle.pdf](http://huslab.fi/ohjekirjan_liitteet/potilasohjeet/kliininen_kemia_ja_kliininen_mikrobiologia/_suomi/_ohjeita_laboratoriotutkimuksiin_tulevalle.pdf). 5.10.2010.
- HUSLAB. 2010. Tutkimusohjekirja. Paastoa vaativat tutkimukset. [http://huslab.fi/preanalytiikan\\_kasikirja/potilaan\\_esivalmistelu/paastoa\\_vaativat\\_tutkimukset.pdf](http://huslab.fi/preanalytiikan_kasikirja/potilaan_esivalmistelu/paastoa_vaativat_tutkimukset.pdf). 5.10.2010.
- Ihalainen, J. 2002. Ihmiskudoksen varastointia ja käyttöä koskevat säädökset ja kliininen laboratoriotuiminta Suomessa. Moodi 26 (4), 135–138.
- International Council for Standardization in Haematology (Expert Panel on BloodRheology). 1993. ICSH recommendations for measurement of erythrocyte sedimentation rate. J. Clin. Pathol. 1993 (46), 198–203.



- <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC501169/pdf/jclinpath0429-0006.pdf>. 26.1.2010.
- Irjala, K. 2004. Viitearvot vai päätöksentekorajat. *Moodi* 28 (1), 21.
- ISLAB. 2008. Potilasohje. Laboratoriotutkimuksiin valmistautuminen. [http://www.islab.fi/soap/downloader.asp?show=1&type=99&cntx=ACK:&docobj=niubfrdmgjmqlc20100121082828&fnum=0&user\\_id=13](http://www.islab.fi/soap/downloader.asp?show=1&type=99&cntx=ACK:&docobj=niubfrdmgjmqlc20100121082828&fnum=0&user_id=13). 5.10.2010.
- ISLAB. 2009. Laatukäsikirja. Työohje. Lasko.
- ISLAB. 2010. Itä-Suomen Laboratoriokeskuksen web-ohjekirja. B-Lasko. <http://www.islab.fi/index.asp?tz=-3>. 5.10.2010.
- Jaarinen, S. & Niiranen, J. 2005. Laboratorion analyysitekniikka. Helsinki: Edita.
- Jokela, H. 2003. Mittaaminen ja mittalaitteet. Teoksessa Vilpo, J. & Niemelä, O. (toim.) Laboratoriolääketiede – kliininen kemia ja hematologia. Helsinki: Kandidaattikustannus Oy.
- Joutsu-Korhonen, L. 2010. Preanalytiikka luo perustan tutkimusten luotettavuudelle. *Moodi* 34 (4), 206–209.
- Karjalainen, L. 2010. Tilastotieteen perusteet. Ristiina: Pii-Kirjat.
- Kjeldsberg, C.R. 1993. Principles of Hematologic Examination. Teoksessa Lee, G.R., Bithell, T.C., Foerster, J., Athens, J.W. & Lukens, J.N. (toim.) *Wintrobe's Clinical Hematology*. Ninth Edition. Vol.1. Philadelphia: Lea & Febiger.
- Kurkijärvi, R., Vanharanta, R. & Pelliniemi T.-T. 2009. StaRRsed AutoCompact –laskoanalysaattorin koestus. *Kliinlab* 26 (1), 5–11. [http://www.skky.fi/uploads/klab\\_091.pdf](http://www.skky.fi/uploads/klab_091.pdf). 4.3.2010.
- Lassila, R. 2007. Veren hyytyminen ja fibrinolyysi. Teoksessa Ruutu, T., Rajamäki, A., Lassila, R. & Porkka, K. (toim.) *Veritaudit*. Helsinki: Duodecim.
- Lehtonen, P. O. 1998. Potentiometrinen analyysi. pH- ja ISE-mittaukset. Helsinki: Edita.
- Liimatainen, O. 2010. Laboratorioprosessin laatu; mistä elementeistä laatu koostuu. *Moodi* 34 (1), 57–58.
- Lindén, A. 2007. Terveysthuollon rakennemuutokset. *Moodi* 31 (3), 99–101.
- Linko, S. 2007. Preanalytiikka; tärkeä osa analytiikan laatua. *Moodi* 31 (1), 21.
- Markkanen, H. 2000. Preanalytiikan yleisimpiä virhelähteitä ja mihin toiminnan parantamisessa tulisi kiinnittää huomiota. *Moodi* 24 (6), 172–174.
- Matikainen, A.-M., Miettinen, M. & Wasström, K. 2010. Näytteenottajan käsikirja. Helsinki: Edita.
- Mekalasi. 2008. Vacuette -vakuuminäytteenotto. Ohjevihko.
- Mekalasi Oy. 2010. Verinäytteenotto. Laskon määrittäminen. Mekalasi Oy. <http://www.mekalasi.fi/index.php?p=tuotteet&r=30#00000024>. 2–24. 9.10.2010.
- Metsämuuronen, J. 2003. Tutkimuksen tekemisen perusteet ihmistieteissä. Helsinki: International Methelp.
- Mocák, J., Balla, B., Bobrowski, A. & Blažíček, P. 2003. Proper Ways of Comparison of Two Laboratory Methods. *Chem. Pap.* 57 (3), 143–146. <http://www.chempap.org/papers/573a143.pdf>. 19.10.2010.
- Mustajoki, P. & Kaukua, J. 2008a. Lasko (B-La). Duodecim. [http://www.terveyskirjasto.fi/terveyskirjasto/tk.koti?p\\_artikkeli=snk03051](http://www.terveyskirjasto.fi/terveyskirjasto/tk.koti?p_artikkeli=snk03051). 5.10.2010.

- Mustajoki, P. & Kaukua, J. 2008b. Senkan tarina. Duodecim. [http://www.terveyskirjasto.fi/terveyskirjasto/tk.koti?p\\_artikkeli=snk03020](http://www.terveyskirjasto.fi/terveyskirjasto/tk.koti?p_artikkeli=snk03020). 5.10.2010.
- Mustajoki, P. 2009. Polymyalgia rheumatica ("reumaattinen monilihas sairaus"). [http://www.terveyskirjasto.fi/terveyskirjasto/tk.koti?p\\_artikkeli=dlk00060](http://www.terveyskirjasto.fi/terveyskirjasto/tk.koti?p_artikkeli=dlk00060). 5.10.2010.
- Mäki, T. 2000. Verinäyteputkien ottojärjestys. *Moodi* 24 (6), 174–175.
- NCCLS. 1996. Evacuated Tubes and Additives for Blood Specimen Collection-Fourth Edition; Approved Standard. Pennsylvania, USA: The national Committee for Clinical Laboratory Standards.
- NCCLS. 2000. Reference and Selected Procedure for the Erythrocyte Sedimentation Rate (ESR) Test; Approved Standard-Fourth Edition. <http://www.clsi.org/source/orders/free/h02-a4.pdf>. 19.10.2010.
- NCCLS . 2003. Procedures for the Collection of Diagnostic Blood Specimens by Venipuncture; Approved Standard-Fifth Edition. Pennsylvania, USA: The National Committee for Clinical Laboratory Standards.
- Nienstedt, W., Hänninen, O., Arstila, A. & Björkqvist, S.-E. 2009. Ihmisen fysiologia ja anatomia. Helsinki: WSOY.
- Nummenmaa, L. 2004. Käyttäytymistieteiden tilastolliset menetelmät. Helsinki: Tammi.
- Oriola. 2010. Tuoteluettelo. Laboratoriolaitteet ja -tarvikkeet. Oriola. [http://www.oriola-kd.fi/files/oriolakdfi/PTH-luettelo10/Laboratoriolaitteet\\_ja\\_-tarvikkeet\\_s\\_240-263.pdf](http://www.oriola-kd.fi/files/oriolakdfi/PTH-luettelo10/Laboratoriolaitteet_ja_-tarvikkeet_s_240-263.pdf). 9.10.2010.
- Patton, W. N., Meyer, P. J. & Stuart, J. 1989. Evaluation of sealed vacuum extraction method (Seditainer) for measurement of erythrocyte sedimentation rate. *J Clin Pathol* 42 (3), 313–317. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1141875/?page=1>. 19.10.2010.
- Penttilä, I. 2004a. Viitearvot ja niiden määrittäminen. Teoksessa Penttilä, I. (toim.) *Kliiniset laboratoriotutkimukset*. Helsinki: WSOY, 18–20.
- Penttilä, I. 2004b. Tutkimustulosten laatu ja laadunvarmistus. Teoksessa Penttilä, I. (toim.) *Kliiniset laboratoriotutkimukset*. Helsinki: WSOY, 35–39.
- Pohjala, S. 2009. Laadukas näytelogiikka. *Moodi* 33 (1), 37–39.
- Pohjavaara, S., Malminiemi, O. & Kouri, T. 2003. Preanalytiikka alueellisessa laboratoriotoinnassa. *Suomen Lääkärilehti* 58 (4), 399–403.
- Polymedco, Inc. 2008. Products: Reagents/Kits. Sed-Chek<sup>®</sup>2. Polymedco, Inc. [http://www.polymedco.com/products\\_reagents\\_hema.html](http://www.polymedco.com/products_reagents_hema.html). 23.9.2010.
- Puukka, R. 2007. Näytteiden laadun arviointi ja poikkeamien käsittely. *Moodi* 31 (1), 23.
- Rajamäki, A. 1992. Laskotutkimuksen asema tulehdustautien diagnostiikassa. *Moodi* 16 (2), 102–103.
- Rautajoki, A. 1998. Kliinisten laboratoriotutkimusten näytteenotto-opas hoitohenkilöstölle. Helsinki: Kirjayhtymä.
- Savolainen, E.-R. 2007. Verinäytteet ja verenkuvatutkimukset. Teoksessa Ruutu, T., Rajamäki, A., Lassila, R. & Porkka, K. (toim.) *Veritaudit*. Helsinki: Kustannus Oy Duodecim.
- Siloaho, M. 2000. Miten saada näyte säilymään analysointiin saakka? *Moodi* 24 (6), 185–189.

- Suomen standardisoimisliitto SFS. 2007. SFS-EN ISO 15189 Lääketieteelliset laboratoriot, erityisvaatimukset laadulle ja pätevyydelle. Helsinki: Suomen standardisoimisliitto.
- Tanner, P. 2007. Näytteiden lähettäminen. *Moodi* 31 (1), 22.
- Tikka, J. Palvelukoordinaattori. Labquality Oy. Sähköposti 27.1.2010.
- Tuokko, S., Rautajoki, A. & Lehto, L. 2008. Kliiniset laboratorionäytteet –opas näytteiden ottoa varten. Helsinki: Tammi.
- Tutkimuseettinen neuvottelukunta 2002. Hyvä tieteellinen käytäntö ja sen loukkausten käsitteleminen. <http://www.tenk.fi/JulkaisutjaOhjeet/htkfi.pdf>. 31.3.2010.
- Törmä, A. 2003. Peruskäsitteitä: mitä laboratoriotutkimusten sisäinen laadunohjaus ja ulkoinen laadunarviointi tarkoittavat käytännössä. *Moodi* 27 (1), 24.
- Uotila, L. 2003. Neste-, elektrolyytti- ja happo-emästasapaino. Teoksessa Vilpo, J. & Niemelä, O. (toim.) *Laboratoriolääketiede. Kliininen kemia ja hematologia*. Jyväskylä: Kandidaattikustannus Oy, 87–116.
- Valtakunnallinen terveydenhuollon eettinen neuvottelukunta (ETENE). 2001. Terveydenhuollon yhteinen arvopohja, yhteiset tavoitteet ja periaatteet. Sosiaali- ja terveysministeriö. <http://www.etene.org/dokumentit/EteneFIN.pdf>. 31.3.2010.

**Manley'n taulukko**

Laskovastaukset muunnetaan taulukon mukaisesti vastaamaan 18 °C:ssa tehdyn määrittelyn mukaista tulostasoa, mikäli huoneenlämpötila ei ole 18 °C.

| asteet | 15 | 18         | 20  | 21  | 22  | 23  | 24  | 25  | 26  | 27  | 28  | 29  | 30  | 18         |
|--------|----|------------|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|------------|
|        | 2  | <b>3</b>   | 3   | 3   | 3   | 4   | 4   | 4   | 4   | 5   | 5   | 6   | 6   | <b>3</b>   |
|        | 4  | <b>5</b>   | 5   | 5   | 5   | 6   | 6   | 6   | 6   | 7   | 7   | 8   | 8   | <b>5</b>   |
|        | 6  | <b>7</b>   | 7   | 7   | 8   | 8   | 9   | 9   | 10  | 10  | 11  | 11  | 12  | <b>7</b>   |
|        | 9  | <b>10</b>  | 10  | 10  | 11  | 11  | 12  | 12  | 13  | 14  | 14  | 15  | 16  | <b>10</b>  |
|        | 11 | <b>13</b>  | 13  | 13  | 14  | 14  | 15  | 15  | 16  | 17  | 18  | 19  | 20  | <b>13</b>  |
|        | 14 | <b>15</b>  | 16  | 17  | 17  | 18  | 18  | 19  | 20  | 21  | 22  | 23  | 24  | <b>15</b>  |
|        | 16 | <b>17</b>  | 18  | 19  | 20  | 20  | 21  | 22  | 23  | 24  | 26  | 27  | 28  | <b>17</b>  |
|        | 18 | <b>20</b>  | 21  | 22  | 23  | 23  | 24  | 25  | 26  | 27  | 29  | 30  | 31  | <b>20</b>  |
|        | 20 | <b>23</b>  | 24  | 25  | 26  | 26  | 27  | 28  | 29  | 31  | 32  | 34  | 35  | <b>23</b>  |
|        | 23 | <b>25</b>  | 26  | 27  | 28  | 29  | 30  | 31  | 32  | 34  | 35  | 37  | 38  | <b>25</b>  |
|        | 25 | <b>27</b>  | 29  | 30  | 31  | 32  | 33  | 34  | 36  | 37  | 39  | 40  | 42  | <b>27</b>  |
|        | 27 | <b>30</b>  | 31  | 32  | 33  | 35  | 36  | 37  | 39  | 40  | 42  | 43  | 45  | <b>30</b>  |
|        | 29 | <b>33</b>  | 34  | 35  | 36  | 38  | 39  | 40  | 42  | 43  | 45  | 46  | 48  | <b>33</b>  |
|        | 32 | <b>35</b>  | 37  | 38  | 39  | 41  | 42  | 43  | 45  | 47  | 48  | 50  | 52  | <b>35</b>  |
|        | 34 | <b>37</b>  | 39  | 40  | 42  | 43  | 45  | 46  | 48  | 50  | 51  | 53  | 55  | <b>37</b>  |
|        | 36 | <b>40</b>  | 42  | 43  | 45  | 46  | 48  | 49  | 51  | 53  | 54  | 56  | 58  | <b>40</b>  |
|        | 39 | <b>43</b>  | 45  | 46  | 48  | 49  | 51  | 52  | 54  | 56  | 57  | 59  | 61  | <b>43</b>  |
|        | 41 | <b>45</b>  | 47  | 49  | 50  | 52  | 53  | 55  | 57  | 59  | 61  | 63  | 65  | <b>45</b>  |
|        | 44 | <b>47</b>  | 50  | 51  | 53  | 54  | 56  | 57  | 59  | 61  | 64  | 66  | 68  | <b>47</b>  |
|        | 46 | <b>50</b>  | 52  | 54  | 55  | 57  | 58  | 60  | 62  | 64  | 67  | 69  | 71  | <b>50</b>  |
|        | 48 | <b>53</b>  | 55  | 57  | 58  | 60  | 61  | 63  | 65  | 67  | 70  | 72  | 74  | <b>53</b>  |
|        | 51 | <b>55</b>  | 57  | 59  | 61  | 62  | 64  | 66  | 68  | 70  | 73  | 75  | 77  | <b>55</b>  |
|        | 53 | <b>57</b>  | 60  | 62  | 64  | 65  | 67  | 69  | 71  | 73  | 75  | 77  | 79  | <b>57</b>  |
|        | 55 | <b>60</b>  | 62  | 64  | 66  | 67  | 69  | 71  | 73  | 75  | 78  | 80  | 82  | <b>60</b>  |
|        | 57 | <b>63</b>  | 65  | 67  | 69  | 70  | 72  | 74  | 76  | 78  | 81  | 83  | 85  | <b>63</b>  |
|        | 59 | <b>65</b>  | 67  | 69  | 71  | 73  | 75  | 77  | 79  | 81  | 84  | 86  | 88  | <b>65</b>  |
|        | 61 | <b>67</b>  | 70  | 72  | 74  | 75  | 77  | 79  | 81  | 83  | 86  | 88  | 90  | <b>67</b>  |
|        | 63 | <b>70</b>  | 72  | 74  | 76  | 78  | 80  | 82  | 84  | 86  | 89  | 91  | 93  | <b>70</b>  |
|        | 65 | <b>73</b>  | 75  | 77  | 79  | 81  | 83  | 85  | 87  | 89  | 92  | 94  | 96  | <b>73</b>  |
|        | 68 | <b>75</b>  | 77  | 79  | 81  | 84  | 86  | 88  | 90  | 92  | 95  | 97  | 99  | <b>75</b>  |
|        | 70 | <b>77</b>  | 80  | 82  | 84  | 86  | 88  | 90  | 92  | 94  | 97  | 99  | 101 | <b>77</b>  |
|        | 72 | <b>80</b>  | 82  | 84  | 86  | 89  | 91  | 93  | 95  | 97  | 100 | 102 | 104 | <b>80</b>  |
|        | 74 | <b>83</b>  | 85  | 87  | 89  | 92  | 94  | 96  | 98  | 100 | 103 | 105 | 107 | <b>83</b>  |
|        | 77 | <b>85</b>  | 88  | 90  | 92  | 94  | 96  | 98  | 100 | 102 | 105 | 107 | 109 | <b>85</b>  |
|        | 79 | <b>87</b>  | 90  | 92  | 94  | 97  | 99  | 101 | 103 | 105 | 108 | 110 | 112 | <b>87</b>  |
|        | 81 | <b>90</b>  | 93  | 95  | 97  | 99  | 101 | 103 | 105 | 107 | 110 | 112 | 114 | <b>90</b>  |
|        | 83 | <b>93</b>  | 96  | 98  | 100 | 102 | 104 | 106 | 108 | 110 | 113 | 115 | 117 | <b>93</b>  |
|        | 86 | <b>95</b>  | 98  | 100 | 102 | 105 | 107 | 109 | 111 | 113 | 116 | 118 | 120 | <b>95</b>  |
|        | 88 | <b>97</b>  | 101 | 103 | 105 | 107 | 109 | 111 | 113 | 115 | 118 | 120 | 122 | <b>97</b>  |
|        | 90 | <b>100</b> | 103 | 105 | 107 | 110 | 112 | 114 | 116 | 118 | 121 | 123 | 125 | <b>100</b> |

**Tutkimuksessa käytettyjen näyteputkien tunnistetiedot**

Putkivalmistaja Greiner Bio-One

Vacurette® Sitraattiputket  
4NC ESR sodium citrate 1,5 ml  
REF 729073  
LOT A100304H  
EXP. DT. 2011-04

Vacurette® EDTA putket  
K<sub>2</sub>EDTA 6 ml  
REF 456043  
LOT A100300Q  
EXP. DT. 2011-09

**Sed Rate Timer -laskoanalysointorin antamat tulokset**

| <b>Näyte/ryhmä</b> | <b>0</b> | <b>A</b> | <b>B</b> | <b>C</b> |
|--------------------|----------|----------|----------|----------|
| 1                  | 2        | 2        | 2        | 2        |
| 2                  | 4        | 6        | 3        | 6        |
| 3                  | 4        | 5        | 3        | 6        |
| 4                  | 30       | 40       | 29       | 33       |
| 5                  | 6        | 6        | 4        | 6        |
| 6                  | 6        | 6        | 6        | 6        |
| 7                  | 5        | 6        | 3        | 6        |
| 8                  | 2        | 2        | 2        | 2        |
| 9                  | 51       | 45       | 41       | 52       |
| 10                 | 35       | 37       | 34       | 42       |
| 11                 | 7        | 7        | 4        | 6        |
| 12                 | 3        | 2        | 2        | 2        |
| 13                 | 17       | 17       | 17       | 19       |
| 14                 | 36       | 40       | 30       | 40       |
| 15                 | 3        | 3        | 2        | 3        |
| 16                 | 14       | 10       | 8        | 11       |
| 17                 | 69       | 73       | 64       | 75       |
| 18                 | 3        | 6        | 3        | 4        |
| 19                 | 18       | 15       | 15       | 17       |
| 20                 | 4        | 3        | 3        | 3        |
| 21                 | 21       | 21       | 17       | 20       |
| 22                 | 18       | 19       | 17       | 20       |
| 23                 | 7        | 8        | 7        | 8        |
| 24                 | 10       | 10       | 7        | 10       |
| 25                 | 67       | 72       | 66       | 69       |
| 26                 | 7        | 10       | 7        | 6        |
| 27                 | 27       | 28       | 20       | 27       |
| 28                 | 19       | 20       | 14       | 17       |
| 29                 | 3        | 6        | 3        | 5        |
| 30                 | 6        | 6        | 4        | 6        |
| 31                 | 75       | 77       | 74       | 84       |

|    |    |    |    |    |
|----|----|----|----|----|
| 32 | 19 | 23 | 19 | 25 |
| 33 | 4  | 5  | 2  | 3  |
| 34 | 14 | 14 | 11 | 11 |
| 35 | 84 | 87 | 83 | 88 |
| 36 | 17 | 15 | 10 | 15 |
| 37 | 93 | 96 | 93 | 95 |
| 38 | 15 | 19 | 10 | 16 |
| 39 | 3  | 4  | 2  | 3  |
| 40 | 84 | 76 | 83 | 86 |
| 41 | 14 | 14 | 11 | 11 |
| 42 | 4  | 3  | 3  | 5  |
| 43 | 11 | 11 | 9  | 8  |
| 44 | 77 | 83 | 77 | 86 |
| 45 | 6  | 7  | 6  | 9  |
| 46 | 8  | 7  | 7  | 7  |
| 47 | 3  | 3  | 3  | 6  |
| 48 | 6  | 5  | 4  | 5  |
| 49 | 23 | 21 | 16 | 21 |
| 50 | 19 | 16 | 19 | 11 |

### Näyteryhmät

**0** = Näytteessä antikoagulanttina sitraatti, mittaus kahden tunnin kuluessa näytteenotosta.

**A** = Näytteessä antikoagulanttina EDTA ja sitraatti, mittaus kahden tunnin kuluessa näytteenotosta.

**B** = Näytteessä antikoagulanttina sitraatti, mittaus kahdeksan tunnin kuluessa näytteenotosta.

**C** = Näytteessä antikoagulanttina EDTA ja sitraatti, mittaus kahdeksan tunnin kuluessa näytteenotosta.

**Tilastollisin menetelmin saadut tulokset**

|        | r     | p1    | T     | Z      | p2    |
|--------|-------|-------|-------|--------|-------|
| 0 ja A | 0,994 | 0,000 | 217,0 | -1,839 | 0,066 |
| 0 ja B | 0,996 | 0,000 | 0,0   | -5,275 | 0,000 |
| 0 ja C | 0,995 | 0,000 | 287,5 | -1,661 | 0,097 |

r = korrelaatiokerroin

p1 = korrelaatiokertoimien p-arvo

T = Wilcoxonin merkittyjen järjestyslukujen testissä saadut T-testisuureet

Z = Wilcoxonin merkittyjen järjestyslukujen testissä saadut Z-arvot

p2 = Z-arvojen p-arvot