

Opinnäytetyö (AMK)

Bioanalytikkokoulutus

NBIOAS13

2016

Emma-Lina Eriksson & Jasmin Orrensalo

SYSMEX XN-350 -VERENKUVA- ANALYSAATTORIN VALIDOINTI

Emma-Lina Eriksson & Jasmin Orrensalo

SYSMEX XN-350 -VERENKUVA-ANALYSAATTORIN VALIDOINTI

Perusverenkuva on terveydenhuollossa yleisimmin käytetty laboratoriotutkimus, jolla tutkitaan perifeerisen veren soluja ja niiden ominaisuuksia. Perusveren kuvan analysointiin käytetään automaattisia laitteita, jotka eri mittausperiaatteita hyödyntäen antavat tietoa puna- ja valkosoluista sekä verihiutaleista. Perusveren kuvaa käytetään apuna useiden eri sairauksien toteamisessa sekä hoidon seurannassa.

Tämän opinnäytetyön tarkoituksena on validoida perusveren kuvatutkimukseen kuuluvat B-Leuk, B-Eryt, B-Hb, B-Hkr sekä B-Trom -parametrit Turun ammattikorkeakoulun uudelle Sysmex XN-350 -verenkuva-analysaattorille. Validoinnin avulla tarkastetaan laitteen toimivuus ja taataan sen soveltuvuus bioanalytikkokoulutuksen opetustarkoitukseen. Validointi suoritettiin vertaamalla Turun ammattikorkeakoulun Sysmex XN-350 -verenkuva-analysaattorilla analysoiduista näytteistä (n=32) saatuja perusveren kuvatuloksia Tykslabin analysaattorin vastaavista näytteistä saamiin tuloksiin, jotta saatiin varmistettua analysaattorien tulostason täsmävyys. Näytteistä tehtiin toistoajot Sysmex XN-350 -verenkuva-analysaattorilla, joita verrattiin keskenään analysaattorin sisäisen toistettavuuden testaamiseksi. Sarjojen välistä toistettavuutta tutkittiin analysoimalla tiettyä yhtä ja samaa kontrollinäytettä jokaisen sarjan alussa ja lopussa.

Tulosten tilastollisessa tarkastelussa selvisi, että Sysmex XN-350 -verenkuva-analysaattorin ja referenssilaitteen perusveren kuvan tulokset vastasivat hyvin toisiaan ja tulosten välillä oli vahva positiivinen korrelaatio. Sysmex XN-350 -verenkuva-analysaattorin toistettavuuden todettiin olevan hyvä sarjojen sisällä ja välillä.

Tutkimustuloksista voidaan todeta, että Sysmex XN-350 -verenkuva-analysaattori antaa luotettavia tuloksia. Näin ollen Turun ammattikorkeakoulu voi käyttää laitetta opetus- ja tutkimustarkoituksessa, sekä ottaa käyttöön yhtenevät viitearvot Tykslabin kanssa perusveren kuvatutkimukselle.

ASIASANAT:

Perusverenkuva
Validointi
Sysmex XN-350

BACHELOR'S THESIS | ABSTRACT

TURKU UNIVERSITY OF APPLIED SCIENCES

Degree programme in Biomedical laboratory science

2016 | 46

Emma-Lina Eriksson & Jasmin Orrensalo

VALIDATION OF SYSMEX XN-350

The complete blood count is the most commonly used laboratory test for the study of peripheral blood cells and their properties. Automatic analyzers use different measurement principles to provide information about red blood cells, white blood cells and platelets. The complete blood count is used for diagnosing various diseases, as well as following the effect of treatment.

The purpose of this thesis was to validate the WBC, RBC, HGB, HCT and PLT parameters of the complete blood count test for the Turku University of Applied Sciences new Sysmex XN-350 -analyzer. Validation is used to verify functionality of the device and it guarantees its suitability for educational purposes of the biomedical laboratory science program. The validation was performed by comparing the sample results from the Sysmex XN-350 -analyzer and the results from the reference analyzer in Tykslab. A total of 32 samples were used. To test the Sysmex XN-350 analyzers inner repeatability, parallel measurements from the samples were made and compared with each other.

Statistical analysis of the results showed that the results from the Sysmex XN-350 -analyzer corresponded well with the reference analyzer results. The results indicated a strong positive correlation. Sysmex XN-350 -analyzer's repeatability was found to be good.

The results show that the Sysmex XN-350 -analyzer gives reliable results. Thus, Turku University of Applied Sciences can use the device in teaching and research purposes and use the same reference values with Tykslab.

KEYWORDS:

Complete blood count
Validation
Sysmex XN-350

SISÄLTÖ

1 JOHDANTO	7
2 PERUSVERENKUVA	8
2.1 Preanalyttiset tekijät	9
2.2 Perusverenkuvan osatutkimukset	10
2.2.1 Erytrosyytit (B-Eryt)	10
2.2.2 Hemoglobiini (B-Hb)	10
2.2.3 Hematokriitti (B-Hkr)	11
2.2.4 Punasoluindeksit (E-MCV, E-MCH, E-MCHC)	11
2.2.5 Leukosyytit (B-Leuk)	12
2.2.6 Trombosyytit (B-Trom)	12
3 SYSMEX XN-350 -VERENKUVA-ANALYSAATTORIN VALIDOINTI	13
3.1 Sysmex XN-350 –verenkuva-analysaattori	13
3.1.1 Hydrodynaaminen fokusointi (DC-detektio)	13
3.1.2 Puolijohdelaservirtaussytometria	15
3.1.3 SLS-hemoglobiinimenetelmä	17
3.1.4 Sysmex XN-350:n reagenssit, kontrollit ja niiden säilytys	17
3.2 Validointi	19
3.2.1 Täsmävyys	19
3.2.2 Toistuvuus	20
4 TUTKIMUKSEN TARKOITUS, TAVOITTEET JA TUTKIMUSONGELMAT	21
5 OPINNÄYTETYÖN TOTEUTUS	22
5.1 Opinnäytetyön toteutus	22
5.2 Tulosten tilastollinen tarkastelu	23
5.3 Opinnäytetyön metodologiset lähtökohdat	25
5.4 Eettiset lähtökohdat	26
6 TUTKIMUSTULOKSET JA NIIDEN TARKASTELU	27
6.1 Sysmex XN-350 -verenkuva-analysaattorin tulosten täsmävyys Sysmex XN-9000 -analysaattorilinjaston tulosten kanssa	27
6.2 Sysmex XN-350 verenkuva-analysaattorin toistettavuus	34
6.2.1 Sarjojen sisäinen toistettavuus	34

6.2.2 Sarjojen välinen toistettavuus	35
6.3 Tutkimustulosten tarkastelu	36
7 POHDINNAT	39
LÄHTEET	44

LIITTEET

Liite 1. Perusverenkuvan lasten viitearvot	
Liite 2. Validointisuunnitelma	
Liite 3. Tutkimuslupa	
Liite 4. Perusverenkuvan tulokset Sysmex XN-350 ja Sysmex XN-9000 -verenkuva-analysaattoreilla	
Liite 5. Toistettavuustulokset	

KAAVAT

Kaava 1. Pearsonin korrelaatiokerroin (Excel).	27
Kaava 2. Vertailuprosentin laskeminen.	37

KUVAT

Kuva 1. Hydrodynaamisen fokuosoinnin mittausperiaate (Sysmex 2015).	14
Kuva 2. RBC- ja PLT histogrammi (Sysmex Europe GmbH 2016b).	15
Kuva 3. Puolijohdelaservirtausytometrin mittausperiaate (Sysmex 2015).	16
Kuva 4. WDF-hajontakuvio (Sysmex 2015).	16
Kuva 5. SLS-hemoglobiinimenetelmän mittausperiaate (SlideShare 2014: muokattu).	17

KUVIOT

Kuvio 1. Leukosyyttitulokset Sysmex XN-350 ja Sysmex XN-9000 -verenkuva-analysaattoreilla.	30
Kuvio 2. Erytrosyyttituloksen Sysmex XN-350 ja Sysmex XN-9000 -verenkuva-analysaattoreilla.	31
Kuvio 3. Hemoglobiinitulokset Sysmex XN-350 ja Sysmex XN-9000 -verenkuva-analysaattoreilla.	32
Kuvio 4. Hematokriittiarvot Sysmex XN-350 ja Sysmex XN-9000 -verenkuva-analysaattoreilla.	33

Kuvio 5. Trombosyyttitulokset Sysmex XN-350 ja Sysmex XN-9000 -verenkuva-analysointilaitteilla.

34

TAULUKOT

Taulukko 1. Perusveren kuvan aikuisten viitearvot (VSSHP 2014).	9
Taulukko 2. Parametreille lasketut korrelaatiokertoimet.	28
Taulukko 3. Parametreille lasketut regressiokertoimet ja selitysasteet prosentteina.	29
Taulukko 4. XN-L Check -kontrollille asetetut tavoitevälit ja sallittu vaihtelu tavoitevälin sisällä.	35
Taulukko 5. XN-L Check -kontrollin toistoajat ja ajoille lasketut tunnusluvut.	36
Taulukko 6. Täsmävyydelle lasketut vertailuarvot.	37

1 JOHDANTO

Perusverenkuva-analyysi (B-PVK) on yksi terveydenhuollossa yleisimmin käytetyistä laboratoriotutkimuksista, sillä sen avulla saadaan tarkkaa tietoa elimistön erilaisista sairaustiloista (Savolainen 2010; Savolainen & Tienhaara 2015). Perusveren kuvan analysointiin käytetään nykyisin automaattisia laitteita, jotka eri mittausperiaatteita hyödyntäen määrittävät näytteestä punasolujen, valkosolujen sekä verihiutaleiden määrän lisäksi useita solujen ominaisuuksia kuvaavia suureita. (Mahlamäki 2004; Matinlauri & Vilpo 2010.)

Perusveren kuvaa käytetään apuna monien eri sairauksien toteamisessa ja se kuuluu muun muassa verisairauksien, anemian ja tulehdustautien perustutkimuksiin, sillä esimerkiksi raudan tai jonkin vitamiinin puute voi ilmetä muutoksina veren puna- tai valkosoluissa. Perusverenkuva tutkitaan yleensä, mikäli potilaalla esiintyy esimerkiksi väsymystä, vatsakipuja, mustelmataipumusta tai muita epäselviä oireita. Monesti myös syöpähoitojen aikana perusveren kuvaa seurataan tiheästi, sillä hoidot vaikuttavat etenkin valkosolujen määrään. (Mustajoki & Kaukua 2008.) Tyksin päivystys- ja automaatiolaboratoriossa tehdään vuosittain noin 700 000 verenkuva-analyysiä.

Kansainvälisen standardisointijärjestön luoman ISO 15189 –standardin (2012) mukaan laboratoriolla on velvollisuus huolehtia suorittamiensa tutkimusten luotettavuudesta. Luotettavuuden takaamiseksi laitteen tulee olla käyttötarkoitukseensa sopiva ja sen tulee saavuttaa sille suunniteltu toimivuus ja suorituskyky. Laitteen toimivuus ja soveltuvuus käyttötarkoitukseensa selvitetään ennen laitteen käyttöönottoa kliinisen laitetutkimuksen avulla. (Laki terveydenhuollon laitteista ja tarvikkeista 629/2010.)

Tämän opinnäytetyön tarkoituksena on validoida perusveren kuvatutkimus Turun ammattikorkeakoulun uudelle Sysmex XN-350 – verenkuva-analysaattorille. Validointi toteutetaan käyttämällä Tykslabilta saatavia näytteitä, joiden mittaustuloksia verrataan Turun ammattikorkeakoulun analysaattorin tuloksiin. Tavoitteena on, että validoinnin jälkeen analysaattoria voidaan käyttää Turun ammattikorkeakoulun opetus- ja tutkimustyössä. Tarkoituksena on ottaa käyttöön Tykslabin kanssa yhtenevät viitearvot validoinnin jälkeen Sysmex XN-350 -analysaattorin perusveren kuvatutkimukselle. Validoinnin avulla voidaan varmistua, että verenkuva-analysaattorin tuloksiin voidaan luottaa ja se soveltuu käyttötarkoitukseensa.

2 PERUSVERENKUVA

Perusverenkuva on yksi yleisimmin terveydenhuollossa käytetyistä laboratoriotutkimuksista, jolla tutkitaan perifeerisen veren soluja ja niiden ominaisuuksia (VSSHP 2014; Savolainen & Tienhaara 2015). Perusverenkuvatutkimuksessa määritetään puna- ja valkosolujen määrä, veren hemoglobiinipitoisuus, hematokriitti ja punasoluarvot, joita ovat punasolujen keskitilavuus, hemoglobiinin keskimassa sekä keskimassakonsentraatio. Verihiutaleet eivät tarkkaan ottaen kuulu perusverenkuvaan, mutta niiden määrä raportoidaan tavallisesti perusveren kuvan tulosten yhteydessä. (Mustajoki & Kaukua 2008; Matinlauri & Vilpo 2010.)

Perusveren kuvan analysointi on yleisesti käytetty tutkimus, sillä sen avulla voidaan havaita useita eri sairauksia (Mustajoki & Kaukua 2008). Veren pienentynyt hemoglobiinipitoisuus viittaa usein anemiaan, jolloin punasoluindeksit antavat tarkempaa tietoa anemian syistä. Elimistön kuivuminen, hapensaannin väheneminen tai polysytemia on usein syynä kohonneisiin hemoglobiini- ja hematokriittiarvoihin. Bakteeri-infektiot saavat aikaan korkeita valkosolumääriä, joita havaitaan myös monien leukemioiden yhteydessä. Leukopeniaa ilmenee virusinfektioissa, joiden lisäksi myös esimerkiksi sytostaattit vähentävät väliaikaisesti valkosolujen määrää. (Mustajoki & Kaukua 2008; Matinlauri & Vilpo 2010.) Usein yleisimmät veritaudit todetaan sattumalöydöksenä, jolloin potilas voi tuntea itsensä täysin terveeksi, vaikka taudin merkit näkyvät jo veren kuvassa. Eri laisten tautien selvittelyn lisäksi perusveren kuvan tutkimista käytetään siis myös hematologisten maligniteettien diagnostiikassa ja sairauksien etenemisen seurannassa. (Sinisalo 2010.)

Monet potilaan sairauteen liittymättömät preanalyttiset tekijät voivat vaikuttaa perusverenkuvatutkimuksen tuloksiin (Savolainen & Tienhaara 2015). Tästä syystä tutkimuksen suoritus pyritään vakioimaan niin, että saatu tulos kuvastaisi mahdollisimman todennukaisesti potilaan senhetkistä elimistön toimintaa. Ikä, sukupuoli, syntyperä tai ympäristön erot ovat muuttumattomia tekijöitä, joihin ei voida ennalta vaikuttaa. Tällaisissa tilanteissa edellä mainittuja tekijöitä vakioidaan laatimalla erilaisia viitevälejä eri ryhmille. Lapsille (Liite 1) ja aikuisille on yleisesti omat viitevälit, kuten myös miehille ja naisille (Taulukko 1). Näytteenottoon valmistautumisessa tulee noudattaa yhtenäisiä esivalmisteluohjeita, joiden avulla vakioidaan elimistön tila ja tuloksia voidaan verrata laadittuihin viitearvoihin. Esivalmisteluohjeiden avulla minimoidaan muun muassa ra-

vinnon, fyysisen rasituksen sekä vuorokausirytmien vaikutus saatuihin tuloksiin. (Tuokko ym. 2008; Kairisto 2010.)

	Miehet	Naiset	Miehet ja naiset	
B-Hb	134-167	117-155		g/l
B-Eryt	4.3-7.5	3.9-5.2		10^{12} l
B-Hkr	0.39-0.5	0.35-0.46		osuus
B-Leuk			3.4-8.2	10^9 l
E-MCV			82-98	fl
E-MCH			27-33	pg
B-Trom			150-360	10^9 l

Taulukko 1. Perusverenkuvan aikuisten viitearvot (VSSHP 2014).

2.1 Preanalyttiset tekijät

Perusverenkuvatutkimus tehdään pääsääntöisesti EDTA-antikoagulanttia sisältävään putkeen otetusta laskimoverinäytteestä, sillä EDTA eli etyleenidiamiinitetraetikkahappo on perusverenkuvatutkimukseen parhaiten soveltuva antikoagulantti. Myös mikroputkeen otettu ihopistosnäyte soveltuu tutkimukseen. Aineen hyytymistä estävä vaikutus perustuu sen kykyyn sitoa kalsiumia veressä. (Becton Dickinson 2009.) Näyteputken huolellinen kääntely heti näytteenoton jälkeen on tärkeää, jotta hyytymistä estävä EDTA-antikoagulantti sekoittuu näytteeseen. Putken riittämätön sekoittaminen voi johtaa näytteen hyytymiseen tai mikrohyytymien muodostumiseen, jotka aiheuttavat virheellisen analyysituloksen ja saattavat tukkia laitteen näyteneulan. Näytteen liian raju sekoitus tai epäonnistunut laskimopistos voivat aiheuttaa solujen hajoamista ja hemolyysiä, mikä taas häiritsee perusverenkuvatutkimuksessa hemoglobiinin määrittystä. (Tuokko & Rautajoki & Lehto 2008; Savolainen & Tienhaara 2015.) Näyteputken täyttymiseen (konsentraatio 1,5-2,0 mg/ml) on syytä kiinnittää huomiota, sillä vajaaksi jääneessä putkessa EDTA-antikoagulantin ja veren tilavuussuhde ei ole oikea ja tutkimustuloksen luotettavuus heikkenee. (Mahlamäki 2004; Becton Dickinson 2009; Savolainen & Tienhaara 2015.) Näytteen liian suuri EDTA-pitoisuus aiheuttaa punasolujen kutistumista, joka on seurausta plasman suurentuneesta ionikonsentraatiosta. Lisäksi ylimäärä-EDTA vaurioittaa puna- ja valkosoluja sekä saattaa aiheuttaa verihituleiden aggregoitumista koeputkessa kasoiksi (pseudotrombosytopenia) tai tarttumista neutrofiileihin

(trombosyyttisatelmiksi). Näyte säilyy analyysikelpoisena huoneenlämmössä 8 tuntia ja jääkaapissa 24 tuntia. On kuitenkin suotavaa analysoida näyte mahdollisimman pian, sillä analysointiviive aiheuttaa solujen turpoamista, osmoottisen resistenssin pienemistä sekä leukosyyttien ja verihiutaleiden määrän vähenemistä. (BD 2009; VSSHP 2014; Savolainen & Tienhaara 2015.)

2.2 Perusveren kuvan osatutkimukset

Keskikokoisen aikuisen ihmisen verimäärä on noin 5 litraa (Mustajoki & Kaukua 2008). Veren tilavuudesta noin 55% on kellertävää nestettä, plasmaa, joka koostuu suurimmaksi osaksi vedestä sekä siihen liuenneista ravinto- ja rakenneaineista. Punasolujen osuus kokoveressä on noin 45% ja valkosolujen sekä verihiutaleiden alle 1%. (Tuokko ym. 2008; National Health Service 2014.) Verisolut syntyvät luuytimessä monikykyisistä eli multipotenteista kantasoluista. Linjavalintojen, solunjakautumisen sekä kypsymisen seurauksena kantasolu erilaistuu punasoluksi, verihiutaleeksi tai joksikin valkosolun alatyypiksi. (Siitonen & Koistinen 2015.)

2.2.1 Erytrosyytit (B-Eryt)

Veren soluista pääosa on punasoluja eli erytrosyyttejä. Niiden määrä ilmoitetaan litraa kohden, ja normaaliarvo on n. $5 \times 10^{12}/l$. Erytrosyytit elävät verenkierrossa n. 120 vrk, ja miehillä on keskimäärin enemmän erytrosyyttejä tilavuusyksikköä kohden kuin naisilla. Erytrosyyttien pääasiallinen tehtävä on kuljettaa happea keuhkoista elimistöön ja hiilidioksidia kudoksista keuhkoihin. Rungas fyysinen rasitus sekä elimistön kuivuminen vähentävät plasmatilavuutta ja suurentavat B-Eryt tulosta. Edellä mainittujen lisäksi henkilön asennolla sekä vuorokaudenajalla tiedetään olevan vaikutusta B-Eryt tulokseen. (Tuokko ym. 2008; Matinlauri & Vilpo 2010; Vilpo 2010.)

2.2.2 Hemoglobiini (B-Hb)

Hemoglobiini on punasolujen sisällä oleva voimakkaan punainen proteiini, joka vastaa hapen kuljetuksesta kudoksiin sitomalla ja luovuttamalla happea. Hemoglobiini koostuu neljästä polypeptidiketjusta, joista kaksi on α -globiiniketjuja ja kaksi β -globiiniketjuja. Jokaiseen globiiniketjuun on liittynyt hemiryhmä, johon happimolekyyli sitoutuu.

(Biochemden 2016.) Veren hemoglobiinipitoisuus vaihtelee yksilöittäin miesten arvojen ollen korkeampia kuin naisten ja pienten lasten arvojen ollen suurempia kuin aikuisten. Hemoglobiinia on veressä keskimäärin noin 140 grammaa litrassa. Pienentynyt B-Hb merkitsee anemiaa. Hemoglobiinin määrä voi myös suurentua liikaa, jolloin on kyseessä polysytemia. (Matinlauri & Vilpo 2010; VSSHP 2014.)

2.2.3 Hematokriitti (B-Hkr)

Erytrosyyttien tilavuusosuus eli hematokriitti ilmoittaa erytrosyyttien osuuden veressä, joka tavallisimmin on hieman alle 50%. Nykyään uudemmat verenkuvaa-analysaattorit määrittävät hematokriittiarvon solunlaskijan avulla, mutta arvo saadaan myös laskennallisesti erytrosyyttien määrän (B-Eryt) sekä erytrosyyttien keskitilavuuden (E-MCV) avulla; $B-Hkr = B-Eryt \times E-MCV$. Hematokriitin avulla voidaan arvioida veren hapenkuljetuskapasiteettia sekä nestetasapainoa. Hematokriitti kulkee yleensä käsi kädessä hemoglobiinin kanssa. (Mustajoki & Kaukua 2008; Matinlauri & Vilpo 2010.)

2.2.4 Punasoluindeksit (E-MCV, E-MCH, E-MCHC)

Punasoluindekseillä tarkoitetaan erytrosyyttien keskitilavuutta (E-MCV), erytrosyyttien hemoglobiinin keskimassaa (E-MCH) sekä erytrosyyttien hemoglobiinin keskimassakonsentraatiota (E-MCHC). Näiden parametrien avulla saadaan tärkeää lisätietoa anemioiden laadusta sekä syystä. Erytrosyyttien koko määritetään jakamalla hematokriitti erytrosyyttien määrällä; $E-MCV = B-Hkr / B-Eryt$. Korkeiden glukoosi- ja natriumpitoisuuksien yhteydessä voi esiintyä suurentuneita E-MCV -arvoja. Tämä laboratoriovirhe on seurausta analysaattorin laimennusliuoksen aiheuttamasta solujen turpoamisesta. Myös erytrosyyttien voimakas agglutinaatio tai runsas alkoholin käyttö saattaa aiheuttaa suurentuneen E-MCV -tuloksen. Yhden erytrosyytin sisältämä hemoglobiinimäärä lasketaan jakamalla kokonaishemoglobiinimäärä erytrosyyttien määrällä; $E-MCH = B-Hb / B-Eryt$. Hemoglobiinin määrä litrassa verta määritetään jakamalla hemoglobiinimäärä hematokriitillä; $E-MCHC = B-Hb / B-Hkr$. (Mustajoki & Kaukua 2008; Matinlauri & Vilpo 2010.)

2.2.5 Leukosyytit (B-Leuk)

Valkosolujen eli leukosyyttien osuus veren soluista on vain tuhannesosa erytrosyyttien määrästä eli noin $5 \times 10^9/l$. Leukosyyttien elinikä vaihtelee muutamasta tunnista muutamahan vuoteen leukosyyttityypistä riippuen. Leukosyytit hoitavat elimistön puolustusmekanismia tuhoamalla bakteereja, viruksia, parasitteja sekä auttamalla vahingoittuneiden solujen poistamisessa. Tulehdustiloissa elimistö lisää leukosyyttien tuotantoa, jolloin veren leukosyyttimäärä saattaa jopa viisinkertaistua. B-Leuk -arvot vaihtelevat hyvin voimakkaasti eri ikäkausina. Iän lisäksi myös vuorokausirytmillä on vaikutusta leukosyyttiarvoihin, jotka ovat tavallisesti matalimmillaan aamulla levon jälkeen ja suurimmillaan iltapäivällä. Lievää leukosytoosia eli leukosyyttien määrän kasvua esiintyy raskauden aikana sekä tupakoinnin seurauksena. Lisäksi fyysinen rasitus saattaa nostaa joidenkin leukosyyttien määrää veressä jopa 50-100%:lla. (Mustajoki & Kaukua 2008; Tuokko ym. 2008; Matinlauri & Vilpo 2010; Vilpo 2010.)

2.2.6 Trombosyytit (B-Trom)

Verihiutaleet eli trombosyytit ovat 1-3 μ m:n läpimittaisia tumattomia levyjä, joilla on tärkeä rooli primaarissa hemostaasissa. Trombosyyttejä on veressä viisikymmentä kertaa enemmän kuin leukosyyttejä eli $250 \times 10^9/l$ ja ne viipyvät verenkierrossa noin 7 vrk. Trombosyytit tyrehdyttävät verenvuotoa kiinnittymällä vaurioituneen verisuonen seinämään ja houkuttelemalla paikalle uusia trombosyyttejä, jotka kiinnittyvät jo paikalla oleviin trombosyytteihin. Syntyy trombosyyttitulppa, josta vapautuu hyytymistekijöitä aktiivisia aineita ja veren varsinainen hyytyminen käynnistyy. Lisäksi trombosyytit vapauttavat kasvutekijöitä, jotka seuraavien päivien aikana nopeuttavat haavan paranemista. Trombosyyttien määrä vähenee muun muassa maksasairauksissa sekä alkoholinkäytön seurauksena. Lisäksi vastasyntyneillä B-Trom -arvot ovat jonkin verran aikuisten arvoja alhaisempia. Trombosyyttien vähentynyt määrä ilmenee tavallisimmin mustelmina ja limakalvoverenvuotona. Trombosyyttien ylimäärä altistaa veritulpile. (Mustajoki & Kaukua 2008; Tuokko ym. 2008; Vilpo 2010.)

3 SYSMEX XN-350 -VERENKUVA-ANALYSAATTORIN VALIDOINTI

3.1 Sysmex XN-350 –verenkuva-analysaattori

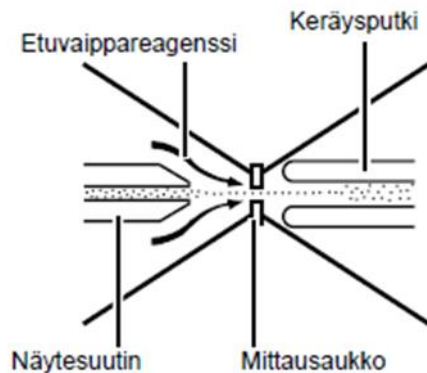
Sysmex XN-350 on Sysmex XN-L sarjaan kuuluva pienten laboratoriodien käyttöön kehitetty verenkuva-analysaattori, jolla näytteet analysoidaan manuaalisesti avopuolella. Sysmex XN-350 pystyy käsittelemään 60 näytettä tunnissa. (Sysmex 2015; Sysmex Europe 2016.) Tyklabin Sysmex XN-9000 on täysautomaatiolinjasto, joka koostuu neljästä Sysmex XN-10- ja yhdestä Sysmex XN-20 –moduulista sekä SP-10 morfologialasien veto- ja värjäysautomaatista. Sysmex XN-9000 -linjastolla voidaan analysoida useita satoja näytteitä tunnissa. (Tykslab 2013; Sysmex 2016.)

Sysmex XN-350 ja Sysmex XN-9000 -analysaattorit tekevät perusverenkuvan ja trombosyytit sekä leukosyyttien viisiosaisen erittelylaskennan. Leukosyytit määritetään WDF-kanavalla, erytro- ja trombosyytit RBC/PLT-kanavalla sekä hemoglobiini HGB-kanavalla. (Sysmex Corporation 2011; Tykslab 2013.) Tämän lisäksi osa XN-9000 -linjaston moduuleista on varustettu retikulosyytti-, fluoresenssitrombosyytti- tai leukosyyttien analysointiin tarkoitetuilla mittauskanavilla (Tykslab 2013). Sysmex analysaattorit käyttävät solujen laskemiseksi ja tunnistamiseksi mittausperiaatteina hydrodynaamista fokusointia (DC-detektio), virtaussytometriaa (puolijohdelaseria käyttäen) sekä natriumlauryylisulfaatti eli SLS-hemoglobiinimenetelmää. Hydrodynaamisen fokusoinnin avulla analysaattori laskee solujen määrän. Virtaussytometrialla saadaan tietoa solujen kemiallisista sekä fysiologisista ominaisuuksista, kuten solujen koosta ja rakenteesta. SLS-hemoglobiinimenetelmällä määritetään näytteen hemoglobiinin määrä. (Tykslab 2013; Sysmex Europe 2016.)

3.1.1 Hydrodynaaminen fokusointi (DC-detektio)

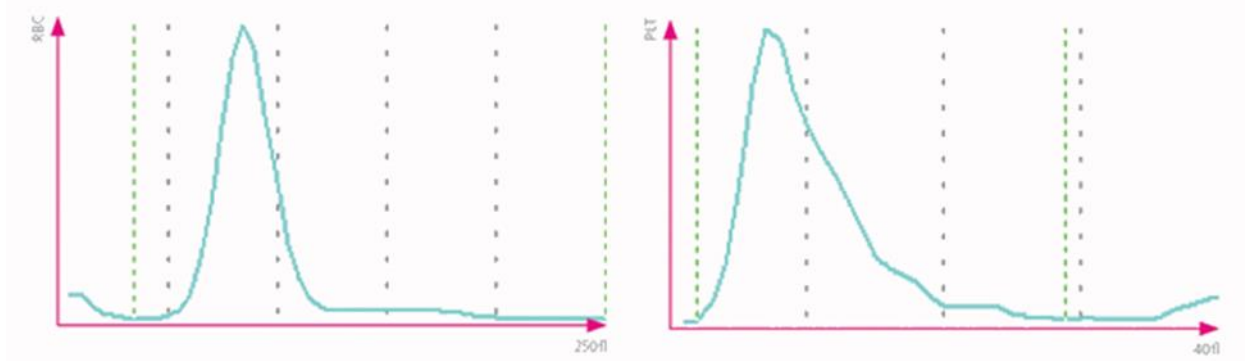
Erytrosyyttien ja trombosyyttien määrä lasketaan RBC/PLT -kanavalla hydrodynaamisen fokusoinnin avulla, tasavirtadetektiota hyödyntäen (Sysmex Corporation 2011). Samanaikaisesti määritetään myös hematokriitti RBC-pulssikorkeuden ilmaisumenetelmällä. Mittauskanavalle aspiroituun näyte laimennetaan Cellpack -reagenssilla määrättyssä suhteessa, jonka jälkeen näyte kulkeutuu detektiokammioon. Detektorin sisällä

on näytesuutin, joka on asetettu mittausaukon eteen suorassa linjassa detektorin keskikohdan kanssa. Laimennettu näyte kulkeutuu näytesuuttimesta kartiomaisen mittausaukon läpi, jossa etuvaippareagenssi ympäröi sen ja pakottaa näytteen partikkelit kulkemaan yksitellen yhdessä jonossa elektrodien ympäröimän mittausaukon läpi. Mittausaukon läpi kulkeva solu aiheuttaa muutoksen elektrodien välisessä jännitteessä. Vastuksen muutos synnyttää sähköisen pulssin, jonka suuruus on verrannollinen läpi kulkevan partikkelin kokoon. Kun laimennettu näyte on ohittanut mittausaukon, kulkeutuu näyte keräysputkeen, joka estää verisolujen takaisinvirtauksen ja väärien trombosyyttipulssien muodostumisen (Kuva 1). (Sysmex 2015; Sysmex Europe GmbH 2016a.)



Kuva 1. Hydrodynaamisen fokusoinnin mittausperiaate (Sysmex 2015).

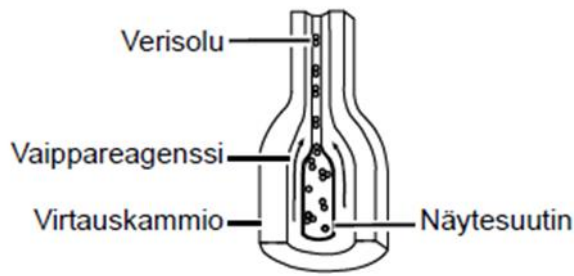
RBC/PLT -kanavassa syntyneet, solun tilavuuteen suoraan verrannollisesti olevat sähköiset pulssit muunnetaan graafiseen muotoon tilavuuden jakaumakäyräksi, histogrammiksi (Kuva 2) (Sysmex Europe GmbH 2016b). Erytrosyytilaskenta määritetään partikkelilukemana kahden diskriminaattorin, alemman diskriminaattorin (LD) sekä ylemmän diskriminaattorin (UD), välillä, jotka asetetaan automaattisesti tässä järjestyksessä alueille 25–75 fL ja 200–250 fL. Partikkelien kokojakaumasta tarkistetaan epänormaalit suhteelliset frekvenssit kussakin diskriminaattoritasossa, epänormaali jakauman leveys sekä useamman kuin yhden huipun esiintyminen. Trombosyytilaskenta suoritetaan samalla periaatteella kuin erytrosyytilaskenta kahta ennalta määritettyä diskriminaattoria apuna käyttäen tilavuusalueiden ollessa 2–6 fL ja 12–30 fL. (Sysmex 2015.)



Kuva 2. RBC- ja PLT histogrammi (Sysmex Europe GmbH 2016b).

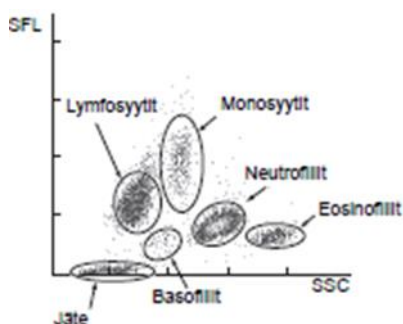
3.1.2 Puolijohdelaservirtausytometria

Virtausytometriamenetelmässä solut ohjataan WDF-kanavassa äärimmäisen pienten virtauskammioiden läpi, jolloin saadaan tietoa solun koosta, rakenteesta ja sen sisällöstä. Tämä mahdollistaa leukosyytien viisiosaisen erittelylaskennan, jolloin solut voidaan luokitella neutrofiileihin, basofiileihin, eosinofiileihin, lymfosyytteihin sekä monosyytteihin. Ennen näytteen kulkeutumista mittausalueelle näyte aspiroidaan, sen tilavuus mitataan, näyte laimennetaan määrättyssä suhteessa sekä leimataan nukleiinihappoihin sitoutuvalla fluoresenssimerkkiaineella. Tämän jälkeen näyte syötetään hydrodynaamisen fokuosoinnin avulla virtauskammioihin (Kuva 3), joissa soluihin kohdistetaan puolijohdettava lasersäde. Lasersäteen osuessa soluihin muodostuu suoraan siroavaa valoa (FSC), sivulle siroavaa valoa (SSC) sekä sivulle siroavaa fluoresenssivaloa (SFL). Valodiodit kaappaavat sironneen valon, joka muunnetaan sähköisiksi pulsseiksi ja saadaan tietoa verisoluista. Suoraan sironneen valon intensiteetti kertoo solun koosta. Sivulle sironnut valo antaa tietoa solun rakenteesta, kuten tumasta ja granuloista, joiden avulla voidaan määrittää solun kypsyysaste. Fluoresenssivalo ilmaisee DNA:n ja RNA:n määrän soluissa. (Sysmex 2015; Sysmex Europe GmbH 2016c.)



Kuva 3. Puolijohdelaservirtauscytometrin mittauskammio (Sysmex 2015).

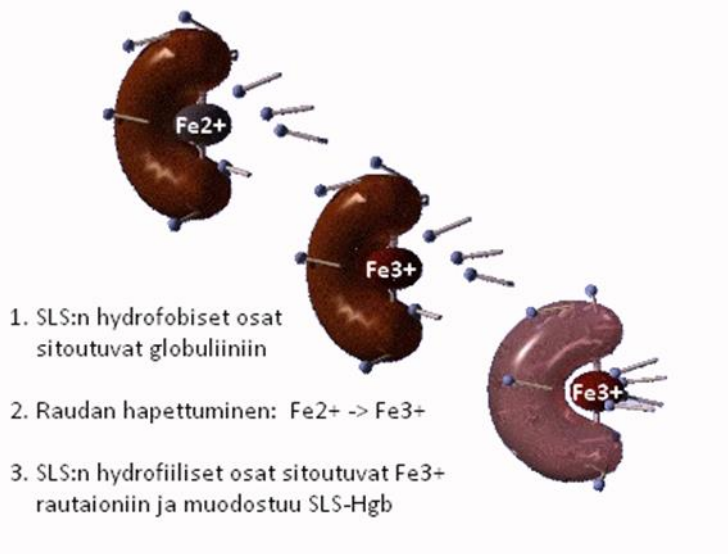
WDF-kanava erottelee ja laskee neutrofiilit, lymfosyytit, monosyytit, eosinofiilit ja basofiilit, sekä havaitsee epänormaalit solut kuten epäkypsät leukosyytit ja atyyppiset lymfosyytit. Lysercell -reagenssin pintajännitystä alentava vaikutus aiheuttaa hemolyyysiä ja erytrosyyttien sekä trombosyyttien hajoamisen. Lisäksi se tunkeutuu leukosyyttien solukalvoihin saaden niissä aikaan rakennemuutoksia. Solukalvon rakenteiden muutosten voimakkuus ja siitä seuraava solun morfologiassa tapahtuva muutos riippuu kunkin leukosyytin yksilöllisistä ominaisuuksista. Näiden rakennemuutosten perusteella solut voidaan erotella käyttämällä sivulle siroavaa valoa (SSC). Fluorocell -reagenssin fluoresoiva polymetiiniväriaine kulkeutuu soluihin värjäten nukleiinihapot ja solun rakenteet. Fluoresenssin voimakkuus vaihtelee eri leukosyyteissä riippuen nukleiinihapon tyypistä ja määrästä sekä solun rakenteesta. Sivulle siroavan valon (SSC) sekä sivulle siroavan fluoresenssivalon (SFL) mittaussignaalit analysoidaan ja esitetään hajontakuviona, jossa näkyvät leukosyyttien erottelu neutrofiileiksi, lymfosyyteiksi, monosyyteiksi, eosinofiileiksi sekä basofiileiksi (Kuva 4). Sytokemiallisesti samanlaisia ominaisuuksia omaavat solut ryhmittyvät hajontakuviassa samalle alueelle. (Sysmex Corporation 2011; Sysmex Europe GmbH 2016d.)



Kuva 4. WDF-hajontakuvio (Sysmex 2015).

3.1.3 SLS-hemoglobiinimenetelmä

Sysmex verenkuvaa-analysaattorit mittaavat näytteen hemoglobiinipitoisuuden HGB -kanavalla syanidivapaata natriumlauryylisulfaatti-hemoglobiinimenetelmää käyttäen. Mittauksessa käytettävässä Sulfolyser -reagenssissa oleva natriumlauryylisulfaatti sitoutuu erytrosyyttien kalvorakenteisiin pääasiassa ionisidoksen sekä osittain hydrofobisten sidosten avulla. Tämä muutos erytrosyyttien kalvorakenteiden proteiineissa aiheuttaa erytrosyyttien pinnalla olevien fosfolipidien liukenemisen, jolloin erytrosyyteissä oleva hemoglobiini vapautuu. Hemirauta hapettuu samanaikaisesti, kun vapautuneen globiinin sekä SLS:n hydrofobisen ryhmän välinen sidos aiheuttaa muutoksen hemoglobiinin kolmiulotteisessa rakenteessa. SLS:n hydrofiilinen ryhmä sitoutuu hapettuneeseen hemirautaan muodostaen lujan SLS-hemoglobiinikompleksin (Kuva 5), joka analysoidaan fotometristä menetelmää käyttäen. SLS-HGB-kompleksiin absorboituneen valon määrä on suoraan verrannollinen näytteen hemoglobiinipitoisuuteen. (Sysmex Corporation 2011; Sysmex Europe GmbH 2016e.)



Kuva 5. SLS-hemoglobiinimenetelmän mittausperiaate (SlideShare 2014: muokattu).

3.1.4 Sysmex XN-350:n reagenssit, kontrollit ja niiden säilytys

Cellpack DCL on natriumkloridista, EDTA:sta sekä tris-puskurista koostuva reagenssi, jota käytetään näytteen laimentamiseen erytro- ja trombosyyttien määrää ja kokoa hydrodyaamisella fokuoinnilla mitattaessa. Cellpackia voidaan myös käyttää hemoglobiini-

nipitoisuuden määrittämisessä, kun siihen ennen analyysiä lisätään lysoivaa reagenssia (Sulfolyser). Cellpack säilytetään 2–35°C -lämpötilassa auringonvalolta suojattuna. Näytteitä analysoitaessa reagenssin tulee olla 15–35°C:n lämpötilassa tarkkojen tulosten saamiseksi. Avaamaton reagenssi säilyy vanhenemispäivään asti, avattu reagenssi säilyy 60 päivää. (Sysmex 2015.)

Sulfolyser on natriumlauryylisulfaattia sisältävä reagenssi, joka on tarkoitettu veren hemoglobiinipitoisuuden mittaamiseen. Reagenssi tulee säilyttää 1-30°C -lämpötilassa, poissa suorasta auringonvalosta. Avaamaton reagenssi säilyy viimeiseen käyttöpäivään saakka. Avattuna Sulfolyser säilyy 60 päivää. (Sysmex 2015.)

Lysercell WDF on reagenssiaine, jota käytetään yhdessä Fluorocell WDF:n kanssa leukosyyttien erittelyyn virtaussyometriaa käyttäen. Lysercell koostuu kationien pinta-aktiivisesta aineesta sekä ionittomasta pinta-aktiivisesta aineesta, jotka saavat aikaan Lysercellin erytrosyyttejä hemolysoivan vaikutuksen. Reagenssi säilyy 2-35°C -lämpötilassa, suoralta auringonvalolta suojattuna. Avattu reagenssi säilyy 90 päivää, avaamattomana se säilyy viimeiseen käyttöpäivään asti. (Sysmex 2015.)

Fluorocell WDF:ää käytetään leukosyyttien leimaamiseen sen jälkeen, kun verinäyte on ensin laimennettu ja lysattu Lysercellillä. Polymetiinipigmentistä, metanolista sekä etyleeniglykolista koostuva Fluorocell saa aikaan leukosyyttien solurakenteiden värjäytymisen, jonka jälkeen näytteestä voidaan määrittää leukosyyttien erittelylaskenta. Fluorocell säilyy 2-35°C -lämpötilassa. Avattu reagenssi säilyy 90 päivää, avaamaton viimeiseen käyttöpäivään asti. (Sysmex 2015.)

XN-L Check on Sysmex XN-L -laitteille kokoverisolulaskentaan, leukosyyttien erittelylaskentaan sekä retikulosyyttien parametreille tarkoitettu kontrolli. Kontrolliveri säilytetään pimeässä, jääkaappilämpötilassa. Avaamattomana tuotetta voidaan säilyttää viimeiseen käyttöpäivään saakka. Avattu kontrolli on käyttökelpoinen 15 päivää. (Sysmex 2015.)

Cellclean on natriumhypokloriitista koostuva voimakas emäksinen pesuaine, jota käytetään poistamaan Sulfolyseriä, solujäämiä sekä veren proteiineja, joita on jäänyt analysaattorin hydraulikkajärjestelmään. Cellcleania säilytetään 1-30 °C, poissa suorasta auringonvalosta. (Sysmex 2015.)

3.2 Validointi

Validoinnilla tarkastetaan soveltuuko esimerkiksi tietty tutkimusmenetelmä, ohjelma tai laite sille suunniteltuun käyttötarkoitukseen ja olosuhteisiin. Validointi suoritetaan, kun kehitetään uutta mittaussuunnitelmaa, testataan kahden eri mittaussuunnitelman yhdenmukaisuutta tai kun käyttöön otetaan uusi mittalaite. Validoinnissa tutkittavia muuttujia ovat esimerkiksi tarkkuus, toistettavuus, uusittavuus, spesifisyys ja täsmällisyys. Tutkittavien muuttujien valinta tehdään sen perusteella, mille asialle (menetelmä, laite tai ohjelma) validointi on tarkoitettu suorittamaan. (Ehder ym. 2005; Hiltunen ym. 2011.)

Validoinnissa on olennaista varmistua mittaussuunnitelman tai laitteen suorituskyvystä ja soveltuvuudesta haluttuun tarkoitukseen. Validointi on tärkeä toimenpide laboratorion tulosten luotettavuuden kannalta. Lääketieteellisissä, farmakologisissa ja elintarvikkeiden tutkimuksissa on huomioitava myös viranomaisvaatimukset. (Ehder ym. 2005; Hiltunen ym. 2011.) Laki terveydenhuollon laitteista ja tarvikkeista määrää, että laitteen tulee olla käyttötarkoitukseensa sopiva ja oikein käytettynä saavuttaa sille suunniteltu toimivuus ja suorituskyky (Laki terveydenhuollon laitteista ja tarvikkeista 629/2010). Laboratorion akkreditointi ISO 17025 standardin mukaan vaatii validoinnin suorittamisen. Validointi tulee suunnitella ja dokumentoida tarkasti. (Saari 2010; Q-Lab 2016.)

Kahden menetelmän tai laitteen vertailu ja tulosten täsmällisyyden tarkastelu on usein käytetty menetelmä validoinnissa. Mittalaitteet pidetään tällöin omissa laboratorioissaan ja kummallakin mitataan samaa näytettä. (Ehder ym. 2005; Hiltunen ym. 2011.) Edellä mainittuja toimenpiteitä kutsutaan vertailumittauksiksi tai pätevyyskokeiksi, ja niissä mitataan tunnetun näytteen antamien tulosten toistuvuutta, uusittavuutta sekä systemaattista virhettä. Tunnetun pitoisuuden omaavaa näytettä voidaan ajaa referenssilaboratoriossa ja sama näyte voidaan antaa yksittäisen laboratorion ajettavaksi, kun halutaan arvioida laboratorion pätevyyttä. Tulosten avulla arvioidaan laboratorion suorituskykyä vertaamalla sitä referenssilaboratorion saamiin tuloksiin. (Ehder ym. 2005.)

3.2.1 Täsmällisyys

Täsmällisyydellä tai uusittavuudella tarkoitetaan mittaustulosten yhtäpitävyyttä, kun mittaukset suoritetaan muuttuneissa olosuhteissa. Muuttuneisiin olosuhteisiin voivat

kuulua mittausperiaate, mittausmenetelmä, havainnoitsija, mittauslaite, käyttöolosuhteet tai paikka. Täsmävyttä tutkitaan esimerkiksi silloin, kun mittaukset tehdään samasta näytteestä samalla menetelmällä, mutta eri laboratorioissa eri laitteiden välillä. Täsmävyttä tutkitaan menetelmän standardisoinnin yhteydessä laboratorioiden välisin vertailukokein. (Ehder ym. 2005.)

3.2.2 Toistuvuus

Toistuvuutta mitataan suorittamalla mittausajo useita kertoja peräkkäin samoissa mittausolosuhteissa. Lyhyellä aikavälillä saadaan samasta näytteestä toisistaan riippumattomia testaustuloksia samalla laitteella ja saman tekijän suorittamana. Toistettavuutta määritetään tekemällä useita rinnakkaismääryksiä erityyppisistä näytteistä eri pituuksilla. Vaihtelu on yleensä pienempää näytesarjojen sisällä kuin näytesarjojen välillä. Mikäli sarjojen välinen hajonta on merkittävästi suurempaa kuin sarjojen sisäinen vaihtelu, on syy selvitettävä. Aiheuttaja saattaa olla sellaisissa analyysitekijöissä, jotka sarjan sisällä pysyvät muuttumattomina (lämpötila, säilyvyys, homogeenisuus), mutta vaihtelevat sarjojen välillä. (Ehder ym. 2005.)

4 TUTKIMUKSEN TARKOITUS, TAVOITTEET JA TUTKIMUSONGELMAT

Tämän opinnäytetyön tarkoituksena on validoida perusverenkuvatutkimus Turun ammattikorkeakoulun bioanalytikkokoulutuksen käyttöön hankitulle Sysmex XN-350 -verenkuvanaalysaattorille. Tarkasteltavat verenkuvaparametrit ovat leukosyyttien määrä (B-Leuk), erytrosyyttien määrä (B-Eryt), hematokriitti (B-Hkr), hemoglobiini (B-Hb) sekä trombosyyttien määrä (B-Trom). Perusverenkuvan muut parametrit on jätetty validoinnissa huomioimatta, sillä ne ovat laskennallisia arvoja, jotka määritetään validoitavien parametrien perusteella. Validoinnissa käytetään referenssilaitteena Tykslabin osastolla 930 käytössä olevaa Sysmex XN-9000 -täysautomaatiolinjastoa ja sen antamia tuloksia laskimoverinäytteistä.

Tämän opinnäytetyön tavoitteena on edistää bioanalytikko-opiskelijoiden analyysiosaamista ja tietämystä perusverenkuvan osalta, sillä perusverenkuvaa on yksi käytetyimmistä laboratoriotutkimuksista. Validoinnin jälkeen Turun ammattikorkeakoulu voi varmistua analysaattorin tuloksien luotettavuudesta ja analysaattoria voidaan hyödyntää bioanalytikkokoulutuksen opetus- ja tutkimustyössä. Perusverenkuvan validoinnin myötä varmistetaan, että tutkimuksen tulostaso vastaa yhteistyökumppani Tykslabin tulostasoa, mikä mahdollistaa Tykslabin kanssa yhtenevien viitearvojen käytön.

Tämän opinnäytetyön tutkimustehtävinä ovat:

1. Selvittää onko Sysmex XN-350 – verenkuvanaalysaattorin tulostaso ja referenssilaitteena toimivan Sysmex XN-9000 -analysaattorin tulostaso sama.
2. Selvittää Sysmex XN-350 – verenkuvanaalysaattorin toistettavuutta suorittamalla toistoajoja tutkimusnäytteistä sekä kontrollista.

5 OPINNÄYTETYÖN TOTEUTUS

5.1 Opinnäytetyön toteutus

Tämä opinnäytetyö toteutettiin kokonaisuudessaan syyslukukauden 2016 aikana. Opinnäytetyön suunnittelu aloitettiin elokuussa 2016, jolloin opinnäytetyön tekijät osallistuivat Sysmex XN-350- verenkuvaa-analysaattorin käyttökoulutukseen, joka järjestettiin Turun ammattikorkeakoulun Ruiskadun yksikössä. Tutkimussuunnitelman kirjoittaminen ja lähdemateriaalin hankinta aloitettiin elokuussa 2016. Validoinnista tehtiin myös validointisuunnitelma, joka liitettiin osaksi tutkimussuunnitelmaa ja lopullista opinnäytetyötä (Liite 2). Tutkimussuunnitelma valmistui syyskuussa 2016, jonka jälkeen tutkimuslupaa anottiin Ruiskadun yksikön koulutusvastaavalta. Tutkimussuunnitelma ja tutkimuslupa hyväksyttiin syyskuussa 2016 (Liite 3). Opinnäytetyössä käytettävä tutkimusaineisto koostui kokoverinäytteistä (n=32), jotka saatiin Tykslabin Päivystys- ja automaatiolaboratoriosta osastolta 930. Tutkimusnäytteille haettiin lupa Tykslabin johtajalta syyskuussa 2016. Validointisuunnitelman mukaan, edeltävinä päivinä oli tarkoitus tarkistaa laitteen toimivuus ajamalla tuoreita kokoverinäytteitä. Käynnistettäessä Sysmex XN-350 -verenkuvaa-analysaattori tarkistusajoa varten, antoi analysaattori virheilmoituksen, joka ei poistunut ohjeistetun toimenpiteen jälkeen. Tämän jälkeen otettiin yhteys Roche Diagnosticin huoltoon, joka tuli seuraavalla viikolla huoltamaan verenkuvaa-analysaattorin. Tutkimusnäytteiden lupa ehti kuitenkin vanheta ennen kuin analysaattori saatiin kuntoon, joten uusi lupa anottiin ja saatiin Tykslabin johtajalta lokakuussa 2016.

Kokoverinäytteet haettiin Päivystys- ja automaatiolaboratoriosta kolmena peräkkäisenä päivänä. Kahtena ensimmäisenä päivänä haettiin 10 näytettä päivää kohden ja kolmantena päivänä 12 näytettä. Kokoverinäytteet oli ensin analysoitu aamun aikana Sysmex XN-9000 -verenkuvaa-analysaattorilinjastolla osastolla 930. Päivystys- ja automaatiolaboratorion hematologian linjaston työntekijöille oli kirjoitettu ohjeet näytteiden valinnasta etukäteen. Tarkoituksena oli valita kaikista tutkittavista parametreista matalia, korkeita ja normaalitason näytteitä. Näytteistä oli poistettu kaikki tunnistetiedot ja ne oli numeroitu juoksevilla numerosarjalla yhdestä kymmeneen (kolmantena päivänä yhdestä kahteentoista). Näytteiden mukana saimme myös analysaattorin tulosteet, joista näkyi Sysmex XN-9000 -verenkuvaa-analysaattorilinjaston antamat tulokset. Näytteet haettiin jokaisena päivänä noin kahdentoista aikaan aamupäivällä, jolloin ana-

lysointiviive ei kasvaisi liian suureksi eikä tutkimusnäytteiden valinta häiritsisi liikaa hematologian linjaston kiireistä aamua. Näytteet tuotiin Ruiskadun toimipisteeseen asianmukaisessa kuljetuslaatikossa.

Ennen analysointipäiviä laitteella oli ajettu kontrolli- ja kokoverinäytteitä, jotta pystyttiin varmistumaan laitteen toimintakunnosta. Analysointipäivinä ajettiin aina ensin yksi ja sama kontrollinäyte, ja kontrollin tulokset hyväksyttiin ennen tutkimusnäytteiden ajoa. Tutkimusnäytteet olivat ehtineet seisoa jonkin aikaa osastolla 930 ja näytteiden kuljetuksen aikana, joten ne sekoitettiin huolellisesti ennen analysointia. Näytteiden tunnistetiedot kirjattiin analysaattoriin yksi kerrallaan ja kaikki näytteet ajettiin kertaalleen järjestyksessä. Toistoajoja varten näytteet valittiin satunnaisesti kysymällä ulkopuoliselta henkilöltä kolme numeroa yhdestä kymmeneen (kolmantena päivänä yhdestä kahteentoista). Toistoajot suoritettiin numerojärjestyksessä, ja kolmesta valitusta näytteestä tehtiin vielä kaksi ajoa kustakin. Näytteiden ajon jälkeen ajettiin sama kontrollinäyte päivän päätteeksi. Päivän ajojen tulokset tallennettiin muistitikulle suoraan analysaattorilta. Lisäksi jokaisesta näytteestä otettiin ulos samanlainen tuloste kuin mitä olimme saaneet Päivystys- ja automaatiolaboratoriosta. Ennen analysaattorin sammutusta suoritettiin analysaattorille rutiinipesu Cellclean auto -pesuliuksella. Kaikki tutkimusnäytteet hävitettiin kolmantena päivänä asianmukaisella tavalla.

Turun ammattikorkeakoululle ei koitunut opinnäytetyöstä kustannuksia muuten kuin analysaattorin käyttämien reagenssien ja kontrollien osalta. Validoinnista tehtiin laatu-käsikirjan liitteeksi kirjallinen validointiraportti. Validointiraporttiin kirjattiin validoinnin toteutus, tulokset ja johtopäätökset.

5.2 Tulosten tilastollinen tarkastelu

Tutkimusaineiston tilastollinen tarkastelu suoritettiin loka-marraskuussa 2016. Tilastollisessa tarkastelussa käytettiin pääasiassa Microsoftin Excel taulukkolaskentaohjelmaa, mutta aineistosta tehtiin muutamia lisäselvityksiä myös IBM SPSS Statistics -ohjelmalla.

Sysmex XN-350 -verenkuva-analysaattorin antamat tulokset muunnettiin Excel muotoon muistitikulla olevasta tiedostosta ja Sysmex XN-9000 -verenkuva-analysaattorilinjaston antamat tulokset syötettiin Excel-taulukkoon käsin tulosteiden pohjalta (Liite 4). Tilastollinen tarkastelu aloitettiin Sysmex XN-350 ja Sysmex XN-9000

-verenkuva-analysointien tulosten täsmävyuden tarkastelulla jokaisen parametrin (leukosyytit, erytrosyytit, hemoglobiini, hematokriitti ja trombosyytit) suhteen erikseen. Tarkoituksena oli tutkia saatujen tulosten välistä riippuvuutta. Riippuvuuksia selvittäessä tutkitaan usein kahden muuttujan välistä yhteyttä pareittain ja tarkastelu on hyvä aloittaa hajontakuvioiden eli korrelaatiogrammien avulla (Holopainen & Pulkkinen 2002; Heikkilä 2010). Analysointien tuloksista tehtiin korrelaatiogrammit kullekin parametrille. Korrelaatiogrammeista tutkittiin, muodostivatko pisteet säännöllisen pistejoukon ja hajontakuviosta arvioitiin mahdollisen yhteyden muoto ja suunta (Holopainen & Pulkkinen 2002). Tarkastelua jatkettiin laskemalla lineaarisen riippuvuuden voimakkuus Pearsonin korrelaatiokerroimen avulla. Pearsonin korrelaatiokerroin r mittaa vain lineaarista yhteyttä ja korrelaatiokerroin vaihtelee arvojen -1 ja $+1$ välillä. Kerroimen arvo 0 kertoo, että lineaarista riippuvuutta ei ole, lähellä $+1$ -arvoa muuttujien välillä on voimakas positiivinen korrelaatio ja lähellä -1 -arvoa muuttujien välillä on voimakas negatiivinen korrelaatio. Mikäli kahden muuttujan välillä havaitaan selvää lineaarista riippuvuutta, eli korrelaatiokerroin on lähellä arvoa 1 , voidaan riippuvuutta kuvata regressiosuoran avulla. Regressioanalyysin päämääränä on kuvata muuttujien välistä yhteyttä matemaattisen mallin avulla. Kun muuttujia on vain kaksi, ne ovat toistensa havaintopari ja toinen muuttujista on selittävä (x) ja toinen selitettävä (y) muuttuja. Regressiosuorasta saadaan regressiokerroin, joka ilmoittaa kuinka paljon y :n arvo muuttuu, kun x :n arvo muuttuu yhden yksikön. Regressiokerroimella voidaan laskea selitysaste, joka mittaa mallin kykyä kuvata selitettävän muuttujan vaihtelua. (Pulkkinen 2002; Heikkilä 2010.)

Analysointien täsmävyystarkastelun jälkeen tilastollista analysointia jatkettiin sarjojen välisen ja sarjojen sisäisen toistettavuuden tarkastelulla. Sarjojen välistä toistettavuutta tarkasteltiin kontrollinäytteiden tulosten avulla ja sarjojen sisäistä toistettavuutta toistoajojen tulosten avulla. Toistettavuuden tarkastelua varten kontrollinäytteille ja potilasnäytteille laskettiin tunnusluvut, joita verrattiin keskenään jokaisen parametrin osalta. Tunnuslukuja verrattiin myös laitevalmistajan saamiin tunnuslukuihin. Lasketut tunnusluvut olivat keskiarvo, keskihajonta ja variaatiokerroin (%). Tunnusluvut voidaan jakaa sijaintilukuihin ja muuttujien arvojen vaihtelua kuvaaviin hajontalukuihin (Heikkilä 2010). Aritmeettinen keskiarvo on välimatka- tai suhteasteikon keskiluku, joka saadaan laskemalla kakkien havaintoarvojen summa ja jakamalla se havaintojen määrällä (Holopainen & Pulkkinen 2002; Heikkilä 2010). Ääriarvojen vaikutus keskiarvoon voi olla huomattava, mikäli havaintoja on vähän (Heikkilä 2010). Hajontaluvuilla kuvataan havaintoaineiston homogeenisuutta tai heterogeenisuutta eli sitä, kuinka hajallaan muut-

tujasta tehdyt mittaukset ovat (Holopainen & Pulkkinen 2002; Heikkilä 2010). Yleisin välimatka- ja suhdeasteikolla mitatun muuttujan hajontaluku on keskihajonta, jota käytetään yhdessä aritmeettisen keskiarvon kanssa. Keskihajonnan tulkinta on kuitenkin hankalaa vertaamalla sitä esimerkiksi jokin toisen jakauman hajontaan. (Holopainen & Pulkkinen 2002.) Keskihajonta kuvastaa havaintoarvojen hajanaisuutta keskiarvon ympärillä (Heikkilä 2010). Suhdeasteikolla mitatuille muuttujille voidaan käyttää variaatiokerrointa hajontalukuna. Variaatiokerroin on jakauman suhteellinen hajonta, joka lasketaan jakamalla keskihajonta keskiarvolla. (Holopainen & Pulkkinen 2002; Heikkilä 2010.) Variaatiokertoimen avulla saadaan muuttujien arvot vertailukelpoisiksi, vaikka ne olisivatkin eri suuruusluokkaa tai mittayksikköä (Heikkilä 2010).

5.3 Opinnäytetyön metodologiset lähtökohdat

Kvantitatiivinen eli määrällinen tutkimus on tieteellisen tutkimuksen menetelmäsuuntaus, joka perustuu kohteen kuvaamiseen ja tulkitsemiseen tilastojen ja numeroiden avulla. Määrällistä tutkimusta kutsutaankin usein myös tilastolliseksi tutkimukseksi. Kvantitatiivisessa tutkimuksessa ollaan yleensä kiinnostuneita syy-seuraussuhteista ja numeerisiin tuloksiin perustuvasta ilmiöiden selittämisestä. Keskeistä on tieteellisten hypoteesien esittäminen. (Hirsjärvi ym. 1997; Heikkilä 2010; Jyväskylän yliopisto 2015.) Kvantitatiivisen tutkimuksen avulla selvitetään lukumääriin ja prosenttiosuuksiin liittyviä kysymyksiä, mutta se vaatii riittävän suurta ja edustavaa otosta luotettavien tulosten saamiseksi. Edustava otos edellyttää, että otosyksiköt ovat valittu arpoen eikä harkiten. Otokseen valittujen on kuuluttava tutkittavaan perusjoukkoon ja jokaisella on mahdollisuus päästä otokseen. Otokseen valinnassa on kuitenkin usein tehtävä kompromissi aikataulun, tulosten tarkkuuden ja kustannusten välillä. Otoksesta on tarkoitus saada samat tulokset kuin mitä koko perusjoukosta saataisiin. Tilastollisen päättelyn keinoin pyritään yleistämään tutkittuja havaintoyksiköitä laajempaan joukkoon. (Heikkilä 2010.)

Tässä opinnäytetyössä käytettiin kvantitatiivista tutkimusmenetelmää, koska aineistosta saatuja tuloksia tarkasteltiin numeerisesti. Tuloksia analysoitiin tilastollisesti ja niistä tehtiin päätelmiä. Analyysien tuloksia havainnollistettiin taulukoiden ja kuvioiden avulla. Otokseen valinnassa jouduttiin tekemään kompromisseja aikataulun ja kustannusten vuoksi. Lisäksi otokseen valitut näytteet olivat osin valikoituja, sillä validoitavan laitteen suorituskyvyn todentamiseen vaadittiin näytteitä niin matalalta, normaalilta kuin korke-

alta tulostasolta. Suurin osa peruslaboratorion näytteistä menee viiterajojen sisäpuolelle ja mikäli otanta olisi ollut täysin satunnaista, olisi ollut hyvin todennäköistä, että validoinnissa käytetyt näytteet olisivat olleet niin sanottuja normaalinäytteitä.

5.4 Eettiset lähtökohdat

Tieteellinen tutkimus on eettisesti hyväksyttävä ja luotettava sekä siitä saatavat tulokset uskottavia vain, mikäli tutkimus on suoritettu hyvien tieteellisten käytäntöjen edellyttämällä tavalla. Hyviin tieteellisiin toimintatapoihin kuuluu tiedeyhteisöjen tunnustamien toimintatapojen noudattaminen, joita ovat muun muassa tarvittavien tutkimuslupien hankkiminen sekä rehellisyys, yleinen huolellisuus ja tarkkuus tutkimustyössä sekä tulosten tallentamisessa ja esittämisessä. Jokainen tutkija ja tutkimusryhmän jäsen vastaavat itse hyvän tieteellisen käytännön noudattamisesta. Muiden tutkijoiden työ ja saavutukset tulee ottaa asianmukaisella tavalla huomioon ja heidän julkaisuihinsa tulee viitata asianmukaisella tavalla ja antaa heidän saavutuksilleen niille kuuluva arvo. (Tutkimuseettinen neuvottelukunta 2014; Resnik 2015.)

Tämä opinnäytetyö pyrittiin toteuttamaan hyviä tieteellisiä toimintatapoja noudattaen. Opinnäytetyölle haettiin asianmukaisesti tarvittavat tutkimusluvut ennen tutkimuksen aloittamista. Tutkimusaineistona käytettyjä laskimoverinäytteitä käsiteltiin anonyymisti siten, ettei näytteitä ollut mahdollista jäljittää takaisin potilaisiin. Verinäytteet luovutettiin Tykslabista nimettöminä ja juoksevalla numerosarjalla merkattuina, jolloin potilaan henkilöllisyys ei ollut missään opinnäytetyön vaiheessa jäljitettävissä. Koska tutkimuksessa käytetyt näytteet olivat nimettömiä ja jo analysoituja potilasnäytteitä, ei potilailta ollut tarpeen vaatia suostumusta näytteiden käyttämisestä tutkimustarkoitukseen. Analysoinnin jälkeen verinäytteet hävitettiin asianmukaisesti.

6 TUTKIMUSTULOKSET JA NIIDEN TARKASTELU

6.1 Sysmex XN-350 -verenkuva-analysaattorin tulosten täsmävyys Sysmex XN-9000 -analysaattorilinjaston tulosten kanssa

Analysaattorien välisten tulosten täsmävyys tarkastelu aloitettiin tutkimalla korrelaatiodiagrammeja. Tarkasteltavien muuttujien arvot merkittiin koordinaatistoon ja pisteiden muodostamaa kuvioita tarkasteltiin ensin silmämääräisesti. Sysmex XN-350 -analysaattorin tulokset aseteltiin y-akselille ja referenssilaitteen tulokset aseteltiin x-akselille. Jo silmämääräisesti havainnoimalla huomattiin, että pisteet muodostivat säännöllisen pistejoukon. Pisteiden välillä vallitsee funktionaalinen yhteys, sillä kaikki pisteet sijaitsivat samalla suoralla, jonka suunta on nouseva (Holopainen & Pulkkinen 2002; Heikkilä 2010). Koska hajontakuvioissa havaittiin kaikkien parametrien osalta selvä yhteys, jatkettiin tarkastelua laskemalla muuttujien väliset korrelaatiokertoimet. Parametreille laskettiin Pearsonin korrelaatiokertoimet Excel -taulukkolaskentaohjelmalla Kaavan 1 mukaan, jolloin mitattujen muuttujien oletetaan olevan välimatka- tai suhdeasteikolla. x ja y ovat analysaattoreiden antamat varsinaiset arvot, kun taas \bar{x} ja \bar{y} ovat muuttujien keskiarvot (Holopainen & Pulkkinen 2002).

$$\text{Correl}(X, Y) = \frac{\sum (x - \bar{x})(y - \bar{y})}{\sqrt{\sum (x - \bar{x})^2 \sum (y - \bar{y})^2}}$$

Kaava 1. Pearsonin korrelaatiokerroin (Excel).

Pearsonin korrelaatiokerroin r mittaa ainoastaan lineaarista yhteyttä ja r on aina $-1:n$ ja $1:n$ välillä oleva reaaliluku. Arvo $+1$ saavutetaan silloin, kun kaikki hajontakuvion pisteet sijaitsevat samalla nousevalla suoralla ja mitä lähempänä korrelaatiokertoimen itseisarvo on lukua yksi, sitä voimakkaampaa on muuttujien välinen lineaarinen yhteys. Jos taas korrelaatiokerroin on nolla, muuttujat ovat toisistaan riippumattomia. (Holopainen & Pulkkinen 2002; Heikkilä 2010.) Kaikille parametreille saatiin korkeat, lähellä arvoa yksi olevat korrelaatiokertoimet (Taulukko 2).

Parametrit	Pearsonin korrelaatiokerroin	n
Leukosyytit	0,999	32
Erytrosyytit	0,999	32
Hemoglobiini	0,999	32
Hematokriitti	0,998	32
Trombosyytit	0,997	32

Taulukko 2. Parametreille lasketut korrelaatiokertoimet.

Korrelaatiokertoimen arvo poikkeaa usein nolasta ja tärkein kysymys onkin, että milloin poikkeama nolasta on niin suuri, ettei sitä enää voida selittää pelkällä sattumalla. Korrelaatiokerroin tulee tällöin testata. Asetimme tässä vaiheessa nollahypoteesiksi, että korrelaatiokerroin on nolla ($r = 0$), eli muuttujien välillä ei ole lineaarista riippuvuutta. Korrelaatiokerroin testattiin suoraan SPSS -ohjelmalla, joka tulosti automaattisesti korrelaatiokertoimien laskemisen yhteydessä annettua riskitasoa ja otoskokoa vastaavan p-arvon, joka on erehtymisriski, kun nollahypoteesi hylätään. (Holopainen & Pulkkinen 2002; Hekkilä 2010.) Kaikille parametreille saatiin p-arvoksi 0,000 (sekä yksisuuntaisella että kaksisuuntaisella testillä), jonka mukaan korrelaatio on merkittävää tasolla 0,01. Näin ollen riskimme hylätä oikeellinen nollahypoteesi on pienempi kuin yksi prosentti.

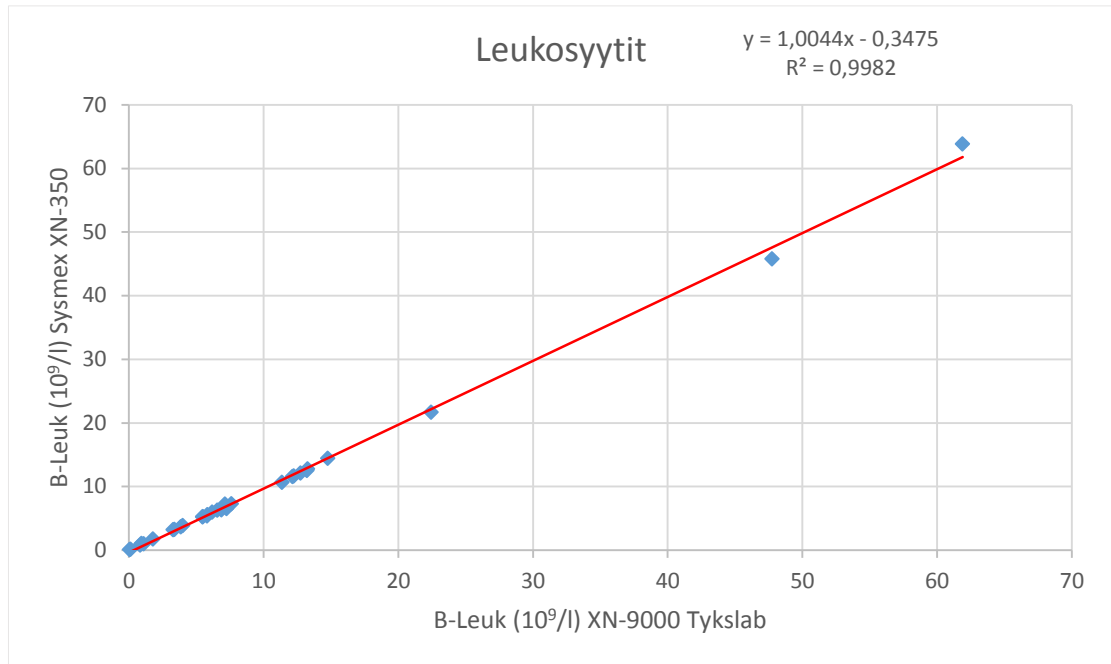
Korrelaatiokertoimien avulla havaittiin tilastollinen riippuvuus kaikkien parametrien kohdalla, mutta pelkkä riippuvuus ei vielä takaa sitä, että toinen tekijä aiheuttaa toisen (Holopainen & Pulkkinen 2002). Tilastoaineistossa voidaan havaita säännönmukaisuutta, jota halutaan vielä kuvata mallin avulla. Tutkimusaineistosta muodostettiin jälleen hajontakuvio, jonka pistejoukko haluttiin luoda matemaattinen malli, joka kuvastaa pistejoukkoa parhaiten. Kuten aiemmin todettiin, pistejoukko muodostaa selvän nousevan suoran, jolloin päädyttiin käyttämään lineaarista mallia. Hajontakuvio muodostettiin asettamalla x-akselille referenssilaitteella saadut tulokset ja y-akselille Sysmex XN-350 -verenkuva-analysaattorilla saadut tulokset. X-akselilla olevat arvot ovat selittäviä muuttujia ja y-akselilla olevat arvot selitettäviä muuttujia. Yksinkertaisimmassa lineaarisessa mallissa tarkasteltavaa ilmiötä kuvataan yhden selittävän muuttujan avulla, joka yksinkertaisimmillaan on suora viiva. (Holopainen & Pulkkinen 2002; Heikkilä 2010.) Regressiosuorat laskettiin Excel-taulukkolaskentaohjelmalla suoraan hajontakuvioon, jolloin regressiosuoran yhtälö on $y = b_0 + b_1x$, jossa vakiot b_0 ja b_1 on laskettu pienimmän neliösumman menetelmän avulla. Vakioita b_0 ja b_1 sanotaan regressiokertoimiksi, joista b_0 ilmoittaa pisteen, jossa suora leikkaa y-akselin ja b_1 ilmaisee kulmakertoimen.

Kulmakerroin kertoo kuinka paljon ja mihin suuntaan y -arvo muuttuu, kun x kasvaa yhden yksikön verran. (Holopainen & Pulkkinen 2002.) Selityskertoimen avulla voidaan arvioida mallin avulla laskettujen ennusteiden luotettavuutta. Selityskerroin eli selitysaste mittaa mallin kykyä kuvata selitettävän muuttujan (y) vaihtelua. Selitysaste ilmaisee siis, kuinka monta prosenttia selitettävän muuttujan y vaihtelusta voidaan selittää muuttujan x avulla. (Holopainen & Pulkkinen 2002; Heikkilä 2010.) Eli tässä tapauksessa, kuinka monta prosenttia referenssianalysaattorilla saaduista tuloksista selittää Sysmex XN-350 -analysaattorilla saadut tulokset. Selityskerroin lasketaan kaavalla $R^2 = r^2 \times 100\%$, jossa r on korrelaatiokerroin. Taulukossa 3 on esitettyä kaikille tarkasteltaville parametreille lasketut selitysasteet, jotka ovat kaikki yli 99%. Selitysasteen ollessa korkea, selittää muuttuja x yksistään suurimman osan muuttujan y vaihtelusta ja malli kuvaa hyvin aineistoa (Holopainen & Pulkkinen 2002).

Parametrit	Regressiokerroin, R^2	Selitysaste %	n
Leukosyytit	0,9982	99,82	32
Erytrosyytit	0,9989	99,89	32
Hemoglobiini	0,9989	99,89	32
Hematokriitti	0,9950	99,50	32
Trombosyytit	0,9948	99,48	32

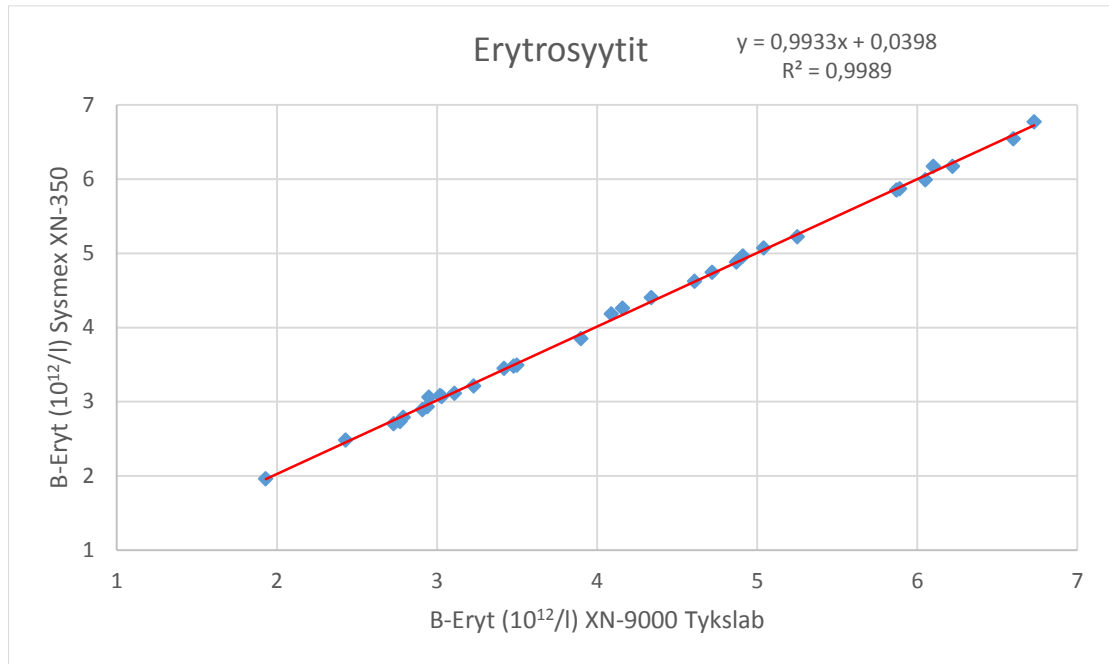
Taulukko 3. Parametreille lasketut regressiokertoimet ja selitysasteet prosentteina.

Kuviossa 1 on esitettyä leukosyyttiarvoille hajontakuviota, jossa x -akselilla ovat referenssilaitteen tulokset ja y -akselilla Sysmex XN-350 -analysaattorin tulokset. Pisteiden sijoittumisesta hajontakuviota voidaan havaita, että pisteet muodostavan nousevan suoran. Ilmiötä kuvataan Kuviossa 1 lineaarisen suoran avulla. Regressiosuoran yhtälö ja regressiokerroin ovat liitettyä Kuvioon 1.



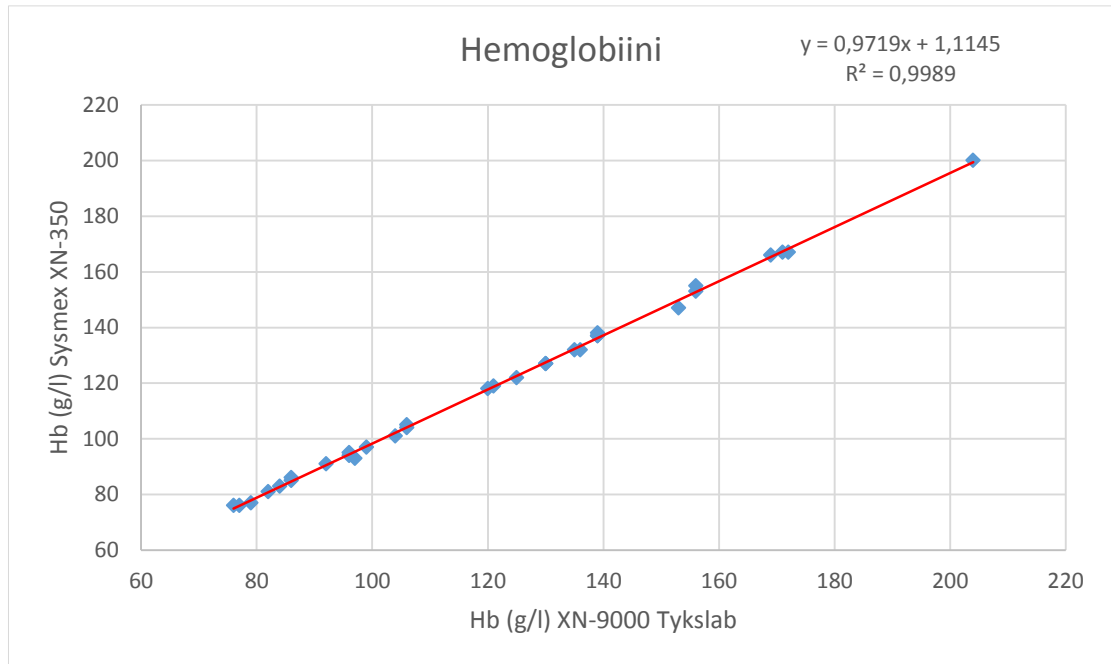
Kuvio 1. Leukosyyttitulokset Sysmex XN-350 ja Sysmex XN-9000 -verenkuva-analysaattoreilla.

Kuviossa 2 on esitettyä erytrosyyttiarvoille hajontakuviota, jossa x-akselilla ovat referenssilaitteen tulokset ja y-akselilla Sysmex XN-350 -analysaattorin tulokset. Pisteiden sijoittumisesta hajontakuviota voidaan havaita, että pisteet muodostavat nousevan suoran. Ilmiötä kuvataan Kuviossa 2 lineaarisen suoran avulla. Regressiosuoran yhtälö ja regressiokerroin ovat liitettyä Kuvioon 2.



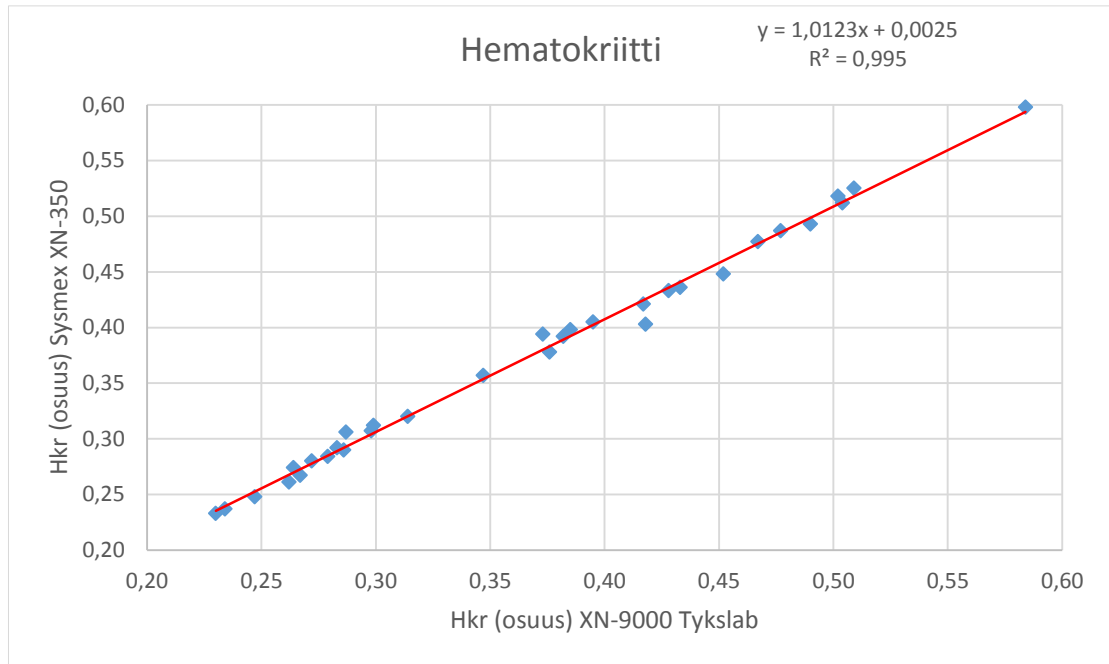
Kuvio 2. Erytrosyyttituloksen Sysmex XN-350 ja Sysmex XN-9000 -verenkuva-analysaattoreilla.

Kuviossa 3 on esitetty hemoglobiiniarvoille hajontakuviota, jossa x-akselilla ovat referenssilaitteen tulokset ja y-akselilla Sysmex XN-350 -analysaattorin tulokset. Pisteiden sijoittumisesta hajontakuviota voidaan havaita, että pisteet muodostavat nousevan suoran. Ilmiötä kuvataan Kuviossa 3 lineaarisen suoran avulla. Regressiosuoran yhtälö ja regressiokerroin ovat liitettyinä Kuvioon 3.



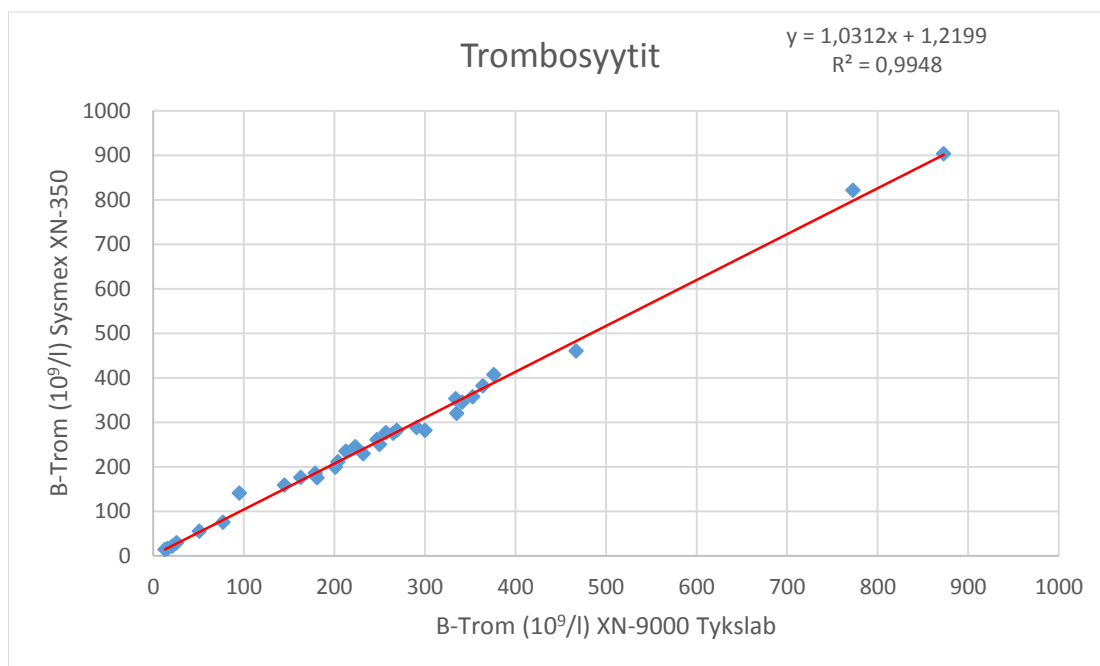
Kuvio 3. Hemoglobiinitulokset Sysmex XN-350 ja Sysmex XN-9000 -verenkuva-analysaattoreilla.

Kuviossa 4 on esitettyä hematokriittiarvoille hajontakuviota, jossa x-akselilla ovat referenssilaitteen tulokset ja y-akselilla Sysmex XN-350 -analysaattorin tulokset. Pisteiden sijoittumisesta hajontakuviota voidaan havaita, että pisteet muodostavat nousevan suoran. Ilmiötä kuvataan Kuviossa 4 lineaarisen suoran avulla. Regressiosuoran yhtälö ja regressiokerroin ovat liitettyä Kuvioon 4.



Kuvio 4. Hematokriittiarvot Sysmex XN-350 ja Sysmex XN-9000 -verenkuva-analysointilaitteilla.

Kuviossa 5 on esitetty trombosyyttiarvoille hajontakuviota, jossa x-akselilla ovat referenssilaitteen tulokset ja y-akselilla Sysmex XN-350 -analysointilaitteen tulokset. Pisteiden sijoittumisesta hajontakuviosta voidaan havaita, että pisteet muodostavat nousevan suoran. Ilmiötä kuvataan Kuviossa 5 lineaarisen suoran avulla. Regressiosuoran yhtälö ja regressiokerroin ovat liitettyinä Kuvioon 5.



Kuvio 5. Trombosyyttitulokset Sysmex XN-350 ja Sysmex XN-9000 -verenkuva-analysaattoreilla.

6.2 Sysmex XN-350 verenkuva-analysaattorin toistettavuus

Sysmex XN-350 -verenkuva-analysaattorin toistettavuutta tutkittiin sarjojen välillä ja sarjojen sisällä. Sarjojen sisäiseen tarkasteluun käytettiin toistoajoista saatuja tuloksia ja sarjojen väliseen tarkasteluun käytettiin kontrolliajoista saatuja tuloksia. Toistettavuutta tutkittiin laskemalla muuttujille tunnusluvut, joiden perusteella voidaan tutkia havaintoaineistoa eri näkökulmista. Tunnuslukujen arvot ilmoittavat havaintoaineiston jakaumaan liittyviä oleellisia tietoja. Jakaumasta voidaan tehdä luotettavia johtopäätöksiä tarkastelemalla useita tunnuslukuja yhtä aikaa. (Holopainen & Pulkkinen 2002; Heikkilä 2010.) Toistettavuutta tarkasteltiin keskiarvon, keskihajonnan ja variaatiokerroimen avulla.

6.2.1 Sarjojen sisäinen toistettavuus

Yhdeksästä näytteestä tehtiin kolme toistoajoa, joista laskettiin tunnusluvut kullekin parametrille erikseen (Liite 5). Variaatiokerroimet (%) vaihtelivat näytteestä riippuen leukosyyteillä 0,29-2,47 prosentin välillä, erytrosyyteillä 0,20-0,96 prosentin välillä, hemoglobiinilla 0,37-1,28 prosentin välillä, hematokriitillä 0,12-1,22 prosentin välillä sekä

trombosyyteillä 0,17-3,72 prosentin välillä. Variaatiokertoimien keskiarvot olivat leukosyyteille 1,35%, erytrosyyteille 0,58%, hemoglobiinille 0,58%, hematokriitille 0,70% ja trombosyyteille 2,14%. Sisäinen toistettavuus oli kaikilla tutkituilla parametreilla keskimäärin alle 2,5 prosenttia.

6.2.2 Sarjojen välinen toistettavuus

Kontrollista tehtiin yhteensä kuusi toistoajoa, aina päivän ajojen aluksi ja lopuksi. Taulukossa 4 on esitetty kontrollin tavoitevälit ja kontrollin sallittu prosentuaalinen vaihtelu suhteessa tavoiteväliin. Taulukossa 5 on esitetty kontrolliajojen tulokset ja niille lasketut tunnusluvut. Variaatiokerroin oli suurin trombosyyteillä 1,4 prosenttia ja pienin erytrosyyteillä 0,52 prosenttia.

Parametrit	Leuk (10⁹/l)	Eryt (10¹²/l)	Hb (g/l)	Hkr (osuus)	Trom (10⁹/l)
Tavoiteväli	6,30–7,40	4,17–4,61	124–134	0,321-0,393	195–265
Kontrollin vaihtelu suhteessa tavoiteväliin	8 % sisällä	5 % sisällä	4 % sisällä	10 % sisällä	15 % sisällä

Taulukko 4. XN-L Check -kontrollille asetetut tavoitevälit ja sallittu vaihtelu tavoitevälin sisällä.

Kontrolliajot	Leuk (10 ⁹ /l)	Eryt (10 ¹² /l)	Hb (g/l)	Hkr (osuus)	Trom (10 ⁹ /l)
toisto 1	6,7	4,4	128	0,37	225
toisto 2	6,8	4,4	127	0,37	229
toisto 3	6,9	4,5	127	0,37	223
toisto 4	6,8	4,4	126	0,37	227
toisto 5	6,9	4,4	126	0,37	221
toisto 6	6,8	4,4	127	0,37	229
keskiarvo	6,81	4,42	126,8	0,37	225,7
keskihajonta	0,05	0,02	0,75	0,00	3,27
variaatiokerroin (%)	0,80	0,52	0,59	0,62	1,45

Taulukko 5. XN-L Check -kontrollin toistoajat ja ajoille lasketut tunnusluvut.

6.3 Tutkimustulosten tarkastelu

Sysmex XN-350 ja Sysmex XN-9000 -verenkuvaa-analysointilaitteiden antamien tulosten välinen korrelaatio oli vahvaa kaikkien tutkittujen parametrien suhteen. Korrelaatiokerroimet olivat kaikille parametreille yli 0,99 eli lähes 1, joka tarkoittaisi täydellistä korrelaatiota (Taulukko 2). Korrelaatiokerroimet testattiin SPSS-ohjelmalla ja niiden todettiin olevan tilastollisesti merkitseviä riskitasolla 0,01. Työn nollahypoteesina oli, että analysointilaitteiden väliset tulokset eroavat toisistaan ja se voidaan hylätä 1 prosentin riskillä. Analysointilaitteiden antamien tulosten välinen selitysaste oli niin ikään korkea kaikilla parametreilla. Selitysasteet olivat kaikilla parametreilla yli 99 prosenttia (Taulukko 3). Tulosten mukaan analysointilaitteiden väliset tulokset ovat yhtenevät.

Laittevalmistajan määrittämät raja-arvot tarkkuudelle eli täsmävyydelle ilmaistaan erotuksen keskiarvona verrattaessa 100 perifeerisen veren näytteen analyysin tulosta ja standardilaitteella suoritettua analyysin tulosta (Sysmex 2015). Vertailu laittevalmistajan määrittämiin raja-arvoihin suoritettiin laskemalla vertailuprosentit kullekin parametrille (n = 32). Vertailuprosentit laskettiin Kaavan 2 mukaan. Taulukossa 5 ovat laskettuna Sysmex XN-9000- ja Sysmex XN-350-verenkuvaa-analysointilaitteiden tulosten erotusten keskiarvot ja niiden vertailuprosentti referenssilaitteen tulosten keskiarvosta. Vertailuprosenttia verrattaessa laittevalmistajan raja-arvoihin voidaan todeta, että vertailuprosentit alittavat raja-arvot kaikkien muiden parametrien osalta paitsi leukosyyttien. Leu-

kosyyttien osalta ylitys on vain 0,01 prosenttia. Laittevalmistajan määrittämät vertailuprosentit ovat laskettu 100 näytteellä, kun tässä opinnäytetyössä vertailuprosentit ovat laskettu 32 näytteellä. Pienestä näytemäärästä huolimatta Sysmex XN-350 -verenkuva-analysaattorin antamat tulokset täsmäävät pääasiassa referenssilaitteena käytettävään Sysmex XN-9000 -verenkuva-analysaattorilinjaston tuloksiin.

$$\frac{\text{Keskiarvo kaikista näytteistä (Sysmex XN-9000:tulos - Sysmex XN-350:n tulos)}}{\text{Sysmex XN-9000:n tulosten keskiarvo}} \times 100\%$$

Kaava 2. Vertailuprosentin laskeminen.

Parametrit	Erotuksen keskiarvo	Referenssilaitteen tulosten keskiarvo	Vertailuprosentti	Laittevalmistajan raja-arvo
Leukosyytit	0,30	9,98	3,01	+/- 3%
Erytrosyytit	0,01	4,19	0,24	+/- 2 %
Hemoglobiini	2,28	120,7	1,89	+/- 2%
Hematokriitti	-0,01	0,37	-2,70	+/- 3%
Trombosyytit	-9,16	254,2	-3,60	+/- 5%

Taulukko 6. Täsmävyydelle lasketut vertailuarvot.

Sysmex XN-350 -verenkuva-analysaattorin valmistajan antamat raja-arvot toistettavuudelle ovat parametrikohaisia ja ne on ilmaistu variaatiokerroimina (%) samana päivänä otetuista näytteistä tai kontrollinäytteestä, jota on ajettu toistuvasti vähintään kymmenen kertaa (Sysmex 2015). Laittevalmistajan antama raja-arvo eli variaatiokerroin prosentteina ilmaistuna on leukosyyteille 3,0 prosenttia tai sitä vähemmän. Sysmex XN-350:llä leukosyyteille laskettu toistoajojen keskimääräinen variaatiokerroin oli 1,35 prosenttia. Laittevalmistajan antama variaatiokerroin erytrosyyteille on 1,5 prosenttia tai sitä vähemmän. Sysmex XN-350:llä laskettu toistoajojen keskimääräinen variaatiokerroin erytrosyyteille oli 0,58 prosenttia. Laittevalmistajan antama variaatiokerroin hemoglobiinille on 1,5 prosenttia tai sitä vähemmän. Sysmex XN-350:llä hemoglobiinille laskettu toistoajojen keskimääräinen variaatiokerroin oli sekin erytrosyyttien tavoin vain 0,58 prosenttia. Laittevalmistajan antama variaatiokerroin hematokriitille on 1,5 prosenttia, kun Sysmex XN-35:llä laskettu toistoajojen keskimääräinen variaatiokerroin oli 0,70

prosenttia. Laitevalmistaja antaa trombosyyteille variaatiokertoimeksi 4,0 prosenttia tai vähemmän. Sysmex XN-350:llä laskettu toistoajojen keskimääräinen variaatiokerroin oli 2,14 prosenttia. Edellä on esitetty Sysmex XN-350:n antamien tulosten keskimääräiset variaatiokertoimet, mutta on huomattava, että myöskään yksittäisten näytteiden toistojen variaatiokertoimet eivät ylitä annettuja raja-arvoja. Näin ollen voidaan todeta, että Sysmex XN-350 antaa kaikkien tutkittujen parametrien osalta toistettavia tuloksia, jotka alittavat laitevalmistajan määrittämät raja-arvot.

Laitevalmistaja määrittelee kontrollille samat raja-arvot kuin sisäiselle toistettavuudelle (katso edellinen kappale), kun kontrollista on ajettu vähintään kymmenen toistoa. Tässä opinnäytetyössä kontrollia ajettiin ainoastaan kuusi kertaa. Kontrollinäyteajoista lasketut variaatiokertoimet alittavat kuitenkin laitevalmistajan asettamat raja-arvot (Taulukko 4).

7 POHDINNAT

Tämän opinnäytetyön tutkimustehtävinä oli selvittää Sysmex XN-350 -verenkuva-analysaattorin tulosten täsmävyys referenssilaitteena käytettävän Sysmex XN-9000 -verenkuva-analysaattorilinjaston kanssa perusverenkuvan parametrien osalta. Tämän opinnäytetyön tehtävänä oli myös selvittää, antaako Sysmex XN-350 toistettavia tuloksia. Täsmävyyttä tutkittiin analysoimalla 32 kokoverinäytettä ensin referenssilaitteella ja sen jälkeen Sysmex XN-350 -verenkuva-analysaattorilla. Toistettavuutta tutkittiin analysoimalla kontrollinäytettä, jonka avulla saatiin tutkittua sarjojen välistä toistettavuutta, sekä ajamalla kolme toistoajoja yhteensä yhdeksästä näytteestä. Toistoajoilla tutkittiin analysaattorin sisäistä toistettavuutta. Opinnäytetyön tarkoituksena oli validoida Sysmex XN-350 -verenkuva-analysaattori perusverenkuva tutkimuksen osalta. Validoinnilla varmistetaan analysaattorin tulosten luotettavuus, jolloin analysaattoria voidaan hyödyntää Turun ammattikorkeakoulun bioanalytikkokoulutuksen tutkimus- ja opetuskäytössä. Sysmex XN-350- ja Sysmex XN-9000 -verenkuva-analysaattoreiden yhtenevä tulostaso mahdollistaisi myös samojen viitearvojen käytön Tykslabin kanssa.

Tämän opinnäytetyön tulosten mukaan analysaattoreiden välinen tulostaso on yhtenevä. Tulostasoja tutkittiin korrelaatiokertoimien ja selitysasteiden avulla. Kaikille parametreille lasketut korrelaatiokertoimet olivat yli 0,99 ja selitysasteet yli 99 prosenttia. Korrelaatiokertoimet testattiin, ja niiden todettiin olevan merkitseviä riskitasolla 0,01. Nollahypoteesi eli tulosten eroavaisuus voitiin hylätä 1 prosentin riskillä. Tuloksia verrattiin myös laitevalmistajan antamiin raja-arvoihin, jotka ovat ilmaistu erotuksen keskiarvona verrattaessa 100 perifeerisen veren näytteen analyysin tulosta ja standardilaitteella suoritettua analyysin tulosta. Tulokset ovat raja-arvoissa kaikkien muiden parametrien paitsi leukosyyttien osalta. Leukosyyttien raja-arvo ylittyi 0,01 prosentilla. Laitevalmistaja on määrittänyt raja-arvot sadalla näytteellä, kun taas tässä opinnäytetyössä käytettävänä oli vain 32 perifeerisen veren näytettä. Näytteiden vähäinen määrä on saattanut vaikuttaa raja-arvon ylittymiseen leukosyyttien osalta. Näytemäärän lisäys saattaa vaikuttaa kaikkien parametrien vertailuprosentteihin, mutta suuntaa on vaikea arvioida. On myös huomattava, että Sysmex XN-9000 -analysaattorilinjastossa on moduuleita, joissa on matalia leukosyyttimääriä mittaavia kanavia, joille näyte ohjautuu, mikäli näytteessä havaitaan vähän leukosyyttejä. Turun ammattikorkeakoulun Sysmex XN-350 -analysaattorissa ei ole matalien leukosyyttien kanavaa, joten näissä tapauksissa XN-9000 -analysaattorilinjasto pystyy määrittämään leukosyyttien määrän tar-

kemmin. Sysmex XN-9000 laskee myös matalat trombosyyttimäärät eri kanavalla, jota ei ole Turun ammattikorkeakoulun Sysmex XN-350 -analyssaattorissa.

Sysmex XN-350 -verenkuva-analyssaattori antaa tämän opinnäytetyön tulosten perusteella toistettavia tuloksia. Sarjojen sisäistä toistettavuutta tutkittiin samoilla verinäytteillä kuin täsmävyyttä. Toistettavuusajoihin valikoitui yhdeksän näytettä satunnaisesti, joista jokaisesta ajettiin kolme toistoajoa. Ajoille laskettiin variaatiokertoimet, joiden arvoja verrattiin laitevalmistajan määrittämiin variaatiokertoimiin. Yhdenkään yksittäisen näytteen variaatiokertoimet eivät ylittäneet laitevalmistajan määrittämiä variaatiokertoimia eri parametreille. Parametreille laskettujen keskiarvojen variaatiokertoimet eivät myöskään ylittäneet raja-arvoja. Sisäisen toistettavuuden todettiin olevan hyvä Sysmex XN-350 -verenkuva-analyssaattorilla. Sarjojen välistä toistettavuutta tutkittiin ajamalla kontrollinäytettä kuusi kertaa, eli kaksi kertaa jokaisena analyysipäivänä. Kontrollinäytteiden variaatiokertoimet eivät ylittäneet laitevalmistajan määrittämiä raja-arvoja, jotka olivat samat raja-arvot kuin sisäiselle toistettavuudelle. On kuitenkin huomattava, että variaatiokertoimet laskettiin laitevalmistajan toimesta kymmenestä kontrollinäyteajosta. Mikäli tässä opinnäytetyössä olisi ajettu kontrollinäytettä vielä neljä kertaa lisää, variaatiokertoimet olisivat saattaneet muuttua, mutta muutoksen suuntaa on vaikea arvioida. Näin ollen Sysmex XN-350 -analyssaattorin sarjojen välisen toistettavuuden todetaan olevan hyvällä tasolla.

Tässä opinnäytetyössä saadut tulokset ovat yhteneviä Tykslabin (2013) saamien tulosten kanssa. Tykslabin Sysmex XN-9000 -linjasto asennettiin syyskuussa 2012. Linjaston kaikki viisi verenkuva-analyssaattoria (4 kpl XN-10 ja 1 kpl XN-20) verifioitiin samanaikaisesti samoilla näytteillä, käyttäen referenssilaitteina Sysmex XE-2100 verenkuva-analyssaattoreita. Validointi suoritettiin käyttämällä 100 B-PVK+T -näytettä ja 100 B-Diffi -näytettä. Kaikkien parametrien osalta tulostasot olivat yhtenevät lineaarisella regressioanalyysillä laskettujen korrelaatio-suorien yhtälöiden ja korrelaatiokertoimien perusteella. Lisäksi XN 9000-analyssaattoreiden sarjan sisäiset ja ulkoiset toistettavuudet olivat hyvät; toistettavuusmäärittelyissä saadut variaatiokertoimet olivat selkeästi laitevalmistajan ilmoittamissa tavoiterajoissa. Tykslabilla oli käytössä huomattavasti suurempi näytemäärä, kuin mitä tässä opinnäytetyössä (n=32).

Tämän opinnäytetyön tutkimustulosten analysoinnissa tulee ottaa huomioon mahdolliset virhelähteet. Emme voi taata näytteenoton laadukkuutta muuten kuin Tykslabissa olevien näytteenotto-ohjeiden osalta ja olettaa, että näytteenottaja on toiminut niiden mukaisesti. Kaikki näyteputket vaikuttivat silmämääräisesti olevan merkkiviivaan asti

täyttyneitä, joten veren ja EDTA-antikoagulantin suhde oli oikea, eikä näin ollen EDTA:n oleteta aiheuttavan muutoksia näytteen soluihin. Tutkimuksessa käytetyt näytteet olivat aamun aikana otettuja näytteitä, jotka haettiin noin klo 12, jotta analyysiviive ei kasvaisi liian suureksi. Putkivalmistaja takaa EDTA-näytteelle luotettavia tuloksia, mikäli näyte analysoidaan 8h kuluessa näytteenotosta, kun putkea säilytetään huoneenlämmössä. Laitevalmistaja Sysmex ilmoittaa näytteelle parametrikohittaiset stabiliteettiarvot, joiden mukaan esimerkiksi leukosyyteistä saadaan 10% sisällä olevia luotettavia tuloksia, kun näytettä on säilytetty huoneenlämmössä korkeintaan 72h. Opinnäytetyötä tehtäessä näytteet seisoivat huoneenlämmössä enintään 6h ennen analysointia, joten oletettavasti analysointiviive ei vaikuttanut tuloksiin merkittävästi.

Näytteessä itsessään olevat tekijät saattavat aiheuttaa virheellisiä tuloksia. Virheellisen matalia leukosyyttituloksia saadaan, mikäli leukosyytit ovat kasaantuneet. Korkeita arvoja esiintyy muun muassa kylmäagglutiniinien, jättitrombosyyttien sekä erytroblastien yhteydessä. Virheellisen matalia erytrosyyttituloksia saadaan, mikäli erytrosyytit ovat kasautuneet (kylmäagglutiniinit). Korkeita arvoja esiintyy leukosytoosissa sekä jättitrombosyyttien yhteydessä. Hemoglobiini voi olla virheellisesti korkea leukosytoosissa tai mikäli näyte on lipeeminen. Virheellisen matalia hematokriittituloksia saadaan kylmäagglutiniinien läsnä ollessa sekä mikäli erytrosyytit ovat mikrosyyttisiä. Korkeita arvoja esiintyy leukosytoosin, vaikean diabeteksen sekä uremian seurauksesta. Virheellisen matalia arvoja trombosyyteille saadaan, mikäli trombosyytit ovat kasaantuneet tai näytteessä esiintyy pseudotrombosytopeniaa. Korkeita arvoja voivat aiheuttaa mikrosyyttiset erytrosyytit sekä fragmentoituneet leuko- ja erytrosyytit. (Sysmex 2015.) Jokaisella laboratoriollla on omat käytäntönsä, miten toimia esimerkiksi agglutinoituneen, lipeemisen tai leukosytoosisen näytteen kanssa. Tällöin näyte esimerkiksi mikroskopoidaan manuaalisesti, laimennetaan tai käytetään lämpökäsittelyä. Näytteessä itsessään olevien tekijöiden ei oleteta vaikuttavan saatuihin tuloksiin tämän opinnäytetyön osalta. Näytteet ajettiin mahdollisista tekijöistä huolimatta normaaliin tapaan Sysmex XN-350 verenkuvaa-analysaattorilla, sillä tuloksia oli ainoastaan tarkoitus verrata referenssilaitteen tuloksiin.

Yhtenä merkittävänä virhelähteenä voidaan pitää tulosten taulukoinnissa mahdollisesti tapahtuneita virheitä. Turun ammattikorkeakoulun Sysmex XN-350 –verenkuvaa-analysaattorista tulokset siirrettiin suoraan muistitikun kautta koneelle, joten kirjaamisvirheitä ei tässä kohtaa liene tapahtuneen. Tykslabin analysaattorin antamat tulokset syötettiin manuaalisesti, joten kirjaamisvirhe on mahdollinen. Arvojen tarkastamisessa

on mahdollisuus inhimilliseen virheeseen kuten myös tulosten tilastollisessa tarkastelussa. Opinnäytetyön tekijät noudattivat kuitenkin huolellisuutta ja tarkkuutta kaikissa opinnäytetyön vaiheissa.

Tämä opinnäytetyö on toteutettu hyviä tieteellisiä toimintatapoja noudattaen. Tätä opinnäytetyötä varten hankittiin kaikki tarvittavat tutkimusluvut. Laki ihmisen elimien, kudoksien ja solujen lääketieteellisestä käytöstä (101/2001) mukaan hoidon, taudinmäärityksen tai kuolemansyyn selvittämisen vuoksi otettuja näytteitä voidaan luovuttaa lääketieteelliseen tutkimukseen, menetelmäkehitykseen, laadunhallintaan ja opetukseen sen terveydenhuollon toimintayksikön tai muun yksikön luvalla, jonka toimintaa varten näyte on otettu, jos näytteitä luovutettaessa tai käytettäessä ei käsitellä henkilötietoja. Validoinnissa käytetyt näytteet luovutettiin Tykslabista nimettöminä, eikä näytteitä ollut mahdollista jäljittää takaisin potilaisiin opinnäytetyön missään vaiheessa.

Opinnäytetyön teoriaosuuden kirjoittamiseen pyrittiin käyttämään useita eri lähteitä. Lähteinä käytettiin luotettavia ja oleellisesti aihealueeseen liittyviä suomen- ja englanninkielisiä kirjoja, artikkeleita sekä muita julkaisuja ja oppaita. Yhteistyö opinnäytetyön tekijöiden kesken toimi hyvin. Opinnäytetyöprosessi toteutui suunnitellun aikataulun mukaisesti. Prosessin edetessä aihealueen teoriaosuuden hallinta parani ja oppiminen syventyi. Opinnäytetyön toteutuksen myötä opinnäytetyön tekijät kehittivät ammatillista osaamistaan ja ongelmanratkaisutaitojaan.

Opinnäytetyön tekijöitä mietitytti toistoajonäytteiden valinta. Tässä opinnäytetyössä toistonäytteet valittiin satunnaisesti ja analyysivaiheessa huomattiin suurimman osan näytteistä olevan niin sanottuja ”normaalinäytteitä”. Olisi ollut hyödyllistä käyttää toistoajoissa koko mitta-alueen kattavia korkeita sekä matalia arvoja omaavia näytteitä, jotta analysaattorin toiminnasta olisi saatu kokonaisvaltainen ja luotettava kuva. Mikäli analysaattorilla suoritetaan toistettavuuden laajempaa tarkastelua, olisi koko analysaattorin mitta-alue hyvä huomioida.

Tässä opinnäytetyössä olisi ollut mahdollista käyttää suurempaa näytemäärää, mikäli opinnäytetyön tekijät olisivat tiedneet sen olevan mahdollista. Kustannussyistä näytemäärä pidettiin pienenä, mutta opinnäytetyön ollessa lähes valmis selvisi, etteivät näytteet aiheuttaneetkaan kustannuksia Turun ammattikorkeakoululle. Jatkotutkimusaiheina ehdotamme analysaattorin mittaustarkkuuden laajempaa tarkastelua suuremmalla näytemäärällä, jotta laitevalmistajan määrittävät raja-arvot ovat täysin vertailukelpoisia ja tulokset luotettavampia. Suuremmalla näytemäärällä voitaisiin myös validoida Sys-

mex XN-350 verenkuvaa-analysointilaitteen WDF -kanava ja samalla tarkastella mahdollista siirtymävirhettä.

LÄHTEET

Becton Dickinson. 2009. Why is EDTA the anticoagulant of choice for hematology use. Viitattu 2.10.2016. http://www.bd.com/vacutainer/pdfs/techtalk/TechTalk_Jan2009_VS8014.pdf.

Biochemden. 2016. Hemoglobinin: Structure, Function and its Properties. Viitattu 21.11.2016 <http://www.biochemden.com/hemoglobin/>.

Ehder, T.; Matveinen, K.; Isotalo, H.; Kantanen, M-L.; Mäkinen, I.; Nuotio, K.; Pohjola, V.; Riutta, O. & Venäläinen E-R. 2005. Kemian metrologian opas. viitattu 20.10.2016. <http://www.vtt.fi/inf/pdf/MIKES/2005-J6.pdf>

Heikkilä, T. 2010. Tilastollinen tutkimus. Edita Prima Oy. Helsinki.

Hiltunen, E.; Linko, L.; Hemminki, S.; Hägg, M.; Järvenpää, E.; Saarinen, P.; Simonen, S. & Kärhä, P. 2011. Laadukkaan mittaamisen perusteet. Metrologian neuvottelukunta. Espoo. viitattu 20.10.2016. <http://www.vtt.fi/inf/pdf/MIKES/2011-J4.pdf>.

Hirsjärvi, S.; Reme, P. & Sajavaara, P. 1997. Tutki ja kirjoita. Jyväskylä: Gummerus Kirjapaino Oy.

Holopainen M. & Pulkkinen P. 2002. Tilastolliset menetelmät. Werner Söderström Osakeyhtiö. Helsinki.

ISO 2012. Medical laboratories — Requirements for quality and competence. Viitattu 5.11.2016. <https://www.iso.org/obp/ui/#iso:std:iso:15189:ed-3:v2:en>.

Jyväskylän yliopisto 2015. Määrällinen tutkimus. Viitattu 17.10.2016 <https://koppa.jyu.fi/avoimet/hum/menetelmapolkuja/menetelmapolku/tutkimusstrategiat/maarallinen-tutkimus>.

Kairisto, V. 2010. Laboratoriotuloksen tulkinta. Teoksessa O. Niemelä & K. Pulkki (toim.) Laboratoriolääketiede - Kliininen kemia ja hematologia. 3. uudistettu painos. Helsinki: Kandidaattikustannus Oy.

Laki ihmisen elimien, kudoksien ja solujen lääketieteellisestä käytöstä 101/2001. Annettu 2.2.2001. Saatavilla sähköisesti osoitteessa <http://www.finlex.fi/fi/laki/ajantasa/2001/20010101>.

Laki terveydenhuollon laitteista ja tarvikkeista 629/2010. Annettu Naantalissa 24.6.2010. Saatavilla sähköisesti osoitteessa <http://www.finlex.fi/fi/laki/alkup/2010/20100629#Lidm2446832>.

Mahlamäki, E. 2004. Veren kuvan tutkimukset. Teoksessa I. Penttilä (toim.) Kliiniset laboratorio-tutkimukset. Helsinki: WSOY.

Matinlauri, I. & Vilpo, J. 2010. Hematopoeesi ja sen tutkiminen. Teoksessa O. Niemelä & K. Pulkki (toim.) Laboratoriolääketiede - Kliininen kemia ja hematologia. 3. uudistettu painos. Helsinki: Kandidaattikustannus Oy.

Mustajoki, P. & Kaukua, J. 2008. Senkka ja sata muuta tutkimusta. 1. painos. Helsinki: Kustannus Oy Duodecim.

National Health Service. 2014. Plasma components. Viitattu 22.11.2016. <http://www.nhs.uk/conditions/plasma-products/Pages/Definition.aspx>.

Q-Lab 2016. Akkreditointi. Viitattu 19.10.2016. <http://www.q-lab.com/fi-fi/test-services/accreditations.aspx>.

Resnik, D. 2015. What is ethics in research & why is it important. National institute of environmental health sciences. Viitattu 22.11.2016. <http://www.niehs.nih.gov/research/resources/bioethics/whatis/>.

Saari, L. 2010. Kemiallisten menetelmien validointi ja mittausepävarmuus. Evira. viitattu 20.10.2016. <http://docplayer.fi/786381-Kemiallisten-menetelmien-validointi-ja-mittausepa-varmuus-leena-saari-kemian-ja-toksikologian-tutkimusyksikko.html>.

Savolainen, E.; Pelliniemi, T. & Koski, T. 2010. Laboratoriolaitteet. Teoksessa O. Niemelä & K. Pulkki (toim.) Laboratoriolääketiede - Kliininen kemia ja hematologia. 3. uudistettu painos. Helsinki: Kandidaattikustannus Oy.

Savolainen, E. & Tienhaara, A. 2015. Verinäytteet ja morfologiset tutkimukset. Teoksessa K. Porkka; R. Lassila; K. Remes & E. Savolainen (toim.) Veritaudit. 4. uudistettu painos. Helsinki: Kustannus Oy Duodecim.

Siitonen, T. & Koistinen, P. 2015. Verisolujen tuotanto ja sen säätely. Teoksessa K. Porkka; R. Lassila; K. Remes & E. Savolainen (toim.) Veritaudit. 4. uudistettu painos. Helsinki: Kustannus Oy Duodecim.

Sinisalo, M. 2010. Krooninen lymfaattinen leukemia. Teoksessa J. Vilpo (toim.) Ilmari Palvan Veritaudit. 3. uudistettu painos. Helsinki: Medivil Oy.

SlideShare. 2014. Xt 2000i cell counter autoanalyser. Viitattu 26.9.2016. <http://www.slideshare.net/babu3151/xt-2000i-cell-counter-autoanalyser>.

Sysmex. 2016. Sysmex XN-9000. Viitattu 26.9.2016. https://www.sysmex.com/US/en/Products/Hematology/XNSeries/Pages/video_XN-9000_Configuration.aspx.

Sysmex Corporation. 2011. XN-Series. Automated hematology analyzer. Clinical case report vol 1. Kobe: Sysmex corporation scientific affairs.

Sysmex. 2015. XN-L series. Yleiset tiedot. Sysmex Corporation.

Sysmex Europe GmbH. 2016a. DC sheath flow detection method. Viitattu 4.9.2016. <http://www.sysmex-europe.com/academy/knowledge-centre/measurement-technologies/dc-sheath-flow-detection-method.html>.

Sysmex Europe GmbH. 2016b. Measurement principles. Viitattu 28.9.2016. <http://www.sysmex-europe.com/academy/knowledge-centre/calendar-2014/measurement-technology-and-scattergram.html>.

Sysmex Europe GmbH. 2016c. Fluorescence flow cytometry. Viitattu 4.9.2016. <http://www.sysmex-europe.com/academy/knowledge-centre/measurement-technologies/fluorescence-flow-cytometry.html>.

Sysmex Europe GmbH. 2016d. WBC differential channel. Viitattu 28.9.2016. <http://www.sysmex-europe.com/academy/clinic-laboratory/analyser-channels/wbc-differential-channel.html>.

Sysmex Europe GmbH. 2016e. SLS detection method. Viitattu 4.9.2016. <http://www.sysmex-europe.com/academy/knowledge-centre/measurement-technologies/sls-detection-method.html>.

Tuokko, S.; Rautajoki, A. & Lehto, L. 2008. Kliiniset laboratorionäytteet. Helsinki: Kustannus-osakeyhtiö Tammi.

Tutkimuseettinen neuvottelukunta. 2014. Viitattu 26.10.2016. <http://www.tenk.fi/fi/htk-ohje/hyva-tieteellinen-kaytanta>.

Tykslab. 2013. Kliininen kemia, hematologia ja mikrobiologia. Laatukäsikirja. Julkaisematon validointiraportti Sysmex XN-9000.

Vilpo, J. 2010. Hematopoieesi. Teoksessa J. Vilpo (toim.) Ilmari Palvan Veritaudit. 3. uudistettu painos. Helsinki: Medivil Oy.

VSSH 2014. B-Perusverenkuva + trombosyytit. Viitattu 7.3.2016
<https://webohjekirja.mylabservices.fi/TYKS/index.php?test=2474>.

Perusveren kuvan lasten viitearvot.

	B-Hb	B-Eryt	B-Hkr	E-MCV	E-MCH
0-2 vrk	150 - 220	4.1 - 6	0.45 - 0.65	100 - 112	34 - 39
3-6 vrk	143 - 207	4.1 - 5.7	0.42 - 0.61	98 - 112	33 - 39
1-2 vk	120 - 206	3.7 - 5.6	0.35 - 0.60	95 - 107	32 - 37
3-4 vk	95 - 180	3.2 - 5.1	0.26 - 0.52	90 - 107	31 - 36
5-6 vk	95 - 160	3.2 - 4.7	0.26 - 0.44	86 - 103	29 - 35
7 vk- 3kk	95 - 130	3.2 - 4.6	0.26 - 0.40	74 - 95	25 - 34
4 kk- 2v	100 - 141	3.8 - 5.3	0.30 - 0.41	72 - 87	24 - 29
3-9 v	110 - 149	3.9 - 5.3	0.32 - 0.43	76 - 92	25 - 32
10-12 v pojat	110 - 152				
10-12 v tytöt	118 - 148				
13-15 v pojat	119 - 164				
13-15 v tytöt	118 - 148				
10-15 v		4 - 5.3			
10-12 v			0.33 - 0.45	77 - 93	26 - 32
13-15 v			0.35 - 0.46	80 - 94	27 - 33

Punaverenkuvan viitearvot (VSSHP 2014).

	B-Leuk	B-Trom
vastasyntyneet		140 - 290
1-2 vko		150 - 340
3-4 vko		180 - 390
0- 30 vrk	6 - 24	
1 kk- 1 v	6 - 17	
1 kk- 15 v		200 - 450
2- 15 v	4 - 10	

Leukosyyttien ja trombosyyttien viitearvot (VSSHP 2014).

Validointisuunnitelma

Perusverenkuvatutkimuksen validointisuunnitelma Sysmex XN-350 -verenkuva-analysaattorille

Perusverenkuvatutkimuksen validointi on suunniteltu toteutettavaksi syys-lokakuun vaihteessa 2016. Validoinnista tehdään työpäiväkirja, johon kirjataan validoinnin eteneminen ja mahdolliset poikkeamat näytteissä ja analysoinnissa. Analysaattoria käytetään opetustarkoituksessa, joten hieman suppeampi validointi on riittävä.

Validoinnissa tarvittavat tarvikkeet:

- Sysmex perusverenkuvatutkimuksen reagenssit
- Sysmex kontrollit perusverenkuvatutkimukselle
- Kokoverinäytteet n. 20kpl Tykslabista

Ennen validointia tehtävät asiat:

- 1-2 viikkoa ennen validointia varmistetaan reagenssien riittävyys ja tilataan lisää, mikäli tarpeellista
- 1-2 viikkoa ennen validointia ilmoitetaan Tykslabin yhteyshenkilöille näytteiden tarpeesta, jotta he voivat valmistautua näytteiden keräykseen
- 1-2 viikkoa ennen validointia analysaattoriluokan varaus validointia varten

Validointia edeltävänä päivänä tehtävät asiat:

- Varmistetaan analysaattorin toimintakunto
- Suoritetaan tarkkuustarkistus ajamalla tuoretta, normaalia verta

Validointipäivänä tehtävät asiat:

- Tutkimusnäytteiden hakeminen Tykslabista
- Perusverenkuvan kontrollien ajaminen
- Tutkimusnäytteiden ajaminen analysaattorilla ja näytteiden rinnakkaisajot, toistuvuuden tutkiminen
- Saatujen tulosten kirjaus
- Näytteiden asianmukainen hävitys

Tutkimuslupa

OPINNÄYTETYÖN TOIMEKSIANTOSOPIMUS

1. Osapuolet

Opiskelija

Nimi: Jasmin Orrensalo	S-posti: jasmin.orrensalo@edu.turkuamk.fi
Osoite:	Puhelin:
Koulutus: Bioanalytiikan koulutusohjelma	

Nimi: Emma-Lina Eriksson	S-posti: emmalina.eriksson@edu.turkuamk.fi
Osoite:	Puhelin:
Koulutus: Bioanalytiikan koulutusohjelma	

Nimi:	S-posti:
Osoite:	Puhelin:
Koulutus:	

Toimeksiantaja

Yhteys henkilön nimi: Marko Björn	Organisaatio: Turun AMK
Osoite:	
S-posti: marko.bjorn@turkuamk.fi	Puhelin:

Turun ammattikorkeakoulu oy

Yhteyshenkilö/ohjaaja: Marko Björn	Puhelin:
S-posti: marko.bjorn@turkuamk.fi	

2. Ohjaus ja vastuut

Vastuu opinnäytetyön tekemisestä ja tuloksista on opiskelijalla. Turun ammattikorkeakoulu vastaa opinnäytetyön ohjauksesta ja arvioinnista oppimistehtävänä. Toimeksiantaja sitoutuu antamaan opiskelijan käyttöön kaikki opinnäytetyön tekemiseen tarvittavat tiedot ja aineistot sekä ohjaamaan opinnäytetyötä toimeksiantajaorganisaation näkökulmasta.

3. Oikeudet

Opinnäytetyön tekijänoikeus kuuluu sen tekijälle eli opiskelijalle. Jos ohjaajan osuus opinnäytetyön tulosten aikaansaamiseksi on ollut poikkeuksellisesti niin luova ja omaperäinen, että se on tekijänoikeudellisesti suojattu muodostamatta kuitenkaan opiskelijan työstä erotettavissa olevaa itsenäistä osaa, on opiskelijalla ja ohjaajalla teokseen yhteinen tekijänoikeus, jonka ehdoista asianomaiset sopivat tarvittaessa erikseen. Muiden immateriaalioikeuksien osalta noudatetaan kulloinkin voimassa olevaa, kyseistä oikeutta koskevaa lainsäädäntöä.

4. Työsuhde ja kustannukset

Mahdollisesta työsuhteesta, työstä maksettavasta palkkiosta ja työstä (opinnäytetyöstä) mahdollisesti aiheutuvien kustannusten korvaamisesta toimeksiantaja, opinnäytetyön tekijä ja ammattikorkeakoulu sopivat erikseen.

5. Tulosten julkistaminen ja luottamuksellisuus

Opiskelija laatii Turun ammattikorkeakoulun ohjeen mukaisen dokumentaation opinnäytetyöstä, jonka hän luovuttaa toimeksiantajalle ja toimittaa kansitettuna kirjaston lainakokoelmaan tai Open Access -julkaisuna Theseus-tietokantaan.

Opiskelija laatii opinnäytetyön julkistettavan aineiston siten, ettei se sisällä toimeksiantajan liike- tai ammattisalaisuuksia eikä mahdollisia muita salassa pidettäviksi sovittuja tietoja tai aineistoja, eikä myöskään julkisuuslaissa (laki viranomaisten toiminnan julkisuudesta 621/1999) salassa pidettäviksi määrättyjä tietoja. Edellä tarkoitetut tiedot ja aineisto jätetään työn tausta-aineistoon. Opinnäytetyön arvioinnissa otetaan huomioon sekä julkistettava että salassa pidettävä osa.

Tämän sopimuksen osana noudatetaan Turun AMK:n opinnäytetyön toimeksiantosopimuksen salassapitoehtoja. (Rasti ruutuun, mikäli salassapitoehtojen noudattamisesta sovitaan.) Salassapitoehtoja sovellettaessa on niiden edellyttämä salassapitovelvollisuus voimassa viisi (5) vuotta toimeksiantosopimuksen voimaan astumisesta.

Opiskelija toimittaa toimeksiantajan yhteyshenkilölle julkistettavan opinnäytetyön tutustumista ja lausunnon antamista varten viimeistään 14 päivää ennen aiottua työn julkistamisajankohtaa. Toimeksiantaja toimittaa opiskelijalle lausunnon opinnäytetyöstä ennen sen ilmoitettua julkistamisajankohtaa ja määrittelee launnossaan tarvittaessa työhön mahdollisesti sisältyvät julkistamatta jätettävät tiedot ja aineistot.

Ellei toimeksiantaja toimita opiskelijalle lausuntoa ennen ilmoitettua julkistamisajankohtaa tai ei launnossaan esitä luottamuksellisuuden vuoksi poistettavaksi tietoja opinnäytetyön julkistettavaksi aiotusta aineistosta, katsotaan toimeksiantajan hyväksyneen opinnäytetyön julkistamisen opiskelijan sille toimittamassa muodossa.

Opinnäytetyö on julkistettavissa kokonaisuudessaan. Se ei sisällä luottamuksellista tietoa. (Rasti ruutuun, mikäli asia on tiedossa jo toimeksiantovaiheessa.)

Opinnäytetyön aihe: *31MA 2021*
31MA 2021
Sysmex XN-350 veronkuva-analysaattorin
validointi.

Seuraavia opinnäytetyön sisältämiä aineistoja ja tietoja ei julkisteta:

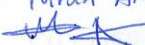
6. Sopimuksen voimassaolo ja allekirjoitukset

Tämän sopimuksen osapuolina allekirjoittaneet hyväksyvät edellä esitetyt ehdot ja sitoutuvat toimimaan opinnäytetyön toteutuksessa niiden mukaisesti. Tämän sopimuksen allekirjoituksin Turun ammattikorkeakoulu Oy hyväksyy edellä yksilöidyn opinnäytetyön aiheen. Tämä sopimus astuu voimaan, kun kaikki osapuolet ovat sen allekirjoittaneet, ja voimassaolo lakkaa automaattisesti kolmen (3) vuoden kuluttua voimaan astumisesta tai sitä ennen opinnäytetyön valmistuttua.

Turku 15/9 / 2016 (pp.kk.vvvv)
(Paikka)

Toimeksiantajaorganisaatio

Turun AMK


Marko Sjörén, T+M

Nimen selvennys/ titteli

15/ 9 / 2016 (pp.kk.vvvv)

(Paikka)

Opiskelija



Jasmin Orrensalo

Nimen selvennys, opiskelija

Turku 15/9 / 2016 (pp.kk.vvvv)
(Paikka)

Turun ammattikorkeakoulu Oy


Leena Matta

Nimen selvennys, KT-päätikkö
kouluvaltuutettu

Turku 15/9 / 2016 (pp.kk.vvvv)
(Paikka)

Emma-Lina Eriksson

Nimen selvennys, opiskelija

(Paikka) / / (pp.kk.vvvv)

Nimen selvennys opiskelija

LIITTEET

Opinnäytetyösuunnitelma

Salassapitoehdot

Turun ammattikorkeakoulu Oy

Joukahaisenkatu 3 A
20520 Turku
puh. (02) 263 350
www.turkuamk.fi

Y-tunnus
2528160-3

Perusveren kuvan tulokset Sysmex XN-350 ja Sysmex XN-9000 -verenkuva-analysaattoreilla

Näyte nro	Leuk ($10^9/l$) Sysmex XN-350	Leuk ($10^9/l$) Sysmex XN-9000	Eryt ($10^{12}/l$) Sysmex XN-350	Eryt ($10^{12}/l$) Sysmex XN-9000
1	0,05	0,06	2,94	2,93
2	0,79	0,83	3,11	3,11
3	21,68	22,45	4,34	4,4
4	45,76	47,74	3,48	3,48
5	6,5	7,24	6,22	6,17
6	5,54	5,83	4,91	4,96
7	6,28	6,57	5,04	5,07
8	1,72	1,78	3,5	3,49
9	5,19	5,47	4,87	4,88
10	3,18	3,27	2,73	2,7
11	1	1,1	2,91	2,89
12	12,49	13,21	3,42	3,45
13	11,65	12,25	5,87	5,85
14	63,82	61,9	3,23	3,21
15	1,01	0,93	3,03	3,07
16	3,22	3,37	4,09	4,18
17	3,64	3,84	3,9	3,85
18	6,47	6,85	4,61	4,62
19	12,75	13,27	4,16	4,26
20	3,86	4	2,95	3,06
21	5,28	5,5	3,02	3,08
22	7,21	7,14	2,43	2,48
23	6,73	7,02	1,93	1,96
24	10,62	11,37	2,77	2,73
25	0,1	0,13	2,79	2,79
26	11,53	12,15	6,6	6,54
27	5,94	6,19	5,89	5,87
28	7,29	7,6	6,73	6,77
29	12,12	12,73	6,05	5,99
30	14,4	14,75	6,1	6,17
31	5,35	5,79	4,72	4,74
32	6,32	6,87	5,25	5,22

Näyte nro	Hb (g/L) Sysmex XN-350	Hb (g/L) Sysmex XN-9000	Hkr (osuus) Sysmex XN-350	Hkr (osuus) Sysmex XN-9000	Trom (10 ⁹ /l) Sysmex XN-350	Trom (10 ⁹ /l) Sysmex XN-9000
1	101	104	0,31	0,30	21	21
2	93	97	0,28	0,28	29	26
3	118	120	0,39	0,38	320	335
4	104	106	0,36	0,35	821	773
5	167	171	0,53	0,51	353	334
6	132	136	0,42	0,42	357	353
7	147	153	0,48	0,47	199	201
8	105	106	0,32	0,31	141	95
9	137	139	0,44	0,43	277	257
10	95	96	0,29	0,28	245	223
11	85	86	0,27	0,26	16	16
12	97	99	0,31	0,30	903	873
13	167	172	0,52	0,50	159	145
14	91	92	0,31	0,29	282	300
15	94	96	0,29	0,29	55	51
16	132	135	0,41	0,40	282	269
17	127	130	0,39	0,37	235	213
18	127	130	0,40	0,39	261	247
19	119	121	0,38	0,38	460	467
20	83	84	0,27	0,27	75	77
21	76	77	0,25	0,25	407	376
22	76	76	0,26	0,26	229	232
23	77	79	0,24	0,23	345	341
24	86	86	0,28	0,27	185	179
25	81	82	0,23	0,23	14	13
26	153	156	0,51	0,50	382	364
27	166	169	0,49	0,49	211	204
28	122	125	0,40	0,42	288	291
29	200	204	0,60	0,58	176	163
30	137	139	0,45	0,45	175	181
31	138	139	0,43	0,43	275	265
32	155	156	0,49	0,48	250	250

Toistettavuustulokset

näyte nro 2	Leuk ($10^9/l$)	Eryt ($10^{12}/l$)	Hb (g/l)	Hkr (osuus)	Trom ($10^9/l$)
toisto 1	0,79	3,11	93	0,284	29
toisto 2	0,83	3,14	94	0,285	28
toisto 3	0,81	3,11	94	0,281	30
keskiarvo	0,81	3,12	93,67	0,283	29
keskihajonta	0,02	0,02	0,58	0,002	1
variaatiokerroin (%)	2,47	0,56	0,62	0,73	3,45

näyte nro 7	Leuk ($10^9/l$)	Eryt ($10^{12}/l$)	Hb (g/l)	Hkr (osuus)	Trom ($10^9/l$)
toisto 1	6,28	5,04	147	0,477	199
toisto 2	6,3	5	148	0,471	192
toisto 3	6,16	5,04	148	0,472	203
keskiarvo	6,25	5,03	147,67	0,473	198
keskihajonta	0,08	0,02	0,58	0,003	5,57
variaatiokerroin (%)	1,21	0,46	0,39	0,68	2,81

näyte nro 9	Leuk ($10^9/l$)	Eryt ($10^{12}/l$)	Hb (g/l)	Hkr (osuus)	Trom ($10^9/l$)
toisto 1	5,19	4,87	137	0,436	277
toisto 2	5,21	4,84	137	0,432	271
toisto 3	5,22	4,9	138	0,434	271
keskiarvo	5,21	4,87	137,33	0,434	273
keskihajonta	0,02	0,03	0,58	0,002	3,46
variaatiokerroin (%)	0,29	0,62	0,42	0,46	1,27

näyte nro 12	Leuk ($10^9/l$)	Eryt ($10^{12}/l$)	Hb (g/l)	Hkr (osuus)	Trom ($10^9/l$)
toisto 1	12,49	3,42	97	0,312	903
toisto 2	12,77	3,37	97	0,307	900
toisto 3	12,54	3,39	98	0,307	901
keskiarvo	12,60	3,39	97,33	0,309	901,33
keskihajonta	0,15	0,03	0,58	0,003	1,53
variaatiokerroin (%)	1,19	0,74	0,59	0,935	0,17

näyte nro 17	Leuk ($10^9/l$)	Eryt ($10^{12}/l$)	Hb (g/l)	Hkr (osuus)	Trom ($10^9/l$)
toisto 1	3,64	3,9	127	0,394	235
toisto 2	3,64	3,85	128	0,388	220
toisto 3	3,68	3,85	128	0,387	221
keskiarvo	3,65	3,87	127,7	0,390	225,33
keskihajonta	0,02	0,03	0,58	0,004	8,39
variaatiokerroin (%)	0,63	0,75	0,45	0,972	3,72

näyte nro 19	Leuk ($10^9/l$)	Eryt ($10^{12}/l$)	Hb (g/l)	Hkr (osuus)	Trom ($10^9/l$)
toisto 1	12,75	4,16	119	0,378	460
toisto 2	12,53	4,2	120	0,381	465
toisto 3	12,42	4,12	119	0,372	461
keskiarvo	12,57	4,16	119,33	0,377	462
keskihajonta	0,17	0,04	0,58	0,005	2,65
variaatiokerroin (%)	1,34	0,96	0,48	1,216	0,57

näyte nro 23	Leuk ($10^9/l$)	Eryt ($10^{12}/l$)	Hb (g/l)	Hkr (osuus)	Trom ($10^9/l$)
toisto 1	6,73	1,93	77	0,237	345
toisto 2	6,82	1,92	78	0,236	339
toisto 3	6,88	1,93	79	0,237	353
keskiarvo	6,81	1,93	78	0,237	345,67
keskihajonta	0,08	0,01	1	0,001	7,02
variaatiokerroin (%)	1,11	0,30	1,28	0,244	2,03

näyte nro 27	Leuk ($10^9/l$)	Eryt ($10^{12}/l$)	Hb (g/l)	Hkr (osuus)	Trom ($10^9/l$)
toisto 1	5,94	5,89	166	0,493	211
toisto 2	6,18	5,89	165	0,494	223
toisto 3	6,08	5,91	167	0,493	219
keskiarvo	6,07	5,90	166	0,493	217,67
keskihajonta	0,12	0,01	1	0,001	6,11
variaatiokerroin (%)	1,99	0,20	0,60	0,117	2,81

näyte nro 32	Leuk ($10^9/l$)	Eryt ($10^{12}/l$)	Hb (g/l)	Hkr (osuus)	Trom ($10^9/l$)
toisto 1	6,32	5,25	155	0,487	250
toisto 2	6,56	5,25	155	0,486	249
toisto 3	6,49	5,19	154	0,479	239
keskiarvo	6,46	5,23	154,67	0,484	246
keskihajonta	0,12	0,03	0,58	0,004	6,08
variaatiokerroin (%)	1,91	0,66	0,37	0,901	2,47