



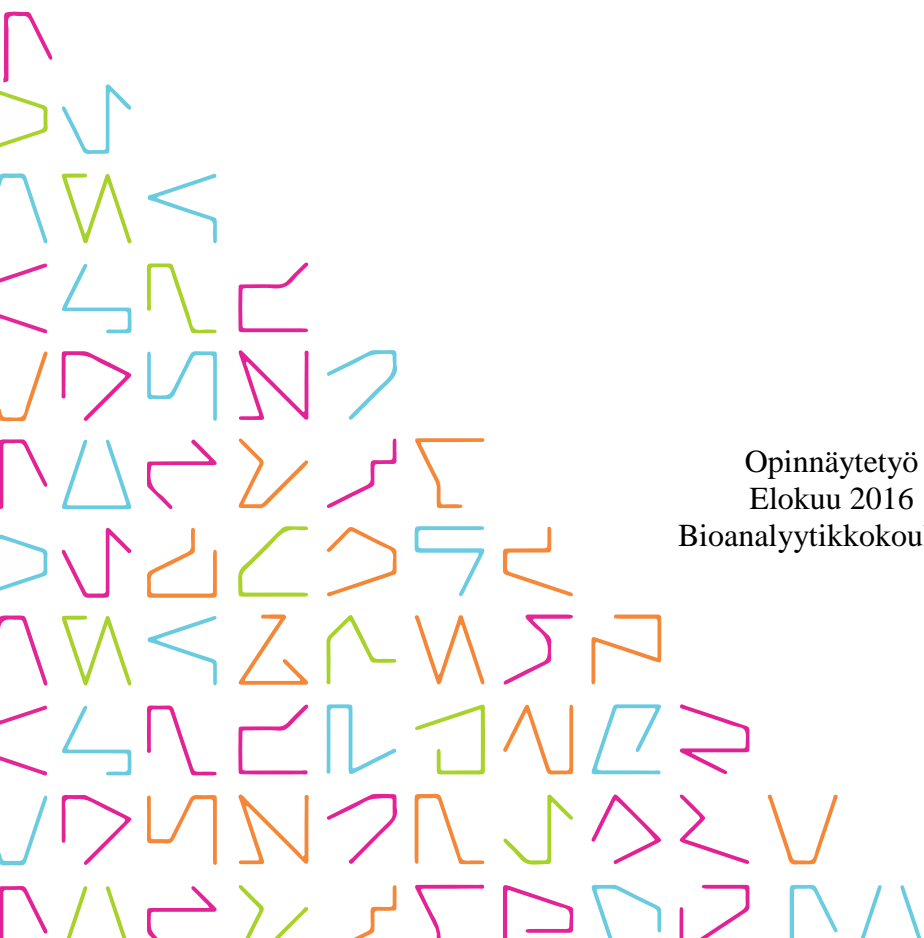
TAMPEREEN
AMMATTIKORKEAKOULU

VITAL MIX-RATE® AUTOMATED ESR ANALYZER -LASKOAUTOMAATIN KOESTUS JA KÄYTTÖOHJEET

Hanna Pohja

Marjaana Ylitalo

Opinnäytetyö
Elokuu 2016
Bioanalytikkokoulutus



TIIVISTELMÄ

Tampereen ammattikorkeakoulu
Bioanalytikkokoulutus 13BIO

HANNA POHJA & MARJAANA YLITALO:

Vital Mix-Rate® Automated ESR Analyzer -laskoautomaatin koestus ja käyttöohjeet

Opinnäytetyö 46 sivua, joista liitteitä 4 sivua
Elokuu 2016

Laskotutkimus perustuu veren partikkelien kerrostumiseen eli sedimentoitumiseen. Antikoaguloitun veren seistessä punasolut eli erytrosyytit erottuvat hiljalleen plasmasta ja laskeutuvat putken pohjalle. Tulos ilmoitetaan yksikössä millimetriä tunnissa [mm/h]. Alf Westergren jalosti ilmiön standardoiduksi laboratoriotutkimukseksi 1920-luvulla, joka nimettiin kehittäjänsä mukaan Westergrenin menetelmäksi. Tästä menetelmästä tuli standardi, johon nykyäänkin laskotutkimuksen mittavälineet ja menetelmät kalibroidaan. (Horsti 2007, 70; Estridge & Reynolds 2008, 292; Rodak, Fritsma & Keohane 2012, 184.)

Opinnäytetyön kokeellisen osuuden tavoitteena oli saada tietoa Mix-Rate® 10 Automated ESR Analyzer -laskoautomaatin tulostasosta ja verrata sitä referenssimenetelmällä saatuihin tuloksiin. Referenssimenetelmänä laskotutkimuksissa oli Westergrenin menetelmä. Opinnäytetyömme toiminnallisen osuuden tuotoksena oli Mix-Rate® 10 Automated ESR Analyzer -laskoautomaatin kuvalliset käyttöohjeet Tampereen ammattikorkeakoulun bioanalytikko-opiskelijoiden käyttöön. Opinnäytetyön aiheen saimme Tampereen ammattikorkeakoulun bioanalytikkokoulutuksen kliinisen hematologian opettajalta. Opinnäytetyöllä haluttiin selvittää laitteen tulostaso verrattuna referenssimenetelmään. Tarkoituksena oli saada mahdollisimman laajalle tulosvälille jakautunut otos laskoarvoja. Opinnäytetyö toteutettiin Tampereen Ammattikorkeakoululla kliinisen hematologian opetustiloissa.

Opinnäytetyömme kokeellisen osuuden tuloksia käsitelimme tilastollisesti. Tutkimusaineiston koko oli lopulta 118 näytettä. Määritimme tulokset kahtena vertailusarjana, joissa toisessa vastakkain olivat kummankin menetelmän 60 minuutin tulokset ja toisessa kummankin menetelmän 30 minuutin tulokset. Kuitenkin vain 60 minuutin tuloksilla on kliinistä merkitystä ja siten vain ne vaikuttavat tutkimuksen lopputulokseen ja johtopäätöksiin. Tilastollisen analyysin tulosten perusteella Mix-Rate® 10 -laskoanalysointilaitteen tuloksia voidaan pitää referenssimenetelmään verrattaessa luotettavina alle 27 mm/h näytteiden kohdalla, jota korkeampia tuloksia ei tutkimuksessa ollut. Natriumsitraatin säilyttämisajoissa huoneenlämmössä ja jääkaappilämpötilassa on lähteiden mukaan suuria eroja. Myös laitteen 15 minuutin mittauksen tulostasoa olisi hyödyllistä ja mielenkiintoista selvittää. Näistä aiheista saisi tulevaisuudessa mielenkiintoisia tutkimusaiheita.

Avainsanat: lasko, koestus, tutkimus, vertailu, tilastomenetelmät

ABSTRACT

Tampereen ammattikorkeakoulu
Tampere University of Applied Sciences
Biomedical Laboratory Science

HANNA POHJA & MARJAANA YLITALO:
Method Testing and User's Manual for Vital Mix-Rate® Automated ESR Analyzer

Bachelor's thesis 46 pages, appendices 4 pages
August 2016

Erythrocyte sedimentation rate (ESR) is based on the phenomenon where plasma and blood particles separate from each other when anticoagulated blood is let stand still. The result is expressed in millimeters per hour [mm / h]. Alf Westergren refined the phenomenon to a standardized laboratory analysis in the 1920s and the analysis was named after the developer as Westergren's method. Even to today Westergren's method is used as a reference method to calibrate and test ESR analysis instruments and methods. (Horsti 2007, 70; Estridge & Reynolds 2008, 292; Rodak, Fritsma & Keohane 2012, 184.)

The aim of the experimental part of this study was to obtain data from the result level of the Mix-Rate® 10 Automated ESR Analyzer and compare it with the result level of the reference method. The Westergren's method was used as a reference method in our study. The aim in the experimental part was to gather at least 50 sample pairs for the comparison of methods. The actual product of the functional part of our study was a user's manual for the Mix-Rate® 10 Automated ESR Analyzer.

We calculated the results of the experimental part of the thesis statistically. The population size of the study was finally 118 samples ergo 59 sample pairs. We compared the 60 minute results of both methods facing each other. Based on the outcome of the statistical analysis the result level of the Mix Rate® 10 -analyzer can be regarded as reliable when ESR result is under 27 mm/h.

Key words: Erythrocyte sedimentation rate, Research, Comparison, Statistics

SISÄLLYS

1	JOHDANTO.....	5
2	LASKO.....	6
	2.1 Lasko ilmiönä	7
	2.2 Tutkimusindikaatiot ja kliininen merkitys	8
	2.3 Laskotutkimuksen virhelähteet.....	9
3	WESTERGRENIN MENETELMÄ.....	11
4	MIX-RATE® 10 –LASKOANALYSAATTORI	13
5	TUTKIMUSTEHTÄVÄT JA TAVOITE	19
6	TUTKIMUSAINESTO JA -MENETELMÄT.....	20
7	OPINNÄYTETYÖN TOTEUTUS	21
	7.1 Kokeellinen osuus.....	21
	7.2 Toiminnallisen osuuden toteutus	23
	7.3 Aineiston tilastollinen käsittely.....	24
8	TUTKIMUSTULOKSET JA NIIDEN TARKASTELU	27
9	POHDINTA.....	35
	LÄHTEET.....	40
	LIITTEET	43
	Liite 1. Westergrenin menetelmän ja Mix-Rate® 10 -laskoautomaatin mittaustulokset, lasketut muutosprosentit ja erotukset	43
	Liite 2. Mix-Rate® 10 -laskoautomaatin kalibroinnin ja toimintatestin viitearvotaulukot	45
	Liite 3. Manleyn lämpötilakorjaustaulukko, taulukko katkaistu 30 mm/h arvosta eteenpäin.....	46

1 JOHDANTO

Opinnäytetyömme aiheena on tehdä Tampereen ammattikorkeakoululle hankittuun uuteen Vital Diagnosticsin Mix-Rate® 10 Automated ESR Analyzer -laitteeseen koestus ja käyttöohjeet. Laite mittaa veren laskoarvoa eli veren punasolujen laskeutumisnopeutta. Laskeutumisnopeuteen vaikuttavat potilaan plasman proteiinien määrä ja punasolujen laatu (Fimlab Laboratoriot Oy 2014). Korkea laskoarvo liittyy useimmiten tilanteisiin, joissa akuutin faasin proteiinien, kuten haptoglobiinin ja c-reaktiivisen proteiinin, pitoisuudet veressä ovat lisääntyneet. Tällaisia proteiinitason muutoksia esiintyy muun muassa kroonisten tulehdustautien, vaikeiden bakteeri-infektioiden, joidenkin maligniteettien ja akuutin kudostuhon yhteydessä sekä fysiologisesti raskauden aikana. (Kurkijärvi, Vanharanta & Pelliniemi 2009, 5.)

Laskoa käytetään kliinisissä tutkimuksissa ja myös laskoa halutaan tutkia. Sille on löydetty uusia kliinisiä käyttöalueita entisten lisäksi, esimerkiksi aggressiivisten sydäntautien ennustamisessa. Määrittymenetelmän kehittäminen on lisännyt merkittävästi menetelmäkirjavuutta sekä manuaali- että automaattimenetelmissä. (Horsti 2007, 70,73.)

Automatisoidussa laskomittauksessa näyte otetaan yleensä suoraan putkeen, jota laite voi käyttää sellaisenaan. Laskoautomaatit mittaavat erytrosyyttien sedimentoitumista yleensä 15 tai 30 minuutin ajan ja laskevat näytteelle mitatun arvon perusteella 1 tunnin arvon. Automaation avulla tulokset saadaan nopeammin, mutta lyhyemmän mittausajan vuoksi käytettävät automaatit ovat koestettava huolellisesti luotettavan tulostason takaamiseksi. (Mustajoki & Kaukua 2002, 35; MIX-rate User's Manual 2012, 5,13.)

Opinnäytetyö tehdään Tampereen ammattikorkeakoululle, bioanalytikkokoulutuksen kliinisen hematologian opetuslaboratorioon. Laitteen tuloksissa on huomattu poikkeavuutta referenssimenetelmään verrattaessa, varsinkin korkeiden arvojen kohdalla. Koestuksella pyrimme selvittämään laitteen tulostason ja vertaamaan sitä referenssimenetelmänä toimivan Westergrenin menetelmän tulostasoon. Sekä laskoautomaatin että manuaalimenetelmän tulokset ovat lämpötilakorjattu 18 °C:n tulostasoon Manleyn taulukon mukaan (Liite 3), joten tulokset olisivat mahdollisimman vertailukelpoiset. Laitteelle tarvitaan myös selkeät käyttöohjeet helpottamaan laitteen opetuskäyttöä.

2 LASKO

Lasko on ensimmäisiä verikokeita, joita on käytetty potilaiden tutkimisessa. Jo antiikin Kreikassa huomattiin, että veri kerrostuu, kun se seisoo tarpeeksi pitkään. Pian myös huomattiin, että terveen ihmisen punasolut laskeutuvat hitaasti ja tulehduksellisilla potilailla nopeammin. Ruotsalainen Alf Westergren jalosti ilmiön standardoiduksi laboratoriotutkimukseksi 1920-luvulla, joka nimettiin kehittäjänsä mukaan Westergrenin menetelmäksi. Tästä menetelmästä tuli standardi, johon nykyäänkin mittavälineet ja menetelmät kalibroidaan. Nykypäivänä lasko on yleinen laboratoriotutkimus, jolla on useita käyttöindikaatioita. Sillä osoitetaan muun muassa akuutteja ja kroonisia tulehduksia sekä seurataan hoidon tasoa ja tulehdusten etenemistä. (Mustajoki & Kaukua 2002, 34; Horsti 2007, 70; Estridge & Reynolds 2008, 292.)

Laskotutkimus perustuu veren partikkelien kerrostumiseen eli sedimentoitumiseen. Antikoaguloitun veren seistessä punasolut erottuvat hiljalleen plasmasta ja laskeutuvat astian pohjalle (kuva 1). Laskotutkimuksessa mitataan millimetrimäärää, jonka punasolut ovat tunnin aikana ilman häiriötä laskeutuneet eli punasolujen laskeutumisenopeutta. Tulos ilmoitetaan yksikössä millimetriä tunnissa [mm/h]. Tulos luetaan punasolupatsaan pinnalta, mutta siihen ei lasketa mukaan punasolujen päällä olevaa vaaleaa pääasiassa leukosyyteistä ja trombosyyteistä koostuvaa kerrosta. (Estridge & Reynolds 2008, 292; Rodak, Fritsma & Keohane 2012, 184.)



KUVA 1. Sedimentoituneita näytteitä manuaalimenetelmän pipeteissä (Kuva: Marjaana Ylitalo 2016)

Terveillä ihmisillä punasolut laskeutuvat hitaasti, enintään noin 10 mm tunnissa. Vii-tearvot vaihtelevat iän ja sukupuolen mukaan (taulukko 1). Potilailla, joilla on tulehdus-sairauksia, punasolut laskeutuvat nopeammin, jopa 100 mm tunnin aikana. (Mustajoki

& Kaukia 2002, 34). Laskoarvo on naisilla korkeampi kuin miehillä ja se korreloi sukupuoli- välisen fibrinogeenitasoeron kanssa. Raskauden aikana fibrinogeenin määrä nousee ja nosta näin laskoarvoa. Myös iän lisääntyessä lasko saattaa kohota. (Lewis 2006, 600)

TAULUKKO 1. Laskon viitearvot iän ja sukupuolen mukaan (HUSLAB 2016)

	Naiset [mm/h]	Miehet [mm/h]
0-16-vuotiaat	1 – 15	1- 15
17-29-vuotiaat	alle 20	alle 10
30-39-vuotiaat	alle 25	alle 15
40-49-vuotiaat	alle 25	alle 20
50-59-vuotiaat	alle 30	alle 25
60-69-vuotiaat	alle 35	alle 25
70-79-vuotiaat	alle 40	alle 30
Alkaen 80-vuotiaat	alle 45	alle 35

2.1 Lasko ilmiönä

Sedimentaatio tapahtuu kolmessa vaiheessa. Ensimmäisessä vaiheessa tapahtuu raharullailmiö eli aggregaattien muodostus ja se kestää muutamasta minuutista noin 10 minuuttiin. Seuraava vaihe on aggregaattien laskeutuminen tasaisella nopeudella eli sedimentaatio, joka kestää noin 40 minuuttia. Viimeinen vaihe on aggregoituneiden punasolujen pakkautumisvaihe, jossa solut pakkautuvat mittausputken pohjalle. (Lewis 2006, 599; Horsti 2007, 71.)

Sedimentaation aste eli laskoarvo on suoraan verrannollinen soluaggregaatin massaan ja kääntäen verrannollinen pinta-alaan ja plasman viskositeettiin (Turgeon 2005, 444). Sedimentaation määrä riippuu useiden muuttujien keskinäisestä suhteesta, kuten plasman proteiinkoostumuksesta, erytrosyyttien koosta ja muodosta sekä erytrosyyttien konsentraatiosta (McKenzie, Williams & Landis-Piowar 2015, 797). Sedimentaatioon vaikuttava tärkein tekijä on raharullien muodostuminen eli punasolujen aggregoituminen ja sen määrä (Horsti 2007, 71).

Yleensä punasolut hylkivät toisiaan niiden negatiivisen pintavarauksen takia. Jos veressä on kuitenkin kohonnut määrä positiivisesti varautuneita plasmaproteiineja, punasolujen väliset hylkivät voimat heikentyvät tai poistuvat täysin, jonka vuoksi punasolut muodostavat helpommin raharullia tai aggregaatteja. Akuutin faasin proteiinit, kuten haptoglobiini, keruloplasmiini, alfa-1-antitrypsiini ja c-reaktiivinen proteiini, ja fibrinogeeni vaikuttavat suuresti raharullamuodostukseen. Myös immunoglobuliinit IgG, IgA ja IgM vaikuttavat nostavasti lasko-arvoon. Punasolukasaumien massa on suurempi kuin yksittäisen punasolun, jonka vuoksi kasaumat laskeutuvat nopeammin ja aiheuttavat korkeamman laskoarvon. (Lewis 2006, 599; Horsti 2007, 71; Rodak, Fritsma & Keohane 2012, 184.)

Muutokset punasolujen muodossa, koossa ja lukumäärässä vaikuttavat raharullamuodostukseen (Horsti 2007, 72). Makrosyyttiset punasolut ovat massaltaan suurempia kuin normo- tai mikrosyyttiset punasolut ja laskeutuvat siitä syystä nopeammin. Poikkeavan tai epäsäännöllisen muotoiset erytrosyytit, kuten sirppisolut, sferosyytit tai poikilosyytit, haittaavat raharullamuodostusta. Myös punasolujen määrä vaikuttaa laskotulokseen. Jos veri sisältää normaalia vähemmän punasoluja eli veri on aneemista, niiden laskeutumisenopeus on usein kohonnut. (Turgeon 2005, 444; Horsti 2007, 72; Estridge & Reynolds 2008, 292; Rodak, Fritsma & Keohane 2012, 186; McKenzie, Williams & Landis-Piowar 2015, 797.)

2.2 Tutkimusindikaatiot ja kliininen merkitys

Laskotutkimus on epäspesifinen mittari, jota käytetään akuuttien ja kroonisten tulehdusten, maligniteettien sekä kudostuhon esiintymisen osoittamiseen. Tutkimuksen epäspesifisyydestä johtuen pelkästään sen perusteella ei voida määrittää poikkeavan arvon syytä. Horstin (2007,72) mukaan laskon tärkeä käyttöarvo on vahvistaa lääkärin tekemää diagnoosia. (Turgeon 2005, 200-201; McKenzie, Williams & Landis-Piowar 2015, 797.)

Kohonneita laskoarvoja liittyy muun muassa sidekudostauteihin, kroonisiin tulehduksiin, maligniteetteihin, moniin maksasairauksiin, kudოსvaurioihin, multippeliin myeloomaan, tuberkuloosiin ja usein anemioihin. Fysiologisesti lasko nousee raskauden aikana. Esimerkiksi reumaattisen tulehduksen yhteydessä tiettyjen positiivisesti varau-

tuneiden plasman proteiinien, kuten fibrinogeenin ja immunoglobuliinien, pitoisuus veressä kasvaa. Horstin (2007,72) mukaan Ford et al. tutkimuksessa todettiin seuraavia syitä korkeaan laskoon: syöpä 28% (myelooma 7%), reuma- ja sidekudossairaudet 20% (polymyalgia rheumatica 6%), munuaissairaudet 11% ja muut sairaudet 41%, joista infektiot muodostivat suurimman osan. (Rodak, Fritsma & Doig 2007, 172; Estridge & Reynolds 2008, 294; Fimlab Laboratoriot Oy 2014.)

2.3 Laskotutkimuksen virhelähteet

Mahdollisia preanalyttisiä virhetekijöitä on monia. Yksi merkittävimmistä on näytteen huono sekoitus. Heti näytteenoton jälkeen näyte tulisi sekoittaa huolellisesti 5-10 kertaa, niin että putken ilmakupla kulkee sen päästä päähän. Huolellisella sekoituksella varmistetaan hyytymisenestoaineen ja veren sekoittuminen ja siten tasalaatuinen, laadukas näyte. Myös ennen näytteen analysointia on erittäin tärkeää, että näyte sekoitetaan huolellisesti uudelleen. Näytteen seisotuksen aikana punasolut ovat ehtineet laskeutua putkessa, eikä näyte ole enää tasalaatuista ja siten mittauksen tulos ei ole luotettava. Näytteenoton ja sekoituksen jälkeen näytteen tulee antaa jäähtyä huoneenlämpöön, sillä liian lämmin näyte vaikuttaa virheellisesti mittaustuloksiin. Suositeltu aika jäähdytykselle on minimissään 20 minuuttia. Näyte säilyy huoneenlämmössä tietolähteestä riippuen korkeintaan 4-7 tuntia. Jos näytettä säilytetään jääkaappilämpötilassa, on sen annettava lämmitä huoneenlämpöön ennen mittausta. Suositeltu minimiaika näytteen lämpiämiseksi on 20 minuuttia. Näyte säilyy analyysikelpoisena jääkaappilämpötilassa noin 24 tuntia. (Turgeon 2005, 444; Fimlab Laboratoriot Oy 2014.)

Hyytymisenestoaineen ja veren sekoitussuhteen on oltava oikea, sillä muutokset kumman tahansa konsentraatioissa vääristävät tuloksia tai estävät mittauksen kokonaan. Hyytymisenestoaineen konsentraation kasvattaminen aiheuttaa punasolujen sferosytoosia, joka estää raharullien muodostumista ja näin aiheuttaa valheellisen matalan laskoarvon. Myöskään hyytynyttä tai hemolyyttistä näytettä ei voi käyttää. (Turgeon 2005, 444; Rodak, Fritsma & Keohane 2012, 185-186.)

Myös käytetyllä antikoagulantilla on merkitystä. Natriumoksalattia, kaliumoksalattia tai hepariinia ei voida käyttää hyytymisenestoaineena laskomittauksessa, sillä ne saavat punasolut kutistumaan ja aiheuttavat näin vääristyneen laskoarvon. Jääkaapissa säilyte-

tyn näytteen tulee antaa lämmetä huoneenlämpöön ennen mittausta, sillä liian viileä tai lämmin näyte vaikuttaa virheellisesti mittaustuloksiin. Jotkin ihmisen hematologiset tilat voivat aiheuttaa virheellisen korkean tai matalan laskotuloksen kuten esimerkiksi anemiat tai polysytemiat. (Turgeon 2005, 444; Horsti 2007, 72; Rodak, Fritsma & Keohane 2012, 185; Fimlab Laboratoriot Oy 2014.)

Monet mittaustekniset asiat voivat myös vaikuttaa laskoarvoon vääristävästi. Muun muassa merkittävä muutos mittaushuoneen lämpötilassa mittauksen aikana (yli +/- 1 °C) tai mittaustilan korkea tai matala lämpötila vaikuttavat mittauksen tuloksiin. Myös pöytätasoon kohdistuva värinä, pienikin kallistuma mittapipetissä tai pöytätasossa, jolla mittaus suoritetaan, vääristävät mittaustuloksia. Mittapipetin huolellinen täyttö nollatasoon asti on mittauksen kannalta tärkeää ja mittaajan on huolehdittava, ettei pipettiin joudu ilmakuplia. Mittaus tulee suorittaa standardoiduilla ja siihen tarkoitetuilla välineillä. Laskoautomaatin oikein suoritettu kalibrointi sekä sen toiminnan ja tulostason kontrollointi ovat välttämättömiä luotettavien tulosten kannalta. (Rodak, Fritsma & Keohane 2012, 185-186.)

Mix-Rate® 10 -laskoanalysaattorin käytössä tulee ottaa huomioon normaalit laskomittaukseen liittyvät virhelähteet. Lisäksi infrapunasensorien vuoksi putkien tarroitukseseen on kiinnitettävä huomiota. Tarrat eivät saa peittää mittausaluetta vaan ne on sijoitettava punasolupatsaan yläpuolelle, putken yläosaan. Jos näytettä ei ole mittausputkessa tarpeeksi tai sitä on liikaa, laite ei tee analyysia. Sallittu veripatsaan korkeus on 48 millimetristä 62 millimetriin. (MIX-rate User's Manual 2012, 15,18.)

3 WESTERGRENIN MENETELMÄ

Laskon mittauksen referenssimenetelmänä käytetään Westergrenin menetelmää. Westergrenin menetelmässä käytettävät pipetit, mittausajat ja vertailuarvot ovat standardoitu ja nykyään laboratorioissa käytettävät mittavälineet, menetelmät ja laitteet kalibroidaan sen mukaan. Mittauksessa kalibroitu Westergrenin pipetti täytetään antikoaguloidulla verellä ja solujen annetaan laskeutua täsmälleen 60 minuutin ajan. Tulos luetaan punasolupatsaan pinnan tasolta, mutta siihen ei lasketa mukaan punasolujen päällä olevaa pääasiassa leukosyyteistä ja trombosyyteistä koostuvaa vaaleaa kerrosta. (Lewis 2006, 596; Horsti 2007, 71; Jou, Lewis, Briggs, Lee, De La Salle & McFadden 2011, 129; McKenzie, Williams & Landis-Piowar 2015, 797.)

Menetelmässä käytetään lasisia tai muovisia läpinäkyviä 30 cm:ä korkeita mittapipettejä, jotka eivät saa vaikuttaa veren partikkeleihin eikä pipetistä itsestään saa irrota mitään näytteen sekaan. Pipetin halkaisijan tulisi olla 2,55 mm ja sen sisämitan tulee olla yhdenmukainen koko pipetin pituudelta, mitoissa sallitaan vain 5 %:n poikkeama pipetin koko matkalta. Pipetin tulee täytyä antikoaguloidulla verellä 200 mm:in asti ja pipettelineen tulee pitää pipettejä luotisuorassa. (Lewis 2006, 596; Horsti 2007, 71; Jou ym. 2011, 125.)

Westergrenin menetelmässä verinäyte otetaan natriumsitraattiputkeen. Putki on mitoitettu niin, että antikoagulantin ja veren suhde on 1 osa natriumsitraattia ja 4 osaa verta (1+4). Referenssimenetelmässä käytimme Greiner Bio-Onen Vacuette®-laskoputkia (kuva 2). Vacuette® laskoputkissa käytetään 3,2-prosenttista puskuroitua trinatriumsitraattiliuosta (109 mmol/l). (Greiner Bio-One, 11.)



KUVA 2. Greiner Bio-Onen Vacuette®-laskoputki (Kuva: Marjaana Ylitalo 2016)

Näyte sekoitetaan vähintään kahdeksan kertaa, niin että ilmakupla kulkee putken päästä päähän ja sen jälkeen annetaan seisottua ja jäähtyä huoneenlämmössä vähintään 20 minuutin ajan ennen analysointia. Näyte tulisi kuitenkin analysoida neljän tunnin kuluessa näytteenotosta. Näyte tulee sekoittaa hyvin myös seisotuksen jälkeen, vähintään kymmenen kertaa. Manuaalimenetelmässä käytettäviä välineitä on erilaisia ja niiden käyttö saattaa erota toisistaan hieman. Opinnäytetyön kokeellisessa osuudessa käyttämillämme välineillä näytteen sekoituksen jälkeen putkesta poistetaan korkki ja näyte vedetään suoraan putkesta mittauspipettiin, niin että pipetti täyttyy kokonaan. Tämän jälkeen pipetti ja putki asetetaan pipettitelineeseen (kuva 3) luotisuoraan ja jätetään tunniksi suoralle alustalle johon ei kohdistu tärinää, läpivetoa tai suoraa auringonvaloa. Westergrenin menetelmä on standardoitu suoritettavaksi 18-25 °C:n lämpötilassa. Mittaushuoneen lämpötila ei saa muuttua mittauksen aikana enempää kuin +/- 1 °C:n verran. (Greiner Bio-One, 6; Lewis 2006, 596; Estridge & Reynolds 2008, 293; Jou ym. 2011, 129.)



KUVA 3. Greiner Bio-Onen Westergrenin menetelmään tarkoitettu teline ja täytetty pipetti (Kuva: Marjaana Ylitalo 2016)

4 MIX-RATE® 10 –LASKOANALYSAATTORI

Mix-Rate® 10 on Vital Diagnosticsin valmistama kymmenen mittauskanavaa sisältävä laskoanalyysointilaitteisto (kuva 4). Analyysointilaitteen mittausajan voi säätää 15 minuuttiin, 30 minuuttiin, yhteen tai kahteen tuntiin. Asetuksista riippuen laite voi suorittaa automaattisesti lämpötilakorjauksen 18 °C:seen ja automaattisesti interpoloida 30 tai 15 minuutin mittaus tuloksen muotoon, jossa se vastaa 1 tunnin mittaus Westergrenin menetelmän mukaan. Interpolointi tarkoittaa tuloksen laskennallista arviointia sen aiempien mittaus tulosten ja tutkittavan muuttujan käyttäytymisen avulla. Analyysointilaitteisto kerää näitä pisteitä 15 minuutin ja 30 minuutin mittaus ajan ja laskee niiden sekä veren sedimentaation käyttäytymismallin avulla 1 tai 2 tunnin tuloksen näyttölle. Mix-Rate® 10 - laskoautomaattissa käytettävä mittausmenetelmä perustuu infrapunasensoreihin. Sensorit lukevat jokaisesta putkesta punasolupatsaan pinnan tason eli näytteen nollassa, jonka jälkeen sensorit mittaavat punasolujen laskeutumista 15 minuutin tai puolen tunnin ajan 60 sekunnin sykleissä. Infrapunasensorit lukevat laskeutuvan punasolupatsaan tasoa +/- 0,2 mm tarkkuudella ja tulos saadaan +/- 1 mm tarkkuudella. Mittausväli laitteelle on 1-140 mm/h. (MIX-rate User's Manual 2012, 18; Weisstein.)



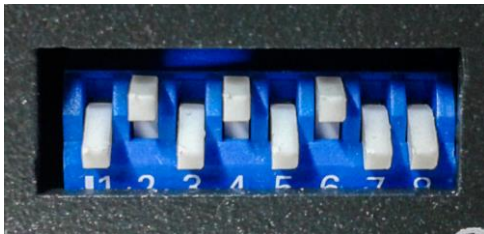
KUVA 4. Mix-Rate® 10 –laskoautomaatti (Kuva: Marjaana Ylitalo 2016)

Ennen laitteen käynnistämistä käyttäjän tulee tarkistaa laitteen asetukset laitteen takana sijaitsevan paneelin ON-OFF-keinukytkimistä (kuva 5). Kytkimen ollessa alaspäin kytkettynä se on ON-asennossa ja ylöspäin kytkettynä OFF-asennossa. Kytkinten toiminnot ovat seuraavassa järjestyksessä:

1. Ota käyttöön 30 minuutin tulokset
2. Ota käyttöön 1 tunnin ja 2 tunnin tulokset (ON = 1h ja 2h, OFF = 1h)
3. Ota käyttöön lämpötilakorjaus 18 °C:seen
4. Ota käyttöön tulostin
5. Ota käyttöön sedimentaatiokuvaaja
6. Ota käyttöön 15 minuutin tulokset (*)
7. Ota käyttöön sisäinen tuuletin
8. Ota käyttöön tulostinliitännän virtalähde

(*) tämä toiminto kumoaa automaattisesti toiminnot 1. ja 2.

(MIX-rate User's Manual 2012, 8.)



KUVA 5. Laitteen asennuskytkimet takapaneelissa (Kuva: Marjaana Ylitalo 2016)

Laskoautomaatti käyttää Monosed® ESR -sitraattiputkia, jotka sisältävät puskuroitua 3,2 prosentista natriumsitraattiantikoagulanttia (109 mmol/l) (kuva 6). Myös näissä putkissa antikoagulantin ja veren suhde on 4 osaa verta ja 1 osa sitraattia. Putket ovat mitoiltaan 8 x 120 mm ja ne on valmistettu lasista ja niiden vetoisuus on 1,28 ml. (Monosed® Vacuum Tubes 2014.)



KUVA 6. Monosed® ESR –sitraattiputki (Kuva: Marjaana Ylitalo 2016)

Mix-Rate® 10 -laitteeseen on mahdollista liittää tulostin ja viivakoodilukija, mutta laitetta voi käyttää myös ilman niitä. Tulostin pitää yhdistää laitteeseen ja kytkeä päälle ennen kuin itse laite käynnistetään. Laite käynnistetään keinukatkaisijasta, joka sijaitsee laitteen takana (kuva 7). Mix-Rate® alustuu aina päälle kytkettäessä ja suorittaa sisäisen testin mekaaniselle sekä elektroniselle kontrollille.

Käynnistyksen jälkeen näyttöön ilmestyvät valmistajan ja laitteen nimet sekä millä mittausasetuksilla laite sillä hetkellä on. Jos laitteeseen on liitetty tulostin, tässä vaiheessa näyttöön ilmestyy teksti ”printer OK”. Jos tulostinta ei ole kytketty tai se ei ole päällä, laite neuvoo tarkistamaan tulostimen. Jos asetuksista on valittu käyttää lämpötilakompensaatiota, laite ilmoittaa 18 °C:n olevan referenssilämpötila ja mikä laitteen sen hetkinen sisäinen lämpötila on. Laitteen mittaamat tulokset muuttuvat lämpötilakompensaatiolla automaattisesti vastaamaan huonelämpötilan suhteen referenssimenetelmän tuloksia. Kun sisäinen testi on hyväksytysti suoritettu, laite on valmis mittaamaan. (MIX-rate User’s Manual 2012, 8-9, 16-17.)

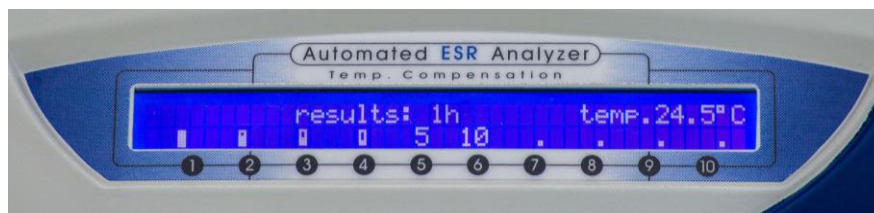


KUVA 7. Mix-Rate® 10 –laskoanalysaattorin takapaneeli (Kuva: Marjaana Ylitalo 2016)

Näytteet voidaan syöttää laitteeseen joko yksittäin tai useamman näytteen sarjassa käyttäen laitteen omaa sekoittajaa (batch mode) tai näytteet voidaan syöttää laitteeseen eri aikoihin ilman laitteen omaa sekoitusta (random mode). Jos halutaan käyttää laitteen sekoitustoimintoa, syötetään näytteet mittauskanaviin ja välittömästi sen jälkeen suljetaan laitteen kansi, jonka jälkeen laite aloittaa automaattisesti sekoittamisen. Laite sekoittaa näytteitä noin kahdeksan kertaa minuutissa, viiden minuutin ajan. Jos laitteen sekoitustoimintoa ei käytetä, täytyy näytteet sekoittaa huolellisesti ennen mittauksia, joko erillisellä putkisekoittajalla tai käsin, niin että ilmakupla kulkee useita kertoja putken päästä päähän. Mahdollisimman pian sekoituksen jälkeen näytteet syötetään laitteeseen, mutta kantta ei saa sulkea, sillä silloin laitteen sekoitustoiminto käynnistyy.

Laitteen mittauspaikat ovat numeroitu kiinteästi yhdestä kymmeneen. Jos käytössä on tulostin, laite numeroi näytteet tulosteeseen juoksevilla numeroinnilla myös kymmenestä eteenpäin, kun samaan mittauspaikkaan tulee uusi näyte. Mittauskanavasta 1 tulee 11, paikasta 2 tulee 12 ja niin edelleen. Numerointi nollautuu, kun laite sammutetaan. Jos näytteet halutaan identifioida viivakoodilla, pitää viivakoodinlukija kytkeä kiinni laitteeseen, lukea laitteeseen syötettävän putken viivakoodi ja sen jälkeen asettaa putki ensimmäiseen tyhjään mittauskanavaan. (MIX-rate User's Manual 2012, 16.)

Mittauksen alkaessa näytölle (kuva 8) ilmestyy palkki-symboli, jonka muuttuminen kuvaa mittauksen etenemistä. Kun mittauksen tulos on valmis, laite antaa merkkiäänän ja tulos ilmestyy valmistuneen näytteen kohdalle näyttöön. Käytettäessä 15 minuutin tai 30 minuutin mittausohjelmia, ruudulle ilmestyy sekä sen hetkinen mittaustulos (15' tai 30') että laskettu 1 tunnin tulos (1 h). Jos laitteeseen on kytketty tulostin, tulokset tulostuvat automaattisesti. Mitatun putken voi sen jälkeen poistaa laitteesta ja tulokset häviävät näytteen poistamisen jälkeen näytöltä minuutin kuluessa. Sen jälkeen mittauskanavaan voi laittaa uuden näytteen. (MIX-rate User's Manual 2012, 16-17.)

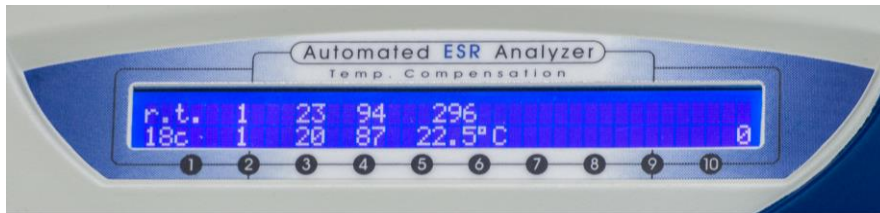


KUVA 8. Esimerkki näytön symboleista (Kuva: Marjaana Ylitalo 2016)

Mix-Rate® 10 -laskoanalysaattorin kalibrointi ja sen toiminnan testaaminen suoritetaan kolmella erillisellä Self Test -putkella (60 mm putkitaso) (kuva 10). Self Test -putkien avulla pystytään kalibroimaan laite ja tarkistamaan sen sisälämpötilaa mittaavan sensorin toiminta, mittausympäristön lämpötila sekä kontrolloida laitteen lämpötilakorjauksen toimintaa. Self Test -putkissa on muovipylväät, jotka mukailevat 30, 50 ja 60 mm korkuisia punasolupatsaita. Putket asetetaan laitteen mittauskanaviin 1-3 ennen laitteen käynnistämistä. Mittauskanavaan numero 1 tulee 60 mm putki, mittauskanavaan numero 2 tulee 50 mm putki ja mittauskanavaan numero 3 tulee 30 mm putki. (Self Test Tool 2010, 4.)

Laitteen käynnistämisen jälkeen laite tunnistaa Self Test -putket ja aloittaa automaattisesti kalibroinnin. Näytölle tulee teksti "AUTO-TEST". Mittaus kestää noin minuutin.

Tämän jälkeen toimintatestin ja kalibraation tulokset näkyvät näytöllä (kuva 9). Laite antaa testin tulokset kahdella rivillä. Ensimmäinen rivi (r.t) tarkoittaa Self Test -putkista mitattuja teoreettisia laskoarvoja sekä mekaanisen kalibraation tulosta (oikea yläkulma). Alempi rivi (18C) tarkoittaa samoja arvoja, mutta korjattuina 18 °C:n tulostasoon. Mix-Rate® 10 -analyysointilaitteella on omat viitearvot, joihin laitteen tulisi päästä (liite 2). Tulosten tarkistamisen jälkeen laite sammutetaan ja uudelleen käynnistämisen jälkeen se on valmis käytettäväksi. (Self Test Tool 2010, 4, 7.)



KUVA 9. Esimerkki kalibraation tuloksista (Kuva: Marjaana Ylitalo 2016)



KUVA 10. Self Test -putket: vasemmalla 60 mm, keskellä 50 mm ja oikealla 30 mm putki (Kuva: Marjaana Ylitalo 2016)

Mix-Rate® 10 -laskoanalyysointilaitteen käytössä tulee ottaa huomioon normaalit laskomittaukseen liittyvät virhelähteet. Lisäksi infrapunasensorien vuoksi putkien tarroitukseseen on kiinnitettävä huomiota. Tarrat eivät saa peittää mittausaluetta vaan ne on sijoitettava punasolupatsaan yläpuolelle, putken yläosaan. Jos näytettä ei ole mittausputkessa tarpeeksi tai sitä on liikaa, laite ei tee analyysia. Sallittu veripatsaan korkeus on 48 millimetristä 62 millimetriin. Oikean näytemäärän taso on näyteputkiin merkatun kahden valkoisen viivan välisellä alueella (kuva 11). (MIX-rate User's Manual 2012, 15,18.)



KUVA 11. Monosed® ESR –laskoputken oikea täyttöaste (Kuva: Marjaana Ylitalo 2016)

5 TUTKIMUSTEHTÄVÄT JA TAVOITE

Opinnäytetyömme kokeellisen osuuden tarkoituksena on suorittaa Mix-Rate® 10 -laskoanalysaattoriin koestus ja tilastollisin menetelmin vertailla tulostasoa referenssimenetelmään. Toiminnallisen osuuden tarkoituksena on tehdä Tampereen ammattikorkeakoulun kliinisen hematologian opetuslaboratorion Mix-Rate® 10 -laskoanalysaattorille selkeä, toimiva käyttöohje. Opinnäytetyön kokeellisen osuuden tavoitteena on osoittaa laskoanalysaattorin kliinisesti merkitsevä tulostaso, jotta saadaan selville soveltuuko laite tulosten luotettavuuden puolesta käytettäväksi manuaalisen mittausmenetelmän nopeampana ja automatisoituna vaihtoehtona. Toiminnallisen osuuden tavoitteena on helpottaa laitteen käyttämistä sekä tulosten luotettavaa tulkintaa.

Opinnäytetyömme tutkimustehtäviä ovat:

1. Tehdä koestussuunnitelma ja toteuttaa koestus käytännössä
2. Vertailla tilastollisin keinoin kuinka Mix-Rate® 10 -laskoautomaatin ja referenssimenetelmän tulokset vastaavat toisiaan näyteparien välillä kahdessa eri vertailusarjassa
3. Käyttöohjeen tekeminen Mix-Rate® 10 -laskoanalysaattorille

6 TUTKIMUSAINEISTO JA -MENETELMÄT

Työmme on kvantitatiivinen eli määrällinen tutkimus, jossa on myös toiminnallinen osuus. Kvantitatiivisessa tutkimuksessa tieto kerätään siinä muodossa, ettei sitä voida tulkita subjektiivisesti ja tulokset olisivat yleistettävissä. Määrällinen tutkimus perustuu käsitteisiin tilastoyksikkö, otos ja näyte (Kvantitatiivisen analyysin perustee 2007). Kvantitatiivisessa osuudessa mittaamme kahdella eri menetelmällä veren sedimentaatiota ja analysoimme saatuja tuloksia tilastollisin keinoin. Muuttujina opinnäytetyömme kvantitatiivisessa osuudessa ovat menetelmät, laskoarvot ja aika.

Opinnäytetyömme toiminnallisen osuuden tuotoksena on Mix-Rate® 10 - laskoanalysaattorin kuvalliset käyttöohjeet. Toiminnallista osuutta tehdessä ensisijaisena tietolähteenä käytämme laitteelle olemassa olevia vieraskielisiä käyttöohjeita. Niistä pyrimme keräämään tärkeimmät asiat ja tuottamaan niiden avulla selkeän, informatiivisen ja käyttäjäystävällisen kokonaisuuden, joka sopii opetuskäyttöön Tampereen ammattikorkeakoulun bioanalyttikko-opiskelijoille. Tavoitteenamme on tehdä käyttöohjeet, joiden avulla varmistettaisiin laitteen oikea ja luotettava käyttö sekä helpotettaisiin laitteen toimintatestien ja kalibroinnin suorittamista. Ohje on kuvallinen, jotta se olisi mahdollisimman havainnollinen ja helposti käytettävä. Ohjeisiin tulevat kuvat otamme itse, jotta vältetään tekijänoikeuskysymyksiltä. Tarkoituksemme on tutustua laitteen käyttöön perusteellisesti ennen kokeellisen osuuden suorittamista ja lisää kirjallista osuutta kirjoittaessamme, jonka jälkeen teemme käyttöohjeen. Näin meillä on selkeä kuva laitteen toiminnasta ja sen käytöstä niin teoriassa kuin käytännössä, jolloin käyttöohjeiden tekeminen on helpompaa. Mallia käyttöohjeen rakenteeseen otamme Tampereen ammattikorkeakoululle opinnäytetöinä aiemmin tehdyistä käyttöohjeista sekä muista käytössä olevista ja hyväksi havaituista ohjeista.

Tarkoituksenamme kokeellisessa osuudessa on tutkia kaksi näytettä vähintään viideltäkymmeneltä koehenkilöltä. Kokoamme otoksemme pääasiassa Tampereen ammattikorkeakoulun opiskelijoista, henkilökunnasta ja tutuistamme. Pyrimme saamaan otokseen mukaan mahdollisimman paljon myös viitearvot ylittäviä laskoarvoja. Osallistuminen tutkimukseen on näytteenantajille vapaaehtoista ja näytteet käsitellään nimettöminä.

7 OPINNÄYTETYÖN TOTEUTUS

Opinnäytetyön kokeellisessa osuudessa tarkoituksenamme on kerätä ja analysoida vähintään viidenkymmenen koehenkilön laskimonäytteenä otettavat näyteparit eli samalla näytteenottokerralla otetaan tietty näyteputki sekä Westergrenin menetelmää että Mix-Rate® 10 -laskoanalysaattoria varten. Analysaattori on hankittu Tampereen Ammattikorkeakoululle Mediq Suomi Oy:ltä, jolta saimme myös lahjoituksena näytteenottoputket opinnäytetyötämme varten. Saimme työtä varten referenssimenetelmän näyteputket lahjoituksena Mekalasi Oy:ltä. Suoritamme mittauksen vakioituissa olosuhteissa sekä Westergrenin menetelmällä että koestettavalla laskoautomaatilla, joista molemmilla mittaustavoilla kirjaamme ylös sekä 30 minuutin arvot sekä 60 minuutin tulokset. Tutkimustulosten kannalta merkitystä on ainoastaan 60 minuutin tuloksilla, mutta mitaamme samalla myös 30 minuutin arvot mielenkiinnosta ja nähdäksemme onko niissä eroa keskenään. Tutkimusluvan opinnäytetyön tekemiseen haimme toukokuussa 2015 ja luvan myönsi 02.06.2015 Tampereen ammattikorkeakoulun koulutusjohtaja Riitta Hanhijärvi.

7.1 Kokeellinen osuus

Suoritimme kokeellisen osuuden 5.10.-7.10.2015 Tampereen ammattikorkeakoulun kliinisen hematologian opetustiloissa, jossa pystyimme vakioimaan kaikki mittauksen vaiheet. Tutkittavia näytepareja saimme lopulta 59 kappaletta. Mittausympäristön lämpötila pysyi jokaisena mittauspäivänä 22 - 23 °C välillä, joka on sallittava lämpötila sekä Westergrenin menetelmälle että Mix-Rate® 10 -laskoautomaatille. Laskoautomaatti muuntaa tulokset suoraan Manleyn taulukon mukaan 18 °C:een tulostasolle (MIX-rate User's Manual 2012, 17). Molemmat mittaukset suoritettiin samoissa olosuhteissa ja samassa ympäristössä. Tarkistimme mittaustason suoruuden jokaisena mittauspäivänä vatupassilla ja huolehdimme, ettei mittauksen aikana tasoon kohdistu häiriöitä, kuten tärinää, joka voisi vaikuttaa mittaustuloksiin. Mittaushuoneen ikkunat olivat peitettynä jokaisena mittauspäivänä, joten suora auringonvalo ei päässyt missään vaiheessa vaikuttamaan tuloksiin. Mittausvälineinä käytettiin ainoastaan menetelmille tarkoitettuja ja yhteensopivia välineitä. Jokaisena mittauspäivänä laskoanalysaattori kalibroitiin ja sen

toiminta testattiin siihen tarkoitetulla Self Test –putkisarjalla. Testin tulokset tarkistimme siihen annetuista tulostaulukoista (liite 2).

Yksittäinen näytepari otettiin aina samalla pistokerralla vakuumitekniikalla. Staasin käyttöä pyrittiin välttämään, jotta näyte ei hemolysoituisi ja vaahtoaisi. Näytteenotossa toinen otti näytteen ja toinen sekoitti, numeroi sekä siirsi putket jäähtymään ja seisotukseen huoneenlämpöön. Molempia putkia sekoitettiin näytteenoton jälkeen suositusten mukaisesti ja huolellisesti niin, että ilmakupla kulki putken päästä päähän. Manuaalimenetelmän näyteputkilla tehtiin valmistajan ohjeistuksen mukaan normaalin sekoituksen lisäksi ensimmäisellä sekoituskerralla nopea ja lyhyt napautus ilmassa, jolla pyrittiin saamaan korkkiin mahdollisesti jäänyt näyte sekoittumaan muun näytteen joukkoon. Näyteparit numeroitiin juoksevalla numerolla 1-59.

Näytteenoton jälkeen näytepari siirrettiin jäähdytyspisteeseen, jossa näytteiden annettiin seisoa vähintään 20 minuuttia ja jäähtyä huoneenlämpöön. Laskoanalysaattoriin mahtuu kerralla kymmenen näytettä, joten jaksotimme näytteenoton niin, että tutkittavia näytteitä oli kerralla korkeintaan kymmeneltä eri koehenkilöltä. Näin kaikki näytteet voitiin analysoida samanaikaisesti. Näytteitä ei lisätty laskoautomaattiin tai manuaalimenetelmän ennen edellisten valmistumista.

Vakioimme näytteiden sekoittamisen niin, että laskoautomaatin näytteet sekoitimme laitteen omalla sekoittajalla, jolloin laite sekoittaa putkia noin 40 kertaa 300 sekunnin aikana. Manuaalimenetelmän näyteputket sekoitimme pyörivällä putkisekoittajalla (kuva 12), jonka nopeudeksi säädimme 8 kierrosta minuutissa ja sekoituksen kestoksi 5 minuuttia, jolloin myös manuaalimenetelmän näyteputkille tuli noin 40 sekoituskertaa. Näytteiden sekoitus ennen analysointia ajoitettiin niin, että molemmat mittaukset alkoivat samanaikaisesti. Manuaalimenetelmään käytimme Tampereen ammattikorkeakoululta saatuja ja opetuskäytössä olevia pipettitelinettä ja pipettejä. Molemmat ovat Greiner Bio-One:n tuotteita, kuten käyttämämme manuaaliputketkin, joten välineet ovat täysin yhteensopivia. Pipeteissä on kuminen adapteri, joka pitää pipetin suorassa ja paikallaan. Näyteputken korkki poistetaan ja pipetti asetetaan näyteputkeen niin syväälle, että kapillaari-imu täyttää pipetin kokonaan näytteellä. Kokeellista osuutta suorittaessamme täytimme pipetit telineen ulkopuolella ja vasta täytön jälkeen asetimme ne telineeseen.

Mix-Rate® 10 -analysointilaitteen mittaus kesti 30 minuuttia, jonka jälkeen laite antaa sekä 30 minuutin laskoarvon että sen perusteella lasketun 1 tunnin tuloksen. Käytimme manuaalimenetelmässä tutkimuksen kulun mittaamiseen kahta ajastinta, 30 minuutin ja 1 tunnin ajalla. Mittasimme poikkeuksellisesti myös manuaalimenetelmän 30 minuutin laskoarvon, jotta tulostasojen vertailu onnistuisi myös sillä tasolla. Manuaalimenetelmän tulos luettiin molemmilla ajanhetkillä punasolupatsaan pinnalta, kuitenkin niin ettei siihen laskettu mukaan punasolujen päällä olevaa vaaleaa pääasiassa leukosyyteistä ja trombosyyteistä koostuvaa kerrosta. Tulokset taulukoitiin (liite 1) ja valokuvattiin mahdollista myöhempää tarkastelua varten. Manuaalimenetelmän tulokset korjattiin 18 °C:n tulostasoon vasta ennen tulosten tilastollista analysointia.



KUVA 12. Putkisekoittaja (Kuva: Marjaana Ylitalo 2016)

7.2 Toiminnallisen osuuden toteutus

Aloitimme Mix-Rate® 10 -laskoautomaatin käyttöohjeen laatimisen tutkimalla aiempia TAMK:n bioanalytikkokoulutuksen laitteille tehtyjä käyttöohjeita. Näiden avulla rakensimme käyttöohjeelle rungon. Käyttöohjeen sisällön tuotimme laitteen mukana tulleen valmistajan englanninkielisen käyttöohjeen ja omien havaintojemme perusteella. Työohjeessa kuvataan kohta kohdalta, miten laitetta käytetään ja kuinka sillä suoritetaan mittaus oikein. Käyttöohjeeseen sisällytimme mielestämme laitteen käyttöön liittyviä tärkeitä huomioita ja turvallisuuden liittyviä asioita. Otimme käyttöohjetta varten kuvia laitteesta ja sen osista, jotta saamme helpotettua ja havainnollistettua laitteen käyttöä. Kokeellisen osuuden aikana käytimme laitetta päivittäin useita kertoja, mutta vielä tämän jälkeen kävimme testaamassa laitteen toimintaa ja sen ominaisuuksia, muun muas-

sa käynnistämässä ja kalibroimassa laitetta, jotta ohjeemme vastaisi täysin todellisuutta. Käyttöohjeesta tuli 17-sivuinen. Käyttöohjeesta tulostetaan ja laminoidaan värillinen versio laitteen ohkeen, jota bioanalyttikko-opiskelijat voivat käyttää. Käyttöohje annetaan käyttöön myös sähköisenä versiona, jotta siihen voidaan tarvittaessa tehdä päivityksiä.

7.3 Aineiston tilastollinen käsittely

Koestus on laitteen käyttöönottoon liittyvä testaus, jossa tutkittavan laitteen tulostasoa verrataan tunnetun referenssimenetelmän tulostasoon. Tutkimme keräämäämme aineistoa sekä riippuvuuden ja sen voimakkuuden suhteen että tulosten eroavaisuuden näkökulmasta. Tilastollisiksi menetelmiksi ja tunnusluvuiksi aineiston tutkimiseen olemme valinneet aineiston jakauman tarkastelun, Pearsonin korrelaatiokertoimen, p-arvon, regressioanalyysin, muutosprosentit, laatikko-jana-kuvion sekä erotuskuvaajan ja keskiarvojen vertailun. (Holopainen & Pulkkinen 2008, 233; Westgard 2009; Jou ym. 2011, 129.)

Hajontakuvion ja korrelaatiokertoimen avulla voidaan arvioida muuttujien välistä riippuvuutta, sen voimakkuutta ja suuntaa. Riippuvuutta tarkastellaan yleensä kahden muuttujan välillä. Pearsonin korrelaatiokerrointa (R) käytettäessä molemmat muuttujat ovat mitattu välimatka- tai suhdeasteikolla ja kerroin kuvaa muuttujien välistä lineaarista riippuvuutta. Korrelaationkertoimen arvo vaihtelee -1:n ja +1:n välillä. Kertoimen arvo +1 tai sen lähellä oleva arvo merkitsee voimakasta positiivista riippuvuutta, -1:n lähellä oleva arvo voimakasta negatiivista riippuvuutta ja 0 sitä, ettei lineaarista riippuvuutta ole. Täydellinen riippuvuus saavutetaan silloin, kun kaikki korrelaatio-suoran pisteet sijaitsevat samalla nousevalla tai laskevalla suoralla. Positiivinen riippuvuus tarkoittaa, että toisen muuttujan arvon kasvaessa, myös toinen kasvaa eli suora on nouseva. Negatiivinen riippuvuus tarkoittaa sitä, että toisen muuttujan arvon kasvaessa toinen pienenee ja suora on laskeva. Korrelaatiokertoimelle voidaan laskea p-arvo, merkitsevyystaso, joka kertoo väärän johtopäätöksen todennäköisyydestä. Merkitsevyystason raja-arvo on 0,05, jolloin p-arvon ollessa pienempää kuin 0,05 on tulos tilastollisesti merkitsevä. P-arvon ollessa suurempi kuin 0,05 on sattuman todennäköisyys suuri. (Holopainen & Pulkkinen 2008, 229 - 234; Heikkilä 2014, 91.)

Regressioanalyysin päämääränä on löytää muuttujien välillä mahdollisesti vallitseva yhteys ja kuvata sitä matemaattisen mallin avulla. Jos muuttujia on vain kaksi, toista muuttujaa kutsutaan selittäväksi muuttujaksi ja toista selitettäväksi muuttujaksi. (Holopainen ja Pulkkinen 2008, 261.) Regressioanalyysin tulokset esitetään regressiokuvaajan, -yhtälön sekä selityksasteen (R^2) avulla.

Regressioyhtälö on muotoa:

$$y = a + bx$$

jossa y = selitettävä muuttuja

x = selittävä muuttuja

b = regressiokerroin

a = y-akselin ja suoran leikkauspiste

Regressiokertoimen (b) arvo ilmaisee, kuinka paljon y-muuttuja keskimäärin muuttuu, kun x kasvaa yhden yksikön verran. Mallin hyvyttä voidaan arvioida selityksasteen (korrelaatiokertoimen neliö) perusteella. Selityksaste ilmaisee, kuinka suuri osa muuttujan y vaihtelusta voidaan selittää selittävän muuttujan avulla. (Heikkilä 2014, 223.) Heikkilän mukaan (2014, 223) selityksasteen tulisi olla minimissään 0,6 ja mitä korkeampi arvo on, sitä parempi malli on. Suuri selitykskerroin ei kuitenkaan takaa tarkkoja ennusteita (Holopainen ja Pulkkinen 2008, 277).

Yksinkertainen laatikko-jana-kuvio esittää graafisesti tunnuslukuja tutkittavasta aineistosta. Näitä tunnuslukuja ovat minimi- ja maksimiarvo, ylä- ja alakvartiili ja näiden välinen kvartiiliväli sekä mediaani. Kvartiiliväli kuvaa havaintoaineiston keskimmäisen 50 %:n sijoittumista (Holopainen ja Pulkkinen 2008, 89). Mediaani on suurusjärjestykseen asetetuista havainnoista keskimmäinen, kun havaintoja on pariton määrä, ja kahden keskimmäisen arvon keskiarvo, kun havaintoja on parillinen määrä. Mediaanin ala- ja yläpuolella on yhtä monta havaintoa. (Heikkilä 2014, 84.) Laatikko-jana-kuviossa laatikko kuvaa kvartiiliväliä, kuvion janat kuvaavat havaintojen vaihteluväliä sekä suurinta ja pienintä arvoa, ja kuviossa oleva musta neliö kuvaa mediaania. Opinnäytetyössämme laatikko-jana-kuvio piirretään kuvaamaan menetelmien tulosten välisten muutosprosenttien jakautumista. (Graafinen esitys (kuviot) 2004.)

Muutosprosentti (x) lasketaan kaavalla:

$$x = \frac{b - a}{a} \times 100\%$$

jossa a = referenssimenetelmän tulos

b = tutkittavan menetelmän tulos

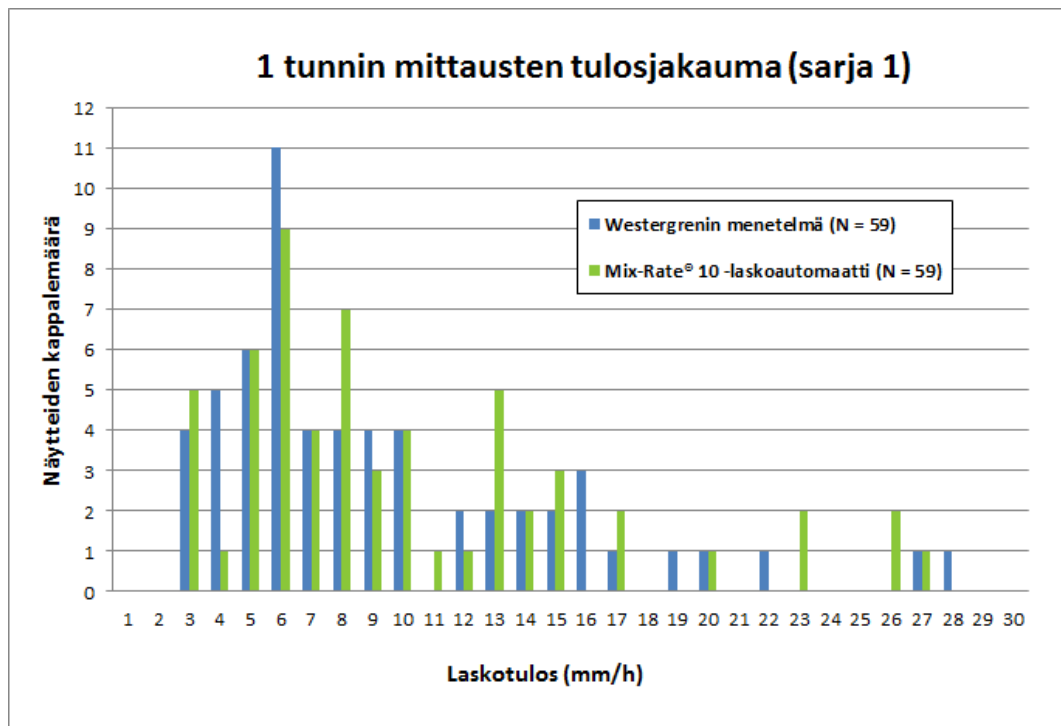
Erotuskuvaajaa voidaan käyttää menetelmien tulosten visuaalisessa vertailussa keskenään, jos on odotettavissa, että tulokset vastaavat toisiaan. Erotuskuvaajan avulla voidaan tunnistaa epäjohtonmukaisuuksia tuloksissa. Erotuskuvaaja esittää menetelmien välisten tuloksien erotuksen (y-akseli) suhteessa ja referenssimenetelmän tulostasoon (x-akseli). Kun toista tutkittavaa menetelmää käytetään referenssimenetelmänä, käytetään sen tuloksia parhaana arvioina todellisesta tulostasosta ja se kuvataan erotuskuvaajan horisontaaliakselilla. Erotuskuvaajaan piirrämme lisäksi ICSH:n suosituksen mukaan sallittujen erojen ylä- ja alarajan -5 ja 5 mm/h kohdalle, jonka sisällä tuloksista 95 % tulisi pysyä. (Petersen, Stöckl, Blaabjerg, Pedersen, Birkemose, Thienpont, Lassen & Kjeldsen 1997; Westgard 2009; Jou ym. 2011, 125.)

8 TUTKIMUSTULOKSET JA NIIDEN TARKASTELU

Vertasimme tutkimuksessamme kahta eri menetelmää laskon mittaamiseksi. Tilastolliset analyysit teimme Microsoft Officen Excel -ohjelmalla ja IBM SPSS Statistics -ohjelmalla. Näytteitä tutkimme 59 koehenkilöltä eli näytepareja oli 59 (N = 59). Tulosten jakauma oli 0 - 27 mm/h (kuvio 1), joten selkeästi korkeammat arvot puuttuivat tutkimuksestamme kokonaan. Analysoimme näytteet sekä manuaalisella Westergrenin menetelmällä että Mix-Rate® 10 -laskoanalysaattorilla. Westergrenin menetelmä toimii koestuksessa referenssimenetelmänä, johon laskoautomaatin tulostasoa verrataan. Mittasimme molemmilla menetelmillä näytteiden arvon sekä 30 minuutin että 60 minuutin ajanhetkeltä, joista kuitenkin vain 60 minuutin tulostasojen vertailu vaikuttaa tutkimustuloksiin. Laskoautomaatin tulokset ovat lämpötilakorjattu 18 °C:n tulostasoon Manleyn taulukon mukaan. Mahdollisimman vertailukelpoiset tulokset saadaksemme, muutimme myös Westergrenin menetelmällä saadut tulokset vastaamaan 18 °C:n tulostasoa Manleyn taulukon mukaan ennen tulosten tilastollista käsittelyä. Westergrenin menetelmän tuloksiin jatkossa viitattaessa ovat ne lämpötilakorjattu 18 °C:n tulostasoon, ellei toisin mainita. Vertailusarjoja on kaksi. Tästä eteenpäin sarjoihin viitataan seuraavasti:

Sarja 1: Mix-Rate® 10 -laskoanalysaattorin 1 tunnin tulos vs. Westergrenin menetelmän 1 tunnin tulos (59 paria)

Sarja 2: Mix-Rate® 10 -laskoanalysaattorin 30 minuutin tulos vs. Westergrenin menetelmän 30 minuutin tulos (59 paria)



KUVIO 1. Sarjan 1 tulosten jakauma

Sarjan 1 Pearsonin korrelaatiokerroimeksi saatiin 0,930, joka kertoo voimakkaasta lineaarisesta riippuvuudesta menetelmien välillä (taulukko 2). Korrelaatiokerroimen arvo 1 tarkoittaisi täydellistä riippuvuutta menetelmien välillä, arvo 0 sitä ettei riippuvuutta ole. P-arvo *sarjalle 1* on alle 0,0001, joten tulos on tilastollisesti erittäin merkitsevä. *Sarjan 2* Pearsonin korrelaatiokerroimeksi saatiin 0,822 ja p-arvoksi alle 0,0001 (taulukko 2), joten myös tässä sarjassa menetelmien välillä on voimakas lineaarinen riippuvuus ja voidaan luottaa, ettei kyse ole sattumasta, vaan tulos on tilastollisesti erittäin merkitsevä. (Holopainen & Pulkkinen 2008, 177, 233-235.)

TAULUKKO 2. Korrelaatiokerroin ja p-arvo

	N	Korrelaatiokerroin	p-arvo
Sarja 1	59	0,930	<0,0001
Sarja 2	59	0,822	<0,0001

Regressiokuvaajan suoran yhtälö on muotoa:

$$y = a + bx$$

jossa y = selitettävä muuttuja

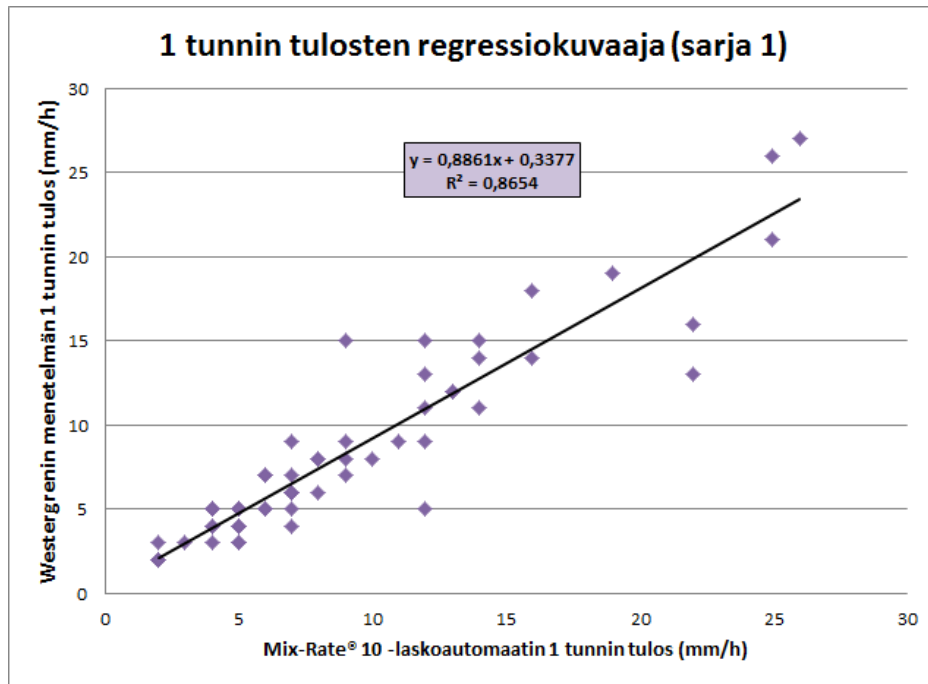
x = selittävä muuttuja

b = regressiokerroin

a = y -akselin ja suoran leikkauspiste

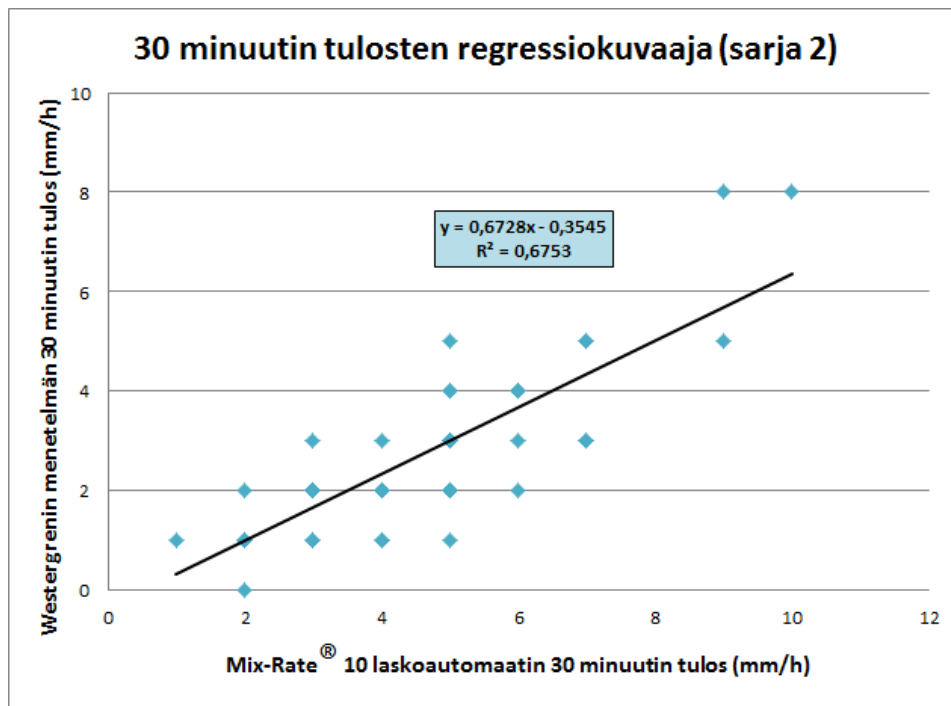
Sarjoja 1 ja 2 tutkittaessa regressiokuvaajan suoran yhtälössä muuttuja y kuvaa Westergrenin menetelmää ja muuttuja x Mix-Rate 10 –laskoanalysaattoria. Regressiokertoimen b arvo ilmaisee, kuinka paljon y -muuttuja keskimäärin muuttuu, kun x kasvaa yhden yksikön verran. Mallin hyvyttä voidaan arvioida selitysasteen (korrelaatiokertoimen neliö) perusteella. Selitysaste (R^2) ilmaisee, kuinka suuri osa muuttujan y vaihtelusta voidaan selittää selittävän muuttujan avulla. (Heikkilä 2014, 223.) Selitysasteen ollessa vähintään yli 0,6, voidaan laatia ennusteita muuttujalle y . (Holopainen & Pulkkinen 2008, 277-278; Heikkilä 2014, 223.)

Sarjan 1 regressiokuvaajan yhtälö (kuvio 2) on muotoa $y = 0,8861x + 0,3377$, jossa regressiokerroin b on arvoltaan 0,8861. Saatu regressiokerroin tarkoittaa, että Mix-Rate® 10 –laskoanalysaattorin mittaaman arvon muuttuessa yhden yksikön verran, muuttuu Westergrenin menetelmällä saatu arvo 0,8861 yksikön verran. Regressiokertoimen avulla voidaan arvioida, että menetelmillä saadut tulokset vastaavat toisiaan voimakkaasti, mutta laskoanalysaattorin tulostason on hieman korkeampi verrattuna referenssimenetelmään. Selitysaste R^2 on *sarjalle 1* 0,8654, joten sen perusteella Mix-Rate® 10 –laskoanalysaattorin tuloksilla voidaan selittää 86,5% Westergrenin menetelmän tuloksien vaihtelusta.



KUVIO 2. Sarjan 1 regressiokuvaaja

Sarjan 2 regressiokuvaajan yhtälö (kuvio 3) on muotoa $y = 0,6728x - 0,3545$ ja selitysaste R^2 on 0,6753. *Sarjan 2* regressiokerroin on yhtälön perusteella 0,6728 eli Mix-Rate® 10 -laskoanalyysointilaitteen mittaaman arvon muuttuessa yhden yksikön verran, muuttuu Westergrenin menetelmällä saatu arvo 0,6728 yksikön verran. Regressiokerroimen perusteella voidaan arvioida laskoanalyysointilaitteen tulostason olevan 30 minuutin tuloksissa korkeampi verrattuna referenssimenetelmään. *Sarjan 2* selitysaste on 0,6753, mikä kertoo, ettei mallinnuksen perusteella voida välttämättä tehdä luotettavia tulkintoja tai ennusteita.



KUVIO 3. Sarjan 2 regressiokuvaaja

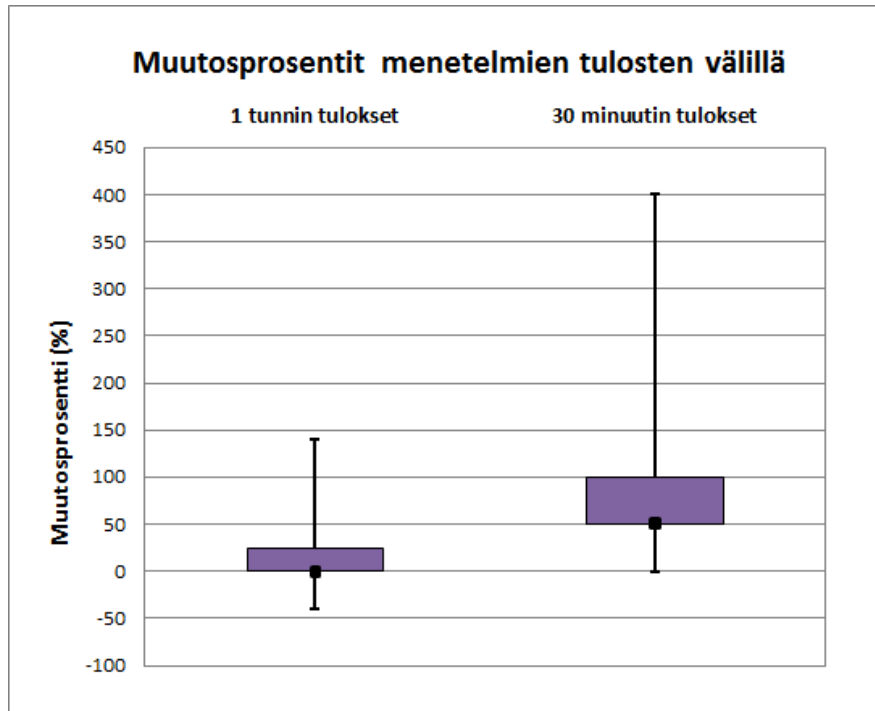
Muutosprosentti (x) laskettiin kaavalla:

$$x = \frac{b - a}{a} \times 100\%$$

jossa a = referenssimenetelmän tulos

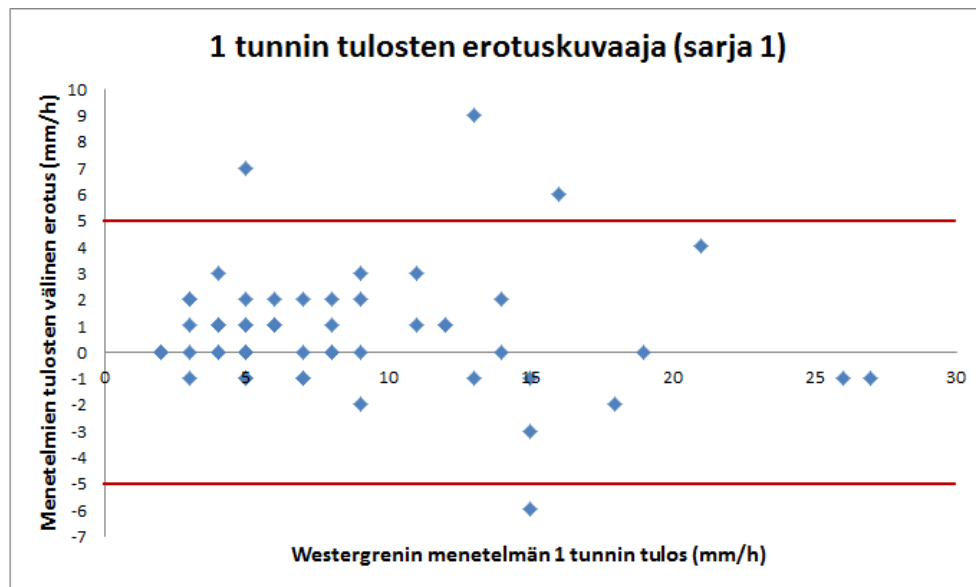
b = laskoanalysointilaitteen tulos

Laskettujen muutosprosenttien avulla piirrettiin molemmille sarjoille laatikko-jana-kuvio ja laskettiin kuvioon liittyviä tunnuslukuja. Laatikko-jana-kuvion (kuvio 4) ja saatujen tunnuslukujen perusteella *sarjan 1* kvartiiliväli on -0,3%-25% eli 50 %:a laske- tuista muutosprosentteista on saadulla välillä. Suurin muutosprosentti *sarjalle 1* on 140% ja pienin -40%. *Sarjan 1* mediaani on 0 %. *Sarjan 2* kvartiiliväli on laatikko-jana- kuvion (kuvio 4) ja laskettujen muutosprosenttien perusteella 50%-100%. Suurin muu- tosprosentti *sarjassa 2* on 400% ja pienin 0%. *Sarjan 2* mediaani on 50%. Muutospro- sentit ovat hyvin suuria molemmissa sarjoissa, mikä johtuu osaltaan mitattujen arvojen ja erotusten samasta suuruusluokasta. Tämän vuoksi muutosprosentteja tarkastelemalla saadaan lähinnä suuntaa antavaa informaatiota. Esimerkiksi, jos mitatut tulokset samalle näytteelle ovat laskoautomaatilla 3 mm/h ja referenssimenetelmällä 1 mm/h, on muu- tosprosentti tulosten välillä 200 %. Kuitenkaan todellisuudessa esimerkin tulosten väli- sellä erolla ei ole kliinistä merkitystä.

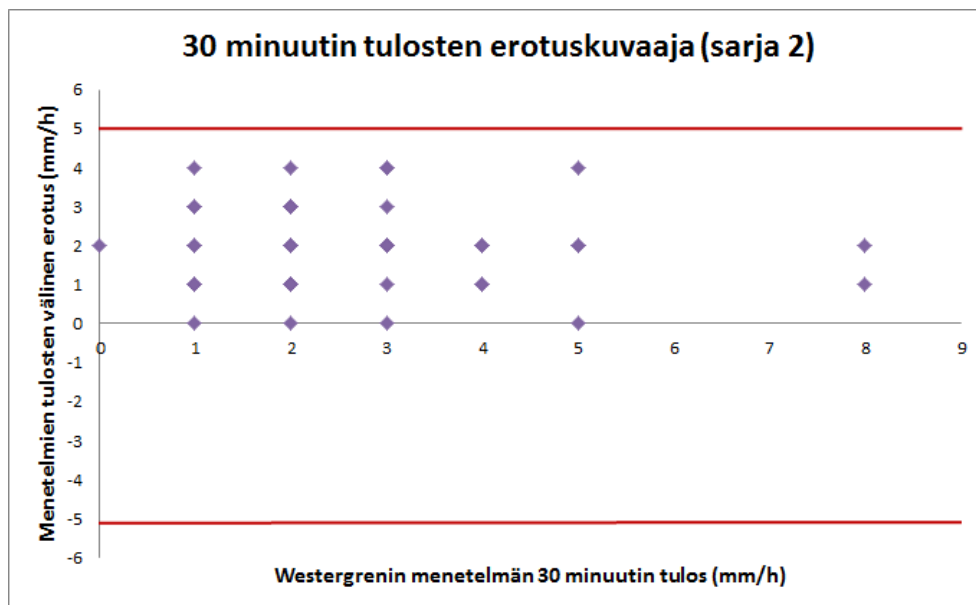


KUVIO 4. Laatikko-jana-kuvaaja sarjoille 1 ja 2

Sarjalle 1 (kuvio 5) ja *sarjalle 2* (kuvio 6) määritettiin erotuskuvaajat, joiden avulla voitiin tutkia näyteparien välisten tulosten erotuksia. Erotukset laskettiin vähentämällä Mix-Rate® 10 –laskonalysaattorin tuloksista Westergrenin menetelmällä saadut tulokset. Näitä erotuksia verrattiin referenssimenetelmänä toimivaan Westergrenin menetelmän tulostasoon. Hyväksymisalueen ylärajaksi määritettiin ICSH:n (International Council for Standardization in Haematology) suosituksen mukaan 5 mm/h ja alarajaksi -5 mm/h. 95 %:a saatujen tulosten erotuksista tulisi asettua näiden rajojen sisään, jotta menetelmää voidaan pitää luotettavana. Vaikka jäimme tutkimuksessamme suositellusta 2 - 120 mm/h laskoarvojen jakaumasta, voidaan ICSH:n sääntöä pitää hyvänä apuna tulosten tarkastelussa. *Sarjassa 1* tuloksien erotuksista 93% pysyi sallittujen rajojen sisällä, vain neljän mittauksen erotukset olivat yli +/- 5 mm/h (kuvio 5). Tulosta voidaan kuitenkin pitää hyvänä, kun otetaan huomioon tutkimuksen otoskoko ja tulosjakauma. Tulosten täydellinen vastaavuus eli erotuksen nollatulos toteutui *sarjassa 1* 17 näytteen kohdalla, joka on otoksen näytteistä 28,8 %:a. *Sarjassa 2* tulosten täydellinen vastaavuus toteutui 4 näytteen kohdalla, joka on otoksen näytteistä 6,8 %:a. (Jou ym. 2011, 125.)



KUVIO 5. Erotuskuvaaja sarjasta 1



KUVIO 6. Erotuskuvaaja sarjasta 2

Sarjojen 1 ja 2 näytepareille laskettiin erotukset ja näille tuloksille keskiarvo. Erotus laskettiin näyteparien välillä vähentämällä Mix-Rate® 10 -laskoanalysaattorilla saaduista tuloksista Westergrenin menetelmällä saadut tulokset. Laskettu arvo kertoo keskimääräisen eron menetelmien välillä sekä eron suunnan. *Sarjan 1* keskimääräiseksi eroksi saatiin 0,7 mm/h eli analysaattorin tulokset ovat keskimäärin 0,7 mm/h suuremmat. *Sarjan 2* keskimääräisen erotuksen arvoksi saatiin 1,8 mm/h eli analysaattorilla saadut tulokset ovat keskimäärin 1,8 mm/h referenssimenetelmää suuremmat.

TAULUKKO 4. Sarjojen 1 ja 2 keskiarvo sekä keskihajonta

		N	Keskiarvo	Keskihajonta
Sarja 1	Westergrenin menetelmä	59	8,372	5,731
	Mix-Rate® 10 -laskoanalysaattori	59	9,068	6,017
Sarja 2	Westergrenin menetelmä	59	2,576	1,511
	Mix-Rate® 10 -laskoanalysaattori	59	4,356	1,845

9 POHDINTA

Opinnäytetyömme kokeellisen osuuden tarkoituksena oli suorittaa Mix-Rate® 10 -laskoanalysaattorin koestus ja tilastollisin menetelmin vertailla tulostasoa referenssimenetelmään. Lisäksi tarkoituksena oli tehdä Tampereen ammattikorkeakoulun klinisen hematologian opetuslaboratorioon Mix-Rate® 10 -laskoautomaatille selkeä, toimiva käyttöohje.

Kerätessämme tutkimusaineistoa pyrimme vakioimaan kunkin näyteparin preanalyttiset vaiheet, niin että näytteet olisivat analysoitaessa mahdollisimman vastaavat keskenään. Otimme molemmat näytteet samasta koehenkilöstä samalla pistoksella ja pyrimme sekoittamaan putkia saman verran heti näytteenoton jälkeen. Näytteitä seisotettiin vähintään 20 minuuttia näytteenoton jälkeen, jotta ne jäähtyivät huoneenlämpöiseksi. Suurin osa näytteistä analysoitiin kahden tunnin sisällä näytteenotosta, vain kaksi näyteparia seisoivat pidempään, mutta nekin alle 2,5 tuntia. Na-sitraattinäyte säilyy huoneenlämmössä 7 tuntia (Fimlab laboratoriot Oy 2014). Näyteparien seisotusajat pysyivät keskenään hyvin samoina. Ottamissamme näytteissä ei esiintynyt näkyvää hemolyyysiä. Manuaalitulosten lukeminen oli välillä haastavaa, sillä aina plasman ja punasolujen välinen raja mittapipetissä ei ollut selkeä. Tällaisten mittausten kohdalla tarkastelimme tulokset erityisen tarkasti ja kirjasiimme tuloksen manuaalimenetelmän lukuohjeistuksen sekä yhteisen päätöksen perusteella.

Näyteotoksemme minimikooksi määritimme alussa 50 näyteparia. Keräsimme koehenkilöitä sähköpostein ja TAMKIn opettajien avulla. Tavoitteenamme oli saada mahdollisimman paljon myös korkeita laskoarvoja, jotta saamme selvitettyä tulosten luotettavuutta laitteen koko mittausalueella. Emme saaneet kuitenkaan otokseemme kuin vain muutaman korkeamman arvon. Otos olisi ollut varmasti paljon edustavampi myös patologisten näytteiden osalta, jos olisi ollut mahdollista saada näytteitä esimerkiksi sairaalaympäristöstä. Näyteaineiston keruussa toimimme eettisesti koehenkilöiden tietojen suhteen. Emme keränneet koehenkilöistä mitään henkilötietoja tai muuta tietoa ylös, millä heidät jälkeenpäin olisi voinut tunnistaa, ellei koehenkilö halunnut tietää omaa laskotulostaan ja antaa tähän tarkoitukseen sähköpostiosoitettaan. Kun olimme saaneet mittaustulokset valmiiksi, lähetimme tulokset niitä halunneille ja poistimme osoitetiedot

itseltämme. Kokeellisen osuuden aikana huolehdimme, ettei keräämiämme tietoja pääsyt tarkastelemaan kukaan ulkopuolinen.

Halusimme kokeilla automaatin sekoitustoimintoa työssämme, joten laskimme laitteen sekoitustoiminnon keston ja kuinka monta täyttä sekoitusta se tekee sekoitusajan kuluessa. Käytimme referenssimenetelmän näytteiden sekoittamiseen hematologian luokassa olevaa putkisekoittajaa. Säädimme sen pyörimisnopeuden siten, että sekoituksia tuli sama määrä, samassa ajassa kuin automaatilla. Näin näyteparin molemmille putkille samanlaisen perusteellisen sekoituksen ennen mittauksia. Sekoituksen jälkeen laite aloitti automaattisesti mittauksen, mutta referenssimenetelmän näytteet piti vielä vetää mittapipetteihin ja asettaa pystysuoraan pipettitelineeseen. Tämän osion saimme ilman suurempia viiveitä suoritettua joka kerta. Analysointori antaa äänimerkin, kun mittaus on valmis, mutta manuaalimenetelmää varten laitoimme ajastimet. Kirjasimme manuaalimenetelmän tulokset aina heti 30 minuutin ja tunnin kuluttua sekä kuvasimme tulokset myöhempää tarkistamista varten. Taulukoimme tulokset Microsoft Office Excelillä. (Liite 1)

Isoin tulosten luotettavuuteen liittyvä ongelma opinnäytetyössämme tuli eteen manuaalimenetelmän tulosten ja niiden mahdollisen lämpötilakorjaamisen kohdalla. Kävimme läpi aikaisempia laskotutkimuksia ja osassa tutkimuksia manuaalimenetelmän tulokset ovat lämpötilakorjattu 18 °C:seen, kuten laskoautomaattikin tekee. Lämpötilakorjauksen yleisen käytännön suhteen oli kuitenkin vaikea löytää tietoa. Mittauslämpötilalla ja sen vaihtelulla mittauksen aikana on todistetusti vaikutusta laskoarvoihin. (Manley 1957, 356.) Yleisesti käytäntö näyttäisi olevan, että jos manuaalimenetelmän mittaus on suoritettu 18-25 °C:ssa ja lämpötila pysyy vakiona mittauksen aikana (+/- 1 °C), tulokset ovat luotettavia ja niitä ei lämpötilakorjata. Mittauslämpötila opinnäytetyössämme kokeellista osuutta suorittaessa pysyi jokaisena päivänä 22-23 °C välillä, mutta päätimme kuitenkin korjata myös manuaalimenetelmän tulokset Manleyn taulukon mukaan 18 °C:n tulostasolle, jotta menetelmien tulokset olisivat mahdollisimman vertailukelpoisia. (Reading Scale USER'S MANUAL 2008, 1-3; MIX-rate User's Manual 2012, 17). (Liite 3)

Vain 60 minuutin arvoilla on kliinistä merkitystä, mutta halusimme tilastoida myös 30 minuutin arvot (liite 1) nähdäksemme onko niissä mahdollisesti eroa. Kun molempien menetelmien 60 minuutin arvoja vertailtiin keskenään, Pearsonin korrelaatiokertoimeksi

saatiin 0,930, joka kertoo voimakkaasta lineaarisesta riippuvuudesta menetelmien välillä. P-arvoksi *sarjalle 1* saatiin alle 0,0001, joten korrelaation tulos on tilastollisesti erittäin merkitsevä. Vertailusarjoille suoritettun regressioanalyysin perusteella pystyttiin mallintamaan ja arvioimaan menetelmien välistä suhdetta, sekä arvioimaan tutkimuksen luotettavuutta. Myös regressioanalyysillä saadut tulokset tukivat päätelmää, että Mix-Rate® 10 –laskoanalysointilaitteen tulostaso on luotettava alle 27 mm/h laskoarvoilla. Mielikiintoista oli huomata, että menetelmien 30 minuutin arvojen välillä oli enemmän eroa kuin 60 minuutin arvoilla. Halusimme myös selvittää, toteutuuko otoksessamme ICSH:n suositus siitä että, 95% menetelmillä saatujen tulosten erotuksista tulisi olla 5 mm/h tai vähemmän. 1 tunnin vertailusarjan tuloksien erotuksista 93% pysyi sallittujen rajojen sisällä, vain neljän mittauksen erotukset olivat yli +/- 5 mm/h. Tulosta voidaan pitää hyvänä, kun otetaan huomioon tutkimuksen otoskoko ja tulosjakauma. Mittaustulosten tilastollisen analysoinnin tulosten perusteella voidaan osoittaa, että Mix-Rate® 10 –laskoanalysointilaitteen tulostaso on luotettava ainakin alle 27 mm/h tuloksilla. (Jou ym. 2011, 125.)

Tekemiämme tulkintoja ja päätelmiä tilastollisen analyysin perusteella voidaan pitää luotettavina, sillä tehdyt päätelmät olivat selkeästi osoitettavissa ja perusteltavissa saaduista tuloksista. Pehdyimme käyttämiimme menetelmiin hyvin, jotta virheitä ei tulisi ja osaisimme tulkita saatuja tuloksia oikein. Tilastollinen analyysi suoritettiin kahdella ohjelmistolla Microsoft Office Excelillä sekä IBM SPSS Statistics -ohjelmalla, jotta voitiin myös näin varmistua laskujen ja kuvioiden oikeellisuudesta sekä poissulkea inhimilliset virheet. Tekemämme tulkinnat tarkasti Tampereen ammattikorkeakoulun bioanalytiikko-opiskelijoiden tietojenkäsittelyn opettaja.

Pyrimme opinnäytetyössämme käyttämään mahdollisimman paljon tietokirjallisuutta ja tieteellisiä artikkeleita lähteinä. Lähteitä etsiessämme pyrimme olemaan hyvin lähdekriittisiä ja varmistumaan käyttämiemme tietojen ajantasaisuudesta. Lasko on kuitenkin vanha tutkimus, jonka standardit on vakioitu jo 1920-luvulla, joten osa lähteistämme on myös useita kymmeniä vuosia vanhoja alkuperäisiä tutkimuksia, jotka ovat edelleen luotettavia. Käyttämiimme lähteisiin viittasimme ohjeistuksen mukaan.

Kokeellisen osuuden tuloksiin ja niiden luotettavuuteen olemme tyytyväisiä. Näytteiden otto, preanalytiikka ja analysointi menivät suunnitellusti ja näyteparit olivat keskenään lähes identtisiä. Opinnäytetyön tekeminen sujui hyvässä yhteistyössä ja opimme mo-

lemmat paljon työtä tehdessä. Työ ei edennyt aivan suunnitellun aikataulun mukaisesti, sillä teoriaosuuden ja käyttöohjeen kirjoittamisen aloitimme vasta pitkän harjoittelujakson jälkeen keväällä. Kokeellisen osuuden suorittaminen sujui hyvin ja suunnitellusti. Olisimme kuitenkin toivoneet otokseemme enemmän korkeita laskoarvoja. Jatkotutkimuksena olisi mielenkiintoista nähdä vastaavanlainen vertailu referenssimenetelmän ja Mix-Rate® 10 -analysaattorin välillä, mutta ICSH:n suositusta vastaavalla näytetotoksella. ICSH:n mukaan (Jou ym. 2011, 125) näytteitä tulisi olla vähintään 40 ja niiden tulisi jakautua kolmeen eri tulosryhmään: 1–20, 21–60 ja yli 60 mm/h. Myös Mix-Rate® 10 -analysaattorin 15 minuutin mittauksen tulostason vertailu referenssimenetelmään olisi mielenkiintoista. Natriumsitraatin säilyttämisajoissa huoneenlämmössä ja jääkaappilämpötilassa on lähteiden mukaan suuria eroja. (Fimlab Laboratoriot Oy, 2014; HUSLAB, 2015.) Näistä aiheista saisi tulevaisuudessa mielenkiintoisia tutkimusaiheita.

Työohjeen laadimme rakenteeltaan samankaltaiseksi kuin aiemmissa bioanalytikkokoulutuksen opinnäytetöissä on tehty. Laitimamme käyttöohje Mix-Rate® 10 -laskoanalysaattorille sisältää selkeän kuvauksen laitteesta, mittausperiaatteesta ja sen toiminnasta, ohjeet laskomittauksen suorittamiseen vaihe vaiheelta, tietoa laitteen käyttöön liittyvistä turvallisuusseikoista ja mittaukseen liittyvistä virhelähteistä sekä toimintaohjeita, jos laitteen kanssa ilmenee ongelmia. Ohjeessa on myös kuvaus laskoanalysaattorin toimintatestien ja kalibroinnin suorittamiseen. Tarkoituksemme oli tehdä TAMKin bioanalytikko-opiskelijoille selkeä ja käyttäjäystävällinen ohjeistus, jolla varmistettaisiin laitteen oikea ja luotettava käyttö sekä helpotettaisiin laitteen toimintatestien ja kalibroinnin suorittamista. Ohje on kuvallinen, jotta se olisi mahdollisimman havainnollinen ja helposti käytettävä. Käyttöohjeen teko oli yksinkertaista ja selkeää, koska olimme tutustuneet laitteen käyttöön perusteellisesti ennen kokeellisen osuuden suorittamista ja lisää kirjallista osuutta kirjoittaessamme. Mix-Rate® 10 -analysaattorilla sekä Self Test –putkisarjalla on olemassa omat englanninkieliset manuaalinsa. Laitteen alkuperäinen manuaali on kattava kokonaisuus laitteesta, mutta Self Test –putkisarjan toimintatestien ja kalibroinnin suorittamisen ohjeet olivat mielestämme vaikeaselkoiset ja puutteelliset. Valitettavasti emme ehtineet testata tuottamaamme työohjetta käytännössä koehenkilöillä tai saamaan siitä muuten käyttäjäpalautetta. Saimme kuitenkin laitteen käytöstä paljon kokemusta kokeellista osuutta tehdessämme ja käytössämme oli laitteen alkuperäiset käyttöohjeet, joten uskomme tuottamiemme käyttöohjeiden olevan hyvä ja luotettava apuväline laitteen käyttämiseen. Vaikka laite

on käytöltään hyvin yksinkertainen ja käyttäjäystävällinen, tulevat käyttöohjeemme varmasti tarpeeseen.

LÄHTEET

Estridge, B. H & Reynolds, A. P. 2008. Basic Clinical Laboratory Techniques. 5. painos. New York: Thomson Delmar Learning, 291-297.

Fimlab Laboratoriot Oy. 2014. Lasko. Versio: 1.3. Laatimispäivämäärä: 29.10.2014. Käyttöönottopäivämäärä: 29.10.2014. Luettu: 03.05.2016

http://www.fimlab.fi/ohjekirja/nayta.tmpl?sivu_id=194;setid=5954;id=12400

Ford, M. J., Innes, J. A., Parrish, F. M., et al. The significance of gross elevations of the erythrocyte sedimentation rate in a general medical unit. Eur J Clin Invest 9: 191-4. 1979.

Graafinen esitys (kuviot). 2004. KvantiMOTV. Luettu 8.6.2016.

<http://www.fsd.uta.fi/menetelmaopetus/kuviot/kuviot.html#laatikkojana>

Greiner Bio-One. VACUETTE®. Verinäytteenotto. Esitekirjanen. Mekalasi Oy,11

Heikkilä, T. 2014. Tilastollinen tutkimus. 9. painos. Porvoo : Edita Publishing Oy. 84, 91, 223.

Holopainen, M. & Pulkkinen, P. 2008. Tilastolliset menetelmät. 5. painos. WSOY Op-pimateriaalit Oy. 89, 229-234, 233-235, 277-278.

Horsti, J. 2007. Lasko – aina suosittu tutkimus. Moodi (2), 70 – 73.

HUSLAB. 2015. Lasko, verestä. Ohjekirja. Luettu 16.5.2016.

<http://huslab.fi/ohjekirja/2203.html>

Jou, M. J., Lewis, S.M., Briggs, C., Lee, S.-H., De La Salle, B. & McFadden, S. 2011. ICSH review of the Measurement of the Erythrocyte Sedimentation Rate. International Journal of Laboratory Hematology. 33, 125 – 132.

Kurkijärvi, R., Vanharanta, R. & Pelliniemi, T.-T. 2009. StaRRsed AutoCompact – las-koanalysointilaitteen koestus. *Kliinlab. Suomen Kliinisen Kemian Yhdistyksen jäsenlehti*. 26 (1), 5 – 11.

Kvantitatiivisen analyysin perusteet. 2007. Virtuaali ammattikorkeakoulu. Oppimateriaali. Luettu 2.5.2016.

<http://www2.amk.fi/digma.fi/www.amk.fi/opintojaksot/0709019/1193463890749/1193464131489/1194289328583/1194289824724.html>

Lewis, S. M. 2006. Miscellaneous tests. Teoksessa Lewis, S. M., Bain, B. J. & Bates, I. Dacie and Lewis Practical Haematology. 10. painos. Philadelphia: Churchill Livingstone. 595 - 607.

Manley, R., W. 1957. The Effect of Room Temperature on Erythrocyte Sedimentation Rate and its Correction. *Journey of Clinical Pathology* (10), 354-356.

McKenzie, S.B., Williams, J.L. & Landis-Piowar, C. 2015. *Clinical Laboratory Hematology*. Harlow : Pearson. 3. painos. 797 - 798.

MIX-rate User's Manual. 2012. Vital Diagnostics.

Monosed® Vacuum Tubes. 2014. Vital Diagnostics. Ohje. Luettu 2.5.2016

<http://tuoteluettelo.mediq.fi/liitteet/d374379/>

Mustajoki, P. & Kaukua, J. 2002. Senkka ja 100 muuta tutkimusta. Helsinki: Kustannus Oy Duodecim. 34-35, 41-42.

Petersen, P.H., Stöckl, D., Blaabjerg, O., Pedersen, B., Birkemose, E., Thienpont, L., Lassen, J.F & Kjeldsen, J. 1997. Graphical interpretation of analytical data from comparison of a field method with a Reference Method by use of difference plots. Artikkel. Luettu 6.5.2016.

<http://www.clinchem.org/content/43/11/2039.long>

Reading Scale USER'S MANUAL. 2008. Vital Diagnostics.

Rodak, B.F., Fritsma, G., A. & Doig, K. 2007. Hematology: Clinical Principles and Applications. St. Louis, Missouri: Elsevier Saunders. 5. painos. 171-174.

Rodak, B.F., Fritsma, G.A. & Keohane, E.M. 2012. Hematology: clinical principles and applications. St. Louis, Mo.: Elsevier Saunders cop. 184 - 186.

Self Test Tool Service MANUAL. 60 mm tube level version. 2010. Vital Diagnostics.

Turgeon, M.L. 2005. Clinical Hematology: theory and procedures. Philadelphia : Lippincott William & Wilkins. 4. painos. 200 - 201, 443 - 444.

Weisstein, E.W. Interpolation. WolframMathWorld. Luettu 6.5.2016.

<http://mathworld.wolfram.com/Interpolation.html>

Westgard, J.O. 2009. The Comparison of Methods Experiment. Oppimateriaali. Luettu 2.5.2016

<http://www.westgard.com/lesson23.htm#8>

LIITTEET

Liite 1. Westergrenin menetelmän ja Mix-Rate® 10 -laskoautomaatin mittaustulokset, lasketut muutosprosentit ja erotukset 1 (2)

Nro	Mix Rate 30 min (mm/h)	Mix Rate 60 min (mm/h)	Westergren 30 min (mm/h)	Westergren 60 min (mm/h)	Lämpötilakorjattu Westergren 30 min (mm/h)	Lämpötilakorjattu Westergren 60 min (mm/h)	Muutosprosentti 30 min, lämpötilakorjattu (%)	Muutosprosentti 60 min, lämpötilakorjattu (%)	Erotus 30 min, lämpötilakorjattu (mm/h)	Erotus 60 min, lämpötilakorjattu (mm/h)
1	2	2	0	2	0	2	-	0,00	2	0
2	10	26	8	30	8	27	25,00	-3,70	2	-1
3	3	4	1	3	1	3	200,00	33,33	2	1
4	3	6	2	7	2	7	50,00	-14,29	1	-1
5	5	9	5	16	5	15	0,00	-40,00	0	-6
6	7	16	5	20	5	18	40,00	-11,11	2	-2
7	5	12	3	12	3	11	66,67	9,09	2	1
8	3	5	2	5	2	5	50,00	0,00	1	0
9	5	13	4	13	4	12	25,00	8,33	1	1
10	5	8	2	8	2	8	150,00	0,00	3	0
11	4	7	2	7	2	7	100,00	0,00	2	0
12	7	22	3	18	3	16	133,33	37,50	4	6
13	4	7	1	4	1	4	300,00	75,00	3	3
14	3	6	2	7	2	7	50,00	-14,29	1	-1
15	5	8	2	9	2	8	150,00	0,00	3	0
16	5	9	3	10	3	9	66,67	0,00	2	0
17	4	7	2	6	2	6	100,00	16,67	2	1
18	3	5	2	5	2	5	50,00	0,00	1	0
19	7	22	3	14	3	13	133,33	69,23	4	9
20	6	14	4	15	4	14	50,00	0,00	2	0
21	3	4	2	4	2	4	50,00	0,00	1	0
22	3	5	2	4	2	4	50,00	25,00	1	1
23	5	11	3	10	3	9	66,67	22,22	2	2
24	3	5	2	4	2	4	50,00	25,00	1	1
25	1	2	1	2	1	2	0,00	0,00	0	0

26	3	4	2	4	2	4	50,00	0,00	1	0
27	5	8	1	6	1	6	400,00	33,33	4	2
28	6	14	4	16	4	15	50,00	-6,67	2	-1
29	5	9	2	8	2	8	150,00	12,50	3	1
30	4	7	3	10	3	9	33,33	-22,22	1	-2
31	7	19	5	21	5	19	40,00	0,00	2	0
32	3	5	2	3	2	3	50,00	66,67	1	2
33	4	7	2	6	2	6	100,00	16,67	2	1
34	2	2	1	2	1	2	100,00	0,00	1	0
35	9	25	5	24	5	21	80,00	19,05	4	4
36	5	12	4	16	4	15	25,00	-20,00	1	-3
37	3	6	2	5	2	5	50,00	20,00	1	1
38	3	5	1	3	1	3	200,00	66,67	2	2
39	3	5	3	5	3	5	0,00	0,00	0	0
40	3	4	2	5	2	5	50,00	-20,00	1	-1
41	3	6	2	5	2	5	50,00	20,00	1	1
42	6	14	3	12	3	11	100,00	27,27	3	3
43	3	4	2	5	2	5	50,00	-20,00	1	-1
44	9	25	9	29	8	26	12,50	-3,85	1	-1
45	5	9	2	7	2	7	150,00	28,57	3	2
46	5	12	3	10	3	9	66,67	33,33	2	3
47	5	12	2	5	2	5	150,00	140,00	3	7
48	3	4	2	5	2	5	50,00	-20,00	1	-1
49	3	5	2	4	2	4	50,00	25,00	1	1
50	4	7	2	6	2	6	100,00	16,67	2	1
51	3	5	2	5	2	5	50,00	0,00	1	0
52	4	7	1	5	1	5	300,00	40,00	3	2
53	2	2	1	3	1	3	100,00	-33,33	1	-1
54	2	3	2	3	2	3	0,00	0,00	0	0
55	5	12	3	14	3	13	66,67	-7,69	2	-1
56	5	10	3	9	3	8	66,67	25,00	2	2
57	6	16	4	15	4	14	50,00	14,29	2	2
58	2	2	1	2	1	2	100,00	0,00	1	0
59	6	13	2	13	2	12	200,00	8,33	4	1

Liite 2. Mix-Rate® 10 -laskoautomaatin kalibroinnin ja toimintatestin viitearvotaulukot

Room temperature (r.t.), näytön yläriivi	
Mittauskanava 2	1 (+/- 0)
Mittauskanava 3	24 (+/- 4)
Mittauskanava 4	93 (+/- 6)
Mittauskanava 5-6	300 (+/- 5)

Referenssilämpötilaan korjatut tulokset (18C), näytön alarivi								
Lämpötila (°C)	< 16.3	16.4	18.8	21.3	23.8	26.3	28.8	> 31.3
Kanava 5-6		18.7	21.2	23.7	26.2	28.7	31.2	
Kanava 2	1 (+/- 0)	1 (+/- 0)	1 (+/- 0)	1 (+/- 0)	1 (+/- 0)	1 (+/- 0)	1 (+/- 0)	1 (+/- 0)
Kanava 3	27 (+/- 4)	24 (+/- 4)	23 (+/- 4)	21 (+/- 4)	19 (+/- 4)	17 (+/- 4)	15 (+/- 4)	15 (+/- 4)
Kanava 4	103 (+/- 6)	96 (+/- 6)	91 (+/- 6)	86 (+/- 6)	81 (+/- 6)	75 (+/- 6)	70 (+/- 6)	70 (+/- 6)

Liite 3. Manleyn lämpötilakorjaustaulukko, taulukko katkaistu 30 mm/h arvosta eteenpäin

ESR	</= 16.3	16.4 - 18.7°C	18.8 - 21.2	21.3 - 23.7	23.8 - 26.2	26.3 - 28.7	28.8 - 31.2	> 31.3
1	2	1	1	1	1	1	1	1
2	3	2	2	2	2	2	2	2
3	4	3	3	3	3	3	3	3
4	5	4	4	4	4	3	3	3
5	6	5	5	5	5	4	3	3
6	7	6	6	6	5	5	4	4
7	8	7	7	7	6	6	5	5
8	9	8	8	8	7	6	5	5
9	10	9	9	8	7	7	6	6
10	11	10	10	9	8	7	6	6
11	12	11	11	10	9	8	7	7
12	13	12	12	11	10	9	8	8
13	14	13	13	12	11	10	8	8
14	15	14	14	13	12	10	9	9
15	16	15	15	14	13	11	10	10
16	17	16	16	15	13	11	10	10
17	19	17	17	15	14	12	11	11
18	20	18	18	16	14	13	11	11
19	21	19	19	17	16	14	12	12
20	22	21	20	18	16	14	13	13
21	24	22	21	19	17	15	13	13
22	24	23	22	20	18	16	14	14
23	25	23	22	20	18	17	15	15
24	27	24	23	21	19	17	15	15
25	28	25	24	22	20	18	16	16
26	29	27	25	23	21	19	17	17
27	30	28	26	24	22	19	17	17
28	31	29	27	25	23	20	18	18
29	32	30	28	26	23	21	19	19
30	33	31	29	27	24	22	19	19

(Reading Scale USER'S MANUAL 2008, 3)