



Tuukka Rahikainen

Virtsan albumiinin ja kreatiniinin suhdelukututkimuksen verifiointi DCA Siemens -laitteelle

Metropolia Ammattikorkeakoulu

Sosiaali- ja terveysalan ammattikorkeakoulututkinto

Bioanalytiikan tutkinto-ohjelma

Opinnäytetyö

14.4.2023

Tekijä	Tuukka Rahikainen
Otsikko	Virtsan albumiinin ja kreatiniinin suhdelukututkimuksen verifiointi DCA Siemens -laitteelle
Sivumäärä	28 sivua
Aika	14.4.2023
Tutkinto	Sosiaali- ja terveysalan ammattikorkeakoulututkinto
Tutkinto-ohjelma	Bioanalytiikan tutkinto-ohjelma
Ohjaajat	Lehtori Merja Ojala Lehtori Kirsi-Marja Kartastenpää
<p>Tämän opinnäytetyön aiheena oli virtsan albumiinin ja kreatiniinin suhdelukututkimuksen (U-Albkre) verifiointi Siemensin valmistamalle DCA Vantage -analyysattorille. Opinnäytetyön toimeksiantajana toimi Metropolia Ammattikorkeakoulu. Aiheen valinnan syy oli se, että koulun tiloissa ei ollut laitetta, jolle U-Albkre -tutkimus olisi verifioituna. Tavoite oli, että tutkimus saataisiin verifioitua asianmukaisesti, jotta tutkimusta voitaisiin tarjota HyMy-kylän asiakkaille sekä myös, että tutkimus voidaan ottaa käyttöön bioanalyttikko-opiskelijoiden koulutuksessa osana kliinisen kemian opintojaksoa.</p> <p>Verifiointi on prosessi, jolla varmistetaan, että laboratoriotesti toimii oikein ja se on tärkeä vaihe sen varmistamisessa, että testitulokset ovat luotettavia ja että tuloksia voidaan käyttää luotettavasti. Verifiointi tehdään aina ennen uuden testin, menetelmän tai välineen käyttöönottoa ja kaikki verifiointin tulokset dokumentoidaan aina verifiointiraporttiin. Verifiointia ohjaa vuonna 2012 laadittu ISO 15189:2012-standardi ja standardi toimiikin jokaisen laboratorion oppaana verifiointiprosessissa.</p> <p>Tutkimus U-Albkre mittaa virtsan albumiinin määrä suhteessa näytteessä olevan kreatiniinin määrään. Tutkimusta käytetään usein seulontatyökaluna munuaisvaurioiden tai -sairauksien havaitsemiseksi, erityisesti niillä ihmisillä, joilla on diagnosoitu diabetes tai korkea verenpaine. Kun munuaiset eivät toimi kunnolla, albumiinia voi vuotaa virtsaan. Tutkimus kertoo siitä kuinka paljon albumiinia menetetään munuaisten kautta. Korkea suhdeluku voi kertoa sen, että munuaiset eivät toimi kunnolla ja tämä voi olla varhainen merkki munuaissairaudesta.</p> <p>Verifiointin yhteydessä arvioitiin DCA Vantage-analyysilaitteen antamien U-Albkre -tulosten sisäistä toistettavuutta sekä sarjojen välisten U-Albkre -tulosten toistettavuuden tarkkuutta. Tämän lisäksi verifiointissa määritettiin potilasnäytteiden U-Albkre -tulokset sekä verifioitavalla laitteella, että referenssilaitteella Cobas 8000 ja arvioitiin näiden tulosten täsmävyyttä.</p> <p>Verifiointin tulosten ja analyttisen laadun perusteella Siemensin DCA Vantage -analyysattorin U-Albkre -menetelmä tuotti erittäin luotettavia ja vertailukelpoisia tuloksia.</p>	
Avainsanat	albumiini, kreatiniini, verifiointi

Author	Tuukka Rahikainen
Title	Verification of the urine albumin to creatinine ratio assay on the DCA Siemens analyzer
Number of Pages	28 pages
Date	14.4.2023
Degree	Bachelor of Health Care
Degree Programme	Biomedical laboratory science
Instructors	Merja Ojala, Lecturer Kirsi-Marja Kartastenpää, Lecturer
<p>The subject of this thesis was the verification of albumin creatinine ratio assay on the DCA Vantage analyzer manufactured by Siemens. The thesis was commissioned by Metropolia University of Applied Sciences. The reason for selecting this topic was the absence of a device in the school premises that had verified U-Albcre assay. The objective was to appropriately verify the study so that it could be offered to the customers of HyMy kylä, and also so that it could be implemented in the training of bioanalytic students as part of the clinical chemistry module.</p> <p>Verification is a process that ensures that a laboratory test is functioning properly, and it is an important step in ensuring that the test results are reliable and can be used with confidence. Verification is always performed prior to the introduction of a new test, method, or instrument, and all verification results are documented in a verification report. The verification process is largely guided by the ISO 15189:2012 standard, which was developed in 2012 and serves as a guide for every laboratory in the verification process.</p> <p>The U-Albcre measures the amount of urine albumin in relation to the amount of creatinine in the sample. The study is often used as a screening tool to detect kidney damage or disease, particularly in individuals diagnosed with diabetes or high blood pressure. When the kidneys are not functioning properly, albumin can leak into the urine. The study indicates how much albumin is lost through the kidneys. A high ratio may indicate that the kidneys are not functioning properly, and this could be an early sign of kidney disease.</p> <p>During verification, the internal repeatability of U-Albcre results provided by the DCA Vantage analyzer was evaluated, as well as the accuracy of U-Albcre results between series. In addition, patient sample U-Albcre results were determined during verification, both on the device being verified and on the reference device Cobas 8000, and the consistency of these results was assessed.</p> <p>Based on the verification results and analytical quality, the U-Albcre method of Siemens DCA Vantage analyzer produced highly reliable and comparable results.</p>	
Keywords	albumin, creatinine, verification

Sisällys

1	Johdanto	1
2	Verifiointi	2
2.1	ISO Standardi 15189	3
2.2	Verifioinnin parametrit	3
3	Munuaisten toiminnan tutkiminen virtsanäytteen avulla	6
3.1	Albumiini	6
3.2	Kreatiniini	7
3.3	Virtsan albumiinin ja kreatiniinin suhde, U-Albkre	8
4	Opinnäytetyön tarkoitus, tavoitteet ja tutkimuskysymykset	9
5	Opinnäytetyön menetelmät	9
5.1	Opinnäytetyön prosessi	9
5.2	Verifiointitulosten tilastollinen analysointi	10
5.3	DCA Vantage-analysaattori	12
5.4	Analysoitavat virtsanäytteet ja kontrollit	14
5.5	Verifioinnin toteuttaminen	15
6	Tulokset	17
6.1	U-Albkre -tulosten toistettavuus	17
6.1.1	Sarjan sisäinen toistettavuus	17
6.1.2	Sarjojen välinen toistettavuus	18
6.2	U-Albkre -tulosten täsmällisyys	19
7	Pohdinta	22
7.1	Tulosten tarkastelu	22
7.2	Luotettavuus	24
7.3	Eettisyys	25
7.4	Johtopäätökset	27
7.5	Kehittämisehdotukset	27
7.6	Ammatillinen kasvu	28
	Lähteet	29

1 Johdanto

Virtsan albumiinin ja kreatiniinin suhdelukututkimusta käytetään muun muassa diabetekseen liittyvän munuaissairauden (nefropatia) ja muiden glomerulusvaurioiden varhaistoteamiseen. Tutkimusta käytetään myös nefroottisen oireyhtymän seurantaan, ortostaattisen proteinurian erottamiseen virtsasta (valkuaisaineita erittyä virtsaan pystyasennossa) sekä verenpainetautiin liittyvän munuaistaudin seulontaan ja seurantaan. Tutkimuksessa mitataan virtsan mukana poistuvan albumiiniproteiinin eritystä suhteutettuna kreatiniinin eritykseen virtsassa. (Eerola 2021.) Albumiini on veren yleisin proteiini ja se on niin sanottu kuljettajaproteiini, joka auttaa hormonien, vitamiinien ja entsyymien kulkeutumista veressä. Terveellä henkilöllä albumiinia ei löydy virtsasta suurissa määrin. (Gurarie 2022.) Kreatiniini on lihasaineenvaihdunnan lopputuotteena syntyvä aine. Kreatiniini muodostuu lihaksissa kreatiinista. Suurin osa elimistössä olevasta kreatiinista on varastoituna lihaksiin ja kaikki kehon ylimääräinen kreatiniini poistuu munuaisten kautta elimistöstä pois. (Mustonen & Wirta 1997.)

Laitteiden verifiointi on tärkeä osa kliinisen laboratorion laaduntarkkailua ja se tulee suorittaa tiettyjen kansainvälisten standardien mukaan. Verifiointilla varmistetaan jo käytössä olevien menetelmien toimivuutta sillä, mikäli menetelmä ei toimi oikein, laboratorio tuottaa aktiivisesti virheellisiä tuloksia. Verifiointin oppaana toimii vuonna 2012 luotu ISO 15189:2012-standardi. Kliinisessä laboratoriotyössä on erityisen tärkeää tietää ja ymmärtää mitä verifiointi tarkoittaa ja miten sitä toteutetaan oikein, jotta pystyy työskentelemään ammattimaisesti laboratorioympäristössä. (Labquality 2020.)

Aiheena tässä opinnäytetyössä oli Siemensin DCA Vantage-vieritestilaitteen virtsan albumiinin ja kreatiniinin suhdelukututkimuksen U-Albcre -tutkimuksen verifiointi. Opinnäytetyön toimeksiantajana toimi Metropolia Ammattikorkeakoulu. Laite oli jo käytössä koululla, mutta U-Albcre -tutkimus oli uusi, eikä sitä ollut vielä verifioitu yhdelläkään koulun analysaattorilla ja tämän takia tutkimus haluttiin verifioida nyt. Opinnäytetyö on tehty kirjalliseen tietoon perustuen ja tieteellisiä artikkeleita hyödyntäen. Tavoite oli parantaa Metropolia Ammattikorkeakoulun laadunvalvontaa sekä laitteiden verifiointin oikeellisuutta. U-Albcre -tutkimus oli myös tarkoitus ottaa mukaan HyMy-kylän toimintaan, jossa tarjotaan laboratoriotutkimuksia asiakkaille. Tätä

toimintaa varten haettiin AVI-lupa ja luvan saamisen edellytyksenä oli, että kaikki asiakkaille tarjottavat laboratoriotutkimukset ovat verifioitu asianmukaisesti. Lisäksi tavoitteena oli, että tulevat bioanalytiikko-opiskelijat saivat uusia kliinisen kemian tutkimuksia laboraatiotunneille.

2 Verifiointi

Validointia ja verifiointia käytetään kliinisessä laboratoriotyöskentelyssä ja ne liittyvät laboratoriotulosten laadunvalvontaan. Validointi ja verifiointi kuvaavat menetelmien luotettavuutta. Nämä kaksi käsitettä ovat muuten hyvin lähellä toisiaan, mutta verifiointi on validointia lyhyempi ja suppeampi prosessi. Verifiointi tarkoittaa prosessia, jolla varmistetaan laboratoriotutkimuksen luotettavuus ja tarkkuus. Verifiointi on tärkeä laboratoriotutkimusten laadunvarmistuksessa ja verifiointin avulla voidaan tunnistaa ja korjata mahdolliset virheet ja puutteet laboratoriotutkimuksissa. (Labquality 2020). Verifiointiprosessiin kuuluu monia eri vaiheita, kuten verifiointisuunnitelman laatiminen, menetelmän validointi, verifiointikokeiden suorittaminen ja tulosten tarkastelu. Verifiointissa on tärkeää tulosten dokumentaatio sekä verifiointia suorittavan henkilön asianmukainen koulutus. Kliinisessä laboratoriotyössä verifiointilla käytännössä tarkoitetaan sitä, että laitteelle varmistetaan nykyisen tunnetun menetelmän toimivuus käyttötarkoitukseensa. Verifiointi tehdään siis jo aiemmin käyttöön otetulla menetelmällä eli verifiointi on käytännössä toimivuuden varmentaminen. Validoinnilla taas varmistetaan tulevan uuden menetelmän toimivuutta ja oikeellisuutta laitteelle. Validoinnissa tulokset tarkistetaan oikeelliseksi vertaamalla tulostasoa kansainväliseen referenssitason. (Theodorsson 2012.)

Kun verifiointisuunnitelma on tehty. Verifiointin voi käytännössä toteuttaa analysoimalla asianmukainen määrä potilasnäytteitä ja sen jälkeen niiden tuloksia verrataan käytössä olevan menetelmän tulostasoon. Verifiointisuunnitelmaan tulee dokumentoida verifiointin kohde, tavoite, suorituspaikka, laajuus, laitteet, vastuuhenkilöt, näyteaineisto, tavoiteaikataulu, verifiointin parametrit sekä laatutavoitteet. (Hägg 2016: 9–15.)

2.1 ISO Standardi 15189

Kaikkien kliinisten laboratorioiden validointia ja verifiointia ohjaa ISO 15189:2012-standardi. ISO-standardi ei kuitenkaan anna selkeitä ohjeita ja numeroita laboratorioille verifiointia varten, vaan tarkoitus on antaa opas, joka tukee ja kehittää laboratoriohenkilökunnan ammatillista harkintaa ja päätöksentekokykyä. Standardin ohjeita siis sovelletaan laboratorion resurssien mukaan niin, että siinä otetaan huomioon henkilöstö, laboratoriotilat, laboratoriolaitteet, laboratoriovälineet, reagenssit ja tarvikkeet. (Roelofsen-de Beer ym. 2019.)

2.2 Verifiointin parametrit

Validoinnin suunnittelun ohjeen mukaan kliinisen kemian alalla on käytössä useita termejä ja käsitteitä, jotka liittyvät validointi ja verifiointi prosessiin. Nämä käsitteet ovat havaitsemisraja, lineaarisuus, oikeellisuus, stabiilisuus, uusittavuus, toistettavuus ja täsmällisyys. Verifiointin aikana käytettävät parametrit määritellään kohteen mukaan, jota verifioidaan. (Hägg 2016: 13.)

Havaitsemisraja tarkoittaa pienintä määrää, jonka mittauslaitteella tai analyysimenetelmällä voidaan luotettavasti havaita. Sitä käytetään mittausmenetelmän herkkyyden ja tarkkuuden arviointiin sekä varmistamaan, että näyte sisältää riittävästi ainetta luotettavan tuloksen saamiseksi. (Armbruster & Pry 2008.)

Täsmällisyys tarkoittaa sitä, että tuloksista saadaan samat arvot referenssimenetelmän arvojen kanssa eli verrataan tulostasoa potilasnäytteillä referenssimenetelmän kanssa. Lyhyesti selitettynä täsmällisyys tai mittauksen täsmävyys tarkoittaa sitä, kuinka lähellä oikeaa arvoa saatu tulokset ovat tutkittaessa samankaltaisia kohteita hyvin määritellyissä olosuhteissa. (Hiltunen ym. 2011: 63.)

Uusittavuus eli tulosten välinen pysyvyys eli se, että sama koe tai mittaus voidaan toistaa useita kertoja samalla menetelmällä saaden samanlaiset tulokset (Diaba-Nuhoho & Amponsah-Offeh 2021).

Jotta saadaan selville, kuinka laadukkaasti verifiointi on onnistunut, pitää saatuja tuloksia analysoida tietyn tilastomatemattisin keinoin. Tuloksista määritetään

esimerkiksi keskiarvo (\bar{x}), keskihajonta (S), variaatiokerroin (CV%), eroprosentti (ero%) ja korrelaatiokerroin. Näiden parametrien tulokset ovat niitä lukuja, joiden perusteella arvioidaan menetelmän toimivuutta. (Holopainen & Pulkkinen 2008: 46.)

Keskiarvo (\bar{x}) on keskiluvuista kaikkein tavallisin arvo. Keskiarvo on lukujen summa jaettuna niiden lukumäärällä. Mediaani tarkoittaa suuruusjärjestykseen järjestettyjen lukujen keskimäistä arvoa. (Keskiarvo 2020.)

Keskihajonta (S) eli lukujen välinen hajonta kertoo, siitä kuinka kaukana keskiarvosta aineiston arvot keskimäärin ovat. Keskihajonta on tärkein hajontaa kuvaava luku. Keskihajonta saadaan laskemalla varianssista neliöjuuri. (Keskihajonta 2020). Varianssi on hajontaa kuvaava parametri, joka ilmoittaa miten suurina keskimäärin ovat neliöidyt poikkeamat keskiarvosta (Varianssi 2020).

Variaatiokerroin (CV%) eli lukujen välinen tasoero kertoo siitä, kuinka iso hajonta lukujen välillä on suhteutuna keskiarvoon. Variaatiokerroin lasketaan kaavalla $100 \times \text{keskihajonta} : \text{keskiarvo}$. (Variaatiokerroin 2020.)

Eroprosentti (ero%) kuvaa kahden eri luvun välillä olevaa prosentuaalista erotusta. Se lasketaan jakamalla erotuksen suuruus alkuperäisen arvon kanssa ja kertomalla tulos sitten sadalla. (Kenton 2022).

Korrelaatio mittaa kahden luvun riippuvuutta toisistaan. Korrelaatiota voi mitata Pearsonin tulomomenttikorrelaatiokertoimella ja Spearmanin tai Kendallin järjestyskorrelaatiokertoimella. Pearsonin korrelaatiokertoimella mitataan vain lineaarisista yhteyttä. Spearmanin ja Kendallin korrelaatiokerroin lasketaan vain järjestysasteikoisille muuttujille. (Korrelaatio 2020.) Pearsonin korrelaatiokertoimen arvo voi vaihdella -1:n ja +1:n välillä. Jos korrelaatiokerroin on 0, muuttujien välillä ei ole minkäänlaista lineaarisista riippuvuutta. Silloin kun tulos on -1, muuttujien välillä on täydellinen negatiivinen riippuvuus. Kun korrelaatiokerroin on +1, on muuttujien välillä täydellinen positiivinen riippuvuus. (Korrelaatio ja riippuvuusluvut 2004.)

Regressiosuora on matemaattinen malli lineaarisessa regressioanalyysissä, joka pyrkii selvittämään kahden muuttujan välisen lineaarisen yhteyden luonnetta. Lineaarinen Regressioanalyysi käyttää regressiosuoraa ennustamaan yhden muuttujan arvoa

toisen muuttujan perusteella, mikä tekee siitä arvokkaan työkalun monissa tieteellisissä tutkimuksissa ja käytännön sovelluksissa. Regressiosuora esitetään yleensä suorana linjana kahden muuttujan koordinaatistossa, joka osoittaa niiden välisen lineaarisen yhteyden suuntaa ja voimakkuutta. Se ilmaisee myös, miten yhden muuttujan arvon muutos vaikuttaa toisen muuttujan arvoon, ja päinvastoin. (Regressioanalyysi 2020).

Alla olevassa taulukossa (taulukko 1.) on selitetty keskeisiä käsitteitä koskien verifiointin laatua.

Taulukko 1. Keskeiset käsitteet.

Käsite	Selitys
Lineaarisuus	Mittausmenetelmän suora suhde mitattavan aineen pitoisuuteen. Varmistaa mittausmenetelmän tarkkuuden ja luotettavuuden eri pitoisuusalueilla. Lineaarisuutta voidaan arvioida mittausmenetelmän kalibrointikäyrän avulla. (Ephstein 2019.)
Oikeellisuus	Mittausmenetelmän kyky antaa tarkkoja tuloksia. Sitä voidaan arvioida vertaamalla referenssi- tai standardimenetelmiin. Oikeellisuus ilmaistaan suhteellisena poikkeamana prosentteina (%). (Hägg 2016: 23-25.)
Stabiilius	Menetelmän kyky säilyttää suorituskykynsä tiettyjen olosuhteiden vallitessa. Sen avulla pyritään varmistamaan menetelmien luotettavuus ja tarkkojen tulosten tuottaminen. (Pum 2019: 1-2.)
Toistettavuus	Yhtenevien tulosten saaminen samassa ympäristössä lyhyellä aikavälillä. Sitä arvioidaan käyttämällä erilaisia näytteitä ja tarkistamalla sisäinen vaihtelu. Toistettavuus kuvaa mittauksen toistuvuutta. (Hiltunen ym. 2011: 19–20.)

3 Munuaisten toiminnan tutkiminen virtsanäytteen avulla

3.1 Albumiini

Albumiinia ei normaalisti esiinny virtsassa, vaan sitä löytyy veriplasmasta ja se on yleisin veren proteiini. Albumiini on ns. kuljettajaproteiini, joka helpottaa hormonien, vitamiinien ja entsyymien kuljetusta veressä. Maksassa tuotetaan albumiinia, joka siirtyy suoraan verenkiertoon. Jos virtsassa esiintyy suuria määriä albumiinia, se voi olla merkki terveysongelmasta (Gurarie 2022).

Albuminuria on merkki munuaisten vauriosta, joka ilmenee lisääntyneenä määränä virtsassa olevaa albumiinia. Tämä tila on yleinen oire diabeteksen, verenpainetaudin, munuaissairauksien, munuaisvaurion, sydämen vajaatoiminnan, virtsatieinfektion, kuumeisen tulehdussairauksien ja verivirtsaisuuden yhteydessä. Nefropatia on käsite, joka kuvaa munuaisten vauriota. Nefropatia voi johtua monista eri syistä, kuten diabeteksestä, verenpainetaudista, tulehduksista, autoimmuunisairauksista ja lääkkeistä. Albuminuria voidaan mitata useilla eri tutkimuksilla, kuten virtsan albumiinipitoisuuden tai albumiinin ja kreatiniinin suhteen mittaamisella virtsassa. Albuminuria on merkittävä riskitekijä sydän- ja verisuonitautien kehittymiselle ja kuolleisuudelle. Tämän vuoksi albuminurian tunnistaminen ja hoito voivat auttaa merkittävästi vähentämään sydän- ja verisuonitautien riskiä. Albuminurian tutkiminen albumiinin ja kreatiniinin suhdeluvun mittaamisella on edullinen ja helppo testi, joka voidaan sisällyttää rutiininomaisesti terveydenhuoltoon. Testin avulla voidaan tunnistaa potilaat, joilla on kohonnut riski sairastua sydän- ja verisuonitauteihin. Nefropatian ajoissa tapahtuva tunnistaminen ja hoito voivat edistää munuaisten toimintakyvyn heikkenemisen hidastumista sekä komplikaatioiden riskin vähenemistä. (Mok ym. 2019.) Nefropatian diagnosointi voidaan suorittaa mittaamalla erilaisten aineiden pitoisuuksia verenkierrossa, kuten urean typpipitoisuutta ja seerumin kreatiinipitoisuutta, joiden korkea arvo on havaittavissa munuaissairauksia sairastavilla. Tämä johtuu siitä, että munuaiset ovat vastuussa ylimääräisen urean ja kreatiniinin poistamisesta verenkierrosta. Munuaisten toimintahäiriö voi vaikuttaa siihen, että urean typpipitoisuus ja kreatiinipitoisuus kohoavat verenkierrossa. (Hosten 1990.)

Diabeetikoilla albuminuria osoittaa herkästi nefropatian esiintymistä. Tarkka virtsan albumiinipitoisuuden mittaaminen voidaan suorittaa ajastetun yökeräysnäytteen tai 24 tunnin keräysnäytteen avulla. (Eerola 2021.) Diabeetikon albuminuralöydös on yksinäänkin merkki mahdollisesti tulevasta tai jo olevasta sydän- ja verisuonisairaudesta. Albuminuria voi pitkällä aikavälillä ilman hoitoa lisätä verisuonitautikuoleman riskiä ja voi pahimmassa tapauksessa olla kuolemaan johtava syy. (Mattix 2002.) Albuminuriaa tulee seuloa vuosittain tyypin 1 diabeetikoilta taudin kestätyä yli viisi vuotta ja tyypin 2 diabeetikoilta heti taudin toteamisen jälkeen. Seuranta suoritetaan, jotta saadaan selville munuaisten toiminnan tila, ja vaste annetulle hoidolle. (Metsärinne ym. 2008.)

Ajastetussa yökeräysnäytteessä (cU-Alb) virtsan albumiinimäärä on normaalisti < 20 µg/min. Jos virtsan albumiinimäärä yökeräysnäytteessä on 20–200 µg/min, tarkoittaa se lisääntyneitä albuminuriaa. Albuminuria on selvästi lisääntynyt, jos virtsan albumiinimäärä yökeräysnäytteessä on > 200 µg/min.

Vuorokausikeräysvirtsanäytteessä (dU-Alb) albumiinimäärä on normaalisti < 30 mg/vrk. Jos virtsan albumiinimäärä vuorokausikeräysvirtsanäytteessä on 30–300 mg/vrk, on kyse lisääntyneestä albuminuriasta. Albuminuria on selvästi lisääntynyt, jos virtsan albumiinimäärä vuorokausikeräysvirtsanäytteessä on > 300 mg/vrk. (Metsärinne & Meinander & Mäkelä & Niskanen 2020.)

3.2 Kreatiniini

Kreatiniini on lihaksissa lihasaineenvaihdunnan avulla kreatiinista syntyvä aine. Yli 98 % kaikesta elimistössä olevasta kreatiinista on varastoituna lihaksiin. Kreatiniini poistuu munuaisten glomerulusten eli hiussuonikerästen kautta eikä se imeydy terveellä ihmisellä takaisin munuaistiehyissä. Plasman kreatiinipitoisuutta käytetään glomerulusfiltraation (GFR) mittarina. (Mustonen ja Wirta 1997.) Glomerulusfiltraatio kertoo munuaisten glomerulusten eli hiussuonikerästen suodatusnopeudesta. Se kertoo siis, kuinka hyvin munuaiset pystyvät puhdistamaan verta eli poistamaan ylimääräisen veden ja aineet, joita elimistö ei tarvitse tai pysty enää hyödyntämään. (Tillement & Tremblay 2007.) Seerumin kreatiinipitoisuus heijastaa munuaisten toimintaa ja se on tärkeä mittari munuaisten vajaatoiminnan diagnosoinnissa ja seurannassa. Normaalit seerumin kreatiinipitoisuudet vaihtelevat iän, sukupuolen ja lihasmassan mukaan. Yleensä miehillä on korkeammat kreatiinipitoisuudet kuin

naisilla, ja vanhemmilla ihmisillä kreatiniinipitoisuus voi olla matalampi. Seerumin korkea kreatiniinipitoisuus voi viitata munuaisten vajaatoimintaan tai muihin sairauksiin, jotka vaikuttavat lihaksiin. Matala kreatiniinipitoisuus voi puolestaan johtua esimerkiksi vähäisestä lihaskerroksesta tai heikentyneestä lihasmassasta. (Hosten 1990.) Normaali seerumin kreatiniinipitoisuus on miehillä, alkaen 18-vuotiaasta 60 - 100 $\mu\text{mol/l}$ ja naisilla, alkaen 18-vuotiaasta 50 - 90 $\mu\text{mol/l}$. (Huslab 2020.)

Kreatiniinia voi mitata virtsasta ja veren plasmasta tai veren seerumista. Usein arvo mitataan virtsasta ihmisiltä, joilla on jo jokin todettu munuaissairaus tai epäillään munuaissairautta. Virtsan kreatiniinin viitearvot ovat: Miehillä 18 v tai yli 2,3–23,5 mmol/l ja naisilla 18 v tai yli 1,7–19,4 mmol/l. (Huslab 2020.)

3.3 Virtsan albumiinin ja kreatiniinin suhde, U-AlbKre

Virtsan albumiinin ja kreatiniinin suhde virtsasta on tutkimus, jota käytetään diabetekseen liittyvän munuaissairauden (nefropatia) ja muiden glomerulusvaurioiden varhaistoteamiseen ja seurantaan (nefroottinen oireyhtymä), ortostaattisen proteinurian erottamiseen virtsasta (pystyasennon valkuaisaineen virtsassa), sekä verenpainetautiin liittyvän munuaistaudin seulontaan ja seurantaan (Eerola 2021). U-AlbKre - tutkimuksessa mitataan siis virtsaan erittyvän proteiinin (albumiinin) suhdetta kreatiniiniin. Syy tähän on kreatiniinin erikoisuus siinä, että sitä erittyy usein hyvin vakio-pitoisuutena kehosta virtsan mukana ja sen takia sillä voi laskennallisesti määrittää munuaisten toimintaa ja suhteuttaa esimerkiksi albumiinineritykseen. Tutkimuksella saadaan selville siis proteiinin menetyksen määrä. (Kasi 2021.)

Diagnosoinnin kannalta näytteeksi suositellaan aamuvirtsanäytteestä mitattua tulosta, koska se on luotettavampi ja suositeltavampi sillä se sulkee pois fyysiseen rasitukseen liittyvät sekä ortostaattisen proteinuriaan liittyvät virheelliset tulokset. Näyte otetaan keskivirtsanäytteenä. (Huslab 2022.)

Kertavirtsanäytteessä (U-AlbKre) virtsan albumiinimäärä on normaalisti < 3 mg/mmol. Jos virtsan albumiinimäärä kertavirtsanäytteessä on 3–30 mg/mmol, tarkoittaa se lisääntyntä albuminuriaa. Albuminuria on selvästi lisääntynyt, jos virtsan albumiinimäärä yökeräysnäytteessä on > 30 mg/mmol. Albuminuria on nefroositasoista

jos, virtsan albumiinimäärä yökeräysnäytteessä on yli 220 mg/mmol. (Metsärinne & Meinander & Mäkelä & Niskanen 2020.)

4 Opinnäytetyön tarkoitus, tavoitteet ja tutkimuskysymykset

Opinnäytetyön tarkoitus oli verifioida virtsan albumiinin ja kreatiniinin suhdetta mittaava U-Albcre -tutkimus Siemensin DCA Vantage-laitteelle, joka on jo käytössä oleva laite Metropolia Ammattikorkeakoulun biokemian laboratoriossa. Laadunvalvonnan ylläpitämiseksi uusi tutkimus piti verifioida.

U-Albcre -tutkimus on tarkoitus ottaa mukaan HyMy-kylän toimintaan, jossa tarjotaan laboratoriotutkimuksia asiakkaille. Tätä toimintaa varten haetaan AVI-lupa ja luvan saamisen edellytyksenä on, että kaikki asiakkaille tarjottavat laboratoriotutkimukset on verifioitu asianmukaisesti. Tavoitteena oli, että U-Albcre -tutkimus saatiin verifioitua asianmukaisesti, jotta tutkimusta voidaan tarjota HyMy-kylän asiakkaille. Tavoitteena oli myös, että tutkimus voidaan ottaa käyttöön Metropolia Ammattikorkeakoulun bioanalytikko-opiskelijoiden koulutuksessa osana kliinisen kemian opintojaksoa.

Opinnäytetyön tutkimuskysymykset olivat:

1. Millaisia U-Albcre -tuloksia Siemensin DCA Vantage -laitteella saadaan verrattuna referenssilaitteen Cobas 8000:n antamiin tuloksiin?
2. Ovatko Siemensin DCA Vantage -laitteen antamat U-Albcre -tulokset toistettavia?

5 Opinnäytetyön menetelmät

5.1 Opinnäytetyön prosessi

Tämä opinnäytetyö oli kvantitatiivinen tutkimus, joka pyrkii vastaamaan kysymyksiin mikä, missä, kuinka usein ja kuinka paljon. Tämän kvantitatiivisen tutkimuksen tulosten tulkittamiseen käytettiin hyväksi erilaisia mittaussparametrejä, joissa hyödynnetään numeerisia tuloksia. (Holopainen & Pulkkinen 2008: 20–21.)

Opinnäytetyön aikataulu eteni niin, että opinnäytetyön aloitusinfo pidettiin 24.3.2022. Aihe hyväksyttiin 23.8.2022. Opinnäytetyön suunnitelmaa kirjoitettiin 28.8.2022 – 29.9.2022. Suunnitelma hyväksyttiin 1.2.2023. Opinnäytetyön toteutukseen tarvittavat tarvikkeet, välineet sekä näytteet toimitettiin koululle 2023 vuoden puolella ja toteutus tehtiin koululla 20.2.2023 – 24.2.2023 välisenä aikana. Opinnäytetyön raportti palautettiin 31.3.2023. Tutkimus haluttiin käyttöön, koska tarkoitus oli hyödyntää laitteen uutta verifioitua tutkimusta kliinisen kemian opintojaksolla sekä HyMy-kylän toiminnassa. Laite sijaitsee Metropolia Ammattikorkeakoulun Myllypuron kampuksen tiloissa.

5.2 Verifiointitulosten tilastollinen analysointi

Kyseessä oli kvantitatiivinen ja vertaileva menetelmätutkimus, sillä tutkimuksessa vertailtiin kahta eri analyysilaitetta suhdeluvun numeeristen tulosten tuottamisessa. Tässä opinnäytetyössä aineisto analysoitiin siis tilastomatemattisin keinoin. Tuloksista laskettiin tulosten keskiarvo (\bar{x}), keskihajonta (S), variaatiokerroin (CV%), eroprosentti (ero%) ja korrelaatiokerroin. Näiden tulosten avulla arvioitiin menetelmän luotettavuutta.

Keskiarvon laskukaava:
$$(\bar{x}) = \frac{\sum x}{n}$$

Keskihajonnan laskukaava:
$$S = \frac{\sqrt{\sum (x - \bar{x})^2}}{n - 1}$$

Variaatiokertoimen laskukaava:
$$cv\% = \frac{s}{\bar{x}} \times 100$$

Toistettavuutta voidaan arvioida käyttämällä variaatiokertoimen (CV) mittaria. Sarjan sisäinen toistuvuus mittaa menetelmän toistettavuutta mittaussarjan sisällä. Toisaalta sarjojen välisen toistettavuuden mittaus arvioi menetelmän toistettavuutta, kun testi suoritetaan eri päivinä, käyttäen eri laitteita, eri tarvikkeita tai eri henkilöitä. (Hägg 2016: 31).

Korrelaatio mittaa kahden luvun riippuvuutta. Pearsonin korrelaatiokerroin mittaa lineaarista yhteyttä, kun taas Spearmanin ja Kendallin korrelaatiokerroin lasketaan vain

järjestysasteikoisille muuttujille. Pearsonin korrelaatiokertoimen arvo vaihtelee $-1:n$ ja $+1:n$ välillä. 0 tarkoittaa, että muuttujien välillä ei ole lineaarista riippuvuutta, -1 täydellistä negatiivista riippuvuutta ja $+1$ täydellistä positiivista riippuvuutta. (Korrelaatio ja riippuvuusluvut 2004).

Regressiosuora on lineaarisen regressioanalyysin matemaattinen malli, jolla pyritään havainnollistamaan kahden muuttujan välisen lineaarisen yhteyden luonnetta. Regressiosuora ilmaisee, miten yhden muuttujan arvon muutos vaikuttaa toisen muuttujan arvoon, ja päinvastoin. (Regressioanalyysi 2020).

Verifioinnin luotettavuuden apuna kahden menetelmän vertailua suoritettiin Passing-Bablok-regressioanalyysin, Bland-Altman-menetelmän sekä korrelaatiokertoimen avulla. Passing-Bablok -regressioanalyysi on non-parametrinen tilastollinen menetelmä, jota voidaan hyödyntää sellaisten lukujen regressiosuoran piirtämiseen, joiden jakauma ei noudattele normaalijakaumaa. Tämä menetelmä ei ota voimakkaasti poikkeavia yksittäisiä lukuja huomioon ja siksi se antaa paremman arvion mahdollisesta regressiosta. (Bilić-Zulle L. 2011). Bland-Altman-analyysi on suunniteltu arvioimaan kahden saman ominaisuuden mittauksen menetelmien välien yhtenevyyden tasoa (Giavarina 2015). Passing-Bablok -regressioanalyysin kuvaaja sekä Bland-Altman -analyysin kuvaaja suoritettiin molemmat Microsoft Excel-sovelluksella.

5.3 DCA Vantage-analysaattori

Siemensin DCA Vantage on kompakti vieritestilaite, joka on suunniteltu erityisesti diabetekseen ja munuaissairauksiin liittyvien tutkimusten suorittamiseen (Kuva 1). Laitteella on kyky suorittaa B-HbA1c-tutkimus ihopistosnäytteestä, ja se mahdollistaa albumiinin ja kreatiniinin määrittämisen virtsasta sekä näiden suhdelukututkimuksen. Tärkeä etu laitteessa on sen helppokäyttöisyys ja nopeus, sillä se ei vaadi näytteiden tai reagenssien esikäsittelyä ennen analysointia. Virtsanäytettä albumiinin ja kreatiniininsuhdelukututkimukseen tarvitaan vähintään 40 µl. (Siemens Healthineers).

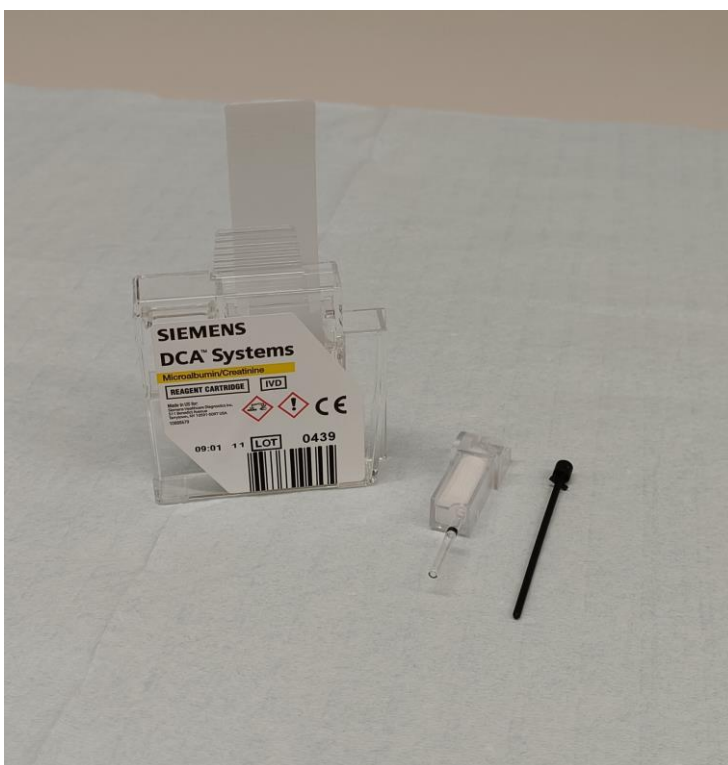


KUVA 1. DCA Vantage-analysaattori (Rahikainen 2023).

Albumiinin määrittäminen U-Albcre -tutkimuksessa on akkreditoitu fotometrinen immunokemiallinen menetelmä (Huslab 2022). Menetelmä perustuu siihen, että vuohen polyklonaaliset ihmisen albumiinia vastaan olevat vasta-aineet sitoutuvat ihmisen albumiiniin. Tällöin muodostuu kompleksi, joka aiheuttaa sameutta. Sameutta voidaan mitata fotometrisesti aallonpituudella 531 nm (ThermoFisher). Kreatiniinin määrittäminen U-Albcre -tutkimuksessa on fotometrinen entsyymaattinen

menetelmä (Huslab 2022). Menetelmä perustuu Benedict Behren kemialliseen reaktioon, jossa virtsassa oleva kreatiniini reagoi DNBA:n (3,5-dinitrobensoehappo) kanssa emäksisessä liuoksessa. Reaktiossa muodostuu violetinvärinen kompleksi, joka mitataan aallonpituudella 531 nm. (Stevens, Tsang, Newall 1983.) Molempia aineita mitataan fotometrisesti analysaattorin sisällä. Fotometrinen mittaamenetelmä hyödyntää valon läpäisevyyttä (transmittanssia) tai imeytymistä (absorptiota) väliaineessa, ja mittaus perustuu näytteen läpäisseen valon voimakkuuteen, joka kertoo mitattavan aineen pitoisuuden. (McCluney 2003.) Siemensin DCA Vantage -laite käyttää näitä menetelmäperiaatteita albumiinin ja kreatiniinin mittaamisessa virtsasta (Siemens Healthineers).

Tutkimuksen suorittamisessa DCA Vantage -analysaattorilla tarvitaan mikroalbumiini/kreatiniini-kasettia, kapillaaripidikettä, mäntää ja selluvanua (Kuva 2). Kasetissa on kaikki tarvittavat reagenssit mittausta varten. Kun 40 µl virtsaa on lisätty kapillaaripidikkeessä kasettiin ja kasetti on laitettu laitteen lokeroon, tulos valmistuu noin seitsemässä minuutissa. Analysaattori käyttää Siemensin valmistamia



Microalbumin/Creatinine Reagent Kit -nimisiä kasetteja, joiden kaikkien pakettien LOT-numero oli 0439. Kasetti säilytetään 2–8 °C lämpötilassa. (Siemens Healthineers.)

KUVA 2. Mikroalbumiini/kreatiniinikasetti, kapillaaripidike ja mäntä (Rahikainen 2023).

Ennen analysoinnin aloittamista kasetti tulee ottaa huoneenlämpöön ja antaa lämmitä avaamattomina 15 minuutin ajan. Kasetin lämmitettyä sen sai avata ja kasetti tuli käyttää 10 minuutin kuluttua avaamisesta. Virtsanäytteiden analysointi alkaa käynnistämällä analysaattori ja antamalla sen lämmitä 5 minuuttia. Samalla tarvittavat välineet kapillaaripidike, mäntä, selluvanau ja kasetti otettiin esille. Kapillaaripidikkeen kärki upotettiin virtsanäytteeseen, ja odotettiin kunnes 40 µl virtsaa oli imeytynyt kapillaariin. Ylimääräinen virtsa pyyhittiin selluvanulla pois. Tämän jälkeen kapillaaripidike laitettiin kasetissa olevaan koloon, ja kasetti skannattiin laitteen viivakoodinlukijalla. Laitteen antaessa ohjeen avata kansi ja asettaa kasetti lokeroon, mäntä asetettiin kapillaaripidikkeen koloon, painettiin pohjaan ja vedettiin kasetissa oleva muovinpala rauhallisesti irti. (Siemens Healthineers.) Mittaus alkaa itsestään heti luukun sulkemisen jälkeen (Kuva 3).



KUVA 3. Mikroalbumiini/kreatiniini-kasetin laittaminen lokeroon (Rahikainen 2023).

5.4 Analysoitavat virtsanäytteet ja kontrollit

Verifointi suoritettiin käyttäen 20 kappaletta eritasoista virtsanäytettä. Näytteet oli otettu säilöntäaineettomiin virtsanäyteputkiin ja näytteitä säilytettiin verifointiin asti pakastettuina. Näytteet oli kerätty kahdeltakymmeneltä eri potilaalta ja näytteet oli merkitty anonyymisti eli potilaiden henkilötiedot oli korvattu numeroin. Virtsanäytteiden tulokset vaihtelivat 0,4 – 256,9 mg/mmol välillä ja näytterepervertuaari kattoi verifioitavan

menetelmän mittausalueen kokonaan. Näytteet saatiin referenssilaboratoriosta, jossa näytteet oli analysoitu kertaalleen. DCA Vantage-laitteen mittausalue U-Albkre tutkimuksessa on albumiini: 5 - 300 mg/l, kreatiniini: 15-500 mg/dl (1,3 - 44,2 mmol/l) ja albumiini ja kreatiniinisuhde: 1 - 2000 mg/g (0,11 - 226 mg/mmol) (Siemens Healthineers). Näytteet kattoivat analysaattorin mittausalueen lähestulkoon kokonaan. Matalimman näytteen tulos oli 0,4 mg/mmol ja matalin mitattava arvo oli 0,11 mg/mmol. Korkeimman näytteen tulos oli 256,8 mg/mmol ja korkein mitattava arvo oli 226 mg/mmol. Matalin näyte olisi voinut olla vielä lähempänä mittausalueen alarajaa, sillä nyt mittausalueesta jäi 0,29 mg/mmol väli mittaamatta.

Ennen verifiointia näytteet sulatettiin huoneenlämmössä. Tämän jälkeen näytteet sentrifugoitiin ja sitten näytteet analysoitiin. Kaikki potilasnäytteet olivat joko kirkkaita tai hieman kellertäviä. Näytteiden ulkonäössä ei ollut pääosin mitään poikkeavaa. Osaan näytteistä oli kuitenkin kertynyt sakkua pohjalle pieniä määriä. Sarjan välistä toistettavuutta suorittaessa näytteet säilytettiin välipäivinä jääkaappilämpötilassa. Aina ennen analysointia näytteiden annettiin lämmitä huoneenlämpöiseksi ja ne myös sentrifugoitiin ennen analysointia.

Verifioinnin laaduntarkkailussa käytettiin DCA Siemensin omia Microalbumin/Creatinine Low and High Control Kit kaupallisia kontrolleja, joissa oli valmiiksi tiedetty määrä humaaniperäistä, albumiinia ja kreatiniinia. Kontrollien LOT-numero oli 0439. Low kontrollin albumiinipitoisuus oli 24,8 – 37,2 mg/l, kreatiniinin 81,6 – 122 mg/dl ja albumiinin ja kreatiniinisuhdeluvun 7,2 – 10,8 mmol/l. High kontrollin albumiinipitoisuus oli 170 – 254 mg/l, kreatiniinin 326 – 488 mg/dl ja albumiinin ja kreatiniininsuhdeluvun 28,8 – 43,2 mmol/l.

Kontrollinäytteet valmistettiin kaatamalla pakkauksen mukana tullut ionivaihdettu vesi kontrollipulloon. Veden lisäyksen jälkeen pulloa käännettiin rauhallisesti, kunnes näyte oli silmännähdän homogeenistä. Kontrollinäyte oli heti liuottamisen jälkeen käyttökelpoinen ja se säilyy käyttökelpoisena 2–8 °C lämpötilassa 3 kuukautta.

5.5 Verifioinnin toteuttaminen

Ennen verifioinnin toteuttamista laadittiin sopimus koulun ja verifioinnin toteuttajan välillä. Varsinainen verifiointiprosessi päästiin aloittamaan sopimuksen jälkeen ja se

käynnistyi helmikuussa 2023 kun tarvittavat välineet sekä näytteet olivat toimitettu Metropolia Ammattikorkeakoulun tiloihin. Verifiointin tavoitteena oli verifioida virtsan albumiinin ja kreatiniininsuhdelukumenetelmä DCA Vantage-analysaattorille Metropolia Ammattikorkeakoulun Myllypuron kampuksella. Verifiointia suorittaessa apuna käytettiin Metropolia Ammattikorkeakoulun omaa verifiointisuunnitelmapohjaa. Kerätyt virtsanäytteet pakastettiin ja sulatettiin ennen analysointia. Ennen verifiointiprosessia analysaattorin toimivuus varmistettiin käyttämällä DCA Siemensin omia Microalbumin/Creatinine Low and High Control Kit kaupallisia kontrolleja, jotka pitivät valmistaa ennen käyttöönottoa. Kontrollitulokset tarkistettiin, jotta voitiin varmistaa, että saadut tulokset ovat linjassa kontrollierän tavoiterajojen kanssa. Kontrollit analysoitiin kahdessa eri tasossa; matalassa ja korkeassa. Matalan kontrollitason albumiinin ja kreatiniininsuhdeluvun tavoiterajat olivat 7,2 – 10,8 mmol/l ja korkean kontrollitason tavoiterajat olivat 28,8 – 43,2 mmol/l. Kontrollinäytteiden jälkeen analysoitiin varsinaiset potilasnäytteet.

Tässä tutkimuksessa virtsan albumiinin ja kreatiniinin suhdelukumenetelmän verifiointissa sarjan sisäinen toistettavuus todennettiin niin, että näytteenä käytettiin tulostasoltaan yhtä matalaa ja yhtä korkeaa virtsanäytettä. Nämä molemmat näytteet ajettiin 5 kertaa peräkkäin, minkä jälkeen tuloksista arvioitiin toistuvuutta (CVsis%) ja verrattiin valmistajan annettuun laatutavoitteeseen, joka oli 10,00 % (CV%). Sarjojen välinen toistuvuus todennettiin niin, että näytteenä toimi kolme eri tasoista näytettä, yksi normaali, yksi matala ja yksi korkea. Kaikki kolme näytettä ajettiin kerran viitenä peräkkäisenä päivänä. Tuloksista arvioitiin toistuvuutta (CVväl%) ja verrattiin valmistajan ilmoittamaan tulostasoon, joka oli 10,00 % (CV%). Analysaattorien väliset tulostarkkuudet potilasnäytteillä suoritettiin niin, että kaikki 20 potilasnäytettä ajettiin peräkkäin ja referenssilaitteesta saaduista tuloksista ja Siemensin DCA Vantage -laitteella saaduista tuloksista. DCA Vantage-laitteen tuloksia verrattiin referenssilaitteella saatuihin tuloksiin. Potilasnäytevertailun pienin/suurin sallittu ero% saatiin Labqualityn ulkoisen laadunarvioinnin tavoiteväliin, joka oli ± 20 % (Labquality 2023).

Tulosten ja aineiston analyysissä suoritettiin verifiointi käyttäen Microsoft Excel - taulukointiohjelmaa. Analyysistä saadut kontrollitulokset ja 20 potilasnäytteiden tulokset kirjattiin Excel-taulukkoon. Tulostaulukoista saatiin selville näytteiden keskiarvo, keskihajonta, variaatiokerroin ja lineaarisuus sekä korrelaatiokerroin laskettiin ja

tulkittiin. Lisäksi suoritettiin kaksi eri hajontakuvioiden analyysiä menetelmän tarkkuuden ja toistettavuuden arvioimiseksi. Näiden kaavioiden ja tulostasovertailun avulla arvioitiin menetelmän soveltuvuutta aiottuun käyttötarkoitukseen.

6 Tulokset

6.1 U-Albcre -tulosten toistettavuus

Työssä käytettiin toistettavuuden, täsmällisyyden ja verifiointin luotettavuuden apuna referenssilaitetta, jolle tutkimus oli jo verifioitu. Näytteet oli kertaalleen analysoitu referenssilaitteella ja tulokset oli kirjattu ylös. Menetelmien välistä tarkkuutta tulkittiin siis vertailemalla näiden kahden analysaattorin tuloksia keskenään. Verifiointissa mitattiin myös verifioitavan laitteen sarjojen välistä ja sarjojen sisäistä toistettavuutta sekä tarkkuutta tilastomatemaattisin keinoin. Verifiointissa saadut tulokset esitetään sanallisesti, taulukoina sekä graafisina kuvioina seuraavissa kappaleissa.

6.1.1 Sarjan sisäinen toistettavuus

Sarjan sisäistä toistettavuutta tutkittiin analysoimalla DCA Siemens Vantage -laitteella yksi matalatasoinen näyte ja yksi korkeatasoinen näyte 5 kertaa peräkkäin. Matalan näytteet keskiarvo oli 0,68 mg/mmol ja korkean näytteen 30,38 mg/mmol (taulukko 2.).

Taulukko 2. U-Albcre -menetelmän sarjan sisäinen toistettavuus DCA Siemens Vantage -laitteella määritettynä kahdella eritasoisella potilasnäytteellä.

Analysointikerta	Näyte nro. 10 (korkea) mg/mmol	Näyte nro. 12 (matala) mg/mmol
1	30,2	0,6
2	30,8	0,7
3	30	0,7
4	29,3	0,7
5	31,6	0,7
\bar{x}	30,38	0,68
S	0,72	0,03
CVsis%	3,29 %	6,62 %
Laatutavoite (CV%):	10,00 %	10,00 %

6.1.2 Sarjojen välinen toistettavuus

U-Albcre -menetelmän sarjojen välistä toistettavuutta mitattiin kolmella eripitoisella potilasnäytteellä, jotka analysoitiin viitenä päivänä peräkkäin. Jokaisena analysointipäivänä analysoitiin myös Siemensin omat kaupalliset korkea sekä matala kontrolli ja tarkistettiin, että tulokset menivät viitearvoihin. Potilasnäyte nro. 1 keskiarvoksi saatiin 54,86 mg/mmol, näyte nro. 10 keskiarvoksi saatiin 30,64 mg/mmol sekä potilasnäyte nro. 13 keskiarvoksi saatiin 1,76 mg/mmol (taulukko 3.).

Taulukko 3. U-Albcre -menetelmän sarjojen välinen toistettavuus DCA Siemens Vantage -laitteella kolmella eripitoisella potilasnäytteellä viitenä päivänä peräkkäin.

Analysointikerta	Näyte nro. 1 mg/mmol	Näyte nro. 10 mg/mmol	Näyte nro. 13 mg/mmol
1	53,6	30,1	1,9
2	60,0	30,2	1,7
3	52,6	30,8	1,7
4	54,5	31,2	1,8
5	53,6	31,9	1,7
\bar{x}	54,86	30,64	1,76
S	2,973	0,546	0,077
CVväl%	4,06 %	2,80 %	5,11 %
Laatutavoite (CV%):	10,00 %	10,00 %	10,00 %

6.2 U-Albcre -tulosten täsmällisyys

Potilasnäytevertailussa analysoitiin kaikki näytteet kertaalleen verifioitavalla laitteella. Verifioitavan analysaattorin mittauksen tarkkuutta selvitettiin vertaamalla referenssilaitteella ja DCA Vantage -laitteella potilasnäytteistä saatuja U-Albcre -tuloksia keskenään. Laitteiden antamien U-Albcre -tuloksien keskimääräinen ero oli 11,26 mg/mmol ja keskimääräinen ero% oli 25,72 % (taulukko 4.).

Taulukko 4. DCA Siemens Vantage-laitteella ja Cobas 8000-laitteella saadut U-Albkre -tulokset potilasnäytteistä.

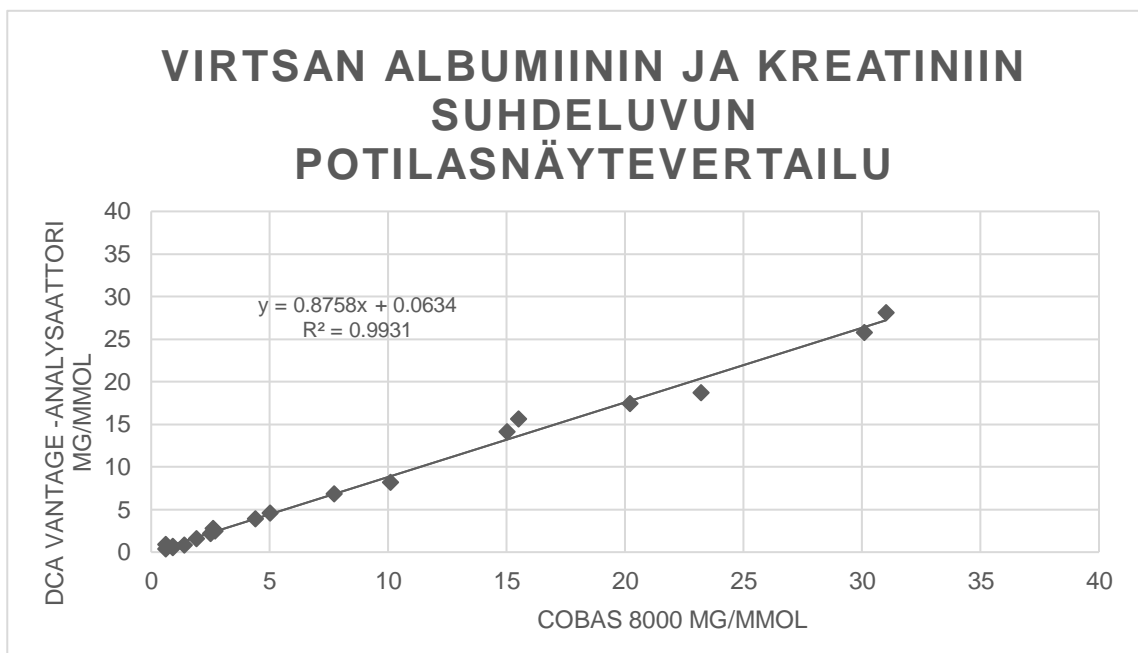
Näyte	DCA Vantage mg/mmol	Cobas 8000 mg/mmol	Ero%
1	53,6	256,9	-379,29 %
2	5	4,6	8,00 %
3	4,4	3,9	11,36 %
4	7,7	6,8	11,68 %
5	10,1	8,2	18,81 %
6	23,2	18,7	19,39 %
7	15,5	15,6	-0,64 %
8	20,2	17,4	13,86 %
9	31	28,1	9,35 %
10	30,1	25,8	14,28 %
11	15	14,1	6,00 %
12	0,6	0,9	-50,00 %
13	1,9	1,6	15,78 %
14	1,4	0,8	42,85 %
15	0,6	0,4	33,33 %
16	2,5	2,2	12,00 %
17	0,9	0,7	22,22 %
18	2,6	2,8	-7,69 %
19	2,7	2,5	7,40 %
20	0,9	0,5	44,44 %
\bar{x}	11,49	20,62	-7,34 %
Sallittu ero%	±20,00 %		

Passing-Bablok -regressiosuora potilasnäytevertailutuloksista, y-akselilla DCA Vantage -analysointilaitteen tulokset ja x-akselilla referenssilaboratorion Cobas 8000 tulokset.

Kuvaajassa R^2 kertoo Pearsonin korrelaatiokertoimen selitysvahvuutta.

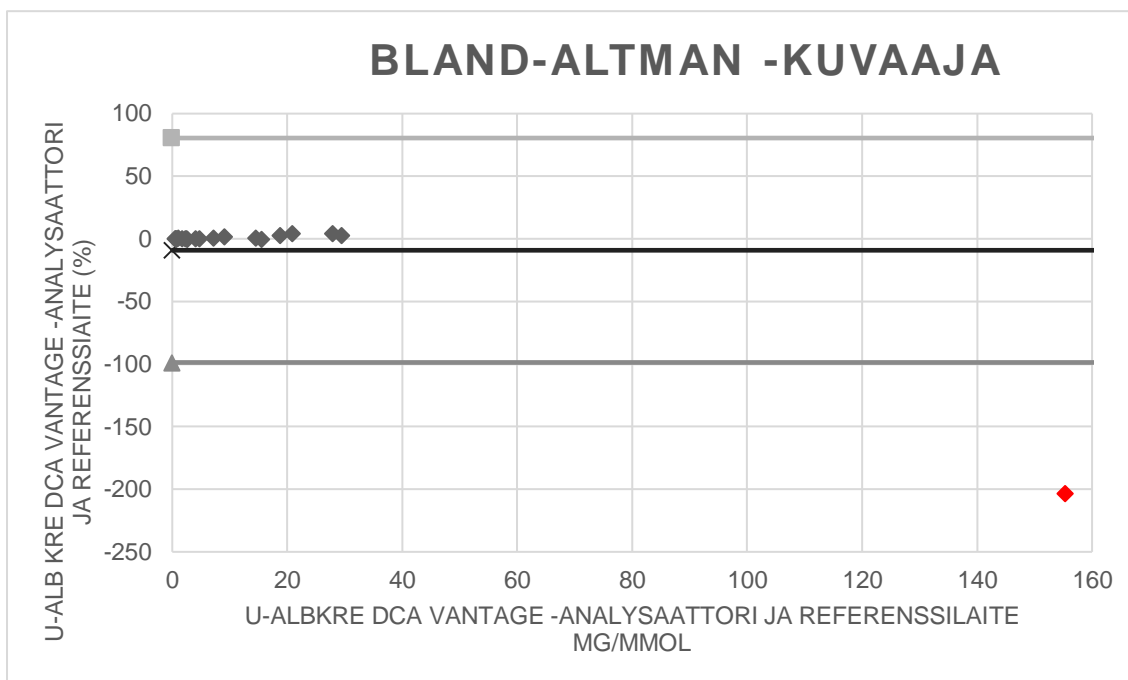
Potilasvertailunäytteistä luotiin regressiosuora, joka havainnollisti muuttujien eli tässä tapauksessa koulun ja vertailulaitteen tulosten välisen yhteyden voimakkuutta.

Regressiosuoran avulla voitiin arvioida, oliko muuttujien välillä riippuvuutta tai korrelaatiota. Tämän tutkimuksen korrelaatiokerroin oli 0,993, mikä osoitti erittäin vahvaa korrelaatiota. Regressiosuora on esitetty alla olevassa kuvassa. Kuvaajasta on poistettu näyte nro. 1, koska muuten kuvaajaa ei pystynyt tulkitsemaan. (Kuvio 1.)



Kuvio 1. Lineaarinen regressiosuora potilasnäytevertailutuloksista, y-akselilla DCA Vantage -analysointilaitteen tulokset ja x-akselilla referenssilaboratorion Cobas 8000 laitteen tulokset. Kuvaajassa R^2 kertoo Pearsonin korrelaatiokertoimen selitysvahvuutta.

Bland-Altman -analyysin avulla voitiin arvioida DCA Vantage -analyysaattorin U-Albkre -menetelmän ja referenssimenetelmän välisen yhteneväisyyttä virtsan albumiinin ja kreatiniinin suhdelukutuloksissa. Analyysin perusteella saadut tulokset osoittivat, että menetelmien välillä on vain vähäinen keskimääräinen tulostasero (bias) ja tämä ero pysyy hyvin rajattuna tiettyjen yksikköarvojen välillä. (Kuvio 2.)



Kuvio 2. Bland-Altman – kuvaaja U-Albkre -menetelmän tulostason vertailumittauksista DCA Vantage -analyysaattori vs. Cobas 8000.

7 Pohdinta

7.1 Tulosten tarkastelu

DCA Vantage-analyysaattorin U-Albkre -tutkimuksen verifiointin päämääränä oli tutkia laitteen kykyä tuottaa toistettavia ja vertailulaitteen tulostasoon verrattavissa olevia tuloksia. Tutkimuksen verifiointiin sisältyi verifiointisuunnitelman laatiminen, mittausten suorittaminen, saadun datan tilastollinen käsittely sekä tulosten arviointi ja raportointi. Verifiointiparametreinä käytettiin toistettavuutta ja laitteiden välisiä tulostaseroja. Toistettavuus määritettiin suorittamalla useita rinnakkaisia määityksiä eri pitoisuuksia olevilla näytteillä.

Verifiointissa tutkittiin sarjan sisäistä ja sarjojen välistä toistettavuutta. Tulokset arvioitiin variaatiokertoimen CVsis% ja CVväl% avulla, vertaamalla saatua

variaatiokertoimen tulosta laatutavoitteeseen 10,00 % (CV%). Sarjan sisäinen toistettavuus laskettiin potilasnäytteiden rinnakkaisista määrytyksistä ja näyte nro. 10 variaatiokertoimen tulokseksi saatiin 3,29 % ja näyte nro. 12 variaatiokertoimen tulokseksi saatiin 6,62 %. Sarjan välistä toistettavuutta laskettiin kolmen potilasnäytteen viidestä eri analysointikerrasta, viiden peräkkäisen päivän aikana. Näyte nro. 1 variaatiokertoimen tulokseksi saatiin 4,06 %, näyte nro. 10 tulokseksi 2,80 % ja näyte nro. 13 tulokseksi 5,11 %. Sarjojen sisäinen toistettavuus sekä sarjan välinen toistettavuus täyttävät siis Siemensin laatutavoitteen eli 10,00 CV%.

Potilasnäytevertailun näytteiden tuloksista kuusi näytettä nro 1, 12, 14, 15, 17 ja 20 olivat ulkoisen laadunarvioinnin tavoitevälin (± 20 %) ulkopuolelle meneviä tuloksia. Seitsemän näytettä näistä kahdeksasta laatutavoitteen ylittävästä/alittavasta tulokset eivät kuitenkaan olleet kliinisesti merkittäviä sillä tuloksen vaihtelevuus ei olisi vaikuttanut diagnosointiin. Yhden yksittäisen näytteen (näyte nro. 1) tulostasero oli merkittävä (-379,29 %). Tämä johtui mahdollisista eroavaisuuksista laitteiden suorituskyvyn välillä mitata tuloksia. DCA Vantage -analysaattorissa virtsan albumiinin ja kreatiniininsuhdeluvun virallinen mittaustulos on välillä 0,11 - 226 mg/mmol . Virtsanäyte, joka oli referenssilaitteella mitattu olevan 256,9 mg/mmol näytti DCA Vantage -analysaattorilla 53,6 mg/mmol. Laite ei kyennyt mittaamaan korkeampaa tulosta kyseisestä näytteestä. Tämä on kliinisesti merkittävää, koska selvästi lisääntynyttä albuminuriaa on kaikki yli 30 mg/mmol tulokset ja nefroositasoista albuminuriaa on kaikki yli 220 mg/mmol tulokset. Tulos oli kuitenkin joka tapauksessa korkea DCA Vantage -analysaattorilla ja yli normaalin rajan, vaikka laite ei kyennytkään mittaamaan nefroositasoista albuminuriaa. Nefroositasoista virtsanäytteitä oli vain yksi kappale, joten korkeiden näytteiden luotettava analysointi vaatisi lisätutkimuksia.

Potilasnäytteiden tulostasovertilu toteutettiin vertaamalla kahden laitteen analyysimenetelmää mittaustulosten korrelaation ja selityssasteen perusteella. Vertailu tehtiin käyttäen Metropolia Ammattikorkeakoulun DCA Vantage -analysaattorin fotometristä immunokemiallista sekä fotometristä entsyymaattista menetelmää vertailumenetelmänä. Mittaustulosten korrelaatiokerroin (R) oli laskettuna 0,996 ja selityssaste (R^2) oli 0,993. Tämä tarkoittaa sitä, että tulosten välillä ilmenee hyvin merkittävä positiivinen korrelaatio, mikä osoittaa menetelmien erinomaista yhtenevyyttä.

Passing-Bablok-regressioanalyysin graafinen kuvaaja ja yhtälö tukevat tätä havaintoa. Lisäksi Bland-Altman-analyysin perusteella keskimääräinen tulostasero (bias) on vähäinen, sillä DCA Vantage -analysointilaitteen U-Alb-kre -menetelmä tuottaa vain keskimääriä vain noin 1,43 mg/mmol korkeampia tuloksia, verrattuna referenssimenetelmään ja tämä ero voi vaihdella -0,34 ja 3.2 mg/mmol välillä.

7.2 Luotettavuus

Tämä opinnäytetyö oli kvantitatiivinen tutkimus eli määrällinen tutkimus. Tämä tarkoittaa sitä, että tällä tutkimuksella selvitettiin numeeristen suureiden avulla esimerkiksi lukumääriin ja prosentiosuuksiin liittyviä kysymyksiä. Tutkimuksessa pohdittiin myös eri asioiden välisiä riippuvuuksia eli asioiden välistä korrelaatiota. Kvantitatiivisen tutkimuksen luotettavuutta voidaan arvioida validiteetin ja reliabiliteetin avulla. Validi tutkimus mittaa sitä, mitä oli tarkoitus mitata, se ei sisällä systemaattisia virheitä ja antaa keskimäärin oikeita tuloksia. Tutkimuksen validiteettiä voi edesauttaa huolellisella suunnittelulla ja asianmukaisella tiedonkeruulla. Tutkimuksen reliabiliteetti kertoo siitä, että tutkimus voidaan toistaa uudestaan ja tulokset pysyvät samana. Reliabiliteetin tarkoitus on siis arvioida tulosten pysyvyyttä ja kykyä toistettavuudelle ilman sattumanvaraisia tuloksia. Luotettavia tuloksia voidaan edesauttaa sillä, että tutkimuksen otos on edustava, otoksen tulee olla myös tarpeeksi suuri ja tiedonkeruu tulee olla suoritettuna huolellisesti ja virheettömästi. (Heikkilä 2014).

Kokonaisluotettavuutta arvioidaan ottamalla huomioon reliabiliteetti ja validiteetti. Nämä muodostavat yhdessä kokonaisluotettavuuden. Kokonaisluotettavuus on hyvä, kun tutkimuksessa on mahdollisimman vähän satunnaisvirheitä. Kokonaisluotettavuutta voidaan todentaa ja arvioida uusintamittauksilla. Systemaattiset virheet ovat tutkimuksen kokonaisluotettavuuden kannalta heikentäviä tekijöitä. Määrällisessä tutkimuksessa tulee kuitenkin välttämättä aina käsittely-, mittaus-, kato- ja otantavirheitä. Näistä virheistä on oltava rehellinen ja tapahtuneet virheet on myönnettävä tutkimuksessa. Niiden mahdollinen vaikutus tuloksiin sekä tulosten hyödyntämiseen ja soveltamiseen on myös tuotava ilmi. (Vilka 2007: 152–154.)

Verifioinnissa käytettävien näytteiden piti siis olla laadukkaita ja niiden laatu piti tarkastaa mahdollisten epäpuhtauksien varalta, jotta tuloksista tuli mahdollisimman oikeita. Koska näytteet tulivat ulkopuoliselta taholta, esimerkiksi oikeaoppinen säilytys,

kuljetus ja käsittely olivat tärkeässä osassa tätä opinnäytetyötä. Virtsanäyte albumiini- ja kreatiniinipitoisuuden määrittämistä varten säilyy noin 7 vrk kylmässä. Huoneenlämmössä näyte säilyy vuorokauden. Pitempiäkaista varastointia varten näyte pitää pakastaa. (Huslab 2022.)

Verifiointissa käytettiin pakastettuja virtsanäytteitä, jotka lähetettiin referenssilaboratoriosta Metropolia Ammattikorkeakoululle. Koululla näytteet pakastettiin ja pidettiin pakastettuina verifiointiin asti. Tulosten oikeellisuus on varmistettu niin, että ennen verifiointia näytteiden laatu oli tarkistettu hemolyysin, ylimääräisen sakan tai muiden epäpuhtauksien osalta. Luotettavuutta lisäsi oikeaoppinen säilytys pakastettuna sekä oikeanlainen esikäsittely ennen näytteiden analysointia. Aineisto voidaan katsoa luotettavaksi, koska on toimittu yleisten ohjeiden ja käytäntöjen mukaisesti. Opinnäytetyö on myös toteutettu ja kuvattu niin tarkasti, että kuka tahansa voi tarvittaessa toistaa työn samalla tavalla uudelleen. Opinnäytetyön aikana suoritin tiedonhakuja esimerkiksi PubMed tietokannasta ja tarkoituksena oli löytää mahdollisimman monipuolinen ja luotettava lähdemateriaali. Huomioin erityisesti lähteiden monipuolisuuden ja luotettavuuden, ja pyrin hyödyntämään erilaisia kansainvälisiä lähteitä. Lisäksi varmistin, että käyttämäni kirjallisuus oli mahdollisimman tuoreta. Erityisesti toteutusvaiheessa keskityin tilastollisiin menetelmiin liittyvään kirjallisuuteen. Kaikki käyttämämme kirjalliset lähteet olivat luotettavia ja perustuivat tutkittuun tietoon ja kaikki yli 10 vuotta vanhat lähteet ovat tarkistettu, että ne olivat yhä luotettavaa tietoa ja ajan tasalla.

7.3 Eettisyys

Suomessa on tutkimuseettinen neuvottelukunta (TENK), jonka tehtävä on valvoa ja edistää hyvää tieteellistä käytäntöä (HTK). TENK on luonut HTK-ohjeen, (Hyvä tieteellinen käytäntö ja sen loukkausepäilyjen käsitteleminen). HTK-ohje on hyvä pohja jokaiselle tieteellistä tutkimusta tekeväälle. Kaikkien tieteellisten tutkimuksien peruslähtökohta on eettisyys. Keskeisiä lähtökohtia oikean tutkimuseettikan toteutumiselle ovat esimerkiksi rehellisyys toimintatavoissa, eettisesti kestävä tiedonhankinta, asianmukaiset lähdeviitteet, tulosten oikea tallentaminen, tutkimuslupien hankkiminen, tutkimuksessa mukana olevien oikeuksien läpikäyminen, rahoituslähteiden ilmoittaminen ja tietosuojakysymysten huomioon ottaminen. (Tutkimuseettinen neuvottelukunta 2012.)

TENK:n vuoden 2019 ohjeistuksessa nostetaan esille erityisesti tutkittavien henkilöiden kohtelu, oikeudet ja henkilötietojen käsittely tutkimuksessa. Myös EU:n yleisen tietosuoja-asetuksen, GDPR (2016/679), mukaan henkilötietojen käsittely tutkimuksessa vaatii entistä enemmän tutkijoiden huomiota. Tutkimus on henkilötietojen käsittelyn erityistilanne ja tutkimukselta vaaditaan eettinen ennakoarviointi sekä tutkimuslupa. Tutkimukselta vaaditaan myös selontekoja henkilötietojen käsittelystä esimerkiksi tietosuojaselosteilla, tiedotteilla, suostumuksilla, vaikutusten arvioinneilla ja aineistohallintasuunnitelmilla. Tutkimusta tehdessä pitää myös muistaa, että henkilötiedoiksi luetaan nimen ja henkilötunnuksen lisäksi esimerkiksi tutkittavan ääni ja ammattinimike. (Kinni & Puurunen 2021.)

Tätä opinnäytetyötä tehdessä oli siis tärkeää, että tutkimusaineistoa ei saanut väärentää tai keksiä. Tärkeää oli myös se, että näytteenluovuttajan näytettä käytettiin vain, siihen mihin oli saatu lupa sekä se, että näytteiden luovuttajien tietosuoja oli hyvin suojattu. Tietosuojaa edistettiin esimerkiksi poistamalla nimet potilasnäytteistä ja luomalla jokaiselle näytteelle tunnistettavan koodin, joka on luotu sattumanvaraisesti. Potilasnäytteitä käyttäessä oli myös suunniteltu etukäteen, miten toimitaan, jos verifiointissa näytteistä saadaan poikkeavia tuloksia.

Tässä tutkimuksessa keskityttiin huomioimaan eettiset näkökulmat ja toteuttamaan tutkimuseettisen neuvottelukunnan suosittamaa hyvää tieteellistä käytäntöä. Tutkimuksessa käytettiin aikaisemmin analysoituja ylijäämäpotilasnäytteitä, joita ei enää tarvittu potilaan hoidossa. Näytteiden käsittelemisessä otettiin huomioon potilaiden yksityisyys ja oikeudet, ja niitä käsiteltiin luottamuksellisesti. Potilastietoja ei julkaistu tässä opinnäytetyössä, ja näytteitä käsiteltiin nimettöminä. Saadut tulokset tallennettiin excel-taulukoihin. Tulokset ovat esitetty ja arvioitu rehellisesti hyvän tieteellisen käytännön mukaisesti. Kaikki opinnäytetyöhön tarvittavat sopimukset ja luvat hankittiin asianmukaisesti ja ovat arkistoituna. Opinnäytetyön toteuttamisessa ja kirjoittamisessa noudatettiin rehellisyyttä ja huolellisuutta. Tiedonhankinta tässä opinnäytetyössä oli kriittistä ja perustui lähteiden kunnioitukseen sekä oikean viittaustekniikan käyttämiseen.

7.4 Johtopäätökset

Tulokset osoittivat sitä, että Siemensin DCA Vantage -laitteen antamat U-Albcre -menetelmän tulokset ovat erittäin luotettavia. Tämä tarkoittaa, että DCA Vantage -laitteen antamat tulokset ovat vertailukelpoisia referenssilaitteen Cobas 8000:n antamien tulosten kanssa. Tällöin voidaan olettaa, että Siemensin DCA Vantage -laitteella saadaan samankaltaisia tuloksia kuin Cobas 8000 -laitteella. Tulosten vertailu referenssilaboratorion Cobas 8000-laitteeseen osoitti siis erittäin korkean korrelaation. Onnistuneen verifiointitutkimuksen perusteella voidaan siis päätellä, että Siemensin DCA Vantage -laitteen antamat U-Albcre -tulokset ovat toistettavia tietyissä olosuhteissa. Bland-Altman -kuvaaja sekä Passing-Bablok -regressiosuora vahvistaa sitä, että näiden kahden laitteen antamissa tuloksissa ei ollut tilastollisesti merkittävää eroa. Laatuavoitteet sarjan sisäisestä ja sarjan välisestä toistettavuudesta sekä potilasnäytevertailusta oli myös asianmukaiset.

7.5 Kehittämisehdotukset

Verifiointiprosessissa on tärkeää varmistaa, että kaikki käytetyt näytteet ovat luotettavia ja tarkkoja, jotta tulokset ovat oikeita. Joskus prosessissa tapahtuu kuitenkin virheitä, joita ei voida selittää, ja tämä voi vaikuttaa tuloksiin. Tässä tapauksessa yksi näyte oli antanut huomattavasti korkeamman tuloksen kuin muut näytteet. Tämän vuoksi oli järkevää jättää tämä näyte kokonaan pois huomiosta, sillä sen tulos oli niin paljon poikkeava muihin näytteisiin verrattuna. On mahdollista, että poikkeava tulos johtui esimerkiksi näytteen erotteluvirheestä, väärän näytteen laittamisesta putkeen tai jostain muusta virheestä näytteen käsittelyssä. On myös mahdollista, että vika johtui laitteesta, jota käytettiin tulosten mittaamiseen. Tämä ei kuitenkaan ole varmaa, sillä muut näytteet antoivat normaaleja ja oikeita tuloksia. Nefroositasoisia näytteitä ei ollut enempää saatavilla, joten on mahdollista, että kyseistä tason tarkastelua tarvitaan tulevaisuudessa. Tällöin olisi tärkeää varmistaa, että kaikki näytteet ovat tarkkoja ja luotettavia. Korkean tason kontrollinäytteiden onnistuminen kuitenkin osoittaa, että käytetty menetelmä on luotettava ja tarkka, ja että virhe johtui todennäköisemmin yksittäisestä näytteestä kuin menetelmästä itsessään.

7.6 Ammatillinen kasvu

Opinnäytetyön aihetta etsiessä tavoitteeni ja toiveeni oli löytää aihe, joka olisi mielenkiintoinen ja edistäisi ammatillista osaamistani bioanalytikkona. Valitsemani aihe virtsan albumiinin ja kreatiniinin suhdeluvun verifiointi oli mielestäni kiinnostava ja vastasi toivettani. Opinnäytetyön prosessi osoittautui kokonaisvaltaisesti hyödylliseksi, edistään merkittävästi osaamistani kvantitatiivisten tutkimusten, kliinisen kemian ja verifiointiprosessin osa-alueilla. Sain uutta tietoa tieteellisten lähteiden löytämisestä, niiden kriittisestä arvioinnista, aineistonkeruun suunnittelusta, toteutuksesta, aineiston käsittelystä, raportoinnista sekä aineistoon perustuvien johtopäätösten tekemisestä. Opinnäytetyön aihe oli mielestäni mielenkiintoinen ja työskennellessäni laajensin tietämystäni erityisesti validoinnista, verifioinnista, albumiinista, kreatiniinista, niiden välisestä suhdelukutkimuksesta sekä siihen liittyvien sairauksien osalta. Lisäksi ammattisanastoni laajuus englanniksi kehittyi. Opinnäytetyön toteuttaminen tuki ammatillista osaamistani, kehittymistäni ja edisti merkittävästi tiedonhankintataitojani.

Lähteet

A Armbruster, David & Pry Terry 2008. Limit of Blank, Limit of detection and Limit of Quantitation. The Clinical Biochemistry Reviews. Aug; 29 (Suppl 1). 49 – 52. <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2556583/>>. Viitattu 19.3.2023.

Bilić-Zulle L. 2011. Comparison of two methods: Passing and Bablok regression. Biochemia Medica. <<https://www.biochemia-medica.com/en/journal/21/1/10.11613/BM.2011.010>>. Viitattu 20.3.2023.

DCA Vantage Analyzer. Siemens Healthineers. <<https://www.siemens-healthineers.com/en-us/diabetes/diabetes/dca-vantage-analyzer>>. Viitattu 27.9.2022.

Diaba-Nuoho, Patrick & Amponsah-Offeh, Michael 2021. Reproducibility and research integrity: the role of scientists and institutions. BMC Research Notes. <<https://bmcresearchnotes.biomedcentral.com/articles/10.1186/s13104-021-05875-3>>. Viitattu 19.3.2023.

Diabeteksen munuaistauti 2020. Käypä hoito -suositus. Suomalaisen Lääkäriseuran Duodecimin ja Suomen Nefrologiyhdistyksen asettama työryhmä. Helsinki: Suomalainen Lääkäriseura Duodecim. <<https://www.kaypahoito.fi/hoi50060#s15>>. Viitattu 27.9.2022.

Eerola, Hannaleena 2021. Albumiini ja kreatiniinin suhde, aamu- tai yövirtsaasta (nU-AlbKre). Terveyskirjasto. Duodecim. <<https://www.terveyskirjasto.fi/snk03196/albumiinin-ja-kreatiniinin-suhde-aamu-tai-yovirtsasta-nu-albkre>>. Viitattu 26.9.2022.

Epshtein Naum 2019. Validation of analytical procedures: graphic and calculated criteria for assessment of methods linearity in practice. ResearchGate. 1 – 2. <https://www.researchgate.net/publication/334971858_VALIDATION_OF_ANALYTICAL_PROCEDURES_GRAPHIC_AND_CALCULATED_CRITERIA_FOR_ASSESSMENT_OF_METHODS_LINEARITY_IN_PRACTICE>. Viitattu 19.3.2023.

Giavarina, Davide. 2015. Understanding Bland Altman analysis. Biochemia Medica. <<https://www.biochemia-medica.com/en/journal/25/2/10.11613/BM.2015.015>>. Viitattu 20.3.2023.

Gurarie, Mark 2022. What Is Albumin? Verywellhealth. <<https://www.verywellhealth.com/albumin-5076351>>. Viitattu 25.9.2022.

Hägg, Margareta 2016. Validoinnin suunnitteluopas. Teknologian tutkimuskeskus VTT Oy. 13. 9 - 15. 23 – 25. 31. <<https://www.finans.fi/ajankohtaista/Sivut/Validoinnin-suunnittelun-opas-julkaistu.aspx>>. Viitattu 9.9.2022.

Heikkilä, Tarja 2014. Tilastollinen tutkimus. 9. uudistettu painos. Porvoo. Edita Publishing Oy.

Hiltunen, Erkki & Linko, Linnéa & Hemminki, Sari & Hägg Margareta & Järvenpää, Eila & Simonen, Seppo & Kärhä, Petri (toim). 2011. Laadukkaan mittaamisen perusteet. Metrologian neuvottelukeskus. Espoo: Mittatekniikan keskus MIKES. Viitattu 9.9.2022.

Holopainen, Martti & Pulkkinen Pekka 2008. Tilastolliset menetelmät. 5.–6. painos. Helsinki: WSOY oppimateriaalit Oy. Viitattu 5.3.2023.

Hosten, Adrian O. 1990. Chapter 193 BUN and Creatinine. Clinical Methods: The History, Physical, and Laboratory Examinations. 3rd edition. NCBI. <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK305/>>. Viitattu 20.3.2023.

Human Serum Albumin Antibodies. ThermoFisher. <https://www.thermofisher.com/antibody/primary/target/human+serum+albumin?ef_id=05b9d230b34313b08656b1025ee23584:G:s&s_kwid=AL!3652!10!77172110210228!77172165522573&cid=bid_pca_aup_r01_co_cp1359_pjt0000_bid00000_0se_bng_nt_pur_con&msclkid=05b9d230b34313b08656b1025ee23584#>. Viitattu 27.9.2022.

Huslab 2022. Albumiinin ja kreatiniinin suhde, virtsasta, U-Albkr. <<https://www.huslab.fi/ohjekirja/4511.html>>. Viitattu 26.9.2022.

Hyvä tieteellinen käytäntö ja sen loukkausepäilyjen käsitteleminen Suomessa 2012. Hyvä tieteellinen käytäntö. Tutkimuseettinen neuvottelukunta (TENK). <https://tenk.fi/sites/tenk.fi/files/HTK_ohje_2012.pdf>. Viitattu 26.9.2022.

Kasi, Hari 2021. Urine Protein Creatinine Ratio. Labtests. <<https://urlabtests.com/tests/urine-protein-creatinine-ratio/>>. Viitattu 28.9.2022.

Kenton, Will 2022. Percentage Changes and How to Calculate Them. Investopedia. <<https://www.investopedia.com/terms/p/percentage-change.asp>>. Viitattu 21.3.2023.

Keskiarvo 2020. Tilastokeskus. <<https://www.tilastokeskus.fi/meta/kas/keskiarvo.html>>. Viitattu 26.9.2022.

Keskihajonta 2020. Tilastokeskus. <<https://www.stat.fi/meta/kas/keskihajonta.html>>. Viitattu 26.9.2022.

Kinni, Riitta-Liisa & Puurunen, Piia 2021. Tutkimuseettinen tieteellisen tutkimuksen erottamattomana osana. Janus 29 (4). 313–314. <<https://journal.fi/janus/article/view/112654/66253>>. Viitattu 28.9.2022.

Korrelaatio 2020. Tilastokeskus. <<https://stat.fi/meta/kas/korrelaatio.html>>. Viitattu 26.9.2022.

- Korrelaatio ja riippuvuusluvut 2004. KvantiMOTV. <<https://www.fsd.tuni.fi/menetelmaopetus/korrelaatio/korrelaatio.html>>. Viitattu 26.9.2022.
- Labquality 2020. 2.5 Validointi ja verifiointi. <https://www.labquality.fi/sote-ammattilaisille/laadukas_vieritutkimus/validointi_verifiointi/>. Viitattu 9.9.2022.
- Mattix, Holly J & Hsu, Chi-yuan & Shaykevich, Shimon & Curhan, Gary 2002. Use of the Albumin/Creatinine Ratio to Detect Microalbuminuria: Implications of Sex and Race. *Journal of the american society of nephrology*. 13 (4). 1034-1039. <<https://jasn.asnjournals.org/content/13/4/1034.full>>. Viitattu 26.9.2022.
- McCluney, Ross 2003. Radiometry and Photometry. ScienceDirect. <<https://www.sciencedirect.com/topics/earth-and-planetary-sciences/photometry>>. Viitattu 29.9.2022.
- Metsärinne, Kaj & Ekstrand, Agneta & Groop, Per-Henrik & Hanski, Merja & Komulainen, Jorma & Niskanen, Leo & Puurunen, Marja & Saha, Heikki 2008. Diabeettinen nefropatia. Näytön paikka. Käypähoito-suosituksen tiivistelmä. <<https://www.duodecimlehti.fi/xmedia/duo/duo97201.pdf>>. Viitattu 26.9.2022.
- Metsärinne, Kaj & Meinander, Tuula & Mäkelä, Satu & Niskanen, Leo 2020. Diabeteksen munuaistauti. Käypä hoitosuositus. Päivitystiivistelmä. <<https://www.duodecimlehti.fi/xmedia/duo/duo15659.pdf>>. Viitattu 26.9.2022.
- Mok, Yejin & Ballew, Shoshana & Sang, Yingying & Grams, Morgan & Coresh, Josef & Evans, Marie & Baranay, Peter & Ärnlöv, Johan & Carrero Juan-Jesus & Matsushita, Kunihiro 2019. Albuminuria as a Predictor of Cardiovascular Outcomes in Patients With Acute Myocardial Infarction. *Journal of the American Heart Association*. <<https://www.ahajournals.org/doi/10.1161/JAHA.118.010546>>. Viitattu 20.2.2023.
- Mustajoki, Pertti 2021. Diabeteksen munuaissairaus (diabeettinen nefropatia). *Duodecim terveyskirjasto*. <<https://www.terveyskirjasto.fi/dlk00563>>. Viitattu 26.9.2022.
- Mustonen, Jukka & Wirta, Ole 1997. Kreatiniiniarvo suurentunut - mitä muuta tutkin? *Lääketieteellinen aikakauskirja Duodecim*. 113 (12). 1131–1136. <<https://www.duodecimlehti.fi/duo70258>>. Viitattu 27.9.2022.
- Pum K.W. Joachim 2019. Evaluating sample stability in the clinical laboratory with the help of linear and non-linear regression analysis. *De Gruyter*. <<https://scihub.se/10.1515/cclm-2019-0596>>. Viitattu 19.3.2023.
- Regressioanalyysi 2020. Tietoa tilastoista. Tilastokeskus. <<https://www.stat.fi/meta/kas/regressioanalyy.html>>. Viitattu 25.3.2023.
- Roelofsen-de Beer, Roseri & Wielders, Jos & Boursier, Guilaine & Vodnik, Tatjana & Vanstapel, Florent & Huisman, Willem & Vukasović, Ines & Vaubourdolle, Michel & Sönmez, Çiğdem & Linko, Solveig & Brugnoli, Duilio & Kroupis, Christos & Lohmander, Maria & Luděk, Šprongl & Bernabeu-Andreu, Francisco & Brguljan, Pika

Meško & Thelen, Marc 2019. De Gruyter. Validation and verification of examination procedures in medical laboratories: opinion of the EFML Working Group Accreditation and ISO/CEN standards (WG-A/ISO) on dealing with ISO 15189:2012 demands for method verification and validation. <<https://www.degruyter.com/document/doi/10.1515/cclm-2019-1053/html>>. Viitattu 25.9.2022.

Saha, Heikki 2021. Nefroottinen oireyhtymä. Duodecim terveyskirjasto. <<https://www.terveyskirjasto.fi/dlk00847>>. Viitattu 26.9.2022.

Stevens, JF & Tsang, W & Newall, RG 1983. Measurement of bilirubin, cholesterol and creatinine in serum and plasma, by solid-phase reflectance spectroscopy. *Journal of Clinical Pathology*. 36: 598–601. <<https://jcp.bmj.com/content/jclinpath/36/5/598.full.pdf#:~:text=Creatinine%20The%20Seralyzer%20creatinine%20reagent%20strip%20method%20is,complex.%20Thirty%20micro-litres%20of%20undiluted%20specimen%20is%20required.>>. Viitattu 27.9.2022.

Theodorsson, Elvar 2012. Validation and verification of measurement methods in clinical chemistry. *Bioanalysis*. <<https://www.future-science.com/doi/epub/10.4155/bio.11.311>>. Viitattu 22.3.2023.

Tillement, J.-P. & Tremblay, D 2007. 5.02.3.5.1 Renal excretion. *Comprehensive Medicinal Chemistry II*. ScienceDirect. <<https://www.sciencedirect.com/topics/medicine-and-dentistry/glomerulus-filtration#:~:text=Glomerular%20filtration%20is%20a%20simple%20filtration%20of%20plasma,as%20a%20result%20by%20the%20renal%20blood%20flow.>>. Viitattu 27.9.2022.

Työ- ja elinkeinoministeriö TEM. <<https://www.semanticscholar.org/paper/Laadukkaan-mittaamisen-perusteet-Hiltunen-Linko/09186c09c004d4715ebded727604081c363b6446>>. Viitattu 9.9.2022.

Vilka, Hanna 2007. Tutki ja mittaa. Määrällisen tutkimuksen perusteet. 152–154. <https://trepo.tuni.fi/bitstream/handle/10024/98723/Tutki-jamittaa_2007.pdf?sequence=1>. Viitattu 26.9.2022.