



Osaamista  
ja oivallusta  
tulevaisuuden  
tekemiseen

Niina Marttinen

## Virtsan suhteellisen tiheyden mittaus

Menetelmävertailu refraktometrillä ja AU680-analysaattorilla

Metropolia Ammattikorkeakoulu

Bioanalytiikka (AMK)

Bioanalytiikan tutkinto-ohjelma

Opinnäytetyö

16.4.2019

Tekijä Otsikko	Niina Marttinen Virtsan suhteellisen tiheyden mittausta Menetelmävertailu refraktometrillä ja AU680-analysointilaitteella
Sivumäärä Aika	45 sivua + 2 liitettä 16.4.2019
Tutkinto	Bioanalytiikka (AMK)
Tutkinto-ohjelma	Bioanalytiikan tutkinto-ohjelma
Suuntautumisvaihtoehto	Bioanalytiikka
Ohjaajat	Kemisti, Riia Plihtari Lehtori, Merja Ojala
<p>Suhteellinen tiheys eli ominaispaino on aineen tiheyden suhde vertailtavan aineen tiheyteen. Nesteiden ominaispainon vertailuaine on lähes aina vesi, jonka ominaispaino on 1,000. Virtsan suhteellinen tiheys on veden suhteellista tiheyttä suurempi virtsan sisältämien suolojen ja aineiden takia. Virtsan suhteellinen tiheys kuvaa munuaisten toimintakykyä ja henkilön hydraatioitilaa. Huumausaineanalytiikassa suhteellista tiheyttä käytetään varmistamaan virtsanäytteen aitous ja analysointikelpoisuus. Normaalisti poikkeavat arvot voivat johtua näytteen manipuloimisesta, kuten laimentamisesta.</p> <p>Tämän opinnäytetyön tarkoituksena oli verrata kahta analyysimenetelmää virtsan suhteellisen tiheyden mittaamisessa sekä tutkia niiden vertailukelpoisuutta. Menetelmät ovat refraktometrinen menetelmä ja biokemialliseen reaktioon perustuva analyysimenetelmä. Vertailussa käytettävät laitteet ovat manuaalinen Leica TS Meter Model TS400 –refraktometri sekä Beckman Coulter AU680-analysointilaitteet. Opinnäytetyön tilaaja on Vita Laboratoriot Oy. Tutkimus suoritettiin Vitan kliinisessä keskuslaboratoriossa Helsingissä.</p> <p>Tutkimusnäytteet olivat huumausaineanalyysissä olleita virtsanäytteitä. Näytemäärä oli 36 (n=36). Näytteet mitattiin ensin refraktometrillä, minkä jälkeen ne analysoitiin kahdella identtisellä AU680-analysointilaitteella. Sarjan sisäiset toistuvuusmittaukset suoritettiin neljällä eripitoisella virtsanäytteellä, ja sarjojen väliset toistuvuusmittaukset tehtiin valmistajan kaupallisilla kontrollinäytteillä. Näytteet valittiin tutkimukseen niiden kreatiniinipitoisuuden perusteella. Kreatiniinipitoisuus kertoo suhteellisen tiheyden ohella virtsan väkevyydestä tai laimeudesta. Näyttemateriaali valikoitui siten, että edustettuna oli laimeita, keskilaimeita ja väkeviä virtsanäytteitä. Menetelmävertailun lisäksi opinnäytetyössä tutkittiin kreatiniinin ja virtsan suhteellisen tiheyden korrelaatiota.</p> <p>Tutkimustuloksia analysoitiin tilastotieteellisin menetelmin Excel- ja SPSS-ohjelmilla. Tutkimuksessa käytetyt tilastomenetelmät ovat hajontakuviot, regressiosuora ja -yhtälö sekä korrelaatiokerroin. Tulostasoeroja tutkittiin keskiarvon, keskihajonnan ja variaatiokerroimen avulla. Tulosten mukaan vertailtavat menetelmät korreloivat hyvin keskenään varsinkin isotonisen virtsan alueella. AU680-analysointilaitteiden tulostaso oli kuitenkin noin 30 % refraktometrin tulostasoa korkeampi. Huumausaineanalytiikassa pienetkin mittauserot laimeissa virtsanäytteissä voivat olla kliinisesti merkittäviä. Tutkimuksen perusteella ei saada luotettavaa vastausta AU680-analysointilaitteen soveltuvuudesta suhteellisen tiheyden mittaamiseen huumausaineanalytiikassa. Menetelmävertailua on syytä jatkaa suuremmalla näytemäärällä.</p>	
Avainsanat	Menetelmävertailu, suhteellinen tiheys, huumausaineanalytiikka

Author Title	Niina Marttinen Urine Specific Gravity Measurement: Method Comparison of Refractometer and AU680 analyzer
Number of Pages Date	45 pages + 2 appendices 16 May 2019
Degree	Bachelor of Health Care
Degree Programme	Biomedical Laboratory Science
Specialisation option	Biomedical Laboratory Science
Instructors	Riia Plihtari, Chemist Merja Ojala, Senior Lecturer
<p>Specific gravity is the ratio of density of a substance to the density of a standard. For liquids the reference substance is water (1,000). Urine specific gravity can be used to assess kidney function and to indicate person's hydration status. It is commonly used laboratory test also in drug testing where it is used in measuring sample integrity. Values below 1,005 are too diluted for analysis and may result from the sample adulteration.</p> <p>The purpose of this study was to compare two analytical methods for urine specific gravity analysis. The method used were refractometric analysis with manual Leica TS Meter Model TS400 refractometer and clinical biochemical analysis with Beckman Coulter AU680 analyzer. The subscriber of this thesis was Vita Laboratoriot Oy. The study was executed at Central Clinical laboratory in Helsinki.</p> <p>In this study 36 urine drug samples were analyzed with two different methods. The samples were first analyzed with refractometer and after that with two identical AU680 analyzers. Four urine drug samples and high- and low-level control were used to determine the within-run and between-runs repeatability with the AU680 analyzers. The samples in this study were collected by their urinary creatinine level which, as well as urine specific gravity, indicates the density of urine. The samples with low, mid-range and high creatinine level were chosen from urine samples that were analyzed in drug screening in Vita Central Clinical laboratory. In addition of method the comparison I studied the correlation and regression between the amount of urine creatinine and specific gravity.</p> <p>The research data was collected and documented in Microsoft Excel program. The results were statistically processed in SPSS and Excel programs. The main statistical methods used in data analysis were regression analysis, averages, standard deviations and coefficient of variation. As a conclusion the tested methods correlated well especially in the level of isotonic urine. However, the level of the urine specific gravity result is about 30% higher in the AU680 analyzer than in the refractometer, which can be problematic in drug screening. More studies focusing on low concentrated samples are needed.</p>	
Keywords	Method comparison, specific gravity, drug screening

## Sisällys

1	Johdanto	1
2	Virtsa ja sen muodostuminen	3
2.1	Munuaiset	3
2.2	Virtsanmuodostus	5
2.3	Yleisimmät virtsatutkimukset	5
2.4	Virtsanäytteen huumausainetestaus	6
2.5	Parametrit virtsan analysointikelpoisuuden arvioinnissa	7
3	Laitteet ja määrittymenetelmät	10
3.1	Refraktometri	10
3.2	AU680-analysaattori	12
3.3	Menetelmävertailu	15
3.4	Tilastolliset menetelmät	15
4	Opinnäytetyön tarkoitus, tavoitteet ja tutkimuskysymykset	18
5	Opinnäytetyön toteuttaminen	19
5.1	Näytteet	19
5.2	Virtsan suhteellisen tiheyden määrittäminen refraktometrillä	20
5.3	Virtsan suhteellisen tiheyden määrittäminen AU680-analysointilaitteilla	21
5.3.1	Vakiointi ja kontrollit	22
5.3.2	Toistuvuusmittaukset	23
6	Tulokset ja niiden tarkastelu	23
6.1	Laitteiden välinen vertailu	24
6.2	Sarjan sisäinen toistuvuus	29
6.3	Sarjojen välinen toistuvuus	32
6.4	Virtsan kreatiniini ja suhteellinen tiheys	35
7	Pohdinta	36
7.1	Johtopäätökset	36
7.2	Luotettavuus ja eettisyys	40
7.3	Kehittämisehdotukset	41
7.4	Ammatillinen kasvu	42
	Lähteet	43

Liitteet

Liite 1. Laitekohtaiset tulokset

Liite 2. Tuloserot

## 1 Johdanto

Virtsan suhteellisen tiheyden eli ominaispainon mittaaminen on yksi monista virtsanäytteisiin liittyvistä tutkimuksista. Virtsan suhteellisen tiheyden avulla määritetään virtsaan liuenneiden aineiden pitoisuus. Molekyylien ja ionin paino sekä lukumäärä vaikuttavat ominaispainon suuruuteen. (Pasternack 2012: 87.) Liuenneiden aineiden pitoisuus on riippuvainen virtsan määrästä, sillä virtsan kautta kehosta poistuva ylimääräinen vesi laimentaa aineiden pitoisuutta. Ominaispainossa nesteen painon suhdetta verrataan veden ominaispainoon (1,000). Virtsan suhteellisen tiheyden normaalialue on 1,005-1,030. Virtsan suhteellinen tiheys on puhtaan veden ominaispainoa korkeampi virtsan sisältämien suolojen ja muiden partikkelien vuoksi. (Eskelinen 2016.)

Virtsan suhteellista tiheyttä käytetään indikaattorina munuaisten väkevöimiskyvyn ja henkilön hydraatitilan arvioimisessa. Virtsan suhteellisen tiheyden nousu voi viitata esimerkiksi dehydaatioon, raskausmyrkytykseen tai munuaisten heikentyneeseen verenkiertoon. Alentuneet arvot voivat viitata esimerkiksi munuaistubulusten vaurioitumiseen, verenpainetautiin tai antidiureettisen hormonin puutostilaan. (Suhteellinen tiheys virtsasta. 2019.) Henkilön kliinisen tilan arvioinnin lisäksi virtsan suhteellista tiheyttä käytetään huumausaineanalytiikassa varmistamaan, että virtsanäyte on laadukas, käsittelemätön ja analysointikelpoinen, sillä suhteellinen tiheys korreloi virtsan laimeuteen tai väkevyyteen. (Manipulaatiotesti virtsasta. 2016). Muita yleisesti käytettyä tutkimuksia huumeetestaukseen tulleen virtsanäytteen analysointikelpoisuuden varmistamiseksi ovat virtsan kreatiniinipitoisuuden ja pH:n mittaaminen. Yksittäinen mittaustulos ei kuitenkaan ole täysin yhdistettävissä näytteen aitouteen ja kelpoisuuteen, eikä poikkeuksellisen matala tulos välttämättä tarkoita sitä, että tulostaso johtuu manipulaatiosta. Kreatiniini- ja ominaispainomittaukset on suositeltava suorittaa yhdessä, sillä niiden tulokset täydentävät toisiaan. (Suositus huumeainetestauksen suorittamisesta 2008: 104.)

Tämän opinnäytetyön tilaaja on Vita Laboratoriot Oy. Se on suomalainen perheyrittys, joka on tuottanut keskuslaboratoriopalveluita vuodesta 1994 lähtien. Yhtiö on FINAS-akkreditointipalvelun akkreditoima laboratorio. Vita Laboratoriot Oy tekee yhteistyötä saksalaisen 1945 perustetun LADR GmbH, Labor Dr. Kramer & Kollegen kanssa. Kliinisten laboratoriotutkimusten lisäksi Vitin Laboratoriot Oy:n tuotanto on erikoistunut

sisäilma- vesi-, elintarvike-, asbesti- ja hygienia tutkimuksiin. Kliininen laboratoriuopuoli jakautuu eri osa-alueisiin. Kemian ja hematologian alue sisältää yleiset käytössä olevat kliinisen kemian tutkimukset sekä hematologiset tutkimukset ja veren hyytymisanalytiikan. Kliinisen mikrobiologian tutkimukset keskittyvät bakteriologiaan ja virologiaan, parasitologiaan sekä infektioserologiaan ja mykologiaan. Patologin tutkimukset koostuvat PAPA-seulontatutkimuksista sekä histologian ja sytologian tutkimuksista. Laboratorio tuottaa myös erikoisanalytiikkaa ja klinisiin projekteihin liittyvää tutkimusanalytiikkaa. Keskuslaboratorion lisäksi Vitalla on näytteenottopalvelu sekä näytteenottopiste keskuslaboratorion läheisyydessä. (Vita Laboratoriot. 2019.)

Tämän opinnäytetyön tarkoituksena on suorittaa menetelmävertailu virtsan suhteellisen tiheyden mittaamisesta kahden eri menetelmän välillä. Menetelmävertailu on tutkimustyö, jonka lähtökohta on tutkia kahden analyysimenetelmän yhtenevyyttä ja arvioida mittauslaitteesta tai –menetelmästä johtuvaa systemaattisen virheen mahdollisuutta ja suuruutta (Jensen – Kjelgaard-Hansen 2006: 276-278). Uutta analyysimenetelmää verrataan vastaavaan referenssimenetelmään (Nokelainen 2012). Tämän tutkimustyön vertailtavat menetelmät ovat refraktometrinen menetelmä Leica TS Meter Model TS400 manuaalirefraktometrillä ja spektrofotometriä hyödyntävä biokemiallinen menetelmä Beckman Coulter AU680-analysaattorilla. Refraktometrinen menetelmä on tällä hetkellä Vita Laboratoriot Oy:n käytössä oleva menetelmä virtsan suhteellisen tiheyden mittaamisessa ja se toimii tutkimuksessa referenssimenetelmänä. Vertailun tarkoituksena on selvittää menetelmien välinen korrelaatio ja tulostasero. Laitekohtaisia ja laitteiden välistä tulostasoa analysoidaan tilastotieteellisin menetelmin, joiden avulla selvitetään menetelmien vertailukelpoisuus.

Tutkimuksen toiminnallinen osuus suoritettiin Vita Laboratoriot Oy:n kliinisessä keskuslaboratoriossa Helsingin Hernesaassa. Laboratoriossa oli käytössä yksi manuaalinen käsirefraktometri ja kaksi identtistä kemian AU680-analysaattoria, joilla mittaukset virtsan suhteellisesta tiheydestä suoritettiin. Kaikki näytteet analysoitiin molemmilla AU680-analysaattoreilla, jolloin saatiin määritettyä myös laitteiden välinen ero. Tutkimuksessa käytetty näytemäärä oli 36 (n=36), minkä lisäksi toistuvuusmittauksissa käytettiin matala- ja korkeatason kaupallisia (Thermo Scientific) kontrollinäytteitä. Tutkimuksen näytemateriaalina käytettiin huumausaineanalyysissa olleita virtsanäytteitä, joista oli huumetestien yhteydessä mitattu virtsan väkevyttä korreloiva kreatiniinipitoisuus. Näytemateriaali kerättiin siten, että edustettuina oli laimeita, keskilaimia ja väkeviä virtsanäytteitä, mikä antoi menetelmävertailun lisäksi

mahdollisuuden tutkia virtsan suhteellisen tiheyden ja kreatiinipitoisuuden riippuvuutta toisiinsa eri pitoisuustasoissa.

## 2 Virtsa ja sen muodostuminen

Virtsa on elimistöstä poistuvaa nestemäisessä muodossa olevaa kuona-ainetta, jota muodostuu päivittäin noin 1,5 litraa. Vesi, urea ja suolat muodostavat virtsan pääasiallisen koostumuksen. Virtsanmuodostuksen avulla elimistöstä poistuu aineenvaihduntareaktioissa syntyviä haitallisia kuona-aineita, kuten proteiiniaineenvaihdunnan seurauksena muodostuvaa typpipitoista ureaa. Virtsanmuodostuksella on tärkeä rooli myös muissa elimistön tasapainotiloissa, kuten suola-aineenvaihdunnassa, jossa munuaiset säätelevät kaliumin ja natriumin eritystä virtsaan. Munuaiset säätelevät myös elimistön kalsium- ja fosfaattipitoisuuksia vaikuttamalla niiden ionien poistumiseen virtsan kautta sekä aktivoimalla D-vitamiinia, joka vaikuttaa elimistön kalsiumpitoisuuteen. (Vierimaa 2009: 167.)

### 2.1 Munuaiset

Parilliset munuaiset sijaitsevat normaalisti selkärangan molemmin puolin selkälihaksiston ja vatsaontelon takaseinämän välissä. Aikuisen ihmisen munuainen painaa 120-170 g ja on pituudeltaan 11-13 cm, leveydeltään 5-7 cm ja paksuudeltaan 2,5-5 cm. Munuaisen uloin osa on munuaisen kapseli. Sen alla on kuorikerros, jossa primaarivirtsa suodattuu. Munuaisten sisin osa on munuaisallas, jota ympäröi pyramidimidiaksi rakentunut munuaisen ydin. (Pasternack 2012: 14.)

Munuaisen toiminnan perusyksiköitä ovat nefronit, joita nuorella aikuisella ihmisellä on noin miljoona. Nefronit ovat pitkittäin munuaiskudoksessa ja ulottuvat sekä kuori- että ydinalueelle. Nefroni alkaa munuaiskeräsestä, joka muodostuu hiussuonikeräsestä eli glomeruluksesta ja sitä ympäröivästä pikarimaisesta Bowmanin kotelosta. Munuaiskeräsestä lähtee putkimainen munuaistiehyt eli munuaistubulus, joka jakaantuu kolmeen osaan. Alkuosassa on proksimaalinen kiemuratiehyt, keskellä mutkalle taipuva Henlen linko ja lopussa distaalinen kiemuratiehyt. Usean nefronin distaalinen osa laskee yhteiseen kokoojaputkeen, joka yhtyy munuaisalteeseen. (Vierimaa 2009: 168-170.)



Hiussuonikeränen muodostuu kapillaarikeräsestä, jota ympäröi proksimaalisen tubuluksen laajentunut osa, Bowmanin kapseli. Hiussuonikeräsen ympärillä on tuojasuoni ja viejäsuoni. Tuojasuoni on ohut haara, joka lähtee munuaisvaltimosta haarautuvasta pienestä valtimosta. Tuojasuoni tuo verta hiussuonikeräseen. Hiussuonikeräsestä veri lähtee viejäsuonen kautta hiussuoniin ja niistä jakautuviin pieniin laskimoihin. (Vierimaa 2009: 168-170.)

Proksimaalinen tubulus sijaitsee munuaisen kuorikerroksessa. Se asettuu kiemurtelevana rakenteena glomeruluksen ympärille. Kiemuraisessa osassa proksimaalista tubulusta soluissa on solun pinta-alaa kasvattava mikrovilluksista muodostuva nukkapinta. Mikrovillusten pinnalla olevat entsyymit hajottavat suodattuneita molekyylejä sellaiseen muotoon, että ne voivat kulkeutua soluun sisälle. Mikrovillusten tyvien alapuolella on endosytoosirakkuloita, joiden avulla glomeruluksissa suodattuneet proteiinit siirtyvät endosytoosin välityksellä soluun. Proksimaalisten tubulusten solujen tyvessä on ulokkeita, joissa on paljon mitokondrioita. Mitokondriot liittyvät aktiiviseen  $\text{Na}^+\text{-K}^+$ -kuljetukseen. (Pasternack 2012: 23-24.)

Henlen linko on U-kirjaimen muotoinen munuaistubuluksen osa. Sen ohuessa laskevassa osassa on matala epiteeli, jossa on tiiviitä liitoksia. Henlen lingon nousevassa ohuessa osassa on matalia ulokkeellisia soluja. Nousevan ohut osa on ioneja läpäisevä, mutta vettä läpäisemätön. Henlen lingon nouseva paksu osa kulkee glomerulusta kohti ja päättyy ennen glomeruluksen munuaisporttia. Sen macula-densaksi kutsutun osan solut ovat suuria, ulokkeellisia, ja niissä paljon on mitokondrioita. (Pasternack 2012: 24.)

Distaalinen tubulus muistuttaa rakenteeltaan Henlen lingon nousevaa paksua osaa. Solut ovat korkeita ja niiden välissä on paljon mitokondrioita sisältäviä ulokkeita. Soluissa on suuri  $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPaasin}$  aktiiviteetti. Distaalinen tubulus yhtyy liitosputken välityksellä kiemuratiehyn kokoojaputkeen. Kokoojaputken kortikaalisissa kuoriosissa on pääsoluja ja välisoluja. Pääsolut ovat suuria soluja, joiden tyviosa on poimuttunut ja reunoissa on tiiviit liitokset. Välisolut sijaitsevat pääsolujen välissä. A-tyypin välisolujen rakenteessa on  $\text{H}^+\text{-K}^+\text{-ATPaasia}$ , jonka ansiosta  $\text{H}^+$  erittyy ja  $\text{K}^+$  imeytyy takaisin. B-tyypin välisolujen toiminta on päinvastaista. Medullaarisella alueella solut ovat yhä suurempia ja poimuttuneempia. Solun kärkien rakkulat liittyvät anitidiureettisen

hormonin vaikutuksesta solukalvoon ja muodostavat vettä kuljettavia kanavia. (Pasternack 2012: 24-25.)

Jukstaglomerulaarinen kompleksi on glomeruluksen munuaisportissa oleva osa. Se säätelee yksittäisen nefronin toimintaa. Kompleksi erittää reniini-hormonia, joka vaikuttaa verenpaineeseen ja –tilavuuteen. Distaalisen tubuluksen macula-densan solut mittaavat natriumkloridin pitoisuutta virtsasta. Macula-densan solut lähettävät informaation reniiniä tuottaviin soluihin. Natriumkloridin pitoisuuden ja verenpaineen laskiessa reniinin erityis tehostuu. (Pasternack 2012: 25.)

## 2.2 Virtsanmuodostus

Virtsan erityis tapahtuu munuaisissa. Virtsa muodostuu munuaisten kuorikerroksessa sijaitsevassa glomeruluksessa. Paine puristaa primaarivirtsaa hiussuoniseinämien läpi keräsenkoteloon. Suodoksesta erittyy vain pieni osa lopulliseen virtsaan. Keräsenkotelosta virtsa siirtyy Bowmanin kapselin kautta munuaistubuluksen ensimmäiseen osaan, proksimaaliseen tubulukseen. Virtsasta siirtyy ravintoaineita, kuten sokereita ja proteiineja takaisin verenkiertoon. Munuaistubuluksen toiminnan perustana on natriumpumppu, jonka avulla natriumionit kulkeutuvat epiteelisolusta ulos tehokkaammin kuin kaliumionit tulevat sisään. Tubulussolu on negatiivisesti varautunut, jolloin natrium ja muut kationit pystyvät siirtymään tehokkaasti virtsatilasta epiteelisoluun. Virtsan väkevyyttä säädellään proksimaalisen tubuluksen jälkeen Henlen lingossa ja distaalisisessa tubuluksessa. Henlen linko poistaa virtsasta vettä ja väkevöittää sitä. Distaalinen tubulus säätelee virtsan natrium-kaliumtasapainoa, kun aldosteronihormonin vaikutuksesta natriumioneja siirtyy takaisin verenkiertoon ja kaliumia ja vetyioneja imeytyy virtsaan. Virtsa siirtyy kokoojaputken kautta virtsajohtimeen ja virtsarakkoon. Virtsarakko johtaa virtsaputkeen, josta virtsa erittyy ulos elimistöstä. (Pasternack 2012: 26.)

## 2.3 Yleisimmät virtsatutkimukset

Virtsan perustutkimuksiin kuuluu virtsan kemiallinen seulonta ja virtsan partikkelilaskenta. Seulonta suoritetaan testiliuskalla, joka kastetaan virtsaan. Testiliuska on jaoteltu testineliöihin, jotka sisältävät kukin ainetta, joka reagoi värireaktiolla ollessaan kosketuksissa tutkittavan aineen kanssa. Mittavia analyytteja ovat virtsan glukoosi, proteiini, leukosyytit, hemoglobiini, nitriitti, ketoaineet, pH sekä

suhteellinen tiheys. Seulonta ei anna tarkkaa numeerista tulosta, ja poikkeava löydös voidaankin varmistaa tarvittaessa tarkemmalla analyysimenetelmällä. (Kouri 2018.)

Virtsan partikkelilaskennassa lasketaan virtsan sisältämät partikkelit. Peruslaskennassa suoritetaan karkea laskenta (erytrosyytit, leukosyytit, epiteelisolut, lieriöt ja bakteerit). Automaattisessa laskennassa erittely on tarkempaa. Näytteestä erotellaan levyepiteelisolut, välimuotoiset epiteelisolut sekä tubulussolut. Nefrologisessa erittelyssä solujen ja lieriöiden erittely on tarkinta. Virtsan punasolujen muodolle on erillinen tutkimus, mikäli potilaalla on isoitu hematuria. (Kouri 2018.)

Virtsan bakteeriviljelytutkimus liittyy epäilyyn virtsatieinfektiosta. Näyte viljellään laboratoriossa kasvumaljalle tai näytteenottopisteessä viljelyalustalle. Mikäli maljalla todetaan kasvua, arvioidaan löydöksen merkitsevyys. Löydöksenä ilmoitetaan bakteeri ja bakteerien määrä. Mikäli viljelyssä kasvaa bakteereita runsaasti ja infektio on todennäköinen, tutkitaan jatkoviljelyssä myös antibioottiherkkyys. (Eskelinen 2016.)

Virtsaa voidaan tutkia myös patologisilla tutkimuksilla. Virtsaelinten kasvainten ja tulehdusten diagnostiikassa ja seurannassa käytetään virtsan sytologista tutkimusta. Näyte valmistetaan sytosentrifuugimenetelmällä. Suspensioon fiksoidut solut sentrifugoidaan suoraan näytelasille. Näyte värjätään ja tutkitaan mikroskooppisesti. (Virtsan irtosolututkimus. 2019)

## 2.4 Virtsanäytteen huumausainetestaus

Huumausaineiden käyttö on kansainvälisesti merkittävä terveysongelma. Viime vuosikymmenten aikana työelämän huumausainetestaus on yleistynyt monissa maissa ympäri maailmaa (Lin – Lee – Lee – Chen 2018: 380). Huumausainetestä on huumausaineen käytön selvittämiseksi suoritettava testi sekä sen perusteella laadittu selvitys siitä, onko työntekijä tai työhakija käyttänyt huumausaineita pois lukien lääkinnälliset tarkoitukset (Työterveyshuoltolaki 1383/2001 § 3; Huumausainelaki 1289/1993 § 2).

Huumausainetestaus osana sairauden hoitoa vaatii samojen sääntöjen noudattamista kuin kaikissa potilaan terveydentilaa selvittävässä toimenpiteissä. Laboratoriotoinnin harjoittamiseen tulee olla siihen tarkoitettu lupa. Työntekijälle tarkoitettujen huumeiden suorittamiseksi laboratoriolle on asetettu erillisiä laatuvaatimuksia. Laki yksityisyyden

suojasta työelämässä 759/2004, Työterveyshuoltolaki 1383/2001 ja lisäys 760/2005 sekä valtioneuvoston asetus huumausainetestien tekemisestä 218/2005 toimivat perustana Suomen työelämän huumausainetestauksessa. (Huumesuulonnat. 2018). Työnantaja voi tietyissä tilanteissa vaatia työntekijältä todistusta siitä, että hän on osallistunut huumausainetesteihin. Laki yksityisyyden suojasta työelämässä 759/204 määrittää työtehtävät, joissa työnantaja voi vaatia työntekijältä huumausainetestien suorittamista. Sellaisia työtehtäviä ovat tehtävät, joissa työskentely huumausaineiden alaisena tai huumausaineista riippuvaisena voi vaarantaa työntekijän omaa tai toisen henkilön terveyttä, henkeä ja turvallisuutta, tai työnantajan ammatti- ja liikesalaisuuksia. Laki yksityisyyden suojasta työelämässä 759/204 määrittäen mukaan työnantaja voi vaatia työntekijää huumausainetestien suorittamista, mikäli on perusteltua syytä epäillä työntekijän olevan huumausaineiden vaikutuksen alaisena työssä tai olevan riippuvainen huumausaineista.

Valtioneuvoston asetuksen 2005/218 mukaisesti laboratorion tulee olla akkreditoitu, ja huumetestien täytyy sisältyä sen pätevyysalueeseen. Ensivaiheessa saadut positiiviset tulokset on kontrolloitava ja varmistettava. Työpaikkatestauksessa laboratorion on osallistuttava ulkoiseen laadunarviointiin, ja sisäisen laadunohjauksen on toteuduttava kirjallisesti laadittujen ohjeiden mukaisesti. Laboratorion tulee myös huolehtia näytteen jäljitettävyydestä ja henkilökunnan riittävästä koulutuksesta ja osaamisesta. (Suositus huumetestauksen suorittamisesta 2008: 96-97.) Huumausainetestit suoritetaan siten, että hyvä työterveyshuoltokäytäntö ja laboratorion laatustandardit toteutuvat. Testattavan perusoikeudet, yksityisyyssuoja ja henkilökohtainen koskemattomuus on otettava huumausainetestauksessa huomioon. (Valtioneuvoston asetus. 2005.)

## 2.5 Parametrit virtsan analysointikelpoisuuden arvioinnissa

Huumausainetestauksessa täytyy huomioida se mahdollisuus, että testattava voi yrittää manipuloida tai käsitellä virtsanäytettä siten, että positiivisesta testituloksesta tulisi virheellisesti negatiivinen. Yksinkertaisin ja yleisin manipulaatiokeino on runsas veden juonti ennen näytteenottotilannetta, jolloin näyte laimenee niin paljon, ettei mahdollista huumausainetta löydy sellaista määrää, joka johtaisi positiiviseen tulokseen. Virtsanäyte voidaan laimentaa myös näytteenoton jälkeen lisäämällä siihen jälkikäteen vettä tai vaihtamalla annettu näyte joko toisen henkilön näytteeseen tai keinotekoiseen näytteeseen. Näytteeseen on lisäksi mahdollista lisätä huumetestin toiminnan estäviä aineita, kuten soodaa, keittosuolaa tai etikkahappoa. Manipulointiriskin vuoksi

huumenäytteet otetaan asianmukaisissa tiloissa valvotusti. Välittömästi näytteenoton jälkeen näytteestä tutkitaan ulkoisesti sen väri ja lämpötila sekä mieluusti pH. Työelämän huume-testauksessa virtsanäyte jaetaan kahteen putkeen A- ja B-näytteiksi, joista A-näyte analysoidaan ja B-näyte säilötään pakastettuna. Tällä tavalla varmistetaan testattavan oikeusturva. Mahdollisessa riitatilanteessa analyysi voidaan suorittaa koskemattomana säilytetystä sinetöidystä B-putkesta. (Suositus huumeainetestauksen suorittamisesta 2008: 92, 104.)

Laboratoriot määrittävät huumeainenäytteiden analyysikelpoisuuden ja negatiivisten tulosten luotettavuuden erilaisten tutkimusten avulla. Ominaispaino eli suhteellinen tiheys kertoo nesteen painon suhteessa tilavuudeltaan sama määrä vettä. Taulukossa 1 on esitetty virtsan ominaispaino suuruusluokat suhteutettuna virtsan väkevyyteen. Virtsan suhteellinen tiheys mittaa virtsan väkevyyttä eli virtsassa olevien partikkelien pitoisuutta. Molekyylien ja ionien paino sekä lukumäärä vaikuttavat virtsan väkevyyteen. Virtsan suhteellinen tiheys on normaalialueella 1,005-1,030. Sen kasvu nestepaastossa kuvastaa munuaisten väkevöimiskykyä. Virtsaan liuenneiden aineiden pitoisuutta määrittää suhteellisen tiheyden ohessa osmolaalisuus, joka riippuu vain liuenneiden partikkelien lukumäärästä. Virtsan suhteellinen tiheys ja osmolaalisuus ovat normaalisti kytköksissä toisiinsa: 0,001 suuruista ominaispainon kasvua vastaa 30-35 mosm/kg suuruinen osmolaliteetin kasvu. Mikäli suurimolekyyllisiä proteiini- tai glukoosimolekyyliä erittyy paljon virtsaan, suhteellinen tiheys kasvaa suhteessa osmolaliteettiin. Kliinisen tutkimuksen yhteydessä on tällaisessa tilanteessa huomioitava, ettei ominaispaino ilmaise munuaisten väkevöimiskykyä, vaan osmolaliteetti määrittää konsetroimiskyvyn. (Pasternack 2012: 86-87.)

Huumeaineanalytiikassa virtsan suhteellisen tiheyden määrittäminen on yksi menetelmä, joilla voidaan todentaa virtsanäytteen laatu ja aitous. Tiheys on riippuvainen virtsan määrästä. Kun ihminen juo paljon, vesi erittyy virtsaan ja laimentaa virtsaa sekä siinä olevia aineita. Virtsan on oltava tarpeeksi väkevää, jotta liuenneina olevien partikkelien pitoisuus voidaan luotettavasti mitata. (Eskelinen 2016; Pasternack 2012: 87). Matalat arvot viittaavat laimeaan näytteeseen, ja poikkeuksellisen korkeat tulokset voivat kertoa siitä, että näytteeseen on lisätty jotakin ainetta, joka kasvattaa virtsan ominaispainoa. (Suositus huume-testauksen suorittamisesta 2008: 104.)

Taulukko 1. Virtsan suhteellinen tiheys (U-Suhti) virtsan laimeuden ja väkevyyden arvioimisessa (Kouri 2018).

Suhteellinen tiheys	Ominaispaino	Virtsan väkevyys
U-Suhti	1,000-1,005	Laimea virtsa
U-Suhti	1,010-1,015	Isotoninen virtsa
U-Suhti	≥1,020	Väkevä virtsa

Muita keinoja virtsan analyysikelpoisuuden arvioimiseksi ovat virtsan kreatiniinitason ja pH:n mittaus. Kreatiniinia muodostuu lihasten aineenvaihdunnassa kreatiinista ja fosfokreatiinista. Keho pyrkii eroon kreatiinista suodattamalla sitä munuaisten kautta ulos elimistöstä. Normaalitilassa virtsan kreatiinipitoisuus on yli 2,0 mmol/l. Alentunut kreatiinipitoisuus kertoo yleensä näytteen laimeudesta. Mikäli virtsan kreatiinipitoisuus on alle 0,5 mmol/l, ei näyte ole normaalia virtsaa. Taulukossa 2 esitetään virtsan kreatiinipitoisuuden suhde virtsan väkevyyteen ja laimeuteen.

Taulukko 2. Virtsan kreatiini (U-Krea) ja virtsanäytteen väkevyys (Kreatiini. 2019).

Virtsan kreatiini	Kreatiinipitoisuus	Virtsanäytteen laatu
U-Krea	>2,0 mmol/l	Tavanomainen pitoisuus
U-Krea	0,5-2,0 mmol/l	Nesteen runsas juominen
U-Krea	0,5 mmol/l	Ei ole normaalia virtsaa

Suhteellisen tiheyden ja kreatiinipitoisuuden lisäksi virtsan pH-tason mittaaminen toimii menetelmänä laadukkaasti virtsanäytteen arvioimisessa. Normaalisti virtsan pH on hieman hapanta, keskimäärin 5,5-6,5. Virtsan pH ei ole vakio, vaan se vaihtelee

vuorokauden aikana riippuen syödyn ravinnon määrästä ja laadusta. Virtsan alentunut (alle 3) tai kohonnut (yli 11) pH-pitoisuus viittaa siihen, että näytettä on manipuloitu. (Pasternack 2012; 85; Suositus huumeetestauksen suorittamisesta 2008: 104.)

Vita Laboratoriot Oy määrittää huumausainetutkimuksien yhteydessä virtsan aitouden ja analysointikelpoisuuden kreatiniinipitoisuudella ja suhteellisella tiheydellä. Jokaisesta huumausainetutkimukseen tulevasta virtsanäytteestä analysoidaan kemiallisesti virtsan kreatiniinipitoisuus. Mikäli virtsanäytteen kreatiniiniarvo on 2,00 mmol/l tai alle, näytteen aitous ja analysointikelpoisuus tarkistetaan refraktometrisesti suhteellisen tiheyden avulla. Suhteellisen tiheyden on oltava vähintään 1,005, jotta virtsanäyte voidaan todeta analysointikelpoiseksi näytteeksi. Mikäli virtsan kreatiniinipitoisuus on alle 0,5 mmol/l, ei näyte ole normaalia virtsaa. (Huumeselonnat. 2017; Ominaispaino. 2013). Arvioitaessa virtsanäytteen kelpoisuutta on kuitenkin huomioitava, että poikkeavat arvot eivät välttämättä liity manipulaatioon, vaan niiden syynä saattaa olla jokin sairaus tai lääke. Virtsan analysointikelpoisuutta arvioivat mittaukset tukevat toisiaan, ja kreatiniini- ja ominaispainomittauksia suositellaankin käytettävän yhdessä. (Suositus huumesestien suorittamisesta 2008: 105.)

### **3 Laitteet ja määrittämenetelmät**

Opinnäytetyössä vertaillaan kahta eri määrittämenetelmää virtsan suhteellisen tiheyden mittaamisessa. Manuaalisen refraktometrin mittaaminen on refraktometrinen määrittämenetelmä, joka perustuu taitekertoimen mittaukseen. AU680-analysaattori on puolestaan kliinisen kemian analysaattori, jonka määrittäminen suhteellisen tiheyden mittaamisessa perustuu spektrofotometriaan.

#### **3.1 Refraktometri**

Refraktometrejä käytetään liuosten ainepitoisuuksien määrittämiseen. Määrittäminen perustuu taitekertoimen mittaamiseen. Taitekerroin kuvaa aineen optista tiheyttä, joka ilmaisee aineen kykyä taittaa valoa. Taitekerroin mittaa kokonaisheijastuksen rajakulman refraktometrissa olevan prisman ja nesteiden rajapinnassa, ja se on riippuvainen liuenneiden aineiden pitoisuuksista nesteessä. (Wyness – Hunsaker – Snow – Genzen 2016: 66.)

Refraktometrejä käytetään yleisesti virtsan suhteellisen tiheyden määrittämiseen henkilön hydraatiotilan selvittämiseksi ja virtsanäytteen kelpoisuuden testaamiseksi. Manuaalisen Leica TS Meter Model TS400 –refraktometrin (kuvio 1) näytämääräksi riittää muutama pisara virtsanäytettä. Näyte pipetoidaan refraktometrin päässä olevalle prismalle, ja näytelevy lasketaan prisman päälle. Kapillaari-ilmiön ansiosta näyte leviää prisman ja näytelevyn väliseen tilaan. Refraktometriä pidetään kirkkaan valolähteen alla. Keskitettävän tarkasteluosan läpi havaitaan mitta-asteikolle asettunut tumman ja vaalean alueen rajapinta, joka määrittää näytteen suhteellisen tiheyden. Refraktometri on kompensoitu analysoimaan vesipohjaisia näytteitä 16°C – 32,5°C lämpötiloissa. Virtsan suhteellisen tiheyden mittausalue on 1,000-1,050 tarkkuudella +/- 0,001. Refraktometrillä voi virtsan suhteellisen tiheyden lisäksi määrittää seerumin tai plasman proteiinipitoisuuden ja vesipohjaisen näytteen liuenneiden aineiden kokonaispitoisuuden. (Leica TS400. 1999.)



Kuvio 1. Leica TS Meter Model TS400– refraktometri.

Aiempiä vertailevia tutkimuksia refraktometrin ja kemian analysaattorin välisistä määrittämenetelmistä virtsan suhteellisen tiheyden mittaamisessa ei löytynyt. Refraktometrin toimintaan ja laatuun liittyviä tutkimuksia on kuitenkin tehty. Refraktometrillä suoritettava mittaus on reagenssiliuskatestin ohella yleisin mittausmenetelmä suhteellisen tiheyden määrittämisessä. Refraktometrejä on sekä manuaalisia että digitaalisia. Manuaalisen refraktometrin käytön haittapuolena on tulosten subjektiivinen tulkinta, mikä lisää virhemahdollisuuksien määrää. (Wynes ym. 2016: 66.) Stuempflen ja Drury (2003) kirjoittavat *Jornal of Athletic Training* –lehden tutkimusartikkelissa refraktometrin spesifisyydestä virtsan suhteellisen tiheyden mittaamisesta. Tutkimuksessa on mitattu 21 urheilijan virtsanäytteiden suhteellinen tiheys refraktometrillä, hydrometrillä ja reagenssitiliuskoilla. Tutkimuksen mukaan hydrometrin ja reagenssitiliuskojen tulokset ovat selvästi refraktometrin tuloksia



korkeampia, ja ainoastaan refraktometrinen määrittäminen on luotettava tarkkan suhteellisen tiheyden mittaamiseksi.

### 3.2 AU680-analysaattori

AU680-analysaattori (kuviot 2) on kliinisen kemian analysaattori. Analysaattorille sopivat näytetyypit ovat seerumi, plasma, virtsa, kokoveri ja muu neste. Fotometria ja potentiometria ovat AU680:n mittauserätyyppejä. Analysaattorin analyttiset menetelmät ovat kolorimetria, turbidometria, homogeeninen EIA ja epäsuora ISE. AU680-analysaattorin kapasiteetti on fotometrisissä testeissä 800 testiä tunnissa. (AU680 Chemistry Analyzer. 2015.)

Fotometri on laite, joka mittaa absorboitunutta tai transmittoitunutta valoa (Penttilä 2004: 67). Spektrofotometrillä mitataan näytteeseen johdetun ja siitä lähtevän valon intensiteettiä, ja niitä verrataan keskenään. Spektrofotometri muodostuu vähintään jatkuvasti lähtävästä valon lähteestä, kyvetistä ja detektorista. AU680-analysaattorin tulos ilmaistaan transmittanssina (näytteestä lähtevän valon intensiteetin ja näytteeseen johdetun valon intensiteetin suhde) tai prosenttisena transmittanssina. Absorbanssi ja transmittanssi ovat epäsuorasti verrannollisia toisiinsa. Kun näytettä valaistetaan, osa valolähteen säteilystä imeytyy näytteeseen, mitä kutsutaan absorbanssiksi. Mikäli valo läpäisee liuoksen ilman, että näyte absorboi yhtään valon energiaa, on absorbanssi nolla ja transmittanssi 100 %. Kun näyte absorboi 10 % valolähteen energiamäärästä, on prosenttinen transmittanssi 90 %. (AU680 Chemistry Analyzer. 2015.) Lambert-Beerin lain mukaan liuoksessa olevan yhdisteen pitoisuus on suoraan verrannollinen absorbanssiin. Laki kuvataan yhtälöllä:

$$A = abc = -\log T, \text{ jossa}$$

$A$  = absorbanssi

$a$  = yhdisteen absorptiokerroin

$b$  = matka, jonka valo kulkee liuoksessa (kyvetin halkaisija)

$c$  = yhdisteen pitoisuus

T = läpäisseen valon suhde

Laki pätee kuitenkin vain silloin, kun säteilevä valo on yksiväristä, liuoksen yhdisteen pitoisuus sijoittuu lineaariselle mittausalueelle, liuoksessa ei tapahdu kemiallisia reaktioita mittauksen aikana, eikä siinä ole optisesti häiritseviä yhdisteitä, ja kun liuoksen absorptio on merkityksetön verrattuna määritettävän yhdisteen absorbanssiin. Mitattavan yhdisteen absorbanssia ja tunnetun pitoisuuden sisältämän standardin (vakio) aiheuttamaa absorbanssia vertaamalla voidaan laskea määritettävän yhdisteen pitoisuus kaavalla:

$$C_u = A_u/A_c \times C_c, \text{ jossa}$$

$C_u$  = mitattavan yhdisteen pitoisuus

$C_c$  = vakion pitoisuus

$A_u$  = mitattavan yhdisteen absorbanssi

$A_c$  = vakion absorbanssi

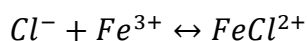
Lineaarisuuden ja konsentraation sekä absorbanssin verrannollisuus on säännönmukaista, eikä toimi korkeilla konsentraatioilla. AU680-analysaattorin reagenssiasetuksista käy ilmi pienin ja suurin pitoisuus, joiden välillä reagenssi toimii lineaarisesti. (AU680 Chemistry Analyzer. 2015; Pekkala 2004: 67.)

AU680-analysaattorin fotometrisessä yksikössä tapahtuu liuoksen yhdisteen määrittäminen optisen mittauksen avulla. Näytteeseen lisätty reagenssi käynnistää kemiallisen reaktion, ja syntyy optinen muutos. Liuokseen johdetaan valonsäde, ja optinen tiheys määritetään mittaamalla absorbanssin määrä. Tätä arvoa käytetään tuloksen laskemisessa. Määritettävän analyytin konsentraatio on joko suoraan tai kääntäen verrannollinen optiseen muutokseen.



Kuvio 2. AU680-analysaattori.

AU680-analysaattorilla suoritettava virtsan suhteellisen tiheyden mittaaminen perustuu kemialliseen reaktioon virtsan kloridi-ionin ja reagenssiliuoksen rautapitoisen perklooraatin välillä. Reaktioyhtälön kaava on:



Virtsan kloridi-ionien pitoisuudella ja suhteellisella tiheydellä on lineaarinen yhteys. Kloridi-ioni ja rautapitoinen perklooraatti vesipohjaisessa happamassa ympäristössä muodostavat  $\text{FeCl}^{2+}$ -kompleksin, jonka absorbanssi määritetään 340 nm aallonpituudella fotometrisellä mittaamenetelmällä. Absorbanssi on suoraan verrannollinen virtsan kloridi-konsentraatioon. Mittausmenetelmä on päätepiestimenetelmä, jossa optinen tiheys mitataan kahdesta mittauspisteestä, joista ensimmäinen on aina 0. Mitattu optinen tiheys OD määritetään seuraavasti:  $\text{OD} = \text{OD}_{\text{viimeinen mittauspiste}} - \text{OD}_{\text{ensimmäinen mittauspiste}}$ . Ensimmäisen mittauspisteeseen antama absorbanssi kuvastaa epäspesifisti reagenssin ja kyvetin antamaa taustaabsorbanssia, joka vähennetään viimeisen pisteen absorbanssista. Näin tulokseksi saadaan vain lopputuotteen antama absorbanssi. (AU680 Chemistry Analyzer. 2015; Gravity-Detect® Test. 2015.)

### 3.3 Menetelmävertailu

Tämä opinnäytetyö on kvantitatiivinen eli määrällinen tutkimus. Kvantitatiivinen tutkimus on tilastollinen tutkimus, jossa numeeriset suureet toimivat asioiden kuvaajina. Tulokset ovat havainnollistettavissa kaavioiden, taulukoiden ja kuvaajien avulla. Kvantitatiivinen tutkimus pyrkii vastaamaan kysymyksiin ”mikä?”, ”missä?” sekä ”kuinka usein ja paljon?”. Tutkimuksessa käytetyn aineiston määrä on suhteellisen suuri. (Holopainen –Pulkkinen 2012: 21). Opinnäytetyössä suoritettiin menetelmävertailu kahden erilaisen analyysimenetelmän välillä. Laitteiden välinen menetelmävertailu on kokeellinen tutkimus, jossa mitataan ja vertaillaan tutkittavaa muuttujaa kahden eri menetelmäperiaatteen välillä siten, että tutkimusolosuhteet ovat samat. (Heikkilä 2014: 15-19.)

Menetelmävertailu on tutkimuksellinen työ, jonka tarkoitus täytyy määrittää. Teoreettisen taustatiedon, vakiointietojen ja reaktiokaavojen tunteminen ovat esimerkkejä tiedoista, joihin tutkimusta ennen on hyvä perehtyä. Uuteen vertailtavaan menetelmään tutustuminen on tärkeää, jotta analysoijan testiparametrien määrittäminen ja reagenssien valmistelu sekä säilytys tapahtuisi oikeaoppisesti ja vaivattomasti. Näytämäärän otoskoon valinta on oleellista, jotta tutkimustuloksia voi analysoida sillä luotettavuuden tasolla, mihin tutkimuksessa pyritään. (Jansen – Mads 2006: 278.)

### 3.4 Tilastolliset menetelmät

Kvantitatiivisen tutkimuksen tulosten tarkastelussa ja havainnoinnissa voidaan käyttää erilaisia tilastollisia menetelmiä. Tilastotieteessä erilaisia menetelmiä käytetään niin tutkimuksen suunnittelu- kuin toteutusvaiheessa. Menetelmien avulla kuvataan ja analysoidaan tilastoaineistoa sekä laaditaan ennusteita. Tässä tutkimuksessa käytettiin tiettyjä tilastollisia menetelmiä tutkimustulosten tarkastelussa, esittelyssä ja analysoinnissa. Tutkimuksen tilastolliset menetelmät valittiin sillä perusteella, mitä tutkimuksessa haluttiin selvittää. Koska opinnäytetyö on luonteeltaan vertaileva tutkimus, on tutkimuksen tärkeimpinä asioina määrittää muuttujien välinen yhteys, riippuvuus ja vertailukelpoisuus.

Menetelmävertailussa tutkimustulosten vaihtelevuutta voidaan tutkia hajontaluvuilla, jotka kuvaavat tulosten hajanaisuutta. Mittaustulokset ovat sitä lähempänä toisiaan,

mitä pienempi hajontaluku on. Keskihajonta on hajontaluku, joka kuvaa sitä, kuinka hajallaan muuttujien arvot ovat keskiarvoon nähden. Aritmeettinen keskiarvo on suoran jakauman tunnusluku, joka kuuluu sijanitulukujen keskilukuihin. Se on yleisesti käytetyin välimatka- ja suhdeasteikon keskiluku. Keskiarvo lasketaan jakamalla havaintojen summa havaintojen lukumäärällä.

Keskihajonta  $s$  on laskettavissa seuraavalla kaavalla (kun muuttujan  $x$  havaintoarvot ovat jonkin perusjoukon otos):

$$s = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2}{n-1}}, \text{ jossa}$$

$\bar{x}$  = havaintojen keskiarvo

$n$  = havaintoarvojen lukumäärä

Variaatiokerroin  $V$  eli suhteellinen hajonta on usein prosentteina ilmoitettava keskihajonnan ja keskiarvon suhde. Sitä käytetään vertailtaessa kahden muuttujan jakauman hajontojen suuruutta. (Holopainen – Pulkkinen 2012: 90.) Variaatiokertoimen kaava on:

$$V = \frac{s}{\bar{x}}$$

Menetelmävertailussa suoritettavissa sarjan sisäisissä ja sarjojen välisissä toistuvuusmittauksissa määritetään muun muassa tulosten hajonta. Mittaussarjan sisäinen toistuvuusmittaus kuvaa sarjan sisällä olevien mittaustulosten keskihajontaa. (Heikkilä 2014: 86). Mittaamisessa käytetään yhtä näytettä, joka on jaettu yhtä suuriin osiin. Se mitataan samalla mittausmenetelmällä mahdollisimman lyhyen ajan sisällä vakio-olosuhteissa. Mittaussarjojen välinen toistuvuusmittaus tarkoittaa sarjojen välistä toistuvuutta, joka mitataan erillisinä mittauskertoina. Sen keskihajonta on sisäisen toistuvuusmittauksen hajontaa suurempi, mutta suurien eroavaisuuksien alkuperä on selvitettävä. (Jaarinen – Niiranen 2005: 12.)

Muuttujien välinen yhteys on tässä työssä oleellista määrittää, sillä tutkimus keskittyy kahden erilaisen analysointimenetelmän välisten tulosten yhteyksien havainnoimiseen. Kun menetelmiä vertaillaan, on niiden yhteyden voimakkuutta tutkittava.

Tilastoaineistoa tutkitaan hajontakuvioiden avulla siten, että muuttujien arvot merkitään pistejoukoksi koordinaatistoon. Pistejoukon yhteyden voimakkuutta, muotoa sekä suuntaa voidaan tutkia tietokoneohjelmien avulla. Mikäli hajontakuviossa on säännönmukaisuutta, tutkitaan muuttujien välistä yhteyttä korrelaatiokerroimen avulla. Korrelaatiokerroin on tilastollinen tunnusluku, jolla mitataan vertailtavien muuttujien välistä yhteyden voimakkuutta eli lineaarista riippuvuutta. Yleisin korrelaatiokerroin on Pearsonin korrelaatiokerroin. (Holopainen – Pulkkinen 2012: 229, 233-235).

Kun muuttujien  $x$  ja  $y$  havaintoarvoista muodostetut havaintoparit on mitattu välimatka- tai suhdeasteikolla, määritetään Pearsonin korrelaatiokerroin  $r$  kaavalla:

$$r = \frac{\sum(x_i - \bar{x})(y_i - \bar{y})}{\sqrt{[\sum(x_i - \bar{x})^2] \cdot [\sum(y_i - \bar{y})^2]}} , \text{ jossa}$$

$x_i$  = muuttujan  $x$  i. havaintoarvo

$\bar{x}$  =  $x_i$ - arvojen keskiarvo

$y_i$  = muuttujan  $y$  i. havaintoarvo

$\bar{y}$  =  $y_i$ -arvojen keskiarvo

Pearsonin korrelaatiokerroin on  $-1$ :n ja  $+1$ :n välille sijoittuva reaaliluku:  $-1 \leq r \leq +1$ . Muuttujien välinen yhteys on sitä voimakkaampi, mitä lähempänä korrelaatiokerroimen itseisarvo on lukua 1. Mikäli korrelaatiokerroin on 0, ovat muuttujat lineaarisesti riippumattomia toisistaan. Jokin muu yhteys voi niiden välillä kuitenkin olla. Vaikka tekijöiden välillä olisi tilastollinen riippuvuus, ei riippuvuus yksissään kuitenkaan selvitä syy-yhteyttä tekijöiden välillä. (Holopainen – Pulkkinen 2012: 234, 259). Selityskerroin eli selitysaste on usein prosenttilukuna ilmoitettava korrelaatiokerroimen neliö  $R^2$  ja se arvioi ennusteen luotettavuutta. Selitysaste kertoo, kuinka paljon  $y$ :n muuttujan vaihtelu on selitettävissä  $x$ -muuttujalla. Pieni selityskerroin kertoo siitä, että muuttuja  $x$  ei juurikaan selitä muuttuja  $y$ :n arvojen vaihtelua, ja suuri selityskerroin puolestaan siitä, että muuttuja  $x$  selittää paljon muuttuja  $y$ :n arvojen vaihtelusta. (Holopainen – Pulkkinen 2012: 277-278.)

Tilastollisen riippuvuuden lisäksi muuttujien välinen yhteys on selvitettävä. Tutkimustulosten pohjalta on määritettävä uuden laitteen tulosten selitettävyyden toisen

laitteen tulosten avulla. Regressioanalyysin tarkoituksena on löytää mahdollinen yhteys muuttujien välillä. Muuttujien välisen yhteyden selvittäminen liittyy oleellisesti tämän opinnäytetyön toteuttamiseen, sillä osana työn tarkoitusta on selvittää laitteiden välisten tulosten yhteys ja selitettävyys toisen laitteen tuloksilla. Tilanteessa, jossa muuttujia on kaksi, on toinen muuttujista selittävä ( $x$ ) ja toinen selitettävä ( $y$ ). Lineaarissa mallissa ilmiötä kuvataan yhdellä selittävällä muuttujalla. Sen mallina käytetty suora on regressiosuora, joka osoittaa muuttujien välisen yhteyden voimakkuutta. Regressiosuoran kaava on:

$$Y = a + bx, \text{ jossa}$$

$y$  = selitettävän muuttujan arvo

$x$  = selittävän muuttujan arvo

$b$  = regressiokerroin eli regressiosuoran kulmakerroin

$a$  = suoran ja  $y$ -akselin leikkauspiste

Kun regressiosuora nousee ylöspäin, on muuttujien välillä positiivinen yhteys, ja kun se laskee alaspäin, on yhteys negatiivinen. Jos regressiosuora on 0, ei lineaarista yhteyttä ole. (Heikkilä 2014: 92.)

#### **4 Opinnäytetyön tarkoitus, tavoitteet ja tutkimuskysymykset**

Tämän opinnäytetyön tarkoituksena oli toteuttaa menetelmävertailu virtsan suhteellisen tiheyden mittaamisesta refraktometrin ja kahden AU680-laitteen välillä. Tutkimuksessa käytetyistä virtsanäytteistä oli mitattu niiden kreatiiniipitoisuus, jonka perusteella näytteet valittiin tutkimukseen. Menetelmävertailun lisäksi tutkimuksen tarkoituksena oli analysoida virtsan suhteellisen tiheyden ja kreatiiniipitoisuuden yhteyttä laimeissa ja väkevissä pitoisuuksissa sekä pohtia niiden välistä riippuvuutta. Opinnäytetyön tutkimuskysymykset ovat:

1. Ovatko refraktometrin ja AU680-analysointilaitteiden antamat virtsan suhteellisen tiheyden tulokset vertailukelpoisia?

2. Onko AU680-analysaattori luotettava virtsan suhteellisen tiheyden mittaamiseen?
3. Ovatko virtsan kreatiniinipitoisuus ja suhteellinen tiheys riippuvaisia toisistaan?

Opinnäytetyön tavoitteena oli nopeuttaa ja selkeyttää Vita Laboratoriot Oy:n henkilökunnan työtä huumausaineanalytiikan tutkimuksissa. Lukuun ottamatta virtsan ominaispainon mittausta kaikki huumausainemittaukset suoritetaan AU680-laitteilla, joten myös virtsan suhteellisen tiheyden mittaamisen siirtäminen AU680:lle tehostaisi analysointiprosessia ja yhdistäisi mittaukset kompaktiin muotoon yhdelle analysaattorille. Mittauksiin kuluva aika vähentyisi, jos kaikki huumausainetutkimukset tehtäisiin yhdellä laitteella. Refraktometrin käyttöön liittyy myös tulkinnanvaraisuuksia tulosten lukemisessa, sillä tulos mitataan okulaarin läpi silmämääräisen arvion mukaan, mikä saattaa aiheuttaa poikkeavuuksia mittaustuloksiin, mikäli tuloksen rajapinta on refraktometrin mitta-asteikolla häilyvä.

## 5 Opinnäytetyön toteuttaminen

Tutkimuksen toiminnallinen osuus oli suunniteltu tarkasti etukäteen. Toiminnallinen osuus muodostui näytteiden keräämisestä, järjestämisestä, mittaamisesta ja säilömisestä, minkä jälkeen tutkimusdataa analysoitiin tilastotieteellisin menetelmin. Käytännön toteutuksen yksityiskohdat suunniteltiin yhdessä laboratorion asiantuntijoiden kanssa laatu, luotettavuus ja eettisyys huomioiden.

### 5.1 Näytteet

Opinnäytetyötä varten ei tarvittu erikseen ottaa näytteitä. Näytemateriaalina käytettiin ulkoisen näytteenoton huumausainemittauksiin tulleita virtsanäytteitä. Opinnäytetyössä käytetty näytemäärä oli 36. Näytteet kerättiin yksitellen syys- ja lokakuun aikana 2018. Laboratorion henkilökunta suoritti päivärutiiniensa mukaisesti virtsanäytteiden huumausaineanalyysin AU680-analysaattorilla. Analyysiin sisältyi virtsan väkevyyttä korreloiva kreatiniinipitoisuuden määrittäminen. Mittausten jälkeen tarkistettiin analysaattorin analyttikohtaisesta tuloslistasta analysoitujen näytteiden kreatiniinipitoisuuden. Valitsin tutkimusta varten mahdollisimman laajan otoksen näytteitä siten, että edustettuina oli kreatiniinipitoisuudeltaan laimeita, keskilaimeita ja väkeviä näytteitä. Kaikkia näytteitä ei pystytty keräämään samana päivänä, sillä haluttuun otosjoukkoon kuuluneita laimeita ja poikkeuksellisen väkeviä virtsanäytteitä ei saapunut laboratorioon päivittäin.

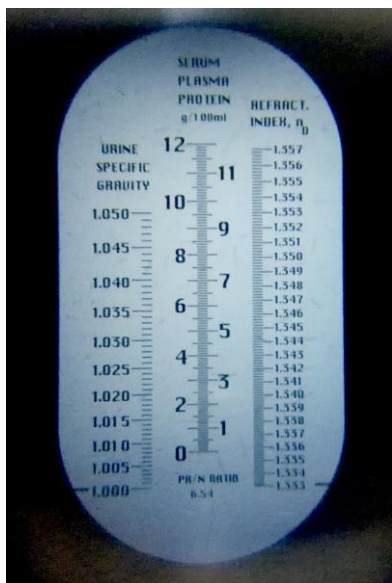


Kun näyte oli valittu tutkimukseen, alkuperäisestä näyteputkesta pipetoitiin virtsaa erilliseen koeputkeen. Uudet näyteputket merkittiin juoksevalla numerojärjestyksellä, eikä niissä ollut näkyvillä potilaiden henkilötietoja. Putket järjestettiin putkitelineeseen kreatiniinipitoisuuden mukaan laimeasta väkevään. Näytenumero ja kreatiiniarvo kirjattiin Excel-taulukkoon samassa järjestyksessä. Alkuperäiset näytteet menivät mittausten jälkeen laboratorion omaan arkistoon.

## 5.2 Virtsan suhteellisen tiheyden määrittäminen refraktometrillä

Ennen opinnäytetyön aloittamista tutustuin refraktometrin määrittämenetelmään ja yleispiirteisiin, minkä jälkeen perehdyin laboratorion henkilökunnan kanssa refraktometrin oikeaoppiseen käyttöön. Käyttöperehdytyksen jälkeen harjoittelin suhteellisen tiheyden mittaamista harjoitusnäytteillä, ja henkilökunta varmisti tulokset oman mittaukseni jälkeen.

Tutkimustyö alkoi näytteiden keräämisellä. Kunkin virtsanäytteen suhteellinen tiheys mitattiin refraktometrillä välittömästi sen jälkeen, kun näyte oli valittu kreatiniinipitoisuuden perusteella osaksi tutkimusta. Refraktometrin kunto tarkistettiin ennen mittausten aloittamista. Kalibrointi tarkistettiin tislattun veden avulla. Refraktometrin prisman päälle pipetoitiin 1-2 tippaa vettä ja sen kansi suljettiin. Kantta sulkiessa huomioitiin, että neste levisi tasaisesti koko prisma-alueelle. Tämän jälkeen mittaustulos luettiin okulaarin läpi näkökentän vasemman puoleisesta Urine Specific Gravity –mitta-asteikosta (kuva 3). Asteikolle syntyi vaalea ja tumma alue, joiden välinen rajapinta oli oikea lukemakohta. Kun tulos oli 1,000, oli kalibrointi kunnossa, ja varsinaisten näytteiden mittaaminen saattoi alkaa. Kalibroinnin tarkistus onnistui jokaisella kerralla, joten kalibrointia ei tarvinnut tehdä tutkimuksen aikana kertaakaan.



Kuvio 3. Refraktometrin mitta-asteikko okulaarin läpi katsottuna.

Näytteiden mittaaminen suoritettiin samalla periaatteella kuin vesinäytteen mittaaminen. Ennen mittausta refraktometrin prisma puhdistettiin tislattulla vedellä ja kuivattiin nukkaamattomalla paperilla. Näytettä pipetoitiin noin kaksi pisaraa prisman päälle siten, ettei pipetti koskenut prisman pintaa. Kansi suljettiin heti pipetoinnin jälkeen, ja tulos luettiin okulaarin läpi näkökentällä näkyvältä mitta-asteikolta. Näkökenttä näkyi parhaiten siten, että mittari suunnattiin kirkasta valoa kohti. Käytön jälkeen prisma puhdistettiin tislattulla vedellä ja 80 %:lla denaturoidulla etanolilla. (Ominaispaino. 2013.)

Kunkin näytteen kohdalla saadut mittaustulokset kirjattiin välittömästi Excel-taulukkoon. Näytteen mittaamisen jälkeen näytteet siirrettiin pakastimeen odottamaan seuraavaa analysointivaihetta, joka suoritettiin sen jälkeen, kun kaikki näytteet tutkimusta varten oli kerätty.

### 5.3 Virtsan suhteellisen tiheyden määrittäminen AU680-analysointilaitteilla

Ennen tutkimuksen aloittamista AU680-analysointilaitteille määritettiin testikohtaiset parametrit virtsan suhteellisen tiheyden mittaamiseksi (kuvio 4). Määrittämisen parametrit tutkimusta ohjaavan asiantuntijan kanssa valmistajan (Thermo Scientific) ohjeen Gravity-Detect Application mukaisesti. Parametrimäärittäminen sisälsi testispesifikaatioita, kuten reagenssivolyymien (120 µl) ja näytevolyymien (6 µl) sekä mittaustapahtuman (päätepistemittaus) ja –aallonpituuden, jossa mittaustapahtuu

(340 nm). En tarvinnut AU680-analysaattoreiden käyttöön erillistä perehdytystä, sillä olen työni puolesta käyttänyt kyseisiä analysaattoreita paljon klinisen kemian tutkimuksissa, joten ne ovat minulle menetelmiltään ja käyttöperiaatteiltaan tuttuja.

Kuvio 4. Suhteellisen tiheyden testikohtaiset parametrin AU680-analysattorin tietokonenäytöllä.

### 5.3.1 Vakiointi ja kontrollit

Tutkimuksessa käytettiin Thermo Scientificin testikohtaisia kontrolli- ja kalibraattoriliuoksia. Kontrolli- ja kalibraattoriliuokset olivat vesipohjaisia natriumkloridiliuoksia, joilla oli määritetyt ominaispainot. Kalibraattoriliuoksia oli kaksi: matala taso 1,010 (Low Specific Gravity Calibrator) sekä korkea taso 1,030 (High Specific Gravity Calibrator). Kontrolliliuoksia oli myös kaksi tasoa: 1,015 (Level 1) ja 1,030 (Level 2). Valmistajan testipakettiin kuului lisäksi käyttövalmis reagenssi, joka muodostui rautapitoisesta perklooraatista vesipohjaisessa happamassa liuoksessa.

Ennen tutkimusnäytteiden mittausta kontrollinäytteet analysoitiin kymmenenä eri päivänä molemmilla analysaattoreilla. Tulokset siirtyivät automaattisesti analysaattoreiden tietokoneille, ja lisäksi tulostin niistä paperiset versiot. Tutkimusnäytteiden analysointi suunniteltiin etukäteen niin, että tutkimushetkellä analysaattorit olivat vapaana muusta käytöstä. Valmistajan kitti-insertin mukaan oli suositeltavaa käyttää tuoreita näytteitä, mutta mikäli näytteiden analysointi ei tapahtuisi

seitsemän päivän sisällä näytteenotosta, tulisi näytteet pakastaa. Yhdessä laboratorion kemistien kanssa käydyn palaverin jälkeen sovimme, että näytteet säilötään pakastimeen refraktometrin mittauksen jälkeen ja analysoidaan kaikki samana päivänä. Näytteet analysoitiin manuaalisen pyynnön kautta molemmilla AU680-analysaattoreilla peräjälkeen. Tulokset siirtyivät tietokoneelle, jonka kautta niistä tulostettiin myös paperiset versiot. Mittaustulokset kirjattiin Excel-taulukkoon heti analysoinnin jälkeen.

### 5.3.2 Toistuvuusmittaukset

Menetelmävertailun suorittamiseen kuului varsinaisten näytteiden analysoinnin lisäksi toistuvuusmittaukset, joilla mitataan toistomittausten hajontaa. Ne tehtiin sarjan sisäisesti sekä sarjojen välisesti. Sarjan sisäiset mittaukset tehtiin neljällä virtsanäytteellä, jotka valittiin mittauksiin ominaispainoltaan ja kreatiniinipitoisuudeltaan siten, että edustettuna oli niin laimea, normaali kuin väkevä virtsanäyte. Kukin näyte jaettiin kymmeneen osaan, ja ne mitattiin molemmilla AU680-analysaattoreilla peräjälkeen.

Sarjojen väliset toistuvuusmittaukset tehtiin ennen tutkimusnäytteiden analysointia kontrollinäytemittauksilla. Molemmat kontrollitasot mitattiin kummallakin analysaattorilla kymmenenä eri päivänä. Mittausolosuhteet pyrittiin pitämään vakiona, ja kaikkien mittausten kohdalla näytteiden valmistelu, mittaus ja tulosten kirjaaminen tapahtuivat yhtenevästi.

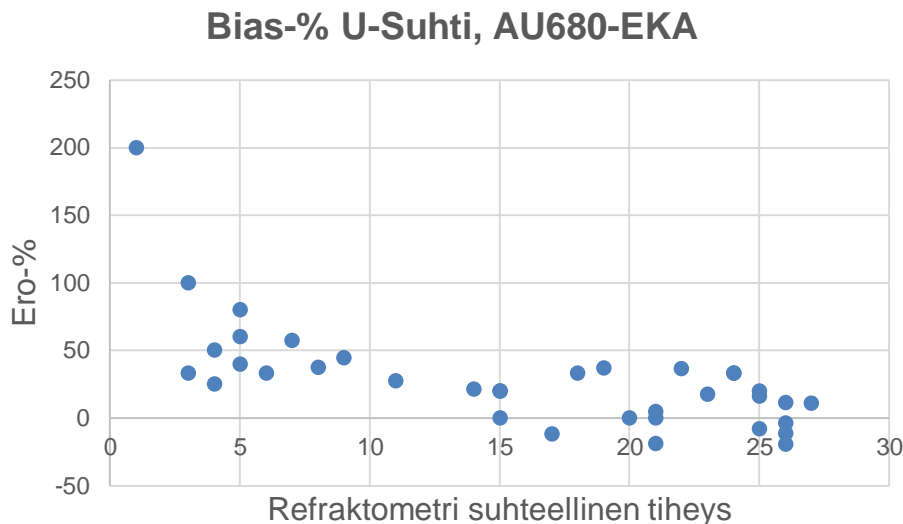
## 6 Tulokset ja niiden tarkastelu

Menetelmävertailussa käytettiin 36 virtsanäytettä. Virtsanäytteet valikoituivat tutkimukseen niiden kreatiniinipitoisuuden mukaan. Tarkoituksena oli saada tutkimukseen mahdollisimman paljon eri pitoisuustasoja. Tutkimuksessa käytettyjen virtsanäytteiden kreatiniinipitoisuudet sijoituivat välille 0,49-38,64 mmol/l. Tutkimuksessa käytetyt virtsanäytteet jaetaan kreatiniinipitoisuuden mukaisesti eri ryhmiin. Näytteiden kreatiniinipitoisuudet jakoutuivat seuraavasti: 0-1 mmol/l: kuusi (n=6) kappaletta, 2-9 mmol/l: 10 (n=10) kappaletta, 10-15 mmol/l: kahdeksan (n=8) kappaletta, 16-20 mmol/l: 5 (n=5) kappaletta ja 21-39 mmol/l: seitsemän (n=7) kappaletta. Tulosten välisten eroprosenttien ja variaatiokertoimien (CV-%) määrittämisen mahdollistamiseksi suhteellisen tiheyden arvoista vertaillaan kahta viimeistä desimaalia kokonaislukuina (esimerkiksi 1,020 -> 20.) (liite 1).

## 6.1 Laitteiden välinen vertailu

Refraktometrillä mitatut suhteellisen tiheyden arvot sijoittuvat välille 1,001-1,027. AU680-EKA:n tulokset sijoittuvat välille 1,003-1,032 ja AU680-TOKA:n tulokset välille 1,003-1,033. Suurin yksittäisen näytteen ero refraktometrin ja AU680- EKA:n välillä on 0,008 ja refraktometrin ja AU680-TOKA:n välillä 0,009 (liite 1). Refraktometrin ja AU680-EKA:n välisten tulosten ero prosenttien keskiarvo on 28,6 %. Refraktometrin ja AU680-TOKA:n välisten tulosten keskiarvo on puolestaan 27,7 % (liite 2).

Kuvioiden 5 ja 6 koordinaatiston havaintopisteet edustavat refraktometrin tuloksia ominaispainoluokittain. Siniset havaintopisteet sijoittuvat koordinaatistoon refraktometrin ja AU680-analysaattoreiden välisten ero prosenttien mukaisesti.

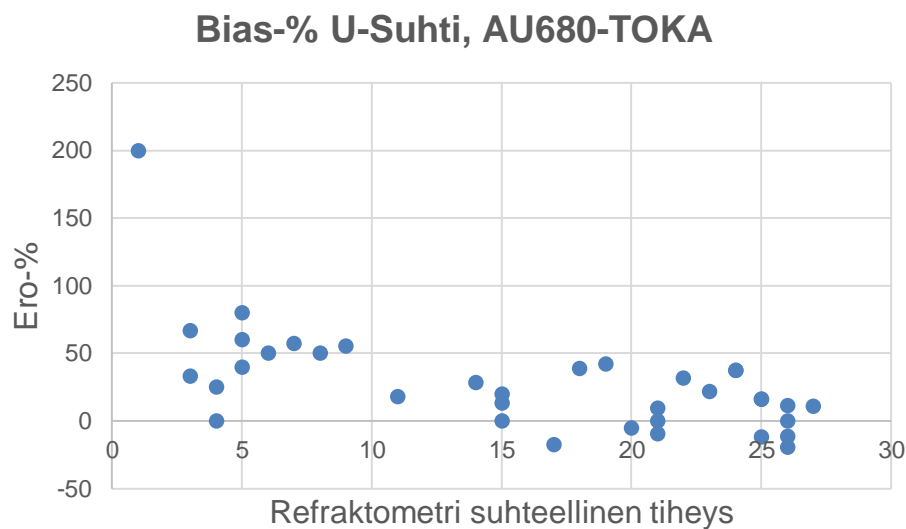


Kuvio 5. Refraktometrin tulokset koordinaatistossa refraktometrin ja AU680-EKA:n välisten tulosten ero prosenttien mukaisesti.

Kuviossa 5 tarkastellaan refraktometrin ja AU680-EKA:n välisiä tuloksia niiden ero prosenttien avulla. Havaintopisteet sijoittuvat koordinaatistoon siten, että x-akselilla on refraktometrin suhteellisen tiheyden tulokset ja y-akselilla refraktometrin ja AU680-EKA:n välisten tulosten ero prosentit. Koordinaatistosta käy ilmi, että refraktometrin tulokset ovat hajaantuneet pystysuunnassa melko tasaisesti riippumatta ominaispainon arvosta, mikä kertoo siitä, että refraktometrin ja AU680-EKA:n tulosten välistä ero prosenttien vaihtelua esiintyy niin suurissa kuin pienissä ominaispainoarvoissa. Suurin osa havaintopisteistä on 0-rajana yläpuolella, eli AU680-EKAN:n tulokset ovat

enimmäkseen refraktometrin tuloksia korkeampia. Negatiivisia eroprosentteja ei esiinny ennen kuin suhteellinen tiheys ylittää refraktometrimittauksessa arvon 1,015. Ensimmäinen havaintopiste on yksittäisenä pisteenä muita havaintoarvoja selvästi ylempänä, eli eroprosentti on sen kohdalla ollut poikkeuksellisen korkea.

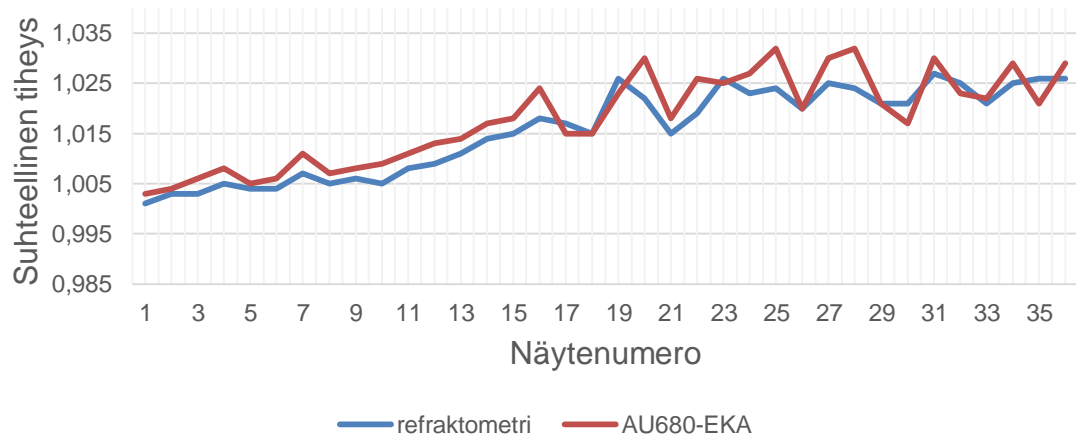
Kuviossa 6 havainnoidaan eroprosentin avulla refraktometrin ja AU680-TOKA:n välisiä tuloksia. Kuvio on hyvin samankaltainen kuin kuvio 5. Kuviossa 6 havaintopisteet ovat hajaantuneet pystysuunnassa melko tasaisesti ominaispainosta riippumatta. Ensimmäinen havaintopiste on selvästi muita havaintopisteitä korkeammalla, kuten kuviossa 5, eli refraktometrin matalimman tuloksen ja AU680-TOKA:n sitä vastaavan tuloksen välinen eroprosentti on erityisen korkea. Havaintopisteet sijoittuvat suurimmaksi osaksi 0-rajaa yläpuolelle, eli AU680-TOKA:n tulostaso on ollut yksittäisiä poikkeuksia lukuun ottamatta refraktometrin tulostasoa korkeampi.



Kuvio 6. Refraktometrin tulokset koordinaatistossa refraktometrin ja AU680-TOKA:n välisten tulosten eroprosenttien mukaisesti.

Refraktometrin ja molempien AU680-analysointilaitteiden välisissä tuloksissa 29 näytettä 36 näytteestä on korkeampia AU680-analysointilaitteilla (liite 1). Kuvioissa 7 ja 8 on esitetty refraktometrin ja AU680-analysointilaitteiden väliset mittaustulokset viivadiagrammin avulla havainnollistettuna.

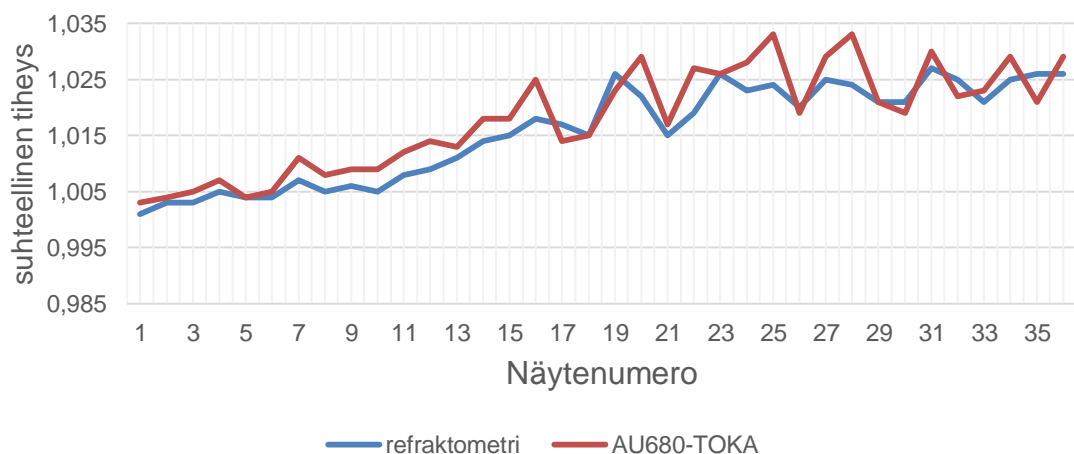
### Refraktometrin ja AU680-EKA:n tulokset



Kuvio 7. Refraktometrin ja AU680-EKA:n tulokset 36 virtsanäytteen suhteellisesta tiheydestä.

Kuvion 7 viivadiagrammin punainen viiva edustaa AU680-EKA:n tuloksia ja sininen viiva refraktometrin tuloksia. Viivadiagrammi havainnollistaa, että AU680-EKA:n tulostaso on refraktometrin tulostaso korkeampi. Näytteeseen 16 asti kaikki AU680-EKA:n tulokset ovat refraktometrin tuloksia korkeampia. Näytteissä 16-36 tulostaso on AU680-EKA:lla suurimmaksi osaksi refraktometrin tulostaso korkeampi, mutta hajanaisuus on kasvanut ja muutamien yksittäisten näytteiden kohdalla refraktometrin tulos on AU680-EKA:n tulosta korkeampi.

### Refraktometrin ja AU680-TOKA:n tulokset



Kuvio 8. Refraktometrin ja AU680-TOKA:n tulokset 36 virtsanäytteen suhteellisesta tiheydestä.

Kuvioista käy ilmi 8, että AU680-TOKA:n tulostaso on samankaltainen AU680-EKA:n tulostason kanssa. AU680-TOKA:n tulokset ovat refraktometrin tuloksia korkeampia näytteeseen 16 asti lukuun ottamatta näytettä 5, jonka tulos on AU680-TOKA:lla ja refraktometrillä sama. Näytteestä 16 eteenpäin tuloksissa esiintyy hajanaisuutta, ja kuten AU680-EKA:n kohdalla, myös AU680-TOKA:n tuloksia käsittelevässä viivadiagrammissa havaitaan vain yksittäisiä näytteitä, joiden tulos on AU680-analysaattorilla refraktometrin tulosta matalampi.

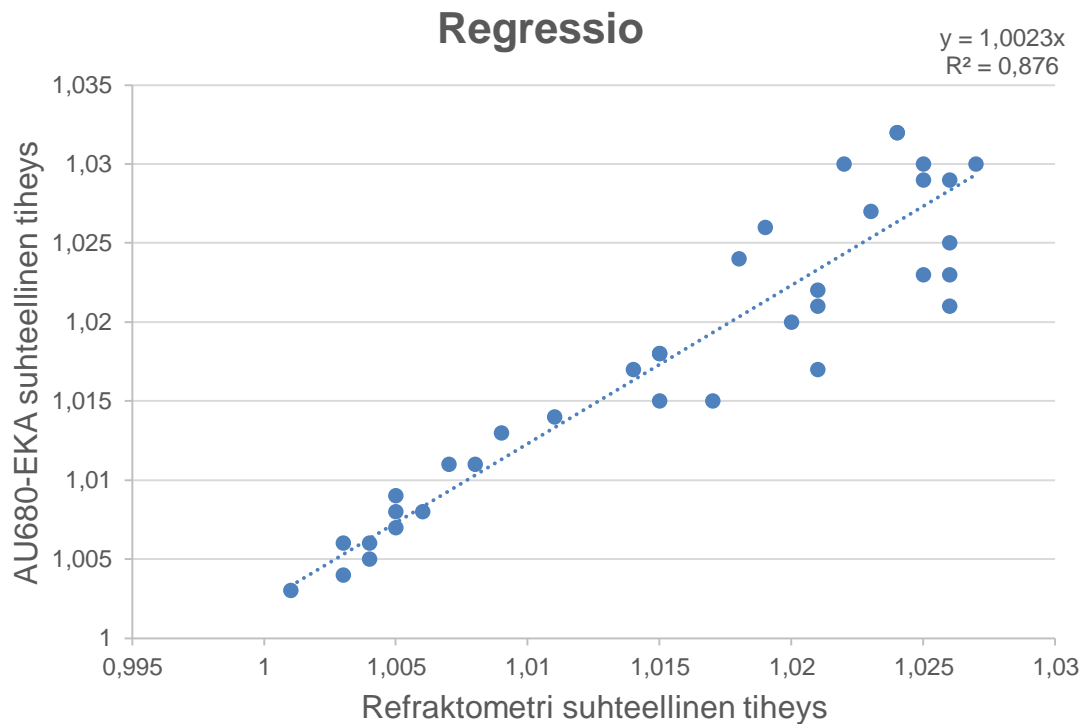
Taulukossa 3 esitetään kunkin virtsanäytteen kreatiniiniarvo. Kun näytteiden kreatiniiniarvot otetaan tarkastelussa huomioon, ilmenee, että hajanaisuutta esiintyy eniten väkevissä pitoisuuksissa. Kaikissa mittauksissa näytteet 1-36 ovat kreatiniinipitoisuuden mukaisessa järjestyksessä laimeasta väkevään. Näytejärjestys pysyi tutkimuksen ajan samana. Laimeissa arvoissa tulokset ovat yhdenmukaisempia, mutta merkille pantavaa on se, että AU680-analysaattoreiden tulostaso on kauttaaltaan refraktometrin tulostaso korkeampi.

Taulukko 3. Tutkimusnäytteiden kreatiniinipitoisuudet.

Näyte	U-Krea mmol/l	Näyte	U-Krea mmol/l
1	0,49	19	11,93
2	1,14	20	12,72
3	1,16	21	13,38
4	1,21	22	14,53
5	1,63	23	15,33
6	1,65	24	15,76
7	2,31	25	16,41
8	2,43	26	16,49
9	2,96	27	17,99
10	3,00	28	18,94
11	3,40	29	19,38
12	4,57	30	22,11
13	5,89	31	23,03
14	6,15	32	26,18
15	7,99	33	29,28
16	8,56	34	30,01
17	10,12	35	32,24
18	10,42	36	38,64



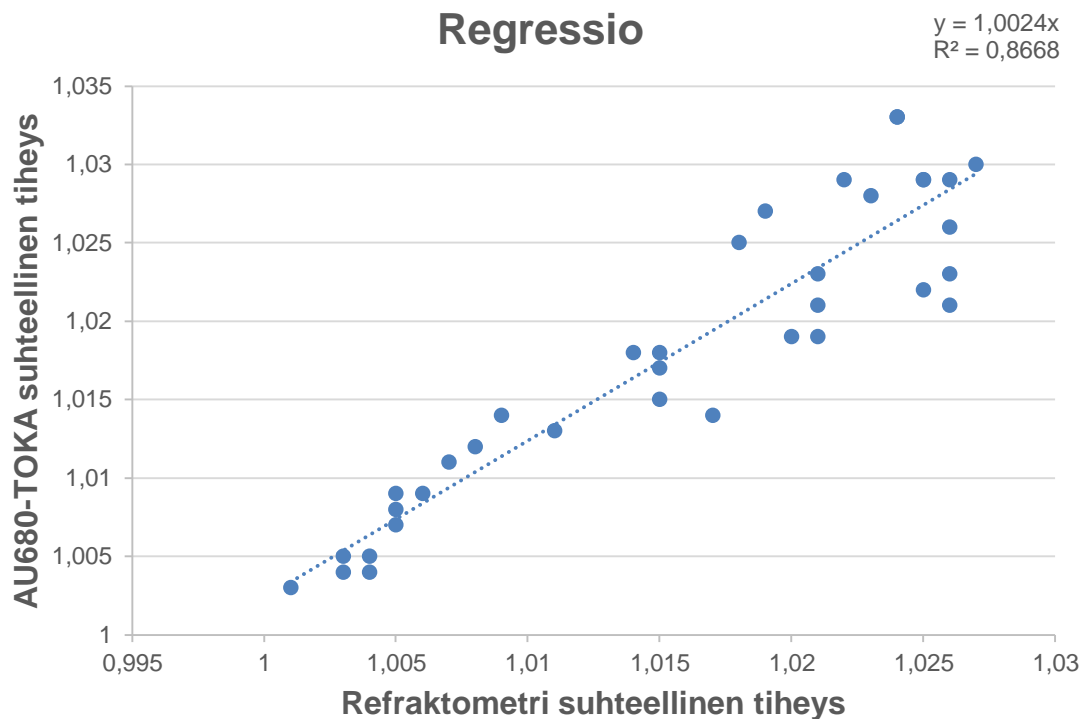
Regressioanalyysin avulla voidaan tarkastella refraktometrin hajontakuviota, johon on lisätty lineaarinen trendiviiva. Kuviossa 9 refraktometrin ja AU680-EKA:n tuloksista on määritetty hajontakuviota sekä regressiosuora ja –yhtälö. Havaintopisteet sijoittuvat melko lähelle regressiosuoraa suoran alkuosassa suhteellisen tiheyden ollessa välillä 1,000-1,015. Suhteellisen tiheyden arvon 1,015 ylittyessä havaintopisteissä esiintyy alkuosaa enemmän hajonaisuutta, mikä kertoo tulosten erovaisuudesta menetelmien välillä. Regressiosuoran yhtälö on  $y = 1,0023x$ . Pearsonin korrelaatiokerroin on 0,936, mikä tarkoittaa sitä, että tulosten välillä on voimakas positiivinen lineaarinen riippuvuus. Selitysasteen ( $R^2 = 0,87602$ ) mukaan refraktometrin avulla pystytään selittämään 87,6 % AU680-EKA:n tulosten arvojen vaihtelusta. Regressiokerroin 1,0023 ilmoittaa, että refraktometrin tuloksen noustessa yhden yksikön AU680-EKA:n tulos nousee 1,0023 yksikköä.



Kuvio 9. Hajontakuviota, regressiosuora ja –yhtälö refraktometrin ja AU680-EKAN:n tuloksista.

Kuviossa 10 on esitetty hajontakuviota ja regressiosuora sekä –yhtälö refraktometrin ja AU680-TOKA:n tuloksista virtsan suhteellisesta tiheydestä. Kuten refraktometrin ja AU680-EKA:n tulosten hajontakuviota, havaintopisteet sijoittuvat 1,000-1,015 välisellä alueella melko lähelle regressiosuoraa sen molemmiin puolin. Kun suhteellisen tiheyden arvo ylittää arvon 1,015, hajontapisteiden etäisyys regressiosuorasta kasvaa.

Regressiosuoran yhtälö on  $y = 1,0024x$ . Korrelaatiokerroin on 0,931, mikä kertoo voimakkaasta positiivisesta lineaarisesta riippuvuudesta refraktometrin ja AU680-TOKA:n tulosten välillä. AU680-TOKAN tulosten vaihtelusta 86,7 % ( $R^2=0,866676$ ) on selitettävissä refraktometrin tulosten avulla. Regressiokerroin 1,0024 ilmaisee, että kun refraktometrin tulos nousee yhden yksikön, AU680-TOKA:n tulos nousee 1,0024 yksikköä. Regressiokerroin on 0,0001 yksikköä suurempi kuin AU680-EKAN ja refraktometrin välisissä tuloksissa.



Kuvio 10. Hajontakuvi, regressiosuora- ja yhtälö refraktometrin ja AU680-TOKA:n tuloksista

## 6.2 Sarjan sisäinen toistuvuus

Sarjan sisäiset toistuvuusmittaukset tehtiin neljällä virtsanäytteellä, joiden kreatiinipitoisuudet ovat 1,16 mmol/l, 7,99 mmol/l, 15,76 mmol/l ja 26,16 mmol/l. Toistuvuusmittaukset tehtiin 10 mittauksen sarjoissa. Näyte jaettiin kymmeneen yhtä suureen osaan ja analysoitiin peräjälkeen kummallakin analysaattorilla. Taulukoissa 4 ja 5 esitetään toistuvuusmittausten laitekohtaiset tulokset, keskiarvot, keskihajonnat ja CV-prosentit.

Taulukko 4. AU680-EKA:n sarjan sisäinen toistuvuus (\*CV% laskettu kahden viimeisen desimaalin tarkkuudella kokonaislukuna).

<b>AU680-EKA</b>				
Mittaus- kerta	Näyte 1 (Krea 1,16 mmol/l)	Näyte 2 (Krea 7,99 mmol/l)	Näyte 3 (Krea 15,76 mmol/l)	Näyte 4 (Krea 26,18 mmol/l)
	U-suhti	U-suhti	U-suhti	U-suhti
1	1,004	1,016	1,026	1,022
2	1,005	1,017	1,026	1,021
3	1,005	1,017	1,027	1,022
4	1,005	1,016	1,026	1,021
5	1,005	1,017	1,027	1,022
6	1,006	1,017	1,026	1,022
7	1,006	1,017	1,026	1,021
8	1,006	1,017	1,027	1,022
9	1,005	1,017	1,027	1,022
10	1,005	1,016	1,027	1,023
Keskiarvo	1,0052	1,0167	1,0265	1,0218
Keskihajonta	0,0006	0,0005	0,0005	0,0006
CV% *	12,1626	2,8924	1,9889	2,9012

Taulukon 4 mukaisesti näytteiden 1 ja 2 sarjan sisäisten mittausten keskihajonta on AU680-EKA:lla 0,0006 ja 0,0005, ja näytteiden 3 ja 4 keskihajonta on 0,0005 ja 0,0006. AU680-EKA:n toistuvuusmittausten CV% ovat: näyte 1: 12,16, näyte 2: 2,89, näyte 3: 1,99 ja näyte 4: 2,90.

Taulukko 5. AU680-TOKA:n sarjan sisäinen toistuvuus.

<b>AU680-TOKA</b>				
Mittaus- kerta	Näyte 1 (Krea 1,16 mmol/l)	Näyte 2 (Krea 7,99 mmol/l)	Näyte 3 (Krea 15,76 mmol/l)	Näyte 4 (Krea 26,18 mmol/l)
	U-suhti	U-suhti	U-suhti	U-suhti
1	1,005	1,017	1,027	1,023
2	1,006	1,017	1,028	1,022
3	1,006	1,017	1,028	1,022
4	1,005	1,018	1,028	1,022
5	1,005	1,017	1,028	1,022
6	1,006	1,018	1,028	1,022
7	1,005	1,017	1,028	1,022
8	1,005	1,018	1,028	1,022
9	1,005	1,017	1,027	1,023
10	1,005	1,018	1,028	1,022
Keskiarvo	1,0053	1,0174	1,0278	1,0222
Keskihajonta	0,0005	0,0005	0,0004	0,0004
CV%*	9,1141	2,9678	1,5167	1,8993

AU680-TOKA:n mittauksissa näytteiden 1 ja 2 sarjan sisäisten mittausten keskihajonta on molemmissa näytteissä 0,0005, ja näytteiden 3 ja 4 mittausten keskihajonta on molempien näytteiden osalta 0,0004. AU680-TOKA:n tulosten matalin CV% on 1,52 (näyte 3) ja korkein 9,11 (näyte 1). Näytteen 2 CV% on 2,97 ja näytteen 4 CV% on 1,99 (taulukko 5).

Sarjan sisäiset toistuvuusmittausten tulokset eivät juurikaan eroa toisistaan. Ero yksittäisen näytteen korkeimman ja matalimman arvon välillä oli suurimmillaan 0,003 huomioiden molempien AU680-analysaattoreiden tulokset. Kaikissa näytteissä on matala keskihajonta, mikä kertoo tulosten yhtenevyydestä. Myös CV-prosentit ovat valtaosin matalia, mikä kertoo siitä, etteivät tulokset poikenneet juurikaan toisistaan.

### 6.3 Sarjojen välinen toistuvuus

Sarjojen väliset toistuvuusmittaukset tehtiin kymmenenä eri päivänä valmistajan kontrollinäytteillä, joiden ominaispainot ovat 1,015 ja 1,030. Taulukossa 6 on esitetty AU680-EKA:n mittaussarjan tulokset.

Taulukko 6. AU680-EKA:n sarjojen välinen toistuvuus.

<b>AU680-EKA</b>		
Mittauspäivä	Low-kontrolli	High-kontrolli
1	1,014	1,030
2	1,015	1,030
3	1,013	1,031
4	1,014	1,030
5	1,014	1,031
6	1,014	1,031
7	1,015	1,031
8	1,014	1,031
9	1,014	1,030
10	1,014	1,030
Keskiarvo	1,0141	1,031
Keskihajonta	0,0006	0,0005
CV%*	4,0259	1,7280

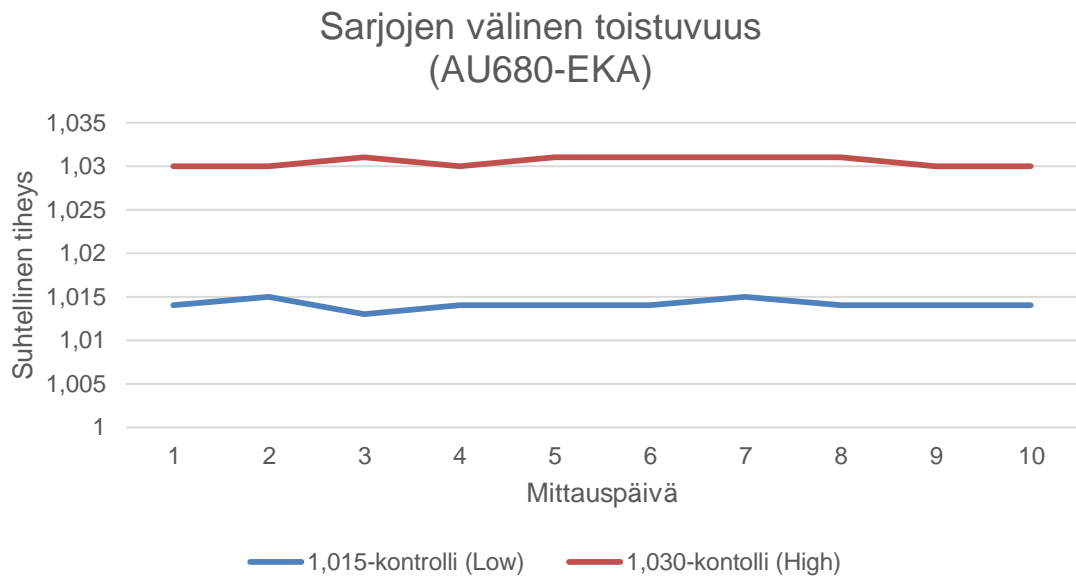
Taulukosta 6 käy ilmi, että matalan tason kontrollinäytteen toisen ja seitsemännen mittauspäivän tulos on sama kuin kontrollinäytteen määritetty ominaispaino (1,015). Muiden mittauspäivien tulos on 1,014 lukuun ottamatta kolmannen mittauspäivän tulosta 1,013. Korkean kontrollitason mittauksissa 50 % tuloksista vastaa täysin kontrollinäytteen määritettyä ominaispainoa (1,030). Loput tuloksista ovat 1,031, eli määritettyä tasoa hiukan korkeampia. Matalan kontrollitason toistomittausten keskiarvo on 1,0141, keskihajonta 0,0006 ja CV% 4,03. Korkean tason kontrollinäytteestä mitattujen toistomittausten keskiarvo on 1,031, keskihajonta 0,0005 ja CV% 1,73.

Taulukossa 7 on esitetty AU680-TOKA:n sarjojen välisten toistuvuusmittausten tulokset. Matalan tason mittausten keskiarvo on 1,0139, keskihajonta 0,0007 ja CV% 5,31. Korkean tason mittausten keskiarvo on 1,0305, keskihajonta 0,0010 ja CV% 3,19. Kuten AU680-EKA:n mittauksissa, matalan kontrollitason toistuvuusmittaukset ovat kahtena päivänä kymmenestä hiukan matalampia kuin kontrollin määritetty ominaispaine (1,015). Korkean kontrollinäytteen tuloksissa on enemmän vaihtelua kuin AU680-EKA:n tuloksissa, sillä ero matalimman ja korkeimman tuloksen välillä on 0,004. Keskihajonnat ja CV% ovat kummankin analysaattorin osalta matalia, mikä kuvastaa tulosten yhtenevyyttä.

Taulukko 7. AU680-TOKA:n sarjojen välinen toistuvuus

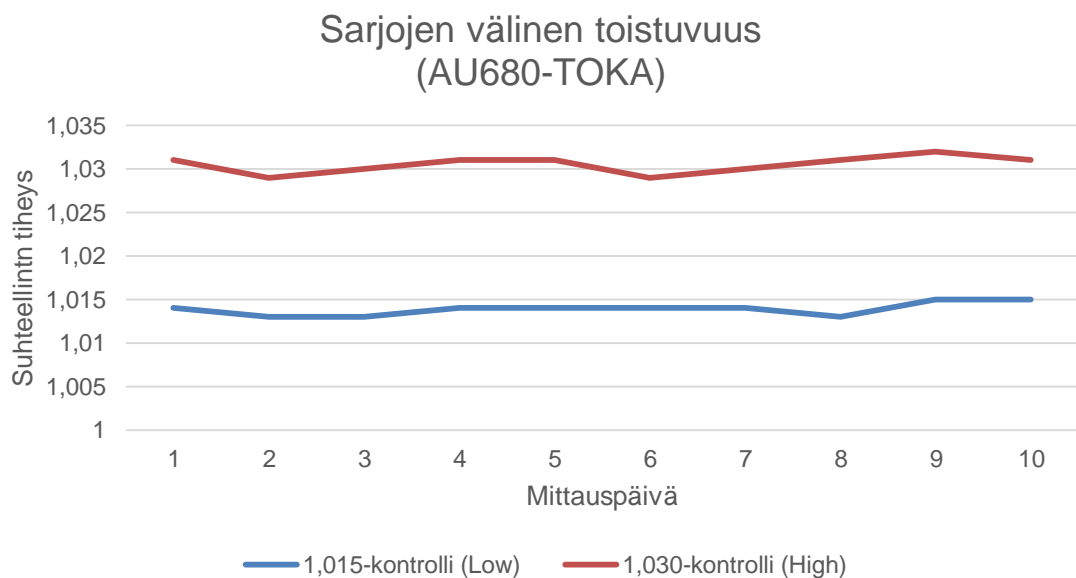
<b>AU680-TOKA</b>		
Mittauspäivä	Low-kontrolli	High-kontrolli
1	1,014	1,031
2	1,013	1,029
3	1,013	1,030
4	1,014	1,031
5	1,014	1,031
6	1,014	1,029
7	1,014	1,030
8	1,013	1,031
9	1,015	1,032
10	1,015	1,031
Keskiarvo	1,0139	1,0305
Keskihajonta	0,0007	0,0010
CV%*	5,3084	3,1863

Kuvioissa 11 ja 12 havainnollistetaan viivadiagrammien avulla toistuvuusmittausten tuloksia kymmeneltä eri päivältä. Viivat kulkevat melko tasaisesti mittauspäivien välillä, mikä kuvaa tuloseröjen tasaisuutta.



Kuvio 11. AU680-EKA –analysoittorin sarjojen välinen toistuvuus.

Kuviossa 11 korkeaa kontrollitasoa kuvaava punainen viiva on mittaustulosten yhtenevyyden mukaisesti tasainen. Sinisen, matalaa kontrollitasoa kuvaavan viivan jyrkin mutka on AU680-EKA:lla toisen ja kolmannen mittauspäivän kohdalla, kun tulosten ero on 0,002.

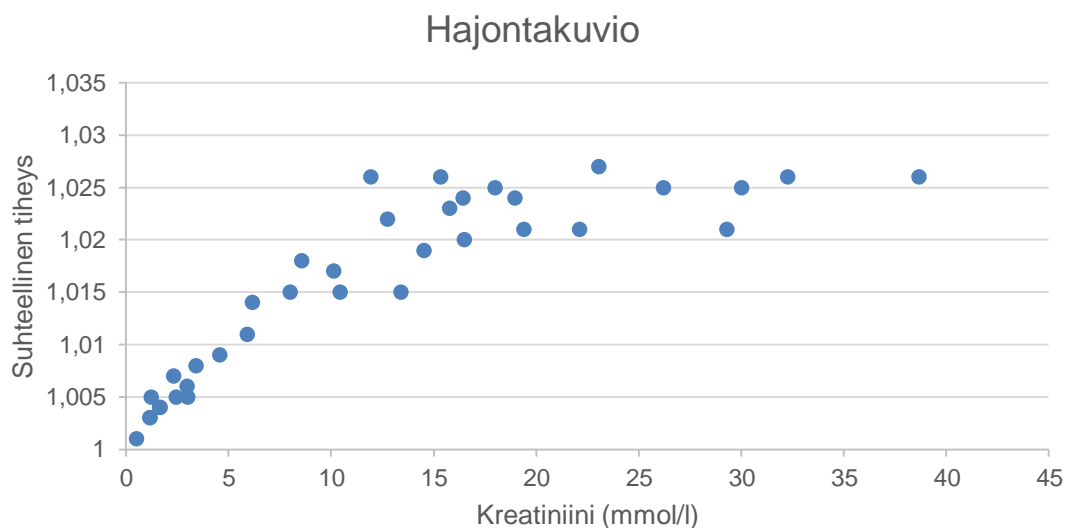


Kuvio 12. AU680-TOKA –analysoittorin sarjojen välinen toistuvuus.

Kuviossa 12 korkea kontrollitasoa kuvaavassa viivassa näkyy AU680-TOKA:n kohdalla enemmän mutkikkuutta AU680-EKA:an verrattuna, mikä kertoo mittaustulosten olevan hajanaisempia AU680-TOKA:lla. Viiva nousee eniten kuudennen ja yhdeksännen mittauspäivän välillä, jossa matalimman ja korkeimman tuloksen ero on 0,003. Matalan kontrollitason viivan jyrkin mutka on havaittavissa kahdeksannen ja yhdeksännen mittauspäivän kohdalla, kun tulosten ero toisistaan on 0,002.

#### 6.4 Virtsan kreatiniini ja suhteellinen tiheys

Näytteiden kreatiniinipitoisuuden ja suhteellisen tiheyden riippuvuutta tutkittiin havaintokuvion avulla. Kuviossa 13 esitetään refraktometrin tulokset virtsan suhteellisesta tiheydestä sekä näytteiden kreatiniinipitoisuudet. Havaintopisteet ovat asettuneet matalilla suhteellisen tiheyden arvoilla ja kreatiniinipitoisuuksilla melko suoraan ylöspäin suuntautuvaan linjaan. Kreatiniinipitoisuuden ylittäessä 10 mmol/l ja suhteellisen tiheyden ylittäessä arvon 1,020 havaintopisteet eivät ole enää säännönmukaisesti samassa linjassa. Pisteiden muodostama linja ei nouse, vaan havaintopisteet hajaantuvat kauemmaksi toisistaan. Hajontakuviota ilmaisee, että pienillä arvoilla ja pitoisuuksilla virtsan kreatiniinipitoisuudella ja suhteellisella tiheydellä on riippuvuutta, mutta arvojen kasvaessa niiden riippuvuus häviää.



Kuvio 13. Hajontakuviota virtsan kreatiniinipitoisuudesta ja suhteellisesta tiheydestä.



## 7 Pohdinta

Tämän opinnäytetyön tarkoituksena oli selvittää refraktometrin ja AU680-analysaattorin menetelmien vertailukelpoisuus. Työssä tutkittiin, onko AU680-analysaattori luotettava virtsan suhteellisen tiheyden mittaamiseen. Näytteet analysoitiin ensin refraktometrillä, minkä jälkeen ne mitattiin AU680-analysaattoreilla. Tutkimusnäytteiden analysoinnin lisäksi AU680-analysaattoreilla suoritettiin toistuvuusmittauksia. Menetelmävertailun ohessa opinnäytetyössä tutkittiin kreatiniinin ja suhteellisen tiheyden välistä riippuvuutta. Parametrit tukevat huumausaineanalytiikassa toisiaan, joten niiden riippuvuuden tarkastelu on hyödyllistä.

### 7.1 Johtopäätökset

Laitevertailussa havaittiin, että AU680-analysaattoreiden tulostasoa on kauttaaltaan refraktometrin tulostasoa korkeampi yksittäisiä poikkeuksia lukuun ottamatta. Refraktometrin ja AU680-analysaattoreiden välisten tulosten ero prosenttien keskiarvo on molempien analysaattoreiden kohdalla noin 30 %. Tulostaseroa esiintyy niin laimeissa kuin väkevissä näytteissä. Tulostasero ei kuitenkaan määritä vertailtavien menetelmien välistä riippuvuutta.

Menetelmien välistä riippuvuutta tutkittiin korrelaatiokerroimen avulla, joka mittaa lineaarista riippuvuutta kahden välimatka- ja suhteasteikon tasoisen muuttujan välillä (Heikkilä 2012: 90). Korrelaatiokerroin on -1:n ja +1:n välille sijoittuva reaalityyppinen luku. Mitä lähempänä lukua 1 korrelaatiokerroin on, sitä riippuvampia muuttujat ovat toisistaan. (Holopainen – Pulkkinen 2012: 277). Korrelaatiokerroin on AU680-EKA:n kohdalla 0,936 ja AU680-TOKA:n kohdalla 0,931. Kummankin AU680-analysaattorin tapauksessa korrelaatio on vahvasti positiivinen, mikä viittaa yleisellä tasolla siihen, että refraktometrin ja AU680-analysaattoreiden menetelmät ovat riippuvaisia toisistaan. Korrelaatiokerroimen mukaan AU680-analysaattorin menetelmä suhteellisen tiheyden mittaamiseen on melko luotettava, ja sen tuloksia voi verrata refraktometrin tuloksiin.

Selitysaste  $R^2$  kertoo, kuinka paljon y:n muuttujan vaihtelu on selitettävissä muuttujalla x. Pieni selityskerroin tarkoittaa, ettei muuttuja y:n arvojen vaihtelu juurikaan ole selitettävissä muuttujalla x. Suuri selityskerroin kertoo siitä, että muuttuja x selittää paljon muuttuja y:n arvojen vaihtelusta. (Holopainen – Pulkkinen 2012: 277-278). Selitysaste  $R^2$  on refraktometrin ja AU680-EKA:n välisessä vertailussa 87,6% ja

refraktometrin ja AU680-TOKA:n välisessä vertailussa 86,7%. Selitysasteet määrittävät, että 87,6% AU680-EKA:n tulosten vaihtelusta ja 86,7 % AU680-TOKA:n tulosten vaihtelusta on selitettävissä refraktometrin tulosten avulla. Selitysasteen suuruus riippuu tutkimuksesta, ja se täytyy suhteuttaa siihen, mitä ollaan tutkimassa. Molemmat selitysasteet ovat yli 86 %, mikä on varsin korkea tulos ja kuvaa mallin hyvyttä. Korrelaation voimakkuus ja selityskertoimen suuruus eivät kuitenkaan takaa syy-seuraussuhdetta ja ennustettavuutta, vaan muuttujien yhteyttä on tutkittava myös muilla keinoilla (Heikkilä 2014: 90-92).

Menetelmien välistä yhtenevyyttä tarkasteltiin regressioanalyysin avulla. Tarkastelun perustana toimivat hajontakuviot, joihin oli määritetty regressiosuora ja -yhtälö. Kun regressiosuora nousee koordinaatistossa ylöspäin, on muuttujien välillä positiivinen yhteys, ja kun se laskee alaspäin, on muuttujien välinen yhteys negatiivinen. (Heikkilä 2014: 92). Menetelmävertailussa havaintokuvioon määritetty regressiosuora on ylöspäin suuntautuva suora, mikä kertoo positiivisesta riippuvuudesta menetelmien välillä. Refraktometrin ja AU680-analysaattoreiden välisessä vertailussa havaittiin, että havaintopisteet sijoittuvat melko lähelle regressiosuoraa, kun suhteellisen tiheyden arvot ovat välillä 1,005-1,015, mikä kertoo menetelmien yhteneväisyydestä kyseisellä arvovälillä. Suhteellisen tiheyden kasvaessa havaintopisteet hajaantuvat kauemmas regressiosuorasta, mikä viittaa siihen, että ominaispainon nousun myötä menetelmien yhtenevyys toisiinsa vähenee.

Menetelmien välinen riippuvuus on regressioanalyysin perusteella yleistäen melko vahva. Analyysin perusteella menetelmät ovat yleisellä tasolla verrattavissa toisiinsa. Korrelaatiokerroin antaa koko näytemateriaalia kattavan riippuvuutta kuvaavan arvon, mutta tuloksia tulee tarkastella myös pienemmässä mittakaavassa. Joissakin tutkimuksissa, kuten huumausaineanalytiikassa, tietyt pitoisuusalueet ovat merkittävämmässä roolissa kuin toiset, joten menetelmien vertailukelpoisuus ei yleisellä tasolla määriteltynä riitä. Tällaisissa tutkimuksissa riippuvuutta tulee tarkastella tutkimuskohtaisesti sillä spesifisellä alueella, jossa pienillä muutoksilla voi olla kliinistä merkitystä.

Näytteissä 1-16 AU680-analysaattoreiden tulokset ovat refraktometrin tuloksia korkeampia lukuun ottamatta näytettä 5, jonka kohdalla refraktometrin ja AU680-TOKA:n tulokset ovat samat. Näytteiden 1-16 kreatiniinipitoisuus on 0,49-8,56 mmol/l ja suhteellinen tiheys refraktometrillä mitattuna välillä 1,001-1,018. Vita Laboratoriot

Oy:n huumausaineanalytiikassa virtsan kreatiniinipitoisuuden on oltava vähintään yli 2 mmol/l, jotta näytteen aitoutta ei tarvitse varmentaa suhteellisen tiheyden mittaamisella. Suhteellisen tiheyden on oltava vähintään 1,005, jotta näyte todetaan analysointikelpoiseksi. (Huumeeseulonnat. 2017). Näytteet 1-6 ovat kreatiniiniarvoiltaan alle 2,00 mmol/l, ja kunkin näytteen kohdalla AU680-analysaattoreiden tulokset ovat korkeampia kuin refraktometrin tulokset. Huumausaineanalytiikan rajatapauksiin liittyen tämä on merkittävä tieto. Suhteellisen tiheyden 1,004 ja 1,005 välinen ero on hyvin pieni, mutta huumetesteissä ero on merkittävä, sillä tuhannesosan suuruinen muutos voi vaikuttaa siihen, onko näyte analyysikelpoinen vai ei. Mikäli AU680-analysaattoreiden tulostaso virtsan suhteellisessa tiheydessä on laimeissa kreatiniinipitoisuuksissa refraktometrin tulostasoa korkeampi, on mahdollista, että AU680-analysaattorilla mitattuja analysointikelvottomia näytteitä pääsee analyysiin. Koska virtsanäytteitä, joiden kreatiniinipitoisuus on 2,00 mmol/l tai alle, on tässä työssä yhteensä vain kuusi kappaletta, ei tutkimus anna vielä luotettavaa tietoa siitä, onko AU680-analysaattori soveltuva analysoimaan virtsan suhteellista tiheyttä nimenomaan huumausaineanalytiikassa. Syitä, jotka voivat johtaa AU680-analysaattoreiden ja refraktometrin tulostasoeroon laimeissa näytteissä, voivat olla esimerkiksi juurikin näytemäärän vähäisyys laimeissa pitoisuuksissa, jolloin kattavaa tutkimusdataa ei saada aikaiseksi.

Menetelmävertailussa suoritettiin kahdenlaisia toistuvuusmittauksia AU680-analysaattoreilla. Toistuvuusmittausten tulokset määrittivät, kuinka yhteneviä tulokset ovat kunkin näytteen kohdalla sarjan sisäisesti sekä sarjojen välisesti. Sarjan sisäinen toistettavuus mitattiin neljällä väkevyydeltään eroavalla virtsanäytteellä kummallakin AU680-analysaattorilla. Matalimman ja korkeimman arvon ero on yksittäisen näytteen kohdalla korkeimmillaan 0,003. Keskihajonnat kummankin analysaattorin osalta ovat välillä 0,0004-0,0006. Molemmat analysaattorit huomioon ottaen matalin CV% on 1,52 ja korkein 12,16. Tulokset ovat yhteneviä sarjan sisällä. Virtsan väkevyyden ei vaikuttanut mittaustuloksiin. Pienet hajontaluvut kuvaavat tulosten vähäistä vaihtelevuutta mittaussarjan sisällä, eli ne kertovat mittausten ja menetelmän luotettavuudesta.

Sarjojen välinen toistuvuus mitattiin valmistajan kontrollinäytteillä kymmenenä eri päivänä. Kummallakin analysaattorilla 80 % matalan tason kontrollinäytteen tuloksista on hiukan matalampia kuin sen määritetty ominaispaino (1,015). Korkean tason kontrollinäytteen tuloksissa on vaihtelevuutta AU680-TOKA:n kohdalla, jossa ero suurimman ja pienimmän arvon välillä on 0,004. Kliinisesti tällä ei olisi paljonkaan

merkitystä huumausaineanalytiikassa, mikäli näyte ei olisi laimea. Laimean näytteen kohdalla tuloseröjen merkitys kasvaa.

Menetelmävertailun lisäksi opinnäytetyössä tutkittiin kreatiniinipitoisuuden ja suhteellisen tiheyden riippuvuutta. Yhtenevyyttä havainnollistettiin havaintokuvailla. Havaintopisteiden säännönmukaisuutta ja linjaa tarkastelemalla tutkittiin muuttujien välistä suhdetta. Havaintopisteet ovat yhtenevässä linjassa kreatiniinipitoisuuden ollessa välillä 0-10 mmol/l ja suhteellisen tiheyden arvon ollessa 1,000-1,019. Kun nämä arvot ylittyvät, havaintopisteet hajaantuvat, mikä kertoo muuttujien suhteen toisiinsa heikkenevän. Kreatiniinin ja suhteellisen tiheyden riippuvuus ei tämän mukaan ole vahva, kun virtsan väkevyys kasvaa. Havaintokuvaajan perusteella suhteellinen tiheys ja kreatiniini ovat riippuvaisia toisistaan tiettyyn pitoisuuteen asti. Kun kreatiniini ylittää 10 mmol/l pitoisuuden, ja suhteellinen tiheys ylittää arvon 1,020, havaintopisteiden säännönmukaisuus vähenee merkittävästi. Pearsonin korrelaatiokerroin on varsin korkea (0,858), mutta se ei selitä muuttujien syy-seuraussuhdetta. Kreatiniini ja suhteellinen tiheys tukevat toisiaan huumausaineanalytiikassa laimeiden virtsanäytteiden mittaamisessa. Hajontakuvion perusteella riippuvuus ei kuitenkaan ole säännönmukaista. Tuloksia tarkasteltaessa täytyy huomioida, että kreatiniinipitoisuus vaihtelee yksilöiden välillä esimerkiksi iän, ruokavalion ja lihasmassan mukaan. (Penttilä 2004: 224.) Opinnäytetyössä ei ole huomioitu kyseisiä tekijöitä näytteiden valitsemisessa tai tulosten tilastollisessa tarkastelussa, millä saattaa olla vaikutusta tuloksiin.

Tutkimustulosten avulla voidaan vastata opinnäytetyön tutkimuskysymyksiin. Regressioanalyysin ja korrelaation perusteella menetelmät ovat riippuvaisia toisistaan. Ne korreloivat hyvin etenkin isotonisen virtsan alueella. Sen perusteella AU680-analysaattorin menetelmää voi käyttää virtsan suhteellisen tiheyden mittaamisessa yleisenä määritysmenetelmänä. AU680-analysaattoreiden luotettavuus huumausaineanalytiikassa ei kuitenkaan tämän tutkimuksen perusteella ole riittävä. AU680-analysaattoreiden tulostaso on refraktometrin tulostaso korkeampi, ja mittauserot laimeissa virtsanäytteissä voivat huumausaineanalytiikassa olla kliinisesti merkittäviä. Tutkimuksen perusteella virtsan kreatiniinipitoisuuden ja suhteellisen tiheyden välinen riippuvuus ilmenee vain tietyissä pitoisuusluokissa. Kun suhteellinen tiheys ylittää arvon 1,020 ja kreatiniini ylittää pitoisuuden 10 mmol/l, ei riippuvuutta ole juurikaan havaittavissa.

## 7.2 Luotettavuus ja eettisyys

Terveydenhuollon yhteisten eettisten periaatteiden mukaisesti bioanalytiikko käsittelee näytemateriaalia siten, että luovuttajan yksityisyyttä ja oikeutta kunnioitetaan. Kliinistä laboratoriotyötä koskevat eettiset periaatteet määrittävät, että bioanalytiikko noudattaa työssään salassapitovelvollisuutta. (Suomen bioanalytikkoliitto. 2017.) Opinnäytetyössä käytetty tutkimusmateriaali saatiin potilasnäytteistä, jotka olivat saapuneet laboratorioon huumausaineanalyysia varten. Erillistä näytteenottoa ei opinnäytetyöprosessin aikana tarvittu. Näytteenotto tapahtui huumausainenäytteenottoon koulutettujen ammattilaisten toimesta laatuvaatimusten ja potilaan yksityisyyttä suojaavan lain mukaisesti (Laki yksityisyyden suojasta työelämässä (759/2004)). Potilassuojan säilyttämiseksi näytteet kerättiin juoksevilla numerojärjestyksellä merkittyihin koeputkiin, joissa ei ollut merkintöjä potilaiden henkilötiedoista. Potilaan yksityisyyttä koskevat tiedot eivät ole yhdistettävissä tutkimustuloksiin.

Opinnäytetyö on tutkimustyö, jonka luotettavuutta voi tarkastella validiteetin ja reliabiliteetin avulla. Validiteetti eli pätevyys kuvaa tutkimuksen kykyä mitata sitä, mitä sen on tarkoitus selvittää. Mitattavien käsitteiden ja muuttujien tulee olla määriteltyjä. Täsmälliset tavoitteet varmistavat, että tutkimuksessa tutkitaan oikeita asioita. Reliabiliteetti tarkoittaa tulosten tarkkuutta. Tutkimus on sisäisesti reliabeeli, kun samaa arvoa on mitattu toistuvasti ja mittaustulokset ovat olleet samat. Ulkoinen reliabiliteetti toteutuu, kun mittaukset on mahdollista suorittaa uudelleen jonkun muun tutkimuksen yhteydessä. Satunnaisvirheet alentavat tutkimuksen reliabiliteettia. Satunnaisvirheet ovat yksittäisiä, sattumanvaraisesti vaikuttavia virheitä, kuten tulosten kirjaamisen yhteydessä tapahtuva näppäilyvirhe. Systemaattinen virhe on satunnaisvirhettä vaarallisempi, joka vaikuttaa aineistoon saman suuntaisesti. Sen vaikutus säilyy, vaikka otoskoko kasvaa. (Heikkilä 2014: 28, 177-178.)

Opinnäytetyön luotettavuutta parantaa se, että tietää, mitkä asiat vaikuttavat mittauksen lopulliseen validiteettiin ja reliabiliteettiin. Selkeät tutkimuskysymykset, realistisen suunnitelman laatiminen ja huolellinen aineiston kerääminen olivat tekijöitä, jotka paransivat tutkimuksen luotettavuutta. Satunnaisvirheitä pyrittiin välttämään esimerkiksi järjestelmällisellä kirjaamisella sekä suorittamalla kaikki mittaustapahtumat ja niiden valmistelut mahdollisimman samankaltaisissa olosuhteissa. Tutkimuksen sisäistä ja ulkoista reliabiliteettia vahvistivat tutkimuksessa suoritett

toistuvuusmittaukset. Mittaukset ovat jäljitettävissä ja mahdollista toistaa jonkun muun tutkimuksen yhteydessä.

Opinnäytetyössä refraktometrin tulokset ovat yhden henkilön mittaamia, eikä toista mittaajaa ollut. Tämä lisää virheen mahdollisuutta refraktometrin tuloksissa, sillä refraktometrin tulokset tulkitaan visuaalisesti, joten on mahdollista, että tuloksissa esiintyy mittaajakohtaista tulkinnanvaraisuutta. Opinnäytetyössä esiintyi näytteitä, joiden kohdalla refraktometrin tulos oli laitteen mitta-asteikolla häilyvä, joten myös toisen henkilön suorittama mittaus lisäisi tuloksen varmuutta etenkin sellaisissa tapauksissa, joissa visuaalinen luettavuus ei ole selkeää.

Laboratorion sisällä tapahtuva laaduntarkkailu oli opinnäytetyössä läsnä koko tutkimuksen ajan. Laitteiden kunnosta pidettiin huolta ja niiden toimintaa tarkkailtiin. AU680-analysaattoreilla analysoitiin joka päivä kaupalliset kontrollinäytteet ennen varsinaisten näytteiden analysointia. Päivittäiset huoltotoimenpiteet varmistivat analysaattorin toimintakyvyn. Analysaattoreille suoritettiin viikoittaiset huollot, joissa laitteet puhdistettiin muun muassa natriumhypokloriittipesujen avulla. Tutustuminen ja perehtyminen opinnäytetyössä tarvittaviin laitteisiin, menetelmiin ja työskentelytapoihin aloitettiin hyvissä ajoin ennen tutkimuksen aloittamista. Läpi opinnäytetyön tapahtuva kirjanpito oli huolellista, ja työskentelyvaiheet suunniteltiin etukäteen, jotta tutkimus pystyttiin suorittamaan aiotun mukaisesti.

### 7.3 Kehittämisehdotukset

Tulosten analysoinnissa kävi ilmi, että AU680-analysaattoreiden tulostaso on refraktometrin tulostaso korkeampi. Tulosten tarkkuus laimeissa näytteissä on huumeanalyysien varmistustesteissä oleellista, jotta näyte voidaan todeta laadukkaaksi analysoida. Pienetkin muutokset mittaustuloksissa voivat olla merkittäviä. Tutkimuksessa oli yhteensä vain kuusi näytettä, jotka olivat kreatiniinipitoisuudeltaan niin matalia, että ne olisivat joutuneet oikeassa huumeanalyysissä varmistustestiin ominaispainon mittaukseen. Opinnäytetyössä käytettävä aika oli rajallinen, eikä näytteiden keräämisen aikana laimeita näytteitä saapunut laboratorioon kovinkaan paljon.

AU680-analysaattoreiden ja refraktometrin välisiä mittauksia on syytä jatkaa laimeiden virtsanäytteiden osalta, mikäli AU680-analysaattoreiden soveltuvuus suhteellisen

tiheyden mittaamiseen huumausaineanalytiikassa voidaan selvittää. Tutkittavaa näytemäärää on kasvatettava, jotta tilastolliset analyysit analysaattorin kelpoisuudesta kyseiseen tutkimukseen ovat luotettavia. Jatkotutkimuksia ajatellen on suositeltavaa, että refraktometrillä suoritettavaan mittaukseen osallistuu yhden mittaajan lisäksi myös varmistava mittaaja.

#### 7.4 Ammatillinen kasvu

Opinnäytetyön aikana pääsin tutustumaan huumausaineanalytiikan laboratoriotutkimuksiin kliinisen kemian laboratoriossa. Työn keskiössä olivat tutkimukset, jotka takaavat näytteen laadun, aitouden ja analyysikelvollisuuden. Laadun ja luotettavuuden merkitys on opinnäytetyössä äärimmäisen tärkeää. Opin, kuinka menetelmävertailu suoritetaan ja suunnitellaan laboratoriossa. Tutkimuksellisen työn toteuttaminen vaatii huolellisen suunnitelman, jonka pohjalta tutkimus pystyttiin tekemään. Prosessin aikana näin, kuinka tutkimustyön kulku etenee ja mitä sen vaiheisiin sisältyy.

Lähdekriittinen ajattelu ja työskentely harjaantuivat, ja opin tulkitsemaan tulosten merkitsevyyttä. Opinnäytetyön myötä perehdyin syvällisesti teoreettiseen taustatietoon ja analysaattoreiden menetelmäperiaatteisiin. Tutustuin laajasti tilastolliseen tutkimustieteeseen sekä tapoihin, joilla sitä hyödynnetään menetelmävertailussa. Sain tietoa ja ymmärrystä siitä, kuinka laboratoriossa työskennellään ja työyhteisössä toimitaan tutkimuksellisen prosessin aikana.

## Lähteet

AU680 Chemistry Analyzer Reference Manual. Käyttöohje. 2015. Beckman Coulter.

DRI® Gravity-Detect Application Beckman Coulter AU680. 2016. Thermo Scientific.

Eskelinen, Seija. 2016. Virtsan kemiallinen seulonta (U-KemSeul). Aikakausikirja Duodecim. Verkkodokumentti.

[http://www.terveyskirjasto.fi/terveyskirjasto/tk.koti?p\\_artikkeli=snk03151](http://www.terveyskirjasto.fi/terveyskirjasto/tk.koti?p_artikkeli=snk03151). Luettu 24.12.2018.

FIMLAB 2016. Manipulaatiotesti virtsasta. Verkkodokumentti.

[https://www.fimlab.fi/ohjekirja/nayta.tpl?sivu\\_id=194;setid=9389;id=15388](https://www.fimlab.fi/ohjekirja/nayta.tpl?sivu_id=194;setid=9389;id=15388). Luettu 11.12.2018.

Heikkilä, Tarja. 2014. Tilastollinen tutkimus. 9. uudistettu painos. Helsinki: Edita.

HUSLAB 2016. Suhteellinen tiheys virtsasta. Tutkimusohjekirja. Helsingin ja Uudenmaan Sairaanhoidopiiri. Verkkodokumentti. <https://huslab.fi/ohjekirja/2715.html>. Luettu 24.9.2018.

HUSLAB 2017. Huumeseulonta, kvalitatiivinen, virtsasta. Tutkimusohjekirja. Helsingin ja Uudenmaan Sairaanhoidopiiri. Verkkodokumentti.

<https://huslab.fi/ohjekirja/4221.html>. Luettu 1.10.2018

HUSLAB 2019. Virtsan irtosolututkimus. Tutkimusohjekirja. Helsingin ja Uudenmaan Sairaanhoidopiiri. Verkkodokumentti. <https://huslab.fi/ohjekirja/4078.html>. Luettu 5.3.2019.

Holopainen, Martti – Pulkkinen, Pekka. 2012. Tilastolliset menetelmät. 5.-7. painos, 2012. Helsinki: Sanoma Pro Oy.

Huumausainelaki. 1289/1993. Annettu Helsingissä 17.5.1993.

Insertti. Gravity-Detect® Test. Käyttöohje. 2015. Thermo Scientific.

Jaarinen, Soili – Niiranen, Jukka. 2005 Laboratorion analyysitekniikka. Edita: Helsinki.

Jansen, Asger-Lundorff – Kjelgaard-Hansen, Mads. 2016. Method comparison in the clinical laboratory. Veterinary Clinical Pathology 35 (3.) 276-278.

Kouri, Timo. 2018. Virtsan perustutkimukset ja bakteeriviljely. Aikakausikirja Duodecim. Verkkodokumentti. <https://www.terveysportti.fi/apps/ltk/ykt00274?search=%22virtsan%20perustutkimukset%22>. Vaatii luku-oikeuden. Luettu 1.2.2019.

Nokelainen, Satu. 2012. Vieritestaus. PowerPoint -esitys. HUSLAB. <<https://helda.helsinki->



ki.fi/dikk/bitstream/handle/2455/139581/Vieritestaus\_I%C3%A4%C3%A4kis\_20131121.pdf?sequence=1&isAllowed=y>. Luettu 20.2.2019.

Labquality Oy. 2008. Suositus huumetestauksen suorittamisesta. Moodi 2008 (2.)

Laki yksityisyyden suojasta työelämässä. 759/2004. Annettu 13.8.2004.

Leica TS Meter Model TS400 –refraktometri. 1999. Käyttömanuaali.

Lin, Shin-Yu –Lee, Hei-Hwa, Lee, Jong-Feng – Chen, Bai-Hsiun. 2017. Urine specimen validity test for drug abuse testing in workplace and court settings. Journal of Food and Drug Analysis 26. 380.

Pasternack, Amos (toim.) 2012. Nefrologia. 1. painos 2012. Helsinki: Kustannus Oy Duodecim.

Penttilä, Ilkka 2004. Kliiniset laboratoriotutkimukset. Porvoo: WS Bookwell Oy.

Stuempfle, Kristin – Drury, Daniel. 2003. Comparison of 3 Methods to Assess Urine Specific Gravity in Collegiate Wrestlers. Journal of Athletic Training. 38 (4). 315-319.

Suomen Bioanalytikkoliitto Ry. 2017. Bioanalytikon, laboratoriohoitajan eettiset ohjeet. Verkkodokumentti.  
[https://www.bioanalytikkoliitto.fi/@Bin/659271/Eettiset+periaatteet\\_FI\\_print\\_2017.pdf](https://www.bioanalytikkoliitto.fi/@Bin/659271/Eettiset+periaatteet_FI_print_2017.pdf).  
Luettu 2.10.2018.

Suositus huumetestauksen suorittamisesta. Labquality Oy:n huumausaineanalytiikkatyöryhmä. 2008. Moodi 2008 (2).

Työterveyshuoltolaki 1383/2001 ja lisäys 760/2005. Annettu Helsingissä 21.12.2001.

Urine Gravity Test reagenssipakkaus. Käyttöohje. Thermo Scientific.

Valtioneuvoston asetus huumausainetestien tekemisestä. 218/2005. Annettu Helsingissä 7.4.2005.

Vierimaa, Heidi – Laurila, Mirja. 2010. Keho – Anatomia ja fysiologia. 1. painos, 2010. Helsinki: WSOY Pro OY.

Vita Laboratoriot Oy. 2013. Ominaispaino. Käyttöohje.

Vita Laboratoriot Oy. 2015. Suhteellinen tiheys, virtsasta. Laboratoriokäsikirja. Verkkodokumentti. <https://vita.fi/laboratoriokasikirja/tutkimus/1992>. Luettu 22.9.2018

Vita Laboratoriot Oy. 2017. Kreatiniini. Laboratoriokäsikirja. Verkkodokumentti. <https://vita.fi/laboratoriokasikirja/tutkimus/164>. Luettu 1.10.2018.

Vita Laboratoriot Oy. 2018. Huumeseulonnat. Laboatorioskäsikirja. Verkkodokumentti. <https://vita.fi/laboratoriokasikirja/tutkimus/1986>. Luettu 2.2.2019.

Vita Laboratoriot Oy. 2019. Palvelut. Verkkodokumentti. <https://vita.fi/palvelut/>. Luettu 1.3.2019.

Wyness, Sara – Hunsaker, Joshua – Snow, Taylor – Genzen, Jonathan. 2016. Evaluation and analytical validation of a handheld refractometer for urine specific gravity measurement. *Practical Laboratory Medicine* (5) 65.

## Laitokohtaiset tulokset

Näyte	U-Krea mmol/l	Refraktometri U-suhti	AU680-Eka U-suhti	AU680-Toka U-suhti
1	0,49	1,001	1,003	1,003
2	1,14	1,003	1,004	1,004
3	1,16	1,003	1,006	1,005
4	1,21	1,005	1,008	1,007
5	1,63	1,004	1,005	1,004
6	1,65	1,004	1,006	1,005
7	2,31	1,007	1,011	1,011
8	2,43	1,005	1,007	1,008
9	2,96	1,006	1,008	1,009
10	3,00	1,005	1,009	1,009
11	3,40	1,008	1,011	1,012
12	4,57	1,009	1,013	1,014
13	5,89	1,011	1,014	1,013
14	6,15	1,014	1,017	1,018
15	7,99	1,015	1,018	1,018
16	8,56	1,018	1,024	1,025
17	10,12	1,017	1,015	1,014
18	10,42	1,015	1,015	1,015
19	11,93	1,026	1,023	1,023
20	12,72	1,022	1,030	1,029
21	13,38	1,015	1,018	1,017
22	14,53	1,019	1,026	1,027
23	15,33	1,026	1,025	1,026
24	15,76	1,023	1,027	1,028
25	16,41	1,024	1,032	1,033
26	16,49	1,020	1,020	1,019
27	17,99	1,025	1,030	1,029
28	18,94	1,024	1,032	1,033
29	19,38	1,021	1,021	1,021
30	22,11	1,021	1,017	1,019
31	23,03	1,027	1,030	1,030
32	26,18	1,025	1,023	1,022
33	29,28	1,021	1,022	1,023
34	30,01	1,025	1,029	1,029
35	32,24	1,026	1,021	1,021
36	38,64	1,026	1,029	1,029

**Tuloserot (U-Suhti kahden desimaalin tarkkuudella kokonaislukuna)**

Näyte	U-Krea mmol/l	Refraktiometri U-suhti	AU680-Eka U-suhti	Ero-%
1	0,49	1	3	200,0
2	1,14	3	4	33,3
3	1,16	3	6	100,0
4	1,21	5	8	60,0
5	1,63	4	5	25,0
6	1,65	4	6	50,0
7	2,31	7	11	57,1
8	2,43	5	7	40,0
9	2,96	6	8	33,3
10	3,00	5	9	80,0
11	3,40	8	11	37,5
12	4,57	9	13	44,4
13	5,89	11	14	27,3
14	6,15	14	17	21,4
15	7,99	15	18	20,0
16	8,56	18	24	33,3
17	10,12	17	15	-11,8
18	10,42	15	15	0,0
19	11,93	26	23	-11,5
20	12,72	22	30	36,4
21	13,38	15	18	20,0
22	14,53	19	26	36,8
23	15,33	26	25	-3,8
24	15,76	23	27	17,4
25	16,41	24	32	33,3
26	16,49	20	20	0,0
27	17,99	25	30	20,0
28	18,94	24	32	33,3
29	19,38	21	21	0,0
30	22,11	21	17	-19,0
31	23,03	27	30	11,1
32	26,18	25	23	-8,0
33	29,28	21	22	4,8
34	30,01	25	29	16,0
35	32,24	26	21	-19,2
36	38,64	26	29	11,5

Näyte	U-Krea mmol/l	Refraktiometri U-suhti	AU680- Toka U-suhti	Ero-%
1	0,49	1	3	200,0
2	1,14	3	4	33,3
3	1,16	3	5	66,7
4	1,21	5	7	40,0
5	1,63	4	4	0,0
6	1,65	4	5	25,0
7	2,31	7	11	57,1
8	2,43	5	8	60,0
9	2,96	6	9	50,0
10	3,00	5	9	80,0
11	3,40	8	12	50,0
12	4,57	9	14	55,6
13	5,89	11	13	18,2
14	6,15	14	18	28,6
15	7,99	15	18	20,0
16	8,56	18	25	38,9
17	10,12	17	14	-17,6
18	10,42	15	15	0,0
19	11,93	26	23	-11,5
20	12,72	22	29	31,8
21	13,38	15	17	13,3
22	14,53	19	27	42,1
23	15,33	26	26	0,0
24	15,76	23	28	21,7
25	16,41	24	33	37,5
26	16,49	20	19	-5,0
27	17,99	25	29	16,0
28	18,94	24	33	37,5
29	19,38	21	21	0,0
30	22,11	21	19	-9,5
31	23,03	27	30	11,1
32	26,18	25	22	-12,0
33	29,28	21	23	9,5
34	30,01	25	29	16,0
35	32,24	26	21	-19,2
36	38,64	26	29	11,5