



Jesse Ryhänen

D-vitamiinin verifiointi Cobas e411-laitteella

Metropolia Ammattikorkeakoulu

Sosiaali- ja terveysalan ammattikorkeakoulututkinto

Bioanalytiikan tutkinto-ohjelma

Opinnäytetyö

12.03.2024

Tekijä	Jesse Ryhänen
Otsikko	D-vitamiinin verifiointi Cobas e411- laitteella
Sivumäärä	20 sivua
Aika	12.03.2024
Tutkinto	Sosiaali- ja terveystieteiden ammattikorkeakoulututkinto
Tutkinto-ohjelma	Bioanalytiikan tutkinto-ohjelma
Ohjaajat	Lehtori Heidi Malava Lehtori Elina Tirkkonen

Tämän opinnäytetyön tarkoituksena oli suorittaa D-vitamiinitutkimuksen verifiointi Metropolia Ammattikorkeakoulun Roche Diagnostics Cobas e411- klinisen kemian analysaattorille bioanalytiikan tutkinto-ohjelmaa varten. Verifiointilla varmennetaan objektiivista näyttöä esittäen tietyn kohteen määritelyjen vaatimusten täyttyminen. Verifiointi tehdään laboratoriossa otettaessa käyttöön mittausmenetelmää, joka on validoitu esimerkiksi laitevalmistajan toimesta jossain muualla.

D-vitamiinit ovat ryhmä rasvaliukoisia vitamiineja, jotka osallistuvat kalsiumpitoisuuden säätelyyn elimistössä. Tärkeimmät D-vitamiineihin kuuluvat yhdisteet ovat D2-vitamiini (ergokalsiferoli) ja D3-vitamiini (kolekalsiferoli). D3-vitamiinia saadaan ravinnosta, sekä auringolle altistumisen seurauksena. D2-vitamiinia elimistö ei kykene tuottamaan itse, vaan sitä saadaan ainoastaan ravinnosta.

Maksa muodostaa D2- ja D3-vitamiineista 25(OH)-D-vitamiinia 25-hydroksylaation vaikutuksesta. Siitä muodostuu edelleen kalsitroliä, eli 1,25(OH)₂-D-vitamiinia munuaisissa. Verenkierrossa D-vitamiini esiintyy pääasiassa 25(OH)-D-vitamiinimuodossa. Biologisesti aktiivinen 1,25(OH)₂-D-vitamiini osallistuu elektrolyyttitasapainon ja luustometabolian säätelyyn.

Referenssilaboratorio lähetti Metropolia Ammattikorkeakoululle 30 seeruminäytettä, joille tehtiin D-vitamiinimääritys samanlaisella Rochen Cobas e411- analysaattorilla, joka on hankittu oppilaitokselle bioanalytikkokoulutusta varten. Referenssilaboratorio oli tehnyt näytteille D-vitamiinimäärityksen vertailukelpoisella ja validoidulla menetelmällä. Verifiointiin kuului myös kontrollinäytteiden analysoiminen sarjojen välisen ja sarjan sisäisen tarkkuuden määrittämiseksi.

Verifiointitulosten tarkasteluun ja analysointiin käytettiin tilastollisia menetelmiä. Niiden perusteella voitiin todeta että D-vitamiinitutkimuksia voidaan tehdä opetustarkoituksessa Metropolia Ammattikorkeakoulun Cobas e411- laitteella. Verifiointi olisi kuitenkin suoritettava uudestaan jotta potilasnäytteitä voitaisiin analysoida.

Avainsanat	D-vitamiini, verifiointi
------------	--------------------------

Author	Jesse Ryhänen
Title	The verification of vitamin D for Cobas e411- analyzer
Number of Pages	20 sivua
Date	12. March 2024
Degree	Bachelor of Health Care
Degree Programme	Biomedical Laboratory Science
Instructors	Heidi Malava, Senior Lecturer
<p>The purpose of this thesis was to perform the verification of the vitamin D test for Cobas e411 clinical chemistry analyzer by Roche Diagnostics. The verification was for Metropolia University of Applied Sciences for the Biomedical Laboratory Science degree program. Verification is used to verify the fulfillment of the defined requirements of a specific object, presenting objective evidence. Verification is done in the laboratory when introducing a measurement method that has been validated, for example, by the manufacturer somewhere else.</p> <p>D-vitamins are a group of fat-soluble vitamins that participate in the regulation of calcium concentration in the body. The most important compounds belonging to vitamin D are vitamin D2 (ergocalciferol) and vitamin D3 (cholecalciferol). Vitamin D3 is obtained from food and as a result of exposure to the sun. Body cannot produce vitamin D2 by itself, it can only be obtained from food.</p> <p>Liver forms 25(OH)-vitamin D from vitamins D2 and D3 due to the effect of 25-hydroxylation. Kidneys forms 1,25(OH)₂-vitamin D from 25(OH)-vitamin D. In the blood circulation vitamin D occurs mainly in the form of 25(OH)-vitamin D. Biologically active vitamin 1,25(OH)₂-D participates in the regulation of electrolyte balance and bone metabolism.</p> <p>The reference laboratory sent 30 serum samples to the Metropolia University of Applied Sciences. Those samples were already analyzed by reference laboratory with a similar Cobas e411- analyzer than Metropolia University of Applied Sciences has acquired for the Biomedical Laboratory Science- program. Reference laboratory had determined the levels of vitamin D of the samples using a comparable and validated method. The verification included the analysis of those samples, and also analysis of the control samples to determine inter- and intra-set precision.</p> <p>Statistical methods were used to review and analyze the results of the verification. Based on them, it could be concluded that vitamin D studies can be done for educational purposes with Metropolia University of Applied Sciences' Cobas e 411 analyser. However, verification would have to be performed again so that the patient samples could be analyzed.</p>	
Keywords	Verification, Vitamin D

Sisällys

1	Johdanto	0
2	Validointi ja verifiointi	1
2.1	ISO-standardi	1
2.2	Verifiointin parametrit	2
3	D-vitamiini	4
4	D-vitamiinitutkimus Cobas e411- analysaattorilla	5
5	Opinnäytetyön tarkoitus, tavoitteet ja tutkimuskysymykset	6
6	Verifiointin toteutus	6
6.1	Aineisto	7
6.2	Aineiston analysointi	7
6.3	Regressioanalyysi	8
7	Tulokset ja niiden tarkastelu	8
7.1	Sarjojen sisäinen toistettavuus	8
7.2	Sarjojen välinen toistettavuus	10
7.3	Tulostason vertailu potilasnäytteillä	10
7.4	Bland-Altman Analyysi	12
8	Pohdintaa	13
8.1	Tulosten tarkastelu	13
8.2	Tutkimuksen eettisyys	14
8.3	Tutkimuksen luotettavuus	15
8.4	Johtopäätökset	16
8.5	Ammatillinen kasvu	17
	Lähteet	18

1 Johdanto

D-vitamiini osallistuu normaaliin immuunipuolustukseen, sen vakavat puutokset aiheuttavat mm. osteomalasiaa aikuisilla ja riisitautia lapsilla ja vauvoilla. Kehittyneissä maissa näitä tauteja ei juuri enää tavata, mutta D-vitamiinin puutostilat ovat silti yleisiä. D-vitamiini on välttämättömyys luiden aineenvaihdunnalle ja kalsiumin homeostaasille. D-

vitamiinireseptoreja on kaikkialla kehoissaimme ja niillä on suora vaikutus sekä adaptiiviseen-, että synnynnäiseen immunitettiin. Näin ollen raskausaikana äidin D-vitamiinin puutostilat ovat yhteydessä lapsen riskiin saada astma tai erilaisia hengitystieinfektioita. (Chang & Lee 2019.) D-vitamiinilla on myös todettu olevan yhteyttä dementiaaltuuteen, mutta tutkimustulokset tästä ovat puutteellisia. (Raappana 2021). D-vitamiinin on myös todettu estävän interleukiini-6:n eritystä ja näin vaikuttavan ehkäisevästi tulehdusten syntyyn. On todettu että masentuneilla on terveeseen verrokkiryhmään verrattuna keskimäärin vähemmän 25(OH)-D-vitamiinia veressään, sekä enemmän interleukiini-6:tta, joten D-vitamiinin puutteella voi olla yhteyttä masennukseen. (Korhonen 2014:2.)

Tämän opinnäytetyön tarkoituksena on verifioida D-vitamiinitutkimus Metropolia Ammattikorkeakoulun Cobas e411- laitteelle, joka on hankittu bioanalytikkokoulutusta varten. Työssä tarkastellaan Cobas e411- laitteella saavutettua tulostasoa ja verrataan sitä referenssilaboratorion Cobas e411- laitteen tuloksiin D-vitamiinitutkimuksen osalta. Olettaessa laboratoriomenetelmää käyttöön, tulee menetelmän sopivuutta ja luotettavuutta arvioida. Tämä voidaan tehdä verifioimalla menetelmä.

2 Validointi ja verifiointi

Validoinnilla tarkoitetaan prosessia jolla varmennetaan määriteltyjen vaatimusten sopivuus tiettyyn käyttötarkoitukseen. Menettelyllä arvioidaan laitteen ja menetelmän suorituskykyä- ja soveltuvuutta haluttua käyttötarkoitusta varten. Menetelmän luotettavuutta kuvaavat validoinnin tuottamat vertailuarvot eri parametreille. Validoinnissa on tärkeää tuntea tausta hyvin laatutavoitteiden oikein asettamiseksi. (Hägg 2016: 7-8.)

Verifiointi on validointia suppeampi prosessi jossa esittäen objektiivista näyttöä varmennetaan että tietyn kohteen määritellyt vaatimukset täyttyvät. Verifiointi voidaan suorittaa esimerkiksi käyttöönotettaessa muualla käytössä olevaa menetelmää, joka on jo validoitu. (Hägg 2016: 7-8.)

2.1 ISO-standardi

SFS-EN ISO 15189:2022 Standardi on tällä hetkellä käytössä oleva suomalainen kansallinen standardi, joka koskee kliinisten laboratorien laatua ja pätevyyttä. (Finas 2023). Standardi määrittelee myös laitteiden validointia ja menetelmien verifiointia. Standar-

dissa merkintä ”SFS” kertoo että kyseessä on Suomessa vahvistettu standardi, ”EN”-merkintä tulee eurooppalaiseksi standardiksi vahvistamisesta, kun taas merkintä ”ISO” tulee standardin maailmanlaajuisesti vahvistamisesta. (SFS ry 2024).

Standardilla voidaan tarkoittaa yleistä normaalia, normia, tai vakiotyyppiä. Sillä tarkoitetaan myös normatiivista asiakirjaa, joka on vahvistettu ja laadittu määrämenettelyllä. Tällaisissa asiakirjoissa esitetään mm. luonnontieteellisiä yksiköjä ja suureita koskevia ohjeita, määritelmiä ja sääntöjä, tai esimerkiksi teollisuustuotteiden testaus- ja valmistusmenetelmiä, sekä ominaisuuksia. (SFS ry 2024.)

SFS:ssä (Suomen standardoimisliitto) standardilla tarkoitetaan kirjallista julkaisua joka määrittää esimerkiksi järjestelmien toimintaa, tai palvelujen ja tuotteiden vaatimuksia ja ominaisuuksia. Standardoinnilla sen sijaan tarkoitetaan hyvien vaatimusten, ratkaisujen ja käytäntöjen, sekä yhteisten toimintatapojen laatimista. Kuka vain alan asiantuntija saa olla mukana standardoinnissa ja lopputuloksena tulee asiakirjoja jotka aiemmin mainittiin. (SFS ry 2024.)

2.2 Verifiointin parametrit

Parametrit merkityksineen ovat listattuina alla olevaan taulukkoon. Analysoitaessa analysaattorien välistä tarkkuutta, sarjojen välistä toistuvuutta ja sarjan sisäistä toistuvuutta, näitä parametrejä käytetään apuna. (Taulukko 1.)

Taulukko 1. Verifiointinissa käytetyt parametrit

Tilastomatematiikan termi	Selitys
Keskiarvo	Keskiarvo lasketaan jakamalla havaintoarvojen summa havaintojen määrällä. (Heikkilä 2014: 83.)
Keskihajonta	Keskihajonta kertoo paljonko kaikkien mittaustulosten keskiarvo poikkeaa yksittäisistä mittaustuloksista. (Hägg 2016.)
Vaihteluväli	Vaihteluväli kertoo välin jolla havainnot vaihtelevat. Se saadaan laskemalla erotus

	suurimmasta ja pienimmästä havainnosta. (Heikkilä 2014: 85.)
Variaatiokerroin	Variaatiokerroin kertoo mittaustulosten suhteellisen hajonnan. Tulos ilmoitetaan prosenttilukuina. Variaatiokerroin voidaan laskea kaavalla $V = s/\bar{x} * 100 \%$, eli jakamalla toistettujen mittausten keskihajonta niistä saadulla keskiarvolla. (Hägg 2016.)
Regressioanalyysi (lineaarinen regressio)	Regressioanalyysi kertoo yhden tai useamman muuttujan vaikutuksesta selitettävään muuttujaan. (Anttila, Mikko: 2003.)
Regressiosuora	Regressiosuoralla kuvataan voimakkuutta muuttujien välisessä yhteydessä. (Regressioanalyysi 2022).
Oikeellisuus	Oikeellisuus kertoo toistetuista mittauksista saatujen tulosten keskiarvon yhtäpitävyyden vertailuarvon kanssa. (Hägg 2016.)
Eroprosentti	Eroprosentti kertoo kuinka monta prosenttia tuloksen tai tulosten muutos on tavoitteesta. Se saadaan laskemalla erotus ja jakamalla se tavoitteella. (Eroprosentin laskeminen 2022.)

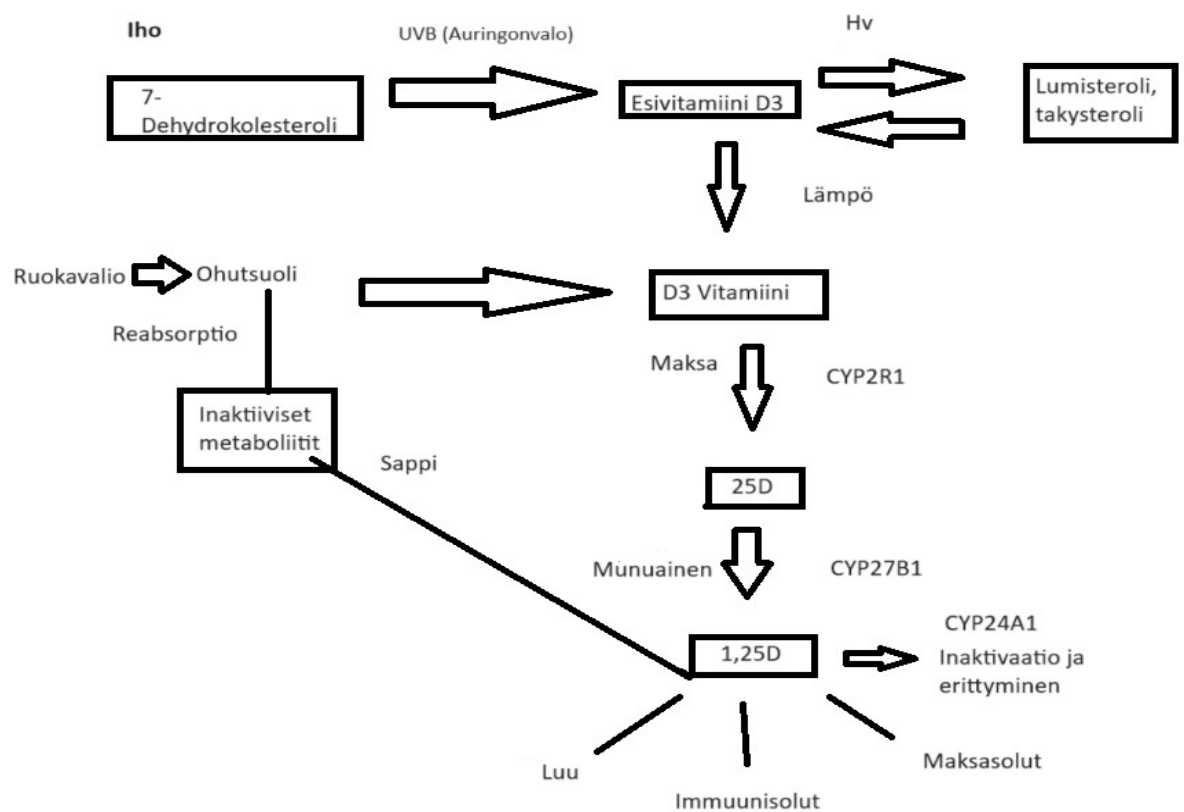
3 D-vitamiini

D-vitamiini on rasvaliukoinen vitamiini, jolla on tärkeä rooli elimistön kalsiumpitoisuuden säätelyssä. D2-vitamiini (ergokalsiferoli) ja D3-vitamiini (kolekalsiferoli) ovat tärkeimpiä tähän ryhmään kuuluvia yhdisteitä. D2-vitamiinia saadaan ainoastaan ravinnosta, D3-vitamiinia voi sen lisäksi myös syntetisoida ihossa riittävän auringolle altistumisen seurauksena. (Raulio ym. 2017: 268.)

25-hydroksylaation vaikutuksesta maksa muodostaa D2- ja D3-vitamiineista 25(OH)-D-vitamiinia, josta muodostuu munuaisissa edelleen 1,25(OH)₂-D-vitamiinia, kalsitriolia.

D-vitamiini esiintyy verenkierrossa pääasiallisesti 25(OH)-D-vitamiinimuodossa.

1,25(OH)₂-D-vitamiini on biologisesti aktiivinen ja osallistuu luustometabolian ja elektrolyttitasapainon säätelyyn. (Pilz ym. 2019.)



Kuvio 1. Kaavio D3-vitamiinin kulusta elimistössä

4 D-vitamiinitutkimus Cobas e411- analysaattorilla

Cobas e411- analysaattorilla tehdään immunomääritysanalyysseja, sen toiminta perustuu patentoituun ElectroChemiLuminescence (ECL)- tekniikkaan. Laite on suunniteltu sekä kvalitatiivisiin, että kvantitatiivisiin in vitro- määrittelyihin. Näitä määrittelyitä voidaan tehdä virtsasta, plasmasta tai seerumista. Laitetta on saatavilla sekä teline-, että levy-mallina. (Roche Diagnostics 2022.)

S-D-25-tutkimus (D-vitamiini-25-OH, seerumista) kertoo parhaiten käytettävissä olevista elimistön D-vitamiinivarastoista, sekä D-vitamiinin saannista. Tätä tutkimusta käytetään tutkittaessa seerumista kalsiumaineenvaihdunnan häiriöitä-, sekä D-vitamiinin yliannostusta- ja puutostiloja. (HUSLAB 2024.)

25(OH)-D-vitamiinin pitoisuus elimistössä on suoraan verrannollinen auringonvalon määrään niin, että korkeimmat tasot esiintyvät loppukesästä ja matalimmat keskitalvella. Sen sijaan 1,25(OH)₂-D-vitamiinitasot eivät ole riippuvaisia auringonvalosta, vaan se kertoo aktiivisen D-vitamiinin määrästä, joka vaikuttaa elimistön fosfaatti- ja kalsiumtasapainoon hormonimaisesti. (Pilz ym. 2019.)

1,25(OH)₂-D-vitamiinia mitataan verenkierrosta S-D-1,25- tutkimuksella (D-vitamiini-1,25-OH, seerumista). (FIMLAB 2022) Tutkimuksesta on hyötyä mm. mineraaliaineenvaihduntatutkimuksissa, erilaisissa munuaistaudeissa, hypo- ja hyperfosfatemiassa, hypo- ja hyperkalsemiassa, sekä sarkoidoosissa. (HUSLAB 2023.)

Määritys perustuu kilpailuperiaatteeseen. Ensin 25(OH)D-vitamiini vapautetaan D-vitamiinia sitovasta proteiinista. Tämä tapahtuu inkuboimalla näytettä kahden esikäsitelyreaagenssin kanssa (pretreatment reagent 1 ja 2). Esikäsiteltyä näytettä inkuboidaan rutheniumilla leimatun D-vitamiinia sitovan proteiinin kanssa. Näin muodostuu kompleksi 25(OH)D:n ja rutheniumilla leimatun D-vitamiinia sitovan proteiinin välille. (Elecsys Vitamin D Total 2020.)

Tämän jälkeen suoritetaan kolmas inkubaatio. Sen aikana lisätään streptavidiinilla päällystettyjä mikropartikkeleita, sekä biotiinilla leimattua D-vitamiinia, jolloin sitoutumattomat rutheniumilla leimatut D-vitamiinia sitovat proteiinit varataan. Rutenyloidusta

d-vitamiinia sitovasta proteiinista ja biotinyloidusta D-vitamiinista koostuva muodostuu ja sitoutuu streptavidiiniin ja biotiinin vaikutuksesta kiinteään faasiin. (Athanassiou ym. 2022.)

Reaktioseos aspiroidaan kennoon, josta mikropartikkelit napataan magneettisesti elektrodin pinnalle. Tämän jälkeen poistetaan sitoutumattomat partikkelit. Jännitteen kohdistaminen elektrodiin aiheuttaa kemiluminesenssiemission, joka havaitaan fotomonistimella. (Athanassiou ym. 2022.)

5 Opinnäytetyön tarkoitus, tavoitteet ja tutkimuskysymykset

Opinnäytetyön tarkoituksena on verifioida D-vitamiinitutkimus Cobas e411- kemian analyyttorilla Metropolian bioanalytiikan tutkinto-ohjelmaa varten. Opinnäytetyön tavoitteena on Cobas e411- analyyttorin D-vitamiinitutkimuksen menetelmän soveltuvuuden testaaminen Metropolia Ammattikorkeakoulun käyttöön. Työllä selvitetään analyyttorin analyysitulosten laatu ja vertailukelpoisuus.

Tutkimuskysymykset ovat:

1. Ovatko D-vitamiini tulokset toistettavia Metropolia Ammattikorkeakoulun Cobas e411- analyyttorilla? Kuinka paljon oppilaitoksen ja referenssianalyyttorin antamat tulokset eroavat toisistaan?
2. Ovatko tulokset vertailukelpoisia referenssilaboratorion Cobas e411- analyyttorilla?

6 Verifioinnin toteutus

Opinnäytetyössä käytettiin tilastollista tutkimusmenetelmää. Tuloksien välisiä riippuvuuksia tarkasteltiin numeerisesti ja niitä havainnollistettiin esimerkiksi taulukoita ja kuvioita käyttämällä. (Heikkilä 2014: 15.) Referenssilaboratoriolta saatiin 30 potilasnäytettä, jotka analysoitiin sekä oppilaitoksen Cobas e411- analyyttorilla, että referenssianalyyttorilla. Analysoinneista saatuja tulostasoja vertailtiin keskenään.

6.1 Aineisto

Referenssilaboratorio keräsi nämä näytteet kolmeltakymmeneltä eri potilaalta, analysoivat ne samanlaisella Cobas e411- analysaattorilla, kuin mitä Metropolia Ammattikorkeakoulusta löytyy ja lähettivät näytteet kylmägeelien välissä. Optimitilanteessa asiaksnäytteet valitaan niin, että niistä saatavissa arvoissa olisi jonkin verran hajontaa. Otannassa tulee olla arvoja sekä korkeista, keskivälin, että matalista näytteen pitoisuuksista. Tässä tapauksessa näin toimittiin. Sen lisäksi työssä tarkasteltiin sarjojen välistä toistettavuutta, sekä myös sarjojen sisäistä toistettavuutta.

Näytemateriaalina toimi veriseerumi. Näytteet saapuivat oppilaitokselle 3.11.2023 ja ne analysoitiin 7.11.2023. Ennen analysointia näytteitä säilytettiin jääkaapissa. Kontrollina käytettiin PreciControl Varia VitDT 1:tä ja 2:ta.

Verifiointin toteutuksessa oli noudatettava verifiointisuunnitelmaa. Metropolia Ammattikorkeakoululta sain suunnitelmapohjan, joka täytettiin verifiointin aikana. Suunnitelmassa on esitetty mm. verifiointinissa käytetyt kontrollit, vakiot, reagenssit, verifiointin aikataulu ja parametrit jotka verifiointiin. Tulokset ja niihin liittyvät kuviot, kaaviot ja laskelmat jotka verifiointinissa saatiin on liitettynä suunnitelmaan.

6.2 Aineiston analysointi

Aineistosta tarkasteltiin sarjojen välistä toistettavuutta, sekä myös sarjojen sisäistä toistettavuutta. Aineisto analysoitiin laskemalla Pearsonin korrelaatiokerrointa. Muuttujien välistä riippuvuutta tarkasteltiin kahden muuttujan välillä. Pearsonin korrelaatiokerroin (tulomomenttikerroin) on tavallisimmin käytetty mitta näiden tarkasteluun. Pearsonin korrelaatiokertoimen tarkoituksena on mitata välimatka- ja suhdeasteikon tasoisille muuttujille lineaarisen riippuvuuden voimakkuutta. Näin voidaan tutkia kuinka esimerkiksi kuukausitulot tai ikä vaikuttavat annettuihin mielipidearvosanoihin. (Heikkilä: 90).

Korrelaatiokerroin antaa korrelaation kahden muuttujan väliselle riippuvuudelle välillä -1 ja 1 . Mitä lähempänä kerroin on yhtä, sitä voimakkaampi positiivinen korrelaatio vallitsee muuttujien välillä. Sama pätee toiseen suuntaan, mitä lähempänä kerroin on arvoa -1 , sitä voimakkaampi negatiivinen korrelaatio vallitsee muuttujien välillä. 0 kuvaa arvoa jossa muuttujien välillä ei ole lainkaan riippuvuutta lineaarisella tasolla. (Heikkilä: 91).

6.3 Regressioanalyysi

Regressiosuoran avulla voidaan kuvata riippuvuutta, kun muuttujien välisellä käyttäytymisellä on korrelaatiota. (Heikkilä: 92). Opinnäytetyössä käytetään regressiosuoraa apuna arvioimaan analysoitavien välistä tarkkuutta.

7 Tulokset ja niiden tarkastelu

7.1 Sarjojen sisäinen toistettavuus

Analysoituja näytteitä oli kolmea eri pitoisuutta. Mittaamiseen valittiin matalan tason kontrollinäyte A, sekä korkean tason näyte B. Matalan tason kontrollinäytettä analysoitiin kymmenen kertaa peräkkäin ja korkean tason kontrollinäytettä yhdeksän kertaa peräkkäin. Näiden lisäksi analysoitiin useista näytteistä koostuvaa poolia C kymmenen kertaa peräkkäin. Tulokset ovat esitettynä taulukossa alla (taulukko .)

Taulukko 2. Sarjojen sisäisessä toistettavuudessa mitattujen näytteiden tulokset (nmol/l).

Näyte	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
A	72.49	70.89	69.47	72.09	76.14	71.83	71.54	72.22	73.86	76.04
B	142.2	139.0	137.7	146.8	143.2	146.4	137.3	139.7	138.6	
C	69.79	68.29	73.23	65.36	73.75	72.07	71.29	71.34	70.81	72.92

Laitteella on 30 paikkaa, mutta käytännössä sille mahtuu 29 näytettä kerrallaan, koska viimeinen paikka on varattava ns. stop-näytteelle, joka antaa laitteelle komennon lopettaa uusien näytteiden ajaminen. Muuten laite aloittaisi pipetoimaan uudelleen samoja jo kertaalleen ajettuja näytteitä niin pitkään kun näytemateriaalia olisi riittävästi. Tästä syystä korkean tason näytettä B on ajettu yhdeksän kertaa kymmenen sijasta.

Saaduista tuloksista on laskettu keskiarvo, keskihajonta ja variaatiokerroin, jotka ovat esitettynä alla olevassa taulukossa (Taulukko 3.)

Taulukko 3. Sarjan sisäisestä toistettavuudesta lasketut parametrit.

			A	B	C
Keskiarvo nmol/l			72.67	127.10	70.886
Keskihajonta nmol/l			2.13	3.62	2.54
Variaatiokerroin (%)			2.93	2.85	3.58

Sarjojen sisäisessä toistettavuudessa saatua tulostasoa verrattiin tulostasoon, jonka laitevalmistaja on ilmoittanut. Roche on ilmoittanut variaatiokertoimet tietyille pitoisuuksille, joten saatuja tulostasojä verrattiin niihin. (Elecsys Vitamin D Total 2020.)

Matalan tason näyte A:lle laitevalmistaja on ilmoittanut variaatiokertoimen 5,7% ja korkean tason näyte B:lle 4,6%. Saamani tulosten variaatiokertoimet ovat hieman pienempiä (2,93% ja 2,85%). Poolinäyte oli koostettu satunnaisista seerumivierinäytteistä, eikä sille ollut määritelty variaatiokerrointa.

Ennen näytteiden analysointia reagenssi oli vakioitava, eli kalibroitava laitteelle. Käyttämäni reagenssi tälle menetelmälle oli laitevalmistajan tuottama Diluent Universal. Hyväksytyyn kalibraation jälkeen analysoitiin kontrollit. PreciControl Varia- pakkausseosteesta löytyi eräkohtaiset tiedot tavoiterajoista, sekä keskihajonnoista (SD). Saatuja tuloksia verrattiin niihin. Alla olevasta taulukosta löytyvät kontrollien rajat, tavoitearvot, keskihajonnat ja saadut tulokset. (Taulukko 4.)

Taulukko 4. Kontrollien raja-arvot, tavoitearvot, keskihajonnat ja tulokset.

Kontrolli	Kontrollin rajat	Tavoite	1 SD	2 SD	Tulos (nmol/l)
PreciControl Varia 1	41,93 - 65,93	53,75	5,91	11,82	50,79
PreciControl Varia 2	87,6 - 131,4	109,5	10,95	21,9	100,7

7.2 Sarjojen välinen toistettavuus

Mitattaessa sarjojen välistä toistettavuutta kolmea eritasoista näytettä analysoitiin viitenä peräkkäisenä päivänä. Mittausten tulokset ovat esitettynä alla olevassa taulukossa (Taulukko 5.)

Taulukko 5. Sarjojen välisen toistettavuuden tulokset, sekä niistä saadut keskiarvot, keskihajonnat ja variaatiokerroimet. Tulokset ovat muodossa nmol/l.

Näyte	A	B	C
Päivä 1	78,25	146,8	64,01
Päivä 2	74,76	141,9	68,3
Päivä 3	72,58	140,1	70,23
Päivä 4	74,26	146,6	63,82
Päivä 5	76,12	145	65,94
Keskiarvo (nmol/l)	75,19	144,08	66,46
Keskihajonta (nmol/l)	1,9	2,65	2,48
Variaatiokerroin (%)	2,52	1,84	3,73

7.3 Tulostason vertailu potilasnäytteillä

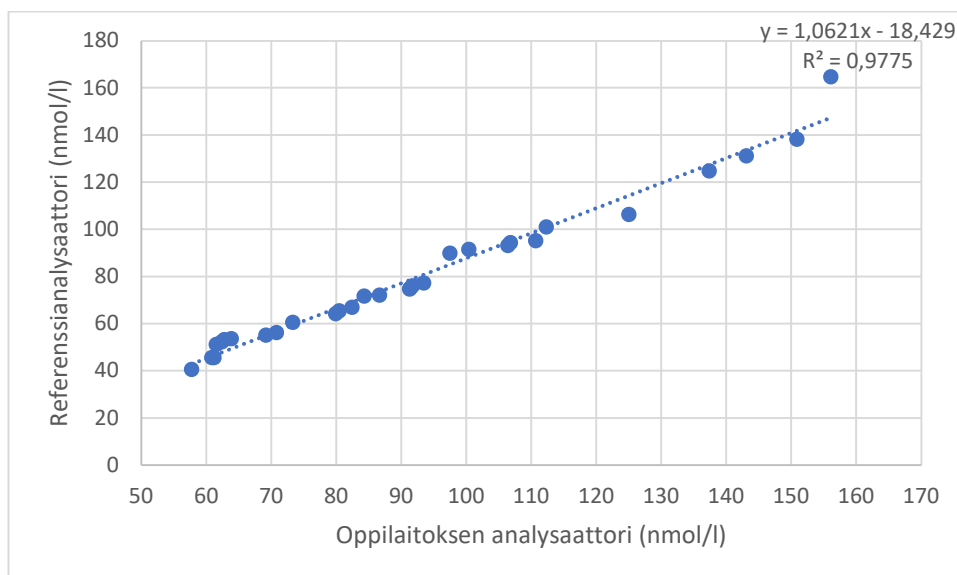
Sekä Metropolian analysaattorilla, että vertailulaitteella analysoitiin 30 anonymisoitua potilasnäytettä. Saadut tulokset eroprosentteineen ovat esitettynä alla olevassa taulukossa (Taulukko 6.)

Taulukko 6. Analysaattorien väliset potilasnäytteiden tulokset eroprosentteineen.

Näyte	Koulun laite (nmol/l)	Vertailulaite (nmol/l)	Ero-%
1	61.22	60.62	0.98
2	100.4	91.67	8.69
3	79.93	76.15	4.72
4	82.45	77.37	6.16
5	62.37	56.37	9.62
6	73.31	64.28	12.3
7	86.64	75.17	13.2
8	156.1	164.80	-5.27
9	62.77	55.22	12.02
10	91.73	101.10	-10.90
11	63.86	51.25	19.74
12	57.75	45.77	20.74
13	70.79	53.37	24.60
14	93.48	45.77	51.03
15	61.54	53.77	12.62
16	97.48	71.76	26.38
17	84.28	67.00	20.50
18	80.45	65.55	18.52
19	106.8	90.03	15.70
20	110.7	93.31	15.71
21	106.4	95.27	10.46
22	125.0	106.40	14.88
23	143.1	131.30	8.24
24	112.3	94.53	15.82
25	137.4	124.90	9.09
26	150.9	138.30	8.35
27	69.19	52.40	24.27
28	91.37	72.22	20.96
29	60.87	40.71	33.12
30	91.27	74.75	18.10

Analysoiduista potilasnäytteistä muodostettiin regressiosuora, jonka tarkoituksena on kuvata kuinka voimakas yhteys muuttujien välillä vallitsee (Regressioanalyysi 2022). Regressiosuora kertoo muuttujien välisestä korrelaatiosta, eli riippuvuudesta. Muuttujina on referenssianalysoijan antamat tulokset ja oppilaitoksen analysoijan antamat tulokset. Pearsonin korrelaatiokertoimeksi on saatu 0.98868599666, joka pyöristyy muotoon 0.989.

Alapuolella on esiteltynä regressiosuora (kuvio 2), jossa x-akselilla on oppilaitoksen analysaattorin antamat tulokset ja y-akselilla referenssianalysaattorin tulokset.



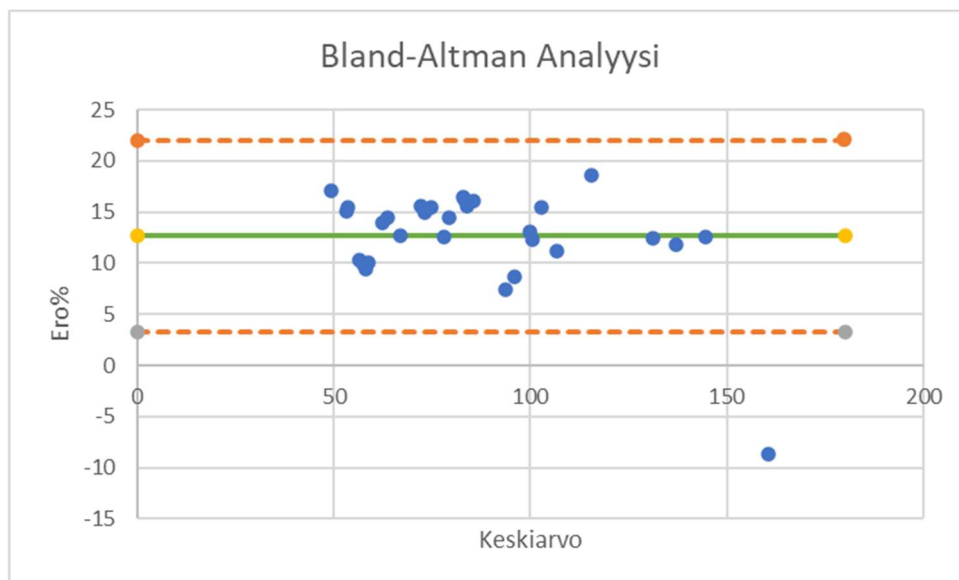
Kuvio 2. Analysaattorien välisistä mittaustuloksista muodostettu regressiosuora.

7.4 Bland-Altman Analyysi

Lääketieteellisten laboratorioiden on arvioitava yhteensopivuutta kahden mittaussuorituksen välillä. Aina kun joudutaan vaihtamaan menetelmää toiseen tai arvioimaan uutta menetelmää, Bland-Altmanin analyysia voidaan käyttää työkaluna erojen ja niiden syiden arvioimiseen ja mittaamiseen. Minkä tahansa kliinisen mittauksen verifiointiin ja validointiin on sisällettävä kaikki menettelyt joilla osoitetaan mittaukseen käytetyn menetelmän toistettavuus sekä luotettavuus aiotussa käytössä. (Giavarina 2015.)

Kahta menetelmää verrattaessa kumpikaan ei anna yksiselitteisesti oikeaa mittausta, joten yhdenmukaisuuden asteen arvioiminen voi hankalaa. Esimerkiksi korrelaatiolla tutkitaan kahden muuttujan välistä suhdetta, mutta ei eroja. Siksi sitä ei suositella menetelmäksi menetelmien vertailukelpoisuuden arviointiin. Vuonna 1983 Bland ja Altman kehittivät vaihtoehdoisen analyysin, joka perustuu kahden kvantitatiivisen mittauksen välisen yhteensopivuuden kvantifointiin tutkimalla keskimääräisiä eroja ja muodostamalla sovintorajoja (limits of agreement). Nämä tilastolliset rajat lasketaan käyttämällä kahden mittauksen välisten erojen keskihajontaa (s) ja keskiarvoa. Tulokseksi saatu graafi on hajontakäyrä XY, jossa Y-akseli näyttää eron kahden parillisen mittauksen

välillä (A-B) ja X-akseli kuvaa mittausten keski-arvoa $((A+B)/2)$. Eli kahden parillisen mittauksen ero piirretään kahden mittauksen keskiarvon funktiona. (Giavarina 2015.)



Kuvio 3. Brand-Altman Analyysi.

8 Pohdintaa

8.1 Tulosten tarkastelu

Sarjan sisäisessä toistettavuudessa verrattiin saatuja variaatiokerroimia laitevalmistajan ilmoittamiin. Matalan pitoisuuden Näyte A:lle ilmoitettu variaatiokerroin oli 5,7% ja korkean pitoisuuden Näyte B:lle 4,6% (Elecsys Vitamin D Total 2020.) Kumpikin tuloksesta (2,93% ja 2,85%) ovat tämän vaihteluvälin sisällä.

Sarjojen välisen toistettavuuden laatutavoitteeksi on asetettu kaikilla kolmella pitoisuudella < 6%. Variaatiokerroin Näyte A:lle oli 2,52 %, Näyte B:lle 1,84 % ja Näyte C:lle 3,73 %. Saadut tulokset mahtuvat halutun vaihteluvälin sisälle.

Vertaillessa tulostasoa katsotaan kummallakin analysoitujen potilastulosten välistä eroprosenttia ja verrataan sitä laatutavoitteisiin. Ulkoisen laadunarvioijan Labqualityn vitamiinikerroksella D-25:lle on asetettu tavoitteeksi +/- 15%. Kuitenkin

esimerkiksi Huslabissa laatutavoite on tätä tiukempi, eikä tavoite ole suoraan verrattavissa siihen, millainen ero on kliinisesti merkitsevä. On syytä myös huomioda että eri laitteilla on erilainen suoriutumiskyky. (Lamberg 2024.)

Suurin osa analysoiduista näytteistä osuu tavoitearvojen sisälle, mutta osa jää ulkopuolelle. Näytteelle numero 14 saatiin suurin eroprosentti, 51,03 %, joka poikkeaa asetetusta viidentoista prosentin rajasta yli 36%.

Tuloksista laskettiin myös Pearsonin korrelaatiokerroin, joka oli pyöristettynä muodossa 0.989. Kerrointa käytetään kun halutaan tarkastella lineaarista riippuvuutta suhteasteikon muuttujilla, jotka ovat jakaumiltaan symmetrisiä. Oppilaitoksen- ja referenssilaboratorion analysaattorin antamien tulosten välillä vallitsee erittäin voimakas korrelaatio. Kertoimen avulla saadaan arvoja -1:n ja 1:n välillä. Mitä lähempänä itseisarvo on nollaa, sitä heikompi muuttujien välinen riippuvuus. Vastaavasti mitä kauempana itseisarvo on nolasta, sitä suurempi riippuvuus on muuttujien välillä. (Korrelaatioanalyysi 2021.)

8.2 Tutkimuksen eettisyys

Suomen bioanalytikkoliitto ry. on listannut eettisiä periaatteita sekä kliinisen laboratoriotyön-, että terveydenhuollon näkökulmasta. Potilaalla tai asiakkaalla on oikeus hyvään hoitoon, eli laboratoriotyön näkökulmasta oikeus luotettaviin laboratoriotuloksiin kohtuullisessa ajassa. Potilaalla tai asiakkaalla on oikeus hyvään palveluun, olosuhteiden on oltava optimaaliset jotta hän kokisi tullensa kohdelluksi hyvin, ja olevansa turvallisissa, asiantuntevissa käsissä. Hoito on toteutettava oikeudenmukaisesti kunnioittaen potilaan tai asiakkaan ihmisarvoa ja itsemääräämisoikeutta. Eettisiin periaatteisiin kuuluu myös työyhteisön jäsenenä kehittää ja ylläpitää ammattitaitoa. (Suomen Bioanalytikkoliitto ry 2017).

Tutkimuksessa on pyrittävä objektiivisuuteen ja puolueettomuuteen. Tutkimusprosessiin ei saa vaikuttaa tutkijan omat mielipiteensä tai vakaumuksensa, eikä tutkimustuloksia tule missään tapauksessa vääristellä tahallisesti tai jättää käyttämättä helposti saatavilla olevia kontrollikeinoja. Tutkimustulosten tulee olla toistettavia tutkijasta riippumatta. (Heikkilä 2014: 27-28.) Opinnäytetyössä kirjataan jokainen tutkimuksen vaihe ja raportoidaan verifioimisen vaiheet mahdollisimman tarkasti ja huolellisesti.

Opinnäytetyössä käytettiin referenssilaboratorion toimesta anonymisoituja asiakasnäytteitä. Näin toimimalla ei ollut tarpeen tehdä voimassaolevan tietosuojalain mukaisia toimenpiteitä. (Tietosuojalaki 5.12.2018/1050 2.luku 6§). Anonyymien asiakasnäytteiden käyttäminen on myös eettisten periaatteiden mukainen ratkaisu. Näytteistä on mahdollista tunnistaa ketään luonnollista ihmistä.

8.3 Tutkimuksen luotettavuus

Hyvällä kvantitatiivisella tutkimuksella on korkea pätevyys, eli validiteetti. Validiudella voidaan tarkoittaa systemaattisten virheiden puuttumista, jolloin tehdyt mittaukset ovat oikeita keskimääräisesti. Mitattavat muuttujat ja käsitteet on määriteltävä tarkoin, jotta mittaustulokset voivat olla valideja. Tutkimuskysymykset on asetettava niin että ne mitaavat yksiselitteisesti oikeita asioita. Tutkimuksen validiutta lisää myös edustava otos ja perusjoukon tarkka määrittely. (Heikkilä 2014: 27.)

Luotettavalla tutkimuksella on korkea luotettavuus, eli reliabiliteetti. Tällä tarkoitetaan sitä että tulosten on oltava mahdollisimman tarkkoja, eivät sattumanvaraisia. Tutkimuksessa pieni otoskoko korreloi sattumanvaraisuuden kanssa, joka madaltaa tutkimuksen luotettavuutta. Otoksen tulisi myös edustaa mahdollisimman hyvin tutkittavaa perusjoukkoa. (Heikkilä 2014: 27.)

Aikatauluongelmien vuoksi sarjojen välisiä toistettavuuksia analysoitiin ainoastaan viisi kertaa. Esimerkiksi kymmenen kertaa olisi ollut parempi tulosten luotettavuuden kannalta, mutta näinkin voitiin todeta tulosten olevan sarjojen välisissä toistettavuuksissa riittävän lähellä toisiaan, jotta niihin voidaan luottaa. Lisäksi potilasnäytteiden melko pieni otoskoko (30) lisää sattumanvaraisuutta, vaikka tämänkaltaiseen työhön määrä onkin riittävä.

Useimmiten laboratoriotutkimusprosessi jaetaan preanalyttiseen., analyttiseen-, ja postanalyttiseen vaiheeseen. Prosessissa suurin osa virheistä tapahtuu preanalyttisessä vaiheessa, eli näytteenotossa tai näytteensäilytyksessä ennen varsinaista analysointia. Näytteiden lämpötila, säilytysaika ja näytteenotosta analysointiin kuluva aika ovat esimerkkejä mahdollisista virhelähteistä tutkimuksessa. (Pura 2021.)

Näytteenottoon, näytteiden kuljetukseen- ja säilytykseen en ole voinut vaikuttaa opinnäytetyössäni, referenssilaboratorion otettua näytteet itse. Näin minulla ei ole ollut

mahdollisuutta vaikuttaa mahdollisiin preanalyttisiin virheisiin. Referenssilaboratorio oli myös sentrifugoinut ja erotellut seerumin punasolujen päältä ennen näytteiden analysointia ja lähettämistä. Minulla ei ole tietoa missä olosuhteissa näytteitä on säilytetty ennen kuljetusta.

Seeruminäytteet saapuivat oppilaitokselle kylmägeelipussien välissä 03.11.2023 ja ne laitettiin molegyyigenetiikan luokan jääkaappiin. Näytteet ehtivät olla jääkaapissa noin neljä vuorokautta ennen kuin aloitin näytteiden analysoinnin 07.11.2023. Pakastettuna seeruminäytteet olisivat säilyneet paremmin, eroteltuna säilyvyys jääkaapissa on neljä vuorokautta (D-vitamiini-25-OH, seerumista 2024).

Näytteet olivat siirrettynä alkuperäisistä näytteenottoputkista kuljetusputkiin. Otettaessa näyte seerumigeeliputkeen, putkea ei saa sentrifugoida enempää kuin kerran. Näin vältetään geelin tihkuminen seerumin sekaan. (Verinäytteet 2024.) Osa näytteistä oli hyytelömäisiä, mikä saattaa viitata siihen että putket ovat sentrifugoitu ennen kuin näyte on ehtinyt hyytyä täysin. Seerumigeeliputken on annettava näytteenoton jälkeen seisoa vähintään 30 minuuttia ennen sentrifugointia. (Putkijärjestys vakuuminäytteenotossa 2024).

Ennen analysointia oppilaitoksen analysaattorilla, näytteet sentrifugoitiiin ja sekoitettiin hyvin, jotta ne olisivat mahdollisimman homogeenisiä. Näytepipettori ei välttämättä saa pipetoitua hyytelömäistä näytettä kunnolla, jolloin laite ei onnistu analysoimaan sitä. Opinnäytetyöprosessin aikana niin ei kuitenkaan käynyt.

Carry over- efekti voi myös aiheuttaa virheellisiä tuloksia. Efekti syntyy tilanteessa, jossa näytemateriaalia siirtyy laitteen kautta toiseen näytteeseen, kontaminoiden sen. Cobas e411-analysaattorin kanssa carry over- efektiä ei pitäisi esiintyä, laitteen käytäessä pipeteissä kertakäyttökärkiä. (Cobas e411 Analyzer: Operator's Manual).

8.4 Johtopäätökset

Sarjan sisäisistä toistuvuuksista, sekä sarjojen välisistä toistuvuuksista saadut tulokset olivat riittävän hyvät siihen että D-vitamiininäytteitä voidaan analysoida Metropolia Ammattikorkeakoulun Cobas e411- laitteella opetustarkoituksessa. Potilasnäytteiden tuloksissa oli niin suuria eroja, että verifiointi olisi suoritettava uudelleen jotta potilas-

näytteitä voitaisiin analysoida kliinisiin tarkoituksiin. Näytteiden käsittely ja laatu ovat voineet vaikuttaa tuloksiin.

8.5 Ammatillinen kasvu

Opinnäyteprosessin aikana olen kehittänyt ongelmanratkaisukykyjäni, sillä Cobas e411- analysaattori ei ollut ennestään minulle tuttu laite. Kliinisen kemian ja immuno-kemian analysaattorien käyttämisestä minulla on kokemusta Meilahden, Malmin ja Jorvin laboratorioissa, joissa käytetään Siemensin Atellica-analysaattoreita. Menetelmän periaate on kuitenkin tässä tapauksessa sama, joten koen että aiempi kokemus immu-nokemian analysaattoreista on ollut hyödyksi.

Cobas e411- analysaattorin käytön opetteluun lisäksi tiedonhakutaitoni ovat kehittyneet opinnäytetyöprosessin aikana. Olen myös keskustellut Jorvin- ja Meilahden sairaalan laboratorion kemistien kanssa opinnäytetyöstäni, D-vitamiinitutkimuksista ja verifiointi-prosessista. Sain heiltä paljon arvokasta ja ajankohtaista tietoa, joka on edesauttanut opinnäytetyötäni ja ammattitaitoani.

Työskentelin koko opinnäyteprosessin ajan yksin, saaden kuitenkin paljon arvokasta apua ohjaajalta, sekä opinnäytetyötä ohjaavalta opettajalta. Suurena haasteena oli sovittaa oma työaikatauluni niin, että kykenin tekemään verifiointia. Aikataulut saatiin kuitenkin riittävän sopiviksi sille että sain analysoitua sarjan sisäisen toistuvuuden, sarjojen väliset toistuvuudet, sekä potilasnäytteet. Tulosten raportointi on myös ollut yllättävän työlästä ja täytynyt sovittaa yhteen työaikataulujeni kanssa. En ollut koskaan aikaisemmin suorittanut verifiointia, mielestäni opin eniten koko prosessin aikana siitä.

Lähteet

Anttila, Mikko 2003. Regressioanalyysi. Tietoarkisto. Tampereen Yliopisto. Verkko-dokumentti. Viitattu 31.01.2024.

<<https://www.fsd.tuni.fi/fi/palvelut/menetelmaopetus/kvanti/regressio/analyysi/>>

Athanassiou, Lambros & Kostoglou-Athanassiou, Ifigenia & Tsakiridis, Pavlos & Devetzi, Eirini & Mavroudi, Maria & Fytas, Pantelis & Koutsilieris, Michael & Athanassiou, Panagiotis 2022. Vitamin D levels in Greek patients with systemic lupus erythematosus. Sage Journals. Verkkodokumentti. <

<https://journals.sagepub.com/doi/10.1177/09612033211066462>> Viitattu 04.02.2024.

Chang, Szu-Wen & Lee, Hung-Chang. 2019. Vitamin D and health – The missing vitamin in humans. Pediatrics and neonatology. Verkkodokumentti. <[https://www.pediatr-neonatol.com/article/S1875-9572\(18\)30651-X/fulltext](https://www.pediatr-neonatol.com/article/S1875-9572(18)30651-X/fulltext)> Viitattu 21.02.2023.

Elecsys Vitamin D Total. Roche Diagnostics. Verkkodokumentti. https://elabdoc-prod.roche.com/eLD/web/pi/en/products/CPS_000379 Viitattu 03.02.2024.

Fimlab. 2022. D-vitamiini. Tutkimusohjekirja. Verkkodokumentti. <

<https://fimlab.fi/tutkimus/6500>> Viitattu 19.02.2023.

Heikkilä, Tarja. 2014. Tilastollinen tutkimus. Edita Publishing Oy. E-kirja. Viitattu 19.02.2023

HUSLAB 2023. D-vitamiini-1,25-OH, seerumista. Tutkimusohjekirja. Verkkodokumentti.

< https://huslab.fi/cgi-bin/ohjekirja/tt_show.exe?assay=3163&terms=d-vitamiini> Viitattu 19.02.2023.

HUSLAB 2024. D-vitamiini-25-OH, seerumista. Tutkimusohjekirja. Verkkodokumentti. <

https://huslab.fi/cgi-bin/ohjekirja/tt_show.exe?assay=1220&terms=s-d-25> Viitattu 03.02.2024.

Hägg, Margareta (toim.). 2016. Validoinnin suunnittelun opas. Teknologian tutkimuskeskus VTT. E-kirja. Luettavissa myös osoitteesta:

<https://www.vttresearch.com/sites/default/files/pdf/technology/2016/T276.pdf> Viitattu 17.02.2023

Korhonen, Oskari. 2014. Masennus ja D-vitamiini. Opinnäytetutkielma. Itä-Suomen yliopisto, terveystieteiden tiedekunta, lääketieteen laitos. Verkkodokumentti. https://erepo.uef.fi/bitstream/handle/123456789/13481/urn_nbn_fi_uef-20140281.pdf?sequence=1&isAllowed=y Viitattu 22.02.2023

Lamberg, Tea 2024. Sähköpostikeskustelu. Viitattu 25.02.2024.

Mitä standardointi tarkoittaa? 2024. SFS ry. Verkkodokumentti. < <https://sfs.fi/standardeista/mika-on-standardi/>>. Viitattu 03.02.2024.

Pilz, Stefan & Zittermann, Armin & Trummer, Christian & Theiler-Schwetz, Verena & Lerchbaum, Elisabeth & Keppel, Martin H & Gr rübler, Martin R & März, Winfried & Pandis, Marlene 2019. Vitamin D testing and treatment: a narrative review of current evidence. Endocrine connections. Bioscientifica. Verkkodokumentti. < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6365669/>> Viitattu 21.02.2023.

Pura, Kati 2021. Poikkeamien systemaattinen kirjaaminen ja käyttäjäkokemukset poikkeamien kirjaussovelluksesta Fimlab Laboratoriot Oy:ssä. Licensiaattityö. Itä-Suomen Yliopisto, terveystieteiden tiedekunta. Kliininen Kemia. <https://erepo.uef.fi/bitstream/handle/123456789/24437/1612508369852203971.pdf?sequence=1&isAllowed=y>. Viitattu 15.02.2024.

Putkijärjestys vakuuminäytteenotossa 2024. SYNLAB. Verkkodokumentti. <https://www.yml.fi/laboratoriokasikirja/verinaytteenottoputket-naytteenottojarjestyksessa> Viitattu 15.02.2024.

Raappana, Emma 2021. D₃-vitamiinilisän vaikutus dementiariskiin. Pro gradu-tutkielma. Itä-Suomen Yliopisto, terveystieteiden tiedekunta. Lääketieteen laitos. https://erepo.uef.fi/bitstream/handle/123456789/26137/urn_nbn_fi_uef-20211355.pdf?sequence=1&isAllowed=y Viitattu 21.02.2023

Raulio, Susanna & Erlund, Iris & Männistö, Satu, Sarlio-Lähteenkorva, Sirpa, Sundvall, Jouko & Tapanainen, Heli & Vartiainen, Erkki & Virtanen, Suvi M. 2017. Successful nutrition policy: improvement of vitamin D intake and status in Finnish adults over the

last decade. European Journal of Public Health, Numero 27, 2. painos. 268-273.
<https://academic.oup.com/eurpub/article/27/2/268/2670162> Viitattu 21.02.2023.

Regressioanalyysi 2022. KvantiMotv. Verkkodokumentti.
<https://www.fsd.tuni.fi/menetelmaopetus/regressio/analyysi.html> Viitattu 31.01.2024.

Roche Diagnostics. 2022. Cobas e411 analyzer. <
<https://diagnostics.roche.com/global/en/products/instruments/cobas-e-411-ins-502.html>> Viitattu 20.02.2023

Roche Diagnostics. Cobas e 411 analyzer. Operator's Manual – Version 3.3.1. Verk-
 kodokumentti. <https://elabdoc-prod.roche.com/eLD/api/downloads/b8b3f5bb-8df0-eb11-0991-005056a772fd?countryIsoCode=pi> Viitattu 15.02.2024.

Tietosuojalaki 2018/1050, 2. luku 6§. Verkkodokumentti. <
<https://www.finlex.fi/fi/laki/ajantasa/2018/20181050#L5P29>> Viitattu 19.02.2023.

Tutkijaportti 2021. Korrelaatioanalyysi. Verkkodokumentti. <
<https://www.tutkijaportti.fi/wp-content/uploads/sites/17/2021/05/12-Korrelaatioanalyysi.pdf>> Viitattu 25.02.2024

Verinäytteet 2024. SYNLAB. Verkkodokumentti. <
<https://www.yml.fi/laboratoriokasikirja/verinaytteet>> Viitattu 15.02.2024.