

U-AlbKre-tutkimuksen käyttöönotto ja testaus Konelab 20XT -analysaattorilla

Työohje bioanalyttikko-opiskelijoille

Eveliina Läärä
Meri Männistö

OPINNÄYTETYÖ
SYYSKUU 2022

Bioanalyttikon tutkinto-ohjelma

TIIVISTELMÄ

Tampereen ammattikorkeakoulu
Bioanalyytikon tutkinto-ohjelma

LÄÄRÄ, EVELIINA & MÄNNISTÖ, MERI:
U-AlbKre-tutkimuksen käyttöönotto ja testaus Konelab 20XT -analysaattorilla
Työohje bioanalyttikko-opiskelijoille

Opinnäytetyö 38 sivua, joista liitteitä 6 sivua
Syyskuu 2022

Virtsan albumiinin ja kreatiniinin suhde (U-AlbKre) on yleinen virtsasta määritettävä laboratoriotutkimus albuminurian diagnostiikassa. Toiminnallisen opinnäytetyön tarkoituksena oli tuottaa työohje virtsan albumiini ja kreatiniini suhdetta käsittelevästä laboratoriotutkimuksesta Tampereen ammattikorkeakoulun bioanalyttikko-opiskelijoille kliinisen kemian opetuksen tueksi. Työohjeen tavoitteena on antaa bioanalyttikko-opiskelijoille kokemusta laboratorioalan työohjeen ja kliinisen kemian analysaattorin käytöstä sekä virtsasta tehtävästä laboratoriotutkimuksesta.

Opinnäytetyöprosessi alkoi virtsan kreatiniinin pystyttämällä Thermo Fisher Scientificin Konelab 20XT -analysaattorille. Virtsan albumiini oli pystytetty aikaisemmin kyseiselle analysaattorille. Virtsan kreatiniinin pystyttämisen tukena käytettiin kaupallista, virtsanäytteille sopivaa positiivista kontrollia, minkä avulla löydettiin testinäytteille sopiva laimennussuhde, jolloin kyseistä kontrollia voitiin käyttää virtsanäytteiden manipulointiin. Testauksen onnistuttua U-AlbKre-tutkimus oli valmis käytettäväksi bioanalyttikko-opiskelijoille.

Bioanalyttikko-opiskelijat testasivat tutkimuksen toimivuutta opinnäytetyöntekijöiden tekemällä työohjeella, josta he antoivat kirjallista palautetta. Palautteen tulokset käsiteltiin tilastollisin menetelmin sekä sanallisesti ja niiden mukaan työohjetta muokattiin lopulliseen muotoon. Työohjeen rakenteeseen vaikuttivat erityisesti kohderyhmä opiskelijat, joille haluttiin luoda mahdollisimman helppokäyttöinen ja yksinkertainen laboratorion työohje.

Tulevaisuudessa bioanalyttikko-opiskelijoiden on mahdollista harjoitella virtsasta tehtävää kliinisen kemian laboratoriotutkimusta, mikä ei ole aiemmin ollut mahdollista bioanalyytikon tutkinto-ohjelmassa Tampereen ammattikorkeakoulussa. Työohje tuo opiskelijoille vaihtelevuutta kliinisen kemian laboraatiotunteihin, kun näytemateriaalina voidaan käyttää virtsaa perinteisen verinäytteen sijasta.

ABSTRACT

Tampere University of Applied Sciences
Degree Programme in Biomedical Laboratory Science

LÄÄRÄ, EVELIINA & MÄNNISTÖ, MERI:
Implementation and Testing of the U-AlbKre Study Using the Konelab 20XT
Analyzer
Work instructions for bioanalyst students

Bachelor's thesis 38 pages, appendices 6 pages
September 2022

The urine albumin-creatinine ratio (ACR) is a common laboratory test in the diagnosis of albuminuria determined from the urine. The purpose of this functional thesis was to produce work instructions on the urine albumin-creatinine ratio for bioanalyst students at Tampere University of Applied Sciences to support the teaching of clinical chemistry. The goal of the work instructions is to give bioanalyst students experience to use the laboratory work instructions and the clinical chemistry analyzer Konelab 20XT, as well as laboratory research on urine.

Bioanalyst students tested the functionality of the work instructions gave written feedback. The results of the feedback were processed with statistical methods and verbally. Based on the feedback from the target group, the work instructions were modified into the final form to obtain an easy-to-use and simple laboratory work instructions.

In the future, bioanalyst students will be able to practice clinical chemistry laboratory research on urine, which has not previously been possible in the Degree Programme in Biomedical Laboratory Science at Tampere University of Applied Sciences. The work instructions bring variety to students in clinical chemistry laboratory classes, when urine can be used as a sample material.

Key words: clinical chemistry, konelab 20XT, albumin, creatinine, urine

SISÄLLYS

1	JOHDANTO	5
2	VIRTSAN ALBUMIININ JA KREATINIININ SUHDE.....	6
	2.1. Albuminuria	6
	2.2. Albumiinin ja kreatiniinin suhde	7
3	KONELAB 20XT JA MENETELMÄT	9
	3.1. Fotometriset menetelmät	10
	3.1.1 Spektrofotometria ja Beer-Lambertin laki	11
	3.1.2 Turbidometrinen mittausperiaate	11
	3.1.3 Kolorimetrinen mittausperiaate	12
	3.2. Entsymaattiset menetelmät.....	12
	3.2.1 Entsymaattinen substraattimääritys.....	13
	3.2.2 Entsymaattinen päätepestemittaus.....	13
	3.3. Albumiinin ja kreatiniinin mittausmenetelmät	13
4	REAGENSsit, KONTROLLIT & KALIBRAATTORIT.....	15
5	LINEAARINEN KALIBROINTI.....	19
6	TYÖOHJEEN SISÄLTÖ.....	21
7	TOIMINNALLINEN OPINNÄYTETYÖ.....	23
8	TOTEUTUS JA ETENEMINEN	24
	8.1. Laboratoriotyöskentely	25
	8.2. Työohjeen kirjallinen työstäminen	28
	8.3. Testaus opiskelijoilla, palautteen keräys ja käsittely	29
	8.4. Työohjeen viimeistely.....	33
9	POHDINTA	34
	LÄHTEET.....	37
	LIITTEET	39

1 JOHDANTO

Virtsan albumiinin ja kreatiniinin suhde on yleinen virtsasta määritettävä laboratoriotutkimus. Tutkimuksen avulla selvitetään, kärsiikö ihminen albuminuriasta eli albumiinin liiallisesta erittymisestä virtsaan. Albuminuriaa aiheuttaa muun muassa erilaiset munuaissairaudet ja siihen liittyy useita riskitekijöitä, kuten esimerkiksi kohonnut verenpaine, dyslipidemia, ylipaino ja tupakointi.

Tämän toiminnallisen opinnäytetyön tarkoituksena oli tuottaa työohje virtsan albumiini ja kreatiniini suhde -laboratoriotutkimuksesta (U-AlbKre) Tampereen ammattikorkeakoulun bioanalytiikko-opiskelijoille kliinisen kemian opetuksen tueksi. Tutkimus suoritetaan Thermo Fisher Scientificin valmistamalla Konelab 20XT -analysaattorilla, mikä on erikoistunut kliinisen kemian tutkimuksiin. Työohjeen tarkoituksena on antaa bioanalytiikko-opiskelijoille kokemusta niin laboratorioalan työohjeen kuin kliinisen kemian analysaattorin käytöstä sekä virtsasta tehtävästä laboratoriotutkimuksesta.

Konelab 20XT -analysaattorilla oli jo aiemmin pystytettynä virtsan albumiini (U-Alb), mutta virtsan kreatiniini (U-Kre) tarvittiin vielä tutkimusvalikkoon. Opinnäytetyöprosessin aikana virtsan kreatiniini pystytettiin kyseiselle analysaattorille. Tutkimuksen testauksessa käytettiin virtsatutkimuksiin tarkoitettua positiivista kontrollia, minkä tarkoituksena oli löytää testinäytteille sopiva laimennussuhde, jolloin kontrollia voidaan käyttää virtsanäytteiden manipulointiin. Opiskelijoiden virtsanäytteet eivät anna patologisia arvoja, joten opetuksessa joudutaan käyttämään keinotekoisesti albumiinipositiiviseksi tehtyjä näytteitä. Tutkimuksen toimivuus testattiin opinnäytetyön tekijöiden toimesta onnistuneesti ja U-AlbKre-tutkimus oli valmis opiskelijoille testattavaksi.

Testauksen jälkeen rakennettiin teoretiedon ja käytännön pohjalta työohje testattavaksi bioanalytiikko-opiskelijoille kliinisen kemian laboraatiotunneille. Opiskelijat testasivat työohjetta ja täyttivät siitä palautekyselylomakkeen. Opiskelijoiden palautteet käytiin läpi tilastollisin menetelmin ja tulosten perusteella työohje (liite 1) muokattiin lopulliseen muotoon.

2 VIRTSAN ALBUMIININ JA KREATINIININ SUHDE

Albumiini on plasman proteiini, jota syntetisoidaan maksassa aminohapoista. Albumiini toimii elimistössä kuljettajaproteiininä veteen liukenemattomille aineille sekä se ylläpitää plasman kolloidiosmoottista painetta. Tämä paine vastustaa nesteen taipumusta paeta kapillaarisuonista kohti ympäröivää väli-ilmaa johtuen verenpaineesta suonen sisällä. (Higgins 2013, 181–182.) Normaalioloissa albumiinia ei pääse erittymään plasmasta munuaisiin ja sitä kautta virtsaan kuin hyvin pieniä määriä, n. 2–12 µg/min, joita voidaan osoittaa ainoastaan hyvin herkällä immunologisilla menetelmillä. Lisääntynyt albumiinin erityisvirtsaan voi kertoa munuaisvauriosta. (Pasternack 2012, 106–113.)

Kreatiiniini on kuona-aine, jota esiintyy terveellä ihmisellä virtsassa pienin pitoisuuksin. Kreatiiniini muodostuu kreatiinista, mikä on osallisena tuottamassa energiaa lihassolujen supistumiseen. Kreatiiniinia vapautuu lihassoluista vereen, josta se kuljetetaan munuaisiin erittyen lopulta virtsaan tasaisella nopeudella. (Higgins 2013, 78.) Kreatiiniinin erittymisen määrään vaikuttaa etenkin henkilön lihasmassa ja niiden aktiivisuus, sukupuoli, ikä sekä jonkin verran ravinto (Pasternack 2012, 111, 119).

2.1. Albuminuria

Albuminurialla tarkoitetaan tilaa, jossa albumiinia erittyy virtsaan normaalia enemmän. Lisääntynyttä eritystä esiintyy munuaissairauksissa, diabeteksen aiheuttamassa munuaistaudissa sekä glomerulaaristen hiusverisuonten vaurioitumisessa (Pasternack 2012, 110–111). Munuaisissa glomerulaaristen hiusverisuonten seinämissä on aukkoja ja suonia ympäröi tyvikalvo, jolloin plasmalla on yhteys tyvikalvoon. Tyvikalvon negatiivisen varauksen takia myöskään negatiivisesti varautunut albumiini ei pääse vuotamaan tyvikalvon ulkopuolella olevaan virtsatilaan. Jos tyvikalvo vaurioituu, se muuttuu positiiviseksi varautuneeksi ja albumiinia pääsee erittymään virtsatilaan, jolloin ilmenee albuminuriaa. (Jenssen 2019.)

Lisääntynyt albumiini virtsassa on yhteydessä muun muassa kohonneeseen verenpaineeseen, dyslipidemiaan, verenpainetta ja nestetasapainoa säätelevän hormonaalisen järjestelmän yliaktiivisuuteen, suolaherkkyteen, elimistön tulehdusaktiivisuuteen, ylipainoon sekä tupakointiin. Se voi ennakoida munuaisvaurion kehittymisen lisäksi myös sydän- ja verenkiertoelintapahtumien kohonnutta riskiä. (Pasternack 2012, 534.) Eritystä voi lisätä myös virtsatieinfektio, kuume, fyysinen rasitus, sydämen vajaatoiminta ja kuukautiset (Diabeteksen munuaistauti: Käypä hoito -suositus 2020). Lisääntyneeseen albuminurian toteamiseen voidaan käyttää vuorokausivirtsan keräystä, ajastettua yökeräystä tai kertanäytettä. (Rönnemaa & Mäkelä 2019).

2.2. Albumiinin ja kreatiniinin suhde

Käytännöllinen menetelmä lisääntyneen albumiinin erityksen toteamiseen virtsasta on albumiinin ja kreatiniinin suhde virtsan kertanäytteestä. Tutkimus on hyvä seulonta- ja seurantamenetelmä diabeettisen munuaisvaurion tai verenpaineaudin aiheuttamien munuaiskomplikaatioiden selvittelyssä, kun tauti on ennalta tiedetty. (Niemelä & Pulkki 2014, 126–127.) Albuminurian toteaminen kuitenkin perustuu useisiin ja toistettuihin positiivisiin löydöksiin virtsanäytteistä, koska albumiinin erityks vaihtelee päivittäin sekä eri tekijät voivat hetkellisesti lisätä sitä (Diabeteksen munuaistauti: Käypä hoito -suositus 2020).

Albumiinin ja kreatiniinin suhde tutkitaan puhtaasti lasketusta virtsanäytteestä eli ns. keskisuihkunäytteestä. Virtsan rakko aika tulisi olla noin 4–6 tuntia. Ennen näytteenottoa runsasta nesteen nauttimista on vältettävä sen laimentavan vaikutuksen vuoksi. Aamuvirtsanäyte on suositeltavin, koska virtsanmuodostus on aamuyöllä vähäisintä ja tällöin virtsa on konsentroituneinta. Aamuvirtsassa ei myöskään näy fyysisen rasituksen mahdollisia vaikutuksia virtsan koostumukseen. Virtsanäytteen kontaminoitumista ihon ja ulkoisten sukuelinten bakteereilla on vältettävä. Virtsanäyte otetaan tehdaspuhtaaseen näyteastiaan, josta näyte siirretään tehdaspuhtaaseen näyteputkeen viimeistään puolen tunnin kuluessa näytteenotosta. Lämpö heikentää näytteen säilyvyyttä. (Friman & Kuparinen 2021, 181, 183.)

Koska kertavirtsan väkevyys vaihtelee ihmisellä päivässä virtsanerityksen mukaan, vaihtelee siinä myös albumiinin pitoisuus. Tämän kompensoimiseksi tutkimuksessa käytetään mukana kreatiniinia osatutkimuksena ja sen laskennallista suhdetta albumiiniin, sillä yksilön kreatiniinin tuotto päivässä on melko vakio. Sen vuoksi yksittäinen kertanäyte on käytännöllisempi albumiinin pitoisuuden määrittämiseksi kuin virtsan vuorokausi- tai yökeräys. (Ahmed 2011, 77, 519.) Virtsan albumiinin pitoisuus kreatiniiniin suhteutettuna (ACR) saadaan laskettua kaavan (1) mukaisesti;

$$ACR = \frac{\text{albumiini } (\frac{mg}{l})}{\text{kreatiniini } (\frac{mmol}{l})} \quad (1)$$

Normaali albumiinin määrä virtsassa ihmisellä on alle 3 mg/mmol (taulukko 1). Kun potilaalla on lisääntynyt albuminuria, ovat U-AlbKre:n arvot toistuvasti yli 3 mg/mmol. Selvästi lisääntynyt albuminuria tai jo proteinuriaksi muodostuneen raja-arvoksi on määritelty yli 30 mg/mmol. (Diabeteksen munuaistauti: Käypä hoito -suositus 2020.)

TAULUKKO 1. Raja-arvot albuminurian toteamisessa kertanäytteestä (Diabeteksen munuaistauti: Käypä hoito -suositus 2020).

Kertanäyte U-AlbKre	
Normaali	< 3 mg/mmol
Lisääntynyt albuminuria (mikroalbuminuria)	3–30 mg/mmol
Selvästi lisääntynyt albuminuria (makroalbuminuria tai proteinuria)	> 30 mg/mmol

3 KONELAB 20XT JA MENETELMÄT

Konelab 20XT on kliinisen kemian automatisoitu analysaattori rutiinimittauksiin sekä joihinkin erikoisempiin analyysihin (kuva 1), jolla voi analysoida 250 näytettä tunnissa. Analysaattoria käytetään Tampereen ammattikorkeakoulun kliinisen kemian opetuksessa harjoituslaboratoriossa. Analysaattorilla voidaan suorittaa spesifisten proteiinien, elektrolyyttien, entsyymien, substraattien sekä lääkeainepitoisuuksien määrittämiä, joita mitataan joko päätepistemittauksella tai kiineettisesti. Näyttemateriaalina voi olla seerumi, plasma, virtsa tai likvori. Analysaattori vaatii Windows®- työaseman graafisella käyttöliittymällä. Tiedot analysaattorille syötetään verkossa hiirellä, näppäimistöllä tai viivakoodinlukijalla. (Thermo Fisher Scientific 2017.)

Analysaattori sisältää fotometrin ja ISE (ioniselektiivinen elektrodi) -yksikön. Fotometrin valonlähde on halogeenilamppu lineaarisella absorbanssialueella 0,2-0,5 A. ISE-yksikkö käyttää suoraa potentiometriä sisältäen Na⁺-, K⁺- ja Cl⁻-elektrodit. Lisävarusteena voidaan liittää myös Li⁺-elektrodi. Mittauksissa analysaattori käyttää turbidometrissa, kolorimetrissa tai suoraa potentiometrissa menetelmää analyysin mukaan. Halutun analyysin mukaan analysaattorille valitaan tuotevalmistajan ohjeiden mukaisesti reagenssit, kontrollit ja kalibraattorit. (Thermo Fisher Scientific 2007.) Tässä opinnäytetyössä keskitytään virtsan albumiinin ja kreatiniinin suhteen määrittämissä käytettäviin menetelmiin, jotka ovat immuno-turbidometrinen, kolorimetrinen sekä entsyymaattinen päätepistemittaus.



KUVA 1. Konelab 20XT -analysointilaitte (Thermo Fisher Scientific 2007).

3.1. Fotometriset menetelmät

Fotometrisissä menetelmissä mitataan valoa. Fotometrisiä mittalaitteita on erityyppisiä, jotka mittaavat eri asioita, kuten esimerkiksi emittoitunutta eli säteilevää, transmittoitunutta eli läpäisevää, absorboitunutta eli imeytyvää, reflektoitunutta eli heijastuvaa, siroutuvaa tai fluoresoivaa valon määrää. Toimintaperiaate perustuu valon aiheuttaman säteilyenergian mittaamiseen vakioituissa olosuhteissa. Valo on sähkömagneettisen energian muoto, joka etenee aaltomaisesti. Aallonpituus eli valoaaltojen välinen etäisyys riippuu energian määrästä. Valon väri riippuu aallonpituudesta. Kun mittauskyvetissä olevaan kirkkaaseen, värilliseen näytteeseen osuu tiettyä aallonpituutta sisältävä valo, osa valosta absorboituu ja osa transmittoituu ja osuu detektorille. Liuoksessa olevan yhdisteen pitoisuus on suoraan verrannollinen absorboituneen valon määrään. (Penttilä & Halonen 2004, 54–56.)

3.1.1 Spektrofotometria ja Beer-Lambertin laki

UV:n ja näkyvän spektroskopian yleisin käyttö biokemiassa on absorboivien kromoforien kvantitatiivinen määrittäminen, joka tunnetaan nimellä spektrofotometria (Gore 2000, 2). Spektrofotometrillä voidaan mitata valon intensiteettiä UV-alueelta infrapuna-alueelle saakka halutulla aallonpituudella (Penttilä ym. 2004, 67). Kaikki spektrofotometriset menetelmät, jotka mittaavat absorptiota, perustuvat kahteen perussääntöön, jotka yhdessä tunnetaan nimellä Beer-Lambertin laki. Lain mukaan näyteliuokseen osuvan valon määrä vähenee sen absorboituessa näytteeseen. Valon kulkiessa liuoksessa, vähenee valon intensiteetti pienentyen eksponentiaalisesti. Näyteliuoksen läpi kulkiessa valo on vuorovaikutuksissa atomien tai kromoforimolekyylien kanssa nostamalla ne korkeammalle energiatasolle. Se, missä määrin sitä tapahtuu, riippuu liuoksen pitoisuudesta ja siinä kuljetusta matkasta eli näytekyvetin pituudesta. Laissa absorboituneen valon määrä liuoksessa, minkä läpi valo kulkee, on verrannollinen kromoforimolekyylien konsentraatioon eli liuoksen pitoisuuteen. (Gore 2000, 2–3; Kealey & Haines 2002, 197.) Beer-Lambertin laki voidaan esittää muodossa (2);

$$A = \epsilon cl \quad (2)$$

A = absorbanssi

ϵ = molaarinen absorptiokerroin

c = kromoforin konsentraatio eli pitoisuus

l = spektrofotometrin näytekyvetin valotien pituus

3.1.2 Turbidometrinen mittausperiaate

Turbidometrinen mittausperiaate on fotometrinen menetelmä, jolla mitataan näytekyvetin läpi sironneen, reflektoituneen tai absorboituneen valon kokonaismäärää. Valon voimakkuuteen vaikuttavat partikkelin koko sekä yhdisteen pitoisuus. Immunoturbidometrisessä menetelmässä valo siroaa samean suspension liukenemattomista partikkeleista. Menetelmä sopii isompien partikkeleiden, kuten esi-

merkiksi immunokompleksien mittaukseen. Immunoturbidometrisesti voidaan mitata muun muassa virtsasta proteiinien pitoisuuksia, kuten esimerkiksi albumiinia. (Niemelä ym. 2014, 58; Penttilä ym. 2004, 71–72, 99.)

3.1.3 Kolorimetrinen mittausperiaate

Kolorimetrinen mittausperiaate on yksinkertaistettu fotometrinen menetelmä, jolla mitataan transmittoituneen ja edelleen absorboituneen valon kokonaismäärää. Kolorimetri mittaa vaihdettavien eriväristen suodattimien avulla absorbansseja näkyvän valon aallonpituuksilla, jotka valitaan määrittämisen mukaan tietyille aallonpituuksille. (Penttilä ym. 2004, 67.) Menetelmässä määritettävä aine on värillinen tai siitä on syntetisoitavissa värillinen yhdiste ja mittauksen tulee tapahtua aina kirkkaissa liuksissa, tietyllä absorbanssialueella (Kealey ym. 2002, 199; Lehtonen & Sihvonen 2004, 216).

3.2. Entsymaattiset menetelmät

Entsyymit ovat proteiineja, jotka katalysoivat biologisia reaktioita. Entsyymireaktio tarvitsee toteutuakseen entsyymin (E), substraatin (S), entsyymisubstraattikompleksin (ES) ja reaktiotuotteen (P). (Niemelä ym. 2014, 67.) Entsyymireaktio esitetty kaavassa (3);



Entsyymisubstraattikompleksin muodostuminen perustuu Michaelis-Menten kineetiikkaan. Jos entsyymin konsentraatio on vakio ja substraatin puolestaan vaihteleva reaktioliuksessa, on reaktionopeus verrannollinen substraatin konsentraatioon alhaisilla substraattinopeuksilla. Substraattipitoisuuden kasvaessa yhä suurempi osuus entsyyimeistä on sitoutuneena reaktioon ja niiden määrä muodostuu reaktiota rajoittavaksi tekijäksi. Kun kaikki entsyymit ovat sidottuja reaktioon, on saavutettu kyseisellä entsyymipitoisuudella suurin nopeus. (Niemelä ym. 2014, 67.)

3.2.1 Entsymaattinen substraattimääritys

Entsymaattinen substraattimääritys perustuu entsyymattisiin reaktioihin eli tutkitavan aineen eli substraatin ja reagenssina toimivan entsyymin väliseen reaktioon. Entsyymi katalysoi reaktioita, jossa substraatti voi sitoutua entsyymin aktiiviseen keskukseen. Entsyymireaktioissa substraatti sitoutuu entsyymin aktiiviseen keskukseen, joka sitoo tietyn rakenteen omaavia molekyyliä. Entsyymi-substraattikompleksi muodostumisessa entsyymin konsentraatio pysyy vakiona ja substraatin konsentraatio puolestaan muuttuu. Substraatin pitoisuuden ollessa alhainen, reaktionopeus on verrannollinen sen konsentraatioon. (Niemelä ym. 2014, 67.)

3.2.2 Entsymaattinen päätepistemittaus

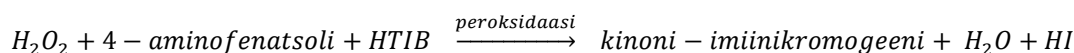
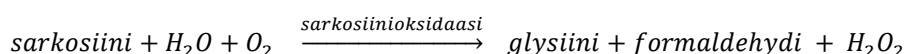
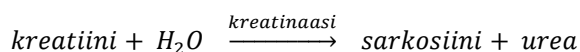
Päätepistemittausmenetelmässä analyytti muutetaan kromoforiseksi yhdisteeksi. Menetelmän etuna on, että kaikki vaihtelut eri tekijöissä, kuten esimerkiksi lämpötila tai entsyymin määrä, eivät vaikuta lopulliseen mittaukseen, koska ne tapahtuvat vasta reaktion päättyessä. (Gore 2000, 187–188.) Päätepistemittauksessa reaktiotuote muutetaan toisen reaktion avulla, joka on kytkettynä määrittämiseen. Tavallisesti tässä toisessa reaktiossa suoritetaan fotometrinen mittaus ja määrittämisen kvantitointi. Päätepistemittauksessa reaktio saatetaan niin pitkälle, että substraatti on lähes kokonaan tai kokonaan kulutettu loppuun. Nykypäivänä päätepistemittaus on usein korvannut kineettiset substraattimääritykset, koska kineettiset mittaukset vaativat onnistuakseen nykyaikaiset tietokoneohjatut analyysilaitteet ja ovat teknisesti vaikeasti suoritettavia. (Niemelä ym. 2014, 69–70.)

3.3. Albumiinin ja kreatiniinin mittausmenetelmät

Virtsan albumiinia määritetään immunoturbidometrisesti. Puskuroituun näytteeseen lisätään spesifistä antiseerumia (Albumin antiserum from rabbit), joka on kanin soluissa tuotettu vasta-aine ihmisen albumiinille. Jos näytteessä on albumiinia eli antigeenia, muodostaa se reagenssina olevan vasta-aineen kanssa immunokomplekseja, joka aiheuttaa kokonsa puolesta mitattavan aineen sameu-

den. (Thermo Fisher Scientific 2016, 1.) Sameus ja massiivinen albuminuria voivat häiritä turbidometristä mittausta ja johtaa vääriin alhaisiin tuloksiin (Dasgupta & Sepulveda 2019, 143). Virtsanäytteessä absorbanssi mitataan 450 nm:llä, kun reaktio on saavuttanut päätepisteen. Absorbanssin kasvu on suhteessa muodostuvien immunokompleksien määrään eli albumiinin määrään liuoksessa. Albumiinin mittausrajat ovat 5–188 mg/l. (Thermo Fisher Scientific 2016, 1.)

Virtsan kreatiniinia määritetään entsyymaattisesti kolorimetrisellä menetelmällä. Ensimmäisessä reaktiossa kreatininaasientsyymi katalysoi kreatiniinin ja veden muuttumista kreatiiniksi. Toisessa reaktiossa kreatininaasientsyymi katalysoi kreatiinin ja veden muuttumista sarkosiiniksi ja ureaksi. Seuraavassa reaktiossa, jossa on mukana sarkosiinia, vettä ja happea, syntyy glysiiniä, formaldehydiä ja vetyperoksidia. Reaktiota katalysoi sarkosiinioksidaasientsyymi. Tällöin syntyy vetyperoksidia hapetuspelkistysreaktiossa samassa suhteessa kuin näytteessä on ollut kreatiniinia. Viimeisessä reaktiossa peroksidaasientsyymi katalysoi reaktiota, jossa reagenssina olevat 4-aminofentsoli ja HTIB reagoivat vetyperoksidin kanssa muodostaen värillisen yhdisteen, kinoni-imiinikromogeenin. Lisäksi muodostuu vettä ja HI:tä. Syntyvän tuotteen värin voimakkuus on suoraan verrannollinen kreatiinipitoisuuteen, joka mitataan fotometrisesti 540 nm:ssä. Kreatiniinin mittausrajat ovat 0,2–40 mmol/l. (Dasgupta ym. 2019, 108; Thermo Fisher Scientific 2020, 1.) Tässä reaktiossa määritettävä yhdiste on kinoni-imiinikromogeeni. Reaktioyhtälö esitetty kaavassa 4;



4 REAGENSsit, KONTROLLIT & KALIBRAATTORIT

Tässä opinnäytetyössä käytetyt reagenssit, kontrollit ja kalibraattorit ovat Thermo Fisher Scientificin valmistamia ja soveltuvia Konelab 20XT -analyssaattorille. Analyssaattorilla olevat aplikaatiot eli menetelmien kulkuparametrit ovat laitevalmistajan testaamat ja näille tutkimuksille on laadittu menetelmäohjeet. Virtsan albumiinin ja kreatiniinin suhteen määrittämiseen tarvitaan useita eri reagensseja, kontroleja ja kalibraattoreita. Lisäksi tarvitaan puskuria, pesuliuosta ja laboratoriovettä. Kaikki määrittämissä tarvittavat reagenssit, laboratoriovettä lukuun ottamatta, löytyvät menetelmäohjeista Albumin MST ja Creatinine (Enzymatic).

Albumiinin määrittämissä tarvittavat reagenssit (taulukko 2) ovat kanin soluissa tuotettu vasta-aine ihmisen albumiinia kohtaan eli Albumin antiserum from rabbit, proteiinimäärittämissä puskuri 2 eli Protein Buffer 2 ja näytteen laimennusliuos eli Specimen diluent, jolla eliminoidaan sameat näytteet. Kontrolleina tarvitaan virtsanäytteille tarkoitettu normaalitason kontrolli eli Albumin U Control ja korkean tason kontrolli eli Albumin U Control High, jotka ovat nestemäisiä ihmisperäisiä vertailuvalmisteita. Kalibraattorina tarvitaan kantaliuoksessa olevaa Albumin U Calibratoria, jota käytetään varastokalibraattorina virtsassa olevan albumiinin määrittämiseksi. Kyseinen kalibraattori on myös ihmisperäinen nestemäinen vertailuvalmiste. (Thermo Fisher Scientific 2016.) Analyssaattori laimentaa kalibraatiokantaliuoksesta (Albumin U Calibrator) 5 kalibraatiopistettä. Kalibraatioon tarvitaan myös Specimen diluent -puskuri, joka laimentaa näytteet. Analyssaattori käyttää puskuria 0-kalibraattorina. Puskuri pipetoidaan segmentin eli näytetelineen kyvettiin kuten kontrollit ja kalibraattori. Specimen diluent ei kuulu kalibraatiopakaukseen, vaan se on erikseen tilattava reagenssi.

TAULUKKO 2. Albumiinin määrittämiseen tarvittavien reagenssien ainesosat (Thermo Fisher Scientific 2016, muokattu).

	Albumin antiserum	Protein Buffer 2	Specimen diluent
ainesosat	albumiiniantiseerumi kanista	fosfaattipuskuroitu polymeeriliuos suolaliuoksessa	PBS 0,01 mol/l
	NaN ₃ < 0,1 %	NaN ₃ < 0,1 %	NaN ₃ < 0,1 %

Kreatiniinin määrittämisessä tarvittavat reagenssit (taulukko 3) ovat Reagent A ja Reagent B. Kontrolleina tarvitaan virtsanäytteille tarkoitettu normaalitason kontrolli eli uTrol ja korkean tason kontrolli eli uTrol High, jotka ovat nestemäisiä ihmisperäisiä vertailuvalmisteita. Kalibraattorina tarvitaan laitevalmistajan yleiskalibraattori sCal, jota käytetään erityisesti substraattimäärittämisissä. Se on valmistettu naudan seerumista eikä sisällä ihmisperäisiä ainesosia. (Thermo Fisher Scientific 2014.) Lisäksi kreatiniinin määrittämisessä tarvitaan WashFluid -pesuliuos, joka eliminoi ristikontaminaatoriskin pesemällä pipetoivan näyttekärjen (Thermo Fisher Scientific 2020). Pesuliuos asetetaan reagenssiluukun kautta. WashFluid ei kuulu reagenssipakkaukseen, vaan se on erikseen tilattava tuote.

TAULUKKO 3. Kreatiniinin määrittämiseen tarvittavien reagenssien ainesosat (Thermo Fisher Scientific 2020, muokattu).

	Reagent A		Reagent B	
ainesosat	TAPS buffer pH 8,1	30 mmol/l	TAPS buffer pH 8,0	50 mmol/l
	kreatinaasi (mikro-organismit)	≥ 333 μkat/l	kreatininaasi (mikro-organismit)	≥ 500 μkat/l
	sarkosiinioksidaasi (mikro-organismit)	≥ 133 μkat/l	peroksidaasi (piparjuuri)	≥ 16.7 μkat/l
	askorbaattioksi- daasi (mikro-organismit)	≥ 33 μkat/l	4-aminofenatsoni	2.0 mmol/l
	HTIB	5.9 mmol/l	kalium- heksasyanofer- raatti (II)	163 μmol/l
	pesuaineet		pesuaineet	
	säilöntäaine		säilöntäaine	

Segmentin kyvettiin pipetoidaan myös laboratoriovettä, joka toimii kreatiniinin 0-kalibraatiopisteenä. Laboratoriovesi on puhdistettua vettä, jota tuotetaan vesijohtovedestä. Puhdistuksessa vesijohtovedestä poistetaan epäpuhtauksia, kuten orgaanisia ja epäorgaanisia ainesosia, vesilaitoksen lisäämää klooria, liuennaita kaasuja, suoloja sekä mikrobeja. Laboratoriovettä käytetään esimerkiksi näytelaimennuksiin sekä reagenssien ja standardiliuosten valmistukseen. (Hänninen 2004, 112; Niemelä ym. 2014, 52.) Kalibroitimien antaman konsentraation on oltava huomattavasti pienempi kuin pienin mitattava pitoisuus, jotta tulokset olisivat luotettavia (Jaarinen & Niiranen, 2005, 23).

Menetelmien testauksessa käytettiin laitevalmistajan MAS UA -kontrollia positiivisten näytteiden valmistamiseen. MAS UA -kontrolli on nestemäinen käyttöval-

mis liuos virtsa- ja liuskatestien kontrolloimiseen. Sillä voidaan kontrolloida yleisimpiä liuskatestejä, kuten hCG:ta, mikroalbumiinia tai kreatiniinia. (Thermo Fisher Scientific 2020.)

5 LINEAARINEN KALIBROINTI

Kliinisessä kemiassa käytetään analyttisen kemian menetelmiä ja periaatteita. Siinä määritettävän aineen, eli analyytin pitoisuus, määritetään useimmiten kvantitatiivisen analyysin avulla. Käytettävät mittalaitteet, kuten esimerkiksi spektrofotometrit, tuottavat analyttistä mittaussignaalia, mutta eivät yleensä anna lukuarvoa analyyttille suoraan. Mittalaitteen ohjelma muuttaa mittaussignaalin, esimerkiksi absorbanssin, laitteella olevan kalibrointikuvaajan avulla määrälliseksi tulokseksi. Mittausalueen tulee olla mittalaitteen näyttämän ja mitattavan suureen välillä lineaarinen, jolloin mittauksen herkkyys on vakio ja kalibrointikuvaaja suora. (Lehtonen ym. 2004, 81–83.)

Kalibrointi voidaan suorittaa itse laitteelle tai analyysille. Tässä opinnäytetyössä kalibroinnit suoritettiin mittausmenetelmille. Menetelmän kalibrointi on toimenpide, jolla varmistetaan sen toimintakunto. Sillä saadaan määritettyä vastaavia arvoja, kuin tunnettu vertailuarvo. Se suoritetaan määrävälein ja tarvittaessa, jos tulostasossa on poikkeamaa. Kalibroinnilla varmistetaan tulosten oikeellisuutta ja sitä, että mittalaite mittaa oikein ja tarvittavalla tarkkuudella. (FINAS 2022.)

Kalibrointisuoran laskeminen perustuu pienimmän neliösumman menetelmään, jossa lasketaan kalibrointisuoran kulmakerroin ja leikkauspiste. Liuoksen pitoisuus yhtälössä on x ja mittaussignaali y . (Lehtonen ym. 2004, 81–83.) Yhtälö esitetty kaavassa (4);

$$y = bx + a \quad (4)$$

Menetelmän edellytyksenä on lineaarinen mittausalue, kalibrointiliuosten riittävä määrä ja niiden tarkat pitoisuudet, jotka ovat standardien välisellä alueella. Lineaarissa kalibroinnissa liuosten pitoisuudet tulee olla erisuuruisia ja mahdollisimman laajasti pitoisuusalueella sekä niitä tulee olla vähintään viisi, jotta suorasta saadaan luotettava. Tarkimman suoran saa, kun mittausalueen alku- ja loppupäässä on yhtä monta mittausa ja sen lineaarisuudesta voidaan olla varmoja

vain siten, että mittauksia tehdään laajasti mittausalueella. Kalibroinnin onnistumista kuvaa korrelaatiokerroin tai kertoimen neliö, joka vaihtelee $-1:n$ ja $+1:n$ välillä, mutta ideaalisin arvo on 1. (Lehtonen ym. 2004, 81–83.)

Tässä opinnäytetyössä virtsan albumiinin määrittämisessä käytettävän immunoturbidometrisen menetelmän kalibrointiin tarvitaan useita mittauksia, kalibraatiopisteitä. Kalibroinnissa tarvitaan kalibraatiopisteitä useampi, koska alimman ja korkeimman standardin välillä olevat mittaukset eivät ole lineaarisella viivalla. Mittauksessa siis mitataan tietyssä ajassa syntyneet antigeeni-vasta-ainekompleksien määrä sameuden määränä. Kompleksien syntyyn vaikuttaa antigeenien ja vasta-aineiden suhde. Kun antigeenin suhde vasta-aineeseen on pieni, syntyy enemmän komplekseja tietyssä ajassa ja mikäli vasta-ainetta on enemmän suhteessa antigeeniin, syntyy komplekseja vähemmän. Antigeeni-vasta-ainekompleksien syntyessä, hidastuu samalla vauhti liuoksen konsentraation kasvaessa ja siten useita kalibraatiopisteitä tarvitaan laajasti mittausalueelle. Silloin voidaan kalibraatiopisteistä laskea pitoisuus, muutoin absorbanssin muutos ei ole suoraan verrannollinen näytteen pitoisuuteen. (Dodig 2009, 54, 56–57; Lehtonen ym. 2004, 81–83.)

6 TYÖOHJEEN SISÄLTÖ

Kliiniset laboratoriot tarvitsevat menetelmä- ja työohjeita analysaattorien käyttöön, jotta laboratorion työntekijät kykenevät niiden avulla suorittamaan työn itsenäisesti ja luotettavasti. Standardit luovat pohjan hyvän työohjeen rakentamiselle ja lisäävät niiden luotettavuutta. Kirjallisen viestinnän avulla voidaan vaikuttaa huomattavasti työohjeen rakenteeseen ja lopputulokseen. Työohjeen rakentaminen ja kirjoittaminen vaatii kattavaa perehtyneisyyttä aiheeseen, jotta työohjetta voidaan pitää validina.

Työohjeen tarkoituksena on saada lukija ymmärtämään ja toimimaan ohjeiden mukaisesti. Lopputuloksen tulisi olla houkutteleva, innostava, selkeä ja tarkka. Sisällön kannalta olennaista on, että tekeminen ohjautuu oikein ja oikeassa järjestyksessä. Työohjeen laatijan on erityisen tärkeää tarkastella oppimista. Tavoitteena on, että työohjeen käyttäjä ymmärtää ohjeiden sanoman ja toimii niiden mukaisesti. (Repo & Nuutinen 2003, 138.)

Työohjeen rakentuminen on oppimisprosessi, joka koostuu motivoinnista, orientoinnista ja ohjaamisesta. Motivoinnin ideana on herättää lukijan mielenkiinto työohjeeseen. Työohjeen tulee ilmaista, miksi se on tärkeä sekä mitä tapahtuu, jos työohjetta ei noudateta. Lisäksi on tärkeää ilmaista, mihin työohje on tarkoitettu ja miten lukija hyötyy sen noudattamisesta. Orientoinnin ideana on aktivoida lukija perehtymään kokonaisuuteen. Työohjeen kirjoittajan on selvitettävä työohjeen kokonaisuus itselleen ja miettiä, mikä on sen kannalta olennaista. Valmis lopputulos kuvataan, joka syntyy työohjetta noudatettaessa. Tärkeää on määrittellä keskeiset käsitteet ja selittää, millaisista osista kokonaisuus muodostuu. Orientoitumista edistää yksinkertaiset ilmaisutavat, kuvien käyttö sekä havainnollistaminen. Ohjaamisen ideana on esittää asiat toimintajärjestyksessä niin periaattein kuin esimerkein. Työohje on paras mahdollinen, jos sen kirjoittaja tekee itse ohjaamaansa työtä. Tärkeää on kirjata työ vaihe vaiheelta muistiin ja sen tekemiseen tarvittavat taustatiedot. Hyvä tapa on myös heittäytyä työohjeen käyttäjän asemaan huomioiden, mitkä asiat pitäisi tietää ja huomioida sekä mitkä asiat voivat olla vaikeita. (Repo ym. 2003, 138–139.)

Työohjeen toimintavaiheet on hyvä numeroida ja käyttää kuvia sanallisen tekstin lisäksi. Lyhyiden lauseiden ja käskymuodon käyttäminen on suotavaa, koska se ilmaisee asiat lyhyesti aktivoiden vastaanottajaa. Tärkeää on tuoda ilmi, mistä näkee työohjetta noudatettavan oikein ja miten työn tulisi sujua. Mahdolliset virheetoiminnot tulee osoittaa sekä selittää niiden syyt ja mahdolliset korjaustoimenpiteet. (Repo ym. 2003, 139.)

Onnistuneen työohjeen kannalta on tärkeää hankkia palautetta työohjeesta. Työohje on hyvä testata, jotta mahdolliset vaikeat ja hämärät kohdat voidaan tunnistaa. Työohjeen kirjoittajan on huomioitava, että hän ehkä osaa itse ”liian hyvin” työohjeen sisältämän tiedon ja pitää asioita itsestään selvinä. Palautetta on hyvä analysoida laajakatseisesti ja tunnistaa mahdollisia solmukohtia. (Repo ym. 2003, 139.)

7 TOIMINNALLINEN OPINNÄYTETYÖ

Tämä opinnäytetyö on toteutettu toiminnallisena opinnäytetyönä. Toiminnallinen opinnäytetyö on ammattikorkeakouluissa käytetty yksi tutkimuksellisen kehittämisen tapa, jossa näytetään ammatillinen kehitys ja osaaminen. Se on käytännöllinen kehittämistyö, jonka tavoitteena on tehdä tutkimuksellisella ajatuksella raportti tuotosprosessista ja ammatillinen tuotos. Toiminnallisen opinnäytetyön kehittämistyötä ei määrittele tutkimus, mutta sen tutkimuksen teon menetelmälliset käytännöt ja ajattelutapa ohjaa tätä ammatillista kehittämistä. (Airaksinen & Vilka 2022, 11–12.)

Opinnäytetyönä tehty tuotos palvelee tiettyä kohderyhmää työpaikalla tai muuta organisaatiota. Tuotos voi olla konkreettinen asia tai tapahtuma. Tehtävä tuotos määräytyy tuotoksen toimeksiantajan ja tekijöiden mukaan sekä tekoprosessiin ja valmiiseen tuotokseen liittyvä neuvotteluita ja suunnittelua. Eri ammattialojen mukaan kehittämistyönä voidaan tehdä esimerkiksi opas, oppimateriaaleja, kurssi, koulutus tai esitteitä. Opinnäytetyönä voidaan myös kehittää aikaisempia tuotoksia. (Airaksinen ym. 2022, 12–13.)

Opinnäytetyöhön kuuluu kirjoitettu raportti tuotosprosessista, jota useimmiten kirjoitetaan tuotoksen tekemisen aikana korkeakoulun yhteisön jäsenille ja ammatillisille. Sen tarkoituksena on kehittämissä tekijät muovautuvat tuotoksensa asiantuntijoiksi ja kehittyvät ammatillisesti. Raportti on asiatyylinen teksti tehdystä työstä, jossa kuvaillaan perusteellisesti tuotoksen prosessiin liittyviä lähtökohtia, valintoja sekä ratkaisuja. Raportin teoretietoja ja prosessia on kuvattu käyttäen apuna ammatillista lähdekirjallisuutta, aiempia tutkimustuloksia sekä tuotosta varten kerättyä tai tuotettua aineistoa. (Airaksinen ym. 2022, 11, 105–107.)

8 TOTEUTUS JA ETENEMINEN

Keväällä 2021, ennen toiminnallisen osuuden toteuttamista, suunniteltiin tapaamista Thermo Fisher Scientificin aluepäällikön kanssa liittyen Konelab 20XT -analysointilaitteen käyttöön ja muihin opinnäytetyöhön liittyviin asioihin. Tapaaminen saatiin sovittua elokuulle 2021 Tampereen ammattikorkeakoulun kliinisen kemian harjoituslaboratorioon, jossa toiminnallinen osuus suoritetaan. Tapaamisen pohjalta laadittiin tarkempi suunnitelma, mitä toiminnallinen osuus tulee pitämään sisällään, mitä mahdollisesti sen tekemiseen tarvitaan ja millaisella aikataululla kokonaisuus toteutetaan (taulukko 4). Lisäksi käytiin käytännössä läpi, miten yksittäinen tutkimus pystytetään tutkimusvalikkoon ja kuinka laitevalmistajan applikaation tiedot syötetään analysointilaitteelle. Aluepäälliköltä saatiin kattavaa tietoa analysointilaitteen toiminnasta ja huollosta, mikä oli jo osittain tuttua aiempien opintojen myötä.

TAULUKKO 4. Opinnäytetyön aikajana.

kevät 2021	Toiminnallisen osuuden suunnittelua
elokuu 2021	Thermo Fisher Scientificin aluepäällikön tapaaminen
syyskuu 2021	Virtsan kreatiniinin pystyttäminen analysointilaitteelle
lokakuu 2021	1. laboraatio: tutkimuksen ensimmäiset testaukset
	2. laboraatio: tietyn laimennossuhteen testaus
	3. laboraatio: tutkimuksen toimivuuden lopullinen testaus
loka-marraskuu 2021	Työohjeen työstämisen aloitus
marraskuu 2021	Työohjeen raakaversioon testaus opiskelijoilla
tammikuu 2022	Työohjeen palautteiden läpikäynti ja tulosten analysointi
kevät 2022	Opinnäytetyön työstäminen
elokuu 2022	Opinnäytetyön ja työohjeen viimeistely
syyskuu 2022	Opinnäytetyön palautus

8.1. Laboratoriotyöskentely

Syyskuussa 2021 pystytettiin virtsan kreatiniini syöttäen applikaation mukaisesti tietoja ja kulkuparametreja analysaattorille. Lokakuussa 2021 lisättiin U-Kre-tutkimukselle vielä käytettävät kontrollit tutkimuksen tietoihin, joka ei aikaisemmalla kerralla onnistunut. Virtsan kreatiniini saatiin valmiiksi testattavaksi ensimmäisiä kokeiluja varten, joilla varmistettiin menetelmän toimivuus. Lisäksi kokeiltiin, missä suhteessa MAS UA -kontrolli tulee laimentaa, jotta saadaan sopiva mittausalue. Jatkossa opetuksessa käytetään lisäksi keinotekoisesti patologisia arvoja sisältäviä näytteitä, koska opetuskäyttöön on haastavaa löytää potilasnäytteiden kaltaisia näytteitä. Samalla tarkistettiin tutkimusvalikosta valmiina löytyvän virtsan albumiinin parametrit oikeiksi applikaatiosta. Analysaattori laitettiin käyttövalmiiksi pystytettyjen tutkimuksien testaamiseksi.

Analysaattorille syötettiin määrittämiin tarvittavat reagenssit, kontrollit ja kalibraattorit. Kreatiniinin kalibrointi onnistui hyväksytysti, mutta albumiinin kohdalla analysaattori herjasi laimentimen puuttumista lisäyksestä huolimatta. Kävi ilmi, että laimennin piti laittaa erilliseen kyvetiin segmenttiin, jolloin analysaattori sai tunnistettua laimentimen. Sen jälkeen albumiinin kalibrointi saatiin suoritettua hyväksytysti.

Molempia tutkimuksia varten tehtiin albumiinia sisältävästä MAS UA -kontrollista (positiivinen näyte) laimennokset (1:10, 1:50, 1:100, 1:200) tislattulla vedellä 500 µl lopputilavuudella (taulukko 5), koska laimentamattomana se olisi ollut pitoisuudeltaan liian vahvaa analysaattorille. Laimennoksien avulla haettiin virtsan albumiinille sellaisia pitoisuuksia, jotka osuvat insertin määräämälle mittausalueelle 5–188 mg/l. Manipuloidut näytteet ja negatiivinen näyte ajettiin analysaattorilla ja tuloksista saatiin liian korkeita pitoisuuksia. Negatiivinen näyte oli negatiivinen. Mittausalueelle osui laimennussuhde 1:200, joka valittiin lisälaimennoksille.

TAULUKKO 5. Yksittäislaimennokset tislatulla vedellä MAS UA -kontrollista.

Laimennos- suhde	MAS UA Control (µl)	Vesi (µl)	Tulokset (mg/l)	Laimennossuhteella kerrotut tulokset (mg/l)
1:10	50	450	70	700
1:50	10	490	83	4150
1:100	5	495	35	3500
1:200	2,5	497,5	23	4600
negatiivinen			-1	

Toistettavuutta laimennokselle haettiin tekemällä viisi rinnakkaislaimennosta laimennossuhteesta 1:200 (taulukko 6). Näistä laimennoksista saatiin neljä toistettavaa tulosta albumiinille. Yhden laimennoksen pitoisuus oli muihin tuloksiin verrattuna huomattavasti alhaisempi, joka mahdollisesti johtui pipetointivirheestä. Neljä rinnakkaistulosta on kuitenkin riittävä, jotta laimennossuhde 1:200 voitiin hyväksyä. Pipetoinnin helpottamiseksi pienet pipetoitavat määrät olisi voinut pyöristää kokonaisluvuiksi.

TAULUKKO 6. Rinnakkaislaimennokset tislatulla vedellä MAS UA -kontrollista.

Laimennos- suhde	MAS UA Control (µl)	Vesi (µl)	Tulokset (mg/l)
1:200	2,5	497,5	25
1:200	2,5	497,5	4
1:200	2,5	497,5	25
1:200	2,5	497,5	22
1:200	2,5	497,5	23

Toisella laborointikerralla tarkoituksena oli tehdä sarjalaimennos laimennossuhteesta 1:200, jotta saadaan edelleen pienempiä pitoisuuksia (taulukko 7). Kaikki laimennokset tehtiin yksittäisinä laimennoksina, koska 1:500 laimennos tehtiin erheellisesti näin, vaikka tarkoituksena oli tehdä sarjalaimennos. Päätettiin jatkaa yksittäisillä laimennoksilla sarjalaimentamisen sijaan, jotta jo tehty yksittäinen laimennos ei menisi hukkaan. Kokonaistilavuus laimennoksissa on eri, jotka suunniteltiin niin, että suurimmat tilavuudet voidaan pipetoida yhdellä kerralla ilman pyöristyksiä sekä samalla kasvatettua pienivolyyymisiä määriä pipetointivirheiden

välttämiseksi. Laimennetuista näytteistä pyydettiin laitteella virtsan albumiini ja kreatiniini. Analyysistä saatiin tuloksia, jotka puhuvat albumiinin laimentumisen puolesta sekä kreatiniinin vakioivasta luonteesta sen pitoisuuden pysyessä samana albumiinin pitoisuuden muuttuessa eri laimennossuhteissa.

TAULUKKO 7. Yksittäislaimennokset tislatulla vedellä MAS UA -kontrollista (albumiini laimentui, kreatiniini pysyi vakiona).

Laimennos- suhde	MAS UA Control (µl)	Vesi (µl)	Albumiini (mg/ml)	Kreatiniini (mmol/l)
1:200	3	498	28	0.5
1:500	8	2000	14	0.4
1:800	6	2000	11	0.3
1:1000	6	2500	7	0.3

Kolmannella laborointikerralla haluttiin testata tutkimuksen toimivuutta käyttäen ihmisen virtsaa laimentimena positiiviselle MAS UA -reagenssille. Reagenssista ja virtsasta valmistettiin laimennossuhteella 1:200 kantaliuos sarjalaimennoksille 2000 µl kokonaistilavuudella. Kantalaimennoksesta jatkettiin sarjalaimennoksilla lisäten 1 ml aina edellisestä laimennoksesta ja 1 ml virtsaa (taulukko 8). Ensiksi analysoitiin virtsanäytteet (2 kpl) todetaksemme ne negatiivisiksi ja näin ollen hyödyntää niitä laimentimena. Virtsanäytteet oli otettu analysointipäivän aamuna tehdaspuhtaisiin putkiin. Näytteet numeroitiin 1 ja 2. 1.näyte oli otettu aamun ensimmäisestä virtsasta ja 2.näyte oli kertavirtsanäyte. 1. näytteen albumiinin tulos oli 16 mg/l eli negatiivinen ja kreatiniinin tulos 8,9 mg/l. 2. näytteen albumiinin tulos oli 2 mg/l eli negatiivinen ja kreatiniinin tulos 8,6 mg/l. Näytteen 2 albumiinin tuloksen kohdalla tuli hälytys ”Test limit low”, joka tarkoittaa tuloksen olevan mitausrajan ulkopuolella. Ensimmäisen näytteen tulosten perusteella voidaan analyysi todeta toimivaksi opetuskäyttöön kliinisen kemian laboraatiotunneille Tampereen ammattikorkeakoulussa.

TAULUKKO 8. Sarjalaimennokset ihmisen virtsalla MAS UA -kontrollista.

Laimennos- suhde	MAS UA Control (μ l)	Virtsa (μ l)	Albumiini (mg/ml)		Kreatiniini (mmol/l)	
			1.näyte	2.näyte	1.näyte	2.näyte
kantaliuos 1:200	10	1990	42	23	9,1	9,0
1:400	-	1000	29	12	9,0	8,8
1:800	-	1000	22	7	8,8	8,8
1:1600	-	1000	19	4	9,0	8,7
1:3200	-	1000	17	3	9,0	8,7
1:6400	-	1000	16	2	8,9	8,6

8.2. Työohjeen kirjallinen työstäminen

Loka-marraskuussa 2021 U-Kre-tutkimuksen käyttöönoton ja testauksen jälkeen aloitettiin tutkimuksen kirjallisen ohjeen työstäminen kliinisen kemian opetuksen tueksi. Ensiksi suunniteltiin työohjeen runko pohtien samalla, millainen on yksinkertainen ja selkeä työohje. Työohjeen runko muuttui matkan varrella useaan otteeseen ja aivan loppuvaiheessa se muovautui lopulliseen muotoonsa. Työohje koostui kansilehdestä, sisällysluettelosta, lyhyestä teoreettisesta osuudesta ja tutkimuksen suorittamisesta.

Ensimmäisen työohjeen version loppuun lisättiin palautekysely, jolla toivottiin palautetta opiskelijoilta sen toimivuudesta sekä mahdollisista ongelma- ja kehityskohdista. Palautekyselyssä oli viisi väittämää vastausasteikkona Likertin asteikko sekä kolme avointa kysymystä. Palauteosuus haluttiin pitää mahdollisimman yksinkertaisena ja selkeänä. Lisäksi kiinnitettiin huomiota palauteosuuteen ja sen pituuteen. Palauteosion tulisi olla tarpeeksi lyhyt, jotta opiskelijat jaksaisivat vastata väittämiin ja kysymyksiin kattavasti. Palautetta haluttiin monipuolisesti niin työohjeen sisällöstä, käyttökelpoisuudesta kuin ulkonäöstäkin. Halusimme myös saada avointa palautetta, koska niissä vastaaja pääsee kertomaan vapaamuotoisemmin ja tarkemmin mielipiteen työohjeesta. Ensimmäinen versio työohjeesta lähetettiin opinnäytetyön ohjaajalle teoretiedon oikeellisuuden tarkistamiseksi, ennen kuin työohje jaettiin testattavaksi.

8.3. Testaus opiskelijoilla, palautteen keräys ja käsittely

Marraskuussa 2021 testattiin U-AlbKre-tutkimuksen työohjeen ensimmäistä versiota alemman vuosikurssin bioanalytiikan opiskelijoilla ja heiltä pyydettiin kirjallista palautetta. Työohjeen testaus tapahtui kliinisen kemian oppitunneilla opettajan ohjauksessa neljällä eri laboraatiotunnilla. Opettaja tulosti työohjeita opiskelijoille, jotta he voisivat kirjoittaa palautteen kirjallisesti. Opettaja toimitti palautteet opinnäytetyön tekijöille testauksen jälkeen. Toivottiin, että opiskelijat täyttäisivät itsenäisesti oman palautelomakkeen, mutta tunnilla he olivat työskennelleet työohjeen parissa ryhminä, joten he olivat vastanneet palautelomakkeeseen myös ryhminä, mikä oli järkevää käytännössä. Ryhmät olivat pienehköjä muutaman hengen ryhmiä, joiden osallistujamäärät vaihtelivat. Opettajan mukaan työohjeen testaus oli sujunut hyvin.

Tammikuussa 2021 aloimme käsittelemään opiskelijoiden kirjallisia palautteita työohjeesta. Työohjeita oli tulostettu opiskelijoille kahdeksan kappaletta, joista viiteen oli vastattu ja kolme oli tyhjiä. Ensimmäisessä väittämässä hyödynnettiin Likert -asteikkoa (kuva 2), jossa vastaaja valitsi parhaiten omaa mielipidettä vastaavan väittämän ympyröimällä numeron. Väittämässä kysyttiin työohjeen sisällön tavoitteen onnistumista, riittävää teoriatietoa sekä työohjeen helppokäyttöisyyttä, selkeyttä, ymmärrettävyyttä sekä ulkonäön asianmukaisuutta.

1. Ympyröi numero väittämän kohdalta, joka kuvaa lähimpänä mielipidettäsi työohjeesta.

- 1 Täysin eri mieltä
- 2 Jokseenkin eri mieltä
- 3 Ei samaa eikä eri mieltä
- 4 Jokseenkin samaa mieltä
- 5 Täysin samaa mieltä

Sisältö vastaa tavoitetta.	1	2	3	4	5
Teoriatietoa on tarpeeksi.	1	2	3	4	5
Työohje on helppokäyttöinen.	1	2	3	4	5
Työohje on selkeä ja ymmärrettävä.	1	2	3	4	5
Ulkonäkö on asianmukainen.	1	2	3	4	5

KUVA 2. Palautelomakkeen väittämien Likert -asteikko.

Opiskelijoiden tulokset analysoitiin IBM SPSS Statistics -ohjelmistolla, joka on suunniteltu tilastotieteelliseen analyysiin. Koska palautteita oli vain viisi kappaletta, palautteen otanta jää kapeaksi. Pieni otanta ei välttämättä kata kaikkien ryhmälaisten mielipidettä työohjeesta. Kysyttäessä mielipidettä, kuinka työohjeen sisältö vastaa tavoitetta (taulukko 9), mielipiteet jakaantuivat. Suurin osa (40 %) oli sitä mieltä, että sisältö vastaa jokseenkin tavoitetta. Kuitenkin 20 % oli sitä mieltä, että työohjeen sisältö ei vastannut jokseenkin tavoitetta.

TAULUKKO 9. Sisältö vastaa tavoitetta -tulokset.

	frekvenssi	prosentti (%)
Täysin eri mieltä	0	0
Jokseenkin eri mieltä	1	20
Ei samaa eikä eri mieltä	1	20
Jokseenkin samaa mieltä	2	40
Täysin samaa mieltä	1	20
summa	5	100

Kysyttäessä työohjeen teorian tiedon riittävyyttä (taulukko 10), suurin osa (60 %) oli samaa mieltä, että sitä oli tarpeeksi. Kuitenkin 40 % oli jokseenkin eri mieltä, että teorian tietoa ei ollut tarpeeksi.

TAULUKKO 10. Teorian tietoa on tarpeeksi -tulokset.

	frekvenssi	prosentti (%)
Täysin eri mieltä	0	0
Jokseenkin eri mieltä	2	40
Ei samaa eikä eri mieltä	0	0
Jokseenkin samaa mieltä	0	0
Täysin samaa mieltä	3	60
summa	5	100

Kysyttäessä työohjeen helppokäyttöisyydestä (taulukko 11), 20 % vastanneista oli täysin eri mieltä ja 40 % jokseenkin eri mieltä. Nämä teemat toistuivat myös avointen kysymysten vastauksissa. Kuitenkin 40 % vastanneista oli jokseenkin samaa mieltä.

TAULUKKO 11. Työohje on helppokäyttöinen -tulokset.

	frekvenssi	prosentti (%)
Täysin eri mieltä	1	20
Jokseenkin eri mieltä	2	40
Ei samaa eikä eri mieltä	0	0
Jokseenkin samaa mieltä	2	40
Täysin samaa mieltä	0	0
summa	5	100

Kysyttäessä työohjeen selkeydestä ja ymmärrettävyydestä (taulukko 12), mielipiteet jakaantuivat. Suurin osa (40 %) ei ollut samaa eikä eri mieltä. 20 % oli täysin eri mieltä ja 20 % jokseenkin eri mieltä, joka viittaa siihen, että työohje oli ymmärretty enemmän analysaattorin käyttöohjeeksi. Tämä kävi ilmi myös avoimissa kysymyksissä. Kuitenkin 20 % oli jokseenkin samaa mieltä, että työohje oli selkeä ja ymmärrettävä.

TAULUKKO 12. Työohje on selkeä ja ymmärrettävä -tulokset

	frekvenssi	prosentti (%)
Täysin eri mieltä	1	20
Jokseenkin eri mieltä	1	20
Ei samaa eikä eri mieltä	2	40
Jokseenkin samaa mieltä	1	20
Täysin samaa mieltä	0	0
summa	5	100

Kysyttäessä työohjeen ulkonäön asianmukaisuudesta (taulukko 13), suurin osa (60 %) oli jokseenkin samaa mieltä. Kuitenkin 40 % oli jokseenkin eri mieltä työohjeen ulkonäöstä.

TAULUKKO 13. Ulkonäkö on asianmukainen -tulokset.

	frekvenssi	prosentti (%)
Täysin eri mieltä	0	0
Jokseenkin eri mieltä	2	40
Ei samaa eikä eri mieltä	0	0
Jokseenkin samaa mieltä	3	60
Täysin samaa mieltä	0	0
summa	5	100

Kolme seuraavaa kysymystä olivat avoimia kysymyksiä, joihin opiskelijat saivat sanallisesti kirjoittaa palautetta vastaten kysymyksiin. Ensimmäisessä avoimessa kysymyksessä kysyttiin yleisesti kehitysideoita. Kolme ryhmää toivoi, että reagenssien, kontrollien ja kalibraattoreiden pipetoitavat määrät olisivat ilmaistuna työohjeessa. Lisäksi yksi ryhmä lisäsi, että näytteen lisääminen analysaattoriin puuttuu ja toivoi enemmän ”step by step”-tyyppistä työohjetta. Yhden ryhmän mielestä tarvittavien komponenttien taulukko oli sekava, mutta sitä ei avattu enempää. Sama ryhmä oli myös kyseenalaistanut sitä, miksi komponenttien taulukossa tarvitsee olla tuotteen tilavuus. Yksi ryhmä ei ollut vastannut kehitysideoihin ollenkaan.

Toisessa avoimessa kysymyksessä kysyttiin, mitä opiskelijat jäivät kaipaamaan työohjeeseen. Yksi ryhmä totesi, että analysaattoriin ohjelmoidut tutkimusnimikkeet (U-ALB MST ja U-CREA E) puuttuvat. Toinen ryhmä mainitsi, että WashFluid -pesuliuos puuttui reagensseista. Kolmas ryhmä kaipasi verinäytteen viitearvoja albumiinista ja kreatiniinista, vaikka työohjeen tarkoituksena oli tutkia albumiinin ja kreatiniinin suhdetta virtsanäytteestä. Pipetoitavia määriä kaivattiin myös tässä osiossa.

Kolmannessa avoimessa kysymyksessä pyydettiin avointa palautetta tai mahdollisia lisäkommentteja. Yksi ryhmistä kehui työohjeen olevan hyvä ja selkeä ja toinen ryhmä puolestaan sanoi ulkonäön olevan kiva. Viitearvojen näkyminen työohjeessa sai yhdeltä ryhmältä plussaa. Kahden ryhmän kohdalla Specimen diluent -puskurin käyttö aiheutti hämmennystä ja epäselvyyttä, että laitetaanko puskurin reagenssiluokkaan, segmenttiin vai molempiin. Eräs ryhmä luuli virheellisesti, että Specimen diluent -puskurin laitetaan sekä reagenssiluokkaan että segmenttiin. Viimeisenä palautteena mainittiin, että ”ohjeessa” ei pidä olettaa käyttäjällä olevan pohjatietoa aiheesta, mutta tätä ei avattu enempää. Toivottiin jokaisen työvaihe ylös selkeyden vuoksi.

8.4. Työohjeen viimeistely

Työohjeen (liite 1) viimeistely tehtiin opiskelijoiden palautteiden perusteella. Tärkeänä pidettiin sitä, että työohje olisi mahdollisimman helppokäyttöinen opiskelijoille, mutta myös tarpeeksi kattava niin oikean kliinisen kemian laboratorion käyttökäyttöönkin. Työohjeen sisältöä ja ulkonäköä muokattiin opiskelijoiden palautteiden perusteella. Kiinnitettiin huomiota myös työohjeen pituuteen, koska testikäytössä ollut työohje oli jopa 14 sivua, joka on liian pitkä tämänkaltaisen laboratoriotutkimuksen työohjeeksi. Työohjeen sisällöstä luotiin selkeä, tiivis sekä helposti luettava. Työohjeen ulkonäköön otettiin vaikutteita työelämässä ja koulussa käytetyistä työohjeista.

9 POHDINTA

Opinnäytetyöprosessi sujui hyvin alusta loppuun ja huomioimme kaikessa työskentelyssämme eettisyyden. Teoreettisen viitekehyksen kohdalla halusimme käyttää mahdollisimman luotettavia laboratorioalan ja lääketieteen lähteitä. Haasteita loivat mahdollisimman tuoreiden teorialähteiden löytäminen, joten jouduimme jossain tapauksissa tyytymään vanhempiin lähteisiin. Laboratoriossa työskennellessä noudatimme hyviä ja oikeanlaisia työskentelytapoja, joita olimme aikaisemmin oppineet harjoituslaboratoriossa laboraatiotunneilla. Kaikki opinnäytetyöhön liittyvät tulokset on dokumentoitu avoimesti ja kiinnitimme erityistä huolellisuutta oikeellisuuteen. Tavoitteena oli luoda toimiva työohje, jota bioanalytiikan opiskelijat voivat hyödyntää tulevaisuudessa Tampereen ammattikorkeakoulun kliinisen kemian laboratoriossa.

Opinnäytetyön itsenäisen laboratoriotyöskentelyn aikana huomattiin, että osa tutkimukseen tarvittavista reagensseista vanhenevat opinnäytetyön teon aikana. Kalibraattorit ja kontrollit olivat vielä käyttökelpoisia. Luotettavien tulosten perusta on voimassa olevat reagenssit, kalibraattorit ja kontrollit. Opinnäytetyö tehdään opetuskäyttöön, joten kliinisen kemian opettajan luvalla päätettiin käyttää poikkeuksellisesti vanhentuneita reagensseja. Reagenssit ovat kalliita ja vanhenevat tietyn ajan kuluessa, joten uusia ei ole mahdollista hankkia opetuskäyttöön jatkuvasti. Tiedostettiin kuitenkin, että vanhoja reagensseja ei voida käyttää työelämässä, koska ne voivat vaikuttaa tuloksiin virheellisesti.

Suurin osa laimennoksista tehtiin yksittäislaimennoksina, vaikka sarjalaimennos olisi ollut parempi pipetointivirheiden minimoimiseksi. Asia huomattiin jälkikäteen ja tulosten perusteella pystyimme todentamaan tulokset luotettaviksi yksittäislaimennoksista huolimatta. Lisäksi pipetointimääriä pyöristettiin pipetoinnin helpottamiseksi, koska pienien määrien pipetointi lisää pipetointivirheitä, eikä siksi ole suositeltavaa. Pipetoinnissa käytettiin suoraa pipetointitekniikkaa, mutta pienien määrien pipetoinnissa käänteispipetointi olisi ollut tekniikkana parempi, koska virtsa on vaahtoavaa ja ulos pipetoitaessa nestetilavuus ei ole välttämättä sama nestettä sisään pipetoitaessa. Aikataulu oli erittäin tiukka toiminnalliseen

osuuden suorittamiseksi, joten valmistautumiseen ei jäänyt tarpeeksi aikaa. Itsenäinen työskentely laboratoriossa oli haastavaa, koska meillä ei ollut siitä aikaisempaa kokemusta.

Työohjeen työstäminen tapahtui melko ripeällä aikataululla, koska ensimmäiset testaukset opiskelijoilla tapahtuivat jo marraskuun loppupuolella. Työstämiseen vaikutti vahvasti myös useiden viikkojen kestävä työelämän harjoittelujaksot, jotka vähensivät työohjeen tekoon varattua aikaa. Lisäksi teimme työohjeen käytännössä täysin etäyhteyksin, koska olimme molemmat eri kaupungeissa harjoittelujaksoilla. Etätyöskentelystä huolimatta meillä oli selkeä työnjako ja työohjeen raakaversio saatiin ajoissa valmiiksi opiskelijoille testattavaksi.

Työohjeen ulkonäkö tuotti haasteita, koska ei ole olemassa täysin absoluuttista totuutta siitä, minkälainen työohjeen ulkonäkö tulisi olla. Etsimme internetistä erilaisia työohjeita, joista saisi ideoita työohjeen ulkonäköön. Emme kuitenkaan löytäneet kovinkaan paljoa inspiraatiota internetistä löytyneistä työohjeista, joten työohjeen ulkonäkö jäi ensimmäiseen raakaversioon yksinkertaiseksi ja selkeäksi. Olisimme halunneet panostaa työohjeen ulkonäköön enemmän, mutta aikataulun puitteissa siihen ei ollut mahdollisuutta, koska pidimme siinä vaiheessa työohjeen sisältöä tärkeämpänä. Toivoimme saavamme opiskelijoilta palautetta ulkonäöstä, jotta voisimme parantaa sitä lopulliseen työohjeen. Pohdimme myös ennen työohjeen varsinaista testausta opiskelijoilla, että työohjeen ulkonäkö jäi hieman tylsäksi ja vaisuksi, mutta muokkaisimme sitä lopulliseen versioon. Teimme työohjeen raakaversion TAMK:n opinnäytetyön raporttipohjaan, joka asetti tiettyjä rajoitteita työohjeen pituuteen ja ulkonäköön.

Etätyöskentelystä huolimatta työohjeen työstäminen vaati useita käyntejä Tampereen ammattikorkeakoulun kliinisen kemian laboratoriossa. Esimerkiksi viimeisellä laboraatiokerralla otimme valokuvia analysaattorin tietokoneen ruudulta molempien tutkimuksen kalibraatiotuloksista, jotka havainnollistavat työohjeessa, millainen on hyväksyttävä kalibraatiotulos tutkimuksille. Myös reagenssien, kontrollien ja kalibraattoreiden teoriatieto löytyi ainoastaan tuotteiden pakkauksien kyljissä olevien QR-koodien kautta.

Haasteita prosessissa toivat se, että opinnäytetyö ja työohje keskustelevat keskenään ja molemmissa on samat teoreettiset tiedot. Teoreettiset tiedot muovautuvat koko opinnäytetyöprosessin aikana, joten oli muistettava muokata opinnäytetyö ja työohje samalla tavalla. Teoreettisen tiedon löytäminen oli toisinaan haastavaa, koska se ei ollut aina helposti löydettävissä. Esimerkiksi reagenssien, kontrollien ja kalibraattoreiden teoretieto löytyi lopulta QR-koodin kautta tuotteiden pakkauksien kyljestä. Lisäksi teoretiedon sisäistäminen oli tärkeää kyetäkseen kokoamaan yksinkertaisen ja selkeän työohjeen opiskelijoille, joilla on vähemmän kokemusta laboratoriossa työskentelystä ja opiskelutaustaa kliinisestä kemiasta. Välillä pohdimme, onko alemman vuosikurssin opiskelijoilla tarpeeksi aiempaa tietoa kliinisestä kemiasta, jotta he ymmärtäisivät samalla tavalla työohjeen kuin me opinnäytetyön tekijät, jotka ovat perehtyneet aiheeseen syvemmin. Koimme, että mekin osaltamme opittiin paljon uutta kliinisestä kemiasta ja ylipäättään laboratoriossa työskentelystä, kun teimme opinnäytetyötä ja työohjetta.

Toivoimme opiskelijoilta palautetta yksilönä, mutta kaikki palaute oli annettu pienryhmissä johtuen oletettavasti aikataulusyistä. Yksilöpalautte olisi ollut kattavampi monipuolisempaan analysointiin, mutta saimme kuitenkin kirjallisen palautteen perusteella arvokasta palautetta työohjeesta. Palaute oli vaihtelevaa, mutta saatiin selkeä käsitys siitä, mitä työohjeesta tulisi korjata. Opiskelijoiden palautteiden perusteella työohje oli osittain käsitetty virheellisesti analysaattorin käyttöohjeeksi, vaikka kyseessä oli työohje U-AlbKre-tutkimuksen määrittämiseen. Työohjeessa oli kuitenkin viitattu analysaattorin pikaohjeen käyttöön.

LÄHTEET

Ahmed, N. 2011. *Clinical biochemistry*. Oxford: Oxford University Press.

Dasgupta, A. & Sepulveda, J. L. 2019. *Accurate Results in the Clinical Laboratory: A Guide to Error Detection and Correction*. London: Elsevier. Luettu 5.5.2021. Vaatii käyttöoikeuden. <https://ebookcentral.proquest.com/lib/tampere/reader.action?docID=5837772>

Diabeteksen munuaistauti: Käypä hoito -suositus. 2020. Suomalaisen Lääkäriseuran Duodecimin ja Suomen Nefrologiyhdistyksen asettama työryhmä. Helsinki: Suomalainen Lääkäriseura Duodecim. Luettu 4.5.2021. <https://www.kaypa-hoito.fi/hoi50060#T1>

Dodig, S. 2009. Interferences in quantitative immunochemical methods. *Biochem Med* 2009;19(1):50–62. PDF-dokumentti. https://www.biochemia-medica.com/assets/images/upload/xml_tif/Dodig_S_-_Interferences_special_to_immunoassays_0.pdf

FINAS. 2022. Kalibrointilaboratoriot. Päivitetty 2.6.2022. Luettu 13.8.2022. <https://www.finas.fi/akkreditointi/Akkreditointialueet/Sivut/Kalibrointilaboratoriot.aspx>

Friman, T., Kuparinen, M., Lehto, L. & Liikanen, E. 2021. *Laboratoriotutkimusten näytteenotto*. 1. painos. Helsinki: Byrettikustannus avoin yhtiö.

Gore, M. G. 2000. *Spectrophotometry and spectrofluorimetry*. 2. painos. Oxford: Oxford University Press.

Higgins, C. 2013. *Understanding laboratory investigations: a guide for nurses, midwives, and healthcare professionals*. 3. painos. Chichester, West Sussex, UK: Wiley-Blackwell.

Hänninen, H. 2007. *Laboratoriotyön perusteet*. Helsinki: Edita.

Jaarinen, S. & Niiranen, J. 2005. *Laboratorion analyysitekniikka*. 5. uud. p. Helsinki: Edita.

Jenssen, T. 2019. *Mikroalbuminuria käytännön hoitotyössä*. Abbott.

Kealey, D. & Haines, P. J. 2002. *Analytical chemistry*. Oxford: Bios.

Kostamo, P., Airaksinen, T. & Vilkkä, H. 2022. *Kirjoita itsesi asiantuntijaksi. Opas toiminnalliseen opinnäytetyöhön*. Helsinki: Art House.

Lehtonen, P. O. & Sihvonen, M-L. 2004. *Laboratorioalan analyttinen kemia*. Helsinki: Opetushallitus.

Niemelä, O. & Pulkki, K. 2014. Laboratoriolääketiede: Kliininen kemia ja hematologia. 3. uud. p. Helsinki: Kandidaattikustannus Oy, Print.

Pasternack, A. (toim.) 2012. Nefrologia. Helsinki: Kustannus Oy Duodecim.

Penttilä, I. & Halonen, T. 2004. Kliiniset laboratoriotutkimukset. Helsinki: WSOY.

Repo, I. & Nuutinen, T. 2003. Viestintätaito: opas aikuisopiskelun ja työelämän vuorovaikutustilanteisiin. Helsinki: Otava.

Rönnemaa, T. & Mäkelä, S. 2019. Miten munuaisten toimintaa tutkitaan? Teoksessa Ilanne-Parikka, P., Niskanen, L., Rönnemaa, T. & Saha, M.-T (toim.) 2019. Diabetes. Helsinki: Kustannus Oy Duodecim.

Thermo Fisher Scientific. 2016. Albumin U Calibrator-insertti. Ladattavissa pakkauksessa olevan QR-koodin kautta.

Thermo Fisher Scientific. 2016. Albumin U Control-insertti. Ladattavissa pakkauksessa olevan QR-koodin kautta.

Thermo Fisher Scientific. 2016. Albumin U Control High-insertti. Ladattavissa pakkauksessa olevan QR-koodin kautta.

Thermo Fisher Scientific. 2016. Albumin MST-insertti. Ladattavissa pakkauksessa olevan QR-koodin kautta.

Thermo Fisher Scientific. 2020. Creatinine (Enzymatic)-insertti. Ladattavissa pakkauksessa olevan QR-koodin kautta.

Thermo Fisher Scientific. 2020. MAS Quality Controls Product Catalog. PDF-dokumentti. Luettu 13.8.2022. <https://www.thermofisher.com/document-connect/document-connect.html?url=https%3A%2F%2Fassets.thermofisher.com%2FTFS-Assets%2FCDD%2FCatalogs%2FFR-MTL-157-MAS-Quality-Controls-Catalog-EN.pdf>

Thermo Fisher Scientific. 2014. sCal-insertti. Ladattavissa pakkauksessa olevan QR-koodin kautta.

Thermo Fisher Scientific. 2007. Technical Specifications Konelab 20XT. Pdf-dokumentti. Luettu 20.4.2022. https://www.thermo.com.cn/Resources/200802/productPDF_27382.pdf

Thermo Fisher Scientific. 2014. uTrol-insertti. Ladattavissa pakkauksessa olevan QR-koodin kautta.

Thermo Fisher Scientific. 2014. uTrol High-insertti. Ladattavissa pakkauksessa olevan QR-koodin kautta.

LIITTEET

Liite 1. U-AlbKre-tutkimuksen työohje Konelab 20XT -analysointorille

Tampereen ammattikorkeakoulu	Työohje opetuskäyttöön
Bioanalyytikon tutkinto-ohjelma	Syyskuu 2022
Kliininen kemia	Laatijat:
Konelab 20XT	Eveliina Läärä & Meri Männistö

ALBUMIININ JA KREATINIININ SUHDE (VIRTSA)

TUTKIMUKSEN TARKOITUS

Albuminurian selvittely, jossa albumiinia erittyy virtsaan normaalia enemmän. Lisääntynyttä eritystä esiintyy muun muassa munuaissairauksissa, diabeteksen aiheuttamassa munuais-taudissa sekä glomerulaaristen hiusverisuonten vaurioituessa. Albuminuriaan liittyy useita riskitekijöitä, kuten esimerkiksi kohonnut verenpaine, dyslipidemia, ylipaino ja tupakointi.

Kertavirtsan väkevyys ja albumiinin pitoisuus vaihtelee päivässä virtsanerityksen mukaan. Tämän kompensoimiseksi tutkimuksessa käytetään kreatiniinia osatutkimuksena ja sen laskennallista suhdetta albumiiniin, koska yksilön kreatiniinin tuotto on päivässä melko vakio. Sen vuoksi yksittäinen kertavirtsanäyte on käytännöllinen albumiinin pitoisuuden määrittämiseksi.

PERIAATE

Virtsan albumiini (U-Alb): immunoturbidometrinen menetelmä

Virtsan kreatiniini (U-Kre): entsyymaattinen kolorimetrinen menetelmä

NÄYTE

Puhtaasti laskettu virtsanäyte eli ns. keskisuihkunäyte. Rakko aika tulisi olla noin 4–6 tuntia. Näyte otetaan kerta-äytteenä tehdaspuhtaaseen näyteastiaan, josta näyte siirretään tehdaspuhtaaseen näyteputkeen viimeistään puolen tunnin kuluessa näytteenotosta. Lämpö heikentää näytteen säilyvyyttä.

Ennen näytteenottoa runsasta nesteen nauttimista on vältettävä sen laimentavan vaikutuksen vuoksi. Aamuvirtsanäyte on suositeltavin, koska virtsanmuodostus on yöllä vähäisintä ja tällöin virtsa on konsentroituneinta. Aamuvirtsassa ei myöskään näy fyysisen rasituksen mahdollisia vaikutuksia virtsan koostumukseen.

(jatkuu)

REAGENSsit, KONTROLLIT JA KALIBRAATTORIT

Näyte, reagenssit, kontrollit, kalibraattorit ja muut tarvittavat komponentit lisätään analysaattorille Konelab 20XT -pikaohjeen mukaisesti. Reagenssien tulee olla huoneenlämpöisiä ennen määrittämisen aloittamista. Pipetoitaessa on vältettävä ilmakuplien muodostumista. Tarvittavat reagenssit on esitetty alla olevassa taulukossa. Tarvittavien komponenttien perässä on mainittu tuotteen REF-numero ja pakkauksen tilavuus.

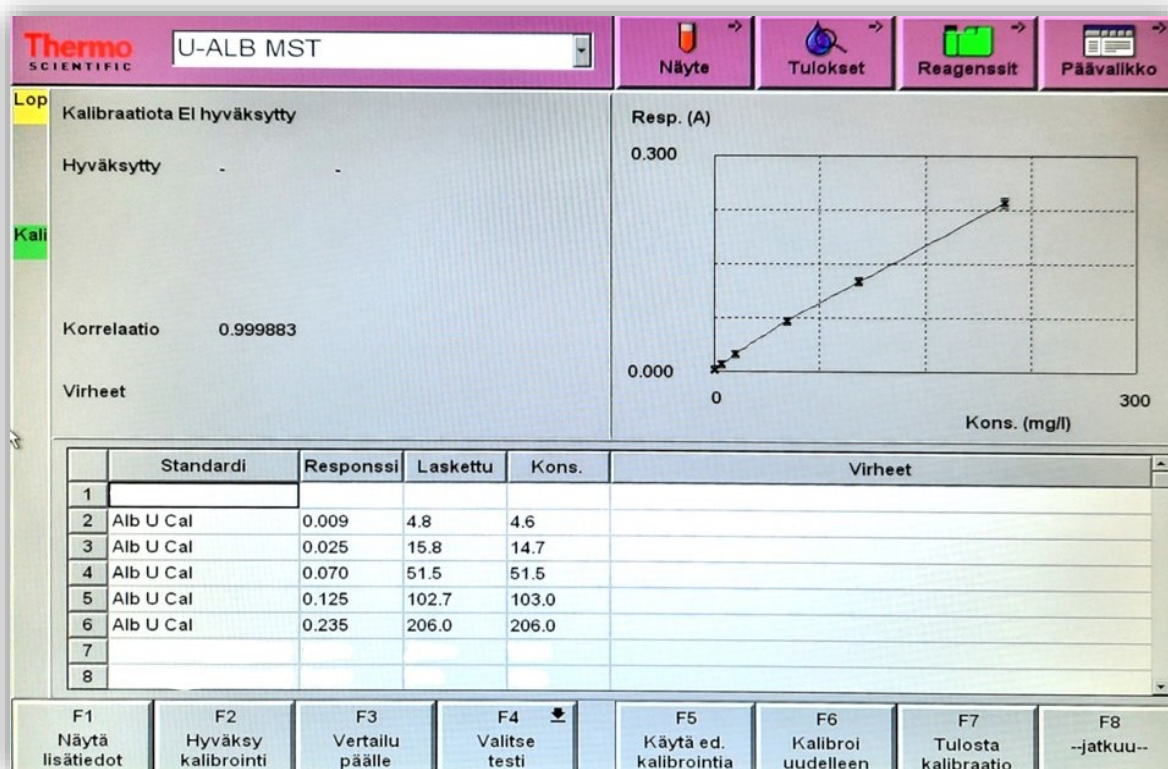
	ALBUMIN MST	CREATININE (ENZYMATIC)
REAGENSsit	Albumin antiserum (981927; 3 ml) Protein Buffer 2 (N09873; 20 ml) Specimen diluent (N09867; 20 ml)	Reagent A (981896; 20 ml) Reagent B (981896; 10 ml)
KONTROLLIT	Albumin U Control (981878; 2 ml) Albumin U Control High (981879; 2 ml)	uTrol (981821; 5 ml) uTrol High (981822; 5 ml)
KALIBRAATTORIT	Albumin U Calibrator (981877; 2 ml)	sCal (981831; 3 ml)
MUUT		WashFluid (981842; 20 ml)
	laboratoriovesi	

NÄYTTEEN MÄÄRITYS

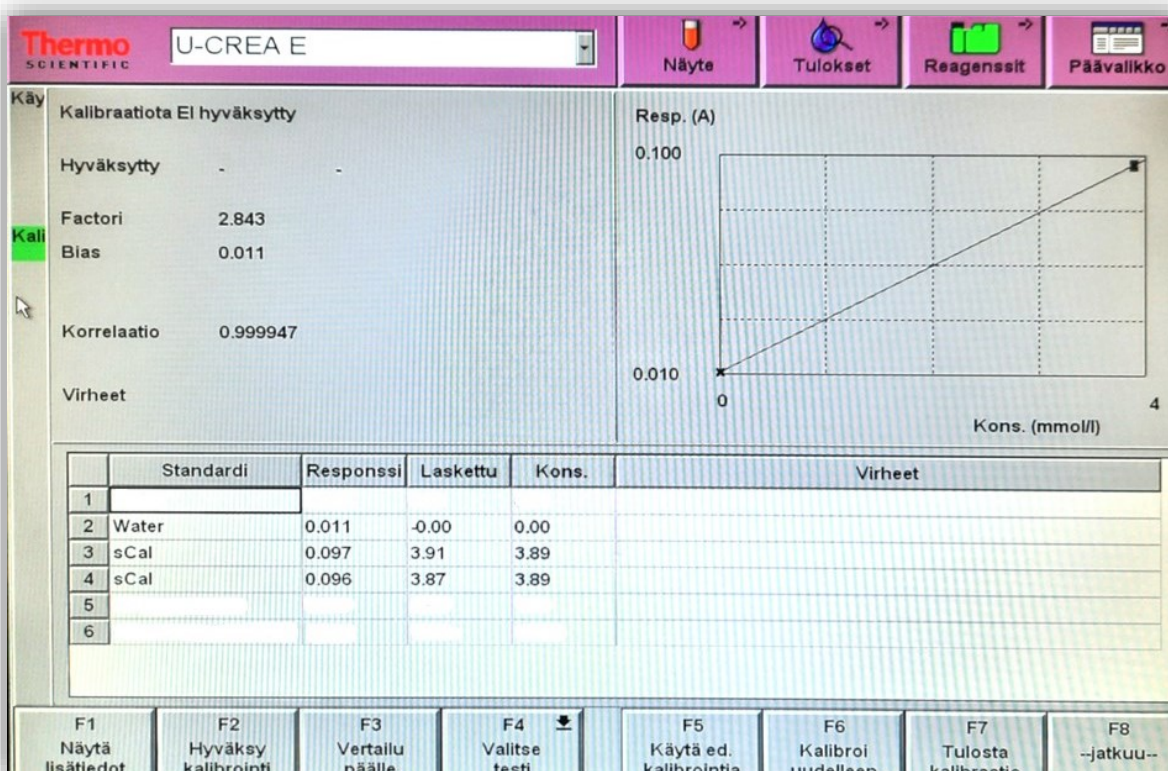
Analysaattori laskee tulokset automaattisesti käyttämällä kalibrointikäyrää. Y-akselilla on *responssi eli absorbanssi* ja X-akselilla *konsentraatio eli pitoisuus*. Albumiinin (U-ALB MST) kalibrointikäyrä on *epälineaarinen* (kuva 1) ja kreatiniinin (U-CREA E) kalibrointikäyrä on *lineaarinen* (kuva 2). Albumiinin konsentraation yksikkö on *mg/l* ja kreatiniinin *mmol/l*. Molemmissa tutkimuksissa absorbanssi ja konsentraatio tulisi nousta suhteessa toisiinsa, jolloin kalibrointi voidaan hyväksyä manuaalisesti.

Ks. seuraava sivu: kalibraatiotulosten esimerkkikuvat.

(jatkuu)



KUVA 1. Esimerkki **albumiinin** kalibraatiotuloksista.



KUVA 2. Esimerkki **kreatiniinin** kalibraatiotuloksista.

(jatkuu)

ALBUMIININ JA KREATINIININ SUHTEEN LASKEMINEN

Albumiinin ja kreatiniinin suhde virtsassa (*ACR= albumine creatinine ratio*) lasketaan manuaalisesti analysaattorin antamista albumiinin ja kreatiniinin tuloksista seuraavalla kaavalla:

$$ACR = \frac{\text{albumiini } (\frac{mg}{l})}{\text{kreatiniini } (\frac{mmol}{l})}$$

Esimerkki 1:

Konelab 20XT -analysaattori antaa virtsan albumiinin tulokseksi 23 mg/l ja kreatiniinin tulokseksi 9,0 mmol/l. Laske albumiinin ja kreatiniinin suhde. Onko tulos normaali?

$$ACR = \frac{23 \text{ mg/l}}{9,0 \text{ mmol/l}} = 2,555... \approx 2,56 \text{ mg/mmol}$$

Vastaus: 2,56 mg/mmol eli tulos on normaali.

TULOSTEN TULKINTA

Konelab 20XT -analysoitsattorin mittausrajat virtsan albumiinille ja kreatiniinille on esitetty alla olevassa taulukossa:

	ALBUMIINI	KREATINIINI
MITTAUSRAJAT	5–188 mg/l	0.2–40 mmol/l

Normaali albumiinin määrä virtsassa ihmisellä on alle 3 mg/mmol. Kun potilaalla on lisääntynyt albuminuria, ovat U-AlbKre:n arvot toistuvasti yli 3 mg/mmol. Selvästi lisääntynyt albuminuria tai jo proteinuriaksi muodostuneen raja-arvoksi on määritelty yli 30 mg/mmol. Virtsan albumiinin ja kreatiniinin suhteen viitearvot on esitetty alla olevassa taulukossa:

VIITEARVOT	NAISET	MIEHET
ALBUMIINI	< 30 mg/l	< 30 mg/l
KREATINIINI	2.55–20.0 mmol/l	3.54–24.6 mmol/l
ACR	< 3 mg/mmol	< 3 mg/mmol