

Opinnäytetyö (AMK)
Bioanalytikkokoulutus
NBIOAK13
2016

Laura Markkola

COBAS e 411 -ANALYSAATTORIN PSA- JA PSA-V-TUTKIMUSTEN VALIDOINTI

Laura Markkola

COBAS e 411 -ANALYSAATTORIN PSA- JA PSA-V-TUTKIMUSTEN VALIDOINTI

Prostataspesifinen antigeeni (PSA) on miehillä eturauhasen tuottama proteaasi, jota erittyy pääasiassa siemennesteeseen. PSA:ta päätyy myös tavallisesti pieniä määriä verenkiertoon, mutta eturauhassyövässä PSA:n määrä verenkierrossa kasvaa. Verestä määritettyä PSA-arvoa voidaan käyttää miehillä eturauhassyövän diagnostiikkaan ja hoidon seurantaan.

Tämän opinnäytetyön tarkoituksena oli validoida Turun ammattikorkeakoulun uuden Cobas e 411 -analysaattorin PSA- ja PSA-V-tutkimukset. Validoinnin avulla voidaan varmistaa, että menetelmä antaa täsmäviä ja toistettavia tuloksia. Validointi suoritettiin analysoimalla jo Tykslabin Cobas e 602 -analysaattorilla analysoiduista laskimoverinäytteistä (n=20) PSA- ja PSA-V-määritykset Turun ammattikorkeakoulun Cobas e 411 -analysaattorilla. Näytteistä tehtiin rinnakkaisajot Cobas e 411 -analysaattorilla, joita verrattiin keskenään analysaattorin sisäisen toistettavuuden testaamiseksi. Cobas e 602 ja Cobas e 411 -analysaattorien antamia tuloksia näytteistä verrattiin toisiinsa, jotta selvitettiin vastaako analysaattorien tulostasot toisiaan.

Tulosten tilastollisessa tarkastelussa selvisi, että Cobas e 411 -analysaattorin PSA- ja PSA-V-rinnakkaisajot vastasivat hyvin toisiaan ja ajojen välillä oli korkea korrelaatio. Cobas e 602 ja Cobas e 411 -analysaattorien välisissä tuloksissa ilmeni suurempia eroja, kuin rinnakkaisajoissa. Tulokset kuitenkin korreloivat hyvin keskenään ja tulosten tarkempi tarkastelu osoitti tuloserot analysaattorien välillä pieniksi.

Tutkimustuloksista voidaan todeta, että Cobas e 411 -analysaattorin sisäinen toistettavuus on hyvä rinnakkaisajojen vastatessa hyvin toisiaan. Cobas e 602 ja Cobas e 411 -analysaattorien tulostasoa voidaan myös pitää vastaavana, sillä erot tuloksissa osoittautuivat pieniksi. Näin ollen Turun ammattikorkeakoulu voi ottaa käyttöön Tykslabin kanssa yhtenevät viitearvot PSA- ja PSA-V-tutkimuksille.

ASIASANAT:

Eturauhanen
PSA
Eturauhassyöpä
Validointi

BACHELOR'S THESIS | ABSTRACT

TURKU UNIVERSITY OF APPLIED SCIENCES

Degree programme in Biomedical laboratory science

2016 | 37

Heidi Kalve

Laura Markkola

VALIDATION OF TOTAL PSA AND FREE PSA ASSAYS FOR THE COBAS e 411 ANALYZER

Prostate-specific antigen (PSA) is protein that is being produced by prostate in men. Most of PSA secretes into the semen and normally only tiny amounts of PSA can be found from the blood circulation. In prostate cancer the amount of PSA in the blood circulation rises. PSA measured from the blood can be used to diagnose and follow treatment progress of prostate cancer.

The purpose of this thesis was to validate total PSA and free PSA assays of the new Cobas e 411 analyzer of Turku University of Applied Sciences. With validation it can be ensured that the assays give precise and repeatable results. The validation was performed by analyzing total PSA and free PSA tests with Cobas e 411 analyzer from blood samples (n=20) that had already been analyzed by Tykslab's Cobas e 602 analyzer. To test the Cobas e 411 analyzer's inner repeatability, parallel measurements from the samples were made and compared with each other. The results from Cobas e 602 and Cobas e 411 -analyzers were compared to each other to examine correspond between the analyzers.

Statistical analysis of the results showed that the parallel total PSA and free PSA measurements with Cobas e 411 analyzer responded well and they had a high correlation with each other. Results between Cobas e 602 and Cobas e 411 analyzers had bigger differences than parallel measurements with Cobas e 411 analyzer. However, the results correlated well with each other and more detailed analyze of the results showed that the differences between the analyzers were small.

The results showed that the inner repeatability of the Cobas e 411 analyzer is good since the parallel measurements corresponded well with each other. The correspond between Cobas e 602 and Cobas e 411 analyzers can also be considered good as the differences between the results turned out to be small. Thus, the Turku University of Applied Sciences can start to use Tykslab's reference values of total PSA and free PSA assays.

KEYWORDS:

Prostate
PSA
Prostatic cancer
Validation

SISÄLTÖ

1 JOHDANTO	6
2 PSA- JA PSA-V-TUTKIMUSTEN VALIDOINTI	7
2.1 Prostataspesifinen antigeeni (PSA)	7
2.2 Vapaa PSA (PSA-V)	9
2.3 Uudet eturauhassyövän diagnostiset tutkimukset	10
2.4 Cobas e 411 ja Cobas e 602 -analysaattorit	12
2.5 Validointi	13
3 TUTKIMUKSEN TARKOITUS, TAVOITTEET JA TUTKIMUSTEHTÄVÄT	15
4 OPINNÄYTETYÖN TOTEUTUS	16
4.1 Opinnäytetyön toteutus	16
4.2 Tulosten tilastollinen tarkasteleminen	18
4.3 Opinnäytetyön metodologiset lähtökohdat	20
4.4 Opinnäytetyön eettiset lähtökohdat	21
5 TUTKIMUSTULOKSET JA NIIDEN TARKASTELU	22
5.1 Cobas e 411 -analysaattorin sisäinen toistettavuus	22
5.2 Cobas e 411 ja Cobas e 602 -analysaattorien tulostasoverailu	24
5.3 Tutkimustulosten tarkastelu	27
6 POHDINNAT	33
LÄHTEET	38

LIITTEET

Liite 1. Validointisuunnitelma.

Liite 2. PSA- ja PSA-V-tutkimusten tulokset Cobas e 602 ja Cobas e 411-analysaattoreilla.

Liite 3. PSA-tulosten erot Cobas e 602 ja Cobas e 411 -analysaattorien välillä.

KAAVAT

Kaava 1. PHI-luku (Loeab & Catalona 2014; Seikkula ym. 2015).	10
Kaava 2. Variaatiokertoimen kaava (Tilastokeskus 2016b).	22
Kaava 3. Regressiosuoran kaava (Mattila 2008).	23
Kaava 4. Vertailuprosentin laskeminen.	29

KUVIOT

Kuvio 1. PSA-rinnakkaisajot Cobas e 411 -analysaattorilla.	23
Kuvio 2. PSA-V-rinnakkaisajot Cobas e 411 -analysaattorilla.	24
Kuvio 3. PSA-tulokset Cobas e 602 ja Cobas e 411 -analysaattoreilla.	26
Kuvio 4. PSA-V-tulokset Cobas e 602 ja Cobas e 411 -analysaattoreilla.	27

TAULUKOT

Taulukko 1. P-PSA viitearvot miehille iän mukaan (Tykslab 2015).	7
Taulukko 2. Cobas e 411 -analysaattorin rinnakkaisajojen tunnusluvut.	22
Taulukko 3. Cobas e 411 ja Cobas e 602 -analysaattorien tunnusluvut.	25
Taulukko 4. Toistettavuus Cobas e 411 -analysaattorilla laitevalmistajan mukaan verrattuna opinnäytetyön tuloksiin (Roche Diagnostics 2016d & Roche Diagnostics 2016e).	28
Taulukko 5. Cobas e 602 ja Cobas e 411 -analysaattorien PSA-tulosten variaatiokertoimet.	30
Taulukko 6. PSA-V:n ja kokonais-PSA:n välinen suhde.	31

1 JOHDANTO

Eturauhassyöpä on Suomessa yleisin miehillä todettava syöpä ja toiseksi yleisin syöpäkuolemien aiheuttaja (Tammela 2013b). Eturauhassyövän hoitoon kului vuonna 2004 noin 180 miljoonaa euroa ja sen hoitokustannusten odotetaan kasvavan edelleen (Vartiainen ym. 2014). Vuonna 2010 Suomessa todettiin 4700 uutta eturauhassyöpäpotilasta (Tammela 2013b; Käypä hoito 2014). Tärkeä osa eturauhassyövän diagnostiikkaa on prostataspesifisen antigeenin mittaaminen verinäytteestä (Seikkula ym. 2015).

Prostataspesifinen antigeeni (PSA) on eturauhasen tuottama proteaasi, jonka avulla voidaan tutkia eturauhasen häiriötiloja. Mittaamalla PSA:n pitoisuus seerumissa pystytään esimerkiksi arvioimaan eturauhassyövän riskiä ja seuraamaan syövän hoidon onnistumista. Lisäksi vapaan PSA:n avulla voidaan tarkemmin arvioida eturauhassyövän todennäköisyyttä. (Tammela ym. 2000; Stenman ym. 2013.)

PSA:n käyttö eturauhassyövän seulonnassa on jatkuvan keskustelun aiheena. Seulonnalla on todettu olevan sekä hyöty- että haittapuolia. Vaikka seulonta todetusti pienentää kuolleisuutta eturauhassyöpään, seulonnasta johtuva ylidiagnostiikka johtaa tarpeettomiin hoitoihin, joiden haittavaikutukset voivat olla huomattavia. (Auvinen & Tammela 2015.) Eturauhassyöpäseulonnan tarkentamiseksi on tällä hetkellä tarjolla uusia diagnostisia tutkimuksia, jotka voisivat vähentää ylidiagnostiikkaa. Tällä hetkellä lupaavimmilta menetelmiltä vaikuttavat ”Prostate health index” (PHI) ja neljän kallikreinin paneeli, jotka parantavat PSA-tutkimusten tarkkuuta yhdistämällä ne uusiin tutkimuksiin. (Seikkula ym. 2015.)

Tämän opinnäytetyön tarkoituksena on validoida PSA- ja vapaa PSA-tutkimukset Turun ammattikorkeakoulun uudelle Roche Cobas e 411 -analysaattorille. Validointi toteutetaan käyttämällä Tykslabilta saatavia näytteitä, joiden mittaustuloksia verrataan Tykslabin kyseisistä näytteistä saamiin tuloksiin. Tavoitteena on, että validoinnin jälkeen näitä tutkimuksia voidaan käyttää Turun ammattikorkeakoulun opetus- ja tutkimustyössä. Tarkoituksena on ottaa käyttöön Tykslabin kanssa yhtenevät viitearvot validoinnin jälkeen Cobas e 411 -analysaattorin PSA- ja PSA-V-tutkimuksille.

2 PSA- JA PSA-V-TUTKIMUSTEN VALIDOINTI

2.1 Prostataspesifinen antigeeni (PSA)

PSA eli protastaspesifinen antigeeni on eturauhasen epiteelin erittämä seriiniproteaasi, (Stenman ym. 1999; Tammela ym. 2000; Tykslab 2015). Proteaasit ovat proteiineja pilkkovia entsyymejä (Terveyskirjasto 2016). PSA:ta erittyy pääasiassa siemennesteeseen, jossa se tekee siemennesteen juoksevaksi ja mahdollistaa näin siittiöiden liikkumisen (Stenman ym. 1999; Ozen & Yazici 2005; Stenman 2013). Normaalisti vain pieniä määriä PSA:ta vuotaa myös verenkiertoon (Tammela ym. 2000; Stenman 2013). PSA:n pitoisuus keskimäärin kasvaa suhteessa eturauhasen tilavuuteen, jolloin eturauhasen kasvussa miehen iän myötä, myös PSA:n määrä suurenee vastaavasti (Tammela ym. 2000). Tästä syystä PSA:n viitealueen yläraja kasvaa miesten ikääntyessä, kuten Taulukosta 1 ilmenee (Tammela ym. 2000; Tykslab 2015).

Taulukko 1. P-PSA viitearvot miehille iän mukaan (Tykslab 2015).

miehet alle 50v:	< 2.6 µg/l
miehet 50–60v:	< 3.7 µg/l
miehet 60–70v:	< 4.8 µg/l
miehet yli 70v:	< 6.9 µg/l

PSA:n määrä veressä kohoaa eturauhassairauksissa, kuten eturauhasen hyvälaatuisessa liikakasvussa ja eturauhassyövässä (Stenman ym. 1999; Stenman & Hotakainen 2010; Stenman ym. 2013). Mitä korkeampi kokonais-PSA:n arvo on, sitä todennäköisemmin korkea pitoisuus johtuu eturauhassyövästä (Stenman & Hotakainen 2010; Tammela 2013b; Tykslab 2015). PSA:ta käytetään eturauhassyövän diagnostiikkaan (Tykslab 2015). PSA-arvojen määrittämisen lisäksi eturauhassyövän diagnostiikkaan käytetään eturauhasen tunnustelua sekä eturauhasen kudoksenäytettä (Heidenreich ym. 2013a; Tammela 2013b). Eturauhassyöpä diagnoosi perustuu eturauhasesta otettuun

kudosnäytteeseen, joka otetaan ultraäänitutkimuksen yhteydessä (Heidenreich ym. 2013a; Tammela 2013b).

PSA:ta käytetään myös eturauhassyövän hoidon seurantaan, mutta tavalliset viiterajat eivät sovellu hoidon seurantaan (Tykslab 2015). Eturauhassyövän sädehoidon jälkeen PSA-pitoisuuden suurenemista 2 µg/l yli matalimman saavutetun hoidon jälkeisen PSA-tason, pidetään eturauhassyövän uusiutumisenä. Leikkauksen jälkeen PSA-pitoisuus muuttuu mittaamattomaksi (< 0,05 µg/l). Mikäli PSA-pitoisuus muuttuu mitattavaksi (0,2–0,4 µg/l) on suositeltavaa lähettää potilas urologille jatkohoitoarvioon. (Käypä Hoito 2014.) PSA:ta voidaan käyttää hyödyksi myös hyvälaatuisen eturauhasen liikakasvun arvioinnissa (Tammela ym. 2000).

Eturauhassyöpä täyttää yleisyytensä vuoksi suuren joukon seulonnalle asetettuja ehtoja, kuten taudin suuren kansanterveydellisen merkityksen sekä seulontamenetelmän (PSA), jolla tauti voidaan löytää varhaisessa vaiheessa (Käypä hoito 2014). Eturauhassyövän seulonnassa yli diagnostiikka ja siitä aiheutuva ylihoito on suuri ongelma, koska miehet altistuvat turhaan hoitojen komplikaatioille (Tammela 2013b; Käypä hoito 2014). Suurin osa urologiyhteisöistä ei suosittele eturauhassyövän laajamuotoista seulontaa. Nykyistä tutkimusnäyttöä ei pidetä riittävänä PSA-arvoihin perustuvan seulonnan järjestämiseksi. (Heidenreich ym. 2013b.) Seulonnan ja sen perusteella määrätyn hoidon ei ole todettu vaikuttavan seulottujen eliniän pituuteen (Saarelma 2015).

Euroopan urologien yhdistys suosittelee 40–45 vuotiaalle miehille lähtötason PSA-määrittystä, jonka avulla voidaan aloittaa eturauhassyövän riskiin sovellettu seuranta. 49–59 vuotiaalle miehille tulisi järjestää seuranta 2-4 vuoden välein, jos heidän PSA-tasonsa on yli 1,0 µg/l. (Heidenreich ym. 2013a.) Miehille, joiden PSA-taso on alle 1,0 µg/l riittäisi kahdeksan vuoden välein tehtävä seuranta (Heidenreich ym. 2013a; Heidenreich ym. 2013b). Näin saataisiin vähennettyä seulonnan haittoja keskittymällä riskiryhmiin (Heidenreich ym. 2013a). Rutiininomainen PSA-tutkimus ei ole oleellinen miehille, joilla ei ole suurentuneen eturauhasen aiheuttamia oireita, kuten virtsaamisongelmia (Saarelma 2015). Miehille, joiden lähisuvussa on ollut useampia eturauhassyöpään sairastuneita tai lähisukulaisella on todettu alle 55-vuotiaana eturauhassyöpä, suositellaan Suomessa 1–4 vuoden välein tehtävää PSA:n määrittystä ja seurantaa perinnöllisen riskin takia (Käypä hoito 2014; Saarelma 2015).

Schröder, Hugosson, Roobol, Tammela, Zappa, Nelen, Kwiat-kowski, Lujan, Määttänen, Lilja, Denis, Recker, Paez, Bangma, Carlsson, Puliti, Villers, Rebillard, Hakama, Stenman, Kujala, Taari, Aus, Huber, van der Kwast, van Schaik, de Koning, Moss ja Auvinen ovat julkaisseet vuonna 2014 13 vuotta kattaneen seurantalutkimuksen, jossa seurattiin eturauhassyöpäseulonnan vaikutuksia eturauhassyöpäkuolleisuuteen. Tutkimukseen osallistui 162 243 potilasta kahdeksasta eri maasta. Potilaat jaettiin tutkimuksessa kahden ryhmään, joista seulotun ryhmän tuloksia verrataan kontrolliryhmään. Tutkimuksessa todettiin, että seulonta vähentää syöpäkuolleisuutta, mutta turhien hoitojen riski on edelleen suuri ja niistä seuraavia haittavaikutuksien vähentämistä olisi tutkittava lisää.

2.2 Vapaa PSA (PSA-V)

Suurin osa PSA:sta esiintyy veressä sitoutuneena alfa-1-antikymotrypsiiniin (Stenman & Hotakainen 2010; Vickers & Lilja 2012). PSA kulkee elimistössä verenkierrrossa joko sitoutuneena proteaasiestäjiin tai sitoutumattomana, jolloin puhutaan vapaasta PSA:sta (Tammela ym. 2000; Roddam ym. 2005). PSA-V tutkimuksessa määritetään veren vapaan PSA:n määrä (Harvard Medical School 2011). PSA:n spesifisyyttä syöpämerkkiaineena voidaan parantaa määrittämällä kokonais-PSA eli vapaa ja sitoutunut PSA, sekä vapaan PSA:n suhde kokonais-PSA:han (Stenman ym. 2013). Vapaan PSA:n osuus on eturauhassyövässä keskimäärin pienempi ja sitoutuneen PSA:n osuus kokonais-PSA:sta on näin ollen korkeampi, kuin mitä eturauhasen liikakasvun yhteydessä (Finne ym. 2008; Stenman ym. 2013; HUSLAB 2014). Vapaan PSA:n pitoisuuden määrittäminen voi auttaa arvioimaan, tulisiko eturauhasesta ottaa kudoksenäytettä vai ei (Tammela 2013a).

Vapaan ja kokonais-PSA:n suhde on useimmiten yli 15 % eturauhasen liikakasvusta kärsivillä potilailla, kun taas eturauhassyöpäpotilailla vapaan ja kokonais-PSA:n suhde on yli puolella tapauksista alle 15 % (Tykslab 2015). Viitearvo vapaan PSA:n suhteelle kokonais-PSA:sta on kaikille miehille yli 15 % (HUSLAB 2014). Määrittämällä vapaan ja kokonais-PSA:n suhde voidaan kolmannes korkeista PSA-tuloksista todeta eturauhasen hyvälaatuisen liikakasvun aiheuttamiksi. Miehillä 50 ikävuoden jälkeen eturauhasen hyvälaatuinen liikakasvu yleistyy ja samalla myös eturauhassyövän todennäköisyys kasvaa. (Stenman & Hotakainen 2010.)

Lee, Localio, Armstrong, Malkowicz, Schwartz ja vapaa PSA -tutkimusryhmä ovat vuonna 2006 tehdyssä meta-analyysissä koonneet yhteen 41 tutkimuksen tulokset vapaan PSA:n käytöstä eturauhassyöpädiagnostiikassa. Näiden tutkimusten potilasjoukko

oli laaja (n=19 643). Tämän tutkimuksen tulosten perusteella vapaan PSA:n määrittämisestä on hyötyä, kun potilaan PSA on välillä 4–10 µg/l ja se voi auttaa täsmentämään eturauhassyöpädiagnostiikkaa oikein käytettynä.

2.3 Uudet eturauhassyövän diagnostiset tutkimukset

Eturauhassyöpäseulonnan tarkentamiseksi on tarjolla uusia diagnostisia tutkimuksia, jotka voisivat vähentää ylideagnostiikkaa. Näihin tutkimuksiin lukeutuvat muun muassa lupaavilta vaikuttavat vaikuttavat ”Prostate health index” (PHI) ja neljän kallikreinin paneeli. Nämä tutkimukset yhdistävät perinteiset PSA-tutkimukset uusiin tutkimuksiin ja parantavat näin niiden tarkkuutta. (Seikkula ym. 2015.)

Vapaalla PSA:lla on todettu olevan useita eri muotoja, kuten proPSA (Abrate ym. 2014). ProPSA on PSA:n esimuoto, jota eturauhasen solut erittävät (Peyromaure ym. 2005). ProPSA:lla on useita eri isoformeja, joista kaikkein vakain muoto on [-2]proPSA (p2PSA). Kaikki proPSA:n muodot ovat entsyymaattisesti in-aktiivisia. P2PSA-pitoisuuden veressä on todettu olevan korkeampi eturauhassyöpäpotilailla. (Abrate ym. 2014.) P2PSA:ta voidaan käyttää joko yksinään eturauhassyövän biomarkerina tai se voidaan yhdistää muihin merkkiaineisiin (Seikkula ym. 2015). Yksi vapaan PSA:n muodoista on intakti-PSA, joka on puolestaan vapaan PSA:n yksi ketjuketjuinen muoto (Steuber ym. 2002; Seikkula ym. 2015). Intakti-PSA on yksi neljän kallikreinin paneelissa käytettävistä merkkiaineista (Seikkula ym. 2015).

Prostate health index (PHI) on Yhdysvalloissa kliiniseen käyttöön hyväksytty uusi biomarkeri, jossa lasketaan PHI-luku, joka kertoo eturauhassyövän riskin (Seikkula ym. 2015). PHI-luvun laskemiseen käytetään vapaan ja kokonais-PSA:n lisäksi pro2PSA:ta. (Loeab & Catalona 2014; Seikkula ym. 2015.) PHI-luku saadaan seuraavan kaavan avulla (Kaava 1):

$$\left(\frac{p2PSA}{Kokonais - PSA}\right) \times Vapaa PSA$$

Kaava 1. PHI-luku (Loeab & Catalona 2014; Seikkula ym. 2015).

Mitä suurempi PHI-luku on, sitä suurempi on eturauhassyövän riski. PHI-luvun suuruutta lisäävät suuri PSA:n ja p2PSA:n pitoisuus ja pieni vapaan PSA:n pitoisuus. Useissa

tutkimuksissa on todettu PHI:n yleisesti tunnistavan eturauhassyövän, sekä aggressiivisen eturauhassyövän paremmin kuin muut käytössä olevat merkkiaineet yksinään. PHI voi mahdollisesti vähentää eturauhassyövän yli diagnostiikkaa ja turhien eturauhasen kudoksenäytteiden ottamista. Näin ollen PHI:tä pidetään myös mahdollisesti kustannustehokkaana. (Seikkula ym. 2015.)

Neljän kallikreinin paneelissa (the four kallikrein score) määritetään vapaa ja kokonais-PSA sekä intakti-PSA ja kallikreini 2 (Seikkula ym. 2015). Kallikreini 2 (hK2) on proteaasi, jonka molekyylirakenne vastaa 80-prosenttisesti PSA:n rakennetta (Potter & Partin 2000; Seikkula ym. 2015). Eturauhasen epiteeli tuottaa hK2:ta (Potter & Partin 2000). hK2:n määrä verenkierrossa on kaksi kertaa pienempi kuin PSA:n. hK2:ta löytyy nimenomaan pahanlaatuisesta syöpäkudoksessa, kun taas PSA:ta löytyy myös hyvänlaatuisesta kudoksesta. Neljän kallikreinin määrittämisestä ja potilaan iästä muodostetun laskennallisen algoritmin tulosta voidaan käyttää arvioimaan eturauhassyövän todennäköisyyttä. Näin voidaan ehkäistä tarpeettomien eturauhasen kudoksenäytteiden ottamista. (Seikkula ym. 2015.)

Nordström, Vickers, Assel, Lilja, Grönberg & Eklund (2015) ovat tutkimuksessaan verranneet neljän kallikreinin paneelin ja PHI:n kykyä ennustaa eturauhassyöpää. Tutkimukseen osallistui kaiken kaikkiaan 26 712 miestä, joista raporttiin valittiin yhteensä 531 miestä. Valittujen miesten kokonais-PSA oli välillä 3–15 µg/l, ja heiltä oltiin ottamassa ensimmäistä kertaa eturauhasen kudoksenäytettä. Tutkimukseen osallistuneilta henkilöiltä otettiin verinäytteet, joista määritettiin vapaa ja kokonais-PSA, p2PSA, kallikreini 2 ja intakti PSA. Koehenkilöille laskettiin saatujen tulosten mukainen PHI-luku ja neljän kallikreinin paneelin tulos.

Tutkimuksen mukaan sekä neljän kallikreinin paneeli että PHI paransivat eturauhassyövän sekä aggressiivisen eturauhassyövän erotuskykyä ja ennustamista. PHI ja neljän kallikreinin paneeli vähensivät eturauhasen kudoksenäytteiden ottamista lähes 30 prosentilla, mutta samalla kumpikaan määrittäminen ei havainnut 10 prosenttia aggressiivista eturauhassyövästä. Molempien tutkimusten avulla voidaan kuitenkin vähentää turhien kudoksenäytteiden ottamista verrattuna pelkän kokonais-PSA-arvon määrittämiseen.

2.4 Cobas e 411 ja Cobas e 602 -analysaattorit

Cobas e 411 on Hitachin valmistama ja Rochen markkinoima immunokemian analysaattori, joka on kehitetty pienten laboratorioden käyttöön (Roche Diagnostics; Roche Diagnostics 2009). Cobas e 411 -analysaattori pystyy käsittelemään 86 näytettä tunnissa (Roche Diagnostics 2016a). Cobas e 602 -analysaattorimoduuli on osa Rochen 8000 moduulianalysaattorisarjaa, jossa se toimii immunokemian analysaattorina osana suurempaa analysaattorimoduulia (Roche Diagnostics 2013). Cobas e 602 -analysaattori on tehty suuriin laboratorioihin, jossa käsiteltävät näytemäärät ovat suuria (Roche Diagnostics 2010). Cobas e 602 -analysaattori pystyy käsittelemään jopa 170 näytettä tunnissa (Roche Diagnostics 2013; Roche Diagnostics 2016b). Cobas e 411 ja Cobas e 602 -analysaattoreilla pystytään tekemään lähes 100 eri määritystä (Roche Diagnostics 2015a; Roche Diagnostics 2010). Analysaattorien tutkimusvalikoimaan kuuluu muun muassa kasvain- ja sydänmerkkiaineita sekä tartuntatauti- ja hormonimäärytyksiä (Roche Diagnostics 2015b; Roche Diagnostics 2010). Cobas e 411 ja Cobas e 602 -analysaattorit käyttävät samoja reagensseja ja kalibraattoreja PSA- ja PSA-V-tutkimuksissa (Roche Diagnostics 2015d; Roche Diagnostics 2016c; Roche Diagnostics 2016d & Roche Diagnostics 2016e).

Molemmat analysaattorit käyttävät analyysimenetelmänään elektrokemiluminesenssiä (ECL), joka antaa analyyseille laajan mittausvälin ja tarkan mittatarkkuuden (Roche Diagnostics 2009; Roche Diagnostics 2016b). ECL-reaktio perustuu rutenium-kompleksin ja TPA:n väliseen reaktioon, joka synnyttää valoa (Roche Diagnostics 2015c). Cobas e 411 ja Cobas e 602 -analysaattorit käyttävät PSA- sekä PSA-V-määrytyksissä sandwich-menetelmää (Roche Diagnostics 2016c; Roche Diagnostics 2016c). Sandwich-menetelmässä rutenium-leimattu vasta-aine sekä biotiini-leimattu vasta-aine sitoutuvat näytteen antigeneihin. Seokseen lisätään paramagneettisia streptavidini-leimattuja mikropartikkeleja. Näytteessä oleva antigeeni kiinnitetään streptavidini-biotiini-sidoksen avulla paramagneettisiin mikropartikkeleihin. Paramagneettiset mikropartikkelit takaavat kontrolloidun immunokompleksien kiinnittämisen ja vapauttamisen magneetin avulla. Näytteen analysointi tapahtuu analysaattorin mittauskammiossa, jossa magneetti sitoo paramagneettiset kompleksit mittauskammioon. Mittauskammioon lisätään Procell-liuosta, joka sisältää ECL-reaktiossa tarvittavaa TPA:ta ja pesee pois sitoutumattomat immunokompleksit ennen mittausa. Mittauskammioon lisätään jännite, joka käynnistää ru-

tenium-kompleksin ja TPA:n välisen reaktion. Reaktiossa syntyvän valon mittaa analyysaattorin valomonistin. Mitatun valon määrä on suoraan verrannollinen näytteessä olevan analyytin pitoisuuteen. (Roche Diagnostics 2015c.)

PSA- ja PSA-V-arvojen määrittämisessä verestä voidaan käyttää joko plasmaa tai seerumia (Arneth 2009; Roche Diagnostics 2016d & Roche Diagnostics 2016e). Cobas-analyysaattorien laitevalmistajan ohjeistuksen mukaan käytettävä plasmanäyte voi olla joko litium-hepariini- tai K₃-EDTA-plasmaa (Roche Diagnostics 2016d & Roche Diagnostics 2016e.) Tykslabin ohjeistuksen mukaan PSA- ja PSA-V-tutkimuksissa käytetään litium-hepariiniplasmaa. Näyte säilyy 6 tuntia näytteenotosta huoneenlämmössä kokoverenä geelihepariiniputkessa. (Tykslab 2015.) Erotettu plasmanäyte säilyy jääkaapissa 5 vuorokautta ja näytteen pidempiaikainen säilytys tapahtuu pakastettuna (Tykslab 2015; Roche Diagnostics 2016d & Roche Diagnostics 2016e). Pakastettuna - 20 °C asteen lämpötilaan PSA-näytteet säilyvät kuusi kuukautta ja PSA-V-näytteet puolestaan kolme kuukautta (Roche Diagnostics 2016d & Roche Diagnostics 2016e).

Stephan, Klaas, Müller, Schorr, Loening & Jung (2006) ovat tutkineet eri analyysimenetelmien vaikutusta vapaan ja kokonais-PSA:n tuloksiin. Tutkimuksessa analysoitiin 314 eturauhassyöpöpäotilaan ja 282 ei syöpöpäotilaan seeruminäytteistä vapaa ja kokonais-PSA-viidellä eri analyysimenetelmällä. Saaduista vapaan ja kokonais-PSA:n tuloksista laskettiin lisäksi niiden välinen suhde. Tutkimustulosten mukaan saadut vapaan ja kokonais-PSA:n tulokset sekä näiden välinen suhde riippuivat analyysimenetelmästä. Vertailumenetelmän antamiin tuloksiin (100 %) verrattuna kokonais-PSA-arvot vaihtelivat välillä 87–115 prosenttia. Vapaan ja kokonais-PSA:n suhde oli tutkimuksen mukaan myös analyysimenetelmästä riippuvainen. Erot tuloksissa voivat vaikuttaa potilaan hoitopäätökseen, kuten eturauhasen kudoksenäytteen ottamiseen. Tutkimuksen mukaan kaupallisten PSA-analyysien täsmävyys keskenään on edelleen riittämätön. Jotta eri analyysitulosten vaikutus saataisiin minimoitua, lääkäreitä pitäisi informoida analyysimenetelmien aiheuttamista tuloserosta sekä biologisesta variaatiosta.

2.5 Validointi

Validoinnilla tarkoitetaan vertailumateriaalin avulla tehtävää tarkastelua menetelmän kyvystä tuottaa oikeita tuloksia sekä toistomittausten avulla tehtävää menetelmän sisäisen toistettavuuden tarkastelua. Nämä tarkastelut toteutetaan suunnitellun pitoisuusalueen

alarajalla, keskivaiheilla sekä ylärajalla. (Jaarinen & Niiranen 2005.) Validoinnin tavoitteena on määritellä mittausmenetelmä tilastollisesti laskennallisten muuttujien avulla (Growther 2001). Validoinnissa arvioidaan mittausmenetelmän suorituskyky, menetelmän soveltuminen tiettyyn tarkoitukseen sekä, että menetelmä täyttää sille asetut vaatimukset (Matveinen ym. 2005; Saari 2010). Mittausmenetelmälle asetetut vaatimukset voivat olla lainsäädännöllisiä, laboratorion tai laboratorion asiakkaiden asettamia (Saari 2010).

Valmistaja on usein validoinut mittauslaitteen tai -menetelmän jo osana sen kehittämistyötä. Validointi on kuitenkin tarpeen esimerkiksi, kun menetelmä tai uusi mittalaite halutaan ottaa käyttöön uudessa laboratoriossa tai varmistaa, että kaksi eri menetelmää antavat yhtäpitäviä tuloksia. (Matveinen ym. 2005; Hiltunen, ym. 2011.) Validoinnin laajuuteen vaikuttavat minkälaisia muutoksia mittausmenetelmään on tehty muun muassa käyttötarkoitukseen, laitteistoon, henkilökuntaan tai olosuhteisiin liittyen (Matveinen ym. 2005). Menetelmän validointiin kuuluu useita vaiheita: koejärjestelyjen suunnittelu, mitausten suorittaminen, tulosten arviointi, tilastolliset laskut ja menetelmäohjeiden ja menetelmän laadunvalvonnan laatiminen (Jaarinen & Niiranen 2005). Validoinnista laaditaan validointiraportti, josta tulee selvittää validoinnin tavoite, toteutus ja se täyttääkö menetelmä sille asetetut vaatimukset. Lisäksi raporttiin kirjataan validoinnin eri vaiheet, mitaukset sekä niihin käytetyt laitteet, välineet ja materiaalit. (Matveinen ym. 2005; Jaarinen & Niiranen 2005; Hiltunen, ym. 2011.)

Forde, Marignol, Blake, McDermott, Grainger, Crowley ja Lynch (2012) ovat tutkineet vähentääkö kokonais-PSA:n analyysimenetelmän standardisointi vaihtelevuutta kokonais-PSA:n määrittelyssä. Tutkimuksessa 84 potilaan verinäytteistä määritettiin kokonais-PSA yhdeksässä eri sairaalassa, yhden sairaalan toimiessa referenssisairaalana ja myöhemmin analyysimenetelmä standardisoitiin neljässä sairaalassa ja määrittelyt toistettiin. Tutkimustuloksista ilmeni, että eri sairaaloiden laboratorioden välillä oli merkittävää vaihtelua saaduissa tuloksissa, suurin ero oli $2.2 \pm 2.4 \mu\text{g/l}$. Analyysimenetelmien standardisoinnin jälkeen määritetyt kokonais-PSA:n pitoisuuksien vaihtelut vähenivät huomattavasti, eikä tilastollisesti merkittäviä poikkeamia löytynyt.

3 TUTKIMUKSEN TARKOITUS, TAVOITTEET JA TUTKIMUSTEHTÄVÄT

Tämän opinnäytetyön tarkoituksena on validoida Turun ammattikorkeakoululle hankitun uuden Roche Cobas e 411 -analysaattorin tutkimusvalidoimasta PSA- ja vapaa PSA-tutkimukset. Validoinnissa käytetään referenssilaitteena Tykslabin osastolla 930 käytössä olevaa Cobas e 602 -analysaattoria ja sen antamia tuloksia laskimoverinäytteistä.

Opinnäytetyön tavoitteena on bioanalytikko-opiskelijoiden analyysityöskentelyn oppimisen edistäminen, sillä analyysityöskentely on merkittävä osa bioanalytiikon ammatillisia taitoja. Validoinnin jälkeen eturauhastutkimuksia voidaan käyttää bioanalytikkokoulutuksen opetus- ja tutkimustyössä. PSA- ja PSA-V-tutkimusten validoinnin myötä varmistetaan, että tutkimusten tulostaso vastaa yhteistyökumppani Tykslabin tulostasoa, mikä mahdollistaa Tykslabin kanssa yhtenevien viitearvojen käytön tutkimuksille. Validointi varmistaa, että bioanalytikkokoulutuksen laboratorion laatu pysyy hyvänä ja sen tuottamat laboratoriotulokset ovat luotettavia. Lisäksi laaja tutkimusvalikoima mahdollistaa monipuolisten laboratoriotutkimuspalvelujen markkinoinnin yhteistyökumppaneille.

Tämän opinnäytetyön tutkimustehtäviä ovat:

1. Tarkistaa Cobas e 411 -analysaattorin sisäinen toistettavuus PSA- ja PSA-V-tutkimusten osalta suorittamalla tutkimusnäytteistä rinnakkaisajot.
2. Selvittää onko Cobas e 411 -analysaattorin PSA- ja PSA-V-tutkimusten tulostaso sama kuin Tykslabin Cobas e 602 -analysaattorin tulostaso.

4 OPINNÄYTETYÖN TOTEUTUS

4.1 Opinnäytetyön toteutus

Tämä opinnäytetyö toteutettiin lukuvuoden 2015–2016 aikana ja lopullinen opinnäytetyö sekä validoinnin tulokset julkaistiin keväällä 2016. Lähdemateriaalin hankinta ja teoria-osuuden kirjoittaminen opinnäytetyön tutkimussuunnitelmaan aloitettiin syksyllä 2015. Validoinnista tehtiin validointisuunnitelma, joka liitettiin tutkimussuunnitelmaan ja lopulliseen opinnäytetyöhön (Liite 1). Validointisuunnitelmaan kirjattiin validoinnin suunniteltu aikataulu, eteneminen ja validoinnissa tarvittavat tarvikkeet. Toimeksiantosopimus opinnäytetyöhön haettiin ja saatiin joulukuussa 2015 Turun ammattikorkeakoululta. Opinnäytetyössä käytettävä tutkimusaineisto koostui laskimoverinäytteistä (n=20), jotka saatiin Tykslabista, päivystys- ja automaatiolaboratorion osastolta 930 joulukuussa 2015. Laskimoverinäytteistä oli jo Tykslabissa määritetty PSA- ja PSA-V-pitoisuudet ja näytteiden PSA- ja PSA-V-pitoisuudet vaihtelivat. Näytteet pakastettiin Tykslabissa määritysten jälkeen ja ne olivat pakkasessa alle viikon, ennen näytteiden uudelleen analysointia Turun ammattikorkeakoulussa. Näytteiden ostoon oli ennakkoon pyydetty ja saatu lupa Tykslabin ylikemistiltä sähköpostitse.

Laskimoverinäytteiden analysointi Turun ammattikorkeakoulun Cobas e 411 -analysaattorilla tapahtui joulukuussa 2015. Tutkimuspaikkana toimi Turun ammattikorkeakoulun Ruiskadun yksikkö. Cobas e 411 -analysaattori kalibroitiin PSA- ja PSA-V-tutkimusten osalta laskimoverinäytteiden analysointia edeltävänä päivänä. PSA- ja PSA-V-analyyseihin kalibrointiin käytettiin laitevalmistajan kalibraattoreita Total PSA Calset ja Free PSA Calset. Kalibroinnin jälkeen analysaattorilla ajettiin vielä laitevalmistajan kahden pitoisuustason Precicontrol Tumor Marker 1 ja 2 -kontrollit, joilla valmistettiin kalibroinnin onnistuminen. Free PSA Calset -kalibraattori oli käyttövalmis liuos, mutta Total PSA Calset -kalibraattori ja Precicontrol Tumor Marker 1 ja 2 -kontrollit olivat kylmäkuivattuja. Kylmäkuivatut tuotteet liuotettiin ennen käyttöä noudattaen Turun ammattikorkeakoulun bioanalytikkokoulutuksen kylmäkuivattujen tuotteiden liuotusohjetta, joka perustuu laitevalmistajan ohjeisiin. Tuotteiden liuotuksessa käytettiin kalibrointi- ja kontrolliliuotuksiin tarkoitettua ilmamäntäpipettiä, jonka kalibrointi tarkistetaan vähintään kerran lukukaudessa.

Kesken kalibrointien ja kontrollien ajamisen Procell- ja Cleancell-reagenssien huomattiin olleen avattuina pari viikkoa yli sallitun 30 päivää. Kontrollien ajamisen jälkeen vanhentuneet reagenssit vaihdettiin uusiin saman valmistuserän reagensseihin. Vanhentuneista reagensseista huolimatta kalibraatioiden ja kontrollien tulokset olivat sallituissa rajoissa.

Ylijääneet kontrollit pakastettiin - 80 °C asteeseen odottamaan seuraavaan päivään. Validointipäivänä Cobas e 411 -analysaattorilla ajettiin edellisenä päivänä liuotetut ja pakastetut Precicontrol Tumor Marker 1 ja 2 -kontrollit. Kontrollit otettiin pakastimesta sulamaan huoneenlämpöön, sulamisen jälkeen ne sekoitettiin hyvin ja analysoitiin 30 minuutin kuluessa pakkasesta ottamisen jälkeen. Kontrollien tulokset olivat sallituissa rajoissa, jolloin validointi voitiin suorittaa.

Laskimoverinäytteet saivat sulaa rauhassa muutaman tunnin huoneenlämmössä ennen analysointia. Koska näytteet haettiin analysointipäivän aamuna, kuljetettiin näytteet Tykslabin osastolta 930 Turun ammattikorkeakoululle ilman kylmäkuljetusta, jotta näytteet sulaisivat nopeammin. Kun kaikki näytteet olivat kokonaan sulaneet, ne sekoitettiin ja tämän jälkeen sentrifugoitiin ennen analysointia. Sentrifugoinnin jälkeen laskimoverinäytteet laitettiin jääkaappiin odottamaan analysointia pari tunniksi. Ennen analysointia laskimoverinäytteiden tunnistetiedot ja tutkimuspyynnöt syötettiin käsin analysaattorille, kaikista näytteistä analysointiin sekä PSA-, että PSA-V-tutkimukset. Kaikki näytteet analysointiin kahteen kertaan rinnakkaisajojen vertailua varten. Saadut rinnakkais tulokset kirjattiin ylös taulukoihin ja näyteputkiin kirjatut Cobas e 602 -analysaattorilla saadut PSA- ja PSA-V-tulokset kirjattiin ylös erilliseen taulukkoon. Analysointien jälkeen näytteet pakastettiin uudelleen - 20 °C asteeseen säilytystä varten, odottamaan tutkimustulosten ja opinnäytetyön valmistumista.

Turun ammattikorkeakoulu maksoi tästä opinnäytetyöstä syntyvät kustannukset. Tästä opinnäytetyöstä syntyneet kustannukset hyväksyttiin koulutus- ja tutkimuspäälliköllä. Laskimoverinäytteiden hankinnasta syntyneet kustannukset olivat 7 euroa yhtä näytettä kohden eli yhteensä kustannuksia näytteiden hankinnasta tuli 140 euron edestä. Lisäksi kustannuksia syntyi muiden validoinnissa tarvittavien tarvikkeiden kuten reagenssien, kalibraattorien ja kontrollien tilaamisesta. Validoinnista tehtiin laatuksikirjan liitteeksi kirjallinen validointiraportti. Validointiraporttiin kirjattiin validoinnin toteutus, tulokset ja johdopäätökset.

4.2 Tulosten tilastollinen tarkasteleminen

Tutkimusaineiston tilastollinen tarkastelu aloitettiin tammikuussa 2016 ja tilastollisessa tarkastelussa käytettiin Excel- ja SPSS-ohjelmia. Molempien analysointien antamat tulokset syötettiin Exceliin (Liite 2), minkä jälkeen niitä ryhdyttiin tarkastelemaan tarkemmin. Tilastollinen tarkastelu aloitettiin vertailemalla Cobas e 411 -analysointilla tehtyjä rinnakkaisajoja PSA- ja PSA-V-näytesarjoista. Excelillä rinnakkaisajoista sekä yksittäisistä näytteistä laskettiin tunnusluvut. Rinnakkaisajojen tunnuslukuja verrattiin toisiinsa ja yksittäisten näytteiden tunnuslukuja verrattiin laitevalmistajan omista määrittämissään saamiin tunnuslukuihin. Rinnakkaisajojen välistä korrelaatiota tarkasteltiin hajontakuvioiden ja korrelaatiokertoimien avulla. Hajontakuvioiden eli korrelaatiodiagrammien avulla voidaan tarkastella tilastoaineistoa tutkimalla muodostavatko tutkittavien muuttujien arvot jollakin tavalla säännöllisen pistojoukon (Holopainen & Pulkkinen 2002). Mikäli hajontakuviosta ilmenee säännönmukaisuutta, voidaan seuraavaksi ryhtyä tutkimaan muuttujien välistä yhteyttä tarkemmin (Holopainen & Pulkkinen 2002).

Laskemalla muuttujien välinen korrelaatiokerroin voidaan muuttujien välistä yhteyttä tutkia matemaattisesti. Korrelaatiokerroin on tilastollinen tunnusluku, jolla voidaan mitata muuttujien välisen yhteyden voimakkuutta. Korrelaatiokertoimia on useita ja niitä voidaan käyttää hyväksi tilastoanalyseissa. (Holopainen & Pulkkinen 2002.) Korrelaatiokerroin on tavallisimpia keinoja osoittaa kahden muuttujan välistä riippuvuutta. Useimmiten käytetään Pearsonin korrelaatiokerrointa, joka osoittaa vain lineaarisen riippuvuuden. (Holopainen & Pulkkinen 2002; Uhari & Nieminen 2012.) Hajontakuviosta näkee onko muuttujien yhteys lineaarinen (Uhari & Nieminen 2012). Pearsonin korrelaatiokerrointa voidaan käyttää kuvaamaan kahden välimatka- ja suhteasteikkomuuttujan välistä yhteyttä (Heikkilä 2014). Pearsonin korrelaatiokerroin voi olla välillä -1 ja $+1$ (Holopainen & Pulkkinen 2002; Uhari & Nieminen 2012). Korrelaatiokertoimen arvo 1 saadaan silloin, kun hajontakuviosta kaikki pisteet ovat nousevalla suoralla. Kaikkien pisteiden ollessa laskevalla suoralla saadaan korrelaatiokertoimen arvo -1 . Mitä lähempänä korrelaatiokertoimen arvo on lukua 1 , sitä voimakkaampaa muuttujien välinen lineaarinen yhteys on. (Holopainen & Pulkkinen 2002.) Mikäli korrelaatiokerroin on lähellä arvoa 0 , ei muuttujien välillä ole lineaarista yhteyttä (Heikkilä 2014).

Tulosten tarkastelua jatkettiin Excelin jälkeen testaamalla SPSS-ohjelmalla rinnakkaisajojen tulosten normaalijakauma NPar-testillä. Yhteensopivuustesteillä voidaan tes-

tata, ovatko muuttujat jakaantuneet tasaisesti (Holopainen & Pulkkinen 2002). Normaalijakaumassa summa- ja keskiarvomuuttujat ovat normaalisti jakaantuneita (Heikkilä 2014). Sekä PSA- että PSA-V-rinnakkaisajot Cobas e 411 -analyssaattorilla noudattivat normaalijakaumaa, jolloin voitiin käyttää SPSS-ohjelmalla t-testiä rinnakkaisajojen tilastolliseen tarkasteluun. Toistettujen mittausten t-testin avulla voidaan arvioida muutoksen tilastollista merkitsevyyttä, silloin kun muuttujat ovat keskiarvon perusteella jakautuneet normaalisti (Uhari & Nieminen 2012). T-testin käytön edellytyksenä on, että muuttujat ovat normaalisti jakautuneet (Holopainen & Pulkkinen 2002).

Mittausvirheistä johtuvat satunnaisvaihtelut tekevät havaintoihin perustuvasta päätelystä vaikeaa. Sattumalla voidaan jossain tapauksissa selittää poikkeama, jota hypoteesi ei selitä. Sattuman todennäköisyys voidaan arvioida tilastollisessa päätelyssä. Mikäli havaittu poikkeama on suurella todennäköisyydellä sattuman aiheuttama, selitetään poikkeama sattuman aiheuttamaksi ja mikäli sattuma aiheuttaa havaitun poikkeaman vain pienellä todennäköisyydellä, poikkeamaa pidetään tieteellisesti merkittävänä löytönä. (Laininen 2001.) Merkitsevyydestien avulla voidaan testata onko aineistolle tehty nollahypoteesi pätevä vai sopiiko vastahypoteesi paremmin selittämään saatuja havaintoja. Merkitsevyydestien vastaus annetaan p-arvon avulla. (Uhari & Nieminen 2001.) P-arvo osoittaa väärän johtopäätöksen todennäköisyyden, mikäli nollahypoteesi hylätään ja vastahypoteesi hyväksytään (Holopainen & Pulkkinen 2002). P-arvon rajat ovat tavallisesti ei merkittävä eli $P > 0,05$ ja merkittävä eli $P < 0,05$ (Laininen 2001; Uhari & Nieminen 2012). P-arvon ollessa alle 0,05, puhutaan ei tilastollisesti merkittävästä erosta (Laininen 2001). Tässä opinnäytetyössä tutkimustehtävien nollahypoteeseina oli oletus, että Cobas e 411 -analyssaattorin sisäinen toistettavuus on hyvä sekä, että Cobas e 602 ja Cobas e 411 -analyssaattorien tulostaso on toisiaan vastaava. T-testin mukaan PSA- ja PSA-V-näyteajojen rinnakkaisajot korreloivat hyvin keskenään eikä rinnakkaisajojen välillä ollut tilastollisesti merkittäviä poikkeamia, molempien tutkimusten p-arvojen ollessa yli 0,05.

Koska Cobas e 411-analyssaattorin PSA- ja PSA-V-tutkimusten rinnakkaisajojen tulokset vastasivat hyvin toisiaan, laskettiin niistä keskiarvo, joita verrattiin Cobas e 602 -analyssaattorin antamiin tuloksiin. Cobas e 602 ja Cobas e 411-analyssaattorin antamia tuloksia PSA- ja PSA-V-näytesarjoista verrattiin toisiinsa samaan tapaan kuin Cobas e 411-analyssaattorilla tehtyjä rinnakkaisajoja. Analyssaattorien antamien tulosten tarkastelu aloitettiin Excelillä laskemalla tunnusluvut ja tarkastelemalla tulosten välistä korrelaatiota. Tämän jälkeen SPSS-ohjelmalla testattiin näytesarjojen tulosten normaalijakauma. Sekä

PSA- että PSA-V-ajovertailut kahden analysaattorin kesken noudattivat normaalija-kaumaa, jolloin voitiin käyttää t-testiä rinnakkaisajojen tilastolliseen tarkasteluun. T-testin mukaan PSA-V-tutkimuksessa ei ilmennyt tilastollisesti merkittäviä eroja ($P > 0,05$), PSA-tutkimuksessa puolestaan oli tilastollisesti merkittäviä eroja, jolloin nollahypoteesista luovuttiin. PSA-tulosten vertailua Cobas e 602 ja Cobas e 411 -analysaattorien kesken jatkettiin laskemalla tuloksista pitoisuuserot ja eroprosentti. Analysaattorien PSA-tulosten välinen variaatiokerroin laskettiin ja sitä verrattiin PSA:n biologiseen variaatioon. Lisäksi laskettiin saman näytteen vapaan PSA:n suhde kokonais-PSA:sta sekä Cobas e 602, että Cobas e 411 -analysaattorin antamien tulosten mukaan.

4.3 Opinnäytetyön metodologiset lähtökohdat

Kvantitatiivista eli määrällistä tutkimusta voidaan nimittää myös tilastolliseksi tutkimukseksi. Kvantitatiivisessa tutkimuksessa asioita kuvataan numeeristen suureiden avulla ja tutkimusmenetelmän avulla voidaan selvittää eri asioiden välisiä riippuvuuksia sekä prosenttiosuuksiin ja lukumääriin liittyviä kysymyksiä. Saatuja tutkimustuloksia voidaan havainnollistaa esimerkiksi taulukoin tai kuvioin. (Heikkilä 2014.) Kvantitatiivisen tutkimuksen alkujuuret ovat luonnontieteissä ja se on paljon käytetty tutkimusmenetelmä sosiaali- ja yhteiskuntatieteissä (Hirsjärvi, Remes & Sajavaara 2009).

Kvantitatiivisessa tutkimuksessa keskeisiä asioita ovat käsitteiden määrittely, hypoteesi, suunniteltu aineiston kerääminen, otantasuunnitelmat ja havaintoaineiston soveltuvuus numeeriseen eli määrälliseen mittaamiseen sekä aineiston saattaminen tilastollisesti käsiteltävään muotoon (Hirsjärvi, Remes & Sajavaara 2009). Kvantitatiivisessa tutkimuksessa tutkimusotoksen täytyy olla riittävän suuri, jotta saadut tutkimustulokset olisivat luotettavia (Heikkilä 2014). Tutkimuksen otoskokoon kuitenkin vaikuttavat muun muassa tutkimukseen käytettävät resurssit ja tutkimuksessa käytettävät tilastolliset menetelmät (Vilka 2014). Tutkimustuloksia pyritään yleistämään tilastollisin keinoin tutkimuksessa käytettyä tutkimusaineistoa laajempaan joukkoon (Heikkilä 2014).

Tässä opinnäytetyössä käytettiin kvantitatiivista tutkimusmenetelmää. Opinnäytetyön tutkimusmenetelmä on kvantitatiivinen, koska opinnäytetyössä käytettävässä aineistosta saatuja tuloksia tarkasteltiin numeerisesti. Tulosten välisiä riippuvuuksia selvitettiin ja tuloksista tehtiin tilastolliseen analysointiin perustuvia päätelmiä. Tutkimustuloksia havainnollistettiin kuvioiden avulla.

4.4 Opinnäytetyön eettiset lähtökohdat

Tieteellinen tutkimus ja siitä saadut tulokset ovat eettisesti hyväksyttäviä, luotettavia ja uskottavia vain mikäli tutkimus on suoritettu hyvän tieteellisen käytännön mukaisesti. Jokainen tutkija ja tutkimusryhmän jäsen vastaa ensisijaisesti itse hyvän tieteellisen käytännön noudattamisesta. Hyvän tieteellisen käytännön noudattamiseen kuuluvat muun muassa tarvittavien tutkimuslupien hankkiminen sekä tiedeyhteisön tunnustamien toimintatapojen eli rehellisyyden, yleisen huolellisuuden ja tarkkuuden noudattaminen tutkimustyössä, tulosten arvioinnissa ja esittämisessä. Muiden tutkijoiden tekemät työt ja saavutukset tulee huomioida viittaamalla heidän julkaisuihinsa asianmukaisesti. (Tutkimuseettinen neuvottelukunta 2012.)

Tämä opinnäytetyö toteutettiin hyviä tieteellisiä käytäntöjä noudattaen. Tälle opinnäytetyölle haettiin asianmukaisesti tarvittavat tutkimusluvut ennen tutkimusten aloittamista. Tässä opinnäytetyössä tutkimusaineistona käytettyjä laskimoverinäytteitä käsiteltiin anonyymisti, niin ettei näytteitä pystytty jäljittämään takaisin potilaisiin. Laskimoverinäytteet luovutettiin Tykslabista nimettöminä ja numeroitiin juoksevalla numerolla, jolloin potilaan henkilöllisyys ei ollut jäljitettävissä missään opinnäytetyön vaiheessa. Koska tutkimuksessa käytettiin jo analysoituja ja nimettömiä näytteitä, ei potilailta tarvinnut kysyä suostumusta tutkimukseen osallistumisesta.

Tämän opinnäytetyön aihe on hyödyllinen Turun ammattikorkeakoululle, sillä se mahdollistaa kokonais-PSA- ja PSA-V-tutkimusten tekemisen ammattikorkeakoulun Ruiskadun yksikössä. Immunokemian analysaattorin käyttö bioanalytikkokoulutuksessa edesauttaa bioanalytikko-opiskelijoiden analyysityöskentelytaitojen kehittymistä. Validointi takaa, että PSA- ja PSA-V-tutkimusten tulokset ovat luotettavia ja tutkimusten tulostasoa vastaavat Tykslabin tulostasoa. Lisäksi validoinnin jälkeen Turun ammattikorkeakoulu voi käyttää Tykslabin kanssa yhteneviä viitearvoja PSA- ja PSA-V-tutkimuksille.

5 TUTKIMUSTULOKSET JA NIIDEN TARKASTELU

5.1 Cobas e 411 -analysointilaitteen sisäinen toistettavuus

Cobas e 411 -analysointilaitteella tehtyjä PSA- ja PSA-V-tutkimusten rinnakkaisajoja verrattiin käyttäen samoja tilastollisia menetelmiä. PSA- ja PSA-V-tutkimuksia vertailtiin kuitenkin erikseen toisistaan riippumatta. PSA- ja PSA-V-rinnakkaisajojen tulosvertailu aloitettiin laskemalla ajosarjojen tulosten keskeisimmät tunnusluvut; keskiarvo, keskihajonta, variaatiokerroin, minimi ja maksimi (Taulukko 2).

Taulukko 2. Cobas e 411 -analysointilaitteen rinnakkaisajojen tunnusluvut.

Tunnusluvut	Cobas e 411 PSA-V ajo 1	Cobas e 411 PSA-V ajo 2	Cobas e 411 PSA ajo 1	Cobas e 411 PSA ajo 2
Keskiarvo (µg/l)	0,953	0,960	5,706	5,843
Keskihajonta (µg/l)	0,567	0,569	2,682	2,847
Variaatiokerroin (%)	60,0	59,3	47,0	48,7
Minimi (µg/l)	0,295	0,300	2,100	2,070
Maksimi (µg/l)	2,150	2,210	11,060	11,290

Keskiarvon avulla kuvataan muuttujien keskimääräisyyttä. Aritmeettinen keskiarvo saadaan laskemalla kaikkien havaintoarvojen summa ja jakamalla se havaintojen määrällä. (Mattila 2003b.) Keskihajonnan avulla kuvataan miten kaukana yksittäiset muuttujat keskimäärin ovat keskiarvosta. Toisinaan kahden eri otoksen keskihajontojen keskenään vertaileminen on vaikeaa, sillä keskihajonta vaihtelee aineiston keskiarvon mukaan. Variaatiokerroin helpottaa vertailemistä suhteuttamalla keskihajonnan aineiston keskiarvoon. (Mattila 2003a.) Variaatiokerroin saadaan laskettua seuraavasta kaavasta (Kaava 2):

$$\text{Variaatiokerroin} = \frac{\text{Keskihajonta}}{\text{Keskiarvo}} * 100$$

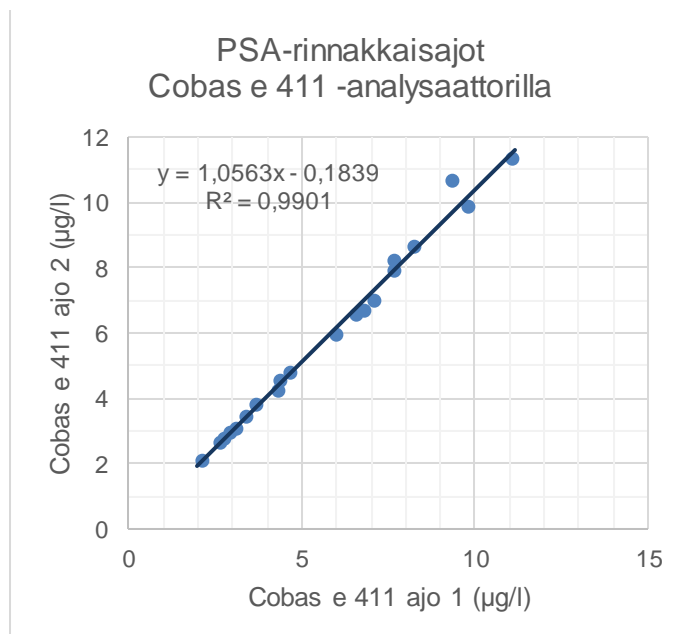
Kaava 2. Variaatiokertoimen laskukaava (Tilastokeskus 2016b).

PSA- ja PSA-V-tutkimusten rinnakkaisajojen tulokset koottiin hajontadiagrammeihin joihin liitettiin selitysaste ja regressiosuoran kaava, jota tarkasteltiin (Kaava 3). Regressiosuora voidaan merkitä kaavaksi seuraavalla tavalla:

$$Y = a + bX$$

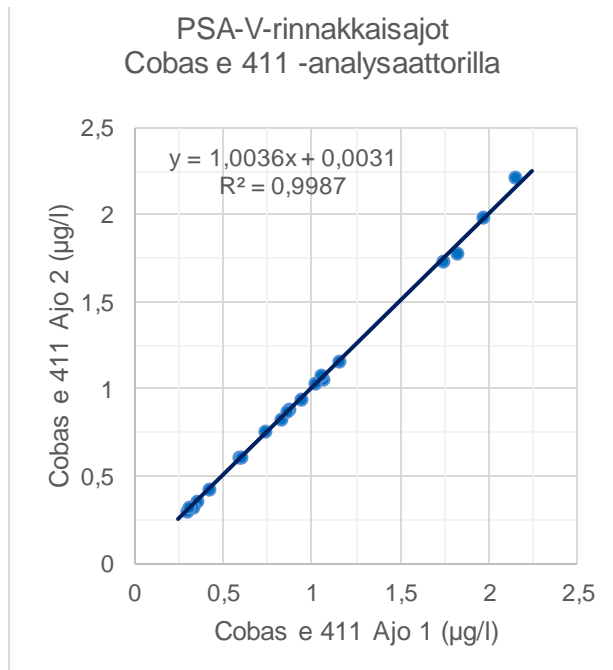
Kaava 3. Regressiosuoran kaava. (Mattila 2008).

Y on selitettävän muuttujan arvo, a on vakiotekijä, X on selittävän muuttujan arvo ja b on regressiokerroin. Vakiotekijä (a) kertoo minkä arvon selitettävä muuttuja (y) saa, kun selittävän muuttujan (x) arvo on nolla, eli vakioarvo kertoo missä kohtaa regressiosuora leikkaa kuvion y-akselin. Regressiokerroin (b) on regressiosuoran kulmakerroin, mikäli se saa negatiivisen arvon, suora on laskeva ja positiivisella regressiokertoimella suora on nouseva. Regressiokertoimen ollessa nolla, ei muuttujien välillä ole lineaarista yhteyttä. (Mattila 2008.) Regressiokerroin on riippumattomiin selittäviin muuttujiin liittyvä kerroin, joka kertoo kuinka paljon y:n arvo muuttuu, silloin kun x:n arvo muuttuu yhden yksikön (Heikkilä 2010; Tilastokeskus 2016a). Cobas e 411 -analysointilaitteella saadut PSA-tutkimuksen rinnakkaisajojen tulokset on merkitty Kuvioon 1 ja PSA-V-määritysten rinnakaistulokset Kuvioon 2.



Kuvio 1. PSA-rinnakkaisajot Cobas e 411 -analysointilaitteella.

PSA-rinnakkaisajoille laskettu korrelaatiokerroin ($r=0,995$) osoitti ajojen välillä olevan voimakkaan positiivisen korrelaation. T-testin tulos ($P=0,071$) osoitti, ettei PSA-rinnakkaisajojen tuloksissa ollut tilastollisesti merkittäviä poikkeavuuksia ($P>0,05$), jolloin nollahypoteesi jäi voimaan. PSA-rinnakkaisajojen selitysaste oli korkea; 99,01 prosenttia. Selitysaste eli selityskerroin saadaan korottamalla korrelaatiokerroin toiseen potenssiin ja se voidaan ilmoittaa prosentteina (Heikkilä 2014). Selitysaste ilmoittaa kuinka suuren osan selittävä muuttuja (x) selittää selitettävän muuttujan (y) vaihteluista (Heikkilä 2014).



Kuvio 2. PSA-V-rinnakkaisajot Cobas e 411 -analysointilaitteella.

PSA-V-rinnakkaisajoille laskettu korrelaatiokerroin ($r=0,999$) osoitti ajojen välillä olevan voimakasta positiivista korrelaatiota. PSA-V-rinnakkaisajojen tarkastelu t-testin avulla osoitti, ettei PSA-V-rinnakkaisajoissa ollut tilastollisesti merkittäviä poikkeavuuksia ($P=0,171$), jolloin nollahypoteesi jäi voimaan. Rinnakkaisajojen välinen selitysaste oli korkea; 99,87 prosenttia.

5.2 Cobas e 411 ja Cobas e 602 -analysointilaitteiden tulostasovertilu

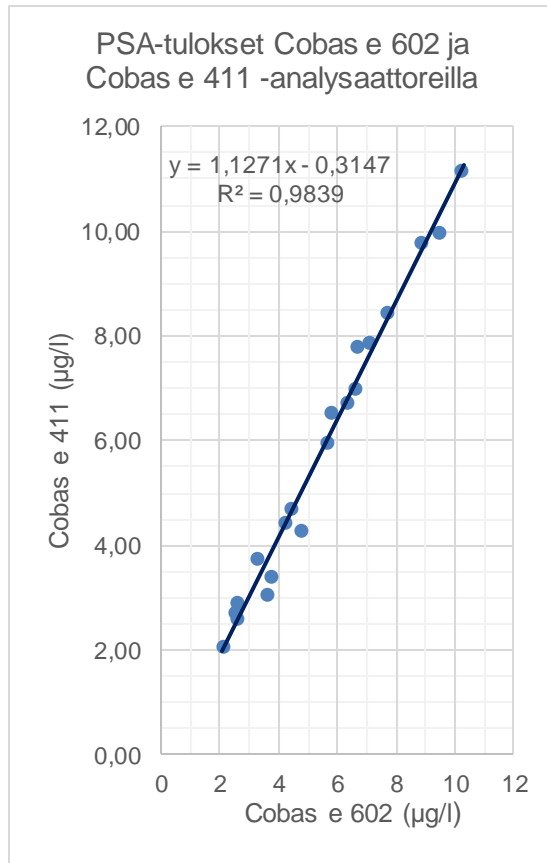
PSA- ja PSA-V-tutkimusten tulostasovertilu Cobas e 411 ja Cobas e 602 -analysointilaitteiden välillä aloitettiin laskemalla keskiarvo Cobas e 411 -analysointilaitteen rinnakkaisajojen tuloksista. Cobas e 411 -analysointilaitteen rinnakkaisajosta laskettua keskiarvoa verrattiin

Cobas e 602 -analysointilaitteen tuloksiin. Analysointilaitteiden keskinäisessä vertailussa laskettiin molempien analysointilaitteiden antamien PSA- ja PSA-V-tulosten tunnusluvut. Tunnusluvuista keskeisimmät; keskiarvo, keskihajonta, variaatiokerroin, minimi ja maksimi on merkitty Taulukkoon 3.

Taulukko 3. Cobas e 411 ja Cobas e 602 -analysointilaitteiden tunnusluvut.

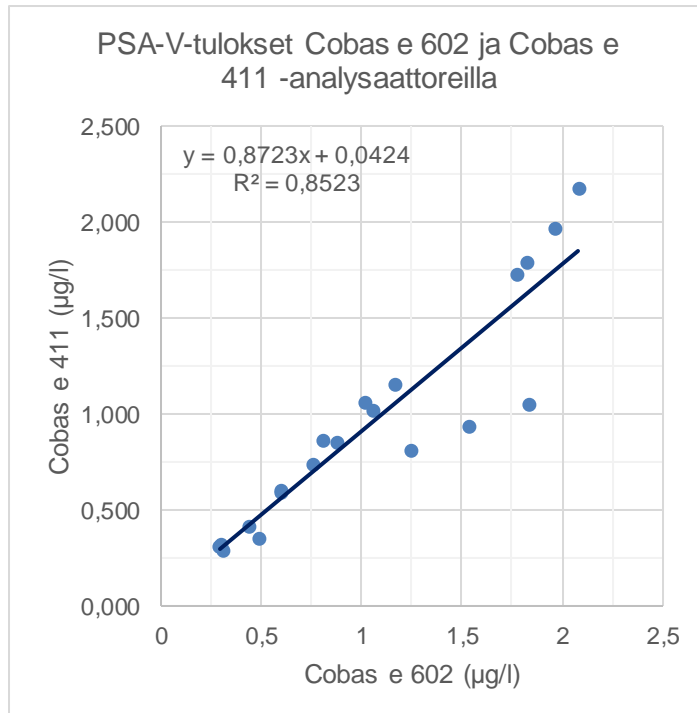
Tunnusluvut	Cobas e 411 PSA-V	Cobas e 602 PSA-V	Cobas e 411 PSA	Cobas e 602 PSA
Keskiarvo (µg/l)	0,956	1,048	5,774	5,403
Keskihajonta (µg/l)	0,568	0,601	2,761	2,430
Variaatiokerroin (%)	59,41	57,35	47,82	45,0
Minimi (µg/l)	0,298	0,293	2,085	2,140
Maksimi (µg/l)	2,180	2,080	11,175	10,190

Cobas e 602 -analysointilaitteen ja Cobas e 411 -analysointilaitteen PSA-tulosten välillä oli voimakas positiivinen korrelaatio, $r=0,992$. Tulosten välillä oli kuitenkin tilastollisesti merkittäviä eroja p-arvon ollessa 0,02. P-arvon ollessa alle 0,05 nollahypoteesi korvattiin vastahypoteesilla. Vastahypoteesina oli, etteivät analysointilaitteiden PSA-tulokset olisi täsmäviä. Selitysaste analysointilaitteiden PSA-tulosten välillä oli kuitenkin korkea, 98 prosenttia. Molempien analysointilaitteiden PSA-tulokset koottiin hajontakuviioon, johon liitettiin regressiosuoran kaava (Kuvio 3).



Kuvio 3. PSA-tulokset Cobas e 602 ja Cobas e 411 -analysaattorilla.

Cobas e 602 -analysaattorin ja Cobas e 411 -analysaattorin PSA-V-tulosten välinen korrelaatiokerroin laskettiin ($r=0,923$), mikä osoitti tulosten välillä olevan voimakkaan positiivisen korrelaation. Cobas e 602 -analysaattorin ja Cobas e 411 -analysaattorin PSA-V-tulokset koottiin hajontakuviioon, johon liitettiin regressiosuoran kaava (Kuvio 4).



Kuvio 4. PSA-V-tulokset Cobas e 602 ja Cobas e 411 -analysointilaitteilla.

Analysaattorien PSA-V-tulosten välillä ei ollut tilastollisesti merkittäviä eroja p-arvon ollessa 0,093 ($P > 0,05$), jolloin nollahypoteesi jäi voimaan. Analysaattorien PSA-V-tulosten välinen selitysaste oli korkea, 85,2 prosenttia.

5.3 Tutkimustulosten tarkastelu

Cobas e 411 -analysointilaitteen PSA- ja PSA-V-rinnakkaisajot olivat pääasiassa toisiaan vastaavia. Molempien tutkimusten rinnakkaisajojen välillä oli voimakas positiivinen korrelaatio. Myös rinnakkaisajojen välinen selitysaste oli korkea molemmissa tutkimuksissa. PSA- ja PSA-V-rinnakkaisajojen tulokset sijoituivat hyvin regressiosuoran mukaisesti hajontakuvioiden, osoittaen tulosten välillä olevan korrelaation. Sekä PSA:n että PSA-V:n rinnakkaisajosarjojen tunnusluvut täsmäsivät hyvin toisiaan, eikä niissä esiintynyt suuria eroja. Suurin ero rinnakkaisajojen PSA-tulosten välillä oli 1,3 µg/l eli 12,2 prosenttia. Tämä ero oli huomattavasti muita tuloksia suurempi, kun pienin ero rinnakkaisajojen PSA-tulosten välillä oli vain 0,01 µg/l. Keskimääräinen rinnakkaisajojen PSA-tuloserot oli 0,185 µg/l. Suurin ero rinnakkaisajojen PSA-V-tulosten välillä oli 0,011 µg/l eli 2,63 prosenttia.

Näyteajosarjojen tunnuslukujen laskeminen lisäksi yksittäisten näytteiden rinnakkaisajotuloksista laskettiin tulosten keskihajonta ja variaatiokerroin. Näistä lasketuista yksittäisten näytteiden rinnakkaisajojen keskihajonnasta ja variaatiokertoimesta laskettiin PSA- ja PSA-V-tulosten keskimääräinen keskihajonta ja variaatiokerroin. Näitä tässä opinnäytetyössä saatuja keskimääräisiä keskihajonta ja variaatiokerrointa verrattiin laitevalmistajan omista määrittelynsä saamiin vastaaviin tunnuslukuihin. Laitevalmistaja on kerännyt tietoa Cobas e 411 -analysaattorin antamien PSA- ja PSA-V-tulosten toistettavuudesta analysoimalla samoja näytteitä ja kontroleja yhteensä 60 kertaa (Roche Diagnostics 2016d & Roche Diagnostics 2016e). Tämän opinnäytetyön ja laitevalmistajan PSA- ja PSA-V-määrittelysten tunnusluvut on koottu Taulukkoon 4.

Taulukko 4. Toistettavuus Cobas e 411 -analysaattorilla laitevalmistajan mukaan verrattuna opinnäytetyön tuloksiin (Roche Diagnostics 2016d & Roche Diagnostics 2016e).

Määrittelyn tekijä	Määrittely	Keskihajonta ($\mu\text{g/l}$)	Variaatiokerroin (%)
Laitevalmistaja	PSA	0,345	2,26
Opinnäytetyön tekijä	PSA	0,129	1,4
Laitevalmistaja	PSA-V	0,1002	1,34
Opinnäytetyön tekijä	PSA-V	0,010	1,0

Laitevalmistajan tekemissä PSA-määrittelynsä keskimääräinen variaatiokerroin rinnakkaisajoissa oli 2,26 prosenttia ja keskimääräinen keskihajonta oli 0,345 $\mu\text{g/l}$. PSA-V-määrittelynsä keskimääräinen variaatiokerroin rinnakkaisajoissa oli 1,34 prosenttia ja keskihajonta 0,1002 $\mu\text{g/l}$ laitevalmistajan omista määrittelynsä. Tämän opinnäytetyön PSA- tai PSA-V-tulosten keskimääräinen variaatiokerroin tai keskihajonta eivät ylittäneet laitevalmistajan saamia vastaavia tuloksia opinnäytetyön pienemmästä rinnakkaismäärittelynsä määrästä huolimatta.

Cobas e 411 ja Cobas e 602 -analysaattorien PSA- ja PSA-V-tutkimusten tulostason vertailussa tunnusluvut poikkesivat toisistaan hieman enemmän kuin mitä Cobas e 411 -analysaattorin rinnakkaisajojen tunnusluvut. Analysaattorien väliset PSA- ja PSA-V-tulokset korreloivat vahvasti keskenään ja molemmilla oli korkea selitysaste, vaikka erot tuloksissa olivat suurempia kuin mitä rinnakkaisajoissa. Myös analysaattorien tulosten

välisissä hajontakuvioissa ilmeni enemmän poikkeamia regressiosuorasta kuin mitä Cobas e 411 -analysointilaitteen rinnakkaisajojen tuloksissa. Suurin osa tuloksista kuitenkin eteni pienin eroin regressiosuoraa myötäillen. Cobas e 411 ja Cobas e 602 -analysointilaitteiden antamissa PSA-V-tuloksissa seitsemän tulosta poikkesi merkittävästi regressiosuorasta. Analysointilaitteiden PSA-V-tulosten välillä ei kuitenkaan ilmennyt tilastollisesti merkittäviä eroja tästä huolimatta. Suurin yksittäinen ero PSA-V-tuloksissa analysointilaitteiden välillä oli 0,775 µg/l eli 42,4 prosenttia, mikä oli paljon suurempi kuin keskimääräinen ero, joka oli vain 0,12 µg/l. Selityksinä PSA-V-tulosten välillä, 85,2 prosenttia, oli hieman matalampi kuin muiden tutkimusten kohdalla, mutta siltikin yhä korkea.

Vaikka Cobas e 411 ja Cobas e 602 -analysointilaitteiden antamissa PSA-tuloksissa ilmeni tilastollisesti merkittäviä eroja ja nollahypoteesista luovuttiin, tulosten tarkempi tarkastelu osoitti erot pieniksi. Cobas e 411 -analysointilaitteen antamia PSA-tuloksia verrattiin Cobas e 602 -analysointilaitteen antamiin tuloksiin laskemalla tuloksista pitoisuusero ja vertailuprosentti. Vertailuprosentti laskettiin seuraavasti (Kaava 4):

$$\left[\frac{(\text{Cobas e 602:n tulos} - \text{Cobas e 411:n tulos})}{\text{Cobas e 602:n tulos}} \right] * 100$$

Kaava 4. Vertailuprosentin laskeminen.

Referenssilaitteena käytetyn Cobas e 602 -analysointilaitteen antamat PSA-tulokset olivat pääsääntöisesti matalampia kuin Cobas e 411 -analysointilaitteen antamat vastaavat tulokset (Liite 3). Suurin pitoisuusero analysointilaitteiden antamien tulosten välillä oli 0,58 µg/l. Prosentuaalisia eroja analysointilaitteiden välillä verrattiin Labqualityn PSA-tutkimuksen laaduntarkkailukierroksissaan käyttämiin rajoihin. Labquality käyttää ulkoisissa laaduntarkkailukierroksissaan ± 20 prosentin hajontaa tavoitearvosta PSA-määrityksessä hyväksyttävänä (Tiikkainen ym.; Labquality 2010). Yksikään Cobas e 411 -analysointilaitteella saatu PSA-tulos ei eronnut yli ± 20 prosenttia Cobas e 602 -analysointilaitteen antamasta PSA-tuloksesta. Suurin analysointilaitteiden välinen ero PSA-tuloksissa oli - 8,7 prosenttia.

PSA-tutkimuksen kokonaisvariaatioon kuuluu sekä analyttinen, että biologinen variaatio. Analyttinen variaatio riippuu näytteen käsittelystä ja määrityksen suorituskyvystä. Yksilön PSA-tulokset voivat kuitenkin vaihdella enemmän kuin mitä voidaan selittää analyttisellä variaatiolla, vaikka määritykset suoritetaan samalla menetelmällä. Nämä vaihtelut voidaan selittää yksilöllisellä tai yksilöiden välisellä biologisella variaatiolla. (Erden

ym. 2009.) PSA:n yksilön sisäinen variaation variaatiokerroin on 18,1 prosenttia ja yksilöiden välinen variaatiokerroin 72,4 prosenttia (Westgard QC 2014).

Laboratoriotutkimusten analyttisten laatuvaatimusten tulisi perustua yksilön sisäiseen ja yksilöiden väliseen biologiseen variaatioon. Laboratoriotutkimuksen sisäinen toistettavuus saisi maksimissaan olla puolet yksilön sisäisestä biologisesta variaatiosta. (Moodi 2009.) Kokonais-PSA:n tapauksessa suurin sallittu variaatiokerroin on siis 9,05 prosenttia. Cobas e 602 ja Cobas e 411 -analysaattorien PSA-tuloksista laskettiin lisäksi yksittäisen näytteen variaatiokerroin (Taulukko 5). Saatuja variaatiokertoimia verrattiin PSA:n biologiseen variaatioon.

Taulukko 5. Cobas e 602 ja Cobas e 411 -analysaattorien PSA-tulosten variaatiokertoimet.

Näyte ID	Variaatiokerroin (%)
1	10,92
2	1,85
3	7,48
4	6,60
5	4,65
6	2,20
7	6,33
8	6,52
9	6,34
10	4,63
11	4,17
12	7,16
13	3,59
14	3,87
15	7,58
16	11,32
17	9,57
18	10,22
19	8,63
20	4,13

Analysaattorien välisistä PSA-tuloksista lasketut yksittäisten näytteiden variaatiokertoimista neljä ylitti puolet yksilön biologisen variaatiosta eli 9,05 prosenttia. Korkein variaatiokerroin Cobas e 602 ja Cobas e 411 -analysaattorien antamien tulosten välillä oli 11,32

prosenttia. Keskimääräinen PSA:n variaatiokerroin näytteille oli 6,39 prosenttia, mikä jäi alle 9,05 prosentin.

Cobas e 602 analysaattorin antamista saman näytteen PSA- ja PSA-V-tuloksista laskettiin vapaan PSA:n suhde kokonais-PSA:han. Samoin tehtiin Cobas e 411 -analysaattorin rinnakkaisajoista lasketetuille PSA- ja PSA-V-tulosten keskiarvoille. Laskettuja suhdearvoja verrattiin toisiinsa (Taulukko 6).

Taulukko 6. PSA-V:n ja kokonais-PSA:n välinen suhde.

Näyttenumero	PSA-V-PSA-suhde (%) Cobas e 411	PSA-V-PSA-suhde (%) Cobas e 602
1	37,2	42,9
2	19,9	22,9
3	31,8	38,4
4	28,6	30,2
5	15,9	16,8
6	11,6	12,0
7	29,0	33,5
8	9,7	10,0
9	7,4	7,8
10	28,9	29,8
11	9,4	9,9
12	19,4	20,5
13	26,7	27,7
14	21,9	22,0
15	8,0	8,4
16	24,2	26,7
17	11,3	11,6
18	24,0	25,0
19	14,1	15,0
20	5,2	5,2

Vapaan ja kokonais-PSA:n suhdearvoille Cobas e 411 ja Cobas e 602 -analysaattorien kesken laskettiin korrelaatiokerroin ($r=0,992$), mikä osoitti tulosten välisen vahvan positiivisen korrelaation. Vapaan ja kokonais-PSA:n suhteen laskeminen molempien analysaattorien antamista tuloksista osoitti, että molemmat analysaattorit antavat pääsääntöisesti vastaavia tuloksia. Molempien analysaattorien tulosten mukaan samojen näytteiden suhdeprosentti jäi alle tai yli 15 prosentin, yhtä lukuun ottamatta, jossa Cobas e 411 -analysaattorin tulosten mukaan suhde oli 14,1 prosenttia ja Cobas e 602-analysaattorin tulosten mukaan 15,0 prosenttia. Eturauhassyövän ja hyvälaatuisen eturauhasen kasvun erottamiseen käytetään vapaan PSA:n suhdetta kokonais-PSA:sta (HUSLAB 2014).

Mikäli vapaan PSA:n suhde on alle 15 prosenttia kokonais-PSA:sta, viittaa se luultavammin eturauhassyöpään (HUSLAB 2014).

6 POHDINNAT

Tämän opinnäytetyön tutkimustehtävinä oli tarkistaa Cobas e 411 -analysaattorin sisäinen toistettavuus PSA- ja PSA-V-tutkimusten kohdalla sekä selvittää vastaako Cobas e 411 -analysaattorin PSA- ja PSA-V-tutkimusten tulostasoa Tykslabin Cobas e 602 -analysaattorin tulostasoa. Analysaattorin antamien tulosten tulee olla täsmäviä ja toistettavia, jotta sen antamia tuloksia voidaan pitää luotettavina. Kahden analysaattorin toisiaan vastaava tulostasoa mahdollistaa Tykslabin kanssa yhtenevien viitearvojen käytön PSA- ja PSA-V-tutkimuksille Turun ammattikorkeakoulussa.

Tämän opinnäytetyön tuloksien mukaan Cobas e 411 -analysaattorin sisäinen toistettavuus on hyvä PSA- ja PSA-V-tutkimuksien osalta. Analysaattorilla tehdyt PSA- ja PSA-V-rinnakkaisajot korreloivat vahvasti keskenään eikä tuloksissa ilmennyt tilastollisesti merkittäviä eroja p-arvojen ollessa yli 0,05. Rinnakkaisajojen tuloksista lasketuissa tunnusluvuissa ei ollut suuria eroja. Tulosten keskimääräinen keskihajonta ja variaatiokerroin eivät ylittäneet laitevalmistajan omissa tutkimuksissaan saamia lukuja. Näin ollen Cobas e 411 -analysaattorin voidaan todeta antavan toistettavia tuloksia PSA- ja PSA-V-tutkimuksista.

Cobas e 411 ja Cobas e 602 -analysaattorien välisen tulotason vertaaminen tapahtui vertaamalla Cobas e 411 -analysaattorilla tehtyjä PSA- ja PSA-V-rinnakkaisajojen keskiarvoja Cobas e 602 -analysaattorin tuloksiin. PSA-tuloksissa kahden analysaattorien välillä ilmeni tilastollisesti merkittäviä eroja p-arvon ollessa alle 0,05, jolloin nollahypoteesi analysaattorien täsmävästä tulostasosta hylättiin. Tulosten tarkempi tarkastelu, johon kuuluivat pitoisuuserojen ja eroprosentin laskeminen sekä Labqualityn käyttämään ± 20 prosentin hajontaan vertaaminen, osoittivat tuloseröjen olevan pieniä. Analysaattorien väliset prosentuaaliset ja pitoisuuserot eivät olleet merkittäviä. Analysaattorien PSA-tuloksista lasketut variaatiokertoimista neljä ylitti puolet PSA:n biologisen variaation variaatiokertoimesta eli 9,05 prosenttia. Näytteiden keskimääräinen PSA:n variaatiokerroin, 6,39 prosenttia, jäi kuitenkin alle 9,05 prosentin. Saman näytteen vapaan PSA:n ja kokonais-PSA:n suhteen laskeminen Cobas e 411 sekä Cobas e 602 -analysaattorin tuloksista osoitti, ettei analysaattorien välillä ollut merkittäviä eroja vapaan PSA:n ja kokonais-PSA:n tulosten suhteissa. Tulosten tarkemman tarkastelun myötä vastahypoteesista luovuttiin. Cobas e 411 ja Cobas e 602 -analysaattorin PSA-tulostasoa voidaan pitää toisiaan vastaavina.

PSA-V-tuloksissa ei ilmennyt tilastollisesti merkittäviä eroja Cobas e 411 ja Cobas e 602 -analysaattorien välillä p-arvon ollessa yli 0,05, vaikka kaikki tulokset eivät sijoittuneet regressiosuoran mukaisesti. Suurin ero analysaattorien välillä oli 0,39 µg/l. Analysaattorien väliset tulokset korreloivat kuitenkin vahvasti keskenään. Cobas e 411 -analysaattorin PSA-V-tutkimuksen tulostaso vastaa Cobas e 602 -analysaattorin tulostasoa. Cobas e 411 ja Cobas e 602 -analysaattorien keskinäinen tulostaso PSA- ja PSA-V-tutkimuksissa on täsmävä. Näin ollen Turun ammattikorkeakoulu voi ottaa käyttöön Cobas e 411 -analysaattorilla tehtäville PSA- ja PSA-V-tutkimuksille Tykslabin käyttämät viitearvot.

Opinnäytetyö toteutettiin noudattaen hyviä eettisiä periaatteita. Kaikki saadut tutkimustulokset esitettiin lopullisessa opinnäytetyössä, eikä saatuja tuloksia muunneltu. Opinnäytetyön suunniteltu aikataulus ja toteutus onnistuivat hyvin, eikä viivytyksiä tullut. Viitekehyksen kokoamisessa ja lähteiden etsinnässä noudatettiin lähdekritiikkiä ja lähteiksi valittiin vain luotettavia suomenkielisiä sekä englanninkielisiä kansainvälisiä lähteitä. Lähteitä pyrittiin keräämään mahdollisimman monipuolisesti. Aivan vastaavia aikaisempia tutkimuksia PSA- ja PSA-V-tutkimusten validoinnista tai kahden analysaattorin välisen tulostason vertailusta PSA- ja PSA-V-tutkimusten osalta ei löytynyt. Viitekehykseen koottiin muita tutkimuksia, jotka liittyivät kuitenkin aiheeseen keskeisesti.

Tutkimusta tehtäessä noudatettiin huolellisuutta ja tarkkuutta näytteiden käsittelyssä ja tulosten kirjanpidossa, mikä puoltaa tutkimuksen luotettavuutta. Validoitavaan Cobas e 411 -analysaattoriin tutustuttiin huolellisesti laitevalmistajan järjestämässä koulutuksessa ennen validoinnin suorittamista. Ennen näytteiden analysointia Cobas e 411 -analysaattorilla kalibroitiin PSA- ja PSA-V-tutkimukset, sekä ajettiin näistä tutkimuksista kontrollit, varmistaen kalibroinnin oikeellisuus. Analysaattorin toimivuus varmistettiin näin ennen validoinnin suorittamista. Kalibrointi- ja kontrollitulokset säilytettiin ja kaikki validoinnissa käytettyjen reagenssien, kalibraattorien ja kontrollien valmistuserien tiedot kirjattiin ylös, jotta ne pystytään jäljittämään tarvittaessa myöhemmin. Tulosten tilastollisessa tarkastelussa käytettiin tilastotieteen opettajan neuvoja tulosten tilastolliseen käsittelyyn ja tarkasteluun. Näin varmistettiin tulosten oikea tilastollinen käsittely ja tilastollisten tulosten oikea tulkinta.

Sekä referenssianalysaattorina toiminut Cobas e 602 että validoitu analysaattori Cobas e 411, ovat saman laitevalmistajan valmistamia. Molempien analysaattorien analyysimenetelmänä toimi elektrokemiluminesenssi ja molemmat analysaattorit käyttävät PSA- ja

PSA-V-määrittelyissä sandwich-menetelmää. Analysaattorit käyttävät myös samoja kalibraattoreja ja reagensseja. Näin ollen analysaattorien tulisi antaa vastaavia tuloksia keskenään ja analysaattorien välinen vertailu oli helposti toteutettavissa.

PSA- ja PSA-V-tutkimusten kalibroinnin yhteydessä huomattiin, että Cobas e 411 -analysaattorin Procell- ja Cleancell-reagenssit olivat olleet avattuina pari viikkoa yli sallitun 30 päivää. Kalibroinnit ja sen jälkeen ajettut kontrollit tulokset olivat tästä huolimatta sallituissa rajoissa ja näin ollen hyväksytyjä. Vanhentuneet reagenssit vaihdettiin seuraavana päivänä uusiin saman valmistuserän reagensseihin ja ennen näytteiden analysointia ajettiin laitevalmistajan kontrollit, jotka olivat sallituissa rajoissa. Vanhentuneilla reagensseilla ajettujen kontrollien tuloksia verrattiin uusilla reagensseilla ajettujen kontrollien tuloksiin. Kontrollien tuloksissa ei ollut eroja ja molempien kontrolliajojen tulokset olivat lähellä kontrollien tavoitepitoisuutta. Kalibroinnissa analysaattori ei kalibroi Procell- tai Cleancell-reagensseja, vaan ainoastaan analyttikohtaisen reagenssin, joten Procell- ja Cleancell-reagenssien vaihto ei vaikuttanut kalibrointiin.

Opinnäytetyön luotettavuutta heikentää tutkimuksessa käytettyjen laskimoverinäytteiden (n=20) pieni määrä. Suurempi aineisto olisi taannut luotettavamman aineiston tilastollisen tarkastelun sekä suuremman näytön tutkimukselle ja näin ollen luotettavimmat tutkimustulokset. Mahdollisten sattumien vaikutukset saatuihin tuloksiin olisivat olleet suuremmalla aineistolla pienempiä, eivätkä olisi vaikuttaneet yhtä paljon tilastolliseen tarkasteluun. Useammat rinnakkaismäärittelyt Cobas e 411 -analysaattorilla olisivat antaneet enemmän näyttöä ja vertailu mahdollisuuksia analysaattorin sisäisestä toistettavuudesta.

Tutkimuksessa käytetyt laskimoverinäytteet olivat nimettömiä, eikä niissä ollut mitään henkilötietoja. Koska tutkimuksessa käytetyissä näytteistä ei ollut tietoa potilaan iästä, vaikeutti tämä saatujen tulosten tarkastelemista viitearvoihin suhteutettuina, sillä PSA-tutkimuksen viiterajat ovat miesten iästä riippuvaisia. Tästä syystä tässä tutkimuksessa saatujen PSA-tuloksien kliinistä merkitsevyyttä PSA:n viitearvoihin suhteutettuna ei voitu lainkaan tarkastella.

Tutkimuksessa käytetyt laskimoverinäytteet ovat luultavasti seisonneet Tykslabissa muutamia tunteja huoneenlämmössä ennen ja jälkeen analysoinnin ennen kuin ne on pakastettu. Validointipäivänä laskimoverinäytteet seisoivat huoneenlämmössä muutaman tunnin, jotta näytteet sulivat pakastuksen jäljiltä. Sulamisen jälkeen näytteet puolestaan joutuivat seisomaan muutaman tunnin jääkaapissa ennen analysointia. Näytteet joutuivat

odottamaan analysointia sulamisen jälkeen validointipäivänä pidempään, kuin oli ollut tarkoitus. Nämä asiat ovat voineet vaikuttaa saatuihin tuloksiin jonkin verran.

Tässä opinnäytetyössä saadut tutkimustulokset antavat mahdollisuuden analysoida kokonais-PSA- ja PSA-V-tutkimuksia Cobas e 411 -analysaattorilla Turun ammattikorkeakoulun Ruiskadun yksikössä. Immunokemian analysaattorin käyttömahdollisuus edistää bioanalytikko-opiskelijoiden analyysityöskentelytaitoja, joka on keskeinen osa bioanalytiikon ammattitaitoa. Analysaattorin validointi takaa, että analysaattorin antamat PSA- ja PSA-V-tulokset ovat toistettavia ja täsmäviä ja näin ollen luotettavia. Luottavien tulosten saaminen mahdollistaa tutkimusten markkinoimisen Turun ammattikorkeakoulun yhteistyökumppaneille. Analysaattoria voidaan käyttää bioanalytikkokoulutuksen analyysityöskentelyn opetuksessa. Tutkimusten tulostasoa vastaa Tykslabin tulostasoa, mikä mahdollistaa Tykslabin kanssa yhtenevien viitearvojen käyttämisen Cobas e 411 -analysaattorin antamille tuloksille.

Tämän opinnäytetyön tutkimustulosten mukaan kokonais-PSA:n tuloksissa ilmeni tilastollisesti merkittäviä eroja eri analysaattorien välillä (ks. Forde ym. 2012). Forde ym. tutkivat PSA:n analyysimenetelmän standardoinnin vaikutusta kokonais-PSA:n tulosten vaihtelevuuteen. Ennen standardointia analyysimenetelmien välillä ilmeni tilastollisesti merkittäviä poikkeamia, jotka olivat suurempia kuin mitä tässä opinnäytetyössä saadut tuloserot olivat. Vaikka tässä opinnäytetyössä saatujen PSA-tulosten välillä ilmeni myös tilastollisesti merkittäviä eroja, tulosten tarkempi tarkastelu osoitti erojen olevan kuitenkin hyvin pieniä.

Tässä opinnäytetyössä vapaan ja kokonais-PSA:n suhdearvoissa ei ilmennyt merkittäviä eroja tässä tutkimuksessa eri analysaattorien välillä (vrt. Stephan ym. 2006). Stephan ym. tutkivat viiden eri analyysimenetelmien vaikutusta vapaan ja kokonais-PSA:n tuloksiin. Tässä opinnäytetyössä käytettyjen analysaattorien analyysimenetelmät puolestaan vastasivat toisiaan. Koska Stephanin ym. tekemässä tutkimuksessa vapaan ja kokonais-PSA:n tuloksissa ilmeni eroja analyysimenetelmien kesken, myös vapaan ja kokonais-PSA:n suhdearvoissa oli eroja analyysimenetelmien kesken.

Jatkotutkimusaiheiksi ehdotetaan laajemmalla näytemäärällä tehtävää Cobas e 411 ja Cobas e 602 -analysaattorien PSA- ja PSA-V-tutkimusten tulostason vertailua ja Cobas e 411 -analysaattorin sisäisen toistettavuuden varmistamista. Lisäksi uusien tutkimusten

käyttöönotto validointi Turun ammattikorkeakoulun Cobas e 411 -analysaattorilla voi tulevaisuudessa tulla ajankohtaiseksi, mikäli analysaattorin tutkimusvalikoimaa aiotaan laajentaa.

LÄHTEET

- Abrate, A.; Lughezzani, G.; Gadda, G.; Lista, G.; Kinzikeeva, E.; Fossati, N.; Larcher, A.; Dell'Oglio, P.; Mistretta, F.; Buffi, N.; Guazoni, G. & Lazzeri, M. 2014. Clinical use of [-2]proPSA (p2PSA) and its derivatives (%p2PSA and prostate health index) for the detection of prostate cancer: A review of the literature. *Korean journal of urology*. Vol 55, No 7, 436–445. Saatavilla: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4101112/>.
- Arneth, B. 2009. Clinical Significance of Measuring Prostate Specific Antigen. *LabMedicine*. Vol. 40, No 8, 487–491. Saatavilla: <http://labmed.ascpjournals.org/content/40/8/487.full>.
- Auvinen, A. & Tammela, T. 2015. Mitä lääkärin ja potilaan tulee tietää eturauhassyövän seulonnasta? *Lääketieteellinen Aikakauskirja Duodecim*. 19/15, 1733–1735. Saatavilla: <http://www.terveysportti.fi>.
- Erden, G.; Tezcan, G.; Soydas, Ö-A. & Yildirimkaya, M-M. 2009. Biological variation and reference change value (RVC) of prostate specific antigen (PSA) levels in the serum of healthy young individuals. *Gazi Medical Journal*. Vol. 4, No 20, 152–156. Saatavilla: <http://medicaljournal.gazi.edu.tr/index.php/GMJ/article/viewFile/69/68>.
- Finne, P.; Auvinen, A.; Määttä, L.; Tammela, T.; Ruutu, M.; Juusela, H.; Martikainen, P.; Hakama, M. & Stenman, U-H. 2008. Vapaan PSA:N:n pitoisuus kertoo eturauhassyövän riskistä myös kokonais-PSA:N ollessa viitealueella. *Duodecim*. Saatavilla osoitteessa <http://www.terveysportti.fi>.
- Forde, J.; Marignol, L.; Blake, O.; McDermott, T.; Grainger, R.; Crowley V. & Lynch, T. 2012. Standardization of assay methods reduces variability of total PSA measurement: an Irish study. *Bju International*. Vol. 110, 644–650.
- Growther, J-R. 2001. *Methods in Molecular Biology*. Volume 149: The Elisa guidebook. Humana Press.
- Harvard Medical School. 2011. Prostate Knowledge. Whats the Difference Between PSA and free PSA? > Q&A > Whats the Difference Between PSA and free PSA? Viitattu 1.10.2015 <http://www.harvardprostateknowledge.org/what-is-the-difference-between-psa-and-free-psa>.
- Heidenreich, A.; Abrahamsson, P-A.; Artibani, W.; Catto, J.; Mortorsi, F.; Van Poppel, H.; Wirth, M. & Mottet N. 2013a. Early Detection of Prostate Cancer: European Association of Urology Recommendation. *European Urology*. Vol 64, Is 3, 347–354. Saatavilla: [http://www.europeanurology.com/article/S0302-2838\(13\)00666-0/pdf/early-detection-of-prostate-cancer-european-association-of-urology-recommendation](http://www.europeanurology.com/article/S0302-2838(13)00666-0/pdf/early-detection-of-prostate-cancer-european-association-of-urology-recommendation).
- Heidenreich, A.; Bastian, P.; Bellmunt, J.; Bolla, M.; Joniau, S.; van der Kwast, T.; Mason, M.; Matveed, V.; Wiegel, T.; Zattoni, F. & Mottet, N. 2013b. EAU Guidelines on Prostate Cancer. Part 1: Screening, Diagnosis, and Local Treatment with Curative Intent — Update 2013. *European Urology*. Guideline. Vol. 65, Is, 1, 124–137. Saatavilla: [http://www.europeanurology.com/article/S0302-2838\(13\)01040-3/pdf/eau-guidelines-on-prostate-cancer-part-1-screening-diagnosis-and-local-treatment-with-curative-intent-update-2013](http://www.europeanurology.com/article/S0302-2838(13)01040-3/pdf/eau-guidelines-on-prostate-cancer-part-1-screening-diagnosis-and-local-treatment-with-curative-intent-update-2013).
- Heikkilä, T. 2010. Tilastollinen tutkimus. 7.-8. painos. Helsinki: Edita Prima Oy.
- Heikkilä, T. 2014. Tilastollinen tutkimus. 9. uudistettu painos. Helsinki: Edita Prima Oy.
- Hiltunen, E.; Linko, L.; Hemminki, S.; Hägg, M.; Järvenpää, E.; Saarinen, P.; Simonen, S. & Kärhä, P. 2011. Laadukkaan mittaamisen perusteet. Saatavilla: <http://www.mikes.fi/oppaat>.

- Hirsjärvi, S.; Remes, P. & Sajavaara, P. 2009. Tutki ja kirjoita. 15. uudistettu painos. Tammi.
- Holopainen, M. & Pulkkinen, P. 2002. Tilastolliset menetelmät. 5.-6. painos. WSOY.
- HUSLAB. 2014. Prostataspesifinen antigeeni, suhde, plasmasta. Tutkimusohjekirja > P-PSA-suh. Viitattu 1.10.2015 http://huslab.fi/cgi-bin/ohjekirja/tt_show.exe?assay=4868&terms=psa.
- Jaarinen, S. & Niiranen, J. 2005. Laboratorion analyysitekniikka. Edita Prima Oy.
- Käypä hoito. 2014. Eturauhassyöpä. Etusivu > Suositukset > Eturauhassyöpä. Viitattu 22.10.2015 <http://www.kaypahoito.fi/web/kh/suositukset/suositus?id=hoi11060#s10>.
- Labquality. 2010. Clinical chemistry 2 – special chemistry. Prostate-specific antigen. Interpretation of Labquality's EQA report. Saatavilla: http://www.labquality.fi/@Bin/2193057/2010_PSA_2226.pdf.
- Laininen, P. 2001. Tilastollisen analyysin perusteet. 2. korjattu painos. Helsinki: Otatieto Oy.
- Lee, R; Localio, A. R.; Armstrong, K.; Malkowicz, S. B.; Schwartz, J. S. & Free PSA study group. 2006. A Meta-analysis of the performance characteristics of the free prostate-specific antigen test. Elsevier. Urology Vol. 67, Is 4, 762–768.
- Loeab, T. & Catalona, W. 2014. The prostate health index: a new test for the detection of prostate cancer. Therapeutic Advances in Urology. Vol, 6, No 2, 74–77. Saatavilla: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3943368/#!po=59.3750>.
- Mattila, M. 2003a. Hajontaluvut. KvantiMOTV > Hajontaluvut. Viitattu 5.4.2016 <http://www.fsd.uta.fi/menetelmaopetus/hajontaluvut/hajontaluvut.html>.
- Mattila, M. 2003b. Keskiluvut KvantiMOTV > Hajontaluvut. Viitattu 5.4.2016 <http://www.fsd.uta.fi/menetelmaopetus/keskiluvut/keskiluvut.html#aritmeittinen>.
- Mattila, M. 2008. Regressioanalyysi. Kvantitatiivisten menetelmien tietovaranto. Menetelmäopetuksen tietovaranto. Viitattu 27.2.2016 <http://www.fsd.uta.fi/menetelmaopetus/regressio/analyysi.html>.
- Matveinen, K.; Isotalo, H.; Kantanen, M-L.; Mäkinen, I.; Nuotio, K.; Pohjola, V.; Riutta, O.; Venäläinen, E-R.; Ehder, T.; Hirvi, T.; Komppa, V.; Linko, S.; Nieminen, J.; Vartiainen, T. & Walden, J. 2005. Ehder, T. (toim.). 2005. Kemian metrologian opas. Mikes. Saatavilla: http://www.mikes.fi/mikes/Oppaat/j6_05_b5_nettiin.pdf.
- Moodi. 2009. Vieritestaus terveydenhuollossa. Laadunvarmistus. 6/2009, 286–300.
- Nordström, T.; Vickers, A.; Assel, M.; Lilja, H.; Grönberg, H. & Eklund, M. 2015. Comparison between the four-kallikrein panel of Prostate health index (PHI) for predicting prostate cancer. European Urology. No 68, Is 1, 139–146. Saatavilla: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4503229/#!po=75.0000>.
- Ozen, H. & Yazici, S. 2005. Twenty years and counting: Is PSA still useful in 2010? 13-22 Teoksessa Klein, E. & Jones, S. (ed) 2013. Management of Prostate Cancer. Third edition. Humana Press.
- Peyromayre, M.; Fulla, Y. & Dinh-Xuan, A-T. 2005. Pro PSA: a “pro cancer” form of PSA? Medical hypotheses. Vol 64, Is 1, 92–95.
- Potter, S. & Partin, A. 2000. Tumor markets: An update on human kallikrein 2. Reviews in urology. Vol 2, No 4, 221–222. Saatavilla: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1476115/#_fn_sectitle.

nor

Roche Diagnostics. Cobas e 411 Compendium of Background Information. http://www.roche.hu/content/dam/internet/corporate/roche/hu_HU/docs/cobas_e_411_EN.pdf.

Roche Diagnostics. 2009. Cobas e 411 analyzer. http://www.roche.hu/content/dam/internet/corporate/roche/hu_HU/docs/cobas_e_411_EN.pdf.

Roche Diagnostics. 2010. Roche launches new immunoassay module for large volume laboratories. Home > Newsroom > Press release > New large volume immunoassay. Viitattu 20.2.2016 <http://www.cobas.com/home/news-room/news/immunoassay-module-for-large-volume-laboratories.html>.

Roche Diagnostics. 2015a. Cobas® 4000 Analyzer series. Home > Products > Clinical- & Immunochemistry Test > Cobas® 4000 analyzer series > Product Characteristics. Viitattu 1.10.2015 <http://www.cobas.com/home/product/clinical-and-immunochemistry-testing/cobas-4000-analyzer-series.html>.

Roche Diagnostics. 2015b. Cobas® 4000 Analyzer series. Home > Products > Core Laboratory > Systems > Cobas 4000 Analyzer series > Assay menu. Viitattu 1.10.2015 <https://usdiagnostics.roche.com/en/instrument/cobas-4000-analyzer-series.html#assay-menu>.

Roche Diagnostics 2015c. Technology Elecsys® ECL. Home > Products > Clinical- & Immunochemistry Tests > Technology Elecsys® ECL. Viitattu 31.1.2016 <http://www.cobas.com/home/product/clinical-and-immunochemistry-testing/technology-elecsys-ecl.html>.

Roche Diagnostics. 2015d. Total PSA Calset II. Method sheet. Saatavilla: <https://dialog.roche.com/web/fi/elabdoc>.

Roche Diagnostics. 2016a. Cobas® 4000 Analyzer series. Home > Products > Core Laboratory > Analyzers > Cobas® 4000 Analyzer series > Explore. Viitattu 26.2.2016 <https://usdiagnostics.roche.com/en/instrument/cobas-4000-analyzer-series.html>.

Roche Diagnostics. 2016b. Cobas® 8000 Modular Analyzer series. Home > Products > Core Laboratory > Analyzers > Cobas® 8000 Modular Analyzer series > Explore. Viitattu 26.2.2016 <https://usdiagnostics.roche.com/en/instrument/cobas-8000-analyzer-series.html>.

Roche Diagnostics. 2016c. Free PSA. Method sheet. Saatavilla: <https://dialog.roche.com/web/fi/elabdoc>.

Roche Diagnostics. 2016d. Total PSA. Method sheet. Saatavilla: <https://dialog.roche.com/web/fi/elabdoc>.

Roche Diagnostics. 2016e. Free PSA Calset. Method sheet. Saatavilla: <https://dialog.roche.com/web/fi/elabdoc>.

Roddam, A.; Duffy, M.; Hamdy, F.; Ward, A.; Patnick, J.; Price, C.; Rimmer, J. Sturgeon, C.; White, P. & Allen, N. 2005. Use of prostate-specific antigen (PSA) isoforms for the detection of prostate cancer in men with a PSA level of 2-10 ng/mL: systematic review and meta-analysis. European Urology. Vol. 48, 386–399.

Saarelma, O. 2015. Eturauhassyöpä. Duodecim. Terveysportti. Viitattu 22.10.2015 http://www.terveyskirjasto.fi/terveyskirjasto/tk.koti?p_artikkeli=dlk00210.

Saari, L. 2010. Kemiallisten menetelmien validointi ja mittausepävarmuus. Kemian ja toksikologian tutkimusyksikkö. Evira. Saatavilla: http://www.evira.fi/files/attachments/fi/evira/esittely_toiminta_valvonta/laboratoriotoiminta/koulutus/leena_saari_13.10.10.pdf.

Schröder, F. H.; Hugosson, J.; Roobol, M. J.; Tammela, T. L. J.; Zappa, M.; Nelen, V.; Kwiatkowski, M.; Lujan, M.; Mänttinen, L.; Lilja, H.; Denis, L. J.; Recker, F.; Paez, A.; Bangma, C. H.; Carlsson, S.; Puliti, D.; Villers, A.; Rebillard, X.; Hakama, M.; Stenman, U-H.; Kujala, P.; Taari, K.; Aus, G.; Huber, A.; van der Kwast, T. H.; van Schaik, R. H. N.; de Koning, H. J.; Moss, S. M. & Auvinen, A. 2014. Screening and prostate cancer mortality: results of the European Randomised Study of Screening for Prostate Cancer (ERSPC) at 13 years of follow-up. *Lancet*. Vol. 384, Is 9959, 2027–2035.

Seikkula, H.; Petterson, K. & Boström P. J. 2015. Missä menemme nyt? PSA ja eturauhassyövän verinäytediagnostiikka. *Duodecim*. 17/15, 1547–1552.

Stenman, U-H.; Haglund, C.; Hotakainen, K. & Roberts P. J. 2013. Prostataspesifinen antigeeni (PSA). *Syöpätaudit*. *Duodecim*. Saatavilla: <http://www.terveysportti.fi>.

Stenman, U-H. & Hotakainen, K. 2010. Syöpämerkkiaineet. Teoksessa *Laboratoriolääketiede – kliininen kemia ja hematologia*. Niemelä, O. & Pulkki, K. (toim.) 3. painos. Helsinki: Kandidaattikustannus Oy.

Stephan, C.; Klaas, M.; Müller, C.; Schorr, D.; Loening, S. & Jung, K. 2006. Interchangeability of Measurements of Total and Free Prostate-Specific Antigen in Serum with 5 Frequently Used Assay Combinations: An Update. *Clinical Chemistry*. Vol. 52, No 1, 59–64. Saatavilla: <http://www.clinchem.org/content/52/1/59.full>.

Steuber, T.; Nurmikko, P.; Haese, A.; Petterson, K.; Graefen, M.; Hammerer, P.; Huland, H. & Lilja, H. 2002. Discrimination of benign from malignant prostatic disease by selective measurements of single chain, intact free prostate specific antigen. *The journal of urology*. Vol 168, Is 5, 1917–1922.

Tammela, T. 2013a. Eturauhasen liikakasvu. Lääkäriin käsikirja. *Duodecim*. Saatavilla: <http://www.terveysportti.fi>.

Tammela, T. 2013b. Eturauhassyöpä. Lääkäriin käsikirja. *Duodecim*. Saatavilla: <http://www.terveysportti.fi>.

Tammela, T.; Lukkarinen, O. & Stenman, U-H. 2000. Prostataspesifisen antigeenin merkitys eturauhasen syövän ja hyvänlaatuisen liikakasvun diagnostiikassa ja seurannassa. *Suomen lääkärilehti*. 31/2000, 2979–2982.

Terveyskirjasto. 2016. Proteaasi. Lääketieteen sanasto. *Duodecim*. Viitattu 2.5.2016 http://www.terveyskirjasto.fi/terveyskirjasto/tk.koti?p_artikkeli=Ilt02764.

Tiikkainen, U.; Rauvo, P.; Leinonen, J. & Laine, M. Could z-cores replace the target limits in EQA schemes? *Labquality*. Saatavilla: https://www.eurachem.org/images/stories/workshops/2014_10_PT/pdf/ECHPT2014_P67_Tiikkainen_Rauvo_Leinonen_Laine.pdf.

Tilastokeskus. 2016a. Regressiokerroin. Etusivu > Tietoa tilastoista > Käsitteet ja määritelmät > Regressiokerroin. Viitattu 27.2.2016 <http://www.stat.fi/meta/kas/regressiokerroi.html>.

Tilastokeskus. 2016b. Variaatiokerroin. Etusivu > Tietoa tilastoista > Käsitteet ja määritelmät > Variaatiokerroin. Viitattu 2.5.2016 <http://www.stat.fi/meta/kas/variaatiokerroi.html>.

Tutkimuseettinen neuvottelukunta. 2012. Hyvä tieteellinen käytäntö ja sen loukkausepäilyjen käsitteleminen Suomessa. Saatavilla: http://www.tenk.fi/sites/tenk.fi/files/HTK_ohje_2012.pdf.

Tykslab. 2015. Prostataspesifinen antigeeni, vapaa ja kokonais. Ohjekirja > P-PSA. Viitattu 31.1.2016 <http://webohjekirja.mylabservices.fi/TYKS/index.php?test=4869>.

Uhari, M. & Nieminen, P. 2012. Epidemiologia ja biostatiikka. Uusittu 7. painos. Duodecim.

Vartiainen, E.; Karjalainen, S.; Pylkkänen, L.; Vertio, H.; Jalava K.; Järvisalo, J.; Koivuranta-Vaara, P.; Malila, N.; Nurminen, R.; Pajari, A-M.; Reijula, K.; Remes, K.; Rosenberg-Ryhänen, L.; Tammela, T. & Virtamo, J. 2014. Syövän ehkäisyn, varhaisen toteamisen ja kuntoutumisen tuen kehittäminen vuosina 2014–2025. Kansallisen syöpäsuunnitelman II osa. THL. Juvenes Print – Suomen Yliopistopaino Oy. Tampere. Saatavilla: http://www.julkari.fi/bitstream/handle/10024/116179/URN_ISBN_978-952-302-185-3.pdf.

Vickers, A. & Lilja, H. 2012. PSA is dead, Long live PSA. European Urology. Vol. 61, 467–470. Saatavilla: [http://www.europeanurology.com/article/S0302-2838\(11\)01339-X/pdf/psa-is-dead-long-live-psa](http://www.europeanurology.com/article/S0302-2838(11)01339-X/pdf/psa-is-dead-long-live-psa).

Vilka, H. 2014. Tutki ja mittaa – määrällisen tutkimuksen perusteet. Helsinki: Tammi. Saatavilla: <http://hanna.vilka.fi/wp-content/uploads/2014/02/Tutki-ja-mittaa.pdf>.

Westgard QC. 2014. Desirable biological variation database specifications. Home > Clia & quality > Quality requirements > desirable biological variation database specifications. Viitattu 27.3.2016 <http://www.westgard.com/biodatabase1.htm>.

Validointisuunnitelma

PSA- ja PSA-V-tutkimusten validointisuunnitelma Cobas e 411 -analysaattorilla

PSA-tutkimusten validointi on suunniteltu toteutettavaksi joulukuun 2015 puoleessa välissä. Validoinnista tehdään työpäiväkirja, johon kirjataan validoinnin eteneminen ja mahdolliset poikkeamat näytteissä ja analysoinnissa.

Validoinnissa tarvittavat tarvikkeet:

- Rochen PSA ja PSA-V tutkimusten reagenssit
- Rochen PSA ja PSA-V tutkimusten kalibraattorit
- Rochen matalan ja korkean tason kontrollit PSA- ja PSA-V-tutkimuksille
- Plasmanäytteet 10–20 kpl Tykslabista

Ennen validointia tehtävät asiat:

- 1-2 viikkoa ennen validointia tilataan validointiin tarvittavat reagenssit ja muut tarvikkeet.
- 1-2 viikkoa ennen validointia ilmoitetaan Tykslabin yhteyshenkilöille näytteiden tarpeesta, jotta he voivat aloittaa näytteiden keräyksen.
- 1-2 viikkoa ennen validointia analysaattoriluokan varaus validointia varten

Validointia edeltävänä päivänä tehtävät asiat:

- PSA- ja PSA-V-tutkimusten lisääminen ja aktivointi analysaattorille
- PSA- ja PSA-V-tutkimusten kontrollien liuotus ja pakastus
- PSA- ja PSA-V-tutkimusten kalibrointi
- PSA- ja PSA-V-tutkimusten kontrollien ajaminen
- Tutkimusnäytteiden hakeminen Tykslabista ja niiden siirtäminen koulun pakastimeen.

Validointipäivänä tehtävät asiat:

- PSA- ja PSA-V-tutkimusten kontrollien ajaminen
- Tutkimusnäytteiden ajaminen analysaattorilla ja näytteiden rinnakkaisajot
- Saatujen tulosten kirjaus
- Työpäiväkirjan täyttö validoinnista
- Näytteet laitetaan säilytykseen koulun pakastimeen

Opinnäytetyön valmistuttua:

- Näytteiden hävitys asianmukaisesti

PSA- ja PSA-V-tutkimusten tulokset Cobas e 602 ja Cobas e 411 -analysaattoreilla

Näyte ID	Cobas e 602 PSA (µg/l)	Cobas e 602 PSA-V (µg/l)	Cobas e 411 PSA ajo 1 (µg/l)	Cobas e 411 PSA-V ajo 1 (µg/l)	Cobas e 411 PSA ajo 2 (µg/l)	Cobas e 411 PSA-V ajo 2 (µg/l)
1	3,59	1,54	3,08	0,942	3,07	0,941
2	2,14	0,492	2,1	0,352	2,07	0,356
3	4,77	1,83	4,34	1,06	4,24	1,05
4	2,5	0,756	2,73	0,74	2,76	0,75
5	6,32	1,06	6,81	1,02	6,69	1,03
6	2,55	0,305	2,62	0,295	2,64	0,3
7	3,73	1,25	3,39	0,821	3,43	0,817
8	10,19	1,02	11,06	1,05	11,29	1,08
9	7,72	0,6	8,24	0,592	8,65	0,608
10	6,58	1,96	7,07	1,96	6,98	1,98
11	4,45	0,442	4,67	0,415	4,77	0,426
12	8,86	1,82	9,79	1,82	9,82	1,77
13	4,23	1,17	4,36	1,15	4,54	1,16
14	9,44	2,08	9,32	2,15	10,62	2,21
15	7,1	0,593	7,64	0,602	8,17	0,607
16	6,64	1,77	7,68	1,74	7,91	1,73
17	2,55	0,296	2,91	0,325	2,93	0,321
18	3,24	0,81	3,7	0,867	3,79	0,878
19	5,81	0,873	6,59	0,856	6,54	0,867
20	5,64	0,293	6,01	0,309	5,95	0,314

PSA-tulosten erot Cobas e 602 ja Cobas e 411 -analysointilaitteiden välillä

Näyte-numero	Cobas e 602 PSA-tulokset (µg/l)	Cobas e 411 PSA-ajojen keskiarvo (µg/l)	Erotus (µg/l) Cobas 602 – Cobas e 411	%-ero
1	3,59	3,33	0,26	7,2
2	2,14	2,11	0,03	1,4
3	4,77	4,53	0,24	5,3
4	2,5	2,62	- 0,12	- 0,06
5	6,32	6,54	- 0,22	- 3,48
6	2,55	2,59	- 0,04	- 1,57
7	3,73	3,57	0,16	0,04
8	10,19	10,68	- 0,49	- 4,81
9	7,72	8,08	- 0,36	- 4,66
10	6,58	6,8	- 0,22	- 3,34
11	4,45	4,59	- 0,14	- 3,15
12	8,86	9,33	- 0,47	- 5,3
13	4,23	4,34	- 0,11	- 2,6
14	9,44	9,71	- 0,27	- 2,86
15	7,1	7,5	- 0,4	- 5,63
16	6,64	7,22	- 0,58	- 8,73
17	2,55	2,74	- 0,19	- 7,45
18	3,24	3,49	- 0,25	- 7,71
19	5,81	6,19	- 0,38	- 6,54
20	5,64	5,81	- 0,17	- 3,01