



Ella Tuokko, Laura Nurmiainen

PSAn verifiointi Cobas e411 analysaattorille

Metropolia Ammattikorkeakoulu

Sosiaali- ja terveysalan ammattikorkeakoulututkinto

Bioanalytiikan tutkinto-ohjelma

Opinnäytetyö

11.04.2023

Tekijä	Ella Tuokko, Laura Nurmiainen
Otsikko	PSAn verifiointi Cobas e411 analysaattorille
Sivumäärä	26 sivua
Aika	11.04.2023
Tutkinto	Sosiaali- ja terveystieteiden ammattikorkeakoulututkinto
Tutkinto-ohjelma	Bioanalytiikan tutkinto-ohjelma
Ohjaajat	Lehtori Jaana Anttila
<p>Tämän opinnäytetyön tarkoituksena oli verifioida prostataspesifisen antigeenin määrittäminen Metropolia Ammattikorkeakoulun Roche Cobas e 411 immunokemiananalysointilaitteella bioanalytiikan tutkinto-ohjelmaa varten. Verifiointi tarkoittaa toimivuuden varmentamista ja sillä varmistetaan, soveltuuko menetelmä haluttuun käyttöön. Laboratoriossa verifiointi tehdään, kun otetaan käyttöön mittausmenetelmä, joka on käytössä ja validoitu jo jossain muualla esimerkiksi diagnostisen tuotteen valmistajan toimesta.</p> <p>Prostataspesifinen antigeeni eli PSA on eturauhassolujen tuottama valkuaisaine ja sitä tuottaa eturauhasen normaalit hyvinlaatuiset sekä pahanlaatuiset solut. Veressä oleva PSA on aina peräisin eturauhasesta, sillä muiden kudosten solut eivät tuota samaa proteiinia. Prostataspesifinen antigeeni voi olla veressä vapaana tai sitoutuneena proteiineihin. PSA-pitoisuus voi kasvaa eturauhasen hyvinlaatuisen liikakasvun seurauksena, virtsatie- tai eturauhastulehduksessa, eturauhassyövässä.</p> <p>Verifiointia varten saimme referenssilaboratoriosta 27 näytettä, joko EDTA- tai litiumhepariiniplasmaa. Näytteille oli tehty PSA-tutkimus varmistetulla ja vertailukelpoisella menetelmällä. Oppilaitoksen verifiointisuunnitelmaa noudattaen näytteet analysoitiin sarjan sisäisen, sarjojen välisen ja analysointilaitteiden välisen tarkkuuden määrittämiseksi.</p> <p>Verifiointitulosten tarkasteluun käytettiin tilastollisia menetelmiä. Näiden tulosten perusteella voitiin todeta, että Cobas e411 analysointilaitteen PSA-menetelmä voidaan ottaa käyttöön Metropolian Ammattikorkeakoulussa. Potilasnäytteiden analysointia varten verifiointi tulisi kuitenkin suorittaa uudestaan.</p>	
Avainsanat	prostataspesifinen antigeeni, verifiointi

Author	Ella Tuokko, Laura Nurmiainen
Title	Verification of PSA for Cobas e411 Analyzer
Number of Pages	26 pages
Date	11. April 2023
Degree	Bachelor of Health Care
Degree Programme	Biomedical Laboratory Science
Instructors	Jaana Anttila, Senior Lecturer
<p>The purpose of this thesis was to verify the prostate specific antigen test for the Roche Cobas e411 immunochemistry analyzer. The verification was for Metropolia University of Applied Sciences for the Biomedical Laboratory Science degree program. Verification is used to evaluate whether a method is suitable for the desired use. In the laboratory, verification is done when a new measurement method is introduced. The new method needs to be in use and validated elsewhere, for example by the manufacturer of the diagnostic analyzer.</p> <p>Prostate-specific antigen, or PSA, is a prostate specific protein that is produced by normal and malignant cells of the prostate gland. PSA found in blood is always originated from the prostate gland because cells of other tissue cannot produce that same protein. Prostate-specific antigens can be found free in the blood or bound to proteins. The PSA level in blood can increase as a result of benign prostatic hyperplasia, urinary tract infection, prostatitis or prostate cancer.</p> <p>For verification we obtained 27 patient samples from a reference laboratory. The samples were either EDTA- or lithium heparin plasma. The samples were already analyzed with a verified and validated method. Following the school's verification protocol, the samples were analyzed for quantifying the within-run, between-run and intermediate precision.</p> <p>Statistical methods were used to scrutinize the results of the verification. Based on these results, it can be concluded that the PSA method of the Cobas e411 analyzer can be used for teaching purposes at Metropolia University of Applied Sciences. However, for patient sample processing the verification should be performed again.</p>	
Keywords	Prostate specific antigen, verification

Sisällys

1	Johdanto	1
2	Verifiointi ja tutkimusten laatu	1
2.1	ISO-standardit	2
2.2	Verifioinnin laatu ja sitä kuvaavat käsitteet	3
3	PSA-tutkimukset ja niiden merkitykset	4
3.1	PSA	4
3.2	Vapaa PSA	5
3.3	PSA:n mittausmenetelmä Cobas e411 -analysaattorilla	6
4	Opinnäytetyön tarkoitus, tavoitteet ja tutkimuskysymykset	8
5	Opinnäytetyön toteutus	9
5.1	Tiedonhaku	9
5.2	Verifioinnin toteutus	10
5.3	Verifioinnin parametrit	11
6	Tulokset	14
6.1	Sarjojen sisäinen toistettavuus	14
6.2	Sarjojen välinen toistettavuus	15
6.3	Tulostason vertailu potilasnäytteillä	16
7	Pohdinta	17
7.1	Tulosten tarkastelu	17
7.1.1	Sarjojen sisäinen toistettavuus	17
7.1.2	Sarjojen välinen toistettavuus	18
7.1.3	Tulostason vertailu potilasnäytteillä	18
7.2	Tutkimuksen eettisyys ja luotettavuus	19
7.3	Virhelähteet ja niiden vaikutus tulosten laatuun	20
7.4	Johtopäätökset	21
7.5	Ammatillinen kasvu	22
	Lähteet	24

1 Johdanto

Verifiointi kuuluu oleellisena osana laboratorion toimintaan ja sen avulla pyritään varmistamaan, että uusi käyttöönotettava menetelmä täyttää sille asetetut vaatimukset ja standardit. Lisäksi pyritään varmistumaan siitä, että analysaattorin tulokset ovat luotettavia, toistettavia sekä vertailukelpoisia. (Hägg 2016: 6–8.) Opinnäytetyön tarkoituksena oli verifioida Cobas e411 -analysaattorille plasman prostataspesifinen antigeeni eli PSA. Verifiointia suorittaessa noudatettiin SFS-EN ISO 15189 2012 –standardia. Standardit ovat esimerkiksi käytäntöjä ja vaatimustasoja määritteleviä asiakirjoja, ja niillä on keskeinen merkitys otettaessa käyttöön uutta tutkimusmenetelmää. (Roelofsen-de Beer ym. 2019.)

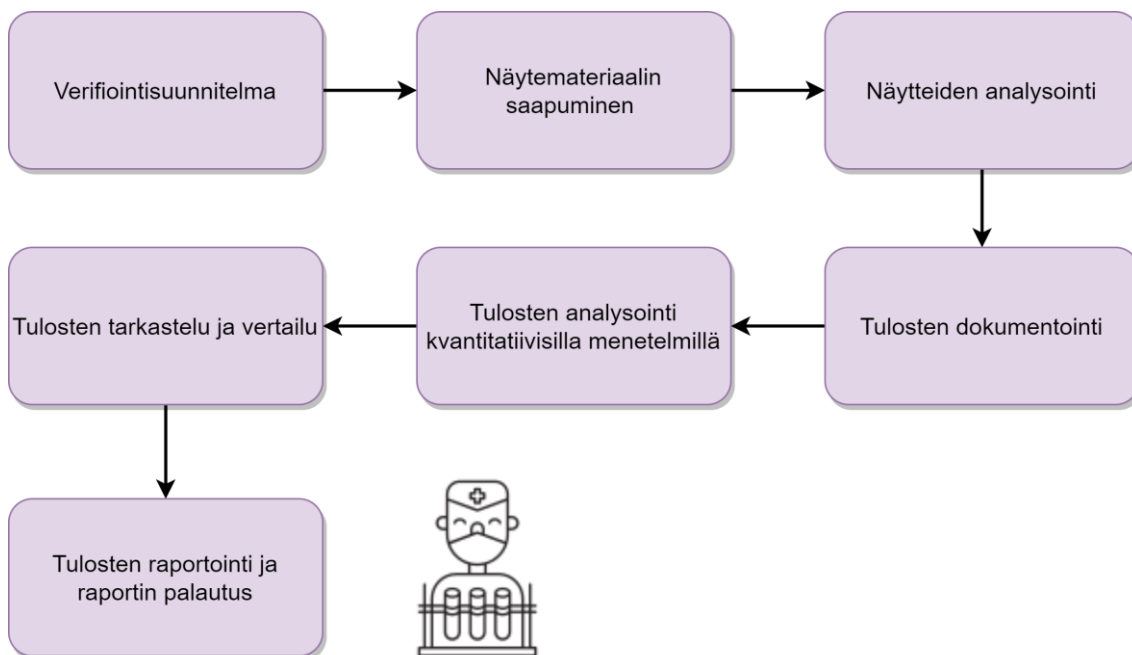
Prostataspesifinen antigeeni on eturauhassolujen tuottama valkuaisaine ja sitä tuottaa sekä eturauhasen normaalit hyvänlaatuiset että pahanlaatuiset solut. Veressä oleva PSA on aina peräisin eturauhasesta, sillä muiden kudosten solut eivät tuota samaa proteiinia. Veressä prostataspesifinen antigeeni voi olla vapaana tai sitoutuneena proteiineihin. (Prostataspesifinen antigeeni, plasmasta 2022; Prostate-Specific Antigen (PSA) Test 2022; Tunturi 2021.)

Tämä opinnäytetyö tehtiin Metropolia Ammattikorkeakoululle, koska Myllypuron kampukselle oli hankittu uusi kemian analysaattori, Roche Diagnosticsin Cobas e411. Opinnäytetyössä keskityttiin verifiointiprosessin kuvaamiseen sekä analysoimaan verifiointin testituloksia kvantitatiivisin tutkimusmenetelmin. Opinnäytetyö toteutettiin kvantitatiivisen tutkimusmenetelmän avulla, relevantteihin kirjallisiin lähteisiin pohjaten.

2 Verifiointi ja tutkimusten laatu

Verifiointi tarkoittaa toimivuuden varmentamista (Validointi ja verifiointi 2022). Verifiointilla varmistetaan, että ennalta määritellyt standardit täytetään objektiiviseen näyttöön perustuen. Laboratoriossa tehdään verifiointi, kun otetaan käyttöön mittausmenetelmää, joka on käytössä ja validoitu jo jossain muualla, esimerkiksi diagnostisen tuotteen valmistajan toimesta. Verifiointi tulee tehdä myös, jos laboratoriossa tehdään muutoksia esimerkiksi tietojärjestelmissä, laitteissa, analyysimenetelmässä tai näytteen käsittelyssä aiemmin validoituun menetelmään. Verifiointi koostuu suunnitelman laatimisesta, verifiointin toteutusvaiheesta ja raportointivaiheesta. (Hägg 2016: 7–15.) Alapuolella

olevassa kuviossa (kuvio 1.) on esitetty verifiointin prosessi pääpiirteissään. Tätä samaa prosessia noudatettiin tässä työssä.



Kuvio 1. Verifiointin prosessi

Käytännössä verifiointi voidaan suorittaa ottamalla esimerkiksi 20 potilasnäytettä useammalta eri mittausalueelta ja analysoimalla ne verifioitavalla analysaattorilla. Tuloksia verrataan laboratoriossa käytössä olevan menetelmän tulostasoon. (Validointi ja verifiointi 2022.)

2.1 ISO-standardit

Standardit ovat asiakirjoja, jotka sisältävät ohjeita, suosituksia ja käytäntöjä tietyistä aiheista. Niiden avulla laaditaan yhteisiä toimintatapoja ja niillä on keskeinen merkitys muun muassa laboratoriossa, kun otetaan käyttöön uutta tutkimusmenetelmää. Jokaisella standardilla on oma tunnuksensa, joka kertoo missä se on vahvistettu. Ne voivat olla kansallisia, eurooppalaisia tai maailmanlaajuisia. ISO-merkinnällä tarkoitetaan, että kyseinen standardi on maailmanlaajuisesti vahvistettu. ISO eli International Organization for Standardization on riippumaton, ylikansallinen toimija, joka valvoo ja kehittää standardeja. SFS eli Suomen Standardisoimisliitto on kansallinen merkintä tunnuksessa ja merkitsee sitä, että standardi on vahvistettu Suomessa. SFS on jäsen myös kansainvälisessä standardisoimisjärjestössä ISO:ssa. Tunnuksen EN-merkintä eli European Standards s.r.o. kuvaa sitä, kuinka kyseinen standardi on vahvistettu eurooppalaiseksi standardiksi. (Mitä standardi tarkoittaa? SFS ry 2022.)

Verifioinnin ja validoinnin kannalta tärkeä standardi on SFS-EN ISO 15189 2012 –standardi (Roelofsen-de Beer ym. 2019). Sitä käytetään kliinisissä sekä lääketieteellisissä laboratorioissa ja se tarjoaa puitteet laadunvalvontajärjestelmien toteuttamiselle. Laadunvalvonta on tärkeää, jotta voidaan varmistaa laboratorion tutkimusten riittävä tarkkuus. (QualityMedDev 2022.)

2.2 Verifioinnin laatu ja sitä kuvaavat käsitteet

Verifioinnin merkitys laboratorioiden laadun ja toiminnan kannalta on kriittinen. Tutkimukset on verifioitava, jotta analysointituloksiin voidaan luottaa. Verifiointi tarkoittaa toimivuuden varmentamista objektiiviseen näyttöön perustuen. Verifioinnin tulee täyttää kaikki määritellyt vaatimukset. Lisäksi verifioinnin laatua ja samalla myös sen luotettavuutta lisää se, että kaikki verifiointitoimenpiteet tulee dokumentoida. (Validointi ja verifiointi 2022.) Verifioinnin laatua kuvaavia käsitteitä on useita. Niistä keskeisimmät ovat seuraavat: toistettavuus, täsmällisyys, spesifisyys ja mittausepävarmuus (Hägg 2016: 13).

Toistettavuus kuvaa sitä, että tutkimuksen tulokset ovat toistuvia ja yhdenmukaisia, kun tutkimus tehdään samassa laboratorioissa ja samasta näytteestä lyhyen aikavälin sisällä. Tutkimuksen suorittajan tulisi olla myös sama. Tutkimuksen toistettavuutta voidaan testata sekä kvalitatiivisesti että kvantitatiivisesti. Näytteistä yleensä lasketaan keskimääräinen pitoisuus eli keskiarvo sekä keskihajonta ja suhteellinen hajonta. (Hägg 2016: 31–32.) Toistettavuuteen liittyvät parametrit on avattu tarkemmin kappaleessa 5.

Täsmällisyys kuvaa puolestaan sitä, että mitatut arvot ovat yhtäpitäviä. Täsmällisyys voidaan määrittää toistamalla kokeita. Toistettavuuskokeiden mittaustulosten keskihajonta kuvaa joko menetelmän uusittavuutta tai toistettavuutta. (Hägg 2016: 32.)

Tutkimuksen spesifisyys kuvaa sitä, että tutkimuksen menetelmän tulos antaa vasteen vain tutkittavalle analyyttille tai yhdisteelle. Menetelmä ei toisin sanoen anna siis tulosta muille vasteille (Hägg 2016: 30). Esimerkiksi PSA:ta mitatessa muiden analytyttien vaikutus ei näy mitattavissa arvoissa.

Mittausepävarmuudella kuvataan mitattavalle suurelle saatujen arvojen vaihtelua ja se on määritelty virherajojen avulla. Jokaisessa menetelmässä on epävarmuutta, joka voi liittyä muun muassa näytteenottoon, näytteiden säilyttämiseen tai muuhun analysointivaiheeseen riippumattomaan tekijään. Epävarmuutta voi myös liittyä analyysin eri vaiheisiin.

Mittausepävarmuus koostuu systemaattisesta ja satunnaisesta virheestä. Mittausepävarmuus on siis arvio rajoista, jonka sisäpuolella tuloksen tulisi olla. Tietoa tarvitaan muun muassa silloin, kun halutaan verrata eri laboratorioiden tuloksia keskenään ja halutaan arvioida, onko tiettyjen mittaustuloksien tarkkuudet riittäviä. Mittausepävarmuus tulee myös huomioida tulosten raportointivaiheessa. (Hägg 2016: 23–25; Mittausepävarmuus 2021.)

Alla olevassa taulukossa (taulukko 1.) on avattu keskeiset käsitteet tiivistetysti koskien verifiointin laatua.

Taulukko 1. Verifiointin laadun keskeiset käsitteet. (Hägg 2016: 23-32.)

Käsite	Selitys
Toistettavuus	Tutkimuksen tulokset ovat toistuvia, kun tutkimus tehdään samassa laboratoriossa ja samasta näytteestä lyhyen aikavälin sisällä.
Täsmällisyys	Kuvaa saatujen arvojen yhtäpitävyyttä.
Spesifisyys	Menetelmän tulos antaa vasteen vain tutkittavalle analyytillille tai yhdisteelle.
Mittausepävarmuus	Kuvaa mitattavalle suurelle saatujen arvojen oletettua vaihtelua. Se kuvaa mittaustulosten vaihtelua ja on määritelty virherajojen avulla.

3 PSA-tutkimukset ja niiden merkitykset

3.1 PSA

PSA on lyhenne sanoista prostataspesifinen antigeeni. Tutkimuksen yleisin käyttöaihe on eturauhassyövän hoidon jälkeinen seuranta ja prostataspesifisen antigeenin tasoa seurataan monesti eturauhassyövän diagnoosin jälkeen. Tutkimusta voidaan käyttää myös diagnostisen selvittelyn apukeinona muun muassa virtsaamisoireisilla miehillä. (Murtola&Taari 2022; Prostate-Specific Antigen (PSA) Test 2022.)

Prostataspesifinen antigeeni on eturauhassolujen tuottama valkuaisaine ja sitä tuottaa eturauhasen normaalit hyvänlaatuiset sekä pahanlaatuiset solut. Veressä oleva PSA

on aina peräisin eturauhasesta, sillä muiden kudosten solut eivät tuota samaa proteiinia. PSA sitoutuu veressä pääasiassa alfa-1-kymotrypsiiniin sekä alfa-2-makroglobuliiniin. Alfa-1-kymotrypsiini ja PSA muodostaa PSA-ACT kompleksin plasmassa ja kompleksiksi on pääasiallinen PSA:n esiintymismuoto veressä. PSA tutkimus mittaa plasmasta tämän PSA-ACT-kompleksin pitoisuutta sekä vapaata PSA:ta. (Prostataspesifinen antigeeni, plasmasta 2022; Prostate-Specific Antigen (PSA) Test 2022; Tunturi 2021.)

Prostataspesifisen antigeenin viitearvot riippuvat iästä. Normaalit viitearvot PSA tutkimukselle löytyvät alla olevasta taulukosta (taulukko 2.). Iän mukana eturauhanen yleensä kasvaa ja mitä suurempi eturauhanen on, sitä suurempi on myös plasman PSA-pitoisuus. PSA-pitoisuus voi kasvaa eturauhasen hyvänlaatuisen liikakasvun seurauksena, virtsatietulehduksessa, eturauhastulehduksessa sekä eturauhassyövässä. (Prostate-Specific Antigen (PSA) Test 2022; Tunturi 2021.) Eturauhassyövän yhteydessä plasmassa on vapaata PSA:ta keskimäärin vähemmän ja PSA-ACT-kompleksia keskimäärin enemmän kuin eturauhasen hyvänlaatuisen liikakasvun yhteydessä. PSA on siis elinspesifinen proteiini, mutta ei ole suoraan spesifinen eturauhassyöväälle. On todettu, että esimerkiksi akuutin virtsatieinfektion yhteydessä PSA-pitoisuus voi olla koholla. (Murtola&Taari 2022; Prostataspesifinen antigeeni, plasmasta 2022.)

Taulukko 2. PSA:n viitearvot (Prostataspesifinen antigeeni, plasmasta 2022).

Ikä	Viitearvo
alle 50 v	alle 2,5 µg/l
50–59 v	alle 3,5 µg/l
60–69 v	alle 4,5 µg/l
yli 69 v	alle 6,5 µg/l

3.2 Vapaa PSA

Vaikka opinnäytetyössä ei verifioitu vapaata PSA:ta, on se kuitenkin osallisena kokonais-PSA:n pitoisuudessa. Tämän takia tutkimuksen merkitys on käyty tässä työssä lyhyesti läpi.

Kuten mainittu, PSA liikkuu veressä vapaana ja sitoutuneena proteiineihin. Kun tehdään tarkempia tutkimuksia, voidaan mitata molempien osuudet. Tämä tulos ilmoitetaan PSA-suhteena. Vapaan prostataspesifisen antigeenin osuus koko PSA:sta on 5–40 %. Eturauhassyöpää sairastavilla suhde on yleensä keskimäärin 15 %. Terveillä

vastaava luku on keskimäärin 22 %. (Eturauhassyöpä 2014; Tunturi 2021.) Alla olevassa taulukossa (taulukko 3.) on tarkemmin kuvattuna eturauhassyövän todennäköisyyttä eri vapaan PSA:n osuuksilla kokonais-PSA:sta.

Taulukko 3. Vapaan PSA:n osuus ja eturauhassyövän todennäköisyys (Eturauhassyöpä 2014). Mitä pienempi on vapaan PSA:n pitoisuus kokonais-PSA-pitoisuudesta, sitä suurempi on eturauhassyövän todennäköisyys.

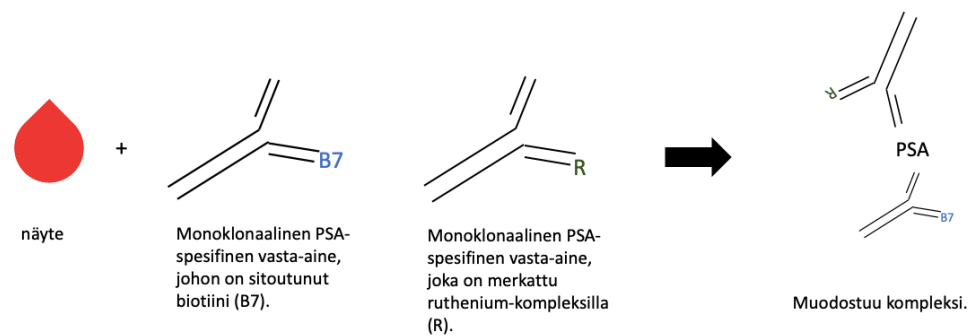
Vapaan PSA:n osuus (%) kokonais-PSA-pitoisuudesta, kun kokonais-PSA:n osuus on 4–10 µg/l	Eturauhassyövän todennäköisyys (%)
0–10	56
10–25	25
15–20	20
20–25	16
Yli 25	8

3.3 PSA:n mittausmenetelmä Cobas e411 -analysaattorilla

Opinnäytetyö toteutettiin Roche Diagnosticin valmistamalla Cobas e411 analysaattorilla. Analysaattori on täysin automatisoitu ja käyttää patentoitua elektrokemiluminesenssi-teknologiaa (ECL) immunokemiallisiin tutkimuksiin. (Cobas e411 analyzer 2022)

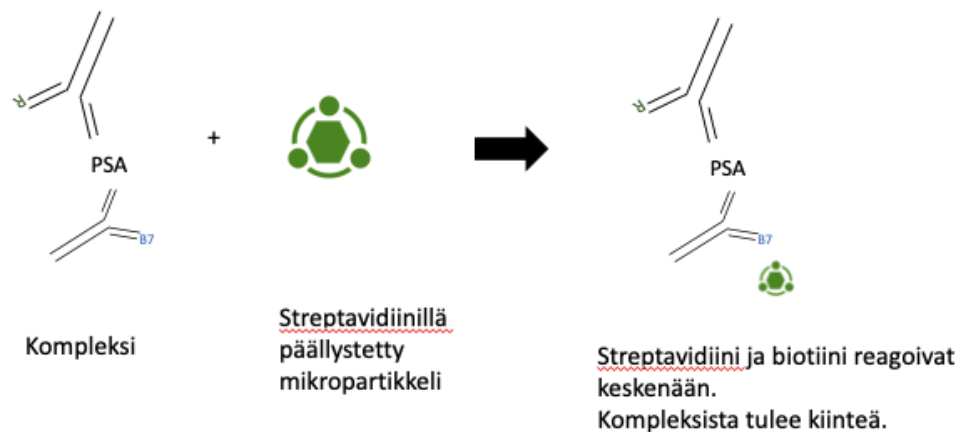
PSA-tutkimuksen analysointi kestää kyseisellä analysaattorilla noin 18 minuuttia. Tutkimus sisältää sitoutuneen PSA-ACT-kompleksin lisäksi vapaan PSA:n pitoisuuden. Analysaattori antaa tuloksen joko ng/mL tai µg/L yksiköissä. (Total PSA 2013.) PSA-ACT-kompleksia on kuvattu tarkemmin luvussa 3.1.

Veren plasman kokonais-PSA-pitoisuuden analysoinnissa tapahtuu immunokemiallinen reaktio, jossa syntyy vasta-ainekomplekseja. Ensimmäisessä vaiheessa 20 µl näytteestä eroteltua plasmaa ja kahta eri monoklonaalista PSA-spesifistä vasta-ainetta yhdistetään keskenään. Nämä yhdisteet reagoivat muodostaen kompleksin. Toiseen vasta-aineista on sitoutunut B7-vitamiinia eli biotiinia ja toinen on merkattu ruthenium-kompleksilla. (Total PSA 2013.) Alla olevassa kuvassa (kuvio 2.) on esitetty karkeasti kompleksin muodostuminen.



Kuvio 2. Ensimmäisen vaiheen kompleksin muodostuminen

Toisessa vaiheessa reaktioseokseen lisätään streptavidiinillä päällystettyjä mikropartikkeleita. Kompleksista tulee kiinteä, kun streptavidiini ja biotiini reagoivat keskenään. Tämän jälkeen reaktioseos aspiroidaan mittausyksikköön, jossa mikropartikkelit kiinnittyvät elektrodin pintaan magneettisen vetovoiman seurauksena. Loput aineet poistetaan ProCell/Procell M:n avulla. (Total PSA 2013.) Alla olevassa kuvassa (kuvio 3.) on kuvattuna kiinteän kompleksin muodostuminen reaktion toisessa vaiheessa.



Kuvio 3. Toisessa vaiheessa tapahtuva reaktio

Kun elektrodiin kytketään sähkövirta, syntyy kemiluminesenssin aiheuttamaa säteilyä, joka voidaan mitata fotometrisesti (Total PSA 2013). Kemiluminesenssi tarkoittaa kemiallisen reaktion seurauksena muodostunutta valoa (Tieteen termipankki 2014).

Tulosten tulkinta molemmissa tutkimuksissa tapahtuu kalibraatiokuvaajan avulla. Kalibrointi on suoritettu kahden pisteen kalibrointina. Jokaiselle reagenssierälle on olemassa

tietyt eräkohtaiset arvot, jotka voidaan lukea analysaattorille viivakoodin avulla. Kalibrointi tulee suorittaa aina, kun aloitetaan uuden reagenssierän käyttö analysaattorilla. Se tulee myös suorittaa 28 päivän välein, jos käytössä on sama reagenssierä tai 7 päivän välein, mikäli sama reagenssipullo on koko ajan käytössä analysaattorilla. Kalibrointi tulee tehdä myös tarpeen mukaan, jos esimerkiksi kontrollien arvot eivät ole valmistajan määrittämässä rajoissa. (Total PSA 2013.) Tulosten laatua seurataan kontrollien avulla. Cobas e411 analysaattorilla käytetään PSA-tutkimuksissa PreciControl Tumor Marker tai PreciControl Universal nimisiä kontrolleja (Total PSA 2013).

Litiumhepariini ja K2-EDTA putkiin otetut näytteet ovat soveltuvia näytemuotoja PSA-tutkimukselle laitevalmistajan ohjeen mukaan. Yleisimmin käytetään EDTA putkiin otettuja näytteitä. Näyte on myös mahdollista ottaa natriumsitraattiputkeen, mutta tällöin tulosta tulee korjata +10 %. Luotettavamman tuloksen saa, kun tutkimusta varten tarvittavan näytteen ottaa litiumhepariinia tai K2-EDTA:ta sisältämään näyteputkeen. (Prostata-spesifinen antigeeni, plasmasta 2022; Total PSA 2013.)

Tarvittava näytemuoto on plasmaa, joten näyte tulee sentrifugoida ja erotella. Jos näyte analysoidaan vuorokauden sisällä, voi näytteen lähettää kokoverenä huoneenlämmössä analysoivaan laboratorioon. Tällöin näyte sentrifugoidaan analysointipisteessä. Muulloin näytteestä erotellaan vähintään 1 ml plasmaa. Eroteltu plasma säilyy viikonlopun yli jääkaapissa ja pitempiaikaista säilytystä varten se tulee pakastaa. Pakastettuna näyte säilyy 6 kuukautta -20 °C lämpötilassa. Näytteen saa pakastaa vain kerran. (Prostata-spesifinen antigeeni, plasmasta 2022; Total PSA 2013.)

Käyttämämme näytteet olivat valmiiksi sentrifugoituja, sillä saimme ne suoraan referenssilaboratorioista. Jos näyte olisi ollut kokoverta, olisi sentrifugointinopeuden ja -ajan suhteen noudatettava putkivalmistajan ohjeita (Verinäytteet 2022).

4 Opinnäytetyön tarkoitus, tavoitteet ja tutkimuskysymykset

Opinnäytetyön tarkoituksena oli verifioida PSA tutkimus Metropolian ammattikorkeakoulun Myllypuron kampuksen Cobas e411 analysaattorille. Verifiointilla varmistetaan, että analysaattori antaa luotettavia tuloksia. Verifiointi sisälsi itse toteutusvaiheen lisäksi suunnitelman laatimisen sekä raportointivaiheen. Verifiointin jälkeen voitiin tehdä johtopäätökset siitä, voidaanko analysaattorilla analysoida PSA:ta luotettavasti.

Opinnäytetyön tavoitteena oli saada verifioitu menetelmä PSA-tutkimukselle Metropolian ammattikorkeakoulun Myllypuron kampuksen Cobas e411-analysaattorille ja saada yhtenevät tulokset referenssilaboratorion tulosten kanssa. Tavoitteena oli siis varmistaa, että analysaattori tuottaa luotettavia sekä laadukkaita tuloksia. Lisäksi henkilökohtaisina tavoitteina oli myös syventää tietoja verifiointista ja sen prosessista sekä tilastomatematiikan taitoja.

Tutkimuskysymysten avulla selkeytettiin ja rajattiin aihetta. Niiden tarkoitus oli kiteyttää, mitä halutaan tutkia ja mihin halutaan vastauksia. (Tiedelukutaito 2022.)

Tutkimuskysymyksemme olivat:

1. Vastaako analysoimamme tulokset referenssilaboratorion tuloksia?
2. Mitä tarkoittaa verifiointi?
3. Mitkä ovat verifiointin prosessin vaiheet opinnäytetyössämme?

Yksi tärkeimmistä tutkimuskysymyksistä opinnäytetyössä oli siis se, että vastaavatko meidän analysoimamme tulokset referenssilaboratorion tuloksia. Jos tulokset vastaavat toisiaan voidaan todeta, että saamamme tulokset ovat luotettavia ja analysaattorin verifiointi on onnistunut.

Se, mitä verifiointi tarkoittaa ja miten olemme verifiointin toteuttaneet, olivat myös tärkeässä osassa opinnäytetyötä. Koska verifiointi oli isossa osassa opinnäytetyötämme, oli erityisen tärkeää ymmärtää sen merkitys. Luotettavaan verifiointiin kuuluu taas verifiointiprosessin kuvaaminen.

5 Opinnäytetyön toteutus

5.1 Tiedonhaku

Tietoa ja teoriaa opinnäytetyön tekemiseen etsittiin monista eri lähteistä. Tietoa etsittiin kirjallisuudesta, artikkeleista, verkkosivustoilta sekä erilaisista tietokannoista, kuten PubMed ja Google Scholar. Yleisimpiä hakusanoja teorian etsimisessä olivat verifiointi, ISO-standardi, PSA, ECL-teknologia sekä erilaiset tilastomatematiikan termit. Aineistoa

etsittiin muun muassa lähdetietokannoista. Erilaiset tietokannat ovat luotettavia teoriatiedon lähteitä, sillä niiden sisältämät artikkelit ja kirjallisuus sisältävät valikoitua asiantuntijatietoa ja ne ovat myös vertaisarvioituja. Opinnäytetyöhön pyrittiin valitsemaan mahdollisimman luotettavia lähteitä ja käyttämään myös kirjallisuutta apuna. Käytimme paljon myös suoraan laitevalmistajan ohjeista saatua informaatiota, sillä siitä saatu tieto oli olennaista työn aiheen ja toteutuksen kannalta. Opinnäytetyöhön valittiin myös vertaisarvioituja artikkeleita tietokannoista, sillä ne lisäävät lähteiden luotettavuutta.

5.2 Verifiointin toteutus

Vertailunäytteet opinnäytetyötämme varten saimme ulkopuoliselta taholta. Saimme referenssilaboratoriolta 27 näytettä, jotka olivat joko EDTA- tai litiumhepariiniplasmaa. Näille näytteille oli tehty PSA-tutkimus varmistetulla ja vertailukelpoisella menetelmällä. Näytteiden analysointi suoritettiin mahdollisimman pian niiden koululle saapumisen jälkeen. Näytteet saapuivat viikon 3 lopussa ja analysointi aloitettiin viikolla 6. Näytteet säilytettiin pakastimessa -20 °C ennen analysointia. Käytimme myös kontrolleja verifiointinäytteinä. Kontrolleina oli käytössä PreciControl Universal 1 ja 2.

Verifiointin toteuttamisessa noudatimme verifiointisuunnitelmaa. Saimme verifiointisuunnitelman pohjan Metropolian ammattikorkeakoululta. Verifiointin suunnitelma, tulosdata sekä niihin liittyvät laskelmat, kaaviot ja kuviot säilytetään paperisena ja sähköisenä bioanalytiikan tutkinnon määrittelemissä paikoissa.

Metropolian ammattikorkeakoululta saatu suunnitelma sisälsi verifiointin aikataulun, menetelmän, käytetyt reagenssit, vakiot, kontrollit, näytetyypit, tiedon näytteiden säilyttämisestä ennen analysointia sekä verifioitavat parametrit. Suunnitelman liitteeksi lisättiin kaikki verifiointissa saatu tulosdata sekä niihin liittyvät laskelmat, kaaviot ja kuviot. Liitteeksi lisättiin myös näytteiden säilytyksessä sekä ajoissa huomioitavat asiat.

Verifiointin tarkoituksena oli saada varmuus siihen, että Metropolian ammattikorkeakoulun opetuskäytössä oleva Cobas e411 analysaattori antaa luotettavia tuloksia. Verifiointin suorittamiseksi oli määritettävä erilaisia parametreja. Määritettävät parametrit olivat sarjan sisäinen toistuvuus, sarjojen välinen toistuvuus sekä analysaattoreiden välinen tarkkuus.

Kun mitattiin sarjojen sisäistä toistuvuutta, analysoitiin näytteitä kolmesta eri PSA-tasosta. Näytteet analysoitiin matalalta, normaalilta ja korkealta tasolta. Näitä näytteitä

analysoitiin 10 kertaa peräkkäin. Näytteiden tuloksista laskettiin keskiarvo, keskihajonta sekä variaatiokerroin ja niitä verrattiin laitevalmistajan ilmoittamaan tulostasoon.

Tuloksissa voi olla variaatiota päivästä riippuen. Toisin sanoen erilaista tulostasoa voi mahdollisesti tulla, vaikka kyseessä olisikin sama näyte. Variaatio on tärkeää selvittää ja se tehtiin tässä tapauksella kontrollinäytteellä sekä poolinäytteellä. Variaation selvittäminen on tulosten oikeellisuuden kannalta tärkeää ja sen sallimisrajat määritetään etukäteen menetelmästä ja laitteesta riippuen. (Helenius 2021.) Tässä opinnäytetyössä käytettiin Labqualityn ulkoisen laadunarviointikierrosten vaihteluväliä sekä laitevalmistajan ilmoittamaa tulostason vaihtelua.

Kun mitattiin sarjojen välistä toistuvuutta, analysoitiin kontrollinäytettä sekä poolinäytettä 10 peräkkäisenä päivänä. Peräkkäiset päivät eivät ihan toteutuneet, sillä kampus oli suljettu sunnuntaina. Näytteet analysoitiin siis maanantaista lauantaihin ja seuraavalla viikolla maanantaista torstaihin. Näytteiden tuloksista laskettiin keskiarvo, keskihajonta sekä variaatiokerroin ja verrattiin niitä Labqualityn ulkoisen laadunarviointikierroksen vaihteluväliin. Labquality tarjoaa itsenäistä, puolueetonta ja riippumatonta laadunarviointia. Yritys pyrkii varmistamaan ulkoisen laadunarvioinnin objektiivisuutta ja riippumattomuutta esimerkiksi toimimalla tasapuolisesti ja avoimesti kaikkien laite- ja reagenssivalmistajien kesken (Ulkoinen laadunarviointi 2023). Myös työssä käytetyn Metropolian verifiointisuunnitelma edellyttää Labqualityn vaihteluvälien käyttämistä vertailukohtana.

Analysaattoreiden välinen tarkkuus suoritettiin analysoimalla 20 potilasnäytettä ja vertaamalla tuloksia vertailukelpoisen analyysointilaboratorion tuloksiin. Näistä tuloksista laskettiin niiden eroprosentti sekä muodostettiin regressiosuora. Eroprosenttia verrattiin Labqualityn ulkoisen laadunarvioinnin tavoiteväliin. Tulosten analysoinnissa käytimme pääasiassa Microsoftin Excel -taulukkolaskentaohjelmistoa.

5.3 Verifiointin parametrit

Opinnäytetyö oli kvantitatiivinen eli määrällinen tutkimus. Kvantitatiivisessa tutkimuksessa vastataan yleensä kysymyksiin mikä, missä, kuinka usein ja kuinka paljon. Siinä käytetään myös hyväksi numeerisia tuloksia. (Heikkilä 2014: 28). Aineistoa analysoitiin

tilastollisilla menetelmillä, joiden tarkoitus oli tiivistää saadut tulokset informaatiota sisältäviksi kuviksi, tunnusluvuiksi ja arvoiksi. Tässä opinnäytetyössä käytetyt parametrit olivat Metropolian Ammattikorkeakoulun määrittämien vaatimusten mukaiset. Alla olevassa taulukossa (taulukko 4.) on listattuna tässä opinnäytetyössä käytetyt parametrit ja niiden merkitys. Näitä parametreja käytetään hyödyksi analysoitaessa sarjan sisäistä toistuvuutta, sarjojen välistä toistuvuutta sekä analysaattoreiden välistä tarkkuutta.

Analysaattorien välisen tarkkuuden arvioinnin apuna käytettiin regressioanalyysiä ja arvioinnin helpottamiseksi muodostettiin regressiosuora. Regressiosuora kuvaa muuttujien välisen yhteyden voimakkuutta. Regressiosuoran avulla voidaan selvittää, onko muuttujien välillä riippuvuutta eli korrelaatiota. (Regressioanalyysi 2022.)

Korrelaatiokertoimenä käytimme Pearsonin korrelaatiokerrointa. Pearsonin korrelaatiokerroin kuvaa kahden muuttujan korrelaatiota eli riippuvuutta välillä -1 ja 1. Kun korrelaatiokerroin on 0, muuttujien välillä ei ole lineaarista riippuvuutta. Kun arvo on +1 vallitsee muuttujien välille täydellinen positiivinen riippuvuus ja kun se on -1, niin muuttujien välillä vallitsee vastaavasti täydellinen negatiivinen riippuvuus. Positiivinen riippuvuus tarkoittaa sitä, että muuttujien muutokset tapahtuvat samaan suuntaan nousevalla suoralla. Eli kun x:n arvot kasvaa, kasvaa samalla myös y:n arvot. Negatiivisessa riippuvuudessa muuttujien muutokset tapahtuvat eri suuntiin. Jos pisteet sijaitsevat samalla suoralla, riippuvuus on täydellistä. (Johdatus tilastotieteeseen 2022; Korrelaatio ja riippuvuusluvut 2004.)

Saatuja parametrien arvoja verrattiin erilaisiin tulostasoihin. Sarjan sisäisiä tuloksia verrattiin laitevalmistajan ilmoittamaan tulostasoon ja sarjojen välisiä tuloksia verrattiin Labqualityn ulkoisen laadunarviointikierroksen vaihteluväliin. Analysaattoreiden välisistä tuloksista saatua eroprosenttia verrattiin Labqualityn ulkoisen laadunarvioinnin tavoiteväliin. Labqualityn ulkoinen laadunarviointi on objektiivinen ja riippumaton apuväline takaamaan tulosten laatua (Ulkoinen laadunarviointi 2023).

Taulukko 4. Verifioidin parametrit.

Tilastomatematiikan termi	Selitys
Keskiarvo	$\bar{y} = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n y_i$ <p>Keskiarvolla tarkoitetaan yleensä aritmeettista keskiarvoa. Se saadaan jakamalla havaintoarvojen summa havaintojen määrällä. (Heikkilä 2014: 83.)</p>
Vaihteluväli	Ilmoittaa, millä välillä havainnot vaihtelevat eli se kertoo pienimmän ja suurimman havaintoarvon. Vaihteluvälin pituus on suurimman ja pienimmän havainnon erotus. (Heikkilä 2014: 85.)
Keskihajonta	$s = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (y_i - \bar{y})^2}{n - 1}}$ <p>Kuvaa sitä, kuinka hajallaan arvot ovat keskiarvon ympärillä. Keskiarvosta huomattavasti poikkeavat arvot kasvattavat keskihajontaa. (Tietoa tilastoista 2022.)</p>
Variaatiokerroin	$CV = \frac{s}{\bar{y}}$ <p>Kuvaa keskiarvoon suhteutettua hajontaa, jossa keskiarvon vaikutus hajontaan skaalataan pois (Tietoa tilastoista 2022).</p>
Lineaarinen regressio (regressioanalyysi)	Regressioanalyysin avulla voidaan tutkia yhden tai useamman selittävän muuttujan vaikutusta selitettävään muuttujaan. Tulosten avulla voidaan selvittää mikä on yksittäisen selittävän muuttujan vaikutus (Anttila, Mikko: 2003.)
Regressiosuora	Regressiosuora kuvaa muuttujien välisen yhteyden voimakkuutta (Regressioanalyysi 2022).
Oikeellisuus	Tarkoittaa useiden toistojen tuloksena saatujen suureen mitattujen arvojen keskiarvon ja suureen vertailuarvon yhtäpitävyyttä. Oikeellisuutta voidaan arvioida vertaamalla verifioitavaa menetelmää yleisesti hyväksyttyä referenssimenetelmää vastaan (Hägg 2016: 27.)
Eroprosentti	Eroprosentti kuvaa sitä, montako prosenttia muutos on tavoitteesta. Sen voi laskea siten, että lasketaan erotus ja jaetaan se tavoitteella. (Eroprosentin laskeminen 2022.)

6 Tulokset

Näytteiden analysointi sujui suunnitellusti. Sarjojen välisessä toistettavuudessa ilmeni pieniä ongelmia analyysiin käytetyn reagenssin loppumisen takia ja sitä analysoitiin 8 päivää 10 päivän sijaan. Ennen analysoinnin aloittamista kalibroimme uuden reagenssin laitteelle. Käytimme laitevalmistajan Total PSA Cal Set II -vakiota. Hyväksytyin vakiointin jälkeen analysoimme kontrollit. Kontrollien pakkausselosteesta löytyi eräkohtainen tieto kontrollien rajoista ja vertasimme saatuja tuloksia näihin. Analysoimamme kontrollit menivät näiden rajojen sisäpuolelle. Kontrollien tulokset ja rajat löytyvät alla olevasta taulukosta (taulukko 5.) Käytimme PreciControl Universal 1 ja 2 kontrolleina.

Taulukko 5. Kontrollien tulokset.

Kontrolli	Kontrollin rajat	Tulos
PreciControl Universal 1	0,77–1,19 ng/ml	0,832 ng/ml
PreciControl Universal 2	32,9–50,3 ng/ml	39,21 ng/ml

6.1 Sarjojen sisäinen toistettavuus

Sarjan sisäisessä toistettavuudessa näytteitä analysoitiin kolmesta eri tasosta. Toistettavuuden mittaamiseen valittiin näytteet matalalta (A), keskitasolta (B) ja korkealta tasolta (C). Näytteet analysoitiin 10 kertaa peräkkäin. Sarjan sisäisen toistettavuuden tulokset ovat alla olevassa taulukossa (taulukko 6.).

Taulukko 6. Mitattujen näytteiden A, B ja C sarjojen tulokset. Kullekin näytteelle tehtiin 10 mitausta. Tulokset ovat yksikössä ng/ml.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
A	0,54	0,53	0,53	0,52	0,53	0,52	0,56	0,56	0,56	0,57
B	4,81	4,84	4,89	4,86	4,87	4,93	5,14	5,09	5,13	5,27
C	26,58	27,35	27,22	23,67	26,48	26,98	27,7	28,62	27,29	29,61

Näytteessä C neljäs analysointi toistettiin uudelleen, koska analysaattori ei saanut näytettä pipetoitua.

Näistä tuloksista laskettiin keskiarvo, keskihajonta sekä variaatiokerroin. Lasketut tulokset ovat alla olevassa taulukossa (taulukko 7.).

Taulukko 7. Sarjan sisäisistä toistettavuuksista lasketut parametrit.

	Näyte A	Näyte B	Näyte C
Keskiarvo (ng/ml)	0,542	4,98	27,15
Keskihajonta (ng/ml)	0,019	0,160	1,545
Variaatiokerroin (%)	3,46	3,21	5,69

6.2 Sarjojen välinen toistettavuus

Sarjojen välistä toistettavuutta mitattaessa analysoitiin kolmea eri näytettä 10 peräkkäisenä päivänä. Reagenssin loppumisen takia saimme näistä kymmenestä päivästä vain 8 päivän ajalta näytteet analysoitua. Analysoinnin tuloksista aiemmin luvussa 5.2. kuvatut tilastolliset tunnusluvut. Tulokset sekä tuloksista lasketut tunnusluvut ovat alla olevassa taulukossa (taulukko 8.).

Taulukko 8. Sarjojen välisten toistettavuuksien tulokset sekä niistä lasketut tunnusluvut. Tulokset ovat yksikössä ng/ml.

Päivä	Kontrolli 1	Kontrolli 2	Poolinäyte
1	0,811	39,21	0,138
2	0,832	34,39	0,118
3	0,909	36,15	0,134
4	0,862	35,86	0,131
5	0,901	38,58	0,133
6	0,902	38,24	0,138
7	0,811	37,96	0,134
8	0,892	37,75	0,136
Keskiarvo (ng/ml)	0,87	37,27	0,13
Keskihajonta (ng/ml)	0,04	1,63	0,01
Variaatiokerroin %	5%	4%	5%

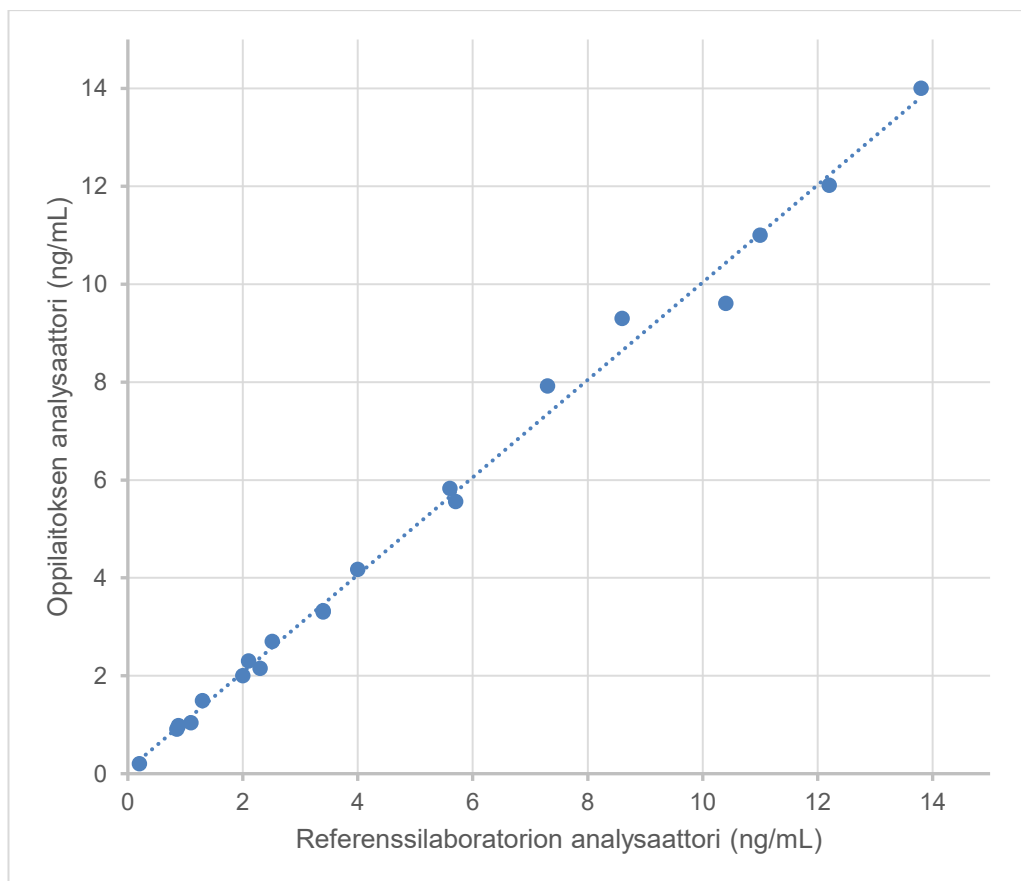
6.3 Tulostason vertailu potilasnäytteillä

Analysaattoreiden välinen tarkkuus suoritettiin analysoimalla 20 potilasnäytettä. Näytteitä oli useammalta eri tasolta. Alla olevassa taulukossa (taulukko 9.) on saadut tulokset. Samassa taulukossa on myös vertailulaitteen tulokset ja siihen on laskettu laitteiden mittaamien tuloksien eroprosentti.

Taulukko 9. Potilasnäytteiden tulokset ja eroprosentti vertailulaitteen tuloksiin nähden.

Näyte	Vertailulaite (ng/ml)	Koulun laite (ng/ml)	Ero-%
1	2,1	2,3	-9,52 %
2	0,88	0,98	-11,36 %
3	1,3	1,49	-14,62 %
4	7,3	7,92	-8,49 %
5	10,4	9,61	7,60 %
6	3,4	3,3	2,94 %
7	12,2	12,02	1,4 %
8	13,8	14	-1,45 %
9	11	11	0,00 %
10	5,7	5,56	2,46 %
11	0,85	0,91	-7,06 %
12	4	4,17	-4,25 %
13	3,4	3,33	2,06 %
14	5,6	5,83	-4,11 %

Potilasvertailunäytteistä muodostettiin myös regressiosuora. Regressiosuora kuvasi muuttujien välisen yhteyden voimakkuutta (Regressioanalyysi 2022). Tämän regressiosuoran avulla voitiin selvittää, oliko muuttujien eli tässä tapauksessa koulun tulosten ja vertailulaitteen tulosten välillä riippuvuutta eli korrelaatiota. Korrelaatiokertoimeksi saatiin 0,99736693 eli pyöristettynä 0,997. Regressiosuora on esitetty alapuolella. (Kuvio 4.)



Kuvio 4. Regressiosuora analysaattorien välisistä mittaustuloksista.

7 Pohdinta

7.1 Tulosten tarkastelu

Tuloksia tarkasteltiin vertailemalla niitä eri tulostasoihin ja tavoiteväleihin. Seuraavissa kappaleissa on erikseen tarkasteltu sarjojen sisäinen toistettavuus, sarjojen välinen toistettavuus sekä tulostason vertailu potilasnäytteillä.

7.1.1 Sarjojen sisäinen toistettavuus

Tulostasoa verrattiin sarjojen sisäisessä toistettavuudessa laitevalmistajan ilmoittamaan tulostasoon eli vertasimme variaatiokerrointa laitevalmistajan ilmoittamiin variaatiokertoimiin vastaavilla pitoisuuksilla. Näyte A oli matalaa tasoa ja sille tasolle laitevalmistajan ilmoittama variaatiokerroin oli 2,4 %. Näyte B oli keskitasoa ja sille ilmoitettu variaatiokerroin oli 2,9 %. Näyte C oli korkea ja sille ilmoitettu kerroin oli puolestaan 3,8 %. (Total PSA 2013.)

Saimme näytteelle A variaatiokertoimeksi 3,46 %, näytteelle B kertoimeksi 3,21 % ja näytteelle C variaatiokertoimeksi 5,69 %. Kaikki näistä tulokset ovat hieman korkeampia kuin laitevalmistajan ilmoittama variaatiokerroin.

7.1.2 Sarjojen välinen toistettavuus

Sarjojen välisessä toistettavuudessa tuloksia verrattiin Labqualityn ulkoisen laadunarviointikierroksen vaihteluväliin. Tämä vaihteluväli Labqualitylla on 15 %. (Sneck 2023.)

Saimme variaatiokertoimiksi sarjojen välisissä toistettavuuksissa 5 % tasokontrollille 1,4 % 2. tasokontrollille ja 5 % poolinäytteelle. Näistä tuloksista kaikki Labqualityn vaihteluvälin sisällä.

Tarkoituksena oli ajaa 10 peräkkäisenä päivänä, mutta Metropolian puolesta oli tilattu reagenssia liian vähän ja tarvittavaa reagenssia riitti meillä 8 päivään. Variaatiokertoimet on siis laskettu 8 peräkkäisen päivän analysoinneista.

7.1.3 Tulostason vertailu potilasnäytteillä

Tulostason vertailussa saatua eroprosenttia verrattiin Labqualityn ulkoisen laadunarvioinnin tavoiteväliin. Tämä tavoiteväli on potilasnäytteiden vertailussa +/- 15 % (Sneck 2023).

Suurin eroprosentti oli näytteessä 3, joka oli -14,62 % eli melkein 15 % pienempi kuin vertailunäytteen tulos. Tämä tulos on kuitenkin vielä Labqualityn ulkoisen laadunarvioinnin tavoitevälien sisäpuolella. Koska kaikki muut eroprosentit olivat tätä pienempiä, olivat kaikki muutkin 20 näytettä ulkoisen laadunarvioinnin tavoitevälien sisäpuolella.

Vertailulaitteen ja koulun laitteen välillä oli myös voimakas riippuvuus, sillä korrelaatiokerroin oli 0,997. Koska korrelaatiokerroin on nollan yläpuolella, on kyseessä positiivinen riippuvuus. Positiivista riippuvuutta kuvaa myös regressiosuora. Muuttujien muutokset tapahtuivat samaan suuntaan nousevalla suoralla. (Korrelaatio ja riippuvuusluvut 2004.)

7.2 Tutkimuksen eettisyys ja luotettavuus

Validiteetti eli pätevyys kuvaa, kuinka hyvin on onnistuttu mittaamaan sitä mitä pitikin mitata. Validiteetissa on kyse siitä, että systemaattiset virheet puuttuvat, tutkimus on toteutettu ennalta asetettujen tavoitteiden mukaisesti sekä tutkimuksesta tehdyt johtopäätökset ovat oikeita ja ne vastaavat tutkimuskysymyksiin. Luotettava tutkimus antaa tarkkoja, ei sattumanvaraisia tuloksia ja on toistettavissa samanlaisin tuloksin. Jotta tulokset ovat luotettavia on varmistuttava siitä, että otos on tarpeeksi suuri ja edustava. Tiedonkäsittely, tulosten syöttäminen sekä käsittely tulee myös tehdä huolellisesti ja virheettömästi (Heikkilä 2014: 27–28.) Verifiointilla varmistetaan analysointien toimivuus ja menetelmän luotettavuus, ja se on tärkeä osa laboratoriotyöskentelyn laadunhallintaa. Verifiointin onnistumista voidaan tarkastella validiteetin ja reliabiliteetin avulla.

Tutkimuksen luotettavuutta edesauttaa moni eri tekijä. Selkeästi ja tarkkaan rajattu tutkimusongelma, hyvä tutkimussuunnitelma sekä edustava ja tarpeeksi suuri otos näytteitä lisää tutkimuksen luotettavuutta. Lisäksi tilastollisten menetelmien hallinta sekä selkeä ja objektiivinen raportti edesauttaa luotettavuutta (Heikkilä 2014:28.) Näytteiden laatu vaikuttaa tutkimustulosten luotettavuuteen, ja ne tulisi olla tarkistettu HIL-määrityksen avulla, joka auttaa poissulkemaan analyysia häiritseviä tekijöitä. HIL-määrityksen eli hemolyysi- ikteerisyys- ja lipemaiindeksin avulla voidaan mitata näytteistä hemoglobiini-, bilirubiini- ja triglyseridipitoisuudet. (Niemelä O. ja Pulkki K. 2010.)

Verifioitavien näytteiden HIL-indeksejä ei laskettu ennen analysointia, eikä opinnäyteyössämme olisi ollut resursseja myöskään siihen. Silmämääräisesti katsottuna näytteet eivät olleet kuitenkaan hemolyyttisiä, ikteerisiä tai lipeemisiä. Joissain näytteissä oli pakastuksen jäljiltä limaisuutta, jota yritimme sentrifugoimalla saada pois.

Opinnäytetyöprosessin aikana haimme tietoa monipuolisesti eri tietokannoista, kuten Google Scholarista ja Pubmedista. Kiinnitimme erityistä huomiota lähteiden luotettavuuteen ja monipuolisuuteen sekä käytimme kattavasti tutkittuun tietoon perustuvia kirjallisia lähteitä sekä kansainvälisiä lähteitä.

Tutkimuksen eettisyyden kannalta tärkeää on anonymiteetti. Näytteiden henkilötiedot otetaan pois ja näytteitä käsitellään vain tunnisteen avulla asiakkaiden anonymiteetin turvaamiseksi. Tutkimuksen raporteissa ei mainita missään kohdissa asiakkaiden nimiä tai ikää eikä heitä pysty yhdistämään käytettyihin näytteisiin. Laboratoriotutkimuspro-

sessin kaikissa vaiheissa asiakkaan oikeuksien kunnioittaminen ovat ensisijaisia. Salassapitovelvollisuutta tulee myös noudattaa ja näytteitä tulee käsitellä näytteenluovuttajan yksityisyyttä kunnioittaen. (Suomen Bioanalytikkoliitto ry 2017)

Opinnäytetyön tutkimusnäytteet saimme valmiiksi anonymisoituina eli niissä ei ollut mitään henkilötietoja. Näyteputkien kylkeen oli ainoastaan kirjattu putkessa olevan näytteet prostataspesifisen antigeenin pitoisuus. Tämän työn sisältämän verifiointin suorittamisessa ei ollut myöskään mitään, mikä vaatisi salassapitovelvollisuutta.

Opinnäytetyötä varten tarvittiin myös tutkimuslupa. Bioanalytikoiden tulee omalla toiminnallaan ylläpitää ammatin arvostusta ja luottamusta ja tutkimuslupa kuuluu hyvään ja vastuulliseen tutkimukseen. (Kettunen 2018; Suomen Bioanalytikkoliitto ry 2017) Tätä opinnäytetyötä varten sopimus tehtiin Metropolia ammattikorkeakoulun kanssa.

Hyvä tieteellinen käytäntö on tärkeää myös tutkimuksen eettisyyden kannalta. Edellä mainittujen käytäntöjen ohella hyviin tieteellisiin käytäntöihin kuuluu muun muassa tutkimuksen suunnittelu, toteutus ja raportointi vaatimusten mukaisesti. Lisäksi hyvän tieteellisen käytännön peruspilareita ovat yleinen huolellisuus ja tarkkuus, tulosten dokumentointi ja niiden avoimuus ja vastuullisuus julkaisemisessa. (Hyvä tieteellinen käytäntö 2022.) Opinnäytetyössä raportoimme tarkasti ja avoimesti verifiointin vaiheet ja olemme kirjanneet kaikki tutkimuksen vaiheet ylös mahdollisimman huolellisesti.

7.3 Virhelähteet ja niiden vaikutus tulosten laatuun

Virhelähteitä voi tulla missä tahansa vaiheessa opinnäytetyöprosessia. Niitä voi tulla preanalyttisistä vaiheista raportointivaiheeseen. Preanalyttisiä tekijöitä eli tekijöitä, jotka vaikuttavat näytteen laatuun ja tulosten luotettavuuteen ennen analysointia ovat muun muassa näytteenotto, näytteenoton jälkeinen säilytystapa, näytteiden esikäsittely sekä säilytys ennen analysointia (Laskimonäytteenotto 2022; Näytteenottoon liittyvät tekijät 2022). Yksi kriittisimmistä tekijöistä meidän opinnäytetyössämme oli näytteiden säilytys sekä kuljetus. Referenssilaboratorio oli itse ottanut näytteet, joten näytteenoton preanalyttisiin tekijöihin emme voineet vaikuttaa. Näytteet olivat myös sentrifugoituja ja eroteltuja. Plasmaa sisältävät näytteet oli lähetetty hiilihappojäässä koululle ja pidetty pakastimessa analysointiin asti. Opinnäytetyön kohdalla näytteet olivat ehtineet olla reilun kaksi viikkoa Metropolia ammattikorkeakoulun pakastimessa ennen analysoinnin aloittamista.

Säilytyksen, pakastuksen sekä kuljetuksen aikana tapahtuu muutoksia johtuen fysikaalisista ja kemiallisista ilmiöistä. Muun muassa näytteen haihtuminen voi vaikuttaa näytteen pitoisuuteen, jos sitä ei pakasteta tai laiteta korkkia putken päälle heti analysoinnin jälkeen. Tästä voi seurata muun muassa se, että meidän analysoimamme tulokset eroavat referenssilaboratorion tuloksista enemmän kuin pitäisi. Näytteiden tulisi olla vähintään vuorokauden -20 °C ennen lähettämistä, jotta ne ovat ehtineet jäätyä ennen lähettämistä. (Verinäytteet 2022.) Näyte on tietenkin myös tärkeää sulattaa ja sekoittaa huolellisesti ennen analysointia. Huonosti sekoitettu näyte voi myös aiheuttaa virhelähteitä.

Näytteitä analysoitaessa huomattiin myös, että näytteistä osa oli todella limaisen ja sakkaisen oloisia. Tämä on voinut vaikuttaa joihinkin tuloksiin. Näytteet sekoitettiin ja sentrifugoitiin sakan ja liman vaikutuksen minimoimiseksi.

Analysointivaiheessa sekä tulosten laskemisessa ja raportoisessa voi tulla myös inhimillisistä virheistä johtuvia virhelähteitä, joita pyrimme minimoimaan mahdollisimman huolellisella työskentelyllä ja tarkistamalla huolella laskutoimitukset ja taulukot.

Analysoinnin aikana voi tulla muun muassa pinnantunnistushäiriöitä, jolloin analysaattori ei pipetoi oikeasta kohtaa näytettä ja saattaa pipetoida esimerkiksi ilmaa. Näihin virhelähteisiin on pyritty kuitenkin vaikuttamaan erilaisilla tavoilla. Cobasin analysaattorissa on staattisuutta poistavat hapsut ja metallirengas, jotka vähentävät pinnantunnistusvirheitä. Myös vaahtoutunut näyte voi vaikuttaa virheellisesti pinnan tunnistamiseen. (Cobas e411 analyzer 2021.)

Virheellisiä tuloksia voi syntyä myös ”carry over” -ilmiön takia. Ilmiöllä tarkoitetaan tilannetta, jossa analysoitavaa materiaalia on siirtynyt laboratoriovälineeseen tai laitteeseen ja siten pääsee siirtymään seuraavaan tutkittavaan näytteeseen (Hartin 2022). Cobas e411 käyttää kertakäyttöisiä kärkiä pipeteissa ja pyrkii näin välittämään carry over -ilmiötä. (Cobas e411 analyzer 2021.)

7.4 Johtopäätökset

Metropolian Ammattikorkeakoulun tarpeisiin nähden voidaan todeta, että verifiointin tulokset olivat tarpeeksi hyvät eli PSA näytteitä voidaan analysoida opetusmielessä. Verifiointi tulee suorittaa uudelleen, mikäli oppilaitos haluaa analysoida potilasnäytteitä.

Sarjojen sisäisistä toistettavuuksista tulisi tällöin saada paremmat tulokset. Näistä tämän työn aikana mitatuista tuloksista kaikki olivat hieman laitevalmistajan ilmoittamaa tulostasoa suuremmat.

Verifoinnin tuloksiin on voinut myös vaikuttaa näytteiden pakastaminen. Saimme näytteet pakastettuina. Sulatuksen jälkeen sekoitimme ne huolellisesti ja sentrifugoimme useaan otteeseen, mutta silti osa näytteistä vaikutti silti olevan niin sanotusti limaisia, joten ei ole varmaa, kuinka hyvin analysaattori on onnistunut pipetoimaan näytteitä.

Sarjojen välisiä toistettavuuksia pitäisi myös mieluiten saada se 10 toistokertaa. Tämä olisi meillä onnistunut, mikäli reagenssia olisi ollut riittävästi tilattuna. Verifiointisuunnitelmassa luki, että näytteet tulisi analysoida 5–10 peräkkäisenä päivänä. Saimme onneksi 8 päivää, mikä on paljon parempi kuin minimi 5 päivää. Tulosten luotettavuuden kannalta olisi kuitenkin parempi saada 10 päivän toistettavuus.

Jos potilasnäytteitä on jatkossa tarkoitus analysoida, olisi seuraavassa verifioinnissa myös hyvä olla tiukemmat vaihteluvälit, johon verrataan verifoinnin tuloksia. 15 % ero sarjojen välisissä toistettavuuksissa on hyvin laaja ja mahdollistaa enemmän myös virheellisiä tuloksia. Esimerkiksi HUS Diagnostiikkakeskus käyttää tiukempia rajoja analysaattoreiden verifioinnissa. (Sneck 2023.)

7.5 Ammatillinen kasvu

Opinnäytetyöprosessin myötä olemme molemmat saaneet lisäkokemusta biokemian analysaattoreiden käytöstä sekä laboratorion toiminnan prosesseista. Olemme myös kehittäneet ongelmanratkaisukykyjämme, sillä analysaattorin käyttö sekä opinnäytetyöprosessi ei ole sujunut ongelmitta, mutta olemme saaneet loppujen lopuksi kaiken aina ratkaistua. Olemme joutuneet muun muassa tukeutumaan analysaattorin manuaaliin, sillä Metropolian Ammattikorkeakoululla olevat käyttöohjeet olivat hyvin suppeat. Tiedonhakutaidot ovat myös kehittyneet tämän opinnäytetyöprosessin aikana.

Kemian analysaattorin käyttö oli molemmille meille jo tuttua ennestään Jorvin ja Meilahden laboratorioden kemian puolelta. Kemian analysaattoreissa on tietynlaiset piirteensä ja taidot Siemensin Atellican käytöstä olivat hyödyksi Cobasin käytön opettelussa.

Olemme myös tehneet yhteistyötä mm. Jorvin ja Meilahden sairaaloiden laboratorioiden kemistien kanssa ja he ovat antaneet omia neuvojaan ja kertoneet paljon tietoa verifiointiprosesseista ja siten vahvistaneet ammattitaitoamme.

Parityöskentely sujui ongelmitta ja tulimme hyvin toimeen keskenämme opinnäytetyön aikana. Työskentely tapahtui sekä yksin että yhdessä. Työnjako oli tasaista ja molemmat tekivät tasapuolisesti töitä. Haasteina olivat opinnäytetyöprosessin aikana muun muassa aikataulutukseen liittyvät ongelmat, sillä olimme molemmat töissä sekä välillä myös työharjoittelussa opinnäytetyöprosessin aikana. Otimme kuitenkin huomioon toisemme ja saimme aina sovittua aikataulut molemmille sopiviksi.

Lähteet

Anttila, Mikko 2003. Regressioanalyysi. Tietoarkisto. Verkkodokumentti. <<https://www.fsd.tuni.fi/fi/palvelut/menetelmaopetus/kvanti/regressio/analyysi/>> Viitattu: 24.10.2022

Cobas e411 analyzer 2022. Roche diagnostics. Verkkodokumentti <<https://diagnostics.roche.com/global/en/products/instruments/cobas-e-411-ins-502.html#productInfo>>. Luettu 13.9.2022

Cobas e411 analyzer 2021. Operator's manual. Roche diagnostica. Verkkodokumentti. <<https://pim-eservices.roche.com/eLD/api/downloads/b8b3f5bb-8df0-eb11-0991-005056a772fd?countryIsoCode=pi>>. Viitattu 15.1.2023

Eturauhassyöpä 2014. Käypä Hoito. Verkkodokumentti. <<https://www.kaypa-hoito.fi/hoi11060>>. Viitattu 17.10.22

Elecsys free PSA 2018. Roche diagnostics. Verkkodokumentti <<https://pim-eservices.roche.com/eLD/api/downloads/5fc93743-89b7-e811-b0ba-00215a9b3428?countryIsoCode=pi>>. Viitattu 18.10.22

Eroprosentin laskeminen 2022. Exel-tilaukkelaskenta. Ekurssit. Verkkodokumentti <<http://www.ekurssit.net/kurssit/excel/kaavat.php>>. Viitattu 7.3.2023

Hartin Travis, Natalie Boyd 2022. Understanding Carryover effects. Verkkodokumentti. <<https://study.com/academy/lesson/carryover-effects-how-they-can-be-controlled-through-counterbalancing.html>>. Viitattu 15.1.2023

Heikkilä Tarja 2014. Tilastollinen tutkimus. Edita Publishing Oy. 9-painos. Helsinki.

Helenius, Mikko 2021. Verifiointi kliinisessä laboratoriossa. <<https://www.labconsult.fi/laboratoriolaaketiede/verifiointi-kliinisessa-laboratoriossa/>>. Viitattu 15.10.2022.

Hyvä tieteellinen käytäntö 2022. Helsingin yliopisto. Verkkodokumentti <<https://www.helsinki.fi/fi/tutkimus/vastuullinen-tiede/tutkimusetiikka/hyva-tieteellinen-kaytanta>>. Luettu 15.9.2022

Hägg Margareta 2016. Validoinnin suunnittelu opas. Teknologian tutkimuskeskus VTT Oy Espoo. Saatavilla verkosta <<https://www.vttresearch.com/sites/default/files/pdf/technology/2016/T276.pdf>>. Luettu 6.9.2022

Johdatus tilastotieteeseen 2022. Tilastokeskus. Verkkodokumentti <https://tilastokoulu.stat.fi/verkkokoulu_v2.xql?course_id=tkoulu_tilaj&lesson_id=4&subject_id=4&page_type=sisalto>. Viitattu 28.9.22.

Kettunen Jyrki 2018. Selvitä tarvitsetko tutkimuksellesi luvan. Vastuullinen tiede. Tutkimusetiikka ja tiedeviestintä Suomessa. Verkkodokumentti. <<https://vastuullinen-tiede.fi/fi/tutkimuksen-suunnittelu/selvita-tarvitsetko-tutkimuksellesi-luvan>>. Luettu 1.9.

Korrelaatio ja riippuvuusluvut 2004. KvantiMOTV. Verkkodokumentti <<https://www.fsd.tuni.fi/menetelmaopetus/korrelaatio/korrelaatio.html>>. Luettu 28.9.2022

Laskimonäytteenotto 2022. Labquality. Verkkodokumentti <https://www.labquality.fi/sote-ammattilaisille/laadukas_vieritutkimus/naytteenotto/laskimonaytteenotto/>. Viitattu 17.10.

Mittausepävarmuus 2021. Finas. Verkkodokumentti. <<https://www.finas.fi/akkreditointi/jaljitettyvyys/Sivut/Mittausepavarmuus.aspx>>. Viitattu 26.3.2023.

Mitä standardi tarkoittaa? 2022. SFS ry. Verkkodokumentti. <<https://sfs.fi/standardeista/mika-on-standardi/>>. Luettu: 10.9.2022.

Murtola Teemu J., Taari Kimmo 2022. Mitä kertoa potilaalle, joka haluaa tarkistaa PSA-arvonsa. Lääketieteellinen aikakausikirja Duodecim. Verkkodokumentti <<https://www.duodecimlehti.fi/duo16913>>. Luettu 1.9.2022

Niemelä O. ja Pulkki K. 2010. Laboratoriolääketiede – Kliininen kemia ja hematologia. 5.3 Kemialliset analyysointimetodit. 3. uudistettu painos. Kandidaattikustannus Oy. Luettu: 25.9.2022.

Näytteenottoon liittyvät tekijät 2022. Labquality. Verkkodokumentti. <https://www.labquality.fi/sote-ammattilaisille/laadukas_vieritutkimus/naytteenotto/naytteenottoon-liittyvat-tekijat/>. Viitattu 17.10.22

Pereira, Paulo 2020. Part 2 – ISO 15189; 2012” Medical laboratories – Requirements for quality and competence”. Westgard QC. Päivitetty tammikuu 2020 <<https://www.westgard.com/iso-15189-2012-requirements-1.htm>>. Luettu 9.9.2020.

PreciControl Universal 2023. Cobas. Kontrollien pakkausseloste. Luettu 6.2.2023.

Prostataspesifinen antigeeni, plasmasta 2022. HUSLAB tutkimusohjekirja. Verkkodokumentti. <https://huslab.fi/cgi-bin/ohjekirja/tt_show.exe?assay=4869&terms=psa>. Luettu 11.9.2022.

Prostate-Specific Antigen (PSA) Test 2022. National Cancer Institute. Verkkodokumentti. <<https://www.cancer.gov/types/prostate/psa-fact-sheet>>. Luettu 11.9.2022.

QualityMedDev 2022. ISO 15189: QMS for Medical Laboratories. <<https://www.qualitymeddev.com/2022/08/02/iso-15189/>>. Viitattu 01.02.2023.

Regressioanalyysi 2022. KvantiMOTV. Verkkodokumentti. <<https://www.fsd.tuni.fi/menetelmaopetus/regressio/analyysi.html>>. Viitattu 9.2.2023.

Roelofsen-de Beer, Roseri, Wielders, Jos, Boursier, Guilaine, Vodnik, Tatjana, Vanstapel, Florent, Huisman, Willem, Vukasović, Ines, Vaubourdolle, Michel, Sönmez, Çiğdem, Linko, Solveig, Brugnoli, Duilio, Kroupis, Christos, Lohmander, Maria, Sprongl, Luděk, Bernabeu-Andreu, Francisco, Meško Brguljan, Pika and Thelen, Marc.

"Validation and verification of examination procedures in medical laboratories: opinion of the EFLM Working Group Accreditation and ISO/CEN standards (WG-A/ISO) on dealing with ISO 15189:2012 demands for method verification and validation" *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (CCLM)*, vol. 58, no. 3, 2020, pp. 361-367. <<https://doi.org/10.1515/cclm-2019-1053>>. Luettu: 9.9.2022.

Sneck Mia 2023. Sähköpostikeskustelu. Espoo. 13.2.2023

Suomen Bioanalytikkoliitto ry 2017. Bioanalyttikon, laboratoriohoitajan eettiset ohjeet. Verkkodokumentti: <https://www.bioanalytikkoliitto.fi/@Bin/659271/Eettiset+periaatteet_FI_print_2017.pdf>. Luettu 1.9.2022.

Total PSA 2013. Method sheet. Roche diagnostics. Verkkodokumentti <<https://pim-eservices.roche.com/eLD/api/downloads/973f72d0-0df4-e311-98a1-00215a9b0ba8?countryIsoCode=pi>>. Luettu 14.9.2022.

Tiedelukutaito 2022. Opinkirjo kehittämiskeskus. Verkkodokumentti <<https://tiedelukutaito.mooc.fi/part-3/2-tutkimuskysymyksen-valinta>>. Luettu 1.9.2022.

Tieteentermipankki 2014. Kemiluminesenssi. Verkkodokumentti <<https://tieteentermipankki.fi/wiki/Mikrobiologia:kemiluminesenssi>>. Luettu 14.9.2022.

Tietoa tilastoista 2022. Tilastokeskus. Verkkodokumentti <<https://www.stat.fi/meta/kas/index.html>>. Viitattu 29.9.22

Tunturi Satu 2021. Prostataspesifinen antigeeni, "eturauhaskoe" (P-PSA). Duodecim Terveyskirjasto. Verkkodokumentti <<https://www.terveyskirjasto.fi/snk03230>>. Luettu 1.9.2022

Ulkoinen laadunarviointi 2023. Verkkodokumentti. <https://www.labquality.fi/kliinisille-laboratorioille/ulkoinen_laadunarviointi/>. Viitattu 4.1.2023

Validointi ja verifiointi 2022. Labquality. Verkkodokumentti. <https://www.labquality.fi/sote-ammattilaisille/laadukas_vieritutkimus/validointi_verifiointi/>. Luettu 6.9.2022.

Verinäytteet. 2022. SYNLAB. Verkkodokumentti <<https://www.yml.fi/laboratoriokasikirja/verinaytteet>>. Viitattu 4.10.22.