



Tommi Rakkolainen

T3-V-menetelmäverifiointi kliinisen kemian analysaattorille reagenssin koostumuksen muuttuessa

Metropolia Ammattikorkeakoulu

Bioanalytiikka (AMK)

Bioanalytiikan tutkinto-ohjelma

Opinnäytetyö

20.4.2022

Tekijä	Tommi Rakkolainen
Otsikko	T3-V-menetelmäverifiointi kliinisen kemian analysaattorille reagenssin koostumuksen muuttuessa
Sivumäärä	27 sivua + 3 liitettä
Aika	20.04.2022
Tutkinto	Bioanalyttikko (AMK)
Tutkinto-ohjelma	Bioanalytiikan tutkinto-ohjelma
Ohjaajat	Lehtori Heidi Malava Sairaalakemisti Kristiina Kainulainen
<p>Opinnäytetyön tarkoituksena on verifioida reagenssimuutoksen vuoksi päivitetty T3-V-analyysimenetelmä kliinisen kemian analysaattorille Keski-Suomen keskussairaalan laboratoriossa. Kliinisen laboratorion laatua ohjaava SFS-EN ISO 15189:2013-standardi määrittelee, että laboratorioden täytyy pystyä tuottamaan teknisesti päteviä ja luotettavia tuloksia. Tulosten luotettavuutta todennetaan verifioimalla valmistajan validoimat analyysimenetelmät käyttöönoton yhteydessä.</p> <p>Fimlabin tuotantolaboratorioissa on muutettu T3-V-tutkimuksessa käytettävän reagenssin koostumusta, koska joidenkin potilaiden veressä on normaalia suurempi biotiinipitoisuus. Biotiini on B7-vitamiini, jota hyödynnetään kilpirauhastutkimuksissa ja potilaan veressä se saattaa korkeina pitoisuuksina häiritä tutkimusta. Uuden reagenssin myötä menetelmän biotiinihäiriön raja on noussut 70 nanogrammasta millilitrassa 1200 ng/ml:aan. Biotiinin häiriörajan nosto parantaa menetelmän luotettavuutta henkilöillä, joilla on käytössä suuria annoksia biotiinia sisältävää ravintolisää. Joillakin potilailla biotiinia voidaan myös käyttää korkeina annoksina sairauden hoitoon.</p> <p>Verifiointi tehtiin kvantitatiivisena tutkimuksena ja aineistoksi kerättiin potilasnäytteitä Keski-Suomen keskussairaalan potilailta sekä Tampereen yliopistollisen sairaalan laboratorion. Päivitettyä T3-V-analyysimenetelmää verrattiin referenssimenetelmään tekemällä potilasnäytevertailu sekä laitevertailu referenssi- ja rinnakkaislaitteiden välillä. Lisäksi tehtiin sarjan sisäisen ja sarjojen välisen toistettavuuden määritykset. Verifiointisuunnitelma ja se dokumentoitiin verifiointiraporttiin, jossa tulosten välistä riippuvuutta analysoitiin tilastollisilla menetelmillä.</p> <p>Verifiointitulokset osoittavat, että vanha ja uusi T3-V-menetelmä ovat tulostasoltaan yhteneväiset. Potilasnäytteiden tulokset menetelmien välillä poikkeavat keskimäärin 2,3 %, joka on hyväksyttävissä. Sarjan sisäinen sekä sarjojen välinen toistettavuus vastaavat valmistajan tavoitteita. Uudistettu menetelmä voidaan ottaa käyttöön verifiointin perusteella.</p>	
Avainsanat	verifiointi, kliininen kemia, immunokemia, trijodityroniini, kilpirauhashormoni

Author	Tommi Rakkolainen
Title	Verification of FT3 Immunoassay for a Clinical Chemistry Analyzer Following a Reagent Modification
Number of Pages	27 pages + 3 appendices
Date	20.04.2022
Degree	Bachelor of Health Care
Degree Programme	Biomedical Laboratory Science
Instructors	Heidi Malava, Lecturer Kristiina Kainulainen, Hospital Chemist
<p>The objective of this bachelor's thesis is to verify the free triiodothyronine (FT3) immunoassay for a clinical chemistry analyzer in Central Finland's central hospital laboratory. The cause of the verification is a reagent modification. SFS-EN ISO standard 15189:2013 acts as a guide to clinical laboratories. The standard states that clinical laboratories must produce legitimate test results. To prove the results legitimate, laboratories perform verifications for tests that are already validated by test manufacturers.</p> <p>The laboratory tests for thyroid hormones use an electrochemiluminescence method, which is based on the reaction between an antigen and an antibody. Because the method utilizes biotin (vitamin B7), high levels of biotin in the patients' blood can create biotin interference. In the laboratory of Central Finland's central hospital, the reagent used in FT3 immunoassay has been modified by the manufacturer to elevate the biotin interference limit and, as a result, suffer less interference. Elevating the interference limit guarantees legitimate FT3 results for patients using high doses of biotin either as a supplement or as a part of their medication.</p> <p>The verification was performed as a quantitative study. Patient samples were collected from the patients of Central Finland's central hospital as well as Tampere university hospital. The modified FT3 assay was compared to the reference assay by comparing patient sample results and by comparing the patient sample results of two different analyzers. The verification was planned upfront and documented in a verification report, which included a statistical analysis of the results.</p> <p>The results show that both the new and the reference FT3 assays produce comparable results. The average difference between the results is an acceptable 2,3 %. The results match the repeatability and replicability sought by the manufacturer. The modified assay can be introduced into everyday use.</p>	
Keywords	verification, clinical chemistry, immunochemistry, triiodothyronine, thyroid hormone

Sisällys

1	Johdanto	1
2	Kilpirauhashormonit	2
2.1	Trijodityroniini	3
2.2	Kilpirauhasen laboratoriotutkimukset	3
2.3	T3-V-määritys elektrokemiluminesenssi-menetelmällä	5
3	Verifiointi kliinisen kemian laboratoriossa	7
3.1	Validointi ja verifiointi	8
3.2	Verifiointiparametrit	9
4	Opinnäytetyön tarkoitus, tavoitteet ja tutkimuskysymykset	10
5	Opinnäytetyön menetelmät	11
5.1	Aineiston keruu	11
5.2	Verifiointin toteutus	11
5.3	Aineiston analysointi	12
5.3.1	Potilasnäyte- ja laitevertailun menetelmät	14
5.3.2	Sarjan sisäinen ja sarjojen välinen toistettavuus	14
6	Tulokset	16
6.1	Potilasnäytevertailu vanhalla ja uudella menetelmällä	16
6.2	Laitevertailu Cobas 1:n ja Cobas 2:n välillä	18
6.3	Sarjan sisäinen toistettavuus	18
6.4	Sarjojen välinen toistettavuus	19
7	Pohdinta	20
7.1	Tulosten tarkastelu	20
7.2	Tulosten luotettavuus	21
7.3	Opinnäytetyön eettisyys	22
7.4	Ammatillinen kasvu	23
	Lähteet	25
	Liite 1. T3-V-tulokset vanhalla ja uudella menetelmällä, Cobas 1	
	Liite 2. T3-V laitevertailu, Cobas 1 ja Cobas 2	
	Liite 3. Sarjan sisäinen toistettavuus kolmella tasolla	

1 Johdanto

Kliinisten laboratorioden tulee tuottaa asiakkailleen ja potilailleen luotettavia, teknisesti päteviä analyysituloksia. Jotta tulosten oikeellisuudesta voidaan varmistua, täytyy käytettävä menetelmä verifioida (= koestaa, varmentaa) asianmukaisesti. Usein analyysimenetelmät ovat valmistajan laajasti validoimia, jolloin laboratorioden vastuulle jää niiden verifiointi. Validointi ja verifiointi on määritelty kliinisten laboratorioden toimintaa ohjaavassa ISO 15189-standardissa. Sen mukaan laboratorion on varmistuttava objektiiviseen näyttöön perustuvalla menettelyllä, että sen käyttämän analyysimenetelmän tulostaso vastaa valmistajan ilmoitusta. Verifioinnin laajuuden laboratorio voi itse määrittellä. (SFS-EN ISO 15189:2013.)

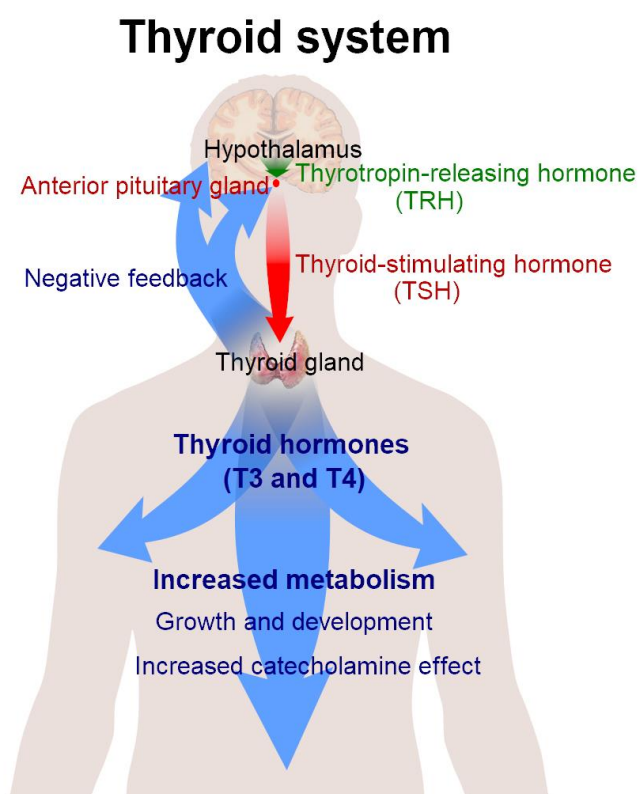
Vapaan trijodityroniinin määrittystä T3-V käytetään mm. kilpirauhasen liikatoiminnan eli hypertyreosin diagnostiikassa (Schalin-Jäntti 2019a). Kilpirauhasen sairaudet ovat eräitä yleisimmistä endokrinologisista sairauksista. Kliinisen kemian laboratorioissa analysoidaan päivittäin runsaasti kilpirauhasen toimintaan liittyviä tutkimuksia, joista perustutkimuksia ovat tyreotropiinin (TSH) ja vapaan tyroksiinin (T4-V) määritykset. Näistä TSH:n määrittystä voidaan pitää kilpirauhas sairauksien tärkeimpänä tutkimuksena sen erinomaisen herkkyyden ja spesifisyyden ansiosta (Roberts, R. & La'ulu & Roberts, W. 2007).

Verifioinnin tarve syntyi T3-V-menetelmän reagenssimuutoksesta. Kilpirauhas tutkimuksissa käytetään immunokemiallista analyysimenetelmää, joka hyödyntää biotiinin (B7-vitamiini) ja streptavidinin välistä sidosta. Liian korkea biotiinipitoisuus potilaan veressä näytteenottohetkellä saattaa aiheuttaa ns. biotiinihäiriötä. Tällaisen potilaan kilpirauhashormonien pitoisuudet saattavat näyttäytyä virheellisen korkeina (Bowen ym. 2019). Tähän asti laboratoriossa käytössä olleen analyysimenetelmän biotiinihäiriön raja on 70 nanogrammaa biotiinia millilitrassa veriplasmaa. Valmistajan päivittämän reagenssin muuttuessa uusi häiriöraja on 1200 ng/ml. Päivitetyn analyysimenetelmän tulostaso on varmennettava verifioimalla.

Tilajaana toimii Fimlab Laboratoriot Oy:n Keski-Suomen keskussairaalan laboratorio. Opinnäytetyön tarkoituksena on tutkia, voidaanko päivitetty T3-V-analyysimenetelmä ottaa käyttöön laboratoriossa. Verifioitavaa menetelmää verrataan edelliseen käytössä olleeseen ns. referenssimenetelmään ja tulokset analysoidaan tilastollisilla menetelmillä.

2 Kilpirauhashormonit

Kilpirauhashormonit tyroksiini (T₄) ja trijodityroniini (T₃) ovat elimistön normaalin kehityksen ja toiminnan kannalta tärkeitä endokriinisiä (umpieritykseen liittyviä) viestinviejiä, jotka säätelevät mm. energia-aineenvaihduntaa ja kudosten fysiologista toimintaa (Medici & Visser W. & Visser T. & Peeters 2015). Kilpirauhashormonit ovat pääosin plasman proteiineihin kiinnittyneitä molekyylejä, joiden pitoisuus on tasapainossa vapaana plasmassa kiertävien vastineidensa kanssa (Mendoza & Hollenberg 2017). Hypotalamus on aivojen pohjaosassa sijaitseva pieni umpirauhanen, joka ohjaa elimistön endokriinistä järjestelmää yhdessä aivolisäkkeen kanssa. Aivolisäke sijaitsee hypotalamuksen läheisyydessä mahdollistaen stimuloivien ja inhiboivien hormonien siirtymisen rakenteiden välillä. Hypotalamuksen säätelemä aivolisäke tuottaa hormoneja, kuten tyreotropiinia (TSH), kasvuhormonia, prolaktiinia ja erilaisia sukupuolihormoneja. (Feldt-Rasmussen & Efraimidis & Klose 2021.) Hypotalamuksen, aivolisäkkeen ja kilpirauhasen yhteistoiminnan ansiosta terveellä ihmisellä on sopiva määrä kilpirauhashormoneja verenkierrössään (kuva 1).



Kuva 1. Hypotalamus, aivolisäkkeen etuosa (anterior pituitary gland) ja kilpirauhanen (thyroid gland) toimivat ketjuna, jonka loppupäässä muodostuu tyroksiinia ja trijodityroniinia (Häggström 2009).

Hypotalamus säätelee aivolisäkkeen TSH:n eritystä tyreotropiinia vapauttavan hormonin (TRH) avulla. TRH kulkeutuu hypotalamuksesta aivolisäkkeen etuosaan, jossa se sitoutuu TRHR1-reseptoreihin ja saa aikaan TSH:n erityksen. Aivolisäkkeen erittämä TSH puolestaan stimuloi kilpirauhasta. Kilpirauhanen on kaulan alueella sijaitseva umpirauhanen, joka valmistaa ja vapauttaa kilpirauhashormoneja. TSH:n stimuloimana kilpirauhasen epiteelisolut vapauttavat verenkiertoon tyroksiinia (T4) ja trijodityroniinia (T3). Kilpirauhasen vapauttamien hormonien suhde on 80 % T4:ää ja 20 % T3:a. (Mendoza & Hollenberg 2017, Feldt-Rasmussen ym. 2021.)

2.1 Trijodityroniini

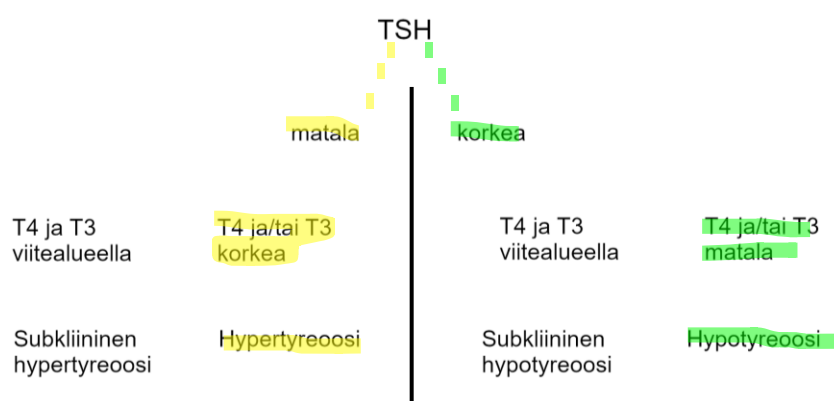
Kaikkea elimistön trijodityroniinia (T3) ei muodosteta kilpirauhasessa, vaan 80 % siitä muuntuu T4:stä T3:een kudoksissa, etenkin maksassa. T3:n muodostumisessa ratkaiseva rooli on tyroksiinilla (T4). T4 aktivoidaan solun sytoplasmassa vapaana kiertävästä molekyylisestä dejodinaasientsyymien avulla T3:ksi. Dejodinaasientsyymit poistavat T4:sta yhden jodiatomin, jolloin syntyy T3- eli trijodityroniinimolekyyli. Ainoastaan vapaana plasmassa kiertävä T3 kykenee sitoutumaan kohdesolujen tumissa sijaitseviin reseptoreihin ja kiihdyttämään soluissa lähetti-RNA:n synteessin kautta uusien proteiinien tuotantoa. T3 on kahdesta kilpirauhasen hormonista biologisesti aktiivisempi ja sen vaikutus ulottuu mm. aivojen ja sydämen toimintaan, ruoansulatukseen, aineenvaihduntaan ja luiden terveyteen. (Peeters & Visser 2000). T3 ja T4 toimivat myös hypotalamus-aivolisäke-kilpirauhasketjun loppupäässä ns. negatiivisen palautevaikutuksen kautta (Mendoza & Hollenberg 2017). TSH:n pitoisuus muuttuu T4:n ja T3:n pitoisuuksien mukaan ja siksi kilpirauhasen toimintahäiriöt yleensä näkyvät ensimmäisenä TSH:n erityksessä (Sheehan 2016). TSH:n ja T4:n suhde on geenien säätelemää ja siihen vaikuttavat myös ikä, tupakointi ja TPO- eli tyreoidaaperoksidaasivasta-aineet (Soh & Aw 2019).

2.2 Kilpirauhasen laboratoriotutkimukset

Kilpirauhasen verenkiertoon vapauttamasta T4:sta ja T3:sta jopa 99,8 % on kiinnittyneenä kantajaproteiineihin, eli plasman tyroksiinia sitovaan globuliiniin, prealbumiiniin ja albumiiniin. Siksi kilpirauhasen toimintaa on suositeltavaa tutkia määrittämällä vapaana kiertävien hormonien pitoisuuksia (Ehlers & Schott & Allelein 2019). Kilpirauhasen sairauksien diagnostiikassa tärkein laboratoriotutkimus on TSH:n määrittäminen, jolla voidaan seuloa sekä kilpirauhasen vaja- ja liikatoimintaa eikä muita tutkimuksia välttämättä tarvita (Sheehan 2016). Vapaan T4:n määrittäminen tehdään diagnoosin tueksi,

mikäli epäily kilpirauhasen toimintahäiriöstä on vahva. Merkittävä vapaan T3:n (T3-V) määrittämisen indikaatio on kilpirauhasen liikatoiminta (Schalin-Jäntti 2019a). Kilpirauhasen liikatoiminnassa eli hypertyreosissa aivolisäkkeen TSH:n tuotanto on madaltunut ja kilpirauhasen hormonituotanto kiihtynyt, jolloin T4:n ja/tai T3:n pitoisuus kasvaa (kuvio 1). Tavallisin hypertyreosin aiheuttaja on Basedowin tauti eli Gravesin tauti. Basedowin tauti on autoimmuunisairaus, jonka aiheuttajina ovat TSH-reseptoreja stimuloivat autovasta-aineet. Autoimmuunisairauksissa elimistö muodostaa autovasta-aineita omia rakenteitaan kohtaan. Matalan TSH:n ja korkeiden T4:n tai T3:n pitoisuuksien toteutumisen jälkeen TSH-reseptorivasta-aineiden määrittäminen usein varmistaa Basedowin taudin diagnoosin. (Ehlers ym. 2019.)

Matala TSH yhdistettynä viitealueella oleviin T4:n ja T3:n pitoisuuksiin on yhdistetty ns. subkliiniseen hypertyreosiin, jossa laboratoriokokeet eivät täysin vahvista kliinistä diagnoosia. Sen sijaan korkea TSH liitetään hypotyreosiin eli kilpirauhasen vajaatoimintaan, jossa autoimmuunitulehdus tuhoaa kilpirauhasen rakenteita. TSH:n pitoisuus veressä kasvaa ja T4-pitoisuus pienenee. Mikäli T4 ja T3 ovat kuitenkin viitealueella, saattaa kyseessä olla subkliininen hypotyreosi. (Schalin-Jäntti 2019b.) Koska kilpirauhashormonit osallistuvat moniin elimistön fysiologisiin prosesseihin niin pienikin, jopa viitealueella oleva vaihtelu kilpirauhashormonipitoisuuksissa voi olla yhteydessä mielen-terveysongelmiin, sydän- ja verisuonisairauksiin sekä metaboliseen oireyhtymään (Medici ym. 2015) Hypertyreosin diagnosoinnin lisäksi T3:n määrittäminen sopii kilpirauhas-syövän jälkeisen tyrokseenihoidon seurantaan (Schalin-Jäntti 2019a).



Kuvio 1. Kilpirauhasen laboratoriotutkimuksia yksinkertaistettuna. Mukailten Schalin-Jäntti 2019a.

Kilpirauhasen laboratoriotutkimuksissa käytetään analyysimenetelmää, joka perustuu antigenein ja vasta-aineen väliseen reaktioon. Koska reaktio hyödyntää biotiinia (B7-

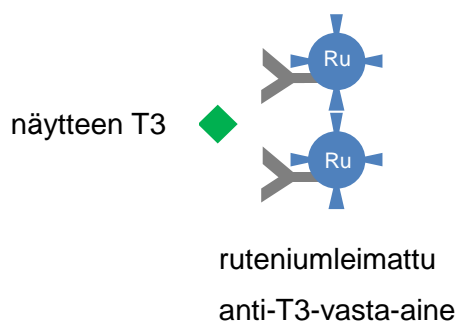
vitamiini), saattaa potilaan veren korkea biotiinipitoisuus häiritä tutkimuksia (Bowen ym. 2019). Biotiini on yksi B-vitamiineista ja, kuten useimmat B-ryhmän vitamiinit, se vaikuttaa elimistössä energiaravintoaineiden aineenvaihduntaan. B-vitamiinit ovat vesiliukoisia, jolloin ylimääräinen vitamiini eliminoituu suodattamalla virtsaan munuaisten kautta. Vesiliukoisuuden vuoksi B-vitamiineja täytyy saada ravinnosta säännöllisesti. (Ruokavirasto 2019). Biotiinin saantisuositukset (aikuisilla 30 µg vuorokaudessa) täyttyvät normaalin sekaruokavalion yhteydessä. Biotiinia sisältäviä ravintolisiä markkinoidaan mm. hiusten, kynsien ja ihon hyvinvointiin, vaikka näyttö sen vaikuttavuudesta terveillä yksilöillä on melko vähäistä ja ravintolisien biotiinipitoisuudet voivat olla jopa 700-kertaisia saantisuositukseen nähden (NIH 2022). Väestötasolla ravintolisien liiallinen biotiinipitoisuus aiheuttaa merkittäviä ongelmia biotiini-streptavidiniinidosta käytäviin immunokemian menetelmiin (Luong & Vashist 2019).

Biotiinia on kokeiltu myös lääketieteellisessä käytössä korkeina, 100 mg:n annoksina ehkäisemään MS-taudin etenemistä (Tourbah ym. 2016). Bowenin ym. (2019) mukaan lääkkeenä tai ravintolisänä annosteltu korkea-annoksinen biotiini nostaa plasman biotiinipitoisuutta riittävästi, jotta kilpirauhashormonien määrittämiseen käytettävän menetelmän häiriöraja ylittyy. Biotiinihäiriötä tulisi epäillä, jos kilpirauhashormonien tulokset eivät sovi potilaan kliiniseen kuvaan, sillä häiriötä esiintyy erityisesti kilpirauhashormonien tutkimuksissa ja väärät tulokset saattavat johtaa jopa väärään Basedowin taudin diagnoosiin (Barbesino 2016). Laboratoriokokeissa plasman korkea biotiinipitoisuus saattaa nostaa merkittävästi T3:a ja T4:ää sekä laskea TSH:ta (Ardabilgazar & Afshariyamchou & Mir & Sachmechi 2018).

2.3 T3-V-määritys elektrokemiluminesenssi-menetelmällä

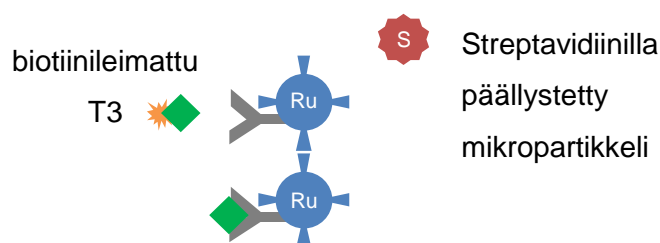
Kaikki immunokemialliset menetelmät perustuvat vasta-aineen ja antigeenin väliseen reaktioon. Antigeeni on molekyyli, joka provosoi elimistön vasta-ainetuotantoa. Vastaaineet ovat glykoproteiineja, joita yhdistää tietyt rakenteelliset ja toiminnalliset ominaisuudet. Toiminnallisesti ne voidaan jakaa sen perusteella, kuinka ne kykenevät sitoutumaan antigeeneihin. Rakenteellisesti ne esitetään Y:n muotoisina molekyyleinä, jotka koostuvat raskas- ja kevytketjuista. Y:n sakaroiden päässä ovat antigeenien sitoutumispaikat, joita kutsutaan epitoopeiksi. Vahvuutta, jolla antigeeni ja vasta-aine kiinnittyvät toisiinsa, kutsutaan affiniteetiksi. Korkean affiniteetin vasta-aineet kykenevät sitoutumaan useamman antigeenin ja muodostamaan tasapainoisempia komplekseja. Sen vuoksi korkean affiniteetin vasta-aineita suositaan immunokemian menetelmissä. (Kivunen & Krogsrud 2006.)

Vapaa T3 määritetään plasmasta vasta-aineen ja antigeenin väliseen reaktioon perustuvalla menetelmällä, joka käyttää biotiinin ja streptavidiinin välistä sidosta. Ruteniumkompleksin ja tripropyyliamiinin synnyttämää valoa mitataan elektrokemiluminesensiksi kutsuttavassa reaktiossa (Kazerouni & Amirrasouli 2012). Ensimmäisessä vaiheessa ruteniumkompleksilla leimattu monoklonaalinen anti-T3-vasta-aine sitoutuu potilasnäytteen vapaaseen T3:een (kuvio 2). Ruteniumia hyödynnetään reaktion loppuvaiheessa (Kainulainen 2021).



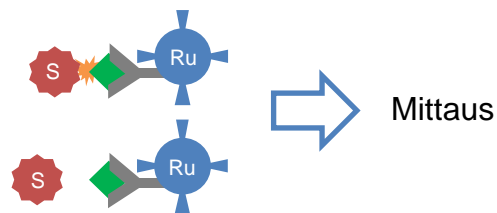
Kuvio 2. T3 sitoutuu spesifiin vasta-aineeseen (mukaillen Roche Diagnostics Oy 2021).

Ruteniumleimattuja vasta-ainekomplekseja on yli tarvittavan määrän, jotta kaikki potilasnäytteessä oleva T3 saadaan sitoutetuksi. Biotiinileimattua T3:a sekä streptavidiinilla päällystettyjä, magneettisia mikropartikkeleita lisätään reaktioseokseen (kuvio 3). Streptavidiini on *Streptomyces avidinii*-bakteerista eristettyä proteiinia, jolla on erittäin korkea affiniteetti biotiiniin. Streptavidiinin ja biotiinin välinen sidoksista. Biotiini-streptavidiinisidoksen käyttö immunokemian määrityksissä perustuu määrittävän molekyylin leimaamiseen biotiinilla ja streptavidiinin käyttöön molekyylin havaitsemiseksi. (Kainulainen 2021; Bowen ym. 2019; Hytönen 2017.)



Kuvio 3. Biotiinileimattu T3 ja streptavidiinilla käsitellyt mikropartikkelit lisätään seokseen (mukaillen Roche Diagnostics Oy 2021).

Biotiinileimattu T3 täyttää anti-T3-vasta-aineen vapaaksi jääneet sitoutumispaikat. Biotiinileimatun T3:n ja vasta-aineiden muodostamat kompleksit sitoutuvat mikropartikkeleihin streptavidiinin ja biotiinin välisellä sidoksella (kuvio 4).



Kuvio 4. Mikropartikkeli sitoutuu ainoastaan biotiinileimattuun T3:een biotiinin ja streptavidiinin välisen sidoksen ansiosta (mukaillen Roche Diagnostics Oy 2021).

Reaktioseos siirretään mittauskammioon, jossa magneettisten mikropartikkelien ansiosta kompleksi saadaan kiinnitettyä mittauskammiossa sijaitsevan mittauselektrodin pinnalle. Kun kompleksi on kiinnitetty, loput seoksesta pestään pois. Elektrokemiluminesenssi on molekyylin viritystilan purkautumista (luminesenssi), joka syntyy, kun liuoksessa tapahtuu sähkökemiallisia reaktioita. Elektrokemiluminesenssireaktio käynnistyy, kun elektrodille johdetaan jännite. Reaktioseoksessa rutenium ja tripropyyliamiini reagoivat synnyttäen valoimpulsseja. Valon määrä on käänteisesti verrannollinen näytteen trijodityroniinin määrään, eli mitä enemmän näytteessä on ruteniumleimatun vasta-aineen kanssa sitoutuvaa potilaan T3:a, sitä vähemmän valoa syntyy. (Kainulainen 2021; Luong & Vashist 2019.)

Biotiinihäiriö syntyy, kun potilaan plasman biotiini kilpailee streptavidiinilla päällystettyjen mikropartikkelien sitoutumispaikoista, jolloin ne jäävät sitoutumatta biotiinileimattuun T3:een. Biotiinileimatun T3:n ja vasta-aineen muodostamat kompleksit eivät siirry mittauselektrodille, jolloin valoa syntyy todellista tilannetta vähemmän. Koska potilaan T3 on käänteisesti verrannollinen syntyvän valon määrään, vaikuttaa pitoisuus virheellisen korkealta. (Luong & Vashist 2019.)

3 Verifiointi kliinisen kemian laboratoriossa

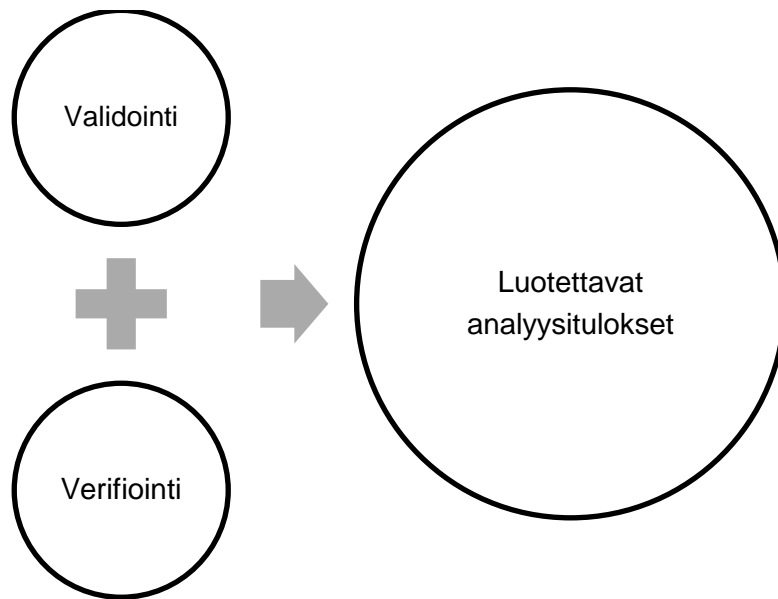
Kliiniset laboratoriot noudattavat ISO-standardia SFS-EN ISO 15189:2013, joka sisältää lääketieteellisille laboratorioille ominaiset pätevyys- ja laatuvaatimukset. Koska laboratorion palvelut ovat ratkaisevassa roolissa potilaan hoidossa, tulee niiden pystyä vastaamaan hoidon vaatimiin tarpeisiin. Standardin määrittelemiin laboratorion palvelui-

hin kuuluvat tutkimuspyyntöjen järjestelyt, potilaan esivalmistelu ja tunnistaminen, näytteenotto, näytteiden kuljetus, -säilytys ja -käsittely sekä näytteiden tutkiminen yhdessä tulosten tulkinnan ja raportoinnin kanssa. Palvelujen järjestelyssä huomioidaan kliinisen laboratoriotyön turvallisuuteen ja etiikkaan liittyvät asiat. (SFS-EN ISO 15189:2013.)

3.1 Validointi ja verifiointi

Validoinnin ja verifiointin käsitteitä käytetään sekaisin ja niiden merkitys vaihtelee alakohtaisesti (Hägg 2016). Laboratorioalalla validointi (kelpuutus) on menettely, jossa arvioidaan tutkimusmenetelmän soveltuvuutta tiettyyn käyttötarkoitukseen. Tavallisesti validoinnin toteuttaa tutkimusmenetelmän valmistaja. Laboratorio voi myös itse validoida menetelmiä, jotka eivät ole standardimenetelmiä, tai laboratorion itse kehittämiä menetelmiä, alkuperäisen soveltamisalan ulkopuolella käytettäviä standardimenetelmiä tai validoituja menetelmiä, joita on myöhemmin muutettu. Validoinnilla on varmistettava objektiiviseen näyttöön perustuen, että tutkimuksen käyttötarkoituksenmukaiset vaatimukset on täytetty. (SFS-EN ISO 15189:2013.)

Verifiointi on yleensä validointia suppeampi menettely, joka suoritetaan otettaessa käyttöön valmiiksi validoitua menetelmää. Myös menetelmään tehdyt muutokset voivat vaatia verifiointia. Laboratorion on ennen käyttöönottoa verifioitava aiemmin validoidut tutkimusmenetelmät. Valmistajan on annettava laboratoriolle tietoa menetelmän suorituskykyominaisuuksista. Laboratorio tekee objektiiviseen näyttöön perustuvan erillisen verifiointia, jolla varmistetaan, että menetelmän suorituskyky vastaa valmistajan ilmoittamaa suorituskykyä. Verifioidun menetelmän suorituskyvyn on vastattava tulosten käyttötarkoitusta. Verifiointissa käytetty menettely on dokumentoitava ja verifiointitulokset tallennettava. (SFS-EN ISO 15189:2013.) Verifiointi täydentää validointia, jolloin menetelmän tulostaso on luotettava (kuviot 5).



Kuvio 5. Valmistajan suorittama validointi ja laboratorion suorittama verifointi täydentävät toisi-
aan.

Verifointia ohjaamaan laaditaan verifointisuunnitelma. Suunnitelma kertoo verifioinnin tarkoituksen ja ajankohdan sekä listaa verifointiin osallistuvat henkilöt. Verifioinnissa voidaan vertailla analyysimenetelmää toiseen menetelmään. Menetelmää, johon verifioitavaa menetelmää verrataan, kutsutaan referenssimenetelmäksi. Referenssimenetelmän ominaisuudet tunnetaan perusteellisesti ja sen tulosten on osoitettu olevan luotettavia ja toistettavia. Menetelmää voidaan käyttää uuden samaa suuretta mittaavan menetelmän arvioimiseen. (Hägg 2016.)

3.2 Verifointiparametrit

Verifioinneissa tarkastellaan erilaisia parametreja, jotka kuvaavat menetelmän suorituskykyä. Parametrien määrään vaikuttaa verifioitava menetelmä sekä onko kyseessä kokonaan uusi menetelmä vai ainoastaan vanhan menetelmän päivitys. Parametrien määrittämiseen käytetään erilaisia mittaussarjoja. Parametrien avulla määritetään esimerkiksi mittausmenetelmän systemaattinen virhe, toistettavuus sekä mittausalue. Mittauksen systemaattisella virheellä tarkoitetaan mittausrvirhettä, joka pysyy mittausta toistettaessa vakiona tai vaihtelee ennustettavasti. Systemaattisen virheen syntymisen mahdollisuutta vähentää luotettavasti suoritettu menetelmän kalibrointi. (Hiltunen ym. 2011.)

Toistettavuus kuvaa täsmällisyyttä johon menetelmä yltää, kun määritys tehdään toistettavissa olosuhteissa lyhyellä aikavälillä. Toistettavuutta voidaan määrittää tekemällä

rinnakkaismääriytyksiä erityyppisistä näytteistä sekä pitoisuuksista. Sarjan sisäinen vaihtelu on usein pienempää, kuin sarjojen välinen. Jos sarjojen välinen vaihtelu on kuitenkin merkittävästi suurempaa, kuin sarjan sisäinen, voidaan sarjojen välillä todeta esiintyvän todellista vaihtelua. Hajonnan syy on pyrittävä selvittämään, sillä verifiointia ei voida hyväksyä, jos menetelmä ei anna toistettavia tuloksia. Sarjojen välinen toistettavuus pyritään määrittämään pitkällä aikavälillä, jotta analyysitekijöiden (lämpötila, säilyvyys, homogeenisyys ym.) vaihtelun vaikutus nähdään. (Hiltunen ym. 2011.)

Mittausalue kuvaa tutkittavan analyytin pitoisuusaluetta, jossa menetelmää voidaan käyttää käyttötarkoitukseensa sopivalla tarkkuudella. Lineaarinen alue kuvaa mittausalueen osaa, jossa analyytin vaste on lineaarinen analyytin pitoisuuteen nähden. Mittausalueen alkupäässä mahdollisena haasteena on menetelmän määritysraja. Määritysrajalla (alempi määritysraja, LLOQ) tarkoitetaan pienintä analyytin pitoisuutta, joka voidaan havaita hyväksyttävällä tarkkuudella. (EMA 2011). Loppupäässä rajoittava tekijä on analyysilaitteen kyky havaita analyytin pitoisuuden muutoksia (ylempi määritysraja, ULOQ). (Hägg 2016).

4 Opinnäytetyön tarkoitus, tavoitteet ja tutkimuskysymykset

Opinnäytetyön tarkoituksena oli verifioida reagenssimuutoksen vuoksi uudistettu analyysimenetelmä T3-V-tutkimukselle Keski-Suomen Sairaala Novan laboratoriossa, eli verrata menetelmien tulostasoa tilastollisen analyysin avulla. Reagenssimuutos tehtiin valmistajan toimesta T3-V-tutkimuksen biotiinihäiriön poistamiseksi, jolloin syntyi myös tarve verifioida uusi menetelmä. Biotiinihäiriön poistumisen myötä tilaaja-asiakkaat saavat luotettavia tuloksia myös niiltä potilailta, joilla on korkea veren biotiinipitoisuus. Potilas välttyy ylimääräiseltä esivalmistelulta ja turhilta laboriokäynneiltä. Asiakas hyötyy, kun tutkimustulokset ovat luotettavia ja väärän diagnoosin riski pienenee. Myös tutkimusten tuottaja hyötyy, kun resursseja ei jouduta käyttämään poikkeavien tutkimustulosten selvittelyyn. Tutkimuskysymykset olivat:

1. Miten vertailukelpoinen päivitetty T3-V-menetelmä on vanhaan menetelmään nähden?
2. Miten vertailukelpoisia rinnakkaislaitteen tulokset ovat referenssilaitteen tulosten kanssa?

5 Opinnäytetyön menetelmät

Empiirisen eli havainnoivan tutkimuksen tavoitteena on vastata tutkimusongelmasta johdettuihin tutkimuskysymyksiin. Tutkimusongelma ratkaisee käytettävän tutkimusmenetelmän. Verifiointiin sopi parhaiten kvantitatiivinen eli määrällinen tutkimusmenetelmä, sillä tutkimusaineisto oli numeerisessa muodossa ja tarkoituksena oli selvittää lukuja ja prosenttiosuuksia koskevia kysymyksiä. Kvantitatiivinen tutkimus vastaa esimerkiksi kysymyksiin mikä, missä ja kuinka paljon. Laadukkaaseen kvantitatiiviseen tutkimukseen tarvitaan riittävän suuri ja edustava aineisto ja tutkittavaa ilmiötä kuvailaan aikaansaadun numeerisen tiedon pohjalta. (Heikkilä 2014.)

5.1 Aineiston keruu

Empiiristä tutkimusta varten tuotettuja tietoja kutsutaan tutkimusaineistoksi. Aineisto voi olla primaarista, eli ko. tutkimusta varten hankittua, tai sekundaarista, eli alun perin muuhun tarkoitukseen hankittua (Heikkilä 2014). Aineistona käytettiin 53:a anonyymia potilasnäytettä, joissa oli erilaisia T3-V-pitoisuuksia. Varsinainen tutkimusaineisto muodostui näytteistä kahdella eri menetelmällä ja laitteella saaduista analyysituloksista. Näytemateriaalina käytettiin litiumhepariiniplasmaa. Pitoisuudet vaihtelivat matalista (1,3 pmol/l, aikuisväestön viiteväli Fimlabissa 3,1–6,8 pmol/l) erittäin korkeisiin (32,9–47,3 pmol/l). Näytteet oli kerätty kemian vastuuhoitajien toimesta Keski-Suomen keskussairaalan potilasnäytteiden joukosta. Lisäksi Fimlabin Tampereen keskuslaboratoriosta lähetettiin näytteitä, jolloin saatiin kerättyä edustava näytemäärä. Näytteet säilytettiin pakastettuna analysointipäivään asti.

5.2 Verifiointin toteutus

Kliinisen kemian ja immunokemian tutkimukset analysoidaan Keski-Suomen keskussairaalan laboratoriossa Cobas-analysaattoreilla. T3-V analysoidaan Cobas e801-yksiköllä. Analysaattoreita on kaksi kappaletta, Cobas 1:n toimiessa referenssilaitteena ja Cobas 2:n rinnakkaislaitteena. Verifiointin kokeellisessa osuudessa tukena oli kliinisen kemian vastuuhoitaja. Työskentely tapahtui sairaalakemistin laatiman verifiointisuunnitelman mukaisesti. Aluksi luotiin analysaattoreille uusi testiapplikaatio uudistettua menetelmää varten. Menetelmän kalibraattori (TSH CalSet) vaihtui uuteen. Kalibrointi tehtiin FT3 III CalSet-kalibraattorilla. Onnistuneen kalibroinnin jälkeen ajettiin tasokontrollit ennen potilasnäytteitä osana laadukasta analysointiprosessia. Kontrolleina käytettiin

Precicontrol Universalin tasoja 1 ja 2. Kontrollitulokset tavoitearvoineen on esitetty taulukossa 1.

Taulukko 1. Precicontrol Universal level 1 ja 2. Kontrollitulokset uudelle T3-V-menetelmälle, Cobas 1 ja Cobas 2.

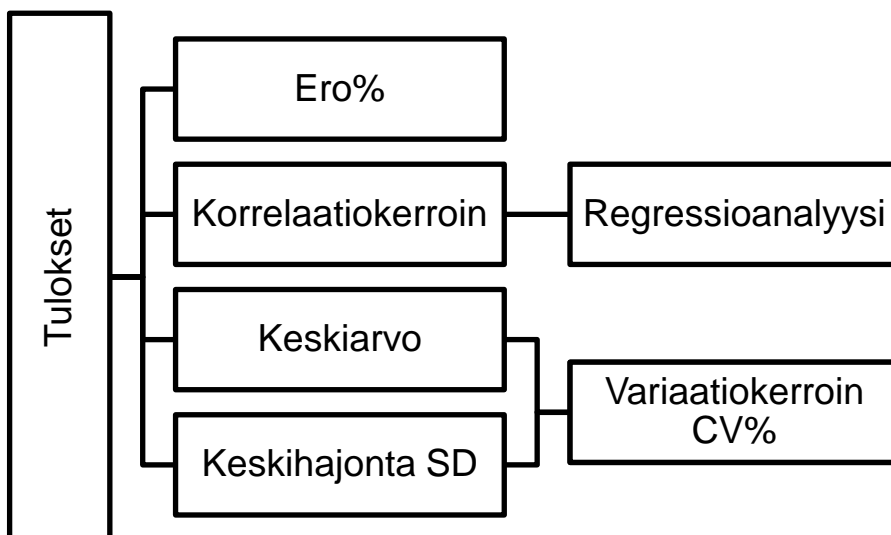
Kontrolli	T3-V Cobas 1	T3-V Cobas 2	Tavoite	Tavoite-rajat	1SD	Yksikkö
Precicontrol Universal 1	6.03	6.13	6.13	5.03–7.23	0.368	pmol/l
Precicontrol Universal 2	24.7	24.6	24.1	19.8–28.4	1.45	pmol/l

Molempien kontrollitasojen tulokset olivat erinomaiset ja lähes täysin valmistajan tavoitteiden mukaiset. Kontrolloinnin jälkeen tehtiin potilasnäytevertailu analysoimalla kaikki 53 näytettä vanhalla ja uudella menetelmällä referenssilaitteena toimineella Cobas 1:llä. Laitteiden välillä tehtiin laitevertailu analysoimalla Cobas 2:lla yhdeksän eri tasosta näytettä. Lisäksi analysoitiin sarjan sisäinen toistettavuus (15x) kolmella tasolla, jotka olivat matala taso (n. 3 pmol/l), keskitaso (n. 7 pmol/l) ja korkea taso (n. 16 pmol/l). Kullekin tasolle saatiin sopiva pitoisuus poolaamalla potilasnäytteitä. Kunkin tasoisesta poolista jaettiin näyte 15 eri näyteastiaan. Aineistomuotoon tulokset saatettiin tulostamalla ne suoraan analysaattoreilta ja syöttämällä ne käsin Microsoft Exceliin. Sarjojen välinen toistettavuus todettiin seuraamalla tasokontrollien tuloksia yhden kuukauden ajan.

5.3 Aineiston analysointi

Fimlabin diagnostiikka- ja asiakaspalvelussa sekä näiden tukitoiminnoissa käytettävät menetelmät valitaan siten, että saavutetaan käyttötarkoitukseen hyväksyttävä analyttinen ja toiminnallinen laatutaso. Menetelmämuutoksia tehdään havaittaessa mm. reagensseihin liittyviä perusteita. Ennen menetelmän käyttöönottoa varmistetaan sen toiminta verifioimalla, mikäli käytetään valmista menetelmäkonseptia, joka on valmistajan laajasti validoima. (Fimlab 2021.) Fimlabissa validoinnin ja verifioinnin parametrit valitaan tapauskohtaisesti. Yleensä Tampereen keskuslaboratoriossa tehdään kattavin ve-

rifiointi ja pienemmät laboratoriot, kuten Keski-Suomen keskussairaalan laboratorio, tekevät suppeamman. Tässä tapauksessa verifiointi tehtiin kuitenkin kattavimpana Keski-Suomen keskussairaalan laboratoriossa. Verifioitaviksi parametreiksi valikoitiin potilasnäytevertailu käytössä olevaan menetelmään, laitevertailu referenssi- ja rinnakkaislaitteen välillä, sarjan sisäinen toistettavuus sekä sarjojen välinen toistettavuus. Potilasnäyte- ja laitevertailusta laskettavia hajonta- ja sijaintilukuja on selvennetty kuviossa 6.



Kuvio 6. Potilasnäyte- ja laitevertailun tuloksista johdettavia lukuja.

Potilasnäytevertailun tavoite oli todentaa, että vanhalla ja uudella menetelmällä saadaan samasta näytteestä keskenään samantasoisia tuloksia. Käytännössä molempia menetelmiä hyödyntämällä saaduista rinnakkaistuloksista laskettiin eroprosentit. Eroprosentti kuvaa tulostasojen eroavaisuuksia. Menetelmävertailussa tarkasteltiin korrelaatiokertoimen avulla lineaarista riippuvuutta ja suoritettiin regressioanalyysi. Kahden laitteen välisessä laitevertailussa toimittiin samalla tavalla, mutta otanta oli pienempi. Sarjan sisäinen toistettavuus määritettiin analysoimalla eritasoisia sarjoja referenssilaitteella. Sisäinen toistettavuus koostui eroprosenttien, keskiarvon ja keskihajonnan laskemisesta kolmesta toistosarjasta. Lisäksi laskettiin variaatiokerroin CV%, jota verrattiin valmistajan ilmoittamaan variaatiokertoimeen. Lisäksi määritettiin sarjojen välinen toistettavuus tasokontrolleilla päivittäisrutiinin yhteydessä kuukauden ajan. Sarjojen välistä toistettavuutta kuvattiin laskemalla tasokontrollien tuloksista keskiarvo, keskihajonta ja variaatiokerroin.

5.3.1 Potilasnäyte- ja laitevertailun menetelmät

Potilasnäytevertailu oli verifiointin keskeisin osuus. Potilasnäytevertailussa samat näytteet analysoitiin kahdella menetelmällä, samalla laitteella. Laitevertailu tapahtui samalla tavalla, mutta toisena muuttujana olivat rinnakkaislaitteen tulokset. Tulosten välistä riippuvuutta tarkasteltiin korrelaation avulla, joka ilmaisee muuttujien välisiä riippuvuuksia. Tavallisimmin käytetään Pearsonin korrelaatiota eli tulomomenttikerrointa, joka mittaa lineaarisen riippuvuuden voimakkuutta. Korrelaatiokerroin vaihtelee -1:n ja 1:n välillä. Arvo 0 kertoo, että lineaarista riippuvuutta ei ole. Jos kerroin on 1, voidaan muuttujien välillä todeta voimakas positiivinen korrelaatio, jolloin toisen muuttujan kasvaessa toisenkin kasvaa. Mikäli korrelaatiokerroin on -1 tai sen lähellä, voidaan muuttujien välillä todeta olevan voimakas negatiivinen korrelaatio. Silloin muuttujan kasvaessa toisen muuttujan arvo pienenee. (Heikkilä 2014).

Mikäli lineaarinen riippuvuus todetaan muuttujien välillä, voidaan riippuvuutta kuvata regressiosuoran avulla. Toinen muuttuja asetetaan pistekaavion x-akselille (esim. potilasnäytevertailussa uuden analyysimenetelmän tulokset) ja toinen y-akselille (vanhan menetelmän tulokset). Pistekaavion yksittäinen piste ilmaisee havaintoparia (x, y). Regressiosuoran yhtälö saadaan sovittamalla se havaintoparien muodostamaan pisteiden joukkoon. (Heikkilä 2014.)

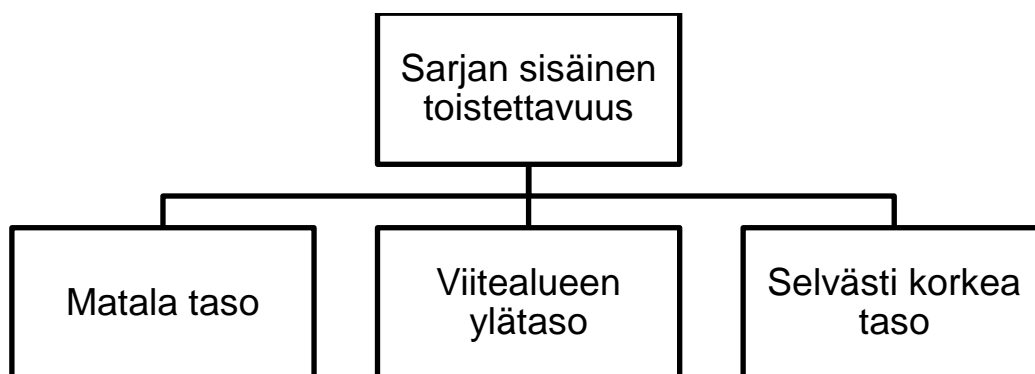
Potilasnäyte- ja laitevertailuissa tärkeä arvo on eroprosentti. Eroprosentti laskettiin Excelissä seuraavalla kaavalla:

$$\frac{x - y}{x} \cdot 100\%$$

Kaavassa x kuvaa uuden applikaation tulosta ja y vanhan applikaation tulosta. Tulosten erotus jaetaan uuden applikaation tuloksella ja kerrotaan sadalla, jolloin tuloksena on prosenttiluku.

5.3.2 Sarjan sisäinen ja sarjojen välinen toistettavuus

Sarjan sisäinen toistettavuus määritettiin analysoimalla kolme 15 näytteen sarjaa (kuvio 7). Kussakin sarjassa oli 15 keskenään saman pitoisuuden omaavaa näytettä. Sisäistä toistettavuutta tutkitaan määrittämällä variaatiokerroin (CV%), joka ilmoittaa tulosten hajonnan, kun määrytykset tehdään samasta näytteestä (Hägg 2016).



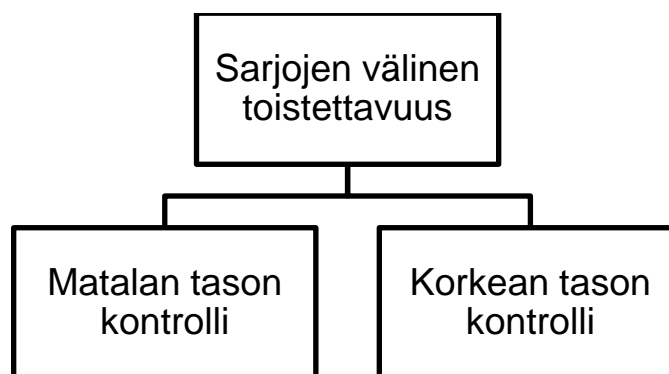
Kuvio 7. Sarjan sisäinen toistettavuus kolmella pitoisuudella.

Hajontalukujen avulla voidaan kuvata toistomittausten hajontaa. Käytetyin ja tärkein hajontaluku on keskihajonta. Keskihajonta eli standardipoikkeama (SD) kuvaa, kuinka hajallaan arvot ovat keskiarvosta (Heikkilä 2014). Variaatiokertoimen eli suhteellisen hajonnan (CV%) avulla saadaan eri muuttujien arvojen hajonnat vertailukelpoisiksi. Variaatiokerroin v lasketaan jakamalla keskihajonta s keskiarvolla \bar{x} . Variaatiokerroin ilmoitetaan prosentteina:

$$v = \frac{s}{\bar{x}} \cdot 100\%$$

Jakauman sijainnin kuvaamiseen käytetään sijaintilukuja. Niistä keskiarvoa, moodia ja mediaania kutsutaan ns. keskiluvuiksi. Toistettavuuksia tarkasteltaessa täytyy määrittää keskiarvo, joka saadaan jakamalla havaintoarvojen summa niiden lukumäärällä. Keskiarvo on sitä käyttökelpoisempi suure, mitä enemmän havaintoja on. Silloin poikkeavat arvot eivät vaikuta keskiarvoon liiallisesti. (Heikkilä 2014.)

Sarjojen välinen toistettavuus (kuvio 8) kuvaa menetelmän toistettavuuden laboratoriossa esimerkiksi eri päivinä tai eri henkilöiden suorittamana (Hägg 2016). Sarjojen välistä toistettavuutta seurattiin rutiinianalytiikan yhteydessä kontrollituloksista aikavälillä 9.10.–8.11.2021 ja laskettiin niiden kontrollitulosten keskiarvo, keskihajonta sekä variaatiokerroin.



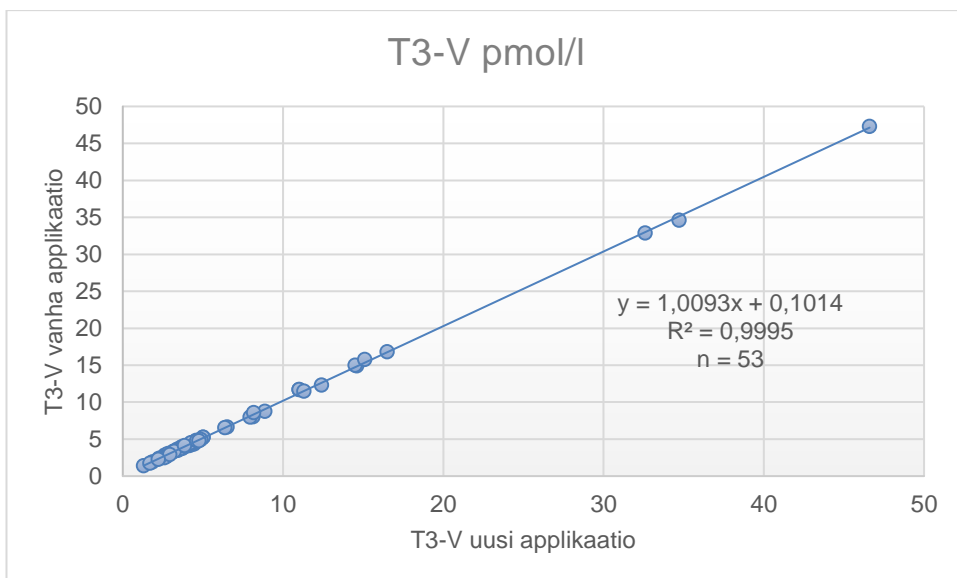
Kuvio 8. Sarjojen välinen toistettavuus.

6 Tulokset

Tulokset koostuvat 53:n potilasnäytteen kahdella eri menetelmällä analysoiduista vapaan trijodityroniinin pitoisuuksista. Sarjan sisäisen toistettavuuden tulokset on saatu analysoimalla 15 kertaa sama näyte kolmella eri pitoisuudella. Vanhalla menetelmällä viitataan väistyvään, 70 ng/ml potilaan plasman biotiinia sietävään T3-V applikaatioversioon 10082. Uudella menetelmällä tarkoitetaan verifioitavaa T3-V applikaatioversiota 10220, jonka biotiinihäiriön raja on 1200 ng/ml.

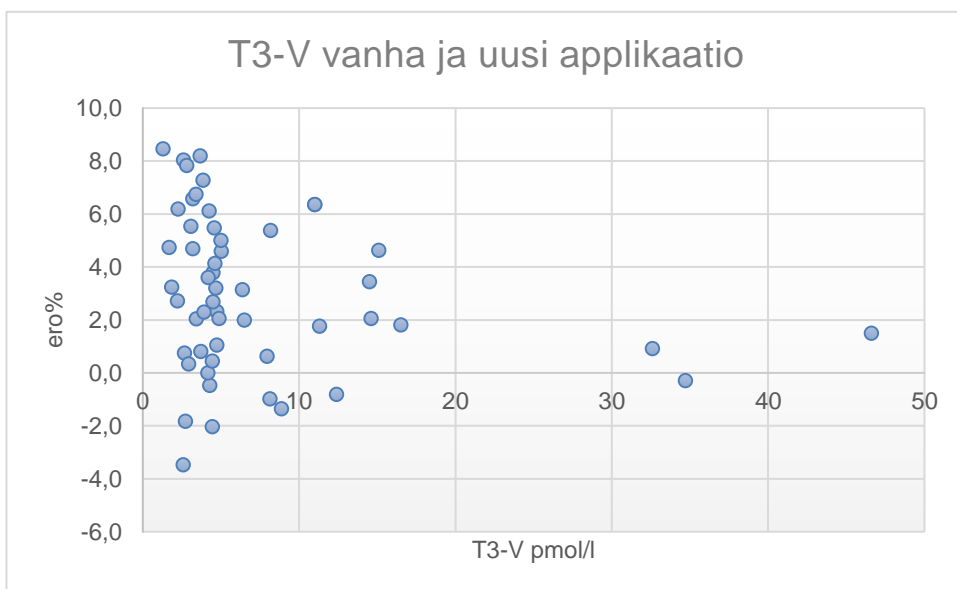
6.1 Potilasnäytevertailu vanhalla ja uudella menetelmällä

Referenssilaitteena toimivalla Cobas 1:lla analysoitiin kaikki 53 potilasnäytettä. Liitteessä 1 on kuvattu vanhan ja uuden menetelmän analysaattorilta saadut tulokset. Tuloksissa voi jo silmämääräisesti havaita yhteneväisyyttä. Kuviossa 9 on kuvattuna potilasnäytevertailun tulokset pitoisuusalueelta 1,3–47,3 pmol/l. Kuviossa vanhan ja uuden menetelmän rinnakkaistulokset muodostavat havaintopareja. Kuvioista havaitaan voimakas, positiivinen lineaarinen riippuvuus vanhan ja uuden menetelmän välillä (korrelaatiokerroin $r = 0,99976$).



Kuvio 9. Vanhan ja uuden menetelmän tulostasovertilau.

Lineaarisen riippuvuuden toteamisen jälkeen voidaan suorittaa regressioanalyysi. Havaintoparien joukkoon muodostetaan regressiosuora. Regressiosuoran yhtälö on $y = 1,0093x + 0,1014$. Selitysasteeksi (R^2) saadaan 0,9995 eli n. 99 %. Menetelmien välillä on tilastollisesti todistettava lineaarinen riippuvuus, josta voidaan päätellä tulostasojen olevan yhteneväiset.

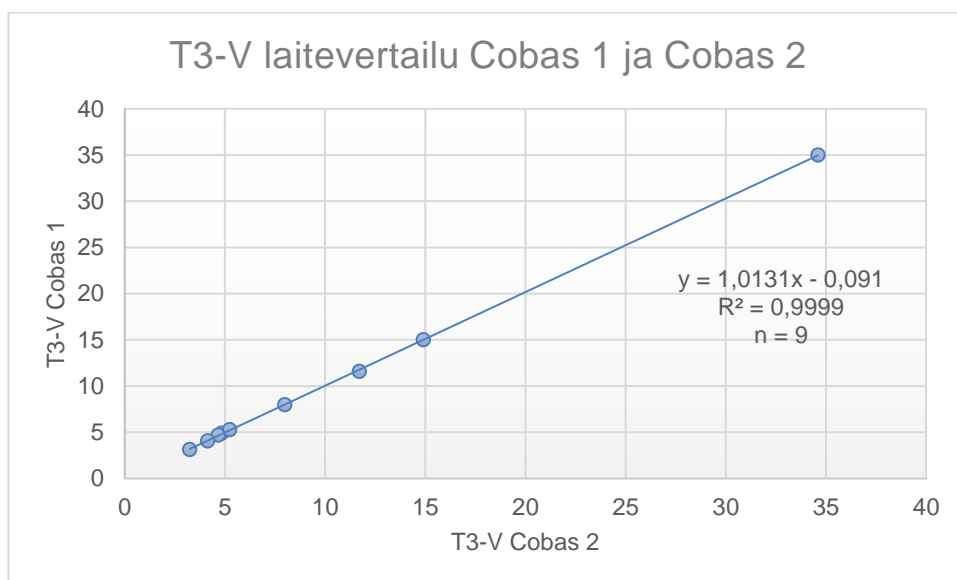


Kuvio 10. Potilasnäytevertailun ero prosenttien hajonta, Cobas 1.

Kuviosta 10 nähdään eroja menetelmien tulostasoissa. Ero prosenttien hajonta Cobas 1:n tuloksien avulla tarkasteltuna on noin 2,3 %. Ero prosentit vaihtelevat nollan ja 8,5 % välillä.

6.2 Laitevertailu Cobas 1:n ja Cobas 2:n välillä

Laboratorion kahdella Cobas-laitteella on tarkoitus saada samankaltaisia tuloksia. Vika-tilanteessa toinen analyysaattori on lähes aina käytössä, jotta potilastuloksien vastaaminen varmistetaan. Laitevertailu tehtiin yhdeksällä näytteellä (kuvio 11). Tulokset on tau-lukoitu liitteeseen 2.

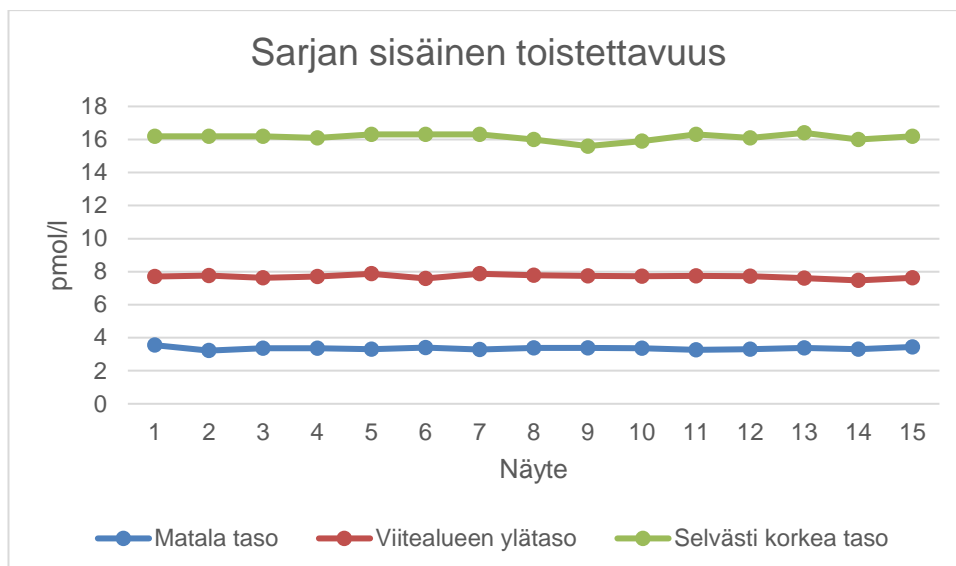


Kuvio 11. Laitevertailu eri laitteilla käytetyn uuden menetelmän välillä.

Tulosten välillä havaitaan voimakas, positiivinen korrelaatio regressiosuoran yhtälön ollessa $y = 1,0131x - 0,091$. Selitysasteeksi saadaan $0,9999 = n. 99 \%$, josta voidaan päätellä analyysaattorien tulostasojen olevan erittäin lähellä toisiaan.

6.3 Sarjan sisäinen toistettavuus

Sarjan sisäistä toistettavuutta tarkastellaan kolmella tasolla, jotka ovat matala taso, viitealueen ylätaso sekä selvästi korkea taso (kuvio 12). Matalan tason pitoisuus on keskimäärin 3,35 pmol/l, viitealueen ylätaso 7,70 pmol/l ja selvästi korkea taso 16,14 pmol/l. Toistettavuussarjojen tulokset ovat liitteessä 3.



Kuvio 12. Sarjan sisäinen toistettavuus kaaviona.

Taulukosta 2 voidaan tarkastella sarjan sisäisen toistettavuuden hajontalukuja ja verrata variaatiokerrointa (CV%) valmistajan ilmoittamaan arvoon. Matalalla tasolla CV% on 2,38 % ja valmistajan ilmoittama tavoite 2,70 %. Viitealueen ylätasolla CV% on 1,39 % ja valmistajan tavoite on 1,90 %. Selvästi korkealla tasolla CV% on 1,26 %, kun valmistajan tavoite on 1,30 %.

Taulukko 2. Sarjan sisäinen toistettavuus hajontalukuina.

Sarja	Keskiarvo	SD	CV%	Valmistajan ilmoittama CV%
Selvästi korkea taso	16,14	0,20	1,26	1,30
Viitealueen ylätaso	7,70	0,11	1,39	1,90
Matala taso	3,35	0,08	2,38	2,70

6.4 Sarjojen välinen toistettavuus

Sarjojen välistä toistettavuutta tarkastellaan tasokontrollien tuloksista kuukauden ajanjaksolta. Taulukosta 3 nähdään kontrollitulosten variaatiokertoimet sekä valmistajan ilmoittamat tavoitteet.

Taulukko 3. Sarjojen välinen toistettavuus tasokontrolleilla mitattuna.

	Precicontrol Uni- versal 1 (CV%)	Precicontrol Uni- versal 2 (CV%)
Cobas 1	1,9 %	1,5 %
Cobas 2	1,6 %	1,4 %
Valmistajan ta- voite	2,0 %	1,5 %

Sarjojen välinen toistettavuus on variaatiokertoimella esitettyä matalan tason kontrollilla 1,9 % (Cobas 1) ja 1,6 % (Cobas 2). Korkean tason variaatiokerroin on 1,5 % (Cobas 1) ja 1,4 % (Cobas 2).

7 Pohdinta

7.1 Tulosten tarkastelu

Verifiointi toteutettiin analysoimalla näytteitä referenssilaitte Cobas 1:llä sekä laitevertailua varten Cobas 2:lla. Verifiointin tavoitteena oli vertailla uuden menetelmän tulostaso vanhaan menetelmään sekä vertailla referenssilaitteen ja rinnakkaislaitteen uudella menetelmällä antamia tuloksia. Verifiointiin sisällytettiin erilaisia parametreja, joita olivat potilasnäytevertailu vanhalla ja uudella menetelmällä, laitevertailu referenssi- ja rinnakkaislaitteen välillä, sarjan sisäinen toistettavuus sekä sarjojen välinen toistettavuus.

Potilasnäytevertailussa tarkasteltiin vanhan ja uuden menetelmän antamia tuloksia 53 potilasnäytteen aineistosta. Tulosten välinen korrelaatiokerroin oli $r = 0,99976$. Regressiosuoran yhtälö on $y = 1,0093x + 0,1014$ ja selitysasteeksi R^2 saatiin 0,9995. Tulosten välillä on voimakas, positiivinen korrelaatio ja tuloksia voidaan pitää erittäin yhteneväisinä. Keskimääräinen tulostasoero (eroprocentti) menetelmien välillä oli 2,3 %, joka ei ole kliinisesti merkittävä. Vastaus ensimmäiseen tutkimuskysymykseen on, että menetelmien tulokset ovat keskenään erittäin hyvin vertailukelpoiset. Menetelmän tulostaso ei käytännössä muutu reagenssivaihdoksen myötä.

Laitevertailu tehtiin yhdeksällä näytteellä, joiden pitoisuudet vaihtelivat välillä 3,14–35,0 pmol/l. Tulostasoero oli ainoastaan 0,1 %. Myös laitteiden välinen regressiosuoran kuvaaja ilmaisee voimakasta, positiivista lineaarista riippuvuutta. Regressiosuoran yhtälö

on $y = 1,0131x - 0,091$ ja korrelaatiokerroin 0,9999. Vastaus toiseen tutkimuskysymykseen on, että laitteiden väliset tulokset ovat erittäin hyvin vertailukelpoiset. Potilastulosten kannalta ei ole väliä, kumpaa laitetta analysointiin käytetään.

Sarjan sisäinen toistettavuus kertoo, kuinka samankaltainen tulos saadaan, kun samasta näytteestä tehdään perättäisiä analyyseja. Sarjan sisäinen toistettavuus tehtiin poolaamalla näytteitä haluttujen pitoisuuksien saamiseksi. Näytepooleja tehtiin kolme kappaletta, joiden T3-V-pitoisuudet olivat n. 3,3 (matala taso), 7,7 (viitealueen ylätaso) ja 16,1 pmol/l (selvästi korkea taso). Kustakin näytepoolista jaettiin näytettä 15 näyteastiaan ja näytteet analysoitiin Cobas 1:lla Sarjan sisäinen toistettavuus on kauttaaltaan hyvää luokkaa CV%:n vaihdellessa 1,26 % ja 2,36 % välillä. Variaatiokertoimet vastaavat valmistajan ilmoittamia tavoitteita hyvin.

Sarjojen välistä toistettavuutta ei mitattu opinnäytetyön kokeellisen osuuden yhteydessä, vaan sitä seurattiin tasokontrolleista yhden kuukauden ajan aikavälillä 9.10.2021–8.11.2021. Roche Diagnostics oli ilmoittanut sarjojen välisen toistettavuuden variaatiokertoimeksi matalan tason kontrollille 2,0 % ja korkean tason kontrollille 1,5 %. Verifiointin jälkeisenä seuranta-aikana sarjojen väliset toistettavuudet olivat matalalla tasolla 1,9 % (Cobas 1) ja 1,6 % (Cobas 2). Matalan tason kontrolleilla mitatut toistettavuudet vastasivat siis valmistajan ilmoitusta erittäin hyvin. Korkean tason kontrollin tavoite oli 1,5 %. Cobas 1:lla saatiin toistettavuudeksi 1,5 % ja Cobas 2:lla 1,4 %. Myös korkean tason toistettavuus vastasi valmistajan tavoitetta hyvin, suorastaan erinomaisesti.

Verifiointia voidaan pitää onnistuneena. Potilasnäytevertailujen tulokset ovat hyväksyttävissä. Sarjan sisäinen ja sarjojen välinen toistettavuus ovat hyvin vastaavat valmistajan ilmoittamien tavoitteiden kanssa. Reagenssin vaihto parantaa menetelmän biotiinin sietoa merkittävästi (häiriöraja nousee 70:sta 1200:n nanogrammaan litrassa) ja mahdollistaa luotettavat tulokset myös potilaille, joilla on suuriannoksinen biotiinihoito käynnissä.

7.2 Tulosten luotettavuus

Tutkimuksen luotettavuutta voidaan tarkastella termeillä validiteetti, eli pätevyys, ja reliabiliteetti, eli luotettavuus. Validiteetilla tarkoitetaan karkeasti systemaattisen virheen puuttumista. Tutkimusta suunniteltaessa on asetettu täsmälliset tavoitteet, jotta tutkimuksessa mitattaisiin oikeita asioita ja tiedonkeruu kohdistettaisiin oikein. Reliabiliteetti

sen sijaan kuvaa tutkimustuloksien tarkkuutta. Jotta tulos on luotettava, täytyy tutkimuksen olla toistettavissa samankaltaisin tuloksin. Työn huolellinen suunnittelu ja dokumentointi vähentää virheiden mahdollisuutta. Luotettavuuteen liittyy myös relevanttien tilastollisten menetelmien käyttö tulosten analysointiin ja tutkijan taito tulkita tilastoja. (Heikkilä 2014.)

Verifiointit tehdään kliinisen kemian laboratoriossa arkipäivinä ja rutiinianalytiikan yhteydessä. Verifiointiajankohta on syytä suunnitella huolellisesti ja aina ei voida varmistaa, että esimerkiksi laitevikoja ei satu suunniteltuna ajankohtana. Luotettavien verifiointitulosten aikaansaamiseksi on myös tärkeää kerätä eri pitoisuuksia omaavia näytteitä. Jotta voidaan arvioida menetelmän tarkkuutta esimerkiksi pitoisuuksilla 3 pmol/l ja 35 pmol/l, täytyy molempia pitoisuuksia olla saatavilla. Menetelmän kalibroinnin ja kontrolloinnin onnistuminen takaa luotettavat tulokset ja siten saadaan minimoitua systemaattisen virheen mahdollisuus. Verifiointin toteutusta ohjaa verifiointisuunnitelma ja toteutus tapahtuu aina sairaalakemistin valvonnassa. Verifiointisuunnitelma ja -raportti mahdollistavat verifiointin toistamisen tarvittaessa. Tuloksia tarkastellaan ainoastaan relevanttien tilastollisten menetelmien avulla, jolloin vältetään turhalta työltä. Tulosten tarkastelusta ja luotettavuudesta on vastuussa sairaalakemisti ja kliinisen merkityksen arvioinnin tekee kliinisen kemian ja laboratoriolääketieteen erikoislääkäri.

7.3 Opinnäytetyön eettisyys

Bioanalyytikon eettisissä ohjeissa (Bioanalytikkoliitto 2017) on määritelty bioanalytikoiden ja laboratoriohoitajien työn eettisiä lähtökohtia. Potilaan hyvinvointi ja hänen oikeuksiensa kunnioittaminen ovat bioanalyytikon ensisijaisia tavoitteita kaikissa laboratoriotutkimusprosessin vaiheissa. Opinnäytetyössä potilaiden yksityisyyttä suojattiin käyttämällä anonymisoituja näytteitä. Ammattitaidon syventäminen ja kehittäminen on keskeinen tavoite opinnäytetyössä. Myös eettiset ohjeet mainitsevat osaamisen kehittämisen ja tieteellisin menetelmin hyväksytyjen menetelmien omaksumisen. Bioanalyytikon tulee käyttää hyväksytyjä menettelytapoja ja vastata laboratoriotutkimusten laadusta sekä luotettavuudesta. Verifiointi on yksi laboratorion laatutyöskentelyn perusasioista. Bioanalytikko kunnioittaa kollegojen ja muiden ammattiryhmien asiantuntemusta. Tässä opinnäytetyössä hyödynnettiin kokoneiden vastuuhoidtajien sekä sairaalakemistin ammattitaitoa. Bioanalytikko pyrkii edistämään yksilön, väestön ja elinympäristön terveyttä ja opinnäytetyö tehtiin osana pyrkimystä luotettavien laboratoriotulosten aikaansaamiseen. (Bioanalytikkoliitto 2017.)

Tutkimuseettisen neuvottelukunnan (2012: 6–7) mukaan tutkimus voi olla luotettavaa ja etiikaltaan hyväksyttävää vain, jos noudatetaan hyvää tieteellistä käytäntöä. Lähtökohdista tutkimusprosessissa ovat tieteelliset toimintatavat eli huolellisuus, tarkkuus ja rehellisyys. Opinnäytetyössä em. toimintatavat näkyivät lähdekriittisyytenä, riittävän tietoperustan hankkimisena sekä oman, alkuperäisen tekstin tuottamisena. Tiedonhaku tehtiin hyödyntämällä tietokantoja (pääasiassa PubMed), joka näkyy lähteinä käytettyjen tieteellisten artikkelien määrässä. Myös tiedonhaun työpajaan osallistuttiin jo suunnitelmavaiheessa. Lisäksi opinnäytetyössä käytettiin eettisesti kestäviä tiedonkeruuta, tutkimus- ja arviointimenetelmiä. Muiden tekemiin tieteellisiin julkaisuihin viitattiin asianmukaisesti ja pyrittiin tuomaan esiin niiden merkitys omassa työssä. Valmis opinnäytetyö tallennetaan asianmukaisesti. Tutkimuslupaa tiedusteltiin Fimlab Laboratoriot Oy:n HR-koordinaattorilta. Tutkimuslupan hankkimiselle ei todettu olevan tarvetta, koska työssä ei käytetty henkilötietoja. Salassapitosopimus kuitenkin laadittiin laboratorion toimintatavan mukaisesti. Salassapitovelvollisuus lukeutuu myös bioanalyytikon eettisiin ohjeisiin. Verifiointissa käytettäviksi näytteiksi kerättiin oikeita potilasnäytteitä. Potilasnäytteisiin ei liittynyt henkilötietojen käsittelyä, sillä näytteet olivat anonymisoituja.

7.4 Ammatillinen kasvu

Opinnäytetyöprosessi käynnistyi keväällä 2021 opinnäytetyön aiheen sopimisella yhteistyötahon kanssa. Aihe tarkentui elokuussa 2021 T3-V-menetelmäverifiointiksi. Elokuussa aloitettiin myös opinnäytetyön suunnitelman kirjoittaminen. Opinnäytetyön kokeellinen osuus oli lyhyt, koska verifiointit tehdään rutiinianalytiikan lomassa sopivana ajankohtana. Raportin kirjoittaminen tapahtui pääosin joulukuun 2021 ja tammikuun 2022 aikana. Opinnäytetyön sujuvaa etenemistä tuki yhteistyötaholta saatu ohjaus ja muutenkin sujuva yhteistyö. Työn tekeminen syvensi ymmärrystä kliinisen kemian laboratorion laadusta ja sitä ohjaavista säädöksistä. Tieteellisen tiedon hankintaa harjoitettiin runsaasti koulutuksen aikana ja hyödyt tulivat esiin opinnäytetyön tiedonhankinnassa. Tiedonhankintataidot olivat jo hyvällä tasolla prosessin alkaessa. Oppimista tapahtui tietoperustan hankinnassa, kun ymmärrys kilpirauhashormoneista lisääntyi. Myös perusteellinen perehtyminen menetelmäperiaatteeseen tuntui palkitsevalta, vaikka opinnäytetyön tavoite olikin ainoastaan menetelmän verifiointi. Vasta-ainereaktioiden ymmärtäminen on kuitenkin tärkeä osa bioanalyytikon osaamista, jota tarvitaan käytännössä kaikilla bioanalyytikon työkenttään kuuluvilla erikoisaloilla. Tilastollisten menetelmien hyödyntäminen vaatii jonkin verran perehtymistä ja opiskelua. Tilastojen analysointi ja tulkinta poikkeaa bioanalyytikon ns. suorittavasta roolista ja avaa myös

sairaalakemistin työnkuvaa laboratoriossa. Sitä kautta laboratoriotyön kokonaisuus hahmottuu aikaisempaa kattavammin.

Lähteet

Ardabilgazar, Arash & Afshariyamchlou, Sonia & Mir, Danial & Sachmechi, Issac 2018. Effect of High-dose Biotin on Thyroid Function Tests: Case Report and Literature Review. *Cureus* 10 (6). <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6103391/>>. Viitattu 20.12.2021.

Barbesino, Giuseppe 2016. Misdiagnosis of Graves' Disease with Apparent Severe Hyperthyroidism in a Patient Taking Biotin Megadoses. *Thyroid* 26 (6). 860–863.

Bioanalytikkoliitto 2017. Bioanalytikon, laboratoriohoitajan eettiset ohjeet. <https://www.bioanalytikkoliitto.fi/@Bin/659271/Eettiset+periaatteet_FI_print_2017.pdf>. Viitattu 11.2.2022.

Bowen, Raffick & Benavides, Raul & Colón-Franco, Jessica M. & Katzman, Brooke M. & Muthukumar, Alagarraju & Sadrzadeh, Hossein & Straseski, Joely & Klause, Ursula & Tran, Nam 2019. Best practises in mitigating the risk of biotin interference with laboratory testing. *Clinical Biochemistry* 74. 1–11. <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31473202/>>. Viitattu 31.8.2021.

Ehlers, Margret & Schott, Matthias & Allelein, Stephanie 2019. Graves' disease in clinical perspective. *Frontiers In Bioscience* 24 (1). <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30468646/>>. Viitattu 14.1.2022.

EMA 2011. Guideline on bioanalytical method validation. European Medicines Agency 2011. <https://www.ema.europa.eu/en/documents/scientific-guideline/guideline-bioanalytical-method-validation_en.pdf>. Viitattu 20.3.2022.

Fimlab 2021. Verifioidussa ja validoidussa noudatettavat periaatteet. Sisäinen ohje. Versio 1.4. Laatinut Sari Kärki 19.2.2021. Hyväksynyt Marjukka Härkönen 9.3.2021.

Feldt-Rasmussen, Ulla & Effraimidis, Grigoris & Klose, Marianne 2021. The hypothalamus-pituitary-thyroid (HPT)-axis and its role in physiology and pathophysiology of other hypothalamus-pituitary functions. *Molecular and Cellular Endocrinology* 525. <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33549603/>>. Viitattu 10.1.2022.

Heikkilä, Tarja 2014. Tilastollinen tutkimus. Helsinki: Edita Publishing Oy.

Hiltunen, E. & Linko, L. & Hemminki, S. & Hägg, M. & Järvenpää, E. & Saarinen, P. & Simonen, S. & Kärhä, P. 2011. Laadukkaan mittaamisen perusteet. Espoo: Metrologian neuvottelukunta 2011. <<https://www.vttresearch.com/sites/default/files/pdf/MIKES/2011-J4.pdf>>. Viitattu 17.3.2022.

Hytönen, Vesa P. 2017. Optimized Streptavidin for Fluorescent Labeling of Biotinylated Targets. *Cell Chemical Biology* 24 (8). 921–922. <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28820961/>>. Viitattu 17.12.2021.

Hägg, Margareta (toim.) 2016. Validoinnin suunnittelun opas. Espoo: Teknologian tutkimuskeskus VTT. <<https://www.vttresearch.com/sites/default/files/pdf/technology/2016/T276.pdf>>. Viitattu 6.9.2021.

Häggström, Mikael 2009. Thyroid System. Wikimedia Commons.

Kainulainen, Kristiina 2021. Sairaalakemisti. Fimlab Keski-Suomen keskussairaalan laboratorio. Sähköpostiviesti 21.12.2021.

Kazerouni, Faranak & Amirrasouli, Houshang 2012. Performance characteristics of three automated immunoassays for thyroid hormones. *Caspian Journal of Internal Medicine* 3 (2). 400–404. <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3861902/>>. Viitattu 7.9.2021.

Koivunen, Marja E. & Krogsrud, Richard L. 2006. Principles of Immunochemical Techniques Used in Clinical Laboratories. *Laboratory Medicine* 37 (8). 490–497. <<https://doi.org/10.1309/MV9RM1FDLWUWQ3F>>. Viitattu 4.4.2022.

Luong, John H. T. & Vashist, Sandeep K. 2019. Chemistry of Biotin-Streptavidin and the Growing Concern of an Emerging Biotin Interference in Clinical Immunoassays. *ACS Omega* 5 (1). 10–18. <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31956746/>>. Viitattu 21.2.2022.

Medici, Marco & Visser, W. Edward & Visser, Theo J. & Peeters, Robin P. 2015. Genetic determination of the Hypothalamic-Pituitary-Thyroid Axis: Where Do We Stand?. *Endocrine Reviews* 36 (2). 214–244. <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25751422/>>. Viitattu 16.12.2021.

Mendoza, Arturo & Hollenberg, Anthony 2017. New Insights into Thyroid Hormone Action. *Pharmacology & Therapeutics* 173. 135–145. <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28174093/>>. Viitattu 21.8.2021.

NIH 2022. National Institutes of Health, Office of Dietary Supplements. Biotin: Fact Sheet for Health Professionals. Päivitetty 10.1.2022. <<https://ods.od.nih.gov/factsheets/Biotin-HealthProfessional/>>. Viitattu 1.4.2022.

Peeters, Robin P. & Visser, Theo J. 2017. Metabolism of Thyroid Hormone. Dartmouth, Massachusetts: MDText.com, Inc. <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK285545/>>. Viitattu 19.4.2022.

Roberts, Richard F. & La'ulu, Sonia L. & Roberts, William L. 2007. Performance characteristics of seven automated thyroxine and T-uptake methods. *Clinica Chimica Acta* 377 (1–2). 248–255. <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17126310/>>. Viitattu 28.9.2021.

Roche Diagnostics Oy 2021. Kuvan käyttöluupa sähköpostitse 15.9.2021. Päivi Fagerlund. Roche Diagnostics International Ltd, CH-6343 Rotkreuz, Sveitsi.

Ruokavirasto 2019. B-vitamiinit. Päivitetty 16.5.2019. <<https://www.ruokavirasto.fi/henkiloasiakkaat/tietoa-elintarvikkeista/elintarvikeryhmat/energiajuomat/energiajuomiin-lisattavat-vitamiinit-ja-muut-aineet/b-vitamiinit/>>. Viitattu 1.4.2022.

Schalin-Jääntti, Camilla 2019a. Kilpirauhaspotilaan tutkiminen. Helsinki: Kustannus Oy Duodecim 2021. Viitattu 8.9.2021.

Schalin-Jääntti, Camilla 2019b. Hypertyreoosi. Helsinki: Kustannus Oy Duodecim 2021. Viitattu 28.9.2021.

SFS-EN ISO 15189:2013. Suomen Standardisoimisliitto SFS.

Sheehan, Michael T. 2016. Biochemical Testing of the Thyroid: TSH is the Best and, Oftentimes, Only Test Needed – A Review for Primary Care. *Clinical Medicine & Research* 14 (2). 83–92. <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5321289/>>. Viitattu 14.4.2022.

Soh, Shui-Boon & Aw, Tar-Choon 2019. Laboratory testing in Thyroid Conditions - Pitfalls and Clinical Utility. *Ann Lab Med* 39 (1). 3–14. <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6143469/>>. Viitattu 24.8.2021.

Tourbah, Ayman & Lebrun-Frenay, Christine & Edan, Gilles & Clanet, Michel & Papeix, Caroline & Vukusic, Sandra & De Sèze, Jerome & Debouverie, Marc & Gout, Olivier & Clavelou, Pierre & Defer, Gilles & Laplaud, David-Axel & Moreau, Thibault & Labauge, Pierre & Brochet, Bruno & Sedel, Frédéric & Pelletier, Jean 2016. MD1003 (high-dose biotin) for the treatment of progressive multiple sclerosis: A randomised, double-blind, placebo-controlled study. *Multiple Sclerosis* 22 (13). 1719–1731. <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5098693/>>. Viitattu 1.4.2022.

Tutkimuseettinen neuvottelukunta 2012. Hyvä tieteellinen käytäntö ja sen loukkaus-epäilyjen käsitteleminen Suomessa. 6–7. <https://www.tenk.fi/sites/tenk.fi/files/HTK_ohje_2012.pdf>. Viitattu 27.9.2021.

T3-V tulokset vanhalla ja uudella menetelmällä, Cobas 1

	T3-V vanha applikaatio	T3-V uusi applikaatio	ero- tus	ero%
	5,01	5,24	0,2	4,6
	11,0	11,7	0,7	6,4
	14,6	14,9	0,3	2,1
	34,7	34,6	-0,1	-0,3
	3,07	3,24	0,2	5,5
	4,73	4,84	0,1	2,3
	8,13	8,05	-0,1	-1,0
	7,94	7,99	0,0	0,6
	4,49	4,66	0,2	3,8
	3,66	3,96	0,3	8,2
	4,56	4,81	0,3	5,5
	3,19	3,40	0,2	6,6
	4,28	4,26	0,0	-0,5
	4,68	4,83	0,2	3,2
	2,61	2,82	0,2	8,0
	2,66	2,68	0,0	0,8
	3,41	3,64	0,2	6,7
	4,15	4,15	0,0	0,0
	2,81	3,03	0,2	7,8
	3,42	3,49	0,1	2,0
	4,17	4,32	0,2	3,6
	5,00	5,25	0,3	5,0
	2,73	2,68	0,0	-1,8
	3,71	3,74	0,0	0,8
	1,85	1,91	0,1	3,2
	2,59	2,50	-0,1	-3,5

	2,26	2,40	0,1	6,2
	3,91	4,00	0,1	2,3
	3,20	3,35	0,2	4,7
	2,93	2,94	0,0	0,3
	4,44	4,35	-0,1	-2,0
	4,44	4,46	0,0	0,5
	4,48	4,60	0,1	2,7
	4,25	4,51	0,3	6,1
	6,50	6,63	0,1	2,0
	3,85	4,13	0,3	7,3
	4,87	4,97	0,1	2,1
	6,37	6,57	0,2	3,1
	46,6	47,3	0,7	1,5
	4,60	4,79	0,2	4,1
	11,0	11,7	0,7	6,4
	14,5	15,0	0,5	3,4
	1,30	1,41	0,1	8,5
	1,69	1,77	0,1	4,7
	11,3	11,5	0,2	1,8
	8,87	8,75	-0,1	-1,4
	8,17	8,61	0,4	5,4
	12,4	12,3	-0,1	-0,8
	15,1	15,8	0,7	4,6
	16,5	16,8	0,3	1,8
	32,6	32,9	0,3	0,9
	4,74	4,79	0,0	1,1
	2,21	2,27	0,1	2,7
ka	7,476	7,647	0,17	2,29

T3-V laitevertailu Cobas 1 ja Cobas 2

	T3-V uusi app. Cobas 1	T3-V uusi app. Cobas 2	erotus	ero%
	3,24	3,14	-0,1	-3,1
	4,84	4,89	0,0	1,0
	5,24	5,29	0,0	1,0
	7,99	7,99	0,0	0,0
	11,7	11,6	-0,1	-0,9
	14,9	15,0	0,1	0,7
	34,6	35,0	0,4	1,2
	4,66	4,70	0,0	0,9
	4,13	4,07	-0,1	-1,5
ka	10,14	10,19	0,04	-0,1

Sarjan sisäinen toistettavuus kolmella tasolla

	T3-V matala taso	T3-V viite- alueen ylätaso	T3-V sel- västi korkea taso
	3,55	7,70	16,2
	3,22	7,77	16,2
	3,36	7,63	16,2
	3,36	7,71	16,1
	3,30	7,87	16,3
	3,40	7,58	16,3
	3,28	7,87	16,3
	3,39	7,78	16,0
	3,38	7,75	15,6
	3,37	7,73	15,9
	3,27	7,74	16,3
	3,30	7,72	16,1
	3,38	7,61	16,4
	3,31	7,47	16,0
	3,44	7,62	16,2
ka	3,35	7,70	16,1
sd	0,08	0,11	0,20
cv%	2,38 %	1,39 %	1,26 %