



Linnéuniversitetet

Fakulteten för hälso- och livsvetenskap

Examensarbete

Hållbarhetsstudier och granskning av automatvalidering av analysresultat vid analys av prostataspecifikt antigen

Emilia Berkeby Banérsson
Huvudområde: Biomedicinsk laboratorievetenskap
Nivå: Grundnivå
Nr: 2013:BL10

Hållbarhetsstudier och granskning av automatvalidering av analysresultat vid analys av prostataspecifikt antigen

Emilia Berkeby Banérsson

Examensarbete i biomedicinsk laboratorievetenskap 15 högskolepoäng
Filosofie Kandidatexamen

Handledare:

Martin Carlsson, Docent, Leg Läk.

Avdelningen för Klinisk kemi,
Länssjukhuset Kalmar
SE-391 85 KALMAR

Kerstin Sandholm, Fil Mag.

Institutionen för kemi och biomedicin,
Linnéuniversitetet
SE-391 82 KALMAR

Examinator:

Maria Mattson, Dr Med Vet

Institutionen för kemi och biomedicin,
Linnéuniversitetet
SE-391 82 KALMAR

Examensarbetet ingår i Biomedicinska analytikerprogrammet 180 högskolepoäng.

SAMMANFATTNING

Prostatacancer är den vanligaste orsaken till cancerdöd hos män i Sverige. Cirka 9500 patienter får diagnosen prostatacancer varje år. Prostatacancer diagnostiseras med hjälp av analys av tumörmarkören prostataspecifikt antigen (PSA) i plasma.

Syftet med den aktuella studien var att undersöka den preanalytiska stabiliteten av PSA i plasma och att undersöka hur förändrade provtagningsanvisningar och provtagningsrutiner påverkade analysresultat, arbetsförhållanden och patientsäkerhet.

Analysmetoden som användes vid studien var electrochemiluminiscence immunoassay (ECLIA), vilken nyttjar ljus för detektion av antigen-/antikroppskomplex.

I en första studie visades att centrifugerade PSA-prover med icke avhållt plasma, förvarade i 6° C, kan analyseras upp till 5 dagar efter provtagning. Detta till skillnad från nuvarande metodbeskrivning som kräver avhållt plasma vid analys 24 timmar efter provtagning. En andra studie visade att PSA-prov, förvarat i 6° C, centrifugerat och analyserat 24 timmar efter provtagning gav oförändrade PSA-värden jämfört med PSA-prov som centrifugerats och analyserats direkt efter provtagning. Detta till skillnad från nuvarande metodbeskrivning där prov skall centrifugeras inom 2 timmar och att ocentrifugerat prov skall förvaras i rumstemperatur.

Nya automatvalideringsgränser och införandet av laboratedataprogrammet Delta-check gav en halvering av antalet analysresultat som ej automatvalideras.

Studien visar att PSA var mer stabilt än tidigare förmodats och att förändrade rutiner vid analys av PSA och införande av automatvalidering med Delta-check kan leda till ett förbättrat och mer effektivt arbete för personalen på laboratoriet och ge ökad patientsäkerhet.

ABSTRACT

In Sweden the most common cause of cancer death for men is prostate cancer. Approximately 9500 patients are diagnosed with prostate cancer each year. Prostate cancer is particularly diagnosed by analysis of plasma with a tumor marker prostate-specific antigen (PSA).

The purpose of the current study was to investigate preanalytical stability of PSA in human plasma and to investigate whether improvements in the current test procedures for PSA-analysis at the clinical biochemistry department Oskarshamn County Hospital were possible. Clinical serum samples from patients undergoing PSA testing for prostate cancer were used.

The analytical method used for the study was electrochemiluminiscence immunoassay (ECLIA), which use light for detection of antigen-/antibodycomplex.

In a first study showed that centrifuged PSA samples in which plasma was not separated from the original tube and stored, at 6 °C, can be analyzed up to 5 days after sampling. Compared with current methodology which requires separation of plasma to a new tube prior to analyzing 24 hours after sampling.

A second study showed that PSA samples stored at 6 °C, centrifuged and analyzed 24 hours after sampling gave unchanged PSA values compared to PSA samples that were centrifuged and analyzed immediately after sampling. This differs from the current methodology in which samples should be centrifuged within 2 hours and uncentrifuged samples should be stored at room temperature.

New automatic validation limits and the introduction of Delta-check resulted in a halving of the number of analytical results which were not automatic validated.

The use of new procedures for PSA analysis can lead to an improved and more effective work of the staff at the laboratory and increase the patient safety.

INNEHÅLLSFÖRTECKNING

INTRODUKTION	1
Prostatacancer	1
<i>PSA vid sjukdomar i prostata</i>	2
<i>Prostata-specifikt antigen</i>	2
<i>Total PSA och fritt PSA</i>	2
Nuvarande provhantering vid PSA-analys	3
Screening av PSA	3
Automatvalidering	4
Analysmetod för PSA-analys - Electrochemiluminescence immunoassay (ECLIA)	4
<i>Analysprincip ECLIA</i>	4
<i>Kvalitetssäkring</i>	6
SYFTE	6
MATERIAL OCH METODER	7
Provmaterial och provhantering.....	7
Reagens för analysmetoden Cobas e411.....	7
Kvalitetssäkring.....	8
Hållbarhetsstudie 1	8
Hållbarhetsstudie 2	8
Studie om automatvalidering med Delta-check.....	9
Statistik.....	11
Etik.....	11
RESULTAT	12
Hållbarhetsstudie 1	12
<i>Total PSA</i>	13
<i>PSA-kvot</i>	15
Hållbarhetsstudie 2	16
Studie om automatvalidering med Delta-check.....	16
DISKUSSION	18
Hållbarhetsstudie 1	18
Hållbarhetsstudie 2	19
Automatvalidering	19
Interferenser	20
Kostnad, etik och avfallshantering	21
SLUTSATS	21
TACKORD	22
REFERENSER	23
BILAGA I	
BILAGA II	

INTRODUKTION

Laboratorieanalyser används för att kontrollera en patients hälsa, ställa en diagnos eller för uppföljning av sjukdom. Vid analys av kliniskt kemiska prover är det vanligast att venöst humant blod samlas i ett vaccumrör med eller utan tillsatts beroende på vad som ska analyseras. Tillsatser kan exempelvis vara antikoagulantia (gör att blodet ej koagulerar) eller en separationsgel (separerar blod och plasma åt vid centrifugering) (1).

Provhanteringen har en stor betydelse för det slutliga analysresultatet, eftersom proverna kräver särskilda hanteringsåtgärder. En del prover centrifugeras, andra skall förvaras kylda, frysta eller i mörker före analys (1, 2).

Alla resultat av laboratorieprover vid Länsenheten för Klinisk Kemi samlas i ett laboratedatasystem FlexLab (Tieto AB, Malmö, Sverige) utvecklat inom LIMS (Laboratory Information Management System) för granskning och vidarebefordring till beställare. Vid granskning kontrolleras analysresultat i förhållande till referensintervall och interferenser som har betydelse för resultatet. Ett felhanterat prov kan ge stora skillnader i resultat beroende på vilken analys som utförs. Detta medför en stor risk att patientresultat kan bli felbedömda och därför är det viktigt att provhanteringen följs (2). Viss provhantering kan vara krävande för laboratoriepersonalen och därför utförs möjliga förbättringar kontinuerligt på Avdelning för Klinisk kemi Oskarshamns sjukhus.

Prostatacancer

I Sverige uppkommer cirka 9500 nya fall/år av prostatacancer. Prostatacancern utgör ca 35 % av alla cancerfall hos män och är den vanligaste orsaken till cancerdöd hos män. Sjukdomen drabbar framförallt äldre män, vanligen runt 70 år. Cancertumören växer ofta långsamt och dess infiltration sker i lokala delar som vesikler och blåshals. Vid metastasering drabbas främst regionala lymfkörtlar och skelettet (3, 4).

Hög ålder och ärftlighet är med stor sannolikhet orsaker till prostatacancer. Högt energi-/fettintag anses medföra en större risk, medan lykopener (i tomat), selen, vitamin E, rökstopp och fysisk aktivitet anses minska risken (3). Dessutom anses icke-steroida antiinflammatoriska läkemedel (NSAID) som acetylsalicylsyra ge en minskad risk (5).

Prostatacancern kan ibland vara helt symptomfri, men är den avancerad eller metastaserad förekommer oftast symptom som anemi, trötthet, njursvikt, feber, koagulationsrubbning med mera (3).

Vid utredning av prostatacancer görs en rektalpalpation där läkaren kontrollerar knölighet, asymmetri och ökning av prostatakörteln. En analys av tumörmarkören PSA utförs på plasma utvunnet ur venöst taget blod. För att sedan kunna ställa diagnosen prostatacancer tas även en biopsi som undersöks cytopatologiskt. Behandlingsalternativen för prostatacancer är t.ex. radikal prostatektomi och strålbehandling (4).

PSA vid sjukdomar i prostata

Vid prostatacancer och andra prostatasjukdomar som prostataförstoring eller prostatit, ses förhöjda värden av PSA i plasma. De förhöjda värdena beror på att det i prostata och eventuella metastaser har skett en ökad cellmassa, vävnadens struktur har förändrats samt att det finns en omsättning av maligna celler. De maligna körtelepitelcellerna producerar dock inte lika mycket PSA som en normal körtelepitelcell, utan det är mängden av de maligna cellerna som orsakar en förhöjning (1).

Vid cancer och inflammation i prostatan försämras funktionen av membranens barriär mellan körtelrör och blodbanan. Resultatet av det är att en större del PSA läcker ut i blodbanan och en högre koncentration PSA fås i plasma. Vid benigna hyperplasier i prostatakörteln (BPH) är läckaget till blodbanan oftast inte så stort, ökningen av PSA i plasma är då endast några $\mu\text{g/L}$ men kan vid enstaka fall uppnå $20 \mu\text{g/L}$. En utveckling av BPH är relativt vanligt hos män över medelåldern och därför ses en ökning av medianvärdet för PSA med ökande ålder (6). Vid mer allvarliga tumörer kan PSA koncentrationen användas för att bestämma kliniskt tumörstadium, det vill säga hur mycket maligna celler som finns, eftersom PSA är mycket förhöjt vid ett kraftigt ökat cellantal (7).

Prostata-specifikt antigen

PSA är ett enzym som framför allt produceras i prostatans körtelepitel och därefter utsöndras till körtelrören, i vilka PSA koncentrationen är ca 1 g/L (1). Över de membran som skiljer körtelrören och blodbanan åtar sig normalt ett läckage av PSA. Koncentrationsgradienten mellan körtelrör och blodbanan är 1 000 000 till 1, vilket normalt ger en koncentration av PSA i plasma på ca $1 \mu\text{g/L}$ (6, 8).

Produktionen av PSA i prostatakörteln stimuleras av testosteron och dihydrotestosteron. PSA kan förutom i prostatan även produceras i andra vävnader som t.ex. bröstvävnad vid bröstcancer, dock i betydligt mindre mängder (1).

Enzymet PSA har sin huvudsakliga funktion i prostatasekretet/sädesvätskan, till vilket PSA utsöndras med högre halter ($0,2\text{-}5 \text{ g/L}$). Vid produktion av spermier i testiklarna bildas en löst sammanhållen gelstruktur (1). Gelstrukturens funktion är att förhindra spermiernas rörelser genom att fästa till dem. När sekret från prostata och testiklar blandas vid en sädesuttömning löses gelstrukturen upp av PSA. Upplösningen gör att spermier återfår sin rörlighet, vilket är nödvändigt för att kunna vandra vidare till livmodern och äggladare vid befruktning. I blodet är den största delen PSA bundet i komplex med olika proteashämmare. De vanligaste komplexbindande proteashämmarna för PSA som har diagnostisk betydelse är α_1 -antikymotrypsin och α_2 -makroglobulin. Dock är det endast komplexen med α_1 -antikymotrypsin som kan detekteras med nuvarande analysmetod eftersom antigena epitoper på PSA då är exponerade. Det förekommer även en del obundet PSA i blodet, så kallat fritt PSA i en inaktiv form (1, 4).

Total PSA och fritt PSA

Vid analys av PSA mäts total PSA och fritt PSA i plasma, en PSA-kvot beräknas enligt formel 1. Referensintervallet för total PSA för män <50 år är $<2 \mu\text{g/L}$ och för män >50 år är det $<3 \mu\text{g/L}$. PSA-kvoten hos en frisk man skall vara mer än 18 %, män med en PSA-kvot <18 % remitteras till urolog (9).

$$\text{PSA-kvot i \%} = (\text{fritt PSA} / \text{total PSA}) \times 100$$

(Formel 1)

Män med BPH har en större andel fritt PSA än normalt, vilket gör att PSA-kvoten blir högre (8). PSA är en god markör för diagnostisering av prostatacancer, dock kan cancer förekomma trots att PSA värdena är inom referensintervallen. Den vanligaste orsaken till ett måttligt förhöjt PSA värde är en godartad förstoring av prostatakörteln. Vid kraftigare förhöjda PSA värden är det framförallt prostatacancer som är orsaken (10).

PSA kan användas vid uppföljning samt efterkontroll av patienter med förhöjda värden eller de med en redan diagnostiserad prostatacancer. Dock är fritt PSA inte av någon klinisk betydelse för de patienter som redan är diagnostiserade (1).

Nuvarande provhantering vid PSA-analys

Enligt nuvarande metodbeskrivning för PSA-analys vid Avdelning för Klinisk Kemi Oskarshamn skall PSA-prover centrifugeras inom 2 timmar vid 2000 g i 10 minuter. Plasma kan förvaras upp till 24 timmar i primärröret innan analys, därefter avskiljes plasma till nytt rör utan tillsats och försluts med plastpropp. Plasma kan förvaras upp till 5 dygn i 2-8°C innan analys (9).

Screening av PSA

Målet med en befolkningsbaserad screening av prostatacancer är tidig upptäckt och behandling för att minska dödligheten av sjukdomen. För närvarande pågår två större studier av en befolkningsbaserad screening med PSA på män i åldersintervallet 50-70 år, European Randomized study of Screening for Prostate Cancer i Europa (ERSPC) och the Prostate, Lung, Colorectal and Ovarian cancer screening trial (PLCO) i USA (11).

De flesta anser att det för närvarande inte finns tillräckligt med vetenskapligt underlag för att införa ett screeningprogram där de positiva effekterna med att dödligheten minskar överväger de negativa effekterna med överdiagnostisering på grund av falskt positiva test, överbehandling och kostnader för detta (12, 13).

Fördelar med en screening för prostatacancer med PSA på äldre män är att en eventuell cancerdiagnos beräknas kunna tidigareläggas med i genomsnitt 5-13 år. Då upptäcks de patienter som ännu ej har några symptom. När canceren väl blivit symptomgivande är den svårare att bota. Fler patienter skulle kunna botas om canceren upptäcks tidigare. Behandlingen är även effektivare om den sätts in före symptom uppvisas. Analys av P-PSA är en lätt åtgärd för att hitta prostatacancer (11, 12).

Nackdelar är att överlevnadsvinsten är liten på 10 års sikt och att ökad ålder leder till kraftigt ökad prevalens. Många män över 50 år har ett förhöjt PSA utan att må dåligt av det och kan leva med prostatacancer eller prostatasjukdomar en länge tid utan att uppleva några symptom.

Att införa screening för prostatacancer av äldre män (runt 70 år) skulle troligen innebära en överdiagnostisering och överbehandling för flertalet män (11-13).

Automatvalidering

Vid användning av automatvalidering kan analysresultat inom bestämda valideringsgränser svaras ut automatiskt till beställaren utan. Resultat utanför valideringsgränserna eller resultat med larm behöver granskas manuellt i laboratedatasystemet FlexLab. Med en god automatvalidering och tillägg av dataprogrammet Delta-check (Tieto AB) skulle ännu fler resultat kunna svaras ut automatiskt. Delta-check jämför analysresultatet med föregående värde hos samma patient, är det ingen skillnad automatvalideras svaret. Visar det en viss procentuell skillnad (procentregel) från föregående värde automatvalideras inte svaret utan det måste granskas manuellt (14).

Analysmetod för PSA-analys - Electrochemiluminescence immunoassay (ECLIA)

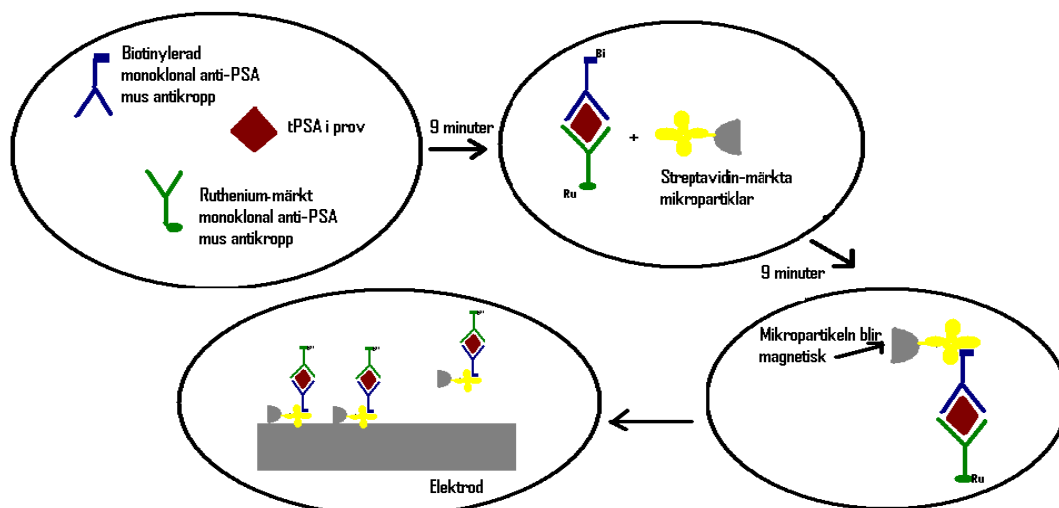
Elektrokemiluminiscens (ECL) är ett detektionssystem av luminescens (ljus), det amplifierar den sökta signalen och reducerar de övriga signalerna. Tillsammans med immunoassay (immunoanalys) ökas selektiviteten av bundna och obundna fraktioner med hjälp av märkta antikroppar/mikropartiklar som hamnar på en elektrodyta. Den här typen av mätning är snabb, enkel och märkningarna är stabila. ECLIA (Electrochemiluminescence immunoassay) kan användas vid analys av t.ex. totalt/fritt PSA, Troponin T och NT-proBNP i plasma (9, 15).

Vid utförande av metoden kan analysinstrumentet Cobas e411 (Roche Diagnostics, Mannheim, Tyskland) användas. Ett helautomatiskt system som klarar av upp till 88 prover/timme. Instrumentets tekniska mätintervall för PSA-analys är 0-100 µg/L (16).

Analysprincip ECLIA

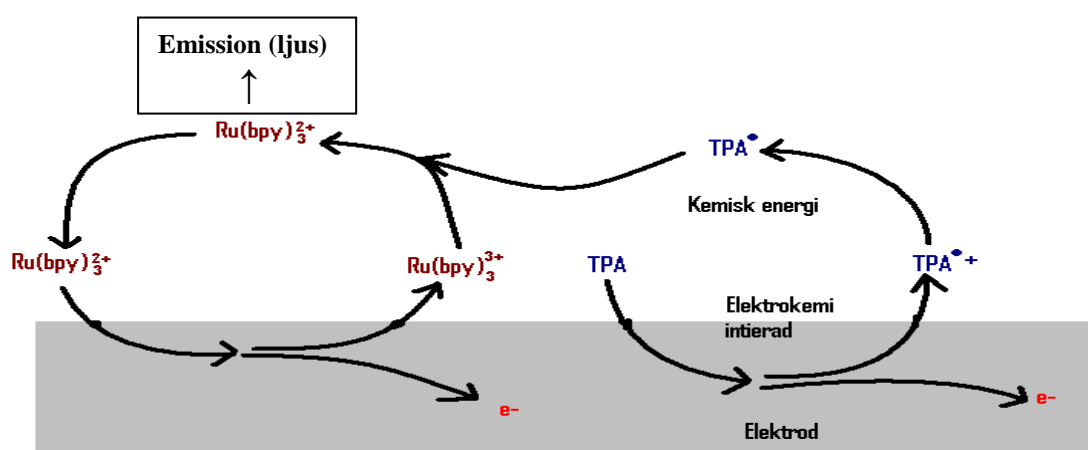
Patientprovet (möjligen innehållande PSA) blandas med två olika märkta antikroppar riktade mot humant PSA. Antikropparna är biotinylerade respektive märkta med ruteniumkomplex $[\text{Ru}(\text{bpy})_3^{2+}]$. Vid inkubering binder de olika antikropparna till PSA om det finns i patientprovet enligt Sandwich-princip. Sandwich-principen används för att upptäcka analyter med höga molekylvikter. Streptavidin-märkta paramagnetiska mikropartiklar inkuberas därefter med antikropp-antigen komplexen. Eftersom streptavidin har väldigt hög affinitet till biotin binder de in till varandra med en mycket stark icke-kovalent bindning.

Reaktionsblandningen aspireras till en elektrokemisk mätcell, där de paramagnetiska mikropartiklarna blir magnetiska i närvaron av ett magnetiskt fält och fäster till en positiv elektrod. Komplexen hamnar då i samma riktning med ruteniumkomplexet riktat mot fotomultiplikatorn (9, 15, 17), figur 1.



Figur 1. Plasmaprov med okänd PSA koncentration inkuberas med biotinylerade och de rutenium-märkta antikroppar riktade mot humant PSA. Därefter inkuberas de bundna komplexen med streptavidin-märkta paramagnetiska mikropartiklar. De paramagnetiska mikropartiklarna blir magnetiska i ett magnetiskt fält och fastnar på elektroden i mätcellen. Figuren är modifierad från referens (16).

De partiklar som ej bundit till elektroden tvättas bort och den elektrokemiskt aktiva substansen tripropylamin (TPA) tillsätts. När komplexen applicerats på elektroden uppstår en elektrisk spänning i mätcellen. Spänningen gör att ruteniumkomplexen avger en elektron och hamnar i ett exciterat tillstånd med högre energi. Även TPA avger en elektron och blir därmed reaktiv. Den reaktiva TPA molekylen gör sedan att ruteniumkomplexet återfår en elektron, därmed avtar det exciterade läget och det når en lägre energinivå vilket resulterar i en emission av ljus (9, 15), figur 2. Ljuset detekteras av en fotomultiplikator, resultatet beräknas sedan med hjälp av kalibreringskurva. Emissionen (ljusintensiteten) är proportionell mot mängden av det sökta antigenet i provet (9).



Figur 2. Den elektriska spänningen som uppstår i mätcellen när komplexen applicerats på elektroden gör att ruteniumkomplexet avger en elektron och hamnar i en högre energi nivå (exciterat läge). TPA som tillsätts vid tvättningen avger också en elektron vilket gör att TPA blir reaktiv. Den reaktiva TPA ser till att ruteniumkomplexet återfår en elektron och därmed går till en nivå med lägre energi. Av den sänkta energiförändringen ges en emission (ljus) som detekteras av en fotomultiplikator. Figuren är modifierad från referens (16).

Kvalitetssäkring

Kalibrering utförs en gång per reagenslot med nytt reagens. Kalibratorerna som används är av två olika koncentrationer, exakta lotspecifika kalibratorvärden anges i streckkoden för kalibratören. De innehåller buffert-/proteinmatrix och lyofiliserat humanserum med tillsatt humant PSA (18). Kalibratorerna för Elecsys total PSA-analysen har standardiserats mot Stanford Reference Standard/WHO 96/670. Analysen och laboratoriet i Oskarshamn är ackrediterat av SWEDAC där standarden 17025 följs. I och med användning av FlexLab, ett LIMS som är ackrediterat av SWEDAC, är alla analyser och resultat spårbara (19).

Interna kontroller, Seronorm™ Immunoassay (Sero-AS, Billingstad, Norge), utförs dagligen som underlag för att godkänna analysresultat. De fungerar även som en fortlöpande kontroll av den tekniska analyskvaliteten. De externa kontrollernas syfte är att säkerställa metodöverensstämmelse nationellt och internationellt. De finns till de vanligaste laboratorieanalyserna, framförallt de ackrediterade.

Den externa kontrollen, EQUALIS PSA, för analyser av PSA totalt respektive PSA fritt kommer ifrån EQUALIS (Uppsala, Sverige) 6 gånger/år och den innehåller poolat serum (flera olika serum hopblandade). De laboratorier som använder EQUALIS i Sverige jämförs mot varandra. Vid EQUALIS jämförelse av externa kontroller för PSA-analys (vecka 12 2013) mellan olika laboratorier har Avdelning för Klinisk Kemi Oskarshamn ett medelvärde av total PSA på 3,34 µg/L och det gemensamma medelvärdet i Sverige är 3,20 µg/L. Avdelning för Klinisk Kemi Oskarshamn avviker 0,41 SD vid jämförelse av samtliga resultat från olika analysinstrument i Sverige (19) .

SYFTE

Syftet med den aktuella studien var att undersöka den preanalytiska stabiliteten av PSA i plasma och att undersöka hur förändrade provtagningsanvisningar och provtagningsrutiner påverkade analysresultat, arbetsförhållanden och patientsäkerhet.

MATERIAL OCH METODER

Provmaterial och provhantering

I en första hållbarhetsstudie (nr. 1) användes plasmaprover från 30 män och i en andra hållbarhetsstudie (nr. 2) användes plasmaprover från 10 män. I hållbarhetsstudie 2 togs dubbla provrör på de 10 männen, rör 1 hanterades enligt nuvarande metodbeskrivning vid avdelning för klinisk kemi Oskarshamn (9). Rör 2 förvarades i 6°C ett dygn efter provtagning innan det centrifugerades och analyserades. De plasmaprover som användes i hållbarhetsstudierna var tagna på män i åldern 55-86 år, i 5 mL litium-heparinrör med polymer-gel (PST-gel), (BD - Becton Dickinson Diagnostics, Franklin Lakes NJ, USA), figur 3.

För hållbarhetsstudierna av plasmaprover användes nuvarande provhanteringsanvisningar för PSA-analys, enligt vilka plasmaprovet skall centrifugeras inom 2 timmar och analyseras samma dag som provtagning (9).

I studien undersöktes om analysresultatet av PSA förändras om provhanteringsanvisningarna ändras gällande centrifugering, analys inom viss tid samt förvaringstemperatur.

Reagens för analysmetoden Cobas e411

Reagensen Elecsys total PSA och Elecsys free PSA (Roche Diagnostics), fördelades på tre positioner i instrumentet (M, R1 och R2). Position M med streptavidintäckta mikropartiklar, position R1 med biotinylerade monoklonala (mus) anti-PSA-antikroppar och position R2 med monoklonala (mus) anti-PSA-antikroppar märkta med rutenium.

Reagenset ProCell (Roche Diagnostics) transporterade reaktionsblandningen till mätcellen för borttvättning av obundna molekyler. Tillsatsen av TPA i ProCell gav indirekt en emission som detekterades av fotomultiplikatorn.

CleanCell (Roche Diagnostics) användes för rengöring av slangsystemet och mätcellerna efter varje mätning.

Elecsys diluent universal (Roche Diagnostics) innehållande proteinmatrix, användes vid spädning av prover. Spädning av total PSA-prov med koncentrationer över mätintervallet (>100 µg/L) utfördes genom en manuell beställning i instrumentet (9, 16).

Instrumentet beräknade koncentrationerna av PSA automatiskt. I reagensetiketten fanns en lagrad masterkurva med 6 punkter, som är specifik för reagensloten. Masterkurvan är anpassad till instrumentet genom en två-punktskalibrering. I kurvan är intensiteten en funktion av koncentrationen och därmed direkt proportionell mot koncentrationen (9).

Vid ett analysresultat av total PSA som är inom intervallet 3-20 µg/L och tekniskt godkänt i laboratedatasystemet FlexLab beställs analys av fritt PSA automatiskt i FlexLab. Resultatet för fritt PSA beräknas enligt samma princip som total PSA. Är fritt PSA-resultat tekniskt godkänt i laboratedatasystemet FlexLab beräknas en PSA-kvot. Är total PSA-koncentrationen >20 µg/L analyserades ej fritt PSA eftersom det förhöjda värdet redan anses vara onormalt förhöjt (9).

Kvalitetssäkring

Interna kvalitetskontroller innehållande flytande humant serum från blodgivare analyserades före plasmaproverna, Seronorm™ Immunoassay i två olika nivåer, Liquid Level-1 (SIM 1: låg) och Liquid Level-2 (SIM2: hög), (Sero-AS). För godkännande av kontroll får analysresultatet ej skilja mer än ± 2 SD från det åsatta värdet. Det åsatta värdet med ± 2 SD för SIM 1 fritt PSA var $1,65 \pm 1,37$ $\mu\text{g/L}$ och för total PSA $4,70 \pm 0,42$ $\mu\text{g/L}$. För SIM 2 fritt PSA var det $7,60 \pm 0,83$ $\mu\text{g/L}$ och för totalt PSA $19,70 \pm 1,2$ $\mu\text{g/L}$ (9).

Kontrollregler och -rutiner för godkännande av kontroll vid Avdelning för Klinisk Kemi Oskarshamns härleds till Westgaard's kontrollregler (19) .

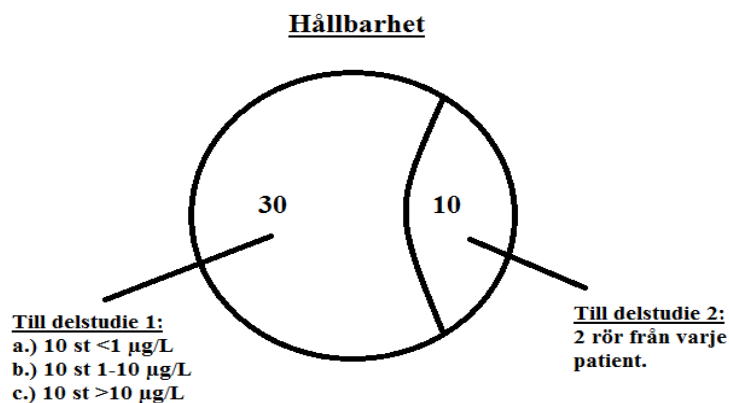
Hållbarhetsstudie 1

I hållbarhetsstudie 1 samlades plasmaprover från 30 män, varav 10 stycken hade en total PSA-koncentration på <1 $\mu\text{g/L}$, 10 stycken med koncentration mellan 1-10 $\mu\text{g/L}$ samt 10 stycken med en koncentration >10 $\mu\text{g/L}$, figur 3. Patientprovernas ursprung var från hela Kalmar län och de flesta proverna var centrifugerade när de inkom till laboratoriet för registrering i ett kvitteringsprogram tillhörande FlexLab. Patientprover tagna på Oskarshamns sjukhus centrifugerades på laboratoriet inom 2 timmar efter provtagning.

Spädningar utfördes på prover över detektionsgränsen (>100 $\mu\text{g/L}$) och analyserades därefter om. För plasmaprover med en total PSA koncentration mellan 3-20 $\mu\text{g/L}$ utfördes dessutom analys av fritt PSA. En PSA-kvot beräknades automatiskt genom FlexLab på de plasmaprover där både totalt och fritt PSA analyserats. Efter analys av alla plasmaprover avidentifierades patienterna genom att rören märktes om med nya LID-nummer för vidare analyser. Alla proverna placerades i 6°C och efter 3, 5 respektive 10 dygn analyserades proverna återigen enligt tidigare analysmetod (ECLIA).

Hållbarhetsstudie 2

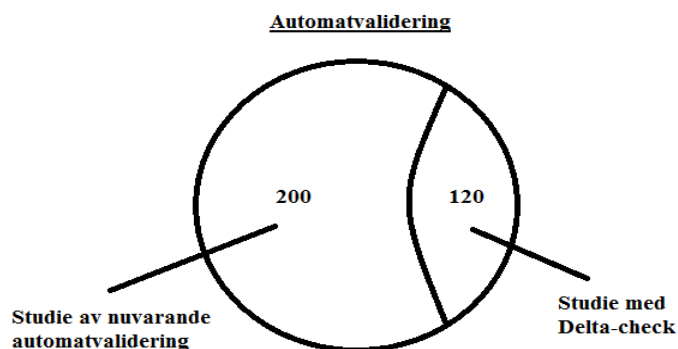
I hållbarhetsstudie 2 samlades dubbla patientprover in från 10 män (figur 3) med total PSA koncentration mellan ca 1-4000 $\mu\text{g/L}$. Rör 1 centrifugerades och analyserades enligt nuvarande metodbeskrivning vid Avdelning för Klinisk Kemi Oskarshamn. Det andra röret märktes med nytt LID-nummer för avidentifiering, placerades ocentrifugerat i 6°C till nästa dygn då det centrifugerades och analyserades enligt analysmetoden ECLIA.



Figur 3. Uppdelning av plasmaprover från 40 män för hållbarhetsstudier. Till första studien användes plasmaprover från 30 män uppdelade i tre koncentrationsintervall för total PSA (<1 µg/L, 1-10 µg/L och >10 µg/L). Till andra studien användes plasmaprover från 10 män, 2 rör togs på varje man.

Studie om automatvalidering med Delta-check

Med automatvalidering i FlexLab kan analysresultat som ligger utanför ett bestämt intervall svaras ut automatiskt till beställaren. En studie gällande automatvalidering och granskning av PSA-resultat i laborierdatasystem utfördes med hjälp av tidigare statistik för Kalmar läns landsting och nuvarande datasystem. Vid studien av automatvalidering användes 200 analysresultat från tidigare analyserade plasmaprover från PSA-patienter. För att sedan studera Delta-check som tillägg i laborierdatasystemet användes ytterligare 120 analysresultat från tidigare analyserade plasmaprover från PSA-patienter, figur 4.



Figur 4. Vid studie om nuvarande automatvalidering användes 200 patientresultat från PSA-analys. Därefter användes ytterligare 120 patientresultat från rutinanalys av PSA för studie med Delta-check.

De resultat som ej automatvaliderades (fastnade i FlexLab) summerades och jämfördes med det totala antalet utförda analyser. Därefter testades nya valideringsgränser för att försöka minska antalet av ej automatvaliderade analysresultat i FlexLab. De gällande intervallen av valideringsgränser för total PSA är 0-2,9 µg/L och för fritt PSA är det 0,1-2,0 µg/L. Gränserna justerades till 0-6,0 µg/L för total PSA och till 0,1-3,0 µg/L för fritt PSA.

Med tillägget Delta-check i FlexLab automatvalideras endast analysresultat som ej förändrats mer än en viss procent inom en viss tidsperiod. Med statistik från 2012 bestämdes tidsperioden (tabell I) och procentskillnadsregeln (tabell II). En tidsperiod på 3 månader bedömdes lämplig att testa. Procentskillnaden behövde vara tillräckligt stor mellan analysresultaten för automatvalidering med Delta-check utan att försämra patientsäkerheten. Procentskillnadsregeln bestämdes till 20 %, eftersom hälften av resultaten i tabell II har förändrats inom 20 % från test till test.

Med de nya valideringsreglerna samt Delta-check som tillägg utfördes därefter ytterligare en studie på 120 stycken patientprover (figur 4). Delta-check utfördes denna gång endast på analyser av totalt PSA. Antalet resultat som ej automatvaliderades med de nya reglerna och Delta-check jämfördes sedan mot samma resultat med analys utförd enligt tidigare regler.

Tabell I och II. Tabell I till vänster visar antal patienter som gjort ett eller flera PSA-test under 2012, ifrån vilken en tidsperiod kunde bestämmas. Tabell II till höger visar tidigare resultat från patient nr. 1 (16 tester) samt den procentuella förändringen från test till test. Tabell II användes för bestämning av procentskillnadsregeln.

Tabell I

<i>Antal Patienter</i>	<i>Antal Tester (2012)</i>	<i>Medelvärde totalt PSA (µg/L)</i>
1	16	97,28
3	14	431,93
4	13	78,25
3	12	208,00
3	11	251,44
7	10	128,44
9	9	214,65
10	8	70,46
7	7	192,33
31	6	81,38
79	5	34,71
335	4	73,14
925	3	16,75
2826	2	6,22
9992	1	3,27

Tabell II

<i>Test nr.</i>	<i>Resultat av total PSA (µg/L)</i>	<i>Förändring i % från test till test.</i>
1	137	
2	74,31	-57%
3	56,46	-24%
4	54,37	-4%
5	57,54	6%
6	90,63	58%
7	89,4	-1%
8	130,7	46%
9	87,08	-33%
10	99,71	15%
11	120,2	21%
12	104,2	-13%
13	103,6	-1%
14	97,27	-6%
15	113,2	16%
16	140,8	24%

Statistik

Vid sammanställning av analysresultat för hållbarhetsstudie 1 beräknades differenserna för varje analys (total PSA, fritt PSA och PSA-kvot) mellan varje analysdag (3, 5 och 10) för vardera koncentrationsintervall (<1 µg/L, 1-10 µg/L, >10 µg/L). Med differenserna kunde den procentuella skillnaden från initialvärdet (resultat från analysdag 1) beräknas. Av patientresultat från en analysdag/koncentrationsintervall beräknades ett medelvärde som användes som ett resultat för hela gruppen (n=10). Med dessa resultat kunde ett medelvärde av alla analysdagarna beräknas för varje koncentrationsintervall.

Detta medelvärde användes tillsammans med de sammanlagda resultaten av varje grupp för beräkning av standardavvikelse (SD) och variationskoefficient (CV) (20).

I hållbarhetsstudie 2 beräknades differensen av analysresultaten från analysdag 1 och 2. Med differensen kunde den procentuella skillnaden mellan analysdag 1 och 2 bestämmas. Av analysresultat inom samma analysdygn beräknades medelvärde från vilket standardavvikelse och variationskoefficient kunde beräknas (20).

Etik

Patientresultaten som användes i studierna granskades endast ur utbildningssyfte. Vid analys av samma patientprov flera gånger aidentifierades provet från patienten. I tabeller och resultat finns inget som kan kopplas till patienten. Sekretess och tystnadsplikt anpassades för studien.

RESULTAT

Kontroller

De dagliga interna kvalitetskontrollernas analysresultat var inom +/-2 SD av de åsatta värdena för respektive kontrollnivå, bilaga I. Tidigare utförda externa kontroller och kalibrering var godkända av annan personal på avdelning för klinisk kemi Oskarshamn.

Hållbarhetsstudie 1

Vid analysdag 10 har resultat för total PSA, fritt PSA och PSA-kvot, oavsett koncentrationsintervall, minskat jämfört med analysdag 1. För analysdagarna 3 och 5 finns både ökning och minskning av resultaten jämfört med de från dag 1, tabell III.

Variationskoefficienten för total PSA med koncentrationsintervallet <1 µg/L är högst (8,02 %). Variationskoefficienten är lägst vid totalt PSA med koncentrationsintervallet 1-10 µg/L (1,56 %), tabell III.

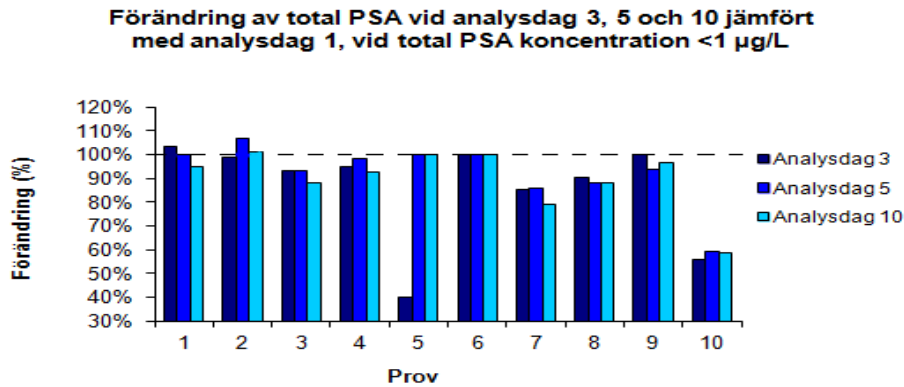
De fetstilta resultaten i tabell III befinner sig ej inom +/-2 SD av initialvärdet (dag 1).

Tabell III. Medelvärden och relativ standardvariation (CV), vid hållbarhetsstudie 1, analyserade vid ett visst koncentrationsintervall av total PSA (<1 µg/L, 1-10 µg/L samt >10 µg/L) samt efter 1, 3, 5 och 10 dygn. Fetstilta resultat ligger 2 SD utanför initialvärdet. Trenden visar att analysresultaten för proverna minskar med tiden proverna blir äldre.

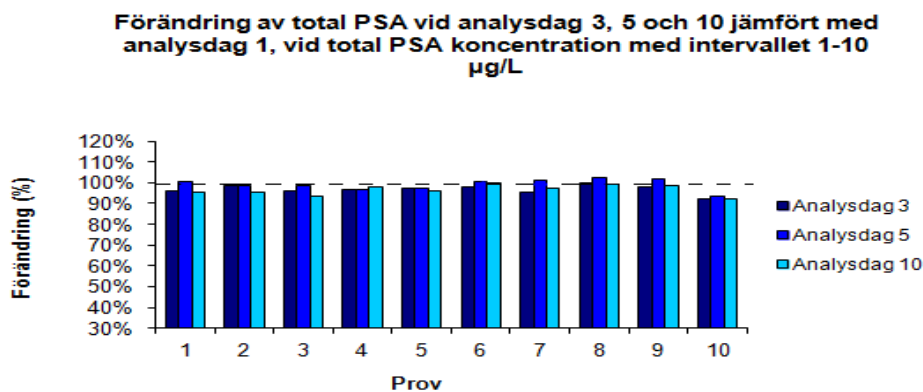
Intervall för total PSA-koncentration	n	Dag 1 (µg/L) ± SD	Dag 3 (µg/L) ± SD	Dag 5 (µg/L) ± SD	Dag 10 (µg/L) ± SD	CV (%)	Trend
Total PSA							
<1 µg/L	10	0,363 ± 0,324	0,310 ± 0,271	0,319 ± 0,284	0,306 ± 0,271	8,02	minskat
1-10 µg/L	10	4,468 ± 2,710	4,352 ± 2,677	4,480 ± 2,751	4,358 ± 2,694	1,56	minskat
>10 µg/L	10	390,3 ± 1063,4	398,3 ± 1087,6	391,6 ± 1058,9	374,6 ± 1013,6	2,57	minskat
Fritt PSA							
1-10 µg/L	5	0,626 ± 0,336	0,597 ± 0,324	0,587 ± 0,323	0,553 ± 0,302	5,08	minskat
>10 µg/L	6	1,403 ± 1,108	1,506 ± 1,068	1,507 ± 1,081	1,473 ± 1,072	3,33	minskat
PSA-kvot							
1-10 µg/L	5	8,668 ± 3,755	8,458 ± 3,669	8,084 ± 3,691	7,824 ± 3,531	4,56	minskat
>10 µg/L	6	12,46 ± 9,36	12,27 ± 8,90	11,95 ± 8,86	12,02 ± 9,05	1,92	minskat

Total PSA

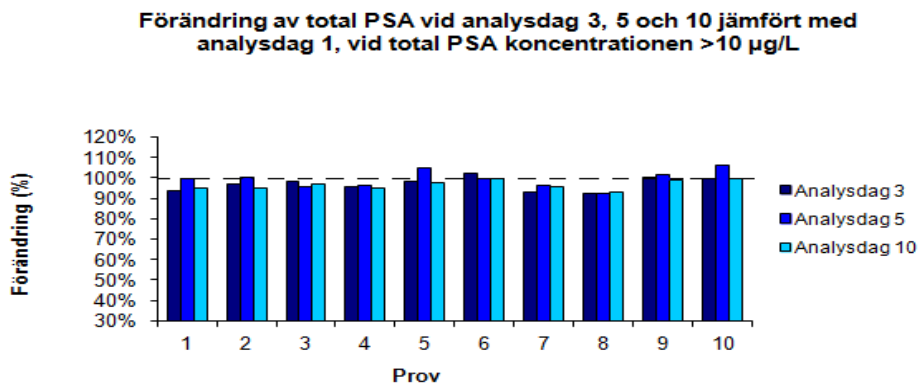
Enligt figur 5 är spridningen av resultat mellan de olika dagarna stor. En procentuell minskning av koncentrationen total PSA ses framförallt i figur 6-7. Vid analysdag 10 har alla analysresultat minskat jämfört med analysdag 1.



Figur 5. Förändringen av den totala PSA koncentrationen i plasmaprover (n=10), vid <1 µg/L, i procent från analysdag 1 (100 %) till analysdag 3, 5 och 10.



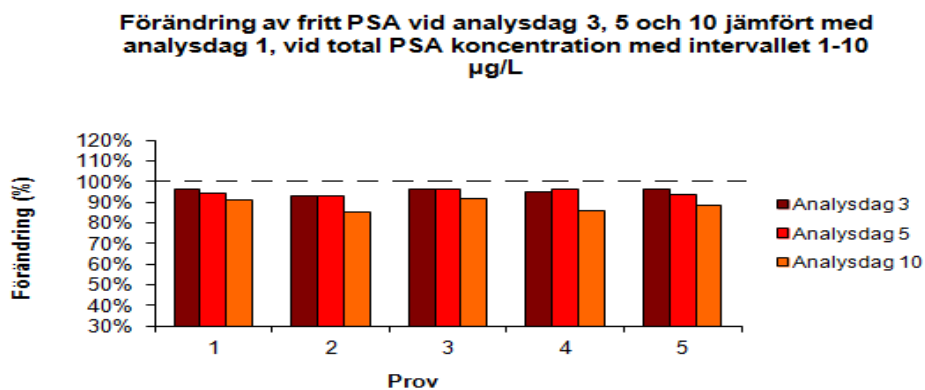
Figur 6. Förändringen av den totala PSA koncentrationen i plasmaprover (n=10), vid intervallet 1-10 µg/L, i procent från analysdag 1 (100 %) till analysdag 3, 5 och 10.



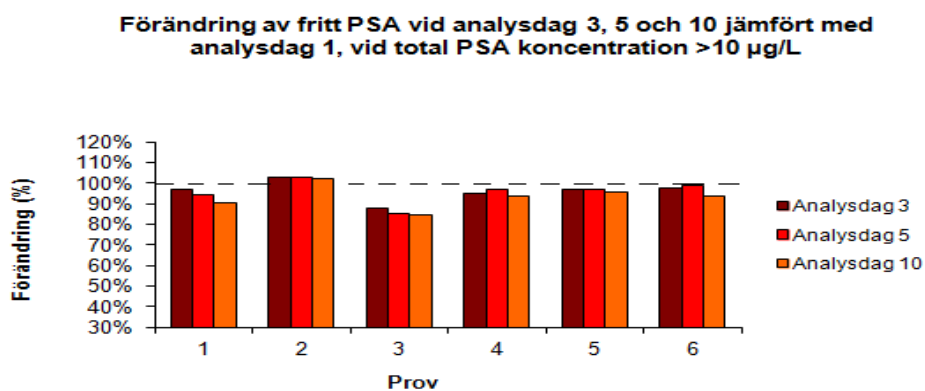
Figur 7. Förändringen av den totala PSA koncentrationen i plasmaprover (n=10), vid >10 µg/L, i procent från analysdag 1 (100 %) till analysdag 3, 5 och 10.

Fritt PSA

En minskning ses för de flesta av analysresultaten av fritt PSA, tabell III. Analys av prov dag 10 gav en minskning av resultatet jämfört med analys av prov dag 1, figur 8 och 9.



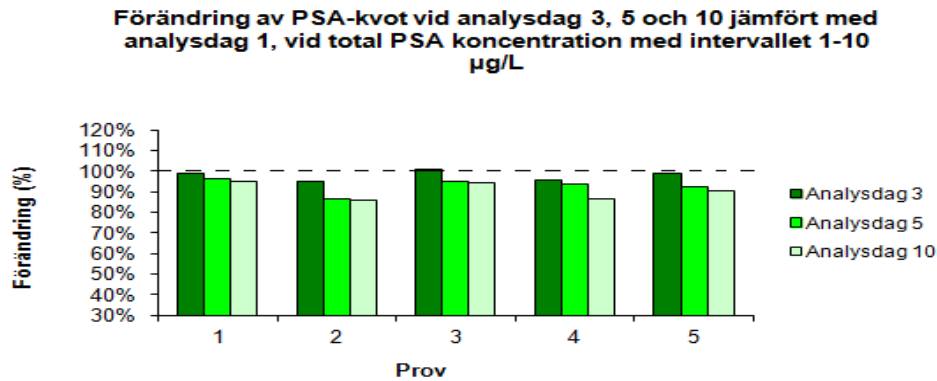
Figur 8. Förändringen av fritt PSA i plasmaprover (n=5), i procent från analysdag 1 (100 %) till analysdag 3, 5 och 10.



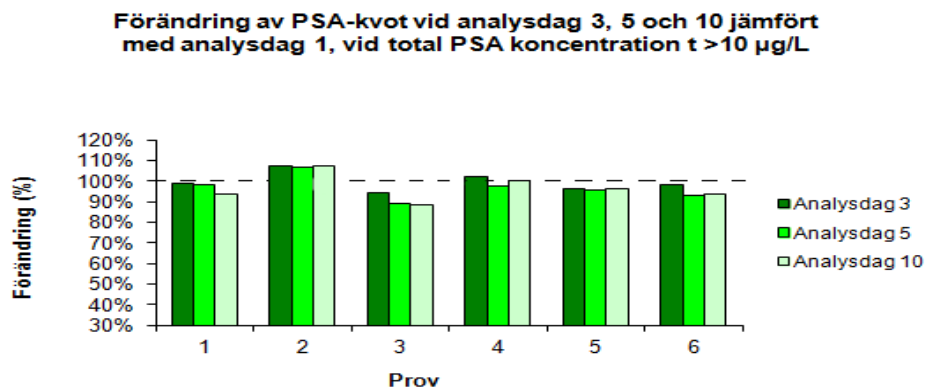
Figur 9. Förändringen av fritt PSA i plasmaprover (n=6), i procent från analysdag 1 (100 %) till analysdag 3, 5 och 10.

PSA-kvot

Analysresultaten av PSA-kvoten visar en tydligare minskning än analysresultaten för total PSA och fritt PSA. En tilltagande minskning av resultaten ses med tiden som gått från första analysdag, figur 10 och 11.



Figur 10. Förändringen av PSA-kvot i plasmaprover (n=5), i procent från analysdag 1 (100 %) till analysdag 3, 5 respektive 10.



Figur 11. Förändringen av PSA-kvot i plasmaprover (n=6), i procent från analysdag 1 (100 %) till analysdag 3, 5 respektive 10.

Hållbarhetsstudie 2

Erhållna resultat av hållbarhetsstudie 2 visar en ökning av analysresultatet vid centrifugering och analysering dag 2 efter provtagning jämfört med dag 1. Den totala PSA-koncentrationen ökade 6,9 %, fritt PSA ökade 2,14 % och PSA-kvoten ökade 1,76 %. Lägst variationskoefficient erhöles vid analys av PSA-kvot (1,24 %) och högst var den vid analys av fritt PSA (8,71 %), tabell IV.

Tabell IV. Medelvärden för analysresultat (n=10 i varje grupp) i hållbarhetsstudie 2 från dag 1, där prov centrifugerades och analyserades samma dag som provtagning och från dag 2 där prov förvarats i 6 °C ett dygn och därefter centrifugerats och analyserats.

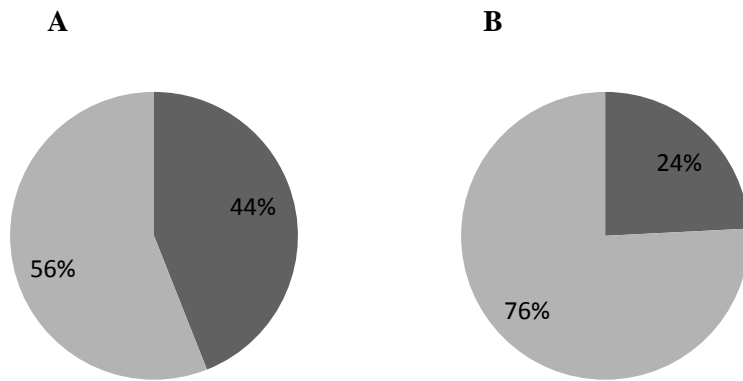
Ett medelvärde för dag 1 och 2 beräknades ifrån vilket standardavvikelse (SD) och relativ standardvariation (CV) kunde beräknas.

	Dag 1 (µg/L) ± SD	Dag 2 (µg/L) ± SD	CV (%)	Trend
Totalt PSA	363,1 ± 17,61	388,0 ± 17,61	4,69	ökat (6,9 %)
Fritt PSA	1,355 ± 0,119	1,384 ± 0,119	8,71	ökat (2,14 %)
PSA-kvot	20,40 ± 0,255	20,76 ± 0,255	1,24	ökat (1,76 %)

Studie om automatvalidering med Delta-check

Av de 200 patientresultaten som användes som förstudie om automatvalidering, var det totalt 87 resultat av totalt PSA samt 12 resultat av fritt PSA som ej automatvaliderades i FlexLab och därmed behövde granskas manuellt. Således behövde ca 44 % av proverna där total PSA analyserades och ca 21 % av proverna där fritt PSA analyserades, granskas utförligare innan de svarades ut, figur 12 A. Tidsåtgång beräknas utifrån att ca 20 patientprover granskas på 1 minut, om extremt avvikande värden noterats beräknas tidsåtgången bli ca 1-4 minuter för ett analysresultat.

Vid test av nya valideringsgränser med tidsperiod på 3 månader och procentregel på 20 % utfördes en studie på 120 plasmaprover från män. Efter att valideringsgränserna höjts för totalt och fritt PSA, samt att Delta-check tillförts på total PSA-analyserna, var det 91 provresultat (76 %) som automatvaliderades och 29 provresultat (24 %) som ej automatvaliderades utav de 120 plasmaproverna, figur 12 B. Antalet av ej automatvaliderade analysresultat minskade nästan till hälften i studien, jämför figur 12 A och B, därmed halveras tidsåtgången för manuell granskning av ej automatvaliderade analysresultat. Ett test utfördes även med de tidigare valideringsreglerna men med Delta-check som tillägg, då var det 39 (32,5 %) provresultat av totalt PSA som ej automatvaliderades. Om endast de nya valideringsreglerna används (inget tillägg med Delta-check) är det enbart 23 (19,2 %) utav 120 prover på totalt PSA som ej automatvalideras.



Figur 12. A: Andel resultat vid analys av totalt PSA, före justering av valideringsregler och Delta-check tillägget, som automatvaliderades (56 %) och den andel resultat som behövde granskas manuellt (44 %). **B:** Andel resultat vid analys av totalt PSA efter justering av valideringsregler och Delta-check tillägget som automatvaliderades (76 %) och den andel som behövde granskas manuellt (24 %).

DISKUSSION

Nuvarande provtagningsrutiner vid Avdelning för Klinisk Kemi Oskarshamn för PSA-analys har upplevts kunna förbättras, både för personalen på laboratoriet och för att öka patientsäkerheten. Tre delstudier utfördes varav två avseende provhantering och en angående automatvalidering. Gällande provhantering studerades hållbarhet och förvaringsmöjligheter av PSA-prover och angående automatvalidering testades nya valideringsgränser samt tillägget Delta-check.

Hållbarhetsstudie 1

I hållbarhetsstudie 1 analyserades samma prov flera gånger vid olika dygn för att testa om resultaten förändrades med tiden då provet blev äldre. Studien utfördes på tre olika koncentrationsintervall av total PSA-koncentration; <1, 1-10 respektive >10 µg/L, med 10 stycken patientprover i vardera intervall. Vid analys av total PSA vid intervallet <1 µg/L varierade analysresultaten av samma prov mycket mellan olika dagar.

Först vid analys dygn 5 minskar resultatet av både den totala och fria PSA-koncentrationen, figurerna 5-9. Att fritt PSA ser stabilare ut i minskning av resultat efter varje analysdygn än total PSA kan bero på att precisionen för metoden för fritt PSA är bättre, vilket den är enligt tidigare utförd totalimprecision av kontroller på avdelning för klinisk kemi i Oskarshamn (9).

Minskning av analysresultaten vid dag 10 är nästan dubbel jämfört med minskningen av analysresultaten vid analysdag 3. Resultaten minskar därmed med tiden som provet blir stående centrifugerat och förvarat i 6 °C. PSA-kvoten följer också denna trend, framförallt eftersom dess resultat är beroende av fritt PSA och därmed följer dess resultat.

Med hållbarhetsstudie 1 visas att laboratoriet kan effektivisera sitt arbete genom att analysera PSA-prover var 5:e dygn och därmed spara tid. Vårdcentraler och andra provmottagningar behöver inte skicka PSA-prover varje dag. Därmed underlättas transporten och uppackning av väskor till laboratoriet.

Vid låga koncentrationer av total PSA ges större procentuell skillnad, figur 5. De låga koncentrationerna ger en missbedömning av resultatet då det ex. minskat med 60 % men endast 0,003 µg/L. Lägre värden kan hamna utanför analysinstrumentets tekniska mätintervall dessa är osäkra då metoden ej ger tillförlitliga resultat (16).

Eftersom analys av fritt PSA ej utförs på PSA-prov med en koncentration <3 µg/L, har de lägre resultatens stora spridningar ingen betydelse för beställning av PSA-kvot (9).

Enligt nuvarande metodbeskrivning för PSA-analys ska plasma (avhållt till nytt rör) hålla 5 dygn om den förvaras i 2-8 °C (9, 18). I hållbarhetsstudie 1 hölldes plasma ej av utan den var kvar i originalrören med litium-heparintillsats och separationsgel. Med studien kan därmed fastställas att resultat från analys av prov som stått centrifugerat i 6 °C inte förändras mer än 10 % om det analyseras dygn 5. Dock befinner sig 1 utav 10 provresultat vid analysdag 3 respektive 5 utanför laboratoriets gränser för godkännande av interna kontroller +/-2 SD från det åsatta värdet. Resterande provresultat ligger inom +/-2 SD från initialvärdet (dag 1). Resultatet utanför gränserna återfinns dock nära gränsen (9).

Minskningar av total PSA på patientproverna gör att PSA-kvoten för patienterna blir falskt för höga medan en minskning av fritt PSA ger en lägre PSA-kvot. Eftersom de flesta minskningarna är <10 % bör detta inte vara hot mot patientsäkerheten (18).

Orsak till minskning av analysresultat vid hållbarhetsstudie 1 är oklar. Den skulle kunna bero på att antigenen fastnar i blodet när det koagulerar i det ocentrifugerade röret. När provet sedan centrifugeras hamnar antigenen tillsammans med blodet i botten av röret. Andra orsaker skulle kunna vara biologisk nedbrytning där antigenen bryts ned med tiden och därmed har antikropparna i reagenserna inga epitop att binda till.

Hållbarhetsstudie 2

När PSA-patientprover blir stående ocentrifugerade i 6 °C ett dygn, ses generellt en ökning av PSA-koncentrationen när det analyseras dag 2 jämfört med de prover som analyserats samma dag som provtagningen, tabell IV. Förändringarna är dock inte större än 10 %, bilaga I, från initialvärdet (resultat från analysdag 1). Därmed kan prover som blivit stående ocentrifugerade i 6 °C analyseras enligt kriterium från Roche Diagnostics metodbeskrivning för total och fritt PSA där resultat ska återfinnas inom +/-10 % av initialvärdet. I bilaga I med analysresultat för PSA-kvot, har de flesta av resultaten minskat vid analysdag 2, ett värde som avviker mer än Roche's kriterium +/-10 % från initialvärdet.

Med studien visas att ett PSA-prov som blivit stående ocentrifugerat 24 timmar kan analyseras. Vårdcentraler och provmottagningar som glömt centrifugera PSA-prov inom två timmar kan därför ändå skicka det till laboratoriet (om de centrifugerar provet innan transporten). PSA-prover som blivit bortglömda på laboratoriet förvarade i 6 °C kan centrifugeras och analyseras upp till 24 timmar efter provtagning. I och med det minskas onödig provtagning, eftersom enligt nuvarande metodbeskrivning vid Avdelning för Klinisk Kemi Oskarshamn behöver patienten ta ett nytt prov om något av ovanstående inträffar. Det är en positiv förbättring framförallt för patientens del.

Ökningen av PSA-koncentrationen i hållbarhetsstudie 2 är oklar. Den skulle kunna bero på ospecifik bindning av antigen och antikroppar. Då provet inte centrifugeras samma dag som provtagning kan aggregat bildas av olika komponenter i blodet som sedan kan misstas för antigen-antikroppskomplex. Sandwich-principen ger dock en mycket specifik bindning av just det som söks (9).

Skillnaderna av resultat mellan de olika tillvägagångssätten vid hållbarhetsstudie 2 förmodades bli större. Enligt provtagningsanvisningar för kliniskt kemi laboratorium Oskarshamn skall patientproverna centrifugeras inom 2 timmar och förvaras i rumstemperatur fram till centrifugering. I studien behandlades på helt annat sätt, de fick stå ocentrifugerade ett dygn i 6 °C. Då endast 10 prover analyserats i hållbarhetsstudie 2 är provunderlaget litet. Ett mindre provunderlag påverkar resultatens riktighet

Automatvalidering

Automatvalidering i FlexLab används för att svara ut analysresultat utanför bestämda intervall automatiskt till beställaren. Vid studie om automatvalidering testades intervall med nya

valideringsgränser, där för total och fritt PSA höjdes. Delta-check används som tillägg för automatvalidering i FlexLab och kontrollerar om analysresultatet förändrats en viss procent jämfört med föregående resultat för en patient.

Det är en klar fördel att använda Delta-check för patientsäkerheten, eftersom patientresultat som förändrats mycket på en kort tid upptäcks. I och med användning av Delta-check kan valideringsgränserna höjas något utan att patientsäkerheten sänks. Om gränserna höjs för mycket utan att Delta-check används kan felaktiga värden orsakade av exempelvis interferenser svaras ut automatiskt. Värden utanför referensintervallet för PSA bör granskas manuellt om inte Delta-check används. Det är viktigt att felaktiga provsvar ej går ut till beställaren då det kan orsaka onödigt lidande hos patienten.

Vid studien om automatvalidering beräknades tidsåtgången för manuell granskning av de resultat som ej automatvalideras, vilket blev ca 20 patientprover på 1 minut, om extremt avvikande värden noterats beräknas tidsåtgången bli ca 1-4 minuter för ett analysresultat. Eftersom det är ca 60-80 patientprover som analyseras åt gången vid daglig rutinanalys och ungefär hälften av dessa behöver granskas manuellt, tar det bara några minuter att granska dessa om de inte är extremt avvikande. Avviker värdena mycket skulle det kunna ta cirka 1 timma att granska dessa. Därmed är det svårt att bedöma om den tidsåtgång som sparas in genom att gränserna ändras och Delta-check läggs till.

Den största skillnaden med Delta-check är att patientsäkerheten blir bättre. Patienter vars resultat har förändrats mer än 20 % på 3 månader granskas manuellt. Om endast de nya reglerna användes (ej Delta-check) skulle tid kunna sparas in, men patientsäkerheten sjunker. Behovet med Delta-check är störst för analys av total PSA, eftersom den analysen alltid utförs vid en beställd PSA-analys (fritt PSA analyseras endast om total PSA resultatet befinner sig inom vissa gränser). Det är den totala PSA koncentrationen som kan variera mest och om högre valideringsgränser används behövs Delta-check som en säkerhet.

Studierna för förbättrade rutiner på avdelning för klinisk kemi Oskarshamn skulle kunna gynna både personal på laboratoriet och patienterna. Laboratoriet kan effektivisera sitt arbete och spara tid med automatvalidering och Delta-check. Dessutom kan patientsäkerheten öka genom att Delta-check används eftersom plötsligt förhöjda värden hos patienten hittas enklare.

Interferenser

Interferenser för P-PSA analysen som kan ge felaktigt resultat är luftbubblor i prov eller reagens samt prov som innehåller celler eller fibrintrådar. Även högre koncentrationer av hemoglobin, bilirubin, lipemi eller biotin kan påverka resultatet. Det är viktigt att provrören är fyllda till markeringen eftersom tillsatsen i rören ska ge rätt koncentration för provet. Fylls röret mindre får en mindre mängd blod en större koncentration av tillsatsen. Utgångsdatum för kontroller och reagenser är viktigt att kontrollera för att analysen ska vara pålitlig (1, 9).

Kostnad, etik och avfallshantering

Kostnaden för en analys av P-PSA i Kalmar län är 117 kronor (internt) och 143 kronor (externt). På Kliniskt kemi laboratorium Oskarshamn utförs hela Kalmar läns PSA-analyser, det utförs ca 20 000 analyser på total PSA och ca 6300 på fritt PSA (mätning från 2012) (9, 19).

Det råder total tystnadsplikt när det gäller patienternas uppgifter och resultat. Alla patientprov ska alltid behandlas likadant, med lika mycket engagemang från utföraren av analysen. Det är viktigt att tänka på att alla blodprover kan smitta, även att de inte är markerade med ”blodsmitta”. Därför bör handskar användas vid all hantering av proverna eftersom risken att bli smittad elimineras (2, 9).

Blodprover och annat smittförande material slängs i en gul plastlåda märkt med ”Smittförande avfall” och skickas till destruktion. Överblivna kemikalier/reagenser hanteras efter lokala föreskrifter (19).

SLUTSATS

Hållbarhetsstudie 1 visar att centrifugerade PSA-prover med icke avhållt plasma, förvarade i 6° C, kan analyseras upp till 5 dagar efter provtagning till skillnad från nuvarande metodbeskrivning som kräver avhållt plasma vid analys 24 timmar efter provtagning.

Hållbarhetsstudie 2 visar att PSA-prov, förvarat i 6° C (ej transporterat), centrifugerat och analyserat 1 dag efter provtagning ger oförändrade PSA-värden jämfört med PSA-prov som centrifugerats och analyserats direkt efter provtagning. Detta till skillnad från nuvarande metodbeskrivning där prov skall centrifugeras inom 2 timmar och att ocentrifugerat prov skall förvaras i rumstemperatur.

Nya valideringsgränser och införande av Delta-check skulle ge en halvering av antalet analysresultat som ej automatvalideras.

Om resultaten av de tre delstudierna infördes i rutindrift. Skulle nuvarande provhanteringsrutiner kunna förbättras och patientsäkerheten kunna ökas vid Avdelning för Klinisk Kemi Oskarshamn.

TACKORD

Jag vill tacka er för all hjälp och stöd i mitt examensarbete:

Martin Carlsson, huvudhandledare, Länsenheten för Klinisk kemi Kalmar län.
Anna-Lena Nilsson och övrig personal på kliniskt kemi laboratorium/provtagning
Oskarshamns sjukhus.
Kerstin Sandholm, intern handledare, Linnéuniversitetet.
Gunilla Rehnquist, provtagning, Kristinebergs Hälsocentral.
Eden Woldu, kurskamrat, för stöd i skrivandet.

REFERENSER

1. Nilsson-Ehle P, Berggren Söderlund M, Theodorsson E. Laurells Klinisk kemi i praktisk medicin. Lund: Studentlitteratur AB; 2012.
2. Guder WG, Narayanan S., Wisser H., Zawta B. Samples: From the Patient to the Laboratory. Weinheim: WILEY-VCH GmbH & Co. KGaA; 2003.
3. Chan JM, Stampfer MJ, Giovannucci EL. What causes prostate cancer? A brief summary of the epidemiology. *Seminars In Cancer Biology*. 1998;8(4):263-73.
4. Bratt O. Prostatacancer. *Internetmedicin AB*; 2013 [20130502]; Available from: http://www.internetmedicin.se/dyn_main.asp?page=606.
5. Mahmud S, Franco E, Aprikian A. Prostate cancer and use of nonsteroidal anti-inflammatory drugs: systematic review and meta-analysis. *British Journal of Cancer*. 2004;90(1):93-9.
6. Gerstenbluth RE, Seftel AD, Hampel N, Oefelein MG, Resnick MI. The accuracy of the increased prostate specific antigen level (greater than or equal to 20 ng./ml.) in predicting prostate cancer: is biopsy always required? *The Journal Of Urology*. 2002;168(5):1990-3.
7. Soos G, Tsakiris I, Szanto J, Turzo C, Haas PG, Dezso B. The prevalence of prostate carcinoma and its precursor in Hungary: an autopsy study. *European Urology*. 2005;48(5):739-44.
8. Socialstyrelsen. Nationella riktlinjer för prostatacancersjukvård. 2007 [20130409]; Available from: http://www.socialstyrelsen.se/Lists/Artikelkatalog/Attachments/8946/2007-102-8_20071029.pdf.
9. Nilsson A-L, Tjernberg I. Metodbeskrivning P-PSA total: Länsenheten för klinisk kemi Avd för klinisk kemi Oskarshamns sjukhus; 2012.
10. Almroth A, Ljung G, Eklund T, Nordgren H, Kalafatidis D, Ringqvist I, et al. Value of sextant biopsies in the assessment of local cure following external beam radiotherapy of prostatic adenocarcinoma. *SCANDINAVIAN JOURNAL OF UROLOGY AND NEPHROLOGY*. 1998;32(2):111-5.
11. Wilson J, Junger G. Principles and practice if screening for disease. *Public Health Papers* [Internet]. 1968. Available from: http://whqlibdoc.who.int/php/WHO_PHP_34.pdf.
12. Socialstyrelsen. Modell för införande av nationella screeningprogram <http://www.socialstyrelsen.se/publikationer2012/2012-2-36>. 2012 [20130409].
13. Kabalin JN, McNeal JE, Johnstone IM, Stamey TA. Serum prostate-specific antigen and the biologic progression of prostate cancer. *Urology*. 1995;46(1):65-70.
14. Welfare THa. FlexLab Produktinformation. Tieto AB; 2009 [20130513]; Available from: <http://www.flexlab.com/produktinformation/Flexlab%20Kemi.pdf>.

15. Sano M, Tatsumi N. [Electro chemiluminescence immunoassay]. *J Rinsho Byori*. 1996;44(11):1076-9.
16. AB RDS. Basal applikation e411. Bromma, Sweden: Roche Diagnostics; 2009.
17. Kijek TM, Rossi CA, Moss D, Parker RW, Henchal EA. Rapid and sensitive immunomagnetic-electrochemiluminescent detection of staphylococcal enterotoxin B. *J Immunol Methods*. 2000;236(1-2):9-17.
18. GmbH RD. Metodbeskrivning totalt PSA, ref 04491734 190. Mannheim: Roche Diagnostics GmbH; 2010.
19. Rydén Å. Kvalitetsmanual. Landstinget i Kalmar län, Diagnostiskt centrum, Länsenheten för klinisk kemi; 2011.
20. Björk J. Praktisk statistik för medicin och hälsa. Rohde A, editor. Stockholm: Liber AB; 2010.

BILAGA I

Resultat av kontroller för hållbarhetsstudie 1.

<u>Kontroller Dag 1</u>				
	SIM 1 (låg)		SIM 2 (hög)	
	<i>Fritt PSA</i>	<i>Totalt PSA</i>	<i>Fritt PSA</i>	<i>Totalt PSA</i>
Current-reagens	1,56	4,65	7,02	18,74
Standby-reagens	1,55	4,75	7,10	18,70
Åsatt värde	1,65	4,70	7,60	19,70
+/- 2 SD	0,28/3,02	4,28/5,12	6,77/8,45	18,50/20,90

<u>Kontroller Dag 3</u>				
	SIM 1 (låg)		SIM 2 (hög)	
	<i>Fritt PSA</i>	<i>Totalt PSA</i>	<i>Fritt PSA</i>	<i>Totalt PSA</i>
Current-reagens	1,58	4,28	6,78	18,61
Standby-reagens				
Åsatt värde	1,65	4,70	7,60	19,70
+/- 2 SD	0,28/3,02	4,28/5,12	6,77/8,45	18,50/20,90

<u>Kontroller Dag 5</u>				
	SIM 1 (låg)		SIM 2 (hög)	
	<i>Fritt PSA</i>	<i>Totalt PSA</i>	<i>Fritt PSA</i>	<i>Totalt PSA</i>
Current-reagens	1,58	4,63	7,08	19,05
Standby-reagens		4,53		19,02
Åsatt värde	1,65	4,70	7,60	19,70
+/- 2 SD	0,28/3,02	4,28/5,12	6,77/8,45	18,50/20,90

<u>Kontroller Dag 10</u>				
	SIM 1 (låg)		SIM 2 (hög)	
	<i>Fritt PSA</i>	<i>Totalt PSA</i>	<i>Fritt PSA</i>	<i>Totalt PSA</i>
Current-reagens	1,39	4,31	6,91	18,35
Standby-reagens	1,51	4,50	7,04	18,92
Åsatt värde	1,65	4,70	7,60	19,70
+/- 2 SD	0,28/3,02	4,28/5,12	6,77/8,45	18,50/20,90

Resultat av kontroller för hållbarhetsstudie 2.

<u>Kontroller Dag 1</u>				
	<i>SIM 1 (låg)</i>		<i>SIM 2 (hög)</i>	
	<i>Fritt PSA</i>	<i>Totalt PSA</i>	<i>Fritt PSA</i>	<i>Totalt PSA</i>
Current-reagens	1,55	4,68	7,06	19,11
Åsatt värde	1,65	4,70	7,60	19,70
+/- 2 SD	0,28/3,02	4,28/5,12	6,77/8,45	18,50/20,90

<u>Kontroller Dag 2</u>				
	<i>SIM 1 (låg)</i>		<i>SIM 2 (hög)</i>	
	<i>Fritt PSA</i>	<i>Totalt PSA</i>	<i>Fritt PSA</i>	<i>Totalt PSA</i>
Current-reagens	1,58	4,28	6,78	18,61
Åsatt värde	1,65	4,70	7,60	19,70
+/- 2 SD	0,28/3,02	4,28/5,12	6,77/8,45	18,50/20,90

BILAGA II

Rådata hållbarhetsstudie 1.

Total PSA koncentration <1 µg/L

	Provnr.	Dag 1	Dag 3	Dag 5	Dag 10
1	616-4	0,428	0,441	0,428	0,407
2	618-8	0,785	0,774	0,838	0,794
3	626-3	0,692	0,643	0,64	0,611
4	619-5	0,195	0,185	0,192	0,180
5	620-1	0,005	0,002	0,005	0,005
6	621-8	0,002	0,002	0,002	0,002
7	622-5	0,320	0,265	0,275	0,253
8	623-2	0,302	0,272	0,265	0,266
9	624-9	0,031	0,031	0,029	0,030
10	625-6	0,866	0,485	0,514	0,508

Total PSA koncentration 1-10 µg/L

	Provnr.	Dag 1	Dag 3	Dag 5	Dag 10
1	628-7	2,87	2,76	2,88	2,73
2	627-0	2,07	2,04	2,03	1,97
3	629-4	1,34	1,29	1,32	1,25
4	630-0	2,81	2,71	2,79	2,76
5	636-2	7,82	7,59	7,66	7,49
6	635-5	7,16	7,01	7,22	7,15
7	633-1	4,72	4,51	4,78	4,59
8	634-8	7,52	7,5	7,7	7,48
9	632-4	7,12	6,96	7,25	7,01
10	631-7	1,25	1,15	1,17	1,15

Fritt PSA koncentration 1-10 µg/L

	Dag 1	Dag 3	Dag 5	Dag 10
1				
2				
3				
4				
5	1,06	1,02	1	0,965
6	0,485	0,45	0,423	0,414
7	0,195	0,188	0,188	0,179
8	0,851	0,81	0,817	0,729
9	0,538	0,519	0,505	0,477
10				

PSA-kvot i %

	Dag 1	Dag 3	Dag 5	Dag 10
1				
2				
3				
4				
5	13,56	13,44	13,05	12,88
6	6,77	6,42	5,86	5,79
7	4,13	4,17	3,93	3,90
8	11,32	10,8	10,61	9,75
9	7,56	7,46	6,97	6,80
10				

Totalt PSA koncentration >10 µg/L

	<i>Provrnr.</i>	<i>Dag 1</i>	<i>Dag 3</i>	<i>Dag 5</i>	<i>Dag 10</i>
1	637-9	33,74	31,63	33,61	32,02
2	638-6	77,5	75,31	77,47	73,72
3	639-3	12,74	12,5	12,2	12,32
4	640-9	16,17	15,48	15,59	15,37
5	641-6	323,3	316,8	332,8	316
6	642-3	3406	3482	3392	3247
7	643-0	10,18	9,47	9,77	9,71
8	644-7	10,96	10,15	10,87	10,21
9	646-1	12,41	12,44	12,62	12,29
10	647-8	17,61	17,5	18,63	17,57

Fritt PSA koncentration >10 µg/L

	<i>Dag 1</i>	<i>Dag 3</i>	<i>Dag 5</i>	<i>Dag 10</i>
1				
2				
3	0,94	0,911	0,885	0,85
4	1,09	1,12	1,12	1,11
5				
6				
7	1,08	0,947	0,922	0,909
8	1,52	1,44	1,47	1,42
9	3,79	3,65	3,67	3,62
10	0,989	0,967	0,975	0,927

PSA-kvot i %

	<i>Dag 1</i>	<i>Dag 3</i>	<i>Dag 5</i>	<i>Dag 10</i>
1				
2				
3	7,38	7,29	7,25	6,90
4	6,74	7,24	7,18	7,22
5				
6				
7	10,61	10	9,44	9,36
8	13,87	14,19	13,52	13,91
9	30,54	29,34	29,08	29,45
10	5,62	5,53	5,23	5,28

Rådata hållbarhetsstudie 2.

Totalt PSA

	<i>Provrnr.</i>	<i>Dag 1</i>	<i>Dag 2</i>
1	652-2	1,28	1,22
2	655-3	2,02	1,91
3	615-7	4,86	4,88
4	645-4	1,82	1,86
5	654-6	7,48	7,43
6	656-0	6,99	7,26
7	650-8	3588	3837
8	653-9	9,21	8,85
9	657-7	5,32	5,4
10	659-1	4,35	4,45

Fritt PSA

	<i>Dag 1</i>	<i>Dag 2</i>
	0,836	0,826
	1,33	1,28
	0,816	0,81
	3,13	3,34
	1,1	1,13
	0,92	0,92

PSA-kvot

	<i>Dag 1</i>	<i>Dag 2</i>
	17,2	16,93
	17,78	17,23
	11,67	11,14
	33,98	37,74
	20,68	20,93
	21,08	20,58



Linnéuniversitetet

Kalmar Växjö

391 82 Kalmar
Tel 0480-446200
Lnu.se