

ABX Micros CRP ®
Hæmatologi-instrument med CRP

*Rapport fra en afprøvning
i regi af SKUP*

Odense Juni 2003

SKUP rapport nr. 23 har været længe undervejs.

Bo Jørgensen, SKUP koordinator i Danmark i 2000 og 2001 har udarbejdet protokol, udført afprøvningen og skrevet præliminær rapport.

Undertegnede har sammen med Erling Birkemose redigeret i det af Bo Jørgensen udarbejdede udkast til rapport, foretaget supplerende beregninger og afsluttet rapporten.

Protokol og rapport er skrevet før Laboratorieudvalget under Fagligt Udvalg vedrørende Almen Praksis i Danmark har publiceret kvalitetskravene til analyserne B-Hæmoglobin og C-reaktivt protein.

Esther Jensen
Leder af SKUP i Danmark
Juni 2003

INDHOLDSFORTEGNELSE.

	Side
Sammendrag	4
Produktoplysninger fra fabrikanten	5
Planlægning	6
Analytiske kvalitetsspecifikationer	7
Beregninger	7
Gennemførelse	8
Resultater fra rutinemetoder	9
Rutinemetoder i afprøvningen	9
Resultater fra ABX Micros CRP® - almen praksis	
Interne kontroller	11
CRP, primær afprøvning	11
CRP, supplerende afprøvning	13
B-hæmoglobin	15
Bias, Patientprøver	17
Differentialtælling	21
Oplysninger fra lægepraksis.	25
Skemaer til lægepraksis i forbindelse med afprøvning	27
Bilag	33
Karolinska Sjukhuset	Bilag 1
Kommentarer fra rekvirenten	36

SAMMENDRAG

ABX Micros CRP® er et fuldautomatisk analyseinstrument til bestemmelse af hæmatologiske parametre og 3-parts differentieltælling. CRP kan tilvælges ved knaptryk. SKUP-afprøvningen havde til formål at evaluere analysekvalitet og praktikabilitet under slut-bruger omstændigheder i fire danske lægepraksis. Blodprøver fra 160 patienter blev anvendt til bestemmelse af B-hæmoglobin, differentieltælling og CRP, som var blevet udvalgt som centrale komponenter i afprøvningen. Parallelprøver blev sendt til rutinemæssig bestemmelse af CRP og B-hæmoglobin ved lokale sygehuslaboratorier, mens udstrygningspræparater blev sendt til udvidet manual differentieltælling ved Odense Universitetshospital. Analytisk imprecision ($CV_{\text{intra-serie}}$) i almen praksis skulle svare til resultaterne fra afprøvning af ABX Micros CRP® på sygehuslaboratorium. Overensstemmelsen med lokale rutinemetoder skulle overholde kvalitetsspecifikationer, som var defineret af SKUP's faggruppe i Danmark.

Resultater

CRP: Ved CRP 2-25 mg/L var imprecisionen i alle lægepraksis højere (CV ca. 30%) end på laboratoriet (CV ca. 7%) og for rutinemetoder (CV ca. 5%). Ved fornyet afprøvning efter ca. 6 måneders anvendelse af instrumentet i to lægepraksis blev imprecisionen ved CRP 2-25 mg/L reduceret til CV ca. 5%. Dette taler for, at en vis grad af rutinering med instrumentet er nødvendig for at opnå acceptabel imprecision i almen praksis.

I området 25-100 mg/L var imprecisionen i almen praksis (CV ca. 5%) den samme som på laboratoriet og for rutinemetoder.

ABX Micros CRP® målte i første afprøvning CRP ca. 40% lavere end rutinemetoderne, mens forskellen mellem rutinemetoderne var ca 11%. Efter 6 måneders brug i to praksis var forskellen på ca -14% i forhold til rutinelaboratorium.

B-hæmoglobin: I området 5,8-10,8 mmol/L var imprecisionen i lægepraksis gennemsnitligt 1,4% og den samme som for rutinemetoder.

Overensstemmelsen med rutinemetoder var præget af samme bias (ca. $\pm 3\%$) som for rutinemetoderne imellem. Forudsatte kvalitetsspecifikationer var overholdt.

Differentieltælling: Imprecisionen (1% for granulocytter, ca. 2% for lymfocytter og ca. 7% for monocytter) var væsentligt lavere end for manuel differentieltælling. Der findes ingen dokumenteret definition på leucocytterne i den tekniske manual.

Arbejdspladsvurdering: Slut-brugerne besvarede en række spørgeskemaer, som blev evalueret ud fra et point-system. Der blev givet point 0-1-2-3-4, hvor 4 er bedst. Efter opstilling af instrumenterne fik pladskrav og støj udvikling under middel, mens krav til tilslutninger, reagensopbevaring, affaldsbortskaffelse, udvalg af primærrør samt betjening af instrumentet fik over middel. Efter afslutning af analysearbejdet var det generelle indtryk 3,8 point af 4,0 mulige. Vedligeholdelse blev angivet til 1-2 min. dagligt og 5-10 min. ugentligt. Der var ingen hygiejniske problemer ved betjeningen.

PRODUKTOPLYSNINGER FRA FABRIKANTEN.Leverandør

Danmark
 TRIOLAB AS
 Vallensbækvej 35
 DK-2605 Brøndby
 Telefon 4396 0012
triolab@triolab.dk

Norge
 Bergman Diagnostika AS
 Postbox 403
 N-2001 Lillestrøm
 Telefon (47) 6383 5750
info@bergmandiag.no

Sverige
 TRIOLAB AB
 Box 2109
 SE 431 02 Mölndal
 Telefon (46) 3181 7200
info@triolab.se

<i>Komponenter</i> Hæmatologi	18 parametre ERY, LEU, Trombocytter (PLT), Hb., HCT, MCV, MCH, MCHC, RDW, PDW, PCT, MPV 3-parts differentialtælling (Monocytter (% og #), Lymfocytter (% og #) og Granulocytter (% og #)).
Hæmatologi + CRP	19 parametre (som ovenfor + CRP).
<i>Analyseprincip</i> B-hæmoglobin	Spektrofotometri (550 nm) af cyanomethæmoglobin efter hæmolyse og prøvebehandling med kaliumcyanid. Dette er referencemetoden. Det er også muligt at benytte Biolyse (uden kaliumcyanid) til behandling af prøverne.
ERY, LEU, PLT	Baseret på impedans-variation under passage af celler gennem kalibreret mikro-apertur med DC-elektroder placeret på hver side. Impedans proportional med cellevolumen og aflæses i 256 kanaler (ERY og LEU) og 128 kanaler (PLT). Herudover anvendes et avanceret elektronisk sorteringssystem til validering af de målte signaler.
HCT	Numerisk integration af ERY.
3-parts diff.	Baseret på volumetrisk måling af LEU efter prøvebehandling med patenteret diluent og hæmolysereagens, der preserverer og konditionerer cellemembranerne til differentieret reaktivitet under passage gennem spændingsfeltet i kalibreret mikro-apertur.
CRP	Immuno-turbidimetri metode. Spektrofotometri (850 nm) af CRP-latexpartikel agglutiner. (Prøven til CRP hæmolyseres. Latexpartikler tilsættes. 1. absorptionsmåling udføres. Antistoffer tilsættes. 2. absorptionsmåling udføres. CRP korrigeres med prøvens hæmatokrit og Plasma-CRP beregnes.
<i>Måleområder</i> Leukocytter Hæmoglobin Erythrocytter Trombocytter Hæmatokrit CRP	<u>Måleområder er opgivet ud fra den fabriksoplyste linearitet på fuldblod:</u> 0,5 - 80 x 10 ⁹ /L (måler fysisk fra 0,0 - 80,0, herover giver instrumentet information om fortynding) 1,6 - 14,3 x mmol/L (måler fysisk fra 0,0 - > 25) 0,20 - 7,50 x 10 ¹² /L (måler fysisk fra 0,0 - > 10) 10 - 1000 x 10 ⁹ /L (måler fysisk fra 0 - 1800) 0,116 - 0,620 L/L (måler fysisk fra 0,000 - 0,620, herover giver instrumentet information om fortynding) 2,0 - 100,0 mg/L (måler fysisk fra 0,0 - 100,0, herover giver instrumentet information om fortynding)
<i>Reagenser</i>	Hæmatologi: 3 reagenser (diluent, hæmolyse, rensesvæske). Hæmatologi + CRP: 6 reagenser (som ovenfor + CRP-reagenser). Reagenser mv. leveres i beholdere, der tilsluttes direkte til instrumentet.
<i>Prøvemateriale</i>	EDTA-stabiliseret fuldblod. CBC: 10 µl CBC + CRP: 18 µl
<i>Kalibrering</i>	Automatisk.
<i>Intern kontrol</i> <i>Ekstern kontrol</i>	CBC + diff.: Minotrol 16 intern kontrol (ABX Diagnostics), 3 niveauer CRP: ASO-CRP-RF Control (ABX Diagnostics), 3 niveauer. CBC + diff.: (Hycel Diagnostics), 3 niveauer
<i>Hukommelse</i>	Seneste måling. (Option mini-PC med database).
<i>Prøveidentifikation</i>	Numerisk tastatur. (Option barcode scanner).
<i>Svartid</i>	Hæmatologi: 70 sek. Hæmatologi + CRP: 260 sek.
<i>Svarafgivelse</i>	Display og printer. (Option overførsel via EDI-format til laboratorie edb-system).
<i>Flag</i>	Programmerbare normalgrænser, patologiske flag.
<i>Printer</i>	Mini termo-printer eller 80 kolonner matrix-printer. (Option laser-printer).
<i>Interface</i>	RS-232 C.
<i>Vedligeholdelse</i>	Automatisk opstart og nedlukningsprocedure, samt automatisk vaske-cyklus.
<i>Dimensioner</i>	41 x 30 x 40 cm.(HxBxD), vægt 18 kg.
<i>Priser</i>	Oplysninger om priser hos leverandøren.

PLANLÆGNING

Triolab A/S, Vallensbækvej 35, DK-2605, Brøndby v/ produktchef Steen Bak henvendte sig januar 2001 til SKUP Danmark vedrørende evaluering af ABX Micros CRP® OT18 laboratorieudstyr. Evalueringen skulle omfatte analysekvalitet og praktikabilitet under slutbruger-

omstændigheder i almen praksis i Danmark. Evalueringen skulle fokusere på udvalgte komponenter B-hæmoglobin og CRP samt 3-parts differentialtælling.

SKUP's faggruppe i Danmark tilrettelagde evalueringen ud fra retningslinierne angivet i bogen "Uprøvning av analyseinstrumenter" udgivet på forlaget Alma Mater i efteråret 1997. Initiativet fandt støtte hos SKUP's faggrupper i Norge og Sverige.

Dokumentation for analysekvaliteten af ABX Micros CRP® ved sygehuslaboratorium blev tilstillet af SKUP's faggruppe i Sverige (v/ Arne Mårtensson) i form af rådata fra afprøvning ved Karolinska Sjukhuset i Stockholm.

Kvalitetsspecifikationer vedrørende analysekvaliteten af ABX Micros CRP® i almen praksis for udvalgte komponenter B-hæmoglobin og CRP blev fastlagt af SKUP's faggruppe i Danmark og meddelt SKUP's faggrupper i Norge og Sverige.

Alle detaljer vedrørende evalueringen blev redegjort for i protokol, der blev godkendt af Triolab A/S, af afprøverne i almen praksis samt af SKUP's danske faggruppe inden påbegyndelse af evalueringen. Uddrag af protokollen er indarbejdet i nærværende rapport under de respektive afsnit.

Evalueringen blev udført i fire lægepraksis og omfattede:

- Inden for serie præcision med patientprøver.
- Total, inden for serie og dag-til-dag præcision med kontrolmateriale.
- Korrelation med rutinemetoder for udvalgte komponenter B-hæmoglobin, CRP og differentialtælling.
- Praktikabilitet.

Følgende praktiserende læger forestod evalueringen i deres lægepraksis:

Praktiserende læge Peter Stæhr, 3650 Ølstykke	Instr. nr. 011CR1974
Praktiserende læge Lars Buch, 5620 Glamsbjerg	Instr. nr. 012CR1977
Praktiserende læge Allan Raft, 7830 Vinderup	Instr. nr. 012CR1978
Praktiserende læge Jens Georg Hansen, 9200 Aalborg SV	Instr. nr. 012CR1937

De deltagende lægepraksis refererede til klinisk biokemiske afdelinger ved henholdsvis Frederikssund Sygehus, Odense Universitetshospital, Holstebro Centralsygehus og Aalborg Sygehus vedrørende parallelanalyse af B-hæmoglobin og CRP, og til Odense Universitetshospital vedrørende parallel differentialtælling.

Afprøvningen blev suppleret med nærmere vurdering af rutinemetoderne til CRP (tabel 1) ved udsendelse af parallelprøver samt gentaget evaluering af analysekvaliteten for CRP i to lægepraksis, hvor Odense fungerer som reference for dem begge.

Afprøvningen omfattede ikke evaluering af lot-variation for reagenser og kalibratorer.

Data er opsamlet i perioden april 2001 - juni 2001 og november 2001.

Rapporten er skrevet af Bo Jørgensen februar 2002 og revideret af Erling Birkemose og Esther Jensen december 2002.

ANALYTISKE KVALITETSSPECIFIKATIONER

Kvalitetsspecifikationer vedrørende analysekvaliteten af ABX Micros CRP® i almen praksis for de udvalgte komponenter B-hæmoglobin og CRP blev fastlagt af SKUP's faggruppe i Danmark.

Analytisk imprecision for de udvalgte komponenter B-hæmoglobin og CRP i almen praksis skulle svare til resultaterne fra Karolinska Sjukhuset, bilag 1.

For B-hæmoglobin må afvigelsen fra rutinemetoderne være $\pm 5\%$. Samme krav stilles sædvanligvis i Danmark til andre typer analyseudstyr til decentral B-hæmoglobin måling.

For CRP måtte afvigelsen fra rutinemetoderne være ± 10 mg/L på niveau < 25 mg/L, ± 15 mg/L på niveau 25-75 mg/L og ± 25 mg/L på niveau > 75 mg/L. Disse krav tager hensyn til den kliniske anvendelse af CRP og er anderledes end krav ved tidligere SKUP-afprøvninger af feltmetoder til bestemmelse af CRP.

Højest 5% af resultaterne på ABX Micros CRP® må afvige mere end de fastsatte krav.

BEREGNINGER

– Til deskriptiv statistik blev anvendt middelværdi \pm SD.

– Præcision inden for serie ($CV_{\text{intra-serie}}$) i dobbeltbestemmelser: $\sqrt{\sum \left(\frac{d_i}{\bar{x}_i} \right)^2 / 2n}$

– Totalvariation i kontrolmålinger (CV_{total}): $\sqrt{\sum ((x_i - \bar{x}_n)^2 / (n - 1) / \bar{x}_n}$

– Dag-til-dag variation i kontrolmålinger $CV_{\text{inter-serie}}$: $\sqrt{(CV_{\text{total}}^2 - CV_{\text{intra-serie}}^2)}$

– Totalfejl mellem metoder: bias $\pm 1,65 * CV_{\text{intra-serie}}$.

– 95% sikkerhedsgrænser for variationskoefficienter ud fra invers Chi²-fordeling.

– Øvre 95% konfidensgrænse (95% CI) for CV% i manual differentialtælling til 200 celler udført af fire bioanalytikere for hvert præparat (P = gennemsnitlige cellefraktioner):

$$\sqrt{\frac{P * (1 - P)}{200}} * 1,96$$

Det var aftalt med rekvirenten, at analysekvaliteten for CRP skulle vurderes inden for ABX Micros CRP®'s operationelle måleområde, som er 2-100 mg/L, og i intervallerne 2-25 mg/L, 25-75 mg/L og > 75 mg/L.

GENNEMFØRELSE

Alle analyser med ABX Micros CRP® udføres med samme lotnr. reagenser, kalibratorer og interne kontrolmaterialer, leveret af Triolab A/S direkte til lægepraksis. Alle forhold vedrørende opbevaring af reagenser mv. samt betjening af ABX Micros CRP® skulle være i overensstemmelse med Triolab's oplæring og instrumentets manual. Alle forhold vedrørende evalueringen iøvrigt skal være i overensstemmelse med protokollen. De praktiserende læger bekræftede i aftaleark deres kapacitet til at gennemføre evalueringen i henhold til protokollen.

Opstilling af analyseudstyr, levering af reagenser og kontrolmaterialer samt oplæring af de udførende fagpersoner vedrørende betjening, opbevaring af reagenser, prøvebehandling mv. blev foretaget af Triolab A/S. Efter oplæring udfyldte de udførende fagpersoner et spørgeskema vedrørende førstehåndsindtryk og arbejdspladsvurdering.

Blodprøver til evalueringen tages på patienter, der i konsultationen har indikation for bestemmelse af CRP. Hver lægepraksis inkluderer 40, fortrinsvis konsekutive, patienter.

Blodprøverne tages med sædvanlig venepunktur i EDTA-primærrør af samme type, som rutinemæssigt anvendes i de enkelte lægepraksis. Straks efter tagning vendes primærrør og stilles i stativ i 10 minutter, de vendes roligt 15-20 gange inden analyse. Alle analyser udføres som dobbeltbestemmelser, idet analysen straks gentages med det samme primærrør efter fornyet rolig vending 15-20 gange.

Prøver til parallel bestemmelse af B-hæmoglobin og CRP tages samtidig med prøverne til ABX Micros CRP® og sendes til lokalt sygehuslaboratorium efter gældende retningslinier. Svar fra både ABX Micros CRP® og rutinemetoderne på sygehuslaboratorierne føres på specialark, der arkiveres sammen med udskrifter fra ABX Micros CRP® og fotokopier af de originale svar fra rutinemetoderne.

Hver lægepraksis udvælger 10 prøver til fremstilling af udstrygningspræparater. Udvælgelsen sker ud fra B-leucocyt svar på ABX Micros CRP® samt en sekvensliste, der sikrer et passende måleområde (fra $<4 * 10^9/L$ til $>20 * 10^9/L$ med spring á $2 * 10^9/L$). Der fremstilles to udstrygningspræparater umiddelbart efter analysering med ABX Micros CRP® med henblik på at sikre brugbart materiale. Alle udstrygningspræparater sendes til afdeling KKA, Odense Universitetshospital. Efter registrering og sortering blev præparaterne farvet på SP-100 (Sysmex) og talt manuelt med Leukodif 700 (ILS). Hvert præparat blev talt uafhængigt af fire forskellige bioanalytikere og hver tælling var til 200 leucocyter (i overensstemmelse med NCCLS guidelines). Manuel differentieltælling tjente herved som referencemetode til differentieltælling med ABX Micros CRP®. "Granulocytter" blev defineret som summen af segment-og stavkernede neutrofile, eosinofile og basofile granulocytter.

I ABX Micros tekniske manual er der ikke nogen dokumentation af sporbarhed for granulocytter, monocytter og lymfocytter.

I lægepraksis analyseres internt kontrolmateriale i dobbeltbestemmelser før man begynder analysering af patientprøver og intern kontrol gentages for hver 10. patientprøve. Kontrolmaterialerne var: B-leucocyter: Minotrol 16, Abnormal High (ABX Diagnostics), lotnr. MX237H, målværdi $19,5 * 10^9/L$, grænser $17,9 - 21,1 * 10^9/L$. CRP: ASO-CRP-RF Control (ABX Diagnostics), lotnr. MI2500, grænser $16,8 - 24,2 mg/L$.

Efter afslutning af alle analyser med ABX Micros CRP® modtog de udførende fagpersoner et spørgeskema vedrørende slut-evaluering.

Rutinemetodernes overensstemmelse for B-hæmoglobin skulle dokumenteres ud fra resultaterne af en aktuel DEKS-udsendelse (april 2001). Overensstemmelsen for CRP skulle vurderes ved paralleludsendelse af patientprøver. Resultaterne skulle anvendes til beskrivelse af tolerancegrænser for ABX Micros CRP® overfor et udvalg af almindelige rutinemetoder i Danmark vedrørende B-hæmoglobin og CRP.

RESULTATER FRA RUTINEMETODER.

B-hæmoglobin

Tabel 1 viser hvilke instrumenter, der blev anvendt i afprøvningen til direkte sammenligning med ABX Micros CRP® i almen praksis. Overensstemmelsen mellem rutinemetoderne til B-hæmoglobin blev vurderet ud fra DEKS-udsendelse april 2001.

Tabel 1. B-hæmoglobin (enkeltbest.) over for DEKS kontrolmateriale med "target"-værdi.				
Hospital Instrument	Frederikssund (Sysmex SF3000)	Odense (Sysmex SE9000)	Holstebro Advia 120	Aalborg (Coulter STKS)
DEKS (mmol/L) 7,13 ± 0,14 95%: 6,8-7,4	7,0	6,9	7,3	7,3

Bias mellem de anvendte rutinemetoder lå inden for 95%-grænserne af landsvariationen, som var 2,0% (107 laboratorier deltog i DEKS-udsendelsen). Den aktuelle CV_{intra-serie} for rutinemetoderne til B-hæmoglobin blev ikke evalueret. Ud fra CV_{intra-serie} 2,0%, som er sædvanlig i denne forbindelse, kunne totalfejlen mellem rutinemetoder på landsplan estimeres til 5,3% (bias ± 1,65*CV_{intra-serie}).

Det ville forventes, at analysekvaliteten af B-hæmoglobin med ABX Micros CRP® kunne leve op til samme totalfejl i forhold til de anvendte rutinemetoder i afprøvningen.

CRP

Tabel 2. Specifikationer for CRP rutinemetoder i afprøvningen.				
	Frederikssund	Odense	Holstebro	Aalborg
<i>Instrument</i>	Vitros 250	Axon 54	Cobas Integra 700	Vitros 950
<i>Reagenser</i>	Vitros slides	DAKO	Roche	Vitros slides
<i>Lotnr.</i>	3705-4404	040 (103)	155 256	3705-1558
<i>Kalibrator</i>	Kit 7	DAKO	CRPT Standard	Kit 7
<i>Lotnr.</i>	0700	706 118	152 421	0780
<i>Bemærkning</i>	-	CRM sporbar	CRM sporbar	-

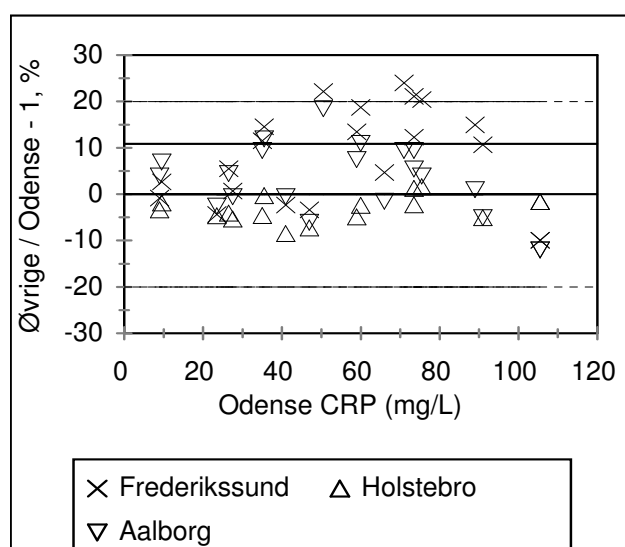
Der forelå ingen DEKS-udsendelse til beskrivelse af de CRP-rutinemetoder, der blev anvendt til direkte sammenligning med ABX Micros CRP® i almen praksis. Derfor blev frosne serumprøver fra 20 patienter udsendt 21. maj 2001 fra Odense Universitetshospital til de øvrige deltagende laboratorier. Prøverne skulle analyseres som dobbeltbestemmelser. Holstebro afleverede svar fra 16 af prøverne, mens øvrige laboratorier afleverede svar fra alle prøverne. Resultaterne fremgår af tabel 3.

Tabel 3. Estimer af $CV_{\text{intra-serie}}$ (dobbelbestemmelser) for afprøvningens rutinemetoder til CRP (kontrolmateriale med ukendt værdi).				
<i>CRP (mg/L)</i>	Frederikssund (Vitros 250)	Odense (Axon 54)	Holstebro (Cobas Integra)	Aalborg (Vitros 950)
Sidste 20 interne kontroller	CV 5,0%	CV 2,7%	CV 2,5%	CV 2,5%
Udsendte prøver (middel)	63,3	53,5	47,2	58,2
Spændvidde	8 - 105	9 - 108	6 - 105	13 - 97
Middel differens	0,6	-0,4	-0,4	2,6
$CV_{\text{intra-serie}}$ (95% CI)	4,2% (3,2-6,1%)	2,5% (1,9-3,7%)	4,3% (3,2-6,7%)	6,1% (4,6-8,9%)

Som det fremgår af tabel 3, var $CV_{\text{intra-serie}}$ i Holstebro og Aalborg noget højere end forventet ud fra CV i de løbende interne kontroller. I Aalborg var den gennemsnitlige differens pr. dobbeltbestemmelse 2,6 mg/L og væsentligt højere end ved de øvrige laboratorier.

Faggruppen havde udpeget rutinemetoden i Odense som anker for de øvrige rutinemetoder.

Det ses i figur 1, at svar fra rutinemetoden i Odense generelt var lavere end svar fra øvrige rutinemetoder, gennemsnitlig bias +10,9% (95% CI: +2,6% til +24,5%). Gennemsnitlig $CV_{\text{intra-serie}}$ for alle rutinemetoderne under ét var 3,3% (tabel 3: $(5+2,5+2,5)/3$). Estimeret totalfejl mellem metoderne, $(\text{bias} + 1,65 * \sqrt{(CV_{\text{middelFrederikssund, Holstebro, Aalborg}}^2 + CV_{\text{Odense}}^2)})$ er 20%. Det ville forventes, at analysekvaliteten af CRP med ABX Micros CRP® kunne leve op til samme totalfejl i forhold til de anvendte rutinemetoder i afprøvningen.



Figur 1. Ratioplot i %. Middelt af dobbeltbest. Bias 10,9%. Totalvariation 20,1%.

ABX Micros CRP® i almen praksis.

Præcision inden for serie og dag-til-dag variation, internt kontrolmateriale

Hver lægepraksis udførte fem hold kontrolbestemmelser med de leverede kontrolmaterialer til CRP og B-leucocytter. I én lægepraksis blev to patientprøver forvekslet med B-leucocyt kontrol og måtte derfor kasseres. Resultaterne af de øvrige bestemmelser fremgår af tabel 4.

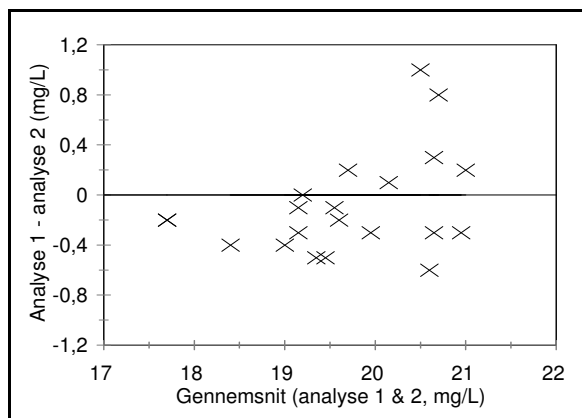
Tabel 4. Målinger med internt kontrolmateriale i fire lægepraksis.		
	CRP (mg/L, N=20)	B-leucocytter (*10⁹/L, N=18)
Middel ± SD	19,77 ± 0,89	19,68 ± 0,53
Spændvidde	17,6 - 21,1	18,9 - 21,2
CV total	4,5% (3,4-6,6%)	2,7% (2,0-4,0%)
CV _{intra-serie}	1,5% (1,1-2,2%)	2,0% (1,5-3,0%)
CV _{inter-serie}	4,2% (3,2-6,1%)	1,8% (1,4-2,7%)

CRP-kontrollerne overholdt de oplyste grænser for det anvendte lotnr. kontrolmateriale. Vi fandt ingen væsentlig forskel i CV_{intra-serie} mellem målinger med CRP <20 mg/L (1,1%, N=12) og ≥20 mg/L (1,8%, N=8).

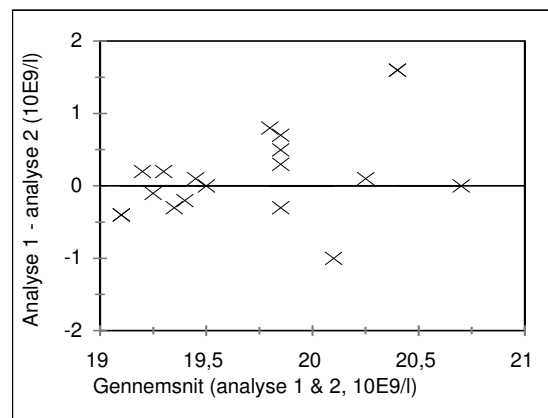
B-leucocyt kontrollerne overholdt de oplyste grænser for det anvendte lotnr. kontrolmateriale. CV_{intra-serie} var lidt lavere ved målinger <20 * 10⁹/L (1,4%, N=11) end ≥20 * 10⁹/L (2,7%, N=7).

Datamaterialet var for lille til beregne en eventuel forskel i imprecision mellem de enkelte lægepraksis. Vurderet ud fra råværdierne var der ingen væsentlig forskel.

Dobbeltbestemmelserne med internt kontrolmateriale fremgår af figur 2 og figur 3.



Figur 2. Differensplot af 20 dobbeltbestemmelser med CRP kontrolmateriale i fire lægepraksis.



Figur 2. Differensplot af 18 dobbeltbestemmelser med B-Leukocyt kontrolmateriale i fire lægepraksis.

Analytisk imprecision, patientprøver

Imprecision (CV_{intra-serie}) i patientprøver blev vurderet for CRP og B-hæmoglobin.

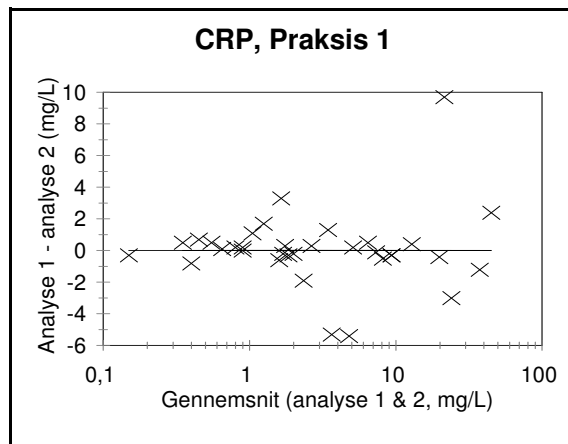
CRP, primær afprøvning

Resultaterne af CRP dobbeltbestemmelser med ABX Micros CRP® fremgår af tabel 5. Differensplot af dobbeltbestemmelserne i de enkelte lægepraksis fremgår af de figurer, der er nævnt i tabel 5. Differensplottene viser alle dobbeltbestemmelser med CRP middelværdi >0 mg/L.

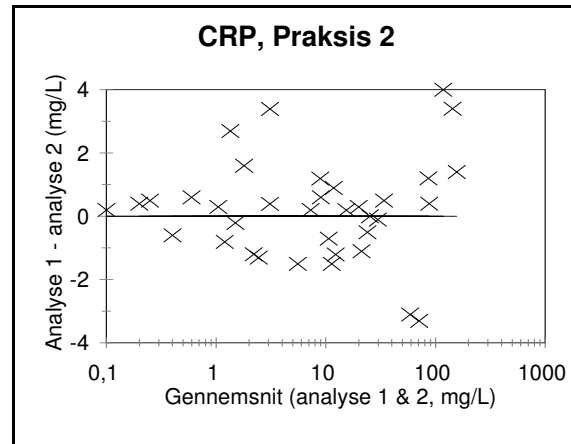
CV_{intra-serie} til kritisk evaluering blev beregnet for dobbeltbestemmelser med middelværdi >2 mg/L

Tabel 5. CV_{intra-serie} i patientprøver (CRP dobbeltbestemmelser).				
	Praksis 1	Praksis 2	Praksis 3	Praksis 4
Målinger >0 mg/L	32	36	36	34
Målinger ≥2 mg/L	17	23*	14	15**
Middelværdi (mg/L)	12,7	24,4	10,7	22,4
Spændvidde (mg/L)	2,0 - 45,1	2,2 - 87,8	2,1 - 70,1	2,9 - 70,1
<i>CV% (95% CI), N</i>				
Ved 2-25 mg/L	38,4 (28-61), 15	24,6 (18-38), 16	30,5 (22-50), 13	37,8 (26-66), 11
Ved 25-75 mg/L	3,1 (-), 2	2,3 (1,4-6,6), 5	0,1 (-), 1	2,1 (1,2-7,8), 4
Ved >75 mg/L	-	0,7 (-), 2	-	-
(ved <2 mg/L)	74,3 (-), 15	101,5 (-), 10	54,8 (-), 22	103,6 (-), 19
Differensplot	Figur 4	Figur 5	Figur 6	Figur 7
*: Tre målinger med middelværdi >100 mg/L udeladt i beregningerne.				
**: En outlier med middelværdi 46 mg/L og differens 44 mg/L udeladt i beregninger og plot.				

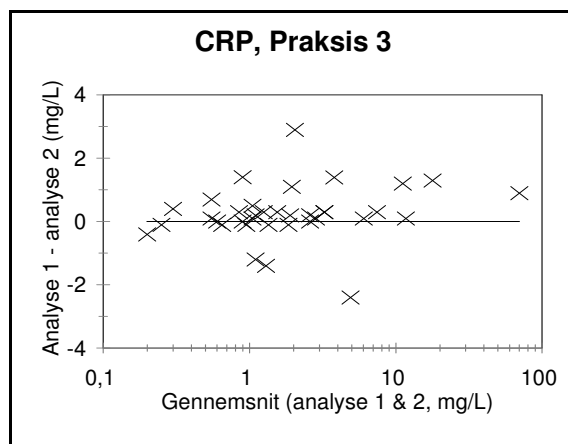
Analytisk impression på CRP måling (dobbeltbestemmelser) i 4 forskellige praksis.



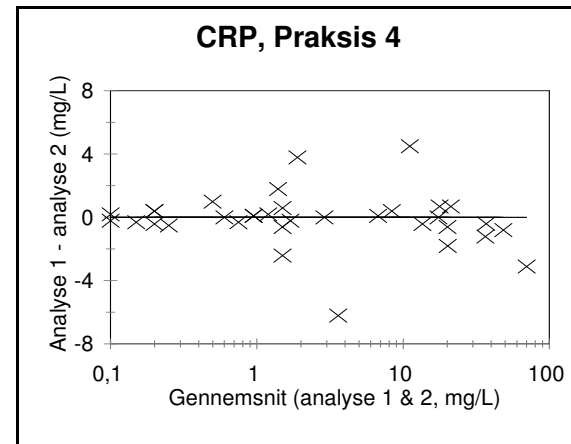
Figur 4. Differensplot af 32 CRP dobbeltbestemmelser i praksis nr. 1.



Figur 5. Differensplot af 36 CRP dobbeltbestemmelser i praksis nr. 2.



Figur 6. Differensplot af 36 CRP dobbeltbestemmelser i praksis nr. 3.



Figur 7. Differensplot af 33 CRP dobbeltbestemmelser i praksis nr. 4. En outlier ekskluderet.

Som det fremgår af tabel 5, havde alle lægepraksis meget høj imprecision i området <2 mg/L. Dette er i overensstemmelse med resultater på ABX Micros CRP® i laboratoriet (bilag 1, tabel II) og instrumentets specifikationer (operationelt måleområde 2-100 mg/L).

Alle lægepraksis havde høj imprecision i prøver med CRP 2-25 mg/L (i gennemsnit 33%). Imprecisionen i dette måleområde var højere end for rutinemetoderne (tabel 3 og bilag 1 tabel I) og også højere end for ABX Micros CRP® på laboratoriet (bilag 1 tabel II). Som det fremgår af figur 4-7, forekom markante afvigelser i enkelte dobbeltbestemmelser, men disse tilfælde forklarede ikke alene den høje imprecision.

Høj imprecision ved CRP 2-25 mg/L var et generelt fund i lægepraksis. Det forekommer usandsynligt, at alle fire ABX Micros CRP® instrumenter var defekte. Da imprecisionen med patientprøver var betydeligt højere end med kontrolmateriale (tabel 4), kunne resultatet blandt andet bero på præ-analytiske forhold. Til eksempel kan unøjagtig fyldning af prøverør samt vekslende varighed af henstand inden analysering være potentielle fejlkilder, som eventuelt ikke blev tilstrækkeligt iagttaget i lægepraksis under afprøvningen. Utilstrækkelig opblanding af prøverne var næppe en fejlkilde, idet CV for B-hæmoglobin var lav i alle lægepraksis (se tabel 8).

Hovedparten af de kvantitative CRP-bestemmelser i lægepraksis var ≤ 25 mg/L hos patienter med klinisk indikation for bestemmelse af CRP. Ud fra en gennemsnitsbetragtning af resultaterne i tabel 5, kunne CV_{intra-serie} i dette hyppigt forekommende måleområde i almen praksis, forventes at være ca. 30%. Dette ville spille en praktisk rolle for tolkning af svar, idet 95% sikkerhedsgrænserne for et CRP-svar er måleresultatet $\pm 1,96 \cdot SD_{intra-serie}$ (fx. 8-32 mg/L for et måleresultat på 20 mg/L).

CRP, supplerende afprøvning

Som følge af ovennævnte fund blev, efter aftale med rekvirenten, udført en supplerende afprøvning af analysekvaliteten med ABX Micros CRP® i lægepraksis nr. 2 og nr. 4.

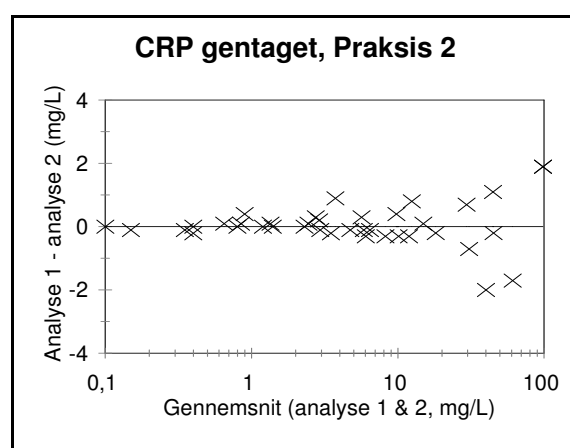
Den supplerende afprøvning blev udført ca. 6 måneder efter den primære afprøvning og efter samme retningslinier (dog uden målinger med kontrolmateriale). Lægepraksis nr. 2 og nr. 4 havde i den mellemliggende periode anvendt ABX Micros CRP® rutinemæssigt (i modsætning til lægepraksis nr. 1 og nr. 3, som ikke deltog i den supplerende afprøvning).

Begge lægepraksis udførte dobbeltsbestemmelser af CRP i friske blodprøver fra 39 patienter med klinisk indikation for CRP-bestemmelse og sendte parallelle serumprøver til analyse med rutinemetoden på Odense Universitetshospital. Databehandling blev foretaget efter samme principper som for de øvrige CRP-resultater i afprøvningen. Prøveantal og måleområde i den primære og den supplerende afprøvning var sammenlignelige.

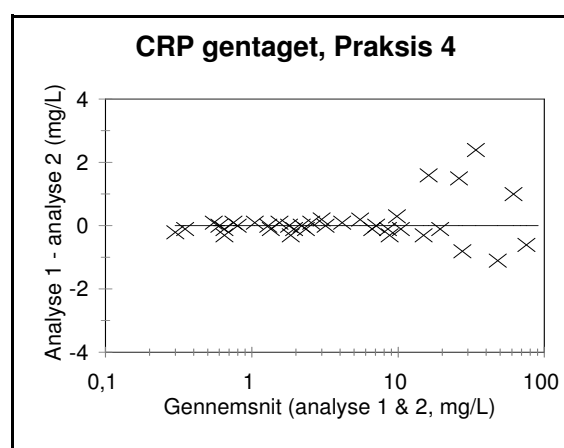
Den supplerende afprøvning viste væsentligt bedre imprecision i måleområdet 2-25 mg/L (tabel 6). Den opnåede imprecision svarende til analysekvaliteten for ABX Micros CRP® på laboratoriet (tabel II i bilag 1) og for sædvanlige rutinemetoder til bestemmelse af CRP (tabel I i bilag 1 og tabel 3).

I området >25 mg/L var imprecisionen i væsentlighed den samme som i den primære afprøvning (gennemsnitligt 2,5%).

Tabel 6. $CV_{\text{intra-serie}}$ i patientprøver (CRP, dobbeltbestemmelser) i primær og supplerende afprøvning i to lægepraksis.				
	Praksis 2		Praksis 4	
Afprøvning	Primær	Supplerende	Primær	Supplerende
Målinger >0 mg/L	36	39	34	39
Målinger ≥ 2 mg/L	23	26	15	24
Middelværdi (mg/L)	24,4	18,7	22,4	23,2
Spændvidde (mg/L)	2,2 - 87,8	2,3 - 98,6	2,9 - 70,1	2,3 - 91,1
$CV\%$ (95% CI), N				
Ved 2-25 mg/L	24 (18-38), 16	5,0 (3,8-7,4), 19	37,8 (26-66), 11	2,7 (2,0-4,2), 16
Ved 25-75 mg/L	2,3 (1,4-6,6), 5	2,0 (1,2-4,9), 6	2,1 (1,2-7,8), 4	3,3 (2,1-8,1), 6
Ved >75 mg/L	0,7 (-), 2	1,4 (-), 1	-	2,4 (-), 2
(ved <2 mg/L)	101,5 (-), 10	43,9 (-), 13	103,6 (-), 19	16,9 (-), 15
Differensplot	Figur 5	Figur 8	Figur 7	Figur 9



Figur 8. Differensplot af 39 CRP dobbeltbestemmelser gentaget i praksis nr. 2.



Figur 9. Differensplot af 39 CRP dobbeltbestemmelser gentaget i praksis nr. 4.

Forbedret imprecision i måleområdet 2-25 mg/L var blevet opnået efter ca. ½ års rutinemæssig anvendelse af ABX Micros CRP® i lægepraksis nr. 2 og nr. 4. Imprecisionen var blevet noget bedre i området <2 mg/L, men var i væsentlighed præget af instrumentets specifikationer.

Det var ikke et element i afprøvningen at opspore specifikke årsager til høj imprecision.

ABX Micros CRP® instrumenterne var sat til at afgive CRP-svar med 1 decimal (to decimaler kan anvendes). Afrundingsfejl som mulig årsag til høj $CV_{\text{intra-serie}}$ blev vurderet ud fra de 40 laveste dobbeltbestemmelser, der havde begge målinger >0 mg/L. Råværdierne fik tilføjet yderligere decimaler i form af normalfordelte tilfældige tal defineret ud fra $0,05 \pm 0,02$ (spændvidde 0,0077 - 0,0949). $CV_{\text{intra-serie}}$ blev beregnet ud fra forskellige antal decimaler på CRP-svaret. Resultatet fremgår af tabel 7.

Tabel 7. Betydning af afrundingsfejl for $CV_{intra-serie}$ i CRP dobbeltbestemmelser.		
	Primær afprøvning	Supplerende afprøvning
Målinger (middel)	1,15 mg/L (N=40)	1,60 mg/L (N=40)
Målinger (spændvidde)	0,1 - 6,7 mg/L	0,1 - 4,3 mg/L
<i>Antal decimaler</i>	$CV_{intra-serie}$	$CV_{intra-serie}$
1 (svar fra instrumentet)	129,35 %	14,46 %
2	106,44 %	13,52 %
3	107,82 %	13,55 %
4	107,81 %	13,55 %

Eksperimentet viste, at afrundingsfejl, ved anvendelse af én fremfor to decimaler, ikke spiller nogen væsentlig rolle for beregnet $CV_{intra-serie}$ i den laveste del af måleområdet for CRP.

Resultaterne peger på behov for grundig oplæring samt en vis grad af rutineret på instrumentet, før acceptabel imprecision kan opnås vedrørende CRP-bestemmelse. Dette peger igen på behov for løbende opfølgning gennem kvalitetssikringsordninger med henblik på at sikre god analysekvalitet af CRP-bestemmelse med ABX Micros CRP® i almen praksis. Resultaterne understreger også det væsentlige i at evaluere analyseapparat under slut-bruger omstændigheder.

Der forelå ingen oplysninger om ændrede forhold vedrørende de anvendte ABX Micros CRP® instrumenter, reagenser eller kalibratorer i perioden mellem den primære og den supplerende afprøvning.

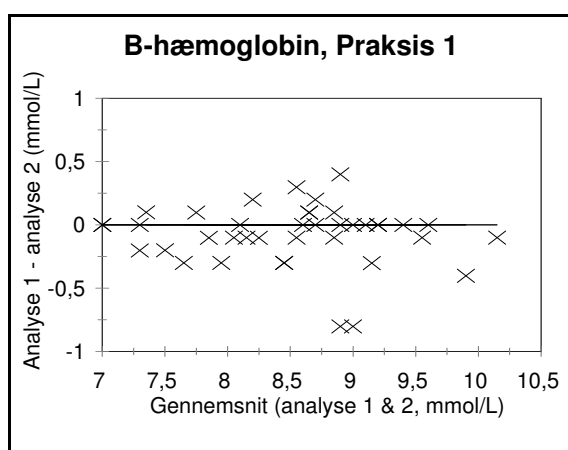
Med forbehold for sådanne ændringer *konkluderes*, at CRP-bestemmelse i EDTA-fuldblod med ABX Micros CRP® (måleområde 2-100 mg/L) kan udføres i almen praksis med acceptabel imprecision, som er i overensstemmelse med instrumentets imprecision på laboratoriet og imprecisionen ved sædvanlige rutinemetoder. Kvalitetsspecifikationerne var overholdt. Erhvervelse af acceptabel imprecision i almen praksis synes at forudsætte grundig oplæring og rutineret i prøvehåndtering og betjening af instrumentet. Imprecision i den laveste del af måleområdet (især <2 mg/L) er betydelig og begrænser anvendeligheden af ABX Micros CRP® som *high sensitivity* CRP metode. Brug af en eller to decimaler på CRP-svaret er uden betydning for analysevariationen.

B-hæmoglobin

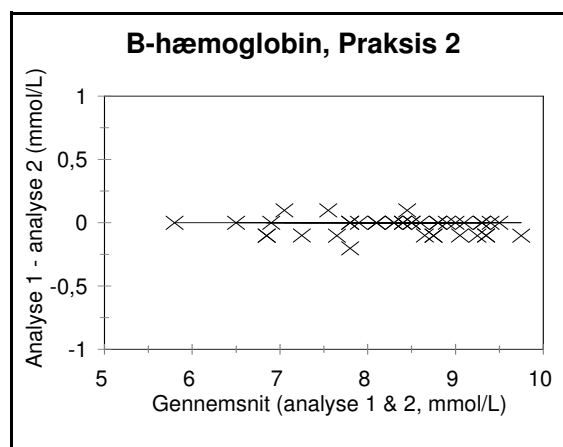
Resultaterne af alle B-hæmoglobin dobbeltbestemmelser med ABX Micros CRP® fremgår af tabel 8. Differensplot fra de enkelte lægepraksis fremgår af de figurer, der er nævnt i tabel 8.

Tabel 8. CV_{intra-serie} for B-hæmoglobin i patientprøver (dobbelbestemmelser, mmol/l).				
	Praksis 1	Praksis 2	Praksis 3	Praksis 4
Antal	40	40	40	40
Middelværdi	8,5	8,3	9,1	8,3
Spændvidde	7,0 - 10,2	5,8 - 9,8	7,3 - 10,8	6,6 - 10,0
CV _{intra-seriel} (95% CI)	2,0% (1,6-2,7%)	0,6% (0,5-0,8%)	0,8% (0,7-1,0%)	1,6% (1,3-2,1%)
Differensplot	Figur 10	Figur 11	Figur 12	Figur 13

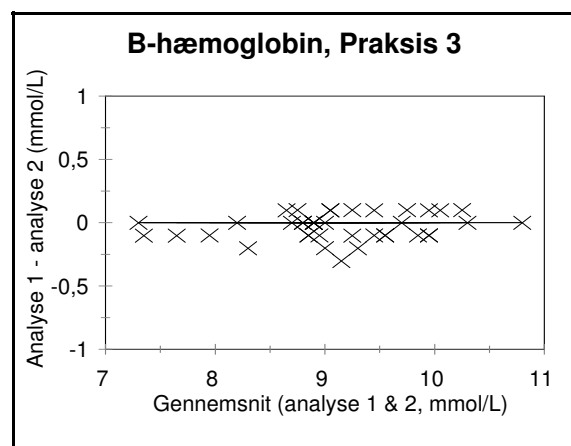
Analytisk impression på B-hæmoglobin måling (dobbelbestemmelser) i 4 forskellige praksis.



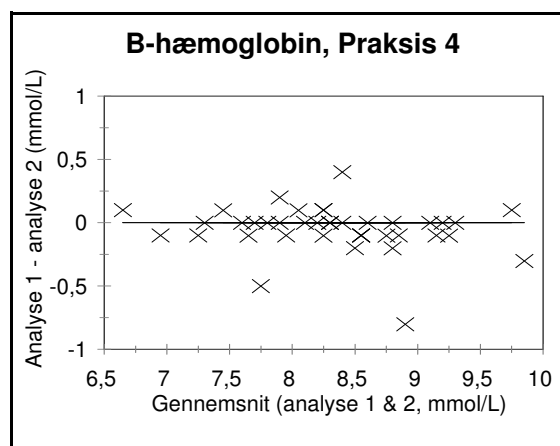
Figur 10. Differensplot af 40 B-hæmoglobin dobbeltbestemmelser i praksis nr. 1.



Figur 11. Differensplot af 40 B-hæmoglobin dobbeltbestemmelser i praksis nr. 2.



Figur 12. Differensplot af 40 B-hæmoglobin dobbeltbestemmelser i praksis nr. 3.



Figur 13. Differensplot af 40 B-hæmoglobin dobbeltbestemmelser i praksis nr. 4.

Som det fremgår af tabel 8, var imprecisionen af B-hæmoglobin bestemmelser med ABX Micros CRP® af samme størrelsesorden, som kendes fra sædvanlige rutinemetoder. Imprecisionen var nogenlunde ensartet i de deltagende lægepraksis (gennemsnitligt CV 1,4%) og måleområderne repræsentative.

Det *konkluderes*, at B-hæmoglobin bestemmelse i EDTA-fuldblod med ABX Micros CRP® i almen praksis kan udføres med acceptabel imprecision, der er i overensstemmelse med sædvanlige rutinemetoder. Kvalitetsspecifikationerne var overholdt.

Bias, patientprøver

CRP

Simpel lineær regression mellem CRP-bestemmelser med ABX Micros CRP® og rutinemetoderne fremgår af tabel 9. Kun datasæt med kvantitativt svar fra begge metoder indgik i beregningerne. For ABX Micros CRP® blev regnet ud fra dobbeltbestemmelser med middelværdi 2-100 mg/L. Data fra rutinemetoden for praksis nr. 3 blev omregnet fra nmol/L til mg/L udfra MW 105000 g/mol (oplyst fra laboratoriet i Frederikssund).

Som det fremgår af tabel 9, blev måltallet 40 sammenlignelige prøver fra hver lægepraksis ikke opnået. Dette skyldes, at CRP-koncentrationen i adskillige prøver var under rutinemetodernes nedre målegrænse og at en del prøver var 0 med ABX Micros CRP®.

Tabel 9. Linær regression mellem ABX Micros CRP® (middelværdier af dobbeltbestemmelser) og rutinemetoder (CRP).		
	N	Regression
Praksis 1	9	ABX = 0,71 * Rutine + 1,1 mg/L (R ² =0,88)
Praksis 2	19	ABX = 0,43 * Rutine + 8,6 mg/L (R ² =0,81)
Praksis 3	13	ABX = 0,89 * Rutine - 5,6 mg/L (R ² =0,98)
Praksis 4	15	ABX = 0,56 * Rutine + 7,3 mg/L (R ² =0,88)

Tabel 9 bidrager ikke væsentligt til resultatbeskrivelsen ud over at dokumentere bias for ABX Micros CRP® i de enkelte lægepraksis. Generelt målte ABX-instrumenterne CRP lavere end rutinemetoderne.

Figur 14 viser overensstemmelsen mellem ABX Micros CRP® og rutinemetoderne i forhold til kvalitetsspecifikationerne. I den primære afprøvning var 7/60 (11,7%) første-bestemmelser med ABX Micros CRP® (måleområde 2-100 mg/L) uden for de fastsatte grænser. I den supplerende afprøvning, hvor to lægepraksis refererede til den samme rutinemetode, var 2/50 (4%) CRP-bestemmelser uden for grænserne. For alle CRP-målinger under ét var 9/110 (8,2%, 95% CI 3,8-15,0%) uden for grænserne (figur 14). Afvigelse forekom især ved CRP 50-100 mg/L, hvor 7/31 (22,6%, 95% CI 9,6-41,1%) målinger med ABX Micros CRP® var uden for grænserne.

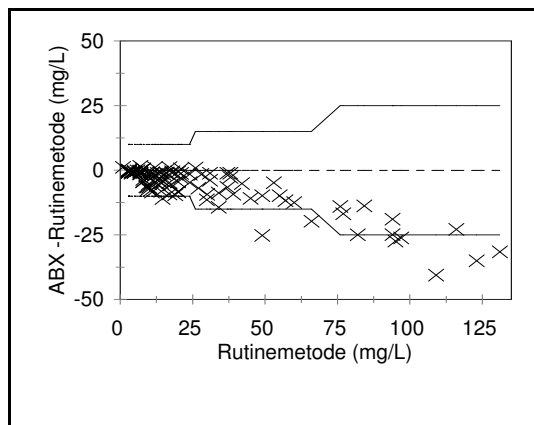
Som det fremgår af figur 15, afveg 25/110 (22,7%) CRP-bestemmelser med ABX Micros CRP® mere end den estimerede totalfejl (20%) mellem de anvendte rutinemetoder.

Den gennemsnitlige overensstemmelse mellem ABX Micros CRP® og rutinemetoderne (figur 14 og figur 15) var $ABX = 0,61 * \text{rutinemetode} + 3,8 \text{ mg/L}$ ($R = 0,93$).

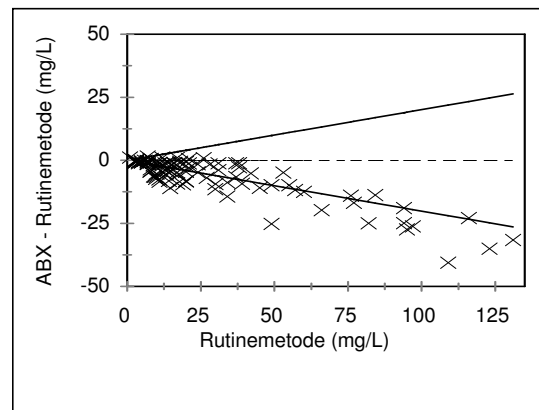
I figur 14 og 15 er én outlier udeladt (ABX Micros CRP® 87,7 mg/l, rutinemetode 239 mg/l).

Fig. 16 viser praksis 2 og praksis 4 ved afprøvningen og 6 måneder senere. Ved 1. afprøvning var afvigelsen fra rutinemetoderne i gennemsnit $-27,6\%$ i området 10 til 135 mg/L med en analyseusikkerhed på 17% på normaliserede differenser. Efter 6 måneder var afvigelsen fra rutinelaboratoriet faldet til $-14,7\%$ i gennemsnit og analyseusikkerheden faldt til $2,7\%$.

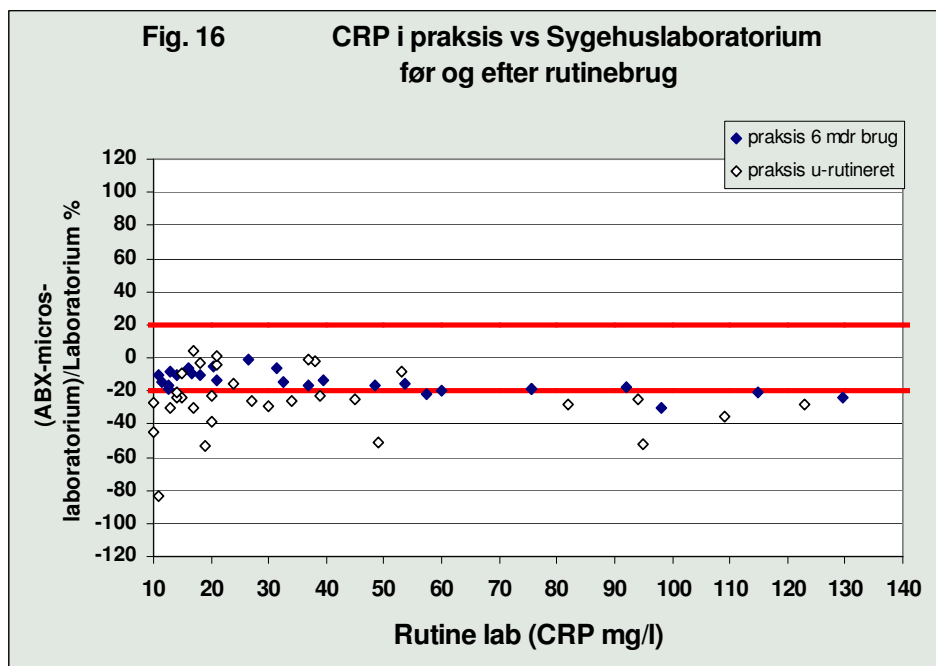
Dette tyder på at ABX kræver meget lang oplæringsstid, da præ-analytiske fejl formentlig har været medvirkende til bias og analyseusikkerhed. Et matrix-moment kan ikke udelukkes som årsag til fortsat metodeforskel efter 6 måneders erfaring, da ABX måler på fuldblod og rutinemetoderne måler på plasma/serum.



Figur 14. Bias mellem ABX Micros CRP® og rutinemetoderne vurderet ud fra samtlige førstebestemmelser af CRP (måleområde 2-100 mg/L, N=110). Kvalitetsspecifikationer indtegnet (ubrudte linier).



Figur 15. Bias mellem ABX Micros CRP® og rutinemetoderne vurderet ud fra samtlige førstebestemmelser af CRP (måleområde 2-100 mg/L, N=110). Totalfejl mellem rutinemetoder indtegnet (ubrudte linier).



De danske krav til CRP analysen er i øjeblikket

- 1) at man skal kunne skelne mellem 35 mg/L fra 50 mg/L og
- 2) man skal kunne se et fald fra 40 til 20 mg/L på et døgn.

Med 6 måneders rutineret opfyldes begge krav på samme instrument:

Er der forskel på 20 og 40 mg/L?

$$(2,78 * CV_{\text{total}} = 2,78 * (CV^2_{\text{biologisk}} + CV^2_{\text{prøvetagning}} + CV^2_{\text{analytisk}})^{1/2} = 2,78 * (15^2 + 4^2 + 3^2)^{1/2} = 44\%. 40 \pm 40 * 44\% = 40 \pm 17,6 = 22,4 \text{ til } 57,6 \text{ mg/L.}) \text{ ja.}$$

$$95\% \text{ CI ved } 35 \text{ mg/L} = 35 \pm t_{0,05} * S/(n)^{1/2} = 2,03 * 1,0/35^{1/2} = 35 \pm 0,34 \text{ mg/L}$$

Ved analysering på ABX og rutinelaboratorium gælder:

$$\text{Forskel på analyser: } 50-35\text{mg/L} = 15\text{mg/L} \sim 30\% < \text{Bias}_{\text{rutinelab}} + \text{Bias}_{\text{ABX}} + 2CV_a < 10,9 + 14,7 + 2(2,7^2 + 3,3^2)^{1/2} = 34,1\%$$

Der er således ikke forskel på 35 og 50 mg/L taget på ABX og rutinelaboratorium

B-hæmoglobin

Simple lineær regression af B-hæmoglobin bestemmelser med ABX Micros CRP® (middelværdier af dobbeltbestemmelser) og rutinemetoderne fremgår af tabel 10.

Tabel 10. Lineær regression mellem ABX Micros CRP® og rutinemetoder (B-hæmoglobin).		
	N	Regression
Praksis 1	40	ABX = 0,94 * Rutine + 0,42 mmol/L (R ² =0,94)
Praksis 2	40	ABX = 1,03 * Rutine - 0,36 mmol/L (R ² =0,98)
Praksis 3	40	ABX = 0,92 * Rutine + 0,93 mmol/L (R ² =0,94)
Praksis 4	40	ABX = 1,00 * Rutine + 0,05 mmol/L (R ² =0,98)

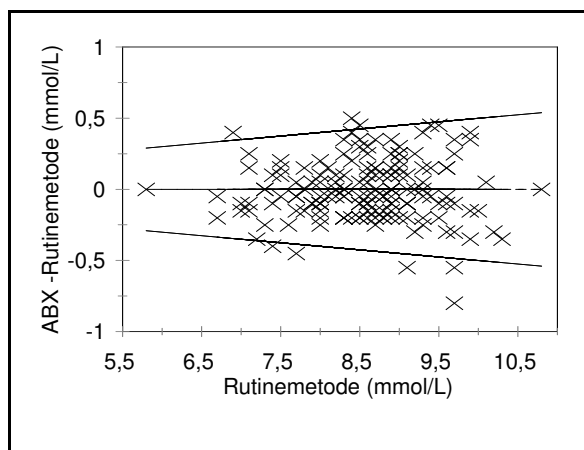
Som det fremgår af tabel 10, blev måltallet 40 sammenlignelige prøver opfyldt af alle lægepraksis. Der var en beskedent bias mellem ABX Micros CRP® og sædvanlige rutinemetoder.

Figur 17 viser overensstemmelsen mellem ABX Micros CRP® og rutinemetoderne i forhold til kvalitetsspecifikationerne. Som det fremgår af figur 17, var 8/160 (5,0%, 95%-grænser 2,2-9,6%) B-hæmoglobin bestemmelser uden for de fastsatte grænser. Kvalitetsspecifikationerne vedrørende overensstemmelse for B-hæmoglobin var således overholdt.

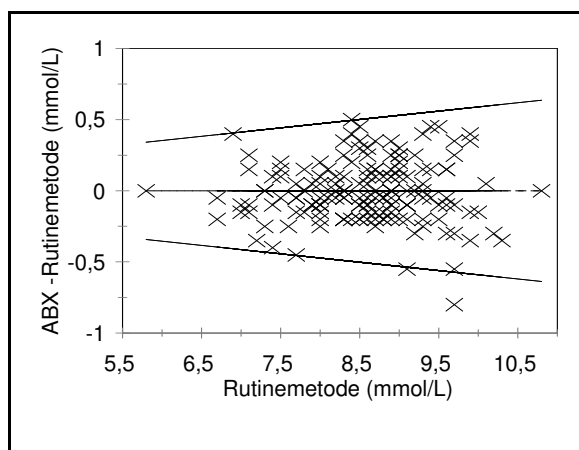
Som det fremgår af figur 18, var B-hæmoglobin bestemmelser med ABX Micros CRP® inden for den estimerede totalfejl for rutinemetoder på landsplan.

$$1 \text{ mmol Hb/L} \sim 1/0,6206 \text{ g/dL} = 1,61 \text{ g/dL.}$$

Det *konkluderes*, at bestemmelse af B-hæmoglobin i måleområdet ca. 5-11 mmol/L med ABX Micros CRP® i almen praksis kan foretages med samme analysekvalitet, som kendes fra rutinemetoder. Kvalitetsspecifikationerne blev overholdt.



Figur 17. Akkuratelse af B-hæmoglobin med ABX Micros CRP® og rutinemetoder. Kvalitetspecificationer indtegnet (ubrudte linier).



Figur 18. Akkuratelse af B-hæmoglobin med ABX Micros CRP® og rutinemetoder. Estimeret totalfejl indtegnet (ubrudte linier).

Differentialtælling

Tabel 11. Antal udstrygningspræparater fra lægepraksis				
B-Leucocyt (10 ⁹ /L)	Praksis nr. 1	Praksis nr. 2	Praksis nr. 3	Praksis nr. 4
≤ 4,0				1
4,1 - 6,0	1	1	1	1
6,1 - 8,0	1	1	1	1
8,1 - 10,0	1	1	1	1
10,1 - 12,0			1	1
12,1 - 14,0		1	1	1
14,1 - 16,0		1		1
16,1 - 18,0				
18,1 - 20,0	1	1		
> 20,0				1
Præparater i alt	4	6	5	8

Som det fremgår af tabel 11, havde lægepraksis mulighed for at fremstille i alt 23 sæt udstrygningspræparater ud fra intervaller angivet i sekvenslisten (se bilag).

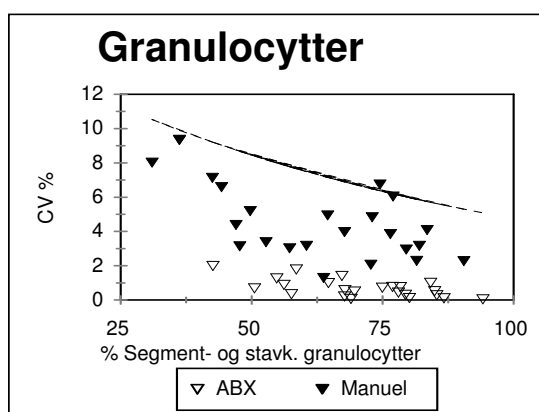
Beskrivelse af differentialtællingerne af de 23 udstrygningspræparater fremgår af tabel 12. En nærmere vurdering af eventuelt patologiske forhold vedrørende differentialtællingerne var ikke et element i afprøvningen.

Tabel 12. Differentialtællinger manuelt og med ABX Micros CRP®				
<i>Fraktioner</i>	Manuel		ABX Micros CRP®	
	Middelværdi	Spændvidde	Middelværdi	Spændvidde
Granulocytter	63,3	31,0 - 90,5	70,8	42,7 - 94,2
Lymfocytter	28,2	6,8 - 66,8	23,9	4,3 - 50,2
Monocytter	5,4	2,0 - 10,0	5,2	1,6 - 10,1
Sum (udfra råværdier)	99,2	98,5 - 100,0	100,0	100,0 - 100,0

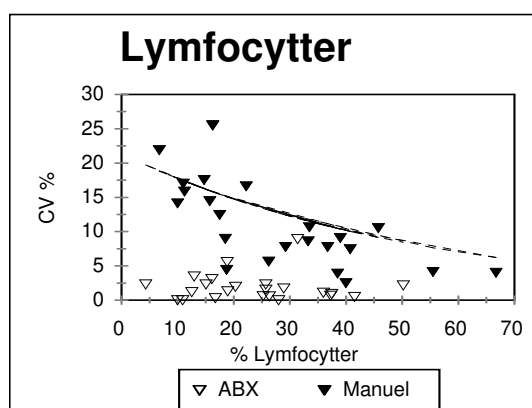
Analysevariation fremgår af tabel 13 samt figur 19-21.

Tabel 13. Analysevariation ved differentialtælling.			
	Manuel	ABX Micros CRP®	
	CV (SD/middel) %	CV (SD/middel) %	CV _{intra-serie} %
Granulocytter (alle)	4,9 (3,8 - 6,9)	0,9 (0,7 - 1,3)	1,2 (0,9 - 1,7)
Fraktion <50% (N=7)	6,6 (4,3 - 14,5)	-	-
Fraktion ≥50% (N=16)	3,9 (2,9 - 6,0)	-	-
Lymfocytter (alle)	12,4 (9,6 - 17,6)	2,7 (2,1 - 3,8)	3,8 (2,9 - 5,4)
Fraktion <25% (N=11)	16,3 (11,4 - 28,6)	-	-
Fraktion ≥25% (N=12)	7,3 (5,2 - 12,4)	-	-
Monocytter (alle)	28,2 (21,8 - 39,9)	8,2 (6,3 - 11,6)	11,6 (9,0 - 16,4)
Fraktion <5% (N=11)	34,4 (24,0 - 60,4)	-	-
Fraktion ≥5% (N=12)	21,0 (14,9 - 35,7)	-	-

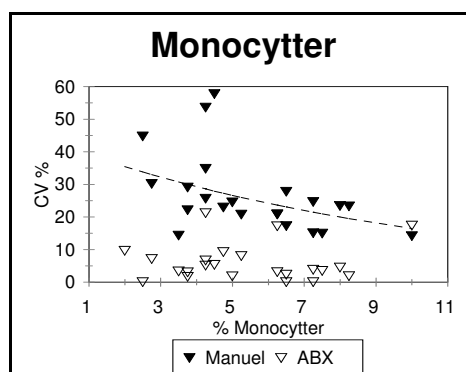
Figur 19-21 viser CV% (SD/middel) for manual differentialtælling og CV_{intra-serie} for ABX Micros CRP® (formel side 6) for komponenterne i 3-parts differentialtælling.



Figur 19. CV% for differentialtællinger i forhold til påviste fraktioner af granulocytter. 95% tolerancegrænse for manuel diff. indtegnet (linie).



Figur 20. CV% for differentialtællinger i forhold til påviste fraktioner af lymfocytter. 95% tolerancegrænse for manuel diff. indtegnet (linie).



Figur 21. CV% for differentialtællinger i forhold til påviste fraktioner af monocytter. 95% tolerancegrænse for manuel diff. indtegnet (linie).

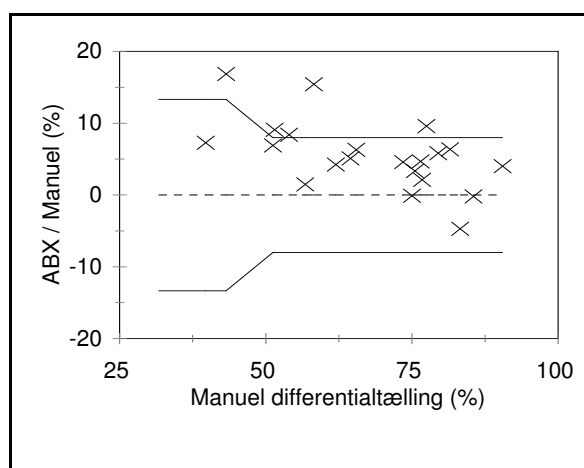
Som det fremgår af figur 19-21, var imprecisionen for ABX Micros CRP® lavere end for manuel differentialtælling. Dette skyldes, at antallet af talte celler i ABX Micros CRP® er langt højere, end det er praktisk muligt med manuel differentialtælling (normalt 100 celler, i afprøvningen 4 x 200 celler). De 4 bioanalytikere, der diffede anførte, at kvaliteten af de tilsendte udstrygspræparater ikke var god.

Meget højt celleantal (ikke oplyst) ved tælling i ABX Micros CRP® ses af, at CV% i væsentlighed var uafhængig af de opnåede fraktioner.

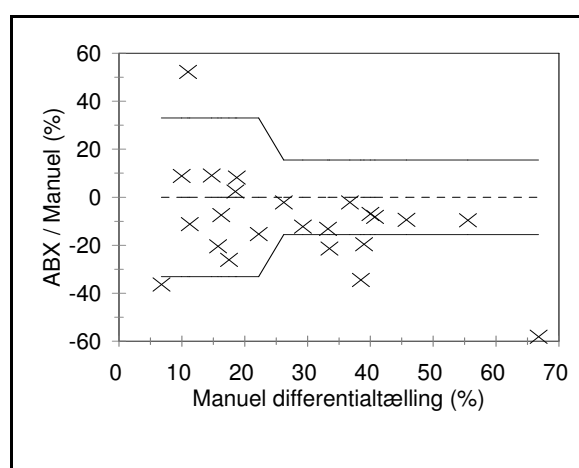
Imprecisionen for differentialtælling med ABX Micros CRP® var ca. 1% for granulocytter, ca. 2% for lymfocytter og ca. 7% for monocytter.

Overensstemmelsen mellem 3-parts manuel differentialtælling og ABX Micros CRP® fremgår af figur 22-24. Disse figurer viser ratio-plot med indlagte grænser for den forventede overensstemmelse (95% niveau) mellem metoderne, vurderet ud fra metodernes CV ($\pm 2 \cdot CV_{\text{total}}$, tabel 13). I figur 21 (granulocytter) blev en enkelt outlier udeladt.

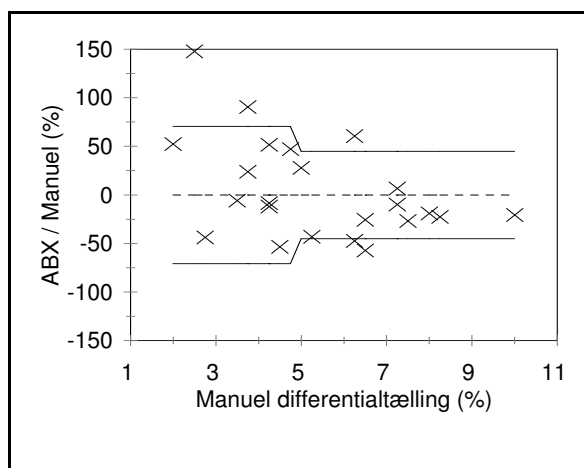
Ud fra det forventede burde 95% af samhørende bestemmelser ligge inden for grænserne. For granulocytter, lymfocytter og monocytter lå henholdsvis 70%, 74% og 78% inden for grænserne.



Figur 22. Overensstemmelsen mellem manuel differentialtælling og ABX Micros CRP® (granulocytter). 95% grænser for forventet overensstemmelse indtegnet (ubrudte linier).



Figur 23. Overensstemmelsen mellem manuel differentialtælling og ABX Micros CRP® (lymfocytter). 95% grænser for forventet overensstemmelse indtegnet (ubrudte linier).



Figur 24. Overensstemmelsen mellem manuel differentieltælling og ABX Micros CRP® (monocytter). 95% grænser for forventet overensstemmelse indtegnet (ubrudte linier).

OPLYSNINGER FRA LÆGEPRAKSIS.

Førstehåndsindtryk.

Tabel 14 viser oplysninger vedrørende førstehåndsindtryk fra skema 1 (se side 34), der skulle udfyldes af de udførende fagpersoner efter oplæring på instrumentet, men inden analysering.

Tabel 14. Oplysninger om afprøverne i almen praksis. Førstehåndsindtryk.				
<i>Primær afprøvning</i>	Praksis 1	Praksis 2	Praksis 3	Praksis 4
Start	21.03.01	01.03.01	04.04.01	03.04.01
Slut	07.06.01	29.05.01	07.05.01	08.05.01
Bruger	Læge Sygeplejerske	Bioanalytiker	Bioanalytiker	Sygeplejerske
Brugeren havde forhåndskendskab	Nej	Nej	Nej	Ja
Leverandørens oplæring tilstrækkelig	Ja	Nej	Ja	Ja
Krævede nærmere indsigt via manual	Nej	Ja	Nej	Nej
Krævede rutiner via analyseringer	Nej	Nej	Nej	Nej

Tabel 15 viser oplysninger vedrørende arbejdspladsvurdering fra skema 1 (se side 34), der skulle udfyldes af de udførende fagpersoner efter oplæring på instrumentet, men inden analysering.

Tabel 15. Arbejdspladsvurdering (1 - 4 point, hvor 4 er bedst)		
	Gennemsnit	Spændvidde
Installation	3,3	3 - 4
Pladskrav	2,0	1 - 3
Tilslutning vand & el	3,3	3 - 4
Tilslutning reagensbeholdere	3,0	3 - 3
Støj	1,7	1 - 2
Opbevaring af reagenser	3,3	3 - 4
Bortskaffelse af affald	3,7	3 - 4
Udvalg af primærrør	3,7	3 - 4
Nemhed ved at forstå og betjene instrumentet	3,5	3- 4

Tabel 16 viser slutevaluering fra skema 6 (se side 39), som skulle udfyldes af de udførende fagpersoner efter afslutning af analysearbejdet. Skema 6 blev først fremsendt på dette tidspunkt.

Tabel 16. Slutevaluering (1 - 4 point, hvor 4 er bedst)		
	Gennemsnit	Spændvidde
Leverandørens oplæring	3,0	2 - 4
<i>Manualen</i>		
Læsbarhed	3,0	3 - 3
Fagligt indhold*	2,5	2 - 3
Om vedligeholdelse	3,0	3 - 3
Om fejlfinding	3,0	3 - 3
Samlet vurdering	3,0	3 - 3
<i>Instrumentet</i>		
Hygiejne	3,3	3 - 4
Nemhed, vedligeholdelse	3,3	3 - 4
Tidsforbrug kalibrering	3,3	2 - 4
Generelt indtryk	3,8	3 - 4
Daglig vedligeholdelse	1 - 2 minutter	
Ugentlig vedligeholdelse	5 - 10 minutter	
Tilsøling problematisk	Nej (alle)	
Handsker nødvendige	Nej (alle)	
Instrumentfejl under afprøvningen	Nej (alle)	
*Den kortfattede Brugervejledning beskriver de instrument og resultatorienterede faglige informationer for at anvende instrumentet til analysering af patientprøver på korrekt måde, men derimod ikke de måletekniske principper, som findes i den tekniske manual.		

Skema 1 - Førstehåndsindtryk

Skema 1 udfyldes af den udførende fagperson efter oplæring på instrumentet, men inden analysering af patientprøver.

Lægepraksis:	Oplæring gennemført (dato): ____/____/____
	Skema 1 udfyldt (dato): ____/____/____
Udførende fagperson er: Andet	Læge Sygeplejerske Sekretær Bioanalytiker
Sæt tydeligt kryds i det tal, du synes passer, når ① er dårligst og ④ er bedst	
<i>1. Arbejdspladsvurdering</i>	
Forhold vedrørende installering af instrumentet	① ② ③ ④
Instrumentets pladskrav i din praksis	① ② ③ ④
Tilslutning af vand og el	① ② ③ ④
Tilslutning af reagensbeholdere	① ② ③ ④
Støj	① ② ③ ④
Varmeudvikling	① ② ③ ④
Krav til opbevaring af reagenser	① ② ③ ④
Krav til bortskaffelse af reagensaffald	① ② ③ ④
Krav til prøverør i forhold til dit lokale laboratorium	① ② ③ ④
<i>2. Ibrugtagning af instrumentet</i>	
Jeg er i forvejen rutineret med instrumentet	Ja <input type="checkbox"/> Nej <input type="checkbox"/>
Fortrolig med betjeningen allerede efter leverandørens oplæring	Ja <input type="checkbox"/> Nej <input type="checkbox"/>
Fortrolighed med betjeningen krævede nærmere indsigt via manualen	Ja <input type="checkbox"/> Nej <input type="checkbox"/>
Fortrolighed med betjeningen krævede også egne prøve-analyseringer	Ja <input type="checkbox"/> Nej <input type="checkbox"/>
Min vurdering af nemheden ved at forstå og betjene instrumentet	① ② ③ ④
<i>3. Bemærkninger (benyt evt. bagsiden)</i>	

Skema 3 - Analysering af internt kontrolmateriale

Analysering af internt kontrolmateriale skal udføres inden analysering af patientprøver og derefter for hver 10. patientprøve.

Udskrifter fra ABX MICROS CRP skal vedlægges.

Dato	CRP kontrol		B-leukocyt kontrol	
	Første	Anden	Første	Anden

Skema 4 - Sekvensliste til fremstilling af udstrygningspræparater.

Prøver skal vælges ud fra resultatet af B-leucocyter med ABX MICROS CRP og nedenstående sekvensliste.

To udstrygningspræparater skal fremstilles for hver udvalgt prøve.

Præparater skal fremstilles umiddelbart efter analysering med ABX MICROS CRP.

Præparater skal mærkes med ID-nummer fra henvisningssedlen.

ID-nummer (henvisningsseddel)	Præparat nr.	ABX MICROS CRP B-leucocyter ($10^3/\mu\text{l}$)	Interval	Udført (dato)
	1		< 4,0	
	2		4,1 - 6,0	
	3		6,1 - 8,0	
	4		8,1 - 10,0	
	5		10,1 - 12,0	
	6		12,1 - 14,0	
	7		14,1 - 16,0	
	8		16,1 - 18,0	
	9		18,1 - 20,0	
	10		> 20,0	

Skema 5 - Dagbog vedrørende tekniske problemer
og andet bemærkelsesværdigt ved brug af instrumentet

Dato	Problem / lagttagelse	Problemløsning
		Triolab kontaktet Ja <input type="checkbox"/> Nej <input type="checkbox"/>
		SKUP kontaktet Ja <input type="checkbox"/> Nej <input type="checkbox"/>
		Fejlfinding udført Ja <input type="checkbox"/> Nej <input type="checkbox"/>
		Korrektion udført Ja <input type="checkbox"/> Nej <input type="checkbox"/> Intern Ja <input type="checkbox"/> Nej <input type="checkbox"/> Ekstern Ja <input type="checkbox"/> Nej <input type="checkbox"/>
Sign.		
Dato	Problem / lagttagelse	Problemløsning
		Triolab kontaktet Ja <input type="checkbox"/> Nej <input type="checkbox"/>
		SKUP kontaktet Ja <input type="checkbox"/> Nej <input type="checkbox"/>
		Fejlfinding udført Ja <input type="checkbox"/> Nej <input type="checkbox"/>
		Korrektion udført Ja <input type="checkbox"/> Nej <input type="checkbox"/> Intern Ja <input type="checkbox"/> Nej <input type="checkbox"/> Ekstern Ja <input type="checkbox"/> Nej <input type="checkbox"/>
Sign.		

Skema 6 - Slutevaluering

Skema 6 udfyldes af den udførende fagperson efter afslutning af afprøvningen.

Lægepraksis:	Afprøvning afsluttet (dato): ____/____/____ - Skema 6 udfyldt (dato): ____/____/____
Sæt tydeligt kryds i det tal, du synes passer, når ① er dårligst og ④ er bedst	
Hvordan var oplæringen fra leverandøren?	① ② ③ ④
Hvordan var instrumentets manual vedrørende - Læsbarhed - Fagligt indhold - Vedligeholdelse af instrumentet - Fejlfinding på instrumentet	① ② ③ ④ ① ② ③ ④ ① ② ③ ④ ① ② ③ ④
Samlet vurdering af manualen Var manualen på dansk?	① ② ③ ④ Ja <input type="checkbox"/> Nej <input type="checkbox"/>
Hygiejnen i arbejdet med instrumentet? Var tilsøling med prøvemateriale på/omkring instrumentet et problem? Er handskebrug nødvendig / anbefales? Andre hygiejnemæssige problemer? (beskriv nedenfor)	① ② ③ ④ Ja <input type="checkbox"/> Nej <input type="checkbox"/> Ja <input type="checkbox"/> Nej <input type="checkbox"/> Ja <input type="checkbox"/> Nej <input type="checkbox"/>
Opstod der fejl ved instrumentet under afprøvningen? I givet fald hvilke fejl? (beskriv nedenfor)	Ja <input type="checkbox"/> Nej <input type="checkbox"/>
Nemhed ved vedligeholdelse af instrumentet? - Daglig vedligeholdelse _____ minutter - Ugentlig vedligeholdelse _____ minutter	① ② ③ ④
Tidsforbrug ved kalibrering af instrumentet	① ② ③ ④
Hvordan var instrumentet generelt at arbejde med?	① ② ③ ④
Hvad anser du for de væsentligste fordele ved instrumentet?	
Hvad anser du for de væsentligste ulemper ved instrumentet?	
Bemærkninger (benyt evt. bagsiden)	

BILAG 1

Resultater fra Karolinska Sjukhuset.

Analysekvaliteten af to rutinemetoder til CRP på Karolinska Sjukhuset (tabel I) dannede sammenligningsgrundlag for analysekvaliteten af CRP med ABX Micros CRP® på Karolinska laboratorium (tabel II).

Afprøvningen på sygehuslaboratorium er udført på Klinisk Kemisk, Karolinska Sjukhuset, Stockholm sommer 2000 af Marjukka Ôsterblom, Lena Sandlund, Rumi Merzoug, Elisabet Gustavsson og Lars-Oluf Hansson.

Tabel I. CRP rutinemetoder på Karolinska Sjukhuset, analysekvalitet:				
Serie	Antal	Middelværdi	Spændvidde	CV_{intra-serie}
Vitros 950	40	31,8 mg/L	7 - 92 mg/L	4,0% (3,3-5,1%)
	0	<2 mg/L		-
	21	2 - 25 mg/L		5,2% (4,0-7,5%)
	17	25 - 75 mg/L		2,1% (1,6-3,2%)
	2	75 - 100 mg/L		1,1% (0,5-35,1%)
BN-II	40	23,4 mg/L	0,2 - 79 mg/L	3,7% (3,0-4,8%)
	11	<2 mg/L		0% (0-0%)
	17	2 - 25 mg/L		5,3% (3,9-8,1%)
	6	25 - 75 mg/L		1,5% (0,9-3,7%)
	6	75 - 100 mg/L		3,2% (2,0-7,8%)

ABX Micros CRP® på laboratoriet.

Tabel II viser analysekvaliteten af CRP med ABX Micros CRP® på laboratoriet (Karolinska Sjukhuset). $CV_{intra-serie}$ var blevet vurderet med dobbeltbestemmelser i to forskellige serier af patientprøver. Akkuratessen blev vurderet overfor tre forskellige rutinemetoder.

Tabel II CRP på ABX Micros CRP® på Karolinska Sjukhuset. Estimer af CRP $CV_{intra-serie}$ (dobbeltbestemmelser) og bias.				
CV _{intra-serie}				
Serie	Antal	Middelværdi	Spændvidde	CV _{intra-serie}
ABX 1	37	36,9 mg/L	7 - 95 mg/L	
	0	< 2 mg/L		-
	17	2 - 25 mg/L		3,9% (2,9-5,9%)
	14	25 - 75 mg/L		5,3% (3,8-8,5%)
	6	75 - 100 mg/L		1,4% (0,9-3,4%)
ABX 2	32	23,4 mg/L	0 - 95,5 mg/L	
	9	< 2 mg/L		57,7% (39-110%)
	14	2 - 25 mg/L		9,2% (6,7-14,8%)
	5	25 - 75 mg/L		7,5% (4,3-20,4%)
	4	75 - 100 mg/L		1,2% (0,7-4,5%)
Bias				
Serie	Antal	Regression		
ABX 1	32	ABX = 1,15 * BN-II - 0,62 mg/L (R = 0,99)		
ABX 2	37	ABX = 1,08 * Vitros 950 + 1,07 mg/L (R = 0,98)		
ABX 2	37	ABX = 0,84 * Modular + 3,6 mg/L (R = 0,99)		

Som det fremgår af tabel II, kan ABX Micros CRP® måle CRP med nogenlunde samme præcision som sædvanlige rutinemetoder (inden for instrumentets operationelle måleområde 2-100 mg/L). Generelt vil $CV_{intra-serie}$ være ca. 5-10% i området 2-75 mg/L og ca. 2-4% i området 75-100 mg/L.

Overensstemmelsen mellem ABX Micros CRP® og rutinemetoderne ved Karolinska Sjukhuset var præget af bias på ca. ±15%, hvilket er af samme størrelsesorden som påvist for danske rutinemetoder i denne afprøvning (figur 1).

Tabel III. Hæmatologi på ABX Micros CRP®, Karolinska Sjukhuset Estimer af CV _{intra-serie} (dobbelbestemmelser) og bias				
Komponent	N	Middel (spændvidde)	CV _{intra-serie}	Regression
Hæmoglobin	8	117 (70-167) g/L	5,0%	$ABX = 0,91 * Advia + 9,81 \text{ g/L}$ (R=0,99)
Leucocytter	7	7,8 (2,9-21,8) *10 ⁹ /L	2,6%	$ABX = 1,04 * Advia - 0,22 * 10^9 / L$ (R=1,00)
Trombocytter	8	228 (4-506) *10 ⁹ /L	10,4%	$ABX = 1,11 * Advia + 4,1 * 10^9 / L$ (R = 0,99)

KOMMENTARER TIL SKUP-RAPPORTEN

Vedr. ABX Micros CRP hæmatologi-instrument med CRP

SKUP-rapportens sammendrag, side 3, står alt for svagt og mangler klart konklusionerne på de afprøvede parametre CRP, B-hæmoglobin og differentialtælling, der er essensen af en sådan afprøvning. Konklusionerne findes delvis i rapporten på følgende sider:

CRP, side 14 i SKUP-rapporten:

Det konkluderes, at CRP-bestemmelse i EDTA-fuldblod med ABX Micros CRP (måleområde 2-100 mg/L) kan udføres i almen praksis med acceptabel imprecision, som er i overensstemmelse med instrumentets imprecision på laboratoriet og imprecision ved sædvanlig rutinemetoder. Kvalitetsspecifikationerne var overholdt. Erhvervelse af acceptabel imprecision i almen praksis synes at forudsætte grundig oplæring og rutinerne i prøvetagning og betjening af instrumentet.

B-hæmoglobin, side 16 i SKUP-rapporten:

Det konkluderes, at B-hæmoglobin bestemmelse i EDTA-fuldblod med ABX Micros CRP i almen praksis kan udføres med acceptabel imprecision, der er i overensstemmelse med sædvanlig rutinemetoder. Kvalitetsspecifikationerne var overholdt.

Differentialtælling, side 22 i SKUP-rapporten, konklusionen mangler:

Det konkluderes, at bestemmelse af 3-part differentialtælling i EDTA-fuldblod med ABX Micros CRP i almen praksis kan udføres med acceptabel præcision, der er i overensstemmelse med erfaringerne fra andre automatiserede analyseinstrumenter.

ABX Micros CRP gennemførte afprøvningen i alle 4 praksis med en yderst fin imprecision på differentialtællingen på ca. 1% for granulocytter, ca. 2% for lymfocytter og ca. 7% for monocytter. I rapporten side 22, første afsnit, står der :

”De 4 bioanalytikere, der diffede anførte, at kvaliteten af de tilsendte udstrykningspræparater ikke var god”, granulocytter, lymfocytter og monocytter lå henholdsvis 70%, 74% og 78% indenfor grænserne.

Vedr. GENNEMFØRSEL, side 7, sidst i afsnit 6:

Her står der: ”I ABX Micros tekniske manual er der ikke nogen dokumentation af sporbarhed for granulocytter, monocytter og lymfocytter”.

Dette er ikke korrekt, for i ABX Micros tekniske manual side 18, i afsnit 6 står der klart, at leukocytter bestemmes efter deres volumen efter påvirkning af cytoplasmaets cellemembran og 3-part differentialtælling inddeles efter følgende volumener:

Lymfocytter	fra 30 til 100 fl
Monocytter	fra 100 til 150 fl
Granulocytter	fra 150 til 460 fl

Med venlig hilsen

Steen Bak

TRIOLAB AS