

Protrombintid (PT-INR) på CoaguChek S fra Roche

Innholdsfortegnelse

Sammendrag	2
Planlegging	4
Analysemetodene	6
<i>CoaguChek S</i>	
<i>Referansemetoden</i>	
<i>Retningslinjer for kalibrering av protrombintid-analysen</i>	
Gjennomføring	7
<i>Prøvetaking og innsamling av prøvemateriale</i>	
<i>Prøvetaking på DSH</i>	
<i>Prøvebehandling på DSH</i>	
<i>Prøvebehandling på legekantorene</i>	
<i>Batch-til-batch variasjon</i>	
<i>Produktinformasjon</i>	
Mål for analytisk kvalitet	9
Resultater	10
<i>Intern kvalitetskontroll, CoaguChek S</i>	10
<i>Vurdering</i>	
<i>Presisjon</i>	10
<i>Under kontrollerte forsøksbetingelser</i>	
<i>På to legekantor</i>	
<i>Vurdering</i>	
<i>Riktighet</i>	11
<i>Referansemåling</i>	
<i>Ekstern kvalitetskontroll av referansemetoden</i>	
<i>Vurdering</i>	
<i>Korrelasjon under kontrollerte forsøksbetingelser</i>	
<i>Korrelasjon på to legekantor</i>	
<i>Vurdering av metodeforskjeller</i>	19
Evaluering av brukervennlighet	21
Vedlegg	22
<i>Vedlegg 1. Intern kvalitetskontroll, CoaguChek S</i>	
<i>Vedlegg 2. Rådata pasientprøver, legekantor A og B</i>	
<i>Vedlegg 3. Rådata pasientprøver, DSH</i>	

Sammendrag

Bakgrunn

CoaguChek S er et nytt bærbart instrument for måling av protrombintid beregnet for bruk på legekantor og til pasienters egenmåling. Prøvematerialet er kapillærblod uten tilsetning av antikoagulasjonsmiddel. Det trengs kun 1 dråpe kapillærblod (10 µl) til analysen. Svaret foreligger etter 1-2 minutter. Måleområdet er 0,8 – 8,0 INR. Instrumentet varsler med feilmeldingen ”out of the range*” når INR-resultatet er > 8,0.

CoaguChek S er basert på Quicks metode for måling av protrombintid. Metodene som er i bruk på norske sykehus er basert på Owrens metode.

Formål

- Teste presisjonen på CoaguChek S på to laboratorier i primærhelsetjenesten og under kontrollerte forsøksbetingelser på et klinisk kjemisk laboratorium.
- Undersøke riktighet ved sammenligning med en etablert PT/INR-metode.
- Evaluere systemet med hensyn til brukevennlighet og pålitelighet.
- Vurdere eventuelle metodeforskjeller mellom Quick- og Qwren-basert metoder.

Metode

Innen-serie presisjon ble bestemt vha. 77 kapillære prøver analysert i duplikat under kontrollerte forsøksbetingelser på laboratoriet, Diakonissehjemmets Sykehus, Haraldsplass, (DSH) i Bergen. Innen-serie presisjon ble også bestemt på to legekantor vha. 40 kapillære prøver analysert i duplikat på hvert sted. Målingenes riktighet ble bestemt ved sammenligning med en referansemåling. Alle målinger på CoaguChek S ble utført med samme lot nummer på teststrimlene. Eventuelle metodeforskjeller mellom Quick- og Owren-baserte metoder ble vurdert ved at resultater fra fire ulike instrumenter samlet ble sammenlignet med referansemålingene (samme prøvemateriale).

Resultat

Under kontrollerte forsøksbetingelser er presisjonen innen serie 3,4 %. På de to legekantorene er innen-serie presisjonen 4,5 % og 4,9 %. Resultatene tilfredsstillende et krav om at upresisjonen på protrombintid-analysen ikke bør overstige 6%.

Analysering av intern kvalitetskontroll på CoaguChek S gir en presisjon på ca. 10% under kontrollerte forsøksbetingelser og ca. 17% ved legekantorene. Dette skyldes mest sannsynlig at kontrollmaterialet ikke er optimalt for CoaguChek.

For verdier > 2,5 INR gir CoaguChek S systematisk høyere verdier enn referansemålingene. I gjennomsnitt er dette avviket ca. 0,4 INR. 7 enkeltprøver viser avvik rundt 1,0 INR fra referansen. Det er ikke påvist at det er forskjellen mellom Quick- og Owren-basert metode som er hovedårsaken til de observerte avvik.

Evaluering av brukervennlighet

CoaguChek S er lett håndterbar og enkel i bruk. Apparatet har kort analyseringstid og gir ut svaret direkte i INR. Brukermanualen er oversiktlig. Rask ”tømming” av batterier gjør at det er en fordel å ha tilgang på støpsel i nærheten av pasienten.

Konklusjon

CoaguChek S egner seg til pasientnær testing av PT-INR. Presisjonen på CoaguChek S er god både under kontrollerte forsøksbetingelser og i primærhelsetjenesten. I terapeutisk område gir CoaguChek i gjennomsnitt 0,4 INR høyere verdier enn referansemålingene. Enkeltprøver gir større avvik. Det er ikke forskjellen mellom Quick- og Owren-basert metode som er hovedårsaken til dette. Store avvik på enkeltprøver er et generelt problem, og skyldes mest sannsynlig en samlet påvirkning av flere faktorer.

Kontrollmaterialet har en variasjon som er 2 – 4 ganger større enn variasjonen på pasientmaterialet og kan derfor kun avsløre store endringer av analysekvalitet.

Planlegging

Roche v/Liv Janne Øvrebust henvendte seg til SKUP høsten 1999 om en utprøving av CoaguChek S. SKUP påtok seg dette oppdraget og det ble inngått muntlig avtale om utprøvingen i oktober. Utprøvingen skulle følge retningslinjer gitt i boken *Utprøving av analyseinstrumenter*, utgitt på Alma Mater Forlag høsten 1997. Dette innebærer en større utprøving på et klinisk kjemisk laboratorium og en mindre utprøving på minst ett legekantor. Det var ønskelig at utprøvingen skulle omfatte følgende:

Utført på klinisk kjemisk laboratorium
 Innen-serie presisjon
 Korrelasjon med ”referansemåling”
 Dokumentasjon på intern kvalitetskontroll
 Evaluering av brukervennlighet

Utført på to legekantor
 Innen-serie presisjon
 Korrelasjon med en ”referansemåling”
 Dokumentasjon på intern kvalitetskontroll
 Evaluering av brukervennlighet

CoaguChek S bygger på Quickmetoden og er følsom for koagulasjonsfaktorene II, V, VII, X og fibrinogen. Rutinemetoder på norske sykehus er basert på Owrens metode med et reagens som er tilsatt faktor V og fibrinogen (kombinert reagens). Denne metoden er mer selektiv og kun følsom for nedsatt aktivitet av, eller mangel på, koagulasjons-faktorene II, VII og X. Metodeforskjellene gir signifikante forskjeller på enkeltprøver, noe som gjør evalueringen av CoaguChek-resultatene vanskeligere. Utprøvingen av CoaguChek S gjøres samtidig med en utprøving av fire andre metoder/instrumenter for måling av protrombintid. De fem utprøvingene gjøres parallelt, på klinisk kjemisk laboratorium, på samme pasientmateriale og mot samme ”referansemetode”. Dette muliggjør en overvåking av forventede forskjeller mellom Quickmetoden og ”referansemetoden”, ved at måleresultatene fra fire Quickmetoder vurderes samlet mot ”referansemetoden”.

For å planlegge utprøvingen kalte SKUP inn til møte i Bergen 15. mars. På møtet deltok:

Liv Janne Øvrebust, Roche
 Representanter for andre firma som også har instrumenter med i utprøvingen
 Berit Stølsnes og Tove Zakariassen, Laboratoriet, DSH
 Jørn Schneede, Institutt for farmakologi, AHH
 Nina Gade Christensen, NOKLUS
 Grete Monsen, SKUP

På møtet ble vi enige om følgende:

Sverre Sandberg og Grete Monsen har ansvaret for utprøvingen. Grete skriver protokoll for utprøvingens arbeid. Hovedutprøvingen utføres på laboratoriet på Diakonissehjemets Sykehus, Haraldsplass (DSH) i Bergen. Berit Stølsnes administrerer utprøvingen på DSH og har ansvar for at den gjennomføres i følge protokoll. I samarbeid med laboratoriekonsulenten i Hordaland, Stein Binder, utvelges to legekantor i Bergensområdet til å være med på utprøvingen. Roche ordner med instrument og forbruksvarer til de tre utprøvningsstedene, og gir opplæring i bruken av CoaguChek S så snart det er klart for oppstart.

Det praktiske arbeidet med utprøvingen skal foregå i perioden mai-juli, og bearbeiding av data og skriving av rapport gjøres i løpet av sommeren. Et første utkast til rapport diskuteres med Roche, og eventuelle endringer og tilføyelser gjøres før utprøvingsoppdraget er ferdig.

Detaljert protokoll for utprøvingen ble skrevet og godkjent i april/mai, og kontrakt om utprøvingen ble undertegnet 12. mai.

Utprøving i primærhelsetjenesten

Utprøvingen i primærhelsetjenesten gjøres på Åsane legekantor i Bergen og på Bergen Medisinske Senter.

Åsane legekantor har totalt 5 medarbeidere, 4 legesekretærer og 1 sykepleier. Alle er involvert i legekantorets daglige laboratoriearbeid som blant annet omfatter analysering av TT/INR (venøse prøver) på Thrombotrack. De har ikke kjennskap til CoaguChek S forut for utprøvingen men de har god erfaring i kapillær prøvetaking. Alle de 5 medarbeiderene deltar i utprøvingsarbeidet.

Bergen Medisinske senter har 17 medarbeidere hvor alle er legesekretærer. Alle deltar i laboratoriearbeid som blant annet omfatter analysering av TT/INR (venøse prøver) på Thrombotrack. Fire av legesekretærene er plukket ut til å være med på utprøvingen og de har ikke kjennskap til CoaguChek S fra før. I tillegg er de i liten grad vant med kapillær prøvetaking.

Begge legekantorene er blitt veiledet av laboratorietkonsulenten i Hordaland, Stein Binder.

Analysemetodene

CoaguChek S

CoaguChek S er et reflektansfotometer som bygger på Quicks metode som er følsom for koagulasjonsfaktorene II, V, VII, X og fibrinogen. CoaguChek S teststrimlene inneholder kommersielt kaninhjerne tromboplastin og jernoksid partikler. Instrumentet måler koagulasjonstid og resultatene angis som INR. Prøvematerialet er kapillærblod uten tilsetning av antikoagulanter med minimum 10µl prøvevolum. Første bloddråpe benyttes til måling. Strimmelen forvarmes i instrumentet til 37° C før bloddråpen appliseres. Koagulasjonskaskaden aktiveres ved blodets kontakt med tromboplastinet. Jernoksid partiklene danner et regelmessig pulsmønster ved hjelp av et magnetfelt lokalisert under teststrimmelområdet. Dette mønsteret blir registrert av en fotocelle over teststrimmelen. Ved fibrindannelse vil bevegelsen til jernoksid partiklene hemmes og til slutt opphøre. Dette fører til en reduksjon av reflektans og indikerer at blodet har koagulert. Tiden fra blodprøven appliseres til koagulasjon inntreffer måles og konverteres til INR. Applikasjonen på CoaguChek S er følsom for heparin. Den opprinnelige Quickmetoden benytter en prøvefortynning på 1:3, mens blodet appliseres ufortynnet på teststrimmelen til CoaguChek S. CoaguChek S har en ISI-verdi på 1,6 som uttrykker kaninhjerne tromboplastinets sensitivitet i forhold til WHO sitt referansetromboplastin med ISI-verdi på 1,0.

Referansemetoden

Laboratoriet på Diakonissehjemmets Sykehus analyserer PT-INR på instrumentet StaCom med SPA-reagens fra Stago. Metoden er basert på Owrens metode med kombinert reagens. Sluttfortynningen i prøven er 1:21. Metoden er følsom for nedsatt aktivitet av koagulasjonsfaktorene II, VII og X, og den er ikke følsom for heparin. PT-analysen kalibreres vha. to kalibratorene fra EQUALIS, i følge anbefaling fra laboratoriekomiteen for overgang til INR i Norge.

Retningslinjer for kalibrering av PT-INR

I følge WHO's retningslinjer skal en kalibrering av protrombinmetoden gjøres vha. 20 normalplasma og 60 AK-plasma. Dette er ikke praktisk gjennomførbart for rutineanalyser. SKUP er blitt lovet 27 sertifiserte kalibratorene (7 normalplasma + 20 AK-plasma) fra *European Concerted Action for Anticoagulation (ECAA)* v/prof. Poller i Manchester. Fordi disse kalibratorene først er leveringsklare i september/oktober, gjøres utprøvingen av CoaguChek S i to trinn. I første omgang er CoaguChek S sammenlignet med en EQUALIS-kalibrert "referansemetode". Pasientmaterialet som inngår i utprøvingen er frosset ned i minus 80 graders frys. Høsten 2000 vil SKUP/ Haraldsplass samkjøre EQUALIS og ECAA-kalibratorene. Basert på resultatene av denne samkjøringen blir det skrevet en ny rapport.

Gjennomføring

Prøvetaking og innsamling av prøvemateriale

Prøvene til utprøvingen ble tatt av pasienter som skulle ha sin PT-verdi analysert i en vanlig rutinekontroll. Pasientene deltok frivillig i prosjektet og undertegnet et samtykkeskriv før prøvetaking. I utgangspunktet ble alle pasienter der PT-INR var rekvirert inkludert, men det ble ikke tatt prøver av pasienter som ble behandlet med heparin.

På CoaguChek S analyseres protrombintid på kapillærblod og det er første bloddråpe som skal benyttes. Bloddråpen må appliseres på teststrimmelen innen 15 sekunder etter innstikk. For å sikre tilstrekkelig blødning benyttet DSH Safety Lancet med stikkedybde 2,25 mm til denne utprøvingen. Legekontor A og B benyttet lansetten Softclix pro som følger med instrumentet. Det ble tatt to kapillære prøver av hver pasient til måling på CoaguChek S.

Prøvetaking på DSH

Prøvetakingen på DSH ble standardisert. Før prøvetaking satt alle pasientene rolig i minst 15 minutter. Pasientens fingre ble varmet opp i en varmepose for å bedre blodgjennomstrømmingen. Først ble kapillærprøve nummer 1 tatt. Deretter ble venepreven tatt med moderat stase fra samme side (høyre/venstre) som den kapillære prøven. Veneprevene ble tappet på Vacutainer 4,5 ml rør med blå kork. Rørene inneholder 3,8% citrat. Det ble benyttet ”grønne og gule” nåler, med G mellom 21 og 19. Det ble ikke benyttet ”kasteglass”.

Hvis det i tillegg til PT-INR var rekvirert andre prøver, ble prøveglasset til koagulasjon tatt som glass 2 eller 3. Til slutt ble kapillærprøve nummer 2 tatt fra motsatt side (den siden som ikke hadde stase). Total prøvetakingstid var under 15 minutter.

Prøvebehandling på DSH

Kapillærprøvene ble analysert umiddelbart på CoaguChek S og det ble benyttet en minipipette 25 µl (Medinor) til overføring av blodet til teststrimmelen. Citratprøvene ble blandet forsiktig rett etter prøvetaking ved å vende dem tre til fire ganger. Prøvene ble sentrifugert 15 minutter ved 2500 g så snart som mulig, og ikke senere enn to timer fra prøvetaking. Prøvene ble analysert i duplikat på ”referansemetoden” og deretter ble plasma overført til et kryorør av ikke-aktiverende materiale innen to timer. For avpipettering av plasma ble det benyttet plastikkpipette. Rørene ble korket og frosset ned i minus 80 graders frys til nye forsøk senere (bl.a. samkjøring med ”Poller-kalibretorer”).

De frosne plasmaprøvene, som var tilsendt fra legekontorene, ble hurtig tint i 37 graders vannbad og analysert umiddelbart på ”referansemetoden”. Prøvene fra hvert legekontor ble analysert i serie.

Prøvebehandling på legekontorene

Utprøvingen skulle avspeile hverdagen på legekontoret og medarbeideren skulle følge vanlige rutiner.

De to kapillærprøvene ble tatt først, med to stikk, og analysert umiddelbart på CoaguChek S. Legekontor A benyttet en minipipette 25 µl (Medinor) til overføring av blodet. Legekontor B appliserte blodet direkte fra finger og ned på teststrimmelen. Det ble stukket en gang på hver hånd. Deretter ble venepreven tatt (etter samme prosedyre som ved DSH). Etter sentrifugering i 15 minutter ved 2500g ble citratplasma avpipettert og overført til et rør av ikke-aktiverende materiale som så ble korket. Plasmaprøvene ble frosset ned i minus 20 graders frys på legekontoret. En gang per uke ble de frosne prøvene sendt til det lokale sentrallaboratorium og oppbevart i minus 80 graders frys frem til analysering på ”referansemetoden”.

Batch-til-batch variasjon

Batch-til-batch variasjon fremtrer som oftest som forskjeller i nivå (riktighet) på analyseresultater fra ulike produksjoner av reagens og teststrimler, men kan også gi seg utslag i varierende presisjon. Kvalitetsforskjell mellom batcher er et analytisk problem hvis forskjellen mellom batchene blir stor. Batch-til-batch variasjon kan i de fleste tilfeller overvåkes vha. intern kvalitetskontroll.

Denne utprøvingen er utført på *en* produksjonsbatch av reagensstrimler. Resultatene fra utprøvingen gjelder kun for denne batchen. Batch-til-batch variasjon er ikke undersøkt. Kontrollmaterialet til CoaguChek S viser vesentlig dårligere presisjon enn pasientprøvene og det kan derfor bli et problem å avsløre eventuelle kvalitetsforskjeller på ulike batcher vha. kontrollmaterialet.

Produktinformasjon

Under utprøvingen har følgende utstyr og forbruksvarer vært benyttet:

Sta Compact:

SPA-reagens lot nr: 992791

EQUALIS kalibrator (INR 0,95) lot nr: 01

EQUALIS kalibrator (INR 4,03) lot nr: 02

Kontroll Scandinorm lot nr: 992075 (fasit = 0,96 INR)

Kontroll Scandipath lot nr: 992102 (fasit = 2,74 INR)

Rør til citratplasma: 1,5 ml kryorør for koagulasjonsanalyser fra Tamro, SCT-150-C

CoaguChek S:

Instrument serienr: UF0002415 (legekontor A), UF0002408 (legekontor B), UF0002403 (DSH).

Teststrimmel lot nr: 163

Kontroll lot nr: 800000

Pipette for applisering av kapillær blod: minipipette 25 µl (Medinor).

Opplysninger om pris fåes ved å kontakte leverandør.

Mål for analytisk kvalitet

Det finnes foreløpig ikke felles anbefalte kvalitetsmål for protrombintidanalysen.

Det kan stilles krav til en analyses presisjon og riktighet ut fra biologisk variasjon. På bakgrunn av tillatt upresisitet og uriktighet kan det beregnes 95% toleransegrenser for et maksimalt tillatt avvik fra referanseverdi [1].

Den intra-individuelle biologiske variasjon av PT-INR hos pasienter under antikoagulasjonsbehandling er i to ulike publikasjoner oppgitt til henholdsvis 10% [2] og 14% [3].

Basert på dette bør den tilfeldige analytiske variasjon for PT-analysen isolert sett ikke overstige 5 - 7%, og et systematisk avvik bør være mindre enn 4 - 5%.

I vurdering av ekstern kvalitetskontroll i regi av DEKS (Danmark), EQUALIS (Sverige), Lab Quality (Finland), NEQAS (England) og NOKLUS/NKK i Norge, stilles krav om at tillatt maksimalt avvik på protrombintid-resultater ikke skal overstige $\pm 15\%$. Ut fra dette kravet *kan* det derfor tolereres en analytisk upresisitet opp til 7,5%, hvis bias er null (ikke realistisk i lengden). Påvises systematiske avvik fra referanseverdi, må upresisiteten være mindre.

1. Fraser og Hyltoft Petersen, Scand J Clin Lab Invest, 1993
2. Kjeldsen, Flensted, Hyltoft Petersen og Brandslund, Clin.Chem., 1997
3. Lassen, Brandslund og Antonsen, Clin. Chem., 1995

Konklusjon

Hvis målet om maksimalt avvik mindre enn $\pm 15\%$ på PT-resultat skal kunne oppnås, bør den analytiske upresisiteten på protrombinanalysen ikke overstige 6%, hvis det i tillegg skal være rom for et systematisk avvik på opp til 5%.

Resultater

Intern kvalitetskontroll CoaguChek S

Det har vært analysert intern kvalitetskontroll, ett nivå, både på legekantor A og B, og på laboratoriet ved DSH. Kontrollene er levert av Roche Diagnostics og består av engangsampuller som er ferdig til bruk. Ampullene inneholder en aktivator (kalsiumklorid) og en glasskapsel med hareplasma tilsatt citrat. Når glasskapselen knekkes må kontrolløsningen brukes innen 4 minutter.

Resultatene er vist i tabell 1.

Rådata, vedlegg 1.

Tabell 1. Resultater. CoaguChek PT kontroll fra Roche.

Roche INR Kontroll Oppgitt verdi	Analysested	INR Gjennomsnittsverdi	CV% med 95% konfidensintervall	n
2,4 – 4,3	DSH	3,1	9,8 (7,4 – 14,5)	18
	Legekantor A	3,4	16,7 (11,6 – 29,2)	11
	Legekantor B	3,0	17,1 (12,1 – 30,3)	11

Vurdering

Variasjonen på kontrollresultatene fra DSH er ca. dobbelt så stor som variasjonen på prøvematerialet slik at kontrollene kun avslører større endringer i analysekvalitet.

Variasjonen på kontrollmateriale utført på legekantorene er for stor til å ha noe nytteverdi.

Presisjon

Utprøving under kontrollerte forsøksbetingelser

Innen-serie-presisjon ble beregnet fra 77 pasientprøver målt i duplikat. Et resultat falt vekk pga at det ikke var analysert i duplikat på CoaguChek S. PT-verdiene ble gruppert i to nivå, og beregninger ble gjort på hvert nivå. Det ble påvist en slenger i nivå 1.

Ved vurdering av hele datamaterialet for kapillære prøver var det en måling som falt ut som slenger.

Resultatene er vist i tabell 2.

Rådata, pasientprøver, vedlegg 3.

Tabell 2. Presisjon på CoaguChek S. Resultater fra klinisk kjemisk laboratorium, DSH.

Gjennomsnitt INR	Nivå, INR	Prøvemateriale	CV % innen-serie med 95% konfidensintervall	n
1,86	(0,9 – 2,4)	kapillærblod	2,9 (2,2 – 3,4)	41
3,40	(2,5 – 5,8)	kapillærblod	3,6 (2,9 – 4,6)	34
Alle data samlet		kapillærblod	3,4 (3,1 – 4,2)	75

Utprøving på to legekantor i primærhelsetjenesten

Innen-serie-presisjonen ble beregnet fra 40 kapillærprøver målt i duplikat (to stikk pr. pasient) på legekantor A og B. PT-verdiene ble gruppert i to nivå etter resultater < 2,0 INR og resultater > 2,0 INR. Beregninger ble gjort på hvert nivå. Det ble ikke påvist slengere i datamaterialet fra legekantor A. Det ble påvist en slenger i datamaterialet fra legekantor B.

Resultatene er vist i tabell 3.

Rådata, pasientprøver, vedlegg 2.

Tabell 3. Presisjon på CoaguChek S. Resultater fra to legekantor, A og B.

Gjennomsnitt INR	Nivå, INR	Legekantor	CV % innen-serie med 95% konfidensintervall	n
1,58	< 2,0	A	5,6 (4,3 – 8,0)	22
2,44	2,0 – 4,0	A	3,7 (2,8 – 5,6)	18
Alle data samlet		A	4,5 (3,7 – 5,8)	40
1,55	< 2,0	B	6,0 (4,6 – 8,6)	22
2,61	2,0 – 4,0	B	4,0 (3,0 – 6,1)	17
Alle data samlet		B	4,9 (4,1 – 6,4)	39

Vurdering

Metoder for måling av PT-INR på sykehus og i primærhelsetjenesten bør ha en analytisk upresisitet som ikke overstiger 6%. Dette kravet oppfylles på DSH og på begge legekantorene.

Riktighet

Referansemåling

Laboratoriet på Diakonissehjemmets Sykehus analyserer PT/INR på instrumentet StaCom med SPA-reagens fra Stago. PT-analysen kalibreres vha. to kalibratorene fra EQUALIS, i følge anbefaling fra laboratoriekomiteen for overgang til INR i Norge. EQUALIS-kalibratorene har verdiene 0,95 og 4,03 INR. Kalibratorene er sporbare til referanse-tromboplastin RBT/90 fra WHO. Fire svenske og to norske laboratorier deltar i arbeidet med å sette INR-verdier på kalibratorene. De gitte verdier verifiseres i Linkjøping og Stockholm ved analysering direkte mot referanse-tromboplastinet fra WHO, og i følge WHO's retningslinjer om 20 + 60 kalibrering. Verdiene viser meget godt samsvar.

Som intern kvalitetskontroll benyttes Scandipath fra Stago daglig. Laboratoriets krav til dag-til-dag presisjon på kontrollresultatene er en CV under 3% og 6% på henholdsvis normalt og høyt nivå. Innen samme batch er variasjonen mindre. I utprøvsperioden var innen-serie presisjon på referansemetoden 1,5 %, beregnet på bakgrunn av pasientprøvene som inngikk i utprøvsingen. Dag-til-dag presisjonen, beregnet på bakgrunn av resultater fra intern kvalitetskontroll, var 2% på INR-nivå = 1 og 3,8% på INR-nivå = 2,7. Resultater fra intern kvalitetskontroll var tilfredsstillende under hele utprøvsingen.

Ekstern kvalitetskontroll av referansemetoden

På vegne av Lab Quality, har NOKLUS i samarbeid med Norsk kvalitetskontroll (NKK) overtatt utsendelsene av ekstern kvalitetskontroll til koagulasjonsanalyser på norske sykehus. Det har vært tre utsendelser av til sammen fem ulike PT-kontroller så langt dette året, i mars, juni og august. Kontrollene har ikke fasit fra en referansemetode. Det etableres et metodegjennomsnitt for hver kombinasjon av reagens/kalibrator som er i bruk på norske sykehus. Resultatene på hvert laboratorium vurderes mot dette gjennomsnittet. Laboratoriet, DSH, deltar i dette kontrollprogrammet. SKUP fikk anledning til å benytte disse kontrollene i utprøvningsarbeidet. I Danmark kalibreres protrombin-analysen vha. en dansk nasjonal ISI-kalibrator på normalt og terapeutisk nivå, fremstilt hos Karin Kynde i Roskilde. Normal kalibrator 99 er pr. definisjon satt til 1,00 INR, på bakgrunn av plasma fra 20 friske kvinner og 20 friske menn. ISI kalibrator 99 er bestemt til 2,49 INR av van Besselar, Leiden, Nederland, med manuell vippeteknikk og referansetromboplastin OBT/79. Karin Kynde har velvilligs stilt disse kalibratorene til disposisjon for SKUP til bruk i utprøvingen, der de har vært benyttet som kontroller med fasit. Resultater fra ekstern kvalitetskontroll er fremstilt i tabell 4.

Tabell 4. Ekstern kvalitetskontroll på StaCom

Kontroll/ Kalibrator	SPA/EQUALIS Norsk gjennomsnittsverdi INR	Fasit INR	Definert verdi INR	StaCom DSH INR	n
NOKLUS/NKK Kontroll 10200	1,00			0,94	8
NOKLUS/NKK Kontroll 20300	2,41			2,30	10
NOKLUS/NKK Kontroll 30500	4,10			3,74	4
NOKLUS/NKK Dansk kontroll 1	0,97			0,90	2
NOKLUS/NKK Dansk kontroll 2	2,58	2,61		2,54	2
Dansk normal-kalibrator 99			1,00	0,94	12
Dansk ISI-kalibrator 99		2,49		2,25	12

Vurdering

StaCom på DSH gir PT-verdier som ligger litt i underkant av det norske landsgjennomsnittet for tilsvarende metoder (metoder med SPA-reagens og EQUALIS-kalibratorer). Verdiene ligger også i underkant av fasitverdier på danske kontroll- og kalibratormaterialer. For verdier rundt 1 INR er avviket helt ubetydelig. Verdier mellom 2 og 4 INR ligger i gjennomsnitt ca. 0,15 INR-enheter lavere enn landsgjennomsnittet og/eller fasit. Dette har ingen klinisk betydning, men vil bli tatt med under vurdering av spredningsdiagram og differanseplott i sammenligningen av CoaguChek S og referansemetoden.

Korrelasjon under kontrollerte forsøksbetingelser

Korrelasjon ble gjort med 77 kapillære prøver på CoaguChek S. Referansemålingene er utført i citratplasma. Korrelasjonen er fremstilt i spredningsdiagram og differanseplott. Det er utført enkel lineære regresjonen hvor punkt med residual som ligger utenfor $0 \pm m \cdot SD_{\text{residual}}$ defineres som slenger. Faktoren m er avhengig av testens signifikansnivå (her 5%) og antall prøver som inngår i regresjonen. For kapillærprøvene er $m = 3,4$ for $n = 77$. Det ble ikke påvist slengere i datasettet.

Spredningsdiagram

Til lineær regresjon benyttes gjennomsnittet av duplikatmålingene både på x-akse (StaCom resultater) og y-akse (CoaguChek S resultater). Dette vil gi mindre usikkerhet i regresjonsparameterene og spredningsdiagrammet vil bedre illustrere eventuelle forskjeller mellom de to metodene. For en kapillærprøve finnes bare enkeltmåling på CoaguChek S, men dette resultatet er likevel tatt med i spredningsdiagrammet.

Differanseplott

I differanseplottet representerer x-aksen gjennomsnittet av referansemålingene og y-aksen viser differansen mellom første måling til CoaguChek S og gjennomsnittet av de to referansemålingene. Vi får dermed bedre frem upresisheten til utprøvingsapparatet. Ved å kun benytte referansemålingene på x-aksen, i stedet for gjennomsnittet av de to metodene, får vi et bedre grunnlag til å sammenligne resultater fra DSH og resultater fra legekantorene.

Grensene i differanseplottet er basert på de to metodenes presisjon. Pga av usikre data for dag-til-dag presisjon på CoaguChek S (ustabilt kontrollmateriale) er innen-serie presisjon benyttet til beregningen. Denne er vanligvis noe bedre enn dag-til-dag variasjonen. Toleransegrensene (95%) for den prosentvise differansen mellom metodene settes derfor noe videre enn det som beregnes ut fra innen-serie presisjonen.

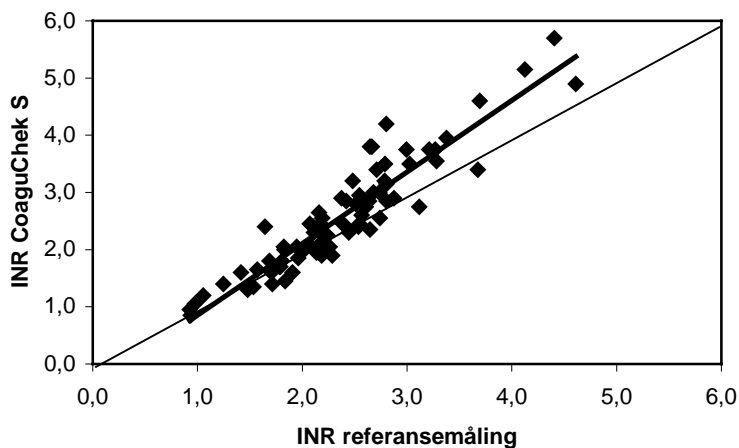
CV for det samlede datamaterialet (75 målinger på DSH) er 3,4% på CoaguChek S og dag-til-dag presisjonen på referansemetoden 3,8% (PT-nivå = 2,7). Beregnet CV for differansen mellom de to metodene er 5,1%. Dette gir toleransegrenser på $\pm 10,2\%$. Det forventes at 95% av punktene skal falle innenfor disse grensene hvis det ikke er systematisk avvik mellom de to metodene.

I differanseplottet er toleransegrenser på $\pm 15\%$ tegnet inn. Disse grensene samsvarer med grensen for totalt avvik som benyttes av NOKLUS i bedømmelsen av resultater på ekstern kvalitetskontroll.

Resultater, korrelasjon under kontrollerte forsøksbetingelser

Resultater fra korrelasjon med 77 kapillære prøver er vist i spredningsdiagram, figur 1, og i et differanseplott, figur 2.

Resultater fra lineær regresjon er samlet i tabell 5, og avvik mellom metodene er vist i tabell 6.



Figur 1. Spredningsdiagram med trendlinje og ideel linje, n = 77.
Kapillær prøver på CoaguChek S, citratplasma på StaCom.

Tabell 5. Lineær regresjon DSH. CoaguChek S vs StaCom.

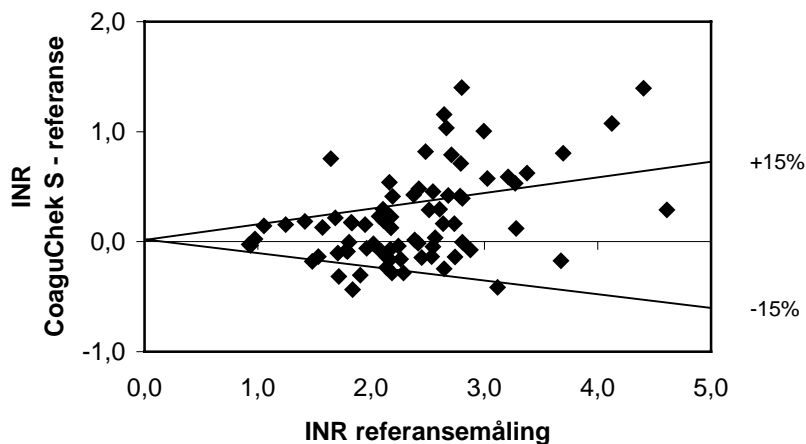
Regresjonsligning: $y = 1,25x - 0,39$
 Determinasjonskoeffisienten: $R^2 = 0,86$
 Standardfeil SE/x: 0,36
 Antall observasjoner: 77
 Antall slengere: 0
 Usikkerhet ved beregnet vinkelkoeffisient, SEa: 0,057
 Usikkerhet ved beregnet intercept, SEb: 0,142
 Vinkelkoeffisient a er signifikant $\neq 1$, p-verdi $\ll 0,001$.
 Skjæringspunkt b er signifikant $\neq 0$, p-verdi = 0,007

Tabell 6. Avvik (bias) mellom metodene.

Nivå INR	CoaguChek S INR – referanse. Gjennomsnittsdifferanse med 95% konfidensintervall	SD for differansene	Antall differanser
1,88 (0,9 – 2,4)	-0,013 (-0,08 – 0,06)	0,22	42
3,38 (2,5 – 5,8)	0,43 (0,29 – 0,57)	0,41	34

Vurdering

Det er bra samsvar mellom CoaguChek S og referansemålingene for verdier mellom 0,9 og 2,5 INR. Verdier mellom 2,5 og 5,8 INR viser i gjennomsnitt ca. 0,4 INR-enheter høyere enn CoaguChek S sammenlignet med referansemetoden. Enkeltp prøver viser større avvik og vil bli vurdert i avsnittet om metodeforskjeller. Hvis referansemetoden justeres opp 0,1 INR-enheter i forhold til resultatene på ekstern kvalitetskontroll gir ikke dette det store utslaget på PT-verdier i området 2,5 – 5,8, men verdier < 2,5 INR vil bli noe underbestemt på CoaguChek S.



Figur 2 . Differanseplott med resultater fra duplikatmålinger fra StaCom på x-aksen, og forskjellen mellom CoaguChek S, kapillære prøver DSH, og referansen på y-aksen. n = 77.

Vurdering

PT-verdier fra CoaguChek S ligger jevnt fordelt rundt null-linjen for resultater < 2,5 INR. 31% av resultatene (24 av 77) faller utenfor grensene $\pm 15\%$. Dette tyder på at det er mer enn upresisheten som er opphav til spredningen. Tolkning av differanseplottet vil ikke bli annerledes om referansemetoden justeres opp 0,1 INR-enheter på bakgrunn av resultatene fra ekstern kvalitetskontroll. I måleområdet $\text{INR} > 2,5$ viser enkeltp prøver på CoaguChek S større avvik enn 1,0 INR-enheter fra referansen. Resultater med stort avvik vil bli vurdert nærmere i et eget avsnitt om metodeforskjeller.

Korrelasjon på legekantorene

Korrelasjon ble gjort med 40 pasientprøver og er fremstilt i spredningsdiagram og differanseplott. Referansemålingene er utført i citratplasma. Spredningsdiagrammet fra de to legekantorene har enkeltmålinger både på x- og y-aksen.

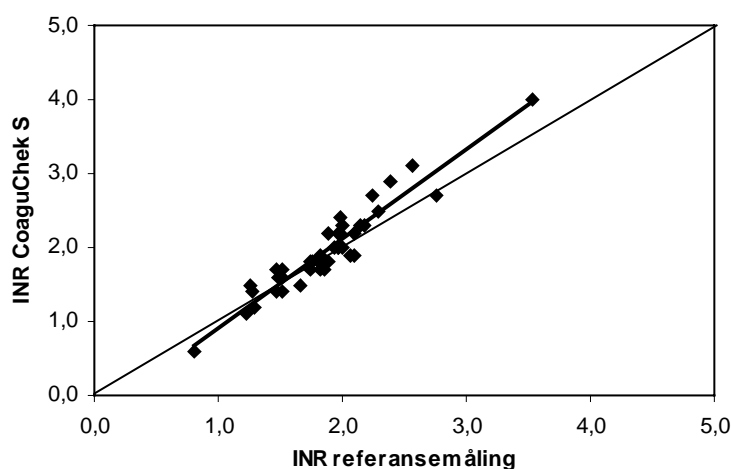
I den lineære regresjonen er punkt med residual som er utenfor $0 \pm m \cdot \text{SD}_{\text{residual}}$ definert som slenger. Faktoren m er avhengig av testens signifikansnivå (her; 5%), og antall prøver som inngår i regresjonen. For kapillær prøver er $m = 3,22$ ved $n = 40$. Det ble påvist 2 slengere i datasettet fra legekantor B. Disse er markert med stjerne-tegn i spredningsdiagrammet og inngår ikke i utregningen av lineær regresjon.

I differanseplottet representerer x-aksen referansemålingene og y-aksen viser differansen mellom CoaguChek S første måling og referansemålingen.

Resultater

Resultatene av sammenligningen mellom INR utført på CoaguChek S på legekantor A og B og INR utført på referanseapparatet StaCom er fremstilt i to spredningsdiagram, figur 3 og 5, og i to differanseplott, figur 4 og 6. Resultater fra lineær regresjon er oppsummert i tabell 7 og 8.

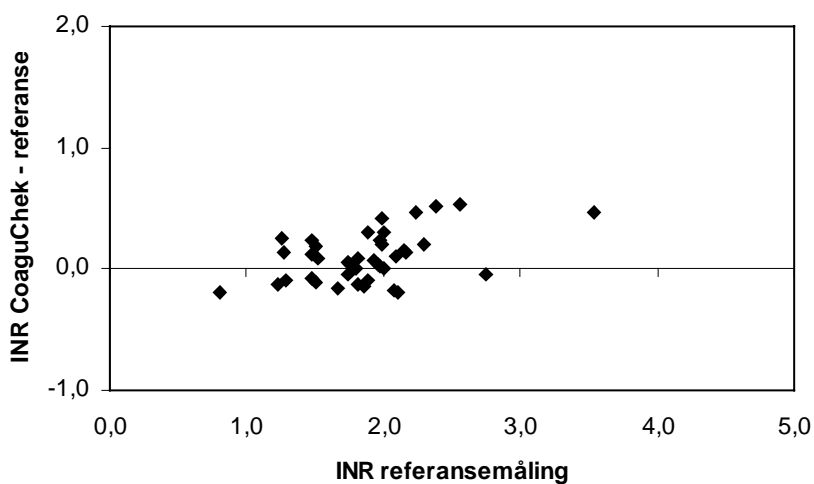
Legekantor A



Figur 3. Spredningsdiagram med lineær regresjon og ideel linje på legekantor A, kapillærprøver, n = 40.

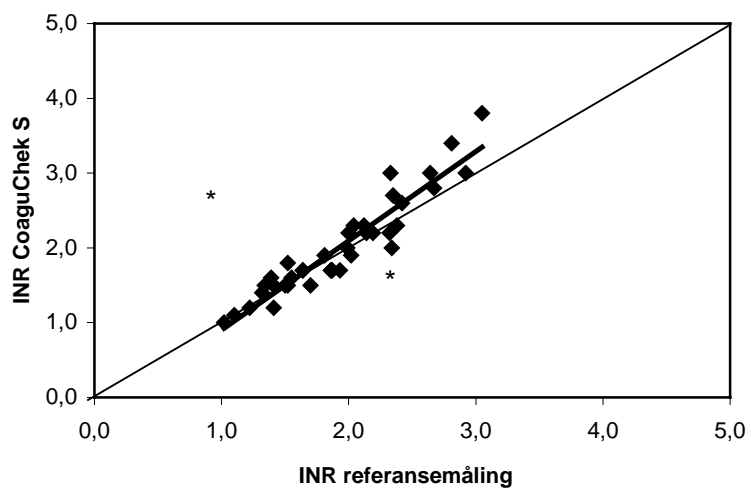
Tabell 7. Lineær regresjon, kapillærprøver legekantor A.

Regresjonsligning: $1,21x - 0,29$
 Determinasjonskoeffisienten: $R^2 = 0,91$
 Standardfeil SE/x: 0,18
 Antall observasjoner: 40
 Antall slengere: 0
 Usikkerhet ved beregnet vinkelkoeffisient, SEa: 0,06
 Usikkerhet ved beregnet intercept, SEb: 0,12
 95% konfidensintervall for stigningstallet: 1,08 – 1,33;
 stigningstall a er signifikant $\neq 1$, p-verdi $< 0,01$
 95% konsidensintervall for skjæringspunktet: -0,53 – (-0,05);
 skjæringspunkt b er signifikant $\neq 0$, p-verdi = 0,02



Figur 4. Differanseplott med referansemålinger på x-aksen, og forskjellen mellom CoaguChek S på legekantor A (første måling) og referansemålingene på y-aksen, kapillære prøver, n = 40.

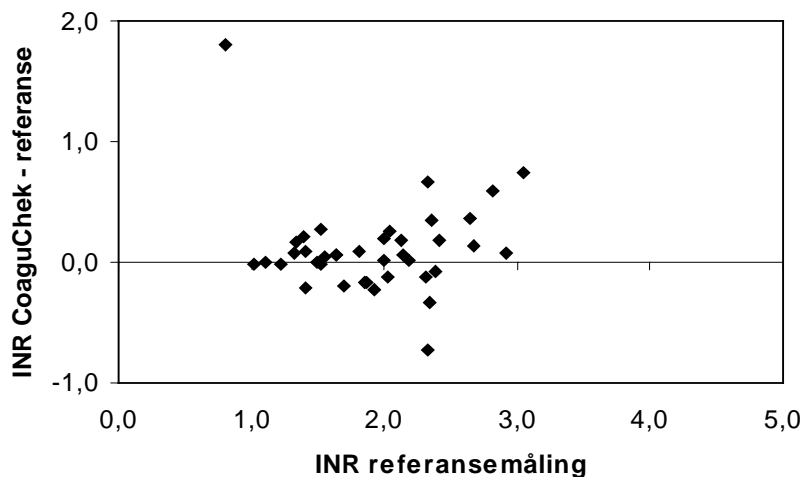
Legekantor B



Figur 5. Spredningsdiagram med lineær regresjon og ideell linje på legekantor B, kapillær prøver, n = 40. Slengere er markert med stjerner.

Tabell 8. Lineær regresjon, kapillære prøver legekantor B.

Regresjonsligning: $1,19x - 0,29$
 Determinasjonskoeffisienten: $R^2 = 0,89$
 Standardfeil SE/x: 0,22
 Antall observasjoner: 40
 Antall slengere: 2
 Usikkerhet ved beregnet vinkelkoeffisient, SEa: 0,07
 Usikkerhet ved beregnet intercept, SEb: 0,14
 95% konfidensintervall for stigningstallet: 1,05 – 1,33;
 stigningstall a er signifikant $\neq 1$, p-verdi $< 0,01$
 95% konfidensintervall for skjæringspunktet: -0,57 – (-0,01);
 skjæringspunkt b er signifikant $\neq 0$, p-verdi = 0,04



Figur 6. Differanseplott med referansemålingene x-aksen, og forskjellen mellom CoaguChek S på legekantor B og referansemålingene på y-aksen, kapillærprøver, n = 40.

Vurdering

Korrelasjon og regresjon er utført med et mindre antall prøver på legekantorene enn på DSH, og det er benyttet enkeltmålinger i grafene og i de statistiske beregningene. Resultatene er derfor beheftet med større usikkerhet enn under kontrollerte betingelser. Spredningsdiagrammene fra legekantor A og B viser bedre lineær sammenheng for PT-verdier $< 2,5$ INR enn for verdier $> 2,5$ INR.

På differanseplottene ser man at resultater fra CoaguChek S i de fleste tilfeller gir høyere svar enn referansemetoden når verdiene overstiger 2,5 INR. Dette stemmer overens med resultatene fra kontrollerte forsøksbetingelser.

Vurdering av metodeforskjeller

”Referansemetoden” er basert på Owrens metode med kombinert reagens. Sluttfortynningen av citratplasma på StaCom er 1:21. Metoden er følsom for nedsatt aktivitet av faktor II, VII og X. Protrombintid-metoden på CoaguChek er en modifisert utgave av Quicks metode. Den er følsom for faktorene II, V, VII, X og fibrinogen (faktor I). Den opprinnelige Quickmetoden benytter en prøvfortynning på 1:3, mens blodet på CoaguChek S trekkes ufortynnet inn i reagens strimmelen. På bakgrunn av metodeforskjellene kan det forventes forskjell på PT-verdi på enkeltprøver analysert på ”referansemetoden” og på CoaguChek S.

De forventede metodeforskjeller er vurdert ved en samlet sammenligning av måleresultatene fra fire andre instrumenter, alle basert på Quicks metode, og ”referansemetoden”. I denne sammenligningen oppfattes metodene på de fire instrumentene som uttrykk for *en* og samme metode, ”Quickmetoden”, selv om det også eksisterer forskjeller i metodene innbyrdes. Forskjellene mellom Quick- og Owren-baserte metoder er også vurdert i forhold til forskjellen mellom to ulike applikasjoner av Owrenmetoden.

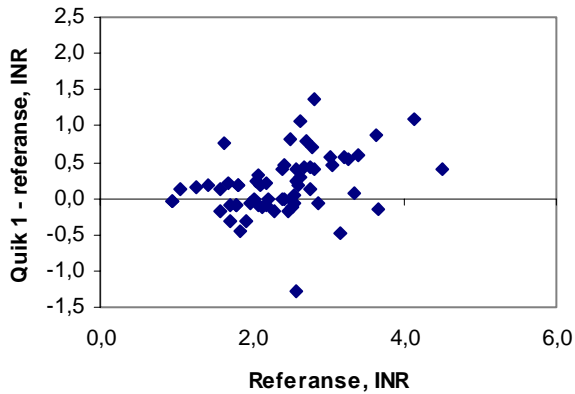
Avvik mellom Quick-baserte metoder og referansemålingen.

Alle avvik $> 0,5$ INR-enheter mellom referansemålingene og de fire ”Quick-instrumentene” er vurdert. Kun *en prøve* av totalt 71 viser et felles avvik $> 0,5$ INR, dvs. at alle fire ”Quick-instrumentene” avviker i samme retning i forhold til referansemålingen. På denne prøven gir alle de fire ”Quick-instrumentene” høyere INR-verdi enn referansemålingene. Avviket er henholdsvis 1,14 INR, 1,89 INR, 0,92 INR og 0,64 INR for de fire instrumentene. Denne pasienten er sjekket for diagnose og eventuelt medikamentbruk, uten at dette ga en forklaring på avviket. Hvis avvik $> 0,4$ INR blir vurdert på samme måte, har kun 2 av 71 prøver felles avvik.

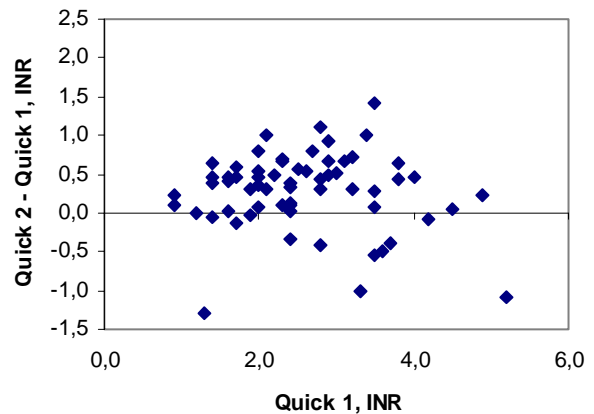
Avvik mellom Quick-baserte metoder og referansemålingen i forhold til avvik mellom ulike ”Quick-metoder”.

De eventuelle metodeforskjellene kan illustreres grafisk. Hvis de observerte avvikene hovedsakelig skyldes forskjeller mellom metodene Quick og Owren, vil en sammenligning av resultater fra et ”Quick-instrument” mot et annet ”Quick-instrument” utligne disse forskjellene, forutsatt noenlunde lik upresisjon på metodene som sammenlignes.

I figur 7 vises differansen mellom et av de nye ”Quick-instrumentene” (her kalt Quick 1) og referansemetoden, og i figur 8 vises differansen mellom et annet ”Quick-instrument” (her kalt Quick 2) og Quick 1.



Figur 7. Differanseplott, Quick mot "referansemetode".



Figur 8. Differanseplott, Quick mot Quick.

Vurdering

De fire "Quick-instrumentenes" avvik fra referansemålingene samsvarer ikke. Forskjellen mellom en Quick-basert metode og referansen, og mellom to Quick-baserte metoder er tilnærmet lik. Spredningen reduseres heller ikke når referansemetoden sammenlignes med en annen metode basert på Owren (ikke vist her).

De største avvikene mellom CoaguChek S og referansemålingene (se figur 2) skyldes derfor ikke metodeforskjeller alene. Spredningen må også være forårsaket av andre faktorer (se nedenfor).

Konklusjon

Det er ikke påvist at metodeforskjeller alene er årsak til de største avvikene mellom en protrombintid målt vha. en Quick-basert metode og en metode basert på Owren. De store forskjellene som observeres på enkeltprøver er et generelt problem, som mest sannsynlig skyldes en samlet påvirkning av faktorer som f.eks.:

- metodenenes upresisitet
- prøvetaking og prøvetakingsteknikker
- prøvebehandling
- prøvematerialet (kapillært, venøst fullblod, plasma)
- matrix-effekter/ ulik prøvefortynning
- pasient-til-pasient forskjeller (medikamenter, koagulasjonshemmere, andre koagulasjonsfaktorer)
- metode- og reagensforskjeller (både Quick/Owren, Quick/Quick og Owren/Owren)
- kalibrering/MNPT (kan gi et systematisk avvik som dermed forskyver nivået for alle prøvene)

Evaluering av brukervennlighet

Det var ingen direkte feil eller problemer med instrumentene i utprøvningsperioden. En av legekantorene fikk feilmelding ved for lite blod og tok en ny prøve (nytt stikk), Førsteintrykk av instrumentet er registrert etter at ”gjør-deg-kjent-med-instrumentet”-fasen var over. Brukervennlighet er evaluert i etterkant av utprøvingen, i følge spørreskjema i utprøvningsboken.

De viktigste kommentarene er oppsummert her:

Utprøving på klinisk kjemisk lab.

Positive kommentarer:

- Lite prøvevolum til analysering.
- Mulighet for visuell sjekk av teststrimmel.
- Kort analyseringstid.
- Brukervennlig manual med gode illustrasjoner for kvalitetskontroll.
- Tilnærmet ingen vedlikehold.

Negative kommentarer:

- Lite egnet kvalitetskontrollmateriale.

Utprøving på to legekantor

Førsteintrykk:

- Instrumentet er lett håndterbart, brukervennlig og har kort analysetid.

Positive kommentarer:

- God opplæring gitt fra leverandør.
- Apparatet er enkelt å bruke.
- Oversiktlig manual.
- Brukervennlig ”hurtig prosedyre” til hjelp ved analysering.
- Lite vedlikehold men må innimellom rengjøres for blodsøl.
- Reagenser og kontroller er ferdig til bruk.
- Svaret avleveres raskt og direkte som INR verdi.
- Informativt display.

Negative kommentarer:

- Fare for blodsøl siden første bloddråpe benyttes til analysering.
- ”Slukte” batterier. Må ha tilgang til et støpsel.
- Dyre teststrimler.