

Protrombintid (TT-INR/Thrombotest) på Trombotrack fra Medinor

Innholdsfortegnelse

Sammendrag	2
<i>Bakgrunn for utprøvingen</i>	
<i>Formål med utprøvingen</i>	
<i>Metode</i>	
<i>Resultat</i>	
<i>Konklusjon</i>	
Planlegging	3
Analysemetodene	4
<i>TT-INR på Thrombotrack</i>	
<i>”Referansemetoden”</i>	
<i>Retningslinjer for kalibrering av PT-INR</i>	
Gjennomføring	5
<i>Prøvetaking og innsamling av prøvemateriale</i>	
<i>Prøvebehandling</i>	
<i>Produktinformasjon</i>	
Mål for analytisk kvalitet	6
Resultater	7
<i>Intern kvalitetskontroll, Thrombotrack</i>	7
<i>Vurdering</i>	
<i>Presisjon</i>	7
<i>Utprøving under kontrollerte betingelser</i>	
<i>Vurdering</i>	
<i>Riktighet</i>	8
<i>Referansemåling</i>	
<i>Ekstern kvalitetskontroll av ”referansemetoden”</i>	
<i>AK-kontroller og Calibration Set på ”referansemetoden”</i>	
<i>Vurdering</i>	
<i>Korrelasjon under kontrollerte betingelser</i>	
<i>Spredningsdiagram</i>	
<i>Differanseplott</i>	
<i>Vurdering</i>	
<i>Mean Normal Prothrombin Time, MNPT</i>	13
<i>Vurdering av metodeforskjeller</i>	15
Vedlegg	17
<i>Intern kvalitetskontroll, TT-INR på Thrombotrack</i>	17
<i>Rådata, pasientprøver, DSH</i>	18
<i>Rådata, Calibration Set</i>	19
<i>Rådata, MNPT</i>	20

Sammendrag

Bakgrunn for utprøvingen

I november 1999 gikk man i Norge over til å utgi protrombintid i INR-enheter. På sykehuslaboratoriene benyttet man anledningen til å skifte tromboplastinreagens for å eliminere heparin-sensitivitet, og for å erstatte NT og TT med et felles reagens. Sykehuslaboratoriene ble samtidig anbefalt en felles kalibrering basert på to frysetørkede kalibratorer fra EQUALIS i Sverige. Etter overgangen til INR, ble det fra flere hold rapportert om systematiske forskjeller mellom INR-verdier målt med TT-reagens i primærhelsetjenesten og PT-reagens i sykehuslaboratorier.

Parallelt med dette er instrumenter basert på Quick-metoden klar for markedet.

Formål med utprøvingen

- Undersøke presisjon på Thrombotest
- Sammenligne INR-verdier målt med TT-reagens og PT-reagens
- Vurdere eventuelle metodeforskjeller

Metode

- Innen-serie presisjon ble bestemt vha. 78 venøse prøver analysert i duplikat under kontrollerte forsøksbetingelser på laboratoriet, Diakonissehjemmets Sykehus Haraldsplass (DSH) i Bergen.
- Målingenes riktighet ble bestemt ved sammenligning med en referansemåling.
- Eventuelle metodeforskjeller ble vurdert ved at resultatene på Thrombotest og fire instrumenter basert på Quick-metoden samlet ble sammenlignet med referansemålingene (med samme pasientprøver).

Resultat

Under kontrollerte forsøksbetingelser er presisjonen innen serie på Thrombotrack ca. 3%. Resultatet tilfredsstillende et krav om at analytisk upresisjon på protrombintid-analysen ikke bør overstige 6%. Control Plasma AK er godt egnet som presisjonskontroll på Thrombotrack. TT-INR på Thrombotrack ligger systematisk høyere enn referansemålingene. For verdier mellom 2 og 3 INR, ligger Thrombotest-resultatene i gjennomsnitt ca. 0,2 INR-enheter for høyt. For verdier mellom 3 og 4 INR, er Thrombotest-resultatene opp til 1 INR-enhet for høye. Enkeltprøver kan vise opp til 60% for høye verdier.

Konklusjon

Presisjonen på Thrombotest er meget god. PT-verdier målt i citratblod på Thrombotrack med TT-reagens (vanlig i primærhelsetjenesten) blir for høye i forhold til referansemålingen. Den systematiske forskjellen er mellom 0,2 og 1 INR-enhet. Referansemålingen er utført i plasma med en metode som er vanlig på norske sykehuslaboratorier. De store forskjellene som observeres på enkeltprøver skyldes en samlet påvirkning av mange faktorer.

Planlegging

Det har lenge vært interesse for en utprøving i regi av SKUP av flere av de nye koagulasjonsinstrumentene beregnet for primærhelsetjenesten. Metoden for analysing av protrombintid på de nye instrumentene er basert på Quicks PT-metode. Planleggingen av hvordan en slik parallell-utprøving kunne gjennomføres startet på nyåret 2000.

”TT-analysen” på Thrombotrack (Thrombotest) er basert på Owrens metode. Thrombotest har vært på det norske marked i mange år, og resultater og analysekvalitet er godt dokumentert. Etter overgangen til INR i Norge i november –99 kom det meldinger fra flere kanter av landet om systematiske forskjeller på protrombintid-verdier målt på legekantor og sykehus. Avvikene fremstod hovedsaklig som forskjeller på TT-INR på Thrombotrack i primærhelsetjenesten og PT-INR i sykehuslaboratoriene.

SKUP henvendte seg til Medinor i begynnelsen av mars med et skriftlig tilbud om å inkludere TT-INR målt på Thrombotrack i den store utprøvingen som var under planlegging. Utprøvingen av Thrombotest kunne da utføres på samme pasientmateriale og med samme ”referansem metode” som de andre instrumentene. Resultatene av en slik utprøving er viktig for den pågående debatt om forskjeller mellom Quick- og Owrenbaserte metoder, og for uroen omkring observerte forskjeller på PT-resultater målt med forskjellig reagens.

Medinor aksepterte SKUPs tilbud om utprøving av Thrombotest. I foreløpige samtaler mellom SKUP og Medinor var det enighet om at utprøvingen i hovedsak gjøres etter retningslinjer gitt i boken *Utprøving av analyseinstrumenter*, utgitt på Alma Mater Forlag høsten 1997, men at en utprøving i primærhelsetjenesten sløyfes.

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

Kim Rørmark og Trine Brynildsrud, Medinor
 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 (NOKLUS/SKUP) og Grete Monsen har ansvaret for utprøvingen.

Grete Monsen skriver protokoll for utprøvingarbeidet. Hovedutprøvingen utføres på laboratoriet på Diakonissehjemmets Sykehus, Haraldsplass (DSH) i Bergen. Berit Stølsnes administrerer utprøvingen på DSH og har ansvar for at den gjennomføres i følge protokoll.

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 Medinor, og eventuelle endringer og tilføyelser gjøres før utprøvingsoppdraget er ferdig.

Detaljert protokoll for utprøvingen ble skrevet og godkjent i april, og kontrakt ble undertegnet 5. mai.

Analysemetodene

TT-INR på Thrombotrack (Thrombotest)

Thrombotrack 1 er et lite instrument til analysering av protrombintid, beregnet for primærhelsetjenesten. Når prøve tilsettes en kyvette med stålkule i, starter en motor som driver kulen rundt ved hjelp av en magnet. En lysstråle sendes inn i kyvetten og treffer kulen.

Lysstrålen reflekteres tilbake mot en sensor så lenge kulen roterer. Når prøven koagulerer, stopper kulen og refleksjonen blir brutt. I det kulen stopper, kan koagulasjonstiden i sekunder leses av på displayet. Resultatet i INR-enheter leses av i en tabell som følger reagenset.

Tromboplastinreagenset i Thrombotest inneholder bovint tromboplastin fra hjerne kombinert med adsorbent bovint plasma, og kalles derfor et kombinert reagens. Det adsorbente plasmaet er tilsatt som kilde for faktor V og fibrinogen.

Thrombotest er følsom for koagulasjonsfaktorene II, VII og X og for PIVKA-faktorer, og er spesielt laget til kontroll av peroral antikoagulasjonsbehandling. Thrombotest er følsom for heparin.

Det finnes applikasjoner av Thrombotest for kapillærblod, citratblod og to ulike fortyninger av plasma. I utprøvingen har 50 µl citratblod + 250 µl reagens vært benyttet.

Referansemetoden

Laboratoriet på DSH analyserer PT-INR på instrumentet StaCom med SPA-reagens fra Stago.

Metoden er basert på Owrens metode med et reagens som er tilsatt faktor V og fibrinogen (kombinert reagens). Metoden er følsom for nedsatt aktivitet av faktorene II, VII og X, og den er ufølsom for heparin. Sluttfortynningen av citratprøven er 1:21.

PT-analysen på DSH 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 og 20 AK-plasma) fra *European Concerted Action for Anticoagulation (ECAA)* v/prof. Poller i Manchester. Fordi disse kalibratorene først er leveringsklare i oktober, gjøres utprøvingen i to trinn. I første omgang korreleres Thrombotest til en EQUALIS-kalibrert "referansemetode". Pasientmaterialet som inngår i utprøvingen fryses ned i minus 80 graders frys. Høsten 2000 vil SKUP/ DSH gjøre en sammenligning av EQUALIS og ECAA-kalibratorene. Basert på resultatene av denne sammenligningen blir det vurdert hva som eventuelt skal gjøres med det frosne materialet. Det vil deretter bli skrevet en tilleggsrapport.

Gjennomføring

Prøvetaking og innsamling av prøvemateriale

Prøvene til utprøvingen ble tatt av pasienter som skulle ha en rutinekontroll av sin antikoagulasjonsbehandling. 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. Det ble tatt prøver av 78 pasienter.

Prosedyren for prøvetakingen på DSH ble standardisert. Før prøvetaking satt alle pasientene rolig i minst 15 minutter. Venepøven ble tatt med moderat stase. Det ble ikke benyttet ”kasteglass”. Hvis andre prøver var rekvirert i tillegg til PT/INR, ble prøveglasset til koagulasjon tatt som glass 2 eller 3. Prøvene 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.

Prøvebehandling

Citratprøve-glassene ble blandet forsiktig umiddelbart etter prøvetaking ved å vende dem tre til fire ganger. Prøvene ble analysert på Thrombotrack så snart som mulig, og innen en time. Prøvene ble deretter sentrifugert, ikke senere enn to timer etter prøvetaking, i 15 minutter ved 2500 g. Prøvene ble analysert 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-kalibratorer”).

Produktinformasjon

Under utprøvingen har følgende utstyr og forbruksvarer vært benyttet:

Thrombotrack serienummer: 1501-2

Reagensbatch: 308008

Control Plasma AK lot nr.: 2A9200N

Calibration Set 1D8300Z

Opplysninger om pris fåes ved henvendelse til leverandør.

”Referansemetoden”

EQUALIS-kalibrator lot. nr. 01 med INR-verdi 0,95, lot.nr. 02 med INR-verdi 4,03

SPA-reagens lot. nr. 992791

Scandinorm lot. nr. 992075, fasit = 0,96 INR

Scandipath lot. nr. 992102, fasit = 2,74 INR

1,5 ml kryorør for koagulasjonsanalyser, Tamro, SCT-150-C

Mål for analytisk kvalitet

Det finnes ikke felles anbefalte kvalitetsmål for protrombintidanalysen foreløpig. Det kan stilles krav til en analyses presisjon og riktighet ut fra biologisk variasjon. På bakgrunn av tillatt upresisjon 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), 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 tolereres en analytisk upresisjon opp til 7,5%, hvis bias er null (ikke realistisk i lengden). Påvises systematiske avvik fra referanseverdi, må upresisjonen 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 upresisjonen på protrombinanalysen ikke overstige 6%, hvis det i tillegg skal være rom for et systematisk avvik på opp til 5%.

Resultater

Intern kvalitetskontroll Thrombotrack

Control Plasma AK er produsert for kvalitetskontroll av koagulasjonsanalyser i det terapeutiske området for oral antikoagulasjonsbehandling. Kontrollen har vært benyttet som presisjonskontroll på Thrombotrack i utprøvsperioden. I tillegg er Medinors PT-kalibratorene på 3 nivå, Calibration Set, analysert som prøver (løst i 0,6 ml vann, 30µl plasmametode) på Thrombotrack. Resultatene er vist i tabell 1.

Rådata, intern kvalitetskontroll, vedlegg 1.

Rådata, Calibration Set, vedlegg 3.

Tabell 1. Intern kvalitetskontroll og Calibration Set, Thrombotrack

Kontroll og kalibrator	INR	INR	CV%	n
	Oppgitt verdi	Gjennomsnittsverdi	Med 95% konfidensintervall	
Control Plasma AK	2,4 – 2,8	2,7	1,9 (1,5 – 2,4)	35
Calibration Set, Plasma normal	1,01	1,01		6
Calibration Set, AK 1	2,17	2,12		5
Calibration Set, AK 2	2,98	2,94		5

Vurdering

Resultatene på Control Plasma AK på Thrombotrack er tilfredsstillende i hele utprøvsperioden. Variasjonen fra dag-til-dag er ca. 2%. Control Plasma AK egner seg godt som presisjonskontroll på Thrombotrack.

Calibration Set analysert som prøver på Thrombotrack viser godt samsvar med de oppgitte verdier for kalibratorene.

Presisjon

Utprøving under kontrollerte forsøksbetingelser

Innen-serie presisjonen ble beregnet fra 78 venøse prøver analysert i duplikat. INR-verdiene ble gruppert i to nivå, og beregningene ble gjort på hvert nivå. Presisjonen ble også beregnet for alle data samlet. Det ble påvist en statistisk slenger i det samlede datamaterialet, og denne ble ekskludert da beregningen av CV for alle data samlet ble gjort.

Resultatene er vist i tabell 2.

Rådata, pasientprøver DSH, vedlegg 2.

Tabell 2. Presisjon, TT-INR på Thrombotrack.

Nivå INR	CV % innen-serie	n
Gjennomsnitt (range)	med 95% konfidensintervall	
2,2 (1,1 – 2,8)	4,3 (3,5 – 5,5)	39
3,8 (2,8 – 6,7)	2,8 (2,3 – 3,7)	39
Alle data samlet	3,0 (2,0 – 2,8)	77

Vurdering

Metoder for måling av PT-INR på sykehus og i primærhelsetjenesten bør ha en analytisk upresisitet som ikke overstiger 6%. TT-INR i venøst blod analysert på Thrombotrack oppfyller dette kravet.

Riktighet

Referansemåling

Som referansemåling ble en PT-metode på StaCom instrument med SPA-reagens fra Stago valgt. Analysen kalibreres vha. kalibratorene fra EQUALIS, i følge anbefaling fra laboratoriekomiteen for overgang til INR i Norge. EQUALIS-kalibratorene har INR-verdi på 0,95 og 4,03 INR (lot. nr. 01 og 02) og 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 kvalitetkontroll benyttes Scandinorm og Scandipath 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 av reagens er variasjonen mindre.

I utprøvningsperioden var innen-serie presisjonen på "referansemetoden" 1,5%, beregnet på bakgrunn av alle pasientprøvene som inngikk i utprøvingen. Dag-til-dag presisjonen var mellom 2 og 4%, beregnet på bakgrunn av resultatene fra kvalitetskontrollmaterialer. Resultatene fra intern kvalitetkontroll var tilfredsstillende under hele utprøvingen.

Ekstern kvalitetkontroll av "referansemetoden"

På vegne av Lab Quality, har NOKLUS i samarbeid med Norsk kvalitetkontroll (NKK) overtatt utsendelsene av ekstern kvalitetkontroll til koagulasjonsanalyser på norske sykehus. Det har vært tre utsendelser av 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 NOKLUS-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 stilt disse kalibratorene til disposisjon for SKUP til bruk i utprøvingen, der de har vært benyttet som kontroller med fasit. Resultater fra ekstern kvalitetkontroll er fremstilt i tabell 3.

Tabell 3. 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 INR-verdier som ligger litt i underkant av det norske landsgjennomsnitt for tilsvarende metoder (SPA-reagens og EQUALIS-kalibrert). Verdiene ligger også i underkant av fasitverdier på danske kontroll- og kalibratormaterialer. For verdier rundt 1 INR er avviket ubetydelig. Verdier mellom 2 og 4 INR er i gjennomsnitt ca. 0,15 INR-enheter lavere enn landsgjennomsnitt og/eller fasit. Dette har ingen klinisk betydning, men vil bli tatt med i vurderingen av sammenligningen av Thrombotrack og referansen.

Analysering av Control Plasma AK og Calibration Set på StaCom

Control Plasma AK er analysert daglig på StaCom i utprøvsperioden. Calibration Set fra Medinor (frysetørket referanseplasma på tre nivå), er analysert i duplikat to ganger i løpet av perioden. Resultatene er vist i tabell 4.

Rådata, AK-kontroll, vedlegg 1.

Rådata, Calibration Set, vedlegg 3.

Tabell 4. Control Plasma AK og Calibration Set på StaCom

Kontroll og kalibrator	INR Oppgitt verdi Thrombotest	INR Oppgitt verdi Nycotest PT	INR Gjennomsnittsverdi	CV% Med 95% konfidensintervall	n
Control Plasma AK	2,4 – 2,8		2,82	2,9 (2,4 – 3,9)	33
Calibration Set, Plasma normal	1,01	1,05	1,02	*	4
Calibration Set, Plasma AK 1	2,17	2,49	2,18	*	4
Calibration Set, Plasma AK 2	2,98	3,44	3,05	*	4

* blir ikke regnet ut pga. få data.

Vurdering

På StaCom ligger AK-kontrollen helt i øvre grense av oppgitt nivå. Resultatet er 0,1 INR-enheter over gjennomsnittsverdien oppnådd på Thrombotrack.

De målte verdier av Calibration Set på "referansemetoden" viser godt samsvar med oppgitte verdier for Thrombotest og med resultatene oppnådd på Thrombotrack (se tabell 1). AK 1 og 2 er lavere på StaCom enn de oppgitte verdier for Nycotest PT (ulike kalibreringer og ulike tromboplastin-reagens). Det er ikke oppgitt egne verdier for Stagos SPA-reagens.

Korrelasjon under kontrollerte forsøksbetingelser

Korrelasjonen ble gjort med 78 venøse prøver. På Thrombotrack ble målingene utført i fullblod, mens referansemålingene ble utført i citratplasma. Korrelasjonen er fremstilt i et spredningsdiagram og tre differanseplott.

Spredningsdiagram

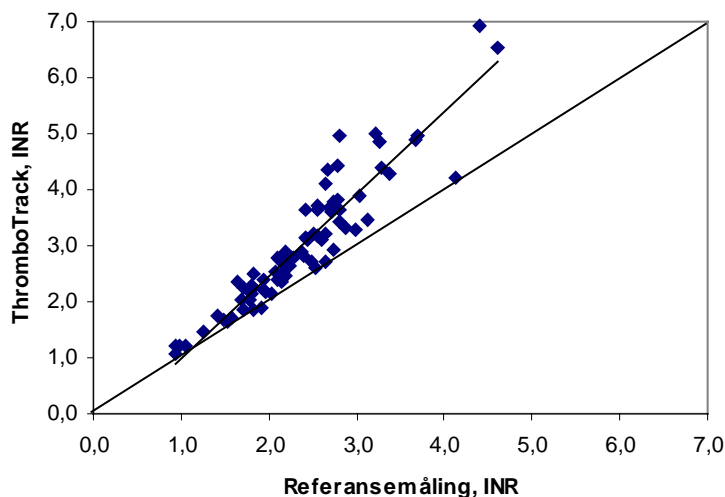
I figur 1 er gjennomsnittet av duplikatmålingene på Thrombotrack sammenlignet med gjennomsnittet av duplikatmålingene på StaCom. Å benytte duplikatmålinger også på y-aksen, reduserer upresisheten og gir derfor et bedre anslag av metodens riktighet og eventuelle metodeforskjeller. I enkel lineær regresjonen ble punkt med residual utenfor $0 \pm m \cdot SD_{\text{residual}}$ definert som slengere. Faktoren m er avhengig av testens signifikansnivå (her 5%) og antall prøver som inngår i regresjonen. Her er $m = 3,40$. Det ble ikke påvist slengere i datamaterialet. Resultatene fra lineær regresjon er samlet i tabell 5, og avvik mellom metodene er vist i tabell 6.

Differanseplott

I figur 2 er differanseplottet tegnet med gjennomsnittet av referansemålingene på x-aksen og med Thrombotracks 1. måling minus gjennomsnittet av referansemålingen på y-aksen (avspeiler Thrombotrack-resultatenes totale målefeil). Det er tegnet inn grenser på $\pm 15\%$. Grensene samsvarer med største tillatte avvik for ekstern kvalitetskontroll på protrombintid-analysen på norske sykehus.

I figur 3 er differansen mellom Thrombotrack og referansen fremstilt prosentvis.

I figur 4 er referansemålingene justert i forhold til resultater på ekstern kvalitetskontroll. Null-linjen i dette differanseplottet er hevet med 0,1 INR-enheter.



Figur 1. Spredningsdiagram med trendlinje og ideel linje. $n = 78$
Venøse citratprøver på Thrombotrack, citratplasma på StaCom.

Tabell 5. Lineær regresjon

Regresjonsligning: $y = 1,47x - 0,47$ Determinasjonskoeffisient; R^2 : 0,87 Standardfeil $SE_{y/x}$: 0,408 Antall observasjoner: 78 Antall slengere: 0 Usikkerhet ved beregnet vinkelkoeffisient, SEa: 0,064 Usikkerhet ved beregnet intercept, SEb: 0,159 Vinkelkoeffisient a er signifikant $\neq 1$, p-verdi $< 0,001$ Skjæringspunkt b er signifikant $\neq 0$, p-verdi 0,004
--

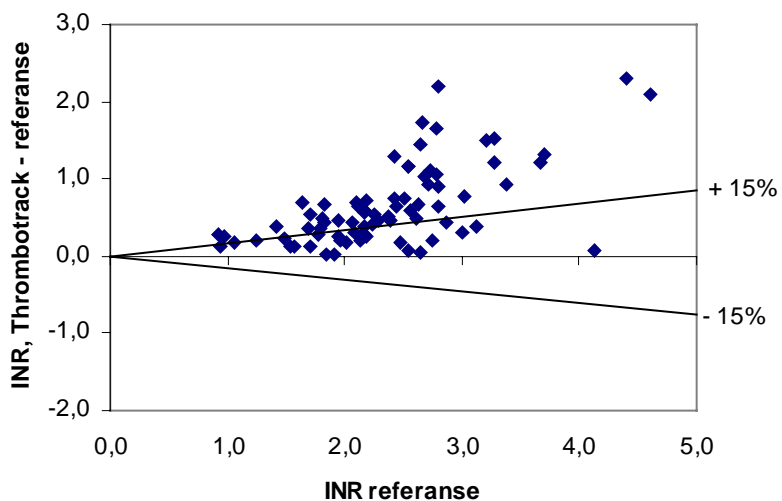
Tabell 6. Avvik (bias) mellom metodene.

Nivå INR	Trombotrack INR – referanse Gjennomsnittsdifferanse med 95% konfidensintervall	SD for differansene	Antall differanser
2,8 (1,1 – 2,8)	0,26 (0,22 – 0,30)	0,136	39
3,8 (2,8 – 6,7)	1,02 (0,85 – 1,18)	0,502	39

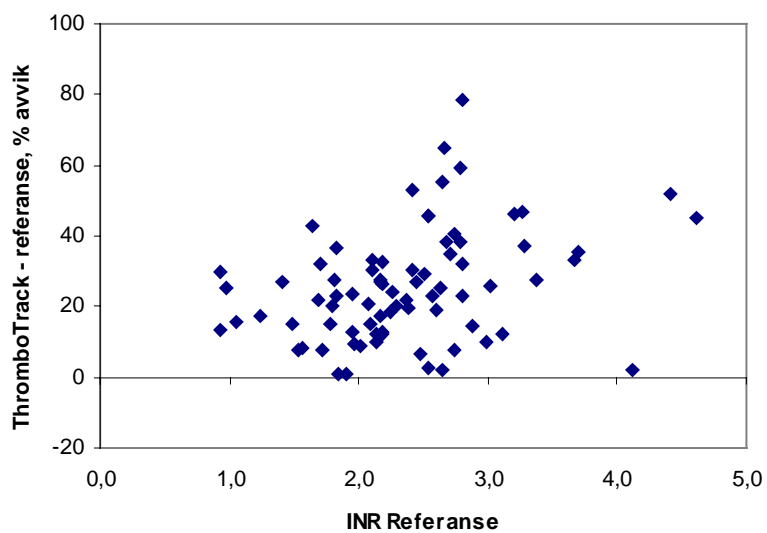
Vurdering

TT-INR på Trombotrack ligger systematisk høyere enn referansemålingene. Avviket er avhengig av PT-nivå. For verdier mellom 1 og 3 INR, ligger Trombotrack-resultatene i gjennomsnitt ca. 0,3 enheter for høyt. For verdier mellom 3 og 4 INR, er Trombotrack-resultatene gjennomsnittlig ca. 1,0 INR-enhet for høye.

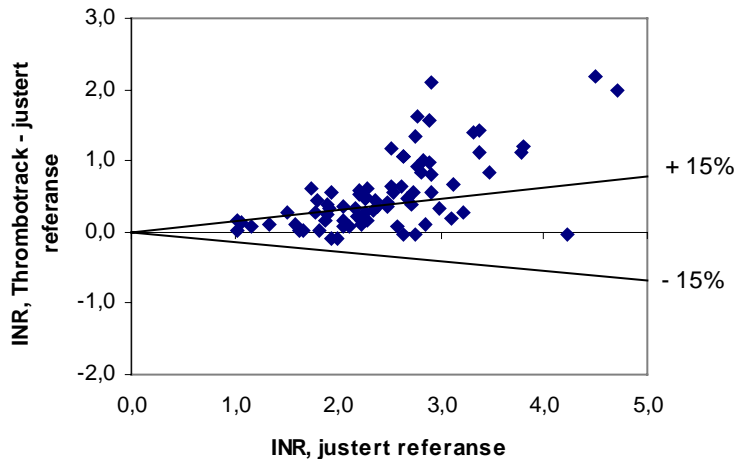
Hvis referansemålingene justeres med 0,05 INR-enheter på lavt nivå og 0,15 INR-enheter på høyt nivå, i forhold til resultatene på ekstern kvalitetskontroll, reduseres det systematiske avviket på Trombotrack noe. Avviket på lavt INR-nivå er uten klinisk betydning. På høyt nivå ligger Trombotrack i gjennomsnitt 0,9 INR-enheter over referansemålingene.



Figur 2. Differanseplott med resultatene fra duplikatmålinger på StaCom på x-aksen, og forskjellen mellom Thrombotrack, venøse prøver, og referansen på y-aksen. n= 78



Figur 3. Differanseplott med resultatene fra duplikatmålingene på StaCom på x-aksen, og prosentvis forskjell mellom ThromboTrack, venøse prøver, og referansen på y-aksen. n=78



Figur 4. Differanseplott med justerte resultater fra duplikatmålingene på StaCom (hevet med 0,1 INR) på x-aksen, og forskjellen mellom Thrombotrack, venøse prøver, og justert referanse på y-aksen. n = 78

Vurdering

TT på Trombotrack ligger systematisk høyere enn referansemålingene. Typiske resultat avviker mellom 10 og 30%. Enkeltp prøver viser adskillig større avvik.

Når null-linjen i differanseplottet er hevet med 0,1 INR-enheter (figur 4), på bakgrunn av resultatene fra ekstern kvalitetskontroll, faller 60 % av resultatene (47 av 78) utenfor grensen på + 15%. En finere justering av referansemålingene (f.eks. 0,05 INR i lavt nivå og 0,15 INR i høyt nivå) vil ikke gi endringer av betydning.

Mean Normal Prothrombin Time, MNPT

INR er per definisjon pasientens koagulasjonstid i forhold til normal koagulasjonstid (MNPT), opphøyd i en sensitivitesindeks (ISI), som justerer for tromboplastin-reagensets følsomhet i forhold til et referansetromboplastin. Målesystemets MNPT og ISI-verdi er derfor avgjørende for INR-resultatene på pasientprøver.

$$INR = \left(\frac{\text{koagulasjonstid}_{\text{pasient}}}{MNPT} \right)^{ISI}$$

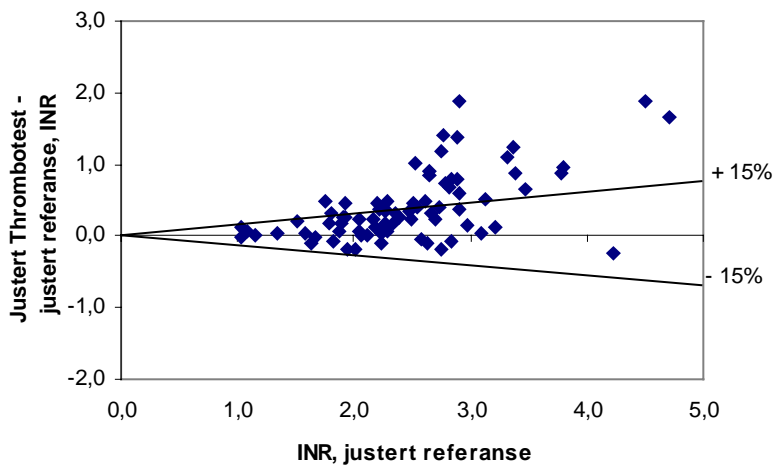
Koagulasjonsaktiviteten målt med Thrombotest uttrykkes i prosent av normal aktivitet. En medfølgende korrelasjonstabell gir overføring til INR-enheter. For Thrombotest er normal koagulasjonsaktivitet basert på resultater fremkommet ved å teste et ikke-aktivert frysetørret referanseplasma med en aktivitet tilsvarende middelverdien i en voksen normal-befolkning. Normaltiden for reagensbatch 308008 ("utprøvningsbatchen") med venøse prøver er oppgitt til 39,0 sekunder i korrelasjonstabellen. Normaltiden er i følge tabellen bestemt med manuell PT-metode (vippeteknikk), og er ikke fremkommet etter analysering på Thrombotrack.

WHO definerer Mean Normal Prothrombin Time, MNPT, som det geometriske gjennomsnitt av PT-resultatene fra 20 friske kvinner og menn. Den oppgitte normaltids for Thrombotest med batch 308008 ble undersøkt i følge dette. Det ble tatt venøse citratprøver av 10 friske kvinner og 10 friske menn. Prøvene ble analysert i duplikat på Thrombotrack. Forsøket ble utført på laboratoriet, DSH.

Geometrisk gjennomsnitt av de 20 duplikatmålingene ga en normaltids på 41,0 sekunder. Dette er to sekunder mer enn den oppgitte normaltids. Hvis en normaltids på 41 sekunder hadde vært lagt til grunn for resultatene i utprøvingen, ville verdier mellom 2 og 4 INR blitt ca. 0,2 INR-enheter lavere. Dette ville redusert det systematiske avviket mellom Thrombotest og referansemetoden.

I figur 5 er differansen mellom Thrombotrack og referansemålingene fremstilt, etter at resultatene på Thrombotrack er utregnet på nytt i forhold til en normaltids på 41 sekunder. Null-linjen i differanseplottet er samtidig hevet med 0,1 INR-enheter i forhold til resultater på ekstern kvalitetskontroll.

Rådata, MNPT på Thrombotrack, vedlegg 4.



Figur 5. Differanseplott med justerte resultater fra duplikatmålinger på StaCom (hevet 0,1 INR) på x-aksen, og forskjellen mellom justerte resultater på Thrombotrack (MNPT=41 sek.) og justert referanse på y-aksen. n = 78

Vurdering

Som et resultat av en normaltids på 41 sekunder i stedet for 39 sekunder samsvarer nå verdiene mellom 1,0 og 2,5 INR på Thrombotrack bra med ”referansemetoden”. Verdier mellom 2,5 og 4 INR blir mer enn 15% for høye på Thrombotrack. Det systematiske avviket er redusert, men 40% av resultatene (31 av 78) faller likevel utenfor grensen på + 15%.

Vurdering av metodeforskjeller

Utprøvingen av Thrombotest er gjort parallelt med utprøvingen av fire nye instrumenter for PT-måling basert på Quicks metode. Utprøvingen av de 5 instrumentene er gjort på samme pasientmateriale.

”Referansemetoden” er basert på Owrens metode med kombinert reagens. Metoden er følsom for nedsatt aktivitet av koagulasjonsfaktorene II, VII og X. Sluttfortynningen av citratplasma på StaCom er 1:21.

Thrombotest-metoden er også basert på Owrens metode. På Thrombotrack fortynnes den citrerte fullblodsprøven 1:6. Plasmadelen i prøven blir fortynnet 1:9,3 hvis EVF er 0,40.

Quicks metode er følsom for faktor II, V, VII, X og fibrinogen (faktor I). Den opprinnelige Quick-metoden benytter en prøvefortynning på 1:3, mens de fire nye instrumentene benytter uforynnet blod til analysering.

På bakgrunn av metodeforskjeller kan det forventes forskjell på INR-verdi på enkeltprøver analysert på ”referansemetoden”, på Thrombotrack og på de fire nye instrumentene. De forventede metodeforskjeller er vurdert ved en samlet sammenligning av måleresultatene fra Thrombotest, fire nye instrumenter og ”referansemetoden”. I denne sammenligningen oppfattes metodene på de fire nye instrumentene som uttrykk for *en* og samme metode, basert på Quick-metoden, selv om det også eksisterer forskjeller metodene innbyrdes.

Avvik mellom Quick-baserte metoder og referansemålingen.

Alle avvik $> 0,5$ INR-enheter mellom de fire ”Quick-instrumentene” og referansemålingene er vurdert. Kun *en pasientprøve* 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.

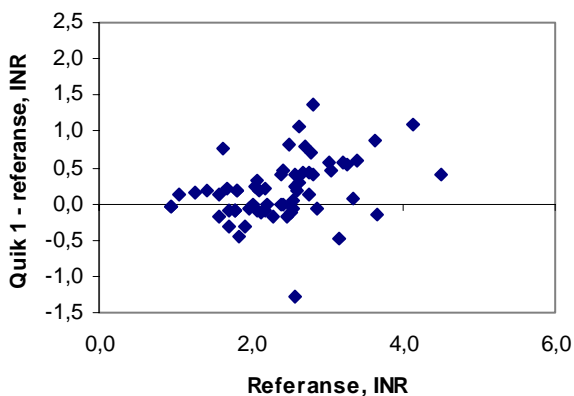
Denne pasienten er sjekket for diagnose og eventuelt medikamentbruk, uten at dette ga en forklaring på avviket.

Hvis avvik $> 0,4$ INR vurderes på samme måte, har kun 2 av 71 prøver felles avvik.

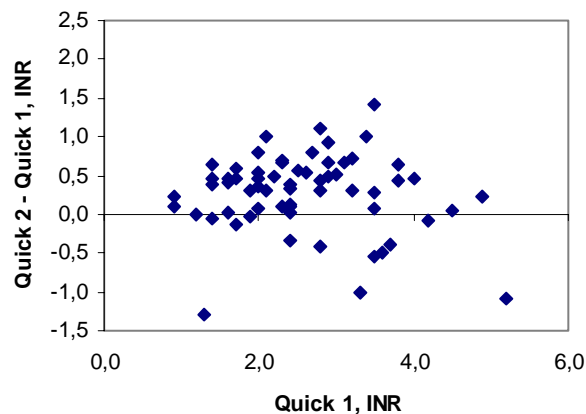
Avvik mellom Quick-baserte metoder og referansemålingen i forhold til avvik mellom ulike ”Quick-metoder”.

De eventuelle forskjellene mellom en metode basert på Quick og en metode basert på Owren kan illustreres grafisk. Hvis de observerte avvikene mellom de fire nye instrumentene og referansen hovedsaklig skyldes forskjeller mellom Quick- og Owrenbaserte metoder, vil en sammenligning av et ”Quick-instrument” mot et annet ”Quick-instrument” utligne disse forskjellene, forutsatt noenlunde lik upresisitet på metodene som sammenlignes.

I figur 6 vises avviket mellom et av de nye ”Quick-instrumentene” (her kalt Quick 1) og referansemetoden, og i figur 7 vises avviket mellom et annet ”Quick-instrument” (her kalt Quick 2) og Quick 1.



Figur 6. Differanseplott, "Quick mot referansemetode".



Figur 7. Differanseplott, "Quick mot Quick".

Vurdering

De fire "Quick-instrumentenes" avvik fra referansemålingene samsvarer ikke. Forskjellen mellom en metode basert på Quick og en metode basert på Owren, og mellom to Quick-baserte metoder er tilnærmet lik. Spredningen er også tilnærmet lik den som fremkommer når Thrombotest sammenlignes med referansen (figur 4).

De største avvikene mellom de fem "utprøvningsinstrumentene" og referansemålingene skyldes derfor ikke forskjeller på metodene 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 på protrombintid målt vha. ulike Quick-baserte metoder og to metoder basert på Owren med kombinert reagens. De store forskjellene som observeres på enkeltprøver er et generelt problem, som mest sannsynlig skyldes en samlet påvirkning av faktorer som f.eks.:

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