

# Protrombintid (PT-INR) på ProTime fra MEDimport

## Innholdsfortegnelse

<b>Sammendrag</b> .....	2
<b>Planlegging</b> .....	4
<b>Analysemetodene</b> .....	6
<b>Gjennomføring</b> .....	7
<i>Prøvetaking og innsamling av prøvemateriale</i> .....	7
<i>Prøvetaking på DSH</i>	
<i>Prosedyre for prøvetaking til ProTime</i>	
<i>Prøvebehandling på DSH</i>	
<i>Prøvetaking og prøvebehandling på legekantorene</i>	
<i>Antall prøver i de analytiske forsøk</i> .....	8
<i>Batch-til-batch variasjon</i> .....	8
<i>Produktinformasjon</i> .....	9
<b>Mål for analytisk kvalitet</b> .....	10
<b>Resultater</b> .....	11
<i>Intern kvalitetskontroll, ProTime</i> .....	11
<i>Vurdering</i>	
<i>Presisjon</i> .....	11
<i>Under kontrollerte forsøksbetingelser</i>	
<i>På to legekantor</i>	
<i>Vurdering</i>	
<i>Riktighet</i> .....	13
<i>Referansemåling</i>	
<i>Ekstern kvalitetskontroll av ”referansemetoden”</i>	
<i>Vurdering</i>	
<i>Korrelasjon under kontrollerte betingelser</i>	
<i>Vurdering</i>	
<i>Vurdering av metodeforskjeller</i> .....	17
<b>Evaluerings av brukervennlighet</b> .....	19
<b>Vedlegg</b> .....	20
<i>Vedlegg 1. Intern kvalitetskontroll, ProTime</i>	
<i>Vedlegg 2. Rådata, pasientprøver, DSH</i>	
<i>Vedlegg 3. Rådata, pasientprøver, legekantor</i>	
<i>Vedlegg 4. Rådata, nye prøver, DSH</i>	
<i>Vedlegg 5. Kommentarer fra firma</i>	

## Sammendrag

### ***Bakgrunn***

ProTime er et nytt, lite instrument for måling av protrombintid beregnet for bruk på legekantor eller til egenmåling av pasientene selv. Det benyttes kapillærblod på Prottime. Prøvevolum er ca. 65 µl, og svaret foreligger på mindre enn 5 minutter. Måleområdet er fra 1,0 til 7,0 INR.

Resultater fra 7,0 til 10,0 INR markeres med en stjerne.

ProTime er basert på Quicks metode for måling av protrombintid. Metodene som er i bruk på de fleste norske sykehus er basert på Owrens metode.

### ***Formål***

- Teste presisjonen på ProTime under kontrollerte forsøksbetingelser på et klinisk kjemisk laboratorium, samtidig som presisjonen også undersøkes på to laboratorier i primærhelsetjenesten.
- Undersøke riktighet ved sammenligning med en etablert PT-INR metode.
- Vurdere eventuelle metodeforskjeller.
- Evaluere systemet med hensyn til brukervennlighet og pålitelighet.

### ***Metode***

- Innen-serie presisjon ble bestemt vha. 62 + 20 kapillære prøver analysert i duplikat (to fingerstikk) under kontrollerte forsøksbetingelser på laboratoriet, Diakonissehjemmets Sykehus, Haraldsplass (DSH) i Bergen.  
Innen-serie presisjonen 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.
- Eventuelle metodeforskjeller ble vurdert ved at resultatene fra fire ulike instrumenter samlet ble sammenlignet med referansemålingene (samme prøvemateriale).

### ***Resultat***

- Under kontrollerte forsøksbetingelser er presisjonen innen serie i underkant av 6%. Resultatet tilfredsstillende et krav om at analytisk upresisjon på protrombin-analysen ikke bør overstige 6%. På de to legekantorene er presisjonen innen serie rundt 6 %.
- Analysering av PT Whole Blood Control på ProTime gir en variasjon på ca.15%. Dette skyldes mest sannsynlig at kontrollmaterialet ikke er optimalt for ProTime. Det var ingen varsel om feilmålinger fra det innebygde kontrollsystemet i ProTime i løpet av utprøvingen.
- Resultatene på ProTime viser ikke systematisk avvik fra referansemålingene. Halvparten av resultatene avviker mer enn 15% fra referansen.
- Det er ikke påvist at det er forskjellen mellom Quick- og Owren-basert metode som er hovedårsak til de observerte avvik.

### ***Evaluering av brukervennlighet***

ProTime er enkelt og greit å betjene. Prøvetakingen kan være vanskelig fordi det trengs forholdsvis mye blod (65 µl). En modifisert utgave av oppsamlingstrakten (følger nyere lotnummer av testkyvetter, se avsnitt om produktopplysning) synes å forenkle innsugning av blod fra trakt til testbrikke. Prøvetaking og analysering tar litt tid, men legen får svar på stedet.

**Konklusjon**

ProTime er egnet til pasientnær testing av PT-INR, utført av trent laboratoriepersonale. Under kontrollerte forsøksbetingelser tilfredsstiller presisjonen analytiske mål for protrombintidanalysen. De to legekantorene er også helt i nærheten av å nå dette målet.

Det påvises ikke systematiske avvik fra "referansemotoden", men mange av enkeltprøvenes avvik er for store; mer enn 0,5 INR-enheter. Det er ikke påvist at det er forskjellen mellom Quick- og Owren-basert metode som er hovedårsaken til de observerte avvik. Store avvik på enkeltprøver er et generelt problem som mest sannsynlig skyldes en samlet påvirkning av flere faktorer. Noe av avviket kan, i ProTimes tilfelle, antageligvis tilskrives uheldige prøvetakingsbetingelser for ProTime i hovedutprøvingen.

Fordi kontrollmaterialet har en variasjon som er større enn variasjonen for pasientprøver, kan kontrollmaterialet kun avsløre større endringer av analysekvalitet.

## Planlegging

Det har lenge vært interesse for en utprøving i regi av SKUP av flere av de nye koagulasjonsinstrumentene beregnet for primærhelsetjenesten. MEDimport v/Kjell Myrseth henvendte seg til SKUP om en utprøving av ProTime mikrokoagulasjonssystem i september 1999. SKUP påtok seg oppdraget og sendte skriftlig tilbud med et foreløpig forslag til organisering av utprøvingen i slutten av september. 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.

ProTime bygger på Quickmetoden som er følsom for koagulasjonsfaktorene II, V, VII, X og fibrinogen. "Referansemetoden" er basert på Owrens metode med et reagens som inneholder 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.

Utprøvingen av ProTime 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". På denne måten kan de forventede forskjeller mellom Quick-baserte metoder og "referansemetoden" overvåkes ved å vurdere måleresultatene fra utprøvingsinstrumentene samlet mot "referansemetoden".

I foreløpige samtaler mellom SKUP og MEDimport var det enighet og at utprøvingen skulle omfatte følgende:

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

*Utført på to legekantor*  
 Innen-serie presisjon  
 Evaluering av brukervennlighet

Utprøvingen i primærhelsetjenesten skal avspeile hverdagen på legekantoret. Medarbeiderne skal følge vanlige rutiner på laboratoriet. Utprøvingen i primærhelsetjenesten kom raskt i gang og startet opp før planleggingen av hovedutprøvingen. Skolegaten legesenter i Grimstad og Helsehuset i Tvedestrand ble forespurt om å delta i utprøvingen og svarte positivt på henvendelsen. Kai Fiksdal fra MEDimport leverte ut instrumenter og forbruksmaterieell til legekantorene i første halvdel av januar. Utprøvingen foregikk i perioden januar - mars 2000. Laboratoriekonsulent Beth Dahl-Paulsen veiledet og tilrettela arbeidet for legekantorene. Skolegaten legesenter har tre legestillinger. Fire medarbeidere deler laboratoriearbeidet, men bare en av dem deltok i utprøvingen. I den daglige rutine analyserer legesenteret TT på Thrombotrack. Helsehuset har 2,5 legestillinger og 3 medarbeidere på laboratoriet. Utprøvingen ble gjort av en av medarbeiderne. Helsehuset er kjent med ProTime fra egen rutine.

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

Kjell Myrseth, MEDimport  
 Representanter for andre firma som også har instrumenter med i utprøvingen  
 Berit Stølsnes og Tove Zakariassen, Laboratoriet, DSH  
 Jørn Seneede, 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 Monsen skriver protokoll for utprøvningsarbeidet. 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 hovedutprøvingen skal foregå i perioden mai-juli (måtte forandres til juni - august, i påvente av kalibratorer). Bearbeiding av data og skriving av rapport gjøres i løpet av sommeren. Et første utkast til rapport diskuteres med MEDimport, og eventuelle endringer og tilføyelser gjøres før utprøvningsoppdraget er ferdig.

Instrument og forbruksvarer ble overlevert dagen etter planleggingsmøtet, og Kjell Myrseth ga opplæring i bruken av ProTime. Detaljert protokoll for utprøvingen ble skrevet og godkjent i april, og kontrakt om utprøvingen ble undertegnet 17. april.

## Analysemetodene

### **ProTime®**

ProTime® Mikrokoagulasjon System er et bærbart og batteridrevet instrument med engangskyvetter for kvantitativ bestemmelse av protrombintid (PT) i kapillærblod. Systemet er tenkt brukt av profesjonelle utøvere i overvåkingen av pasienter på antikoagulasjonsbehandling, men også til egenmåling av pasientene selv.

Cirka 65 µl kapillærblod fylles i en oppsamlingstrakt. Første spor av blod fra kapillærsticket skal ikke brukes. ProTime® trekker et nøyaktig volum blod inn i mikrokapillærene i kyvetten.

Kapillærene inneholder buffer, stabilisatorer og et tromboplastin med ISI-verdi på ca. 1. Et sett av fotoceller overvåker blodets bevegelse gjennom en innsnevring i kapillærene. Blodet pumpes frem og tilbake inntil koagelet begynner å formes. Klottet tetter kanalene og nedsetter blodets frie flyt. ProTime® detekterer koagelet når blodets bevegelse synker under en forhåndsdefinert grense. Metoden er basert på Quick og er følsom for koagulasjonsfaktorene II, V, VII, X og fibrinogen (I). Metoden er også følsom for heparin.

Instrument og kyvetter er prekalibrert, og ISI-verdi og normaltid (MNPT) er satt. Dokumentert måleområde er fra 1,0 til 7,0 INR, men ProTime® beregner INR-verdier opp til 10 INR. Verdier fra 7,0 – 10,0 INR markeres med en stjerne.

Hver ProTime-kyvette inneholder tre testkanaler for analysering av pasientens PT og to kanaler med innebygget reagenskontroll. I kontrollkanalene finnes tromboplastin, rensed plasma-ekstrakt av koagulasjonsfaktorer på to nivå og biologiske antikoagulanter. Reagensene i de fem kanalene løses opp av blodprøven. Det innebyggede kontrollsystemet i ProTime er således en funksjon både av PT-INR i prøven og nivået av koagulasjonsfaktorer i de to kontrollkanalene. Et sett forhåndsdefinerte kvalitetskriterier overvåker forholdet mellom resultatet fra kontroll I og II, og forholdet mellom hvert kontrollresultat og prøvens PT-verdi. Det innebyggede kontrollsystemet indikerer tilfredsstillende prøvetaking, riktig testprosedyre og sikrer testpålitelighet og funksjon. Det oppgis ikke verdier på disse kontrollene, men systemet skal gi feilmelding hvis kriteriene for instrument og reagens ikke oppfylles.

Som et supplement til den innebyggede kontrollen finnes en fullblodskontroll til bruk på ProTime-systemet. Kontrollen gir en avlesning av verdiene på de to innebygde kontrollene.

### **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 faktorene II, VII og X, og den er ufølsom for heparin. 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 november, gjøres utprøvingen i to trinn. I første omgang sammenlignes ProTime med en EQUALIS-kalibrert "referansemetode". Pasientmaterialet som inngår i utprøvingen er frosset ned i minus 80 graders frys. Høsten 2000 vil SKUP/ DSH samkjøre EQUALIS og ECAA-kalibratorene. Basert på resultatene av denne samkjøringen blir det skrevet en tilleggsrapport.

## 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. Det ble tatt prøver av 78 + 21 pasienter på DSH, og av 40 pasienter på hvert legekantor.

### *Prøvetaking på DSH*

Prosedyren for prøvetakingen på DSH ble standardisert og tilpasset en utprøving av flere ulike instrumenter parallelt. Før prøvetaking satt alle pasientene rolig i minst 15 minutter. Pasientenes fingre ble varmet opp i en varmepose for å bedre blod-gjennomstrømningen.

På ProTime analyseres protrombintid på kapillærblod og det er andre bloddråpe som skal benyttes. Kapillærprøven samles i en oppsamlingstrakt innen to minutter fra innstikk. Sammen med oppsamlingstrakten følger Tenderlett lansett som gir et "snilt" stikk. For å sikre tilstrekkelig blødning ble Safety Lancet med stikkedybde 2,25 mm benyttet i utprøvingen på DSH. Først ble første kapillærprøve tatt. Deretter ble venepreven til "referansemetoden" tatt med moderat stase fra samme side (høyre/venstre) som den kapillære prøven ble tatt. 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 andre prøver var rekvirert i tillegg til PT-INR, ble prøveglasset til koagulasjon tatt som glass 2 eller 3. Til slutt ble andre kapillærprøve tatt fra motsatt side (den siden som ikke hadde stase). Total prøvetakingstid var under 15 minutter.

### *Prosedyre for prøvetaking til ProTime*

Utprøvingen av ProTime ble gjort parallelt med en utprøving av fire andre instrumenter. I instruksjonen om prøvetaking til ProTime står det beskrevet at første spor av blod skal tørkes bort. På planleggingsmøtet i mars ble det derfor enighet om at oppsamlingen av blod til ProTime kunne gjøres etter at blod var blitt applisert på et av de andre instrumentene. Det viste seg i praksis at denne prøvetakingsprosedyren ikke var ideel. ProTime trenger forholdsvis mye blod (65µl), og når blodet er samlet i oppsamlingstrakten trekkes det inn til testkyvetten gjennom et vinklet kapillærrør. I en del tilfeller ble det problemer med å få fylt oppsamlingstrakten tilstrekkelig, og noen målinger gikk tapt fordi blodet ikke ble trukket ordentlig inn fra trakten til kyvetten. I tillegg ble det stor forskjell mellom en del paralleller. Prosedyren for prøvetaking til ProTime som ble fulgt på DSH, medførte at presisjonen ble dårligere under kontrollerte betingelser enn på de to legekantorene. Det må likevel bemerkes at ingen av målingene på ProTime ble varslet som upålitelig fra det innebygde kontrollsystemet.

Etter at hovedutprøvingen var i havn, ble det på bakgrunn av problemene med prøvetakingen tatt 20 nye dobbeltprøver til ProTime. Første spor av blod ble tørket vekk, og deretter ble oppsamlingstrakten fylt umiddelbart. Dette forsøket ble gjort med en annen batch av kyvetter enn den som inngikk i hovedutprøvingen. Til denne batchen fulgte en modifisert utgave av oppsamlingstrakten (se avsnittet om produktopplysning).

### *Prøvebehandling på DSH*

Kapillærprøvene ble analysert umiddelbart på ProTime. Citratprøvene ble blandet forsiktig umiddelbart etter prøvetaking ved å vende dem tre til fire ganger. Prøvene ble sentrifugert i 15 minutter ved 2500 g og analysert i duplikat på "referansemetoden". Plasma ble overført til et rør

av ikke-aktiverende materiale vha. en plastikkpipette innen to timer fra prøvetaking. Rørene ble korket og frosset ned i minus 80 graders frys til nye forsøk senere (bl.a. samkjøring med "Poller-kalibratører").

#### *Prøvetaking og prøvebehandling på legekantorene*

Utprøvingen skulle avspeile hverdagen på legekantoret, og medarbeiderne skulle følge legekantorets vanlige rutiner. Prøvetaking ble utført etter generelle retningslinjer og i følge den opplæring de fikk av leverandør i forkant av utprøvingen. På legekantoret ble det ikke benyttet varmepose for oppvarming av pasientens fingre. Kapillærstikkene ble foretatt med Tenderlett Plus, som følger med oppsamlingsstrakten. Det ble ikke tatt venøse prøver for sammenligning med "referansem metode" på de to legekantorene.

#### *Antall prøver i de analytiske forsøk på DSH*

Det ble tatt prøver til ProTime av 78 pasienter i hovedutprøvingen og av 21 pasienter i tilleggsutprøvingen (totalt 99 pasienter). Av disse prøvene finnes 62 + 20 duplikatresultater. Av de 20 duplikatene utgår en som slenger (for stor forskjell mellom parallellene). Totalt antall duplikater er 81.

I tillegg til duplikatmålingene finnes det 10 + 1 enkeltresultat. På 6 av pasientprøvene finnes det ikke resultater fra ProTime.

Til beregning av presisjon benyttes de 19 duplikatmålingene fra tilleggsutprøvingen.

81 duplikatmålinger inngår i spredningsdiagrammet og ved beregning av metodeavvik.

Alle prøver med enkeltresultat, totalt 92 prøver, inngår i differanseplottet.

#### *Batch-til-batch variasjon*

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

Denne utprøvingen er utført på *en* produksjonsbatch av testkyvetter med reagens. Resultatene fra utprøvingen gjelder kun for denne batchen. Batch-til-batch variasjon er ikke undersøkt. Fordi kontrollmaterialet til ProTime viser vesentlig dårligere presisjon enn pasientprøvene kan det bli et problem å avsløre eventuelle kvalitetsforskjeller på ulike batcher vha. kontrollmaterialet.



**Produktinformasjon**

Under utprøvingen har følgende utstyr og forbruksvarer vært benyttet:

**ProTime**

Serienummer, instrument: P-2841 (DSH) og P-2853 (Skolegaten). Serienummeret for ProTime-instrumentet som ble brukt på Helsehuset mangler.

Testkassetter: lot nr. L9PWC 151, utløpsdato september 2000 (legekontorene)

lot nr. M9KWC 164, utløpsdato oktober 2000 (DSH)

Tenderlett lansett med oppsamlingstrakt, lot nr. NS950\* og TJ002.

PT Whole Blood Control BOKWT002 (DSH)

Opplysninger om pris fåes ved henvendelse til leverandør.

**”Referansemetoden”**

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

SPA-reagens lot. nr. 992791

Scandinorm lot. nr. 992075, med oppgitt verdi 0,96 INR

Scandipath lot. nr. 992102, med oppgitt verdi 2,74 INR

1,5 ml kryorør for koagulasjon fra Tamro, SCT-150-C (til senere forsøk)

**\* Kommentar:**

Oppsamlingstrakten som ble benyttet under utprøvingen hadde fasong som et hvitvinsglass; et høyt smalt glass med lang, tynn stett. Blodet fylles i glasset og passerer gjennom stetten og inn på testkortet. Det dannet seg lett luftbobler nede i stetten, noe som medførte at blodet ikke ble trukket skikkelig inn på testbrikken.

Det var ”ny design” på oppsamlingstrakten (lot nr. TJ002) som ble benyttet til ekstrarforsøket på ProTime (utført etter at hovedutprøvingen var avsluttet). ”Vinglasset” var lavere, og stetten var borte. Dette forenkler blodets passasje inn til testkortet.

## 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), 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 protrombintid-analysen ikke overstige 6%, hvis det i tillegg skal være rom for et systematisk avvik på opp til 5%.

## Resultater

### *Intern kvalitetskontroll ProTime*

De to legekantorene har hatt problemer med å gjennomføre den interne kvalitetskontrollen på ProTime. På grunn av en misforståelse ble kontrollene først levert etter at utprøvingen hadde startet. I tillegg kommenterer begge legekantorene at kontrollen er komplisert og tidkrevende å utføre. På grunn av dette er det få kontrollresultater fra legekantorene. Resultater fra intern kvalitetskontroll er vist i tabell 1. Rådata, vedlegg 1.

Tabell 1. Resultater, PT Whole Blood Control

PT Whole Blood Control Oppgitt verdi med tillatt range	Analysested	INR Gjennomsnittsverdi	CV% med 95% konfidensintervall	n
Level I 1,10 (0,79 – 1,41)	DSH	0,97	14,8 (10,7 – 23,9)	14
Level II 3,71 (2,67 – 4,75)	DSH	4,09	18,3 (13,0 – 31,1)	12
	Legekantor A	x		0
Level I 1,01 (0,73 – 1,29)	Legekantor B	1,08	15,2 (9,5 – 37,5)	6
Level II 3,73 (2,69 – 4,77)	Legekantor B	3,16	*	4

x forsinket levering av kontrollene, hadde problemer med analyseringen av dem.

\* CV blir ikke regnet ut pga. få data.

### *Vurdering*

Variasjonen på kontrollresultatene er 3 ganger større enn variasjonen på pasientprøvene og vil derfor kun avsløre større endringer i analysekvalitet.

### *Presisjon*

#### *Utprøving under kontrollerte forsøksbetingelser*

Det er gjort to presisjonsforsøk under kontrollerte forsøksbetingelser. Det ble først tatt kapillære prøver av 78 pasienter (to stikk per pasient). Disse prøvene er fellesprøver i parallellutprøvingen av fem instrumenter. Fordi det er andre bloddråpe som skal benyttes på ProTime, ble oppsamlingstrakten først fylt etter at blod var blitt applisert på teststimmelen til et av de andre forsøksinstrumentene. I ettertid ble det klart at dette ga uheldige forsøksbetingelser for ProTime. I noen tilfeller var det problemer med å fylle oppsamlingskoppen med tilstrekkelig blod (65µl), og noen ganger trakk den oppsamlede blodmengden ikke inn i instrumentet. Dette medførte at en del målinger gikk tapt. Presisjonen ble dårligere enn det som var oppnådd på de to legekantorene. Dette tyder på at prøvetakingssituasjonen under kontrollerte betingelser ikke var optimal for ProTime. Det må likevel bemerkes at ProTimes innebygde kontrollsystem ”godkjente” alle foreliggende analyseresultat.

På bakgrunn av dette ble det utført et nytt presisjonsforsøk med 21 kapillære prøver som kun ble analysert på ProTime. Prøvene ble analysert i duplikat. En av disse prøvene utgår fordi den mangler duplikatmåling. Av de 20 duplikatmålingene viste en prøve meget stor forskjell på de to parallellene (2,6 og 7,8 INR). Prøvetaking og oppsamling av blod til disse to målingene var problemfri, og begge resultatene ”passerte” ProTimes innebygde kontrollsystem. Denne prøven ekskluderes som en statistisk slenger og inngår ikke i beregningen av ”ny” presisjon. Innen-serie presisjon ble beregnet fra 19 kapillære pasientprøver målt i duplikat. INR-verdiene ble gruppert i 2 nivå, og beregningene ble gjort på hvert nivå. Presisjonen ble også beregnet for alle data samlet.

Resultatene fra det nye presisjonsforsøket er vist i tabell 2.  
 Rådata, 78 pasientprøver i hovedutprøvingen, vedlegg 2.  
 Rådata, 21 pasientprøver i det nye presisjonsforsøket, vedlegg 4.

Tabell 2. Presisjon på ProTime. Resultater fra klinisk kjemisk laboratorium.

Nivå INR Gjennomsnitt (range)	SD	CV % innen-serie med 95% konfidensintervall	n
1,6 (0,9 – 2,6)	0,091	5,7 (3,8 – 10,9)	9
3,0 (2,7 – 4,6)	0,166	5,5 (3,7 – 9,9)	10
2,3 (alle data samlet)	0,135	5,9* (4,3 – 8,5)	19

\* har størst %-vis variasjon, men nivå 2 har størst standardavvik.

#### *Utprøving på to legekantor i primærhelsetjenesten*

Innen-serie-presisjonen er beregnet etter at 40 kapillærprøver er målt i duplikat (to stikk per pasient) på hvert legekantor. INR-verdiene ble gruppert i to nivå etter følgende kriterier: omtrent like nivå på de to legekantorene og noenlunde likt antall prøver i hver gruppe (likt nivå ble prioritert). Beregning av presisjon ble gjort på hvert nivå og for alle data samlet. Det ble ikke påvist slengere i datamaterialet.

Resultatene er vist i tabell 3.

Rådata, pasientprøver, vedlegg 3.

Tabell 3. Presisjon på ProTime, pasientprøver. Resultater fra to legekantor (A og B).

Nivå INR Gjennomsnitt (range)	Legekantor	CV % innen-serie med 95% konfidensintervall	n
2,1 (1,3 – 2,5)	A	4,3 (3,3 – 6,2)	21
3,1 (2,5 – 5,0)	A	7,1 (5,4 – 10,5)	19
Alle data samlet	A	6,4 (5,3 – 8,2)	40
2,1 (1,6 – 2,4)	B	9,2 (6,7 – 14,8)	14
3,3 (2,5 – 6,9)	B	4,4 (3,5 – 6,1)	26
Alle data samlet	B	5,7 (4,7 – 8,0)	40

#### *Vurdering*

Metoder for måling av PT-INR på sykehus og i primærhelsetjenesten bør ha en analytisk upresisshet som ikke overstiger 6%. Dette kravet er oppfylt under kontrollerte forsøksbetingelser. De to legekantorene oppfyller nesten kravet. På legekantor A er variasjonen for alle data samlet i overkant av 6%. Det er ikke signifikant forskjell mellom variasjonen på lavt og høyt PT-nivå på dette legekantoret. Legekantor B får for høy CV på lavt PT-nivå, og variasjonen på lavt nivå er signifikant høyere enn variasjonen på høyt nivå.

## 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 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 kvalitetskontroll 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 pasientprøvene som inngikk i utprøvingen. Dag-til-dag presisjonen var 2% på nivå INR = 1 og 3,8% på nivå INR = 2,7, beregnet på bakgrunn av resultatene fra intern kvalitetskontroll. Resultatene fra intern og ekstern kvalitetskontroll var tilfredsstillende under hele utprøvingen.

### 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 tilsammen fem 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 velvilligst 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 landsgjennomsnitt 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 ubetydelig. PT-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 under vurdering av spredningsdiagram og differanseplott i sammenligningen av ProTime og ”referansemetoden”.

### Korrelasjon under kontrollerte forsøksbetingelser

Sammenligningen av ProTime med referansemetoden ble gjort med tilsammen 92 kapillære prøver. Av disse er 81 prøver målt i duplikat og inngår i spredningsdiagram og beregning av metodeavvik. 11 prøver har kun enkeltresultat. Alle prøver med enkeltresultat, totalt 92 prøver, inngår i differanseplottet. Referansemålingene er utført i citratplasma.

I enkel lineær regresjonen ble punkt med residual utenfor  $0 \pm 3,41 \cdot SD_{\text{residual}}$  definert som slengere. Faktoren 3,41 er avhengig av signifikansnivå for testen og antall prøver som inngår i regresjonen. Her er nivå 5%, antall prøver er 81. Det ble ikke påvist slengere i datasettet.

### Spredningsdiagram

I spredningsdiagrammet er gjennomsnittet av duplikatmålingene på ProTime på DSH (y-aksen) sammenlignet med gjennomsnittet av duplikatmålingene på StaCom (x-aksen). Å benytte duplikatmålinger også på y-aksen, reduserer upresisheten og gir et bedre anslag av metodens riktighet og eventuelle metodeforskjeller.

### Differanseplott

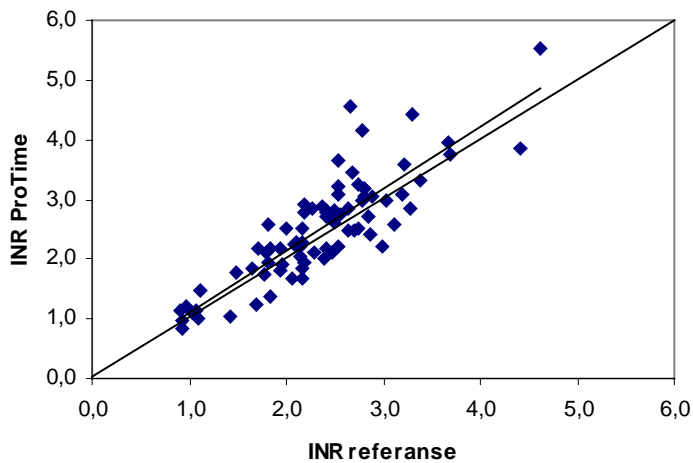
Differanseplottet er tegnet med gjennomsnittet av duplikatmålingene fra referansemetoden på x-aksen. Med ProTimes 1. måling minus gjennomsnittet av duplikatmålingene på ”referansemetoden” på y-aksen, avspeiler dette ProTime-resultatenes totale målefeil (både tilfeldige og systematiske avvik).

Grensene i differanseplottet er basert på de to metodenes presisjon. Pga. usikre data for dag-til-dag presisjon på ProTime (prøvematerialet er ikke holdbart, og det er få resultater fra intern kvalitetskontroll) er innen-serie presisjon for ProTime benyttet til beregningen. Denne er vanligvis noe bedre enn dag-til-dag variasjonen. Toleransegrenser (95%) for den prosentvise differansen mellom metodene settes derfor noe videre enn det som beregnes ut fra ProTimes presisjon.  $CV_{\text{innen-serie}}$  er ca. 6% på ProTime. Dag-til-dag presisjonen på referansemetoden er mellom 2 og 4%. Beregnet CV for differansen mellom de to metodene er ca. 6,7%. Dette gir toleransegrenser i overkant av  $\pm 13\%$ . Det forventes at 95% av punktene skal falle innenfor disse grensene hvis det ikke er systematiske avvik mellom metodene.

I differanseplottet er toleransegrenser på  $\pm 15\%$  inntegnet. Dette gir rom for at dag-til-dag variasjonen på ProTime antas å være noe høyere enn den benyttede innen-serie CV. Disse grensene er samtidig sammenfallende med grensen for totalt avvik som benyttes av NOKLUS/NKK i bedømmelsen av resultater på ekstern kvalitetskontroll.

### Resultater

Resultatene av sammenligningen mellom ProTime og referansemålingene er fremstilt i et spredningsdiagram, figur 1, og i to differanseplott, figur 2 og 3. I figur 1 og 2 vises alle resultat (hovedutprøving + ”nye” resultat), og i figur 3 fremstilles korrelasjonen med de 19 ”nye” prøvene i et differanseplott. I figur 3 er referanseverdiene justert opp med 0,1 INR enheter på bakgrunn av resultatene fra ekstern kvalitetskontroll. Resultatene fra enkel lineær regresjon er samlet i tabell 5, og avvik mellom metodene er vist i tabell 6.



Figur 1. Spredningsdiagram med trendlinje og ideel linje. ”Alle” resultater. n=81.

Tabell 5. Lineær regresjon

Regresjonsligning: $y = 1,04x + 0,06$ Determinasjonskoeffisient; $R^2$ : 0,73 Standardfeil SEy/x: 0,46 Antall observasjoner: 81 Antall slengere: 0 Usikkerhet ved beregnet vinkelkoeffisient, SEa: 0,07 Usikkerhet ved beregnet intercept, SEb: 0,17 95% konfidensintervall for vinkelkoeffisienten: 0,90 – 1,18; vinkelkoeffisient a er ikke signifikant $\neq 1$ 95% konfidensintervall for skjæringspunktet: -0,28 – 0,41; skjæringspunkt b er ikke signifikant $\neq 0$
---

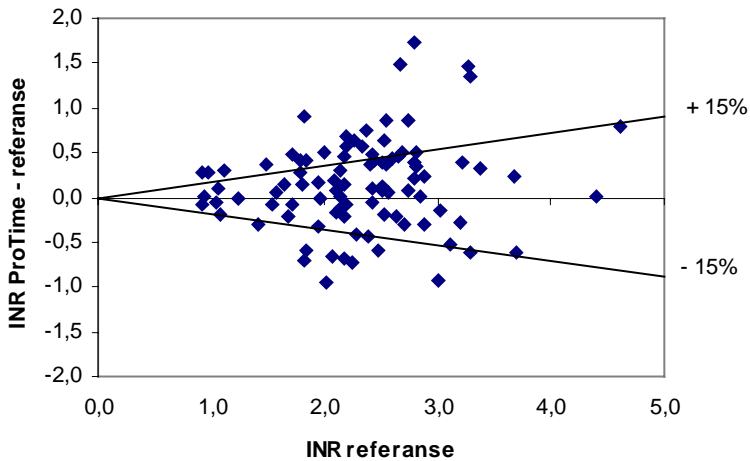
Tabell 6. Avvik (bias) mellom metodene.

INR Nivå	ProTime – referanse Gjennomsnittsdifferanse med 95 % konfidensintervall	SD for differansene	Antall differanser
1,8 (0,9 – 2,3)	0,10 (-0,005 – 0,205)	0,324	39
2,9 (2,4 – 4,6)	0,21 (0,04 – 0,38)	0,542	42

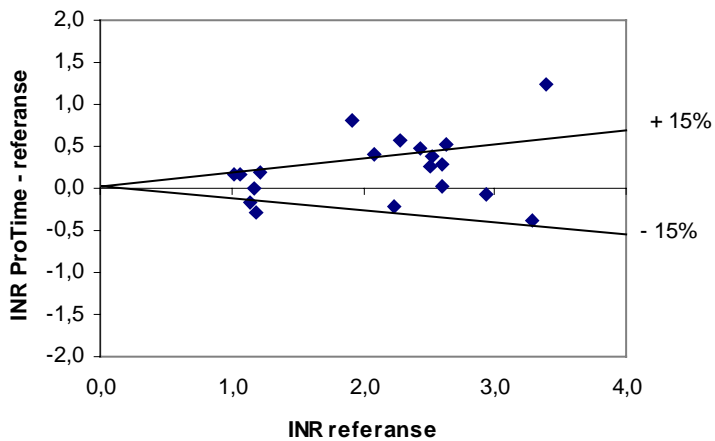
### Vurdering

Resultatene på ProTime viser ikke systematisk avvik fra referansemetoden. De små metodeforskjellene som er beregnet i tabell 6 bortfaller hvis referansemetoden justeres opp 0,1 INR enheter på bakgrunn av resultatene av ekstern kvalitetskontroll.

Spredningen av punktene er i største laget, og determinasjonskoeffisienten  $R^2$  (som uttrykker lineær sammenheng) er lav. Dette skyldes høyst sannsynlig delvis prosedyren for prøvetaking til ProTime i hovedutprøvingen. De 62 prøvene fra hovedutprøvingen har dårligere presisjon enn de 19 ”nye” prøvene.



Figur 2. Differanseplott med resultatene fra duplikatmålinger på StaCom på x-aksen, og forskjellen mellom enkeltmålinger på ProTime og referansen på y-aksen. "Alle" resultater. n= 92.



Figur 3. Differanseplott med justerte resultater fra duplikatmålinger på StaCom på x-aksen, og forskjellen mellom enkeltmålinger på ProTime og justert referanse på y-aksen. "Nye" resultater. n= 20.

### Vurdering

Resultatene på ProTime viser ikke systematisk forskjell fra referansemålingene (figur 2). Punktene er jevnt fordelt rundt null-linjen, med unntak av fire resultater som gir over 1 INR-enhet mer på ProTime enn på referansen. Punkt med stort avvik vil bli vurdert nærmere i neste avsnitt, der eventuelle forskjeller mellom Quick-baserte metoder og referansemetoden vil bli belyst.

Halvparten av resultatene i figur 2 faller utenfor grensen på  $\pm 15\%$ . Dette skyldes høyst sannsynlig at 62 resultater i dette plottet har dårligere presisjon (fra hovedforsøket) enn det grensene ble beregnet etter. Tolkningen av differanseplottet (figur 2) vil ikke bli annerledes om verdiene på referansemetoden justeres opp 0,1 INR-enheter på bakgrunn av resultatene fra ekstern kvalitetskontroll (se tabell 4 med vurdering). Justeres null-linjen faller noen flere punkter innefor + 15% grensen, samtidig som noen flere punkter faller utenfor – 15% grensen.

Det er få resultater i figur 3, og plottet må derfor vurderes med forsiktighet. Referanseverdiene ble justert opp 0,1 INR enheter i dette plottet for å gjøre tolkingen av plottet så korrekt som mulig. Resultatene i figur 3 følger samme tendens som i figur 2.



### Vurdering av metodeforskjeller

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

Protrombintid-metoden på ProTime er en modifisert utgave av Quicks metode. Den er følsom for faktorene II, V, VII, X og fibrinogen (faktor I). Den opprinnelige Quick-metoden benytter en prøvfortynning på 1:3, mens blodet på ProTime trekkes ufortynnet inn i reagenskassetten.

På bakgrunn av metodeforskjellene kan det forventes forskjell på INR-verdi på enkeltprøver analysert på "referansemetoden" og på ProTime.

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

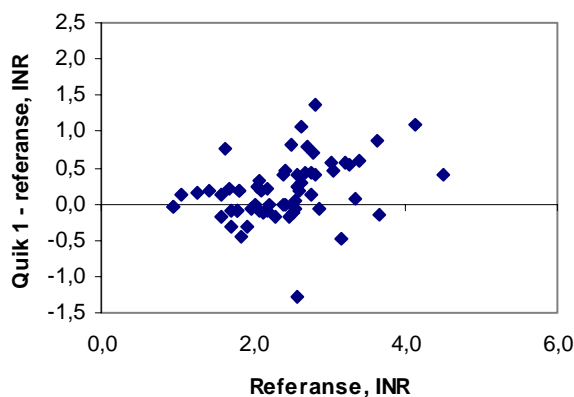
Alle avvik  $> 0,5$  INR-enheter mellom referansemålingene og de fire "Quick-instrumentene" er vurdert. Kun *en prøve* av totalt 71 viser et felles avvik  $> 0,5$  INR, dvs. at alle fire "Quick-instrumentene" avviker i samme retning i forhold til referansemålingen. På denne prøven gir alle de fire "Quick-instrumentene" høyere PT-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 medikamentbruk uten at dette ga en forklaring på avviket.

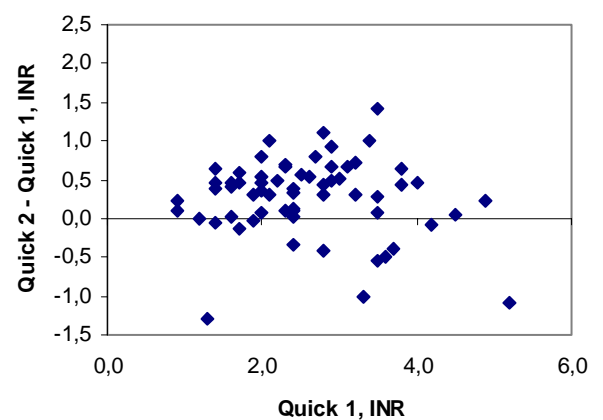
Hvis avvik  $> 0,4$  INR vurderes på samme måte, har 2 av 71 prøver felles avvik.

De eventuelle metodeforskjellene kan illustreres grafisk. Hvis de observerte avvikene hovedsaklig skyldes forskjeller mellom de Quick-baserte metodene og en Owren-basert referansemetode, vil en sammenligning av resultatene fra et "Quick-instrument" mot et annet "Quick-instrument" utligne disse forskjellene, forutsatt noenlunde lik upresisitet på metodene som sammenlignes.

I figur 4 vises differansen mellom et av de nye "Quick-instrumentene" (her kalt Quick 1) og referansemetoden, og i figur 5 vises differansen mellom et annet Quick-instrument (her kalt Quick 2) og Quick 1.



Figur 4. Differanseplott, Quick mot "referansemetode".



Figur 5. 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 en annen metode basert på Owren sammenlignes med referansemetoden (ikke vist her).

De største avvikene mellom ProTime 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.:

- metodenes upresisjon
- prøvetaking og prøvetakingsteknikker
- prøvebehandling
- prøvematerialet (kapillært fullblod, plasma)
- matrix-effekter, ulik prøvefortynning og EVF
- pasient-til-pasient forskjeller (medikamenter, koagulasjonshemmere, andre koagulasjonsfaktorer)
- metode- og reagensforskjeller (både "Quick/Owren", "Quick/Quick" og "Owren/Owren")

## Evaluering av brukervennlighet

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 utprøvingeboken. Det var ingen feil eller problemer med instrumentene i utprøvsperioden. De viktigste kommentarene er oppsummert her:

### *Utprøving på klinisk kjemisk laboratorium*

Positive kommentarer:

- Mulig med visuell sjekk av testkassett etter at målingen er utført
- Enkelt vedlikehold

Negative kommentarer:

- Stort blodvolum, vanskelig prøvetaking
- Søl i forbindelse med prøvetaking
- Manualen er ikke god nok (ikke oversiktlig, mangelfull, noe er direkte feil)
- Tungvint prosedyre for intern kvalitetskontroll (PT Whole Blood Control), og kontrollresultatene viste for stor variasjon

### *Utprøving på to legekantor*

Førsteintrykk:

- Instrumentet er lite og hendig
- Instrumentet er lett å ta i bruk
- Få feilkilder
- Litt problemer med prøvetaking hvis pasienten har hard fingerhud eller kalde hender
- Det kan være vanskelig å få kapillærblod av eldre pasienter
- Det er tungvint at prøvetaker må ”passe instrumentet” til svaret foreligger

Positive kommentarer:

- God opplæring fra leverandør
- God brukerhåndbok
- Instrumentet er enkelt og greit å betjene
- Få feilkilder
- Ikke vedlikehold (bortsett fra å tørke vekk evt. søl) og ingen kalibrering
- Slipper å blande reagenser på forhånd
- Pasienten kan doseres med en gang

Negative kommentarer:

- Kan kun brukes til kapillærblod
- Prøvetakingen kan være vanskelig
- Det kan bli søl i forbindelse med prøvetakingen
- Prøvetaking og analysering er tidkrevende
- Kvalitetskontrollen som hører til var komplisert (mange trinn, flere ”reagenser”)
- Kvalitetskontrollen var tidkrevende å utføre