

HbA1c på DCA 2000 fra Bayer AS

Rapport SKUP/1999/4

Innholdsfortegnelse

Sammendrag	2
Planlegging	4
Analysemetodene	5
<i>HbA1c på DCA 2000</i>	
<i>Tina-quant</i>	
Gjennomføring	6
<i>Prøvetaking</i>	
<i>Utvelgelse av pasienter</i>	
<i>Innsamling av prøvemateriale</i>	
<i>Utprøving på legekantor</i>	
<i>Produktinformasjon</i>	
Resultater	7
<i>Presisjon</i>	7
<i>Riktighet</i>	8
<i>Korrigerer for total Hb</i>	16
Evaluerer av brukervennlighet	17
Vedlegg	18
<i>Kommentarer fra Bayer AS</i>	

Sammendrag

Bakgrunn

DCA 2000 HbA1c er en kompakt immunoassay analysator for måling av HbA1c i humant fullblod. Det kan benyttes både kapillærblod og venøst blod, med eller uten antikoagulant (EDTA og heparin). Det trengs 1 µl blod til analysen, og svaret foreligger etter 6 minutter. Måleområdet er 2,5 – 14 % HbA1c.

Formål

- Teste presisjonen på DCA 2000 HbA1c 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 HbA1c-metode.
- Undersøke om HbA1c-resultatet er avhengig av konsentrasjonen av total hemoglobin.
- Evaluere systemet med hensyn til brukervennlighet og pålitelighet.

Metode

HbA1c-metoden på DCA 2000 er basert på hemming av en latex immunoagglutinasjon. HbA1c måles ved hjelp av et spesifikt, monoklonalt antistoff, og verdiene tilsvarer DCCT-nivå. Referansemålingene ble utført på Hitachi 917 fra Boehringer, med en Boehringer metode (kalt Tina-quant) og BM kalibratorer. Fra høsten –98 samsvarer HbA1c-verdier fra Boehringer-metoden med DCCT-nivå.

Innen-serie presisjon ble bestemt vha. 100 venøse prøver analysert i duplikat under kontrollerte forsøksbetingelser på Fürst Medisinsk Laboratorium. Prøvene ble reanalysert etter ett døgn for beregning av dag-til-dag presisjon. Målingenes riktighet ble bestemt ved sammenligning med en referansemåling. Ved avvik > 1,5 % HbA1c mellom metodene ble blodprøvene frosset ned for senere analyse av Hb-varianter. Total Hb i prøvene ble målt på Coulter STKS.

Innen-serie presisjon og riktighet ble også undersøkt på to legekontor, vha. ca. 40 venøse prøver på hvert sted.

Alle målinger på DCA 2000 ble utført med samme lot-nummer av test-kassetter. De tre DCA 2000 instrumentene var samkjørt hos Bayer før utprøvingen startet.

De tre utprøvsstedene fikk tilsendt ekstern kvalitetskontroll fra NOKLUS 08.03.99. Disse kontrollene er fasitbestemt hos dr. Cas Weykamp (Queen Beatrix hospital, Nederland), koordinator for European Reference Laboratory for glycohemoglobin (ERL).

Resultat

Under kontrollerte forsøksbetingelser er presisjonen (CV) innen-serie og fra dag-til-dag ca. 2%. Resultatet tilfredsstillende et krav om at analytisk upresisitet skal være $< \frac{1}{2} CV_{\text{intraindividuell}}$. For verdier av HbA1c < 6% gir DCA 2000 for lave verdier i forhold til referansemålingene. Avviket fra referansemålingene er mer enn 6%. For HbA1c-verdier > 7% ligger DCA 2000 systematisk høyere enn Tina-quant metoden. I dette området er forskjellen mellom metodene er konstant.

På de to legekantorene er presisjonen innen-serie mellom 2,5 og 4%. Sammenligningen med referansemålingene gir samme resultat som på Fürst.

Evaluering av brukervennlighet

DCA 2000 er greit å betjene. Analysen utføres med kun 1 µl blod. Instrumentet er hygienisk å arbeide med, og det har få feilkilder. Manualen er grei å slå opp i, og vedlikehold og feilsøking er godt forklart. Folien som skal trekkes av på reagenskassetten før analysering kan enkelte ganger være hard å dra av. Det finnes kontrollmateriale på normalt og abnormalt HbA1c-nivå til intern kvalitetskontroll. Det var ingen tekniske problemer i utprøvningsperioden.

Konklusjon

DCA 2000 egner seg til desentralisert testing av HbA1c. Utført av trent laboratoriepersonale, har metoden en presisjon som tilfredsstillende analytiske mål for HbA1c-analysen. For HbA1c-verdier < 6%, gir DCA 2000 for lave verdier i forhold til Tina-quant metoden. I området > 7% HbA1c ligger DCA 2000 systematisk høyere enn referansemålingene. Ca 1/3 av disse resultatene faller utenfor en avviksgrense på 6%.

Planlegging

I februar 1999 ble Bayer orientert om en forestående utprøving av HbA1c i regi av SKUP. Bayer var interessert i at HbA1c-metoden på DCA 2000 også skulle være med i utprøvingen, og SKUP påtok seg dette oppdraget. 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 i tillegg en mindre utprøving på minst ett legekantor. I samarbeid med Bayer, ble også tilleggsundersøkelser for problemstillinger som er spesifikke for HbA1c vurdert. Det var ønskelig at utprøvingen skulle omfatte følgende:

Utført på klinisk kjemisk laboratorium

Innen-serie presisjon
Dag-til-dag presisjon
Korrelasjon
HbA1c i forhold til total Hb
Evaluering av brukervennlighet og pålitelighet

Utført på to legekantor

Innen-serie presisjon
Korrelasjon
Evaluering av brukervennlighet og
Pålitelighet

Torstein Myhre, Bayer, og Grete Monsen, SKUP, møttes i Bergen 8. februar for å planlegge utprøvingen. På møtet ble vi enige om følgende:

Sverre Sandberg og Grete Monsen har ansvaret for utprøvingen. Hovedutprøvingen utføres av Hilde Myrvold på Fürst medisinsk Laboratorium. Pål Rustad er rådgiver på statistiske spørsmål. Lise Ørbeck, Fürst med. Laboratorium, peker ut to legekantor som kan delta i utprøvingen. Lise veileder legekantorene og tilrettelegger arbeidet for dem. Bayer besøker laboratoriene som skal delta i utprøvingen i februar/mars, leverer ut instrument og forbruksvarer, og gir opplæring i bruken av DCA 2000.

Det praktiske arbeidet med utprøvingen skal foregå i perioden mars – april, og bearbeiding av data og skriving av rapport gjøres etter påske. Rapporten diskuteres med Bayer, og eventuelle endringer og tilføyelser gjøres før utprøvingsoppdraget er ferdig.

Detaljert protokoll for utprøvingen ble skrevet 9. februar, og kontrakt om utprøvingen ble undertegnet.

Utprøvingen i primærhelsetjenesten gjøres på Lilletorget legekantor og Brattlikollen legesenter i Oslo. Det arbeider to leger og to legesekretærer på hvert legekantor. Alle fire legesekretærer deltok i utprøvingen. På Lilletorget legekantor var medarbeiderne kjent med DCA 2000 fra før.

Analysemetodene

DCA 2000 HbA1c

DCA 2000 er en kompakt immunoassay analysator. Reagenser til måling av totalhemoglobin og HbA1c ligger i en reagenskasett. Kaliumferricyanid oksyderer hemoglobinet i prøven til methemoglobin, som sammen med thiocyanat danner et farget kompleks. Fargeutviklingen avleses ved 531 nm. Til målingen av HbA1c i prøven benyttes et HbA1c-antistoff og en agglutinator. Antistoffet er et HbA1c-spesifikt, monoklonalt antistoff adsorbent til latex partikler. Agglutinatoren er en syntetisk polymer bundet til HbA1c-hapten, med tallrike kopier av den immunoreaktive delen av HbA1c. HbA1c i prøven fungerer som en agglutinasjonsinhibitor. Agglutinasjonen gir lysspredning som avleses som absorbans ved 531 nm.

DCA 2000 HbA1c-metode har vært sertifisert av National Glycohemoglobin Standardization Program (NGSP) siden desember 1996. Standardiseringen er gjort mot HbA1c i DCCT-studien. Kalibrerings-kurven ble endret f.o.m. lot nr. 0931 108, for å bedre overensstemmelse med DCCT. I følge Bayer gir recalibreringen små forskjeller på lavt nivå, mens prøver med høy verdi av HbA1c blir vesentlig høyere. I utprøvingen er lot nr. 0941 118 brukt.

Referansemetoden

Tina-quant HbA1c er et analysekit for turbidimetrisk betømmelse av HbA1c på Boehringers Hitachi-instrumenter. På Først analyseres HbA1c på Hitachi 917. Metoden er standardisert med Boehringer Mannheim (BM) kalibratorer. Fra 01.09.98 startet Boehringer levering av nye HbA1c-reagenser, med en ny standardisering kalt R-02/DCCT. Etter dette skal HbA1c-verdier fra Tina-quant metoden samsvare med DCCT-nivå.

Analyseprinsipp:

Blodet forhåndshemolyseres. Hemolysatet tilsettes en fosfatbuffer, og det frigjorte hemoglobinet omdannes til et derivat som måles bikromatisk ved 660/570 nm. HbA1c i prøven reagerer med et antistoff mot HbA1c (saueserum) og gir et løselig immunkompleks. Polyhapten binder overskudd av antistoff og dette komplekset agglutinerer. Agglutinatet måles turbidimetrisk ved 700/340 nm.

Gjennomføring

Prøvetaking og innsamling av prøvemateriale

Til utprøvingen på Fürst ble det samlet 100 prøver, både fra Fürsts prøvetakingsstasjoner og blant tilsendte prøver. Prøvene ble plukket ut på bakgrunn av HbA1c-verdi etter vanlig analysering i rutinen på Fürst. Dagen etter rutineanalyseringen inngikk de i utprøvingen. Prøvene var da 2 dager gamle. For å redusere antall pipetteringer fra prøvene, og minske faren for forurensning, ble det valgt prøver der det kun var rekvirert HbA1c. Prøvene var tatt venøst med K₃-EDTA som antikoagulant.

På legekantorene ble prøvene fortrinnsvis tatt av pasienter der det var rekvirert HbA1c. Fürst var behjelpelig med å skaffe noen prøver med høy verdi av HbA1c.

Utprøving på Fürst

Prøvene ble først analysert på ”referansemetoden”. Samme dag ble prøvene analysert i duplikat på DCA 2000 før reanalysering på ”referansemetoden”. Prøvene ble deretter satt til side til neste dag for ny analysering på DCA 2000. Til slutt ble hemoglobin i alle prøvene analysert.

Utprøving på legekantoret

Torstein Myhre, Bayer, besøkte Lilletorget legekantor 23. februar, og Frode Drøpping, Bayer, besøkte Brattlikollen legekantor 26. februar. Lise Ørbech, Fürst med. Laboratorium, var med begge gangene. T. Myhre og F. Drøpping ga opplæring i bruken av DCA 2000. Korrekt bruk av kapillærholderen ble demonstrert. Lise Ørbech instruerte og veiledet medarbeiderne om hvordan arbeidet med utprøvingen skulle foregå, og fulgte opp legekantorene underveis.

Etter at prøvene var analysert på legekantoret, ble de sendt til Fürst og analysert i vanlig rutine der, i de fleste tilfeller neste dag.

Produktinformasjon

Under utprøvingen har følgende utstyr og forbruksvarer vært benyttet:

DCA 2000 HbA1c:

Kit: 0941 118 11/00

Reagenskasett: 0941

Kapillærrør: 119108

Kalibreringskort: 0941

Normal kontroll: 0003N

Abnormal kontroll: 0003A

3 stk. DCA 2000 med serienumre 204250 (Fürst), 200410 (Lilletorget) og 204320 (Brattlikollen). Instrumentene var samkjørt hos Bayer før utprøvingen startet.

Tina-quant metoden:

HbA1c kalibrator og reagens fra Roche: 196966

Precinorm HbA1c PNP: 194962 og 196604 (fra 25.03)

Precinorm HbA1c PPH: 192705

Resultater

Presisjon

Utprøving under kontrollerte forsøksbetingelser. Prøver fra voksne diabetikere

Innen-serie-presisjon ble beregnet fra 96 pasientprøver målt i duplikat. Prøvene ble reanalysert etter et eller to døgn, og dag-til-dag variasjon ble beregnet. HbA1c-verdiene ble gruppert i 3 nivå, og beregningene ble gjort på hvert nivå. Det ble påvist en slenger på nivå 1 i datamaterialet. Slengeren inngår ikke i beregningen av presisjonen.

I hele forsøksperioden lå resultatene fra intern kvalitetskontroll på DCA 2000 innenfor grensene som er oppgitt fra leverandør.

Presisjonsresultatene er vist i tabell 1.

Rådata, pasientprøver, vedlegg I.

Rådata, intern kvalitetskontroll, vedlegg II.

Tabell 1. Presisjon på DCA 2000 HbA1c. Resultater fra Fürst.

Nivå % HbA1c	CV % innen-serie med 95% konfidensintervall	n	CV % dag-til-dag med 95% konfidensintervall	n
5,2	2,4 (1,9 - 3,3)	29	3,2 (2,5 - 4,3)	30
7,7	1,8 (1,4 - 2,4)	32	2,2 (1,8 - 2,9)	32
10,8	2,3 (1,8 - 3,1)	34	1,7 (1,4 - 2,2)	34
(alle data samlet)	2,3 (2,1 - 2,7)	95	2,2 (1,9 - 2,6)	96

Utprøving på to legekantor i primærhelsetjenesten

Innen-serie-presisjonen er beregnet på hvert legekantor fra henholdsvis 41 og 40 pasientprøver målt i duplikat. HbA1c-verdiene ble gruppert i to nivå, og beregningene ble gjort på hvert nivå. Det ble ikke påvist slengere i datamaterialet. Pga. få resultater fra intern kvalitetskontroll, ble det ikke beregnet dag-til-dag variasjon på disse.

Presisjonsresultatene er vist i tabell 2.

Rådata, intern kvalitetskontroll, vedlegg II.

Rådata, pasientprøver, vedlegg III.

Tabell 2. Presisjon på DCA 2000 HbA1c. Resultater fra to legekantor (A og B).

Nivå, % HbA1c	Legekantor	CV % innen-serie med 95% konfidensintervall	n
6,0	A	2,9 (2,2 - 4,2)	20
9,3	A	2,5 (1,9 - 3,6)	21
5,5	B	4,0 (3,1 - 5,7)	23
8,2	B	3,0 (2,2 - 4,6)	17

Vurdering

Et mål for analytisk kvalitet er at en metodes upresisitet bør være mindre enn $\frac{1}{2}$ CV_{intraindividuell}. Biologisk variasjon for HbA1c er 4%. Dette medfører at upresisiteten på en HbA1c-metode bør være mindre enn 2%. Målt under kontrollerte betingelser hos Fürst, er CV_{innen serie} og CV_{dag-til-dag} såvidt i overkant av dette kravet. De to legekantorene har noe høyere variasjon.

Riktighet

Referansemåling

Boehringers Tina-quant metode for måling av HbA1c ble valgt som referansemetode. Metoden er kalibrert til DCCT-nivå. HbA1c på DCA 2000 er også kalibrert til DCCT-nivå. På Fürst med. Laboratorium analyseres HbA1c med Tina-quant metoden på Hitachi 917. Fürst er et akkreditert laboratorium. De garanterer en dag-til-dag presisjon $< 3,6\%$ på HbA1c-analysen.

I utprøvningsperioden var innen-serie-presisjonen på Tina-quant metoden $1,8\%$ (pasientblod) og dag-til-dag variasjonen ca 2% (2 ulike kvalitetskontrollmaterialer). Intern og ekstern kvalitetskontroll var tilfredsstillende under hele utprøvingen.

Ekstern kvalitetskontroll fra NOKLUS ble sendt ut 08.03.99 til primærhelsetjenesten og en del sykehus. Fürst deltar i denne kontrollutsendelsen. Det ble avtalt at det også skulle sendes kontroller til DCA 2000 på Fürst, og til de to legekantorene som deltok i utprøvingen.

Resultatene på NOKLUS-kontrollene er vist i tabell 8.

Korrelasjon vha prøver fra voksne diabetikere. Utprøving under kontrollerte forsøksbetingelser

Korrelasjonen ble gjort med prøver fra 96 voksne diabetikere (av de opprinnelige 98 prøvene utgikk en pga. feilmelding på Hitachi 917, og en fordi resultatet ble $> 14\%$ på DCA 2000).

Gjennomsnittet av duplikatmålingene på DCA 2000 på Fürst ble sammenlignet med gjennomsnittet av duplikatmålingene på Hitachi (Tina-quant). I den lineære regresjonen ble punkt med residual større enn $0 \pm 3,5 \cdot SD_{\text{residual}}$ definert som slengere. Faktoren 3,5 er avhengig av signifikansnivå for testen, og antall prøver som inngår i regresjonen. Her er nivå 5% , antall prøver er 96. Det ble ikke påvist slengere i datasettet.

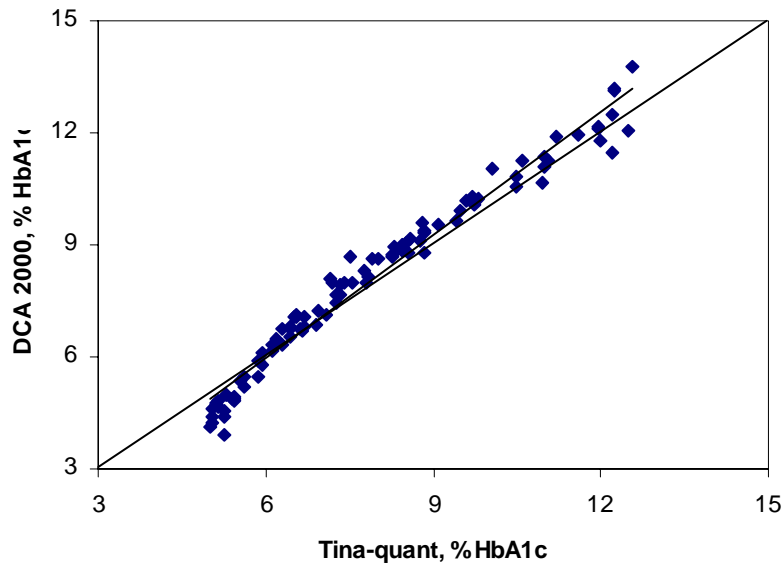
Rådata, vedlegg I.

Resultater

Det ble ikke registrert noen prøver med et avvik $> 1,5\%$ HbA1c. Det ble derfor ikke undersøkt på Hb-varianter i noen av prøvene.

Resultatene av sammenligningen mellom DCA 2000 HbA1c og referansemålingene er fremstilt i et spredningsdiagram, figur 1, og i et differanseplott, figur 2.

Resultatene fra lineær regresjon er samlet i tabell 3, og avvik mellom metodene er vist i tabell 4.



Figur 1. Spredningsdiagram med lineær regresjonslinje og ideel linje. Prøver av 96 diabetikere.

Tabell 3. Lineær regresjon

Regresjonsligning: $y = 1,10x - 0,65$ Determinasjonskoeffisient, R^2 : 0,97 Standardfeil $SE_{y/x}$: 0,440 Antall observasjoner: 96 Antall slengere: 0 Usikkerhet ved beregnet vinkelkoeffisient, SE_a : 0,020 Usikkerhet ved beregnet intercept, SE_b : 0,165 Vinkelkoeffisient a er signifikant $\neq 1$, p -verdi $< 0,001$ Skjæringspunkt b er signifikant $\neq 0$, p -verdi $< 0,001$
--

Tabell 4. Avvik (bias) mellom metodene.

Nivå % HbA1c	DCA 2000 – referanse Gjennomsnittsdifferanse med 95% konfidensintervall	SD for differansene	Antall differanser	t-verdi
< 6,5	- 0,35 (-0,484 - -0,216)	0,36	30	2,04
6,5 – 9	0,41 (0,306 - 0,514)	0,28	34	2,03
> 9	0,41 (0,260 - 0,551)	0,39	32	2,04

Vurdering

Den lineære sammenheng mellom metodene er tilfredsstillende ($R^2 = 0,97$).

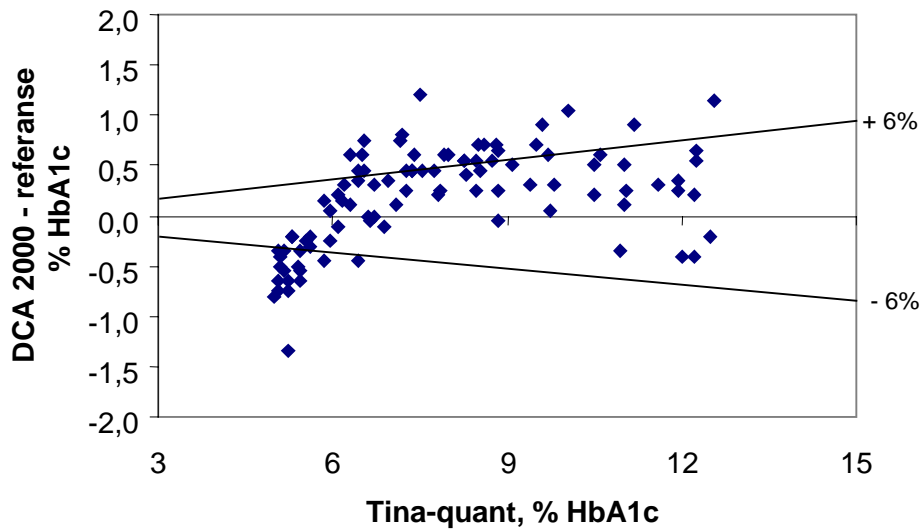
Metodene er ikke helt enige. Regresjonslinjen avviker litt fra den ideelle linjen $y = x$.

Regresjonslinjens vinkelkoeffisienten er signifikant forskjellig fra 1, og skjæringspunktet med y-aksen er signifikant forskjellig fra 0. HbA1c-verdier opp til ca. 6% blir derfor litt lavere på DCA 2000 enn på Tina-quant-metoden, mens verdiene på DCA 2000 blir høyere enn Tina-quant på et HbA1c-nivå $> 6\%$.

Det påvises et lite avvik mellom metodene (på 5% signifikansnivå). Med god presisjon på begge metoder, blir standardavviket for differansen mellom metodene lavt, og små avvik påvises som signifikante. Avviket påvises på 3 ulike konsentrasjonsnivå av HbA1c. Gjennomsnittsdifferansen (DCA 2000 – referanse) er negativ for HbA1c-verdier under 6%, og positiv for verdier over 7%. For verdier av HbA1c over 7% er forskjellen mellom metodene konstant, og ikke konsentrasjonsavhengig. Dette kan tyde på at sammenhengen mellom metodene ikke er helt lineær. En eventuell ikke-lineær sammenheng sees lettere i et differanseplott enn i korrelasjonsplottet.

Differanseplott

Differanseplottet er tegnet med gjennomsnittsverdier av referansemålingene på x-aksen, og med DCA 2000 minus gjennomsnittet av referansemålingen på Y-aksen. Med referansemålingen på x-aksen (i stedet for gjennomsnittet av de to metodene) får de ulike differanseplottene i utprøvingen felles x-akse, og en sammenligning av resultatene på Fürst og de to legekantorene blir lettere. Grensene i differanseplottet er basert på de to metodenes dag-til-dag presisjon. Det er små forskjeller mellom CV% på de ulike konsentrasjonsnivå. Dag-til-dag variasjonen for det samlede datamaterialet (96 målinger på Fürst) er 2,2% på DCA 2000 og 2,0% på referansemetoden. Beregnet CV for differansen mellom metodene er 3%, og 95% toleransegrenser for differansene mellom metodene 6%. Det forventes at 95% av punktene skal falle innenfor disse grensene, hvis det ikke er systematisk avvik mellom metodene. Grensene på $\pm 6\%$ er sammenfallende med skillet mellom "akseptabel" og "dårlig" som benyttes av NOKLUS i bedømmelsen av resultater på ekstern kvalitetskontroll på HbA1c.



Figur 2. Differanseplott med referansemålingene på X-aksen, og forskjellen mellom DCA 2000 og referansemålingene på Y-aksen. Prøver av 96 diabetikere.

Vurdering

Det påvises et systematisk avvik mellom metodene. For verdier < 6% HbA1c gir DCA 2000 for lave verdier enn Tina-quant metoden. For verdier > 6% gir DCA 2000 høyere verdier enn Tina-quant. Ca. 1/3 av disse resultatene ligger utenfor en grense på + 6%. Avviket i dette området er ikke konsentrasjonsavhengig. Differanseplottet styrker oppfatningen av en ikke-lineær sammenheng mellom metodene.

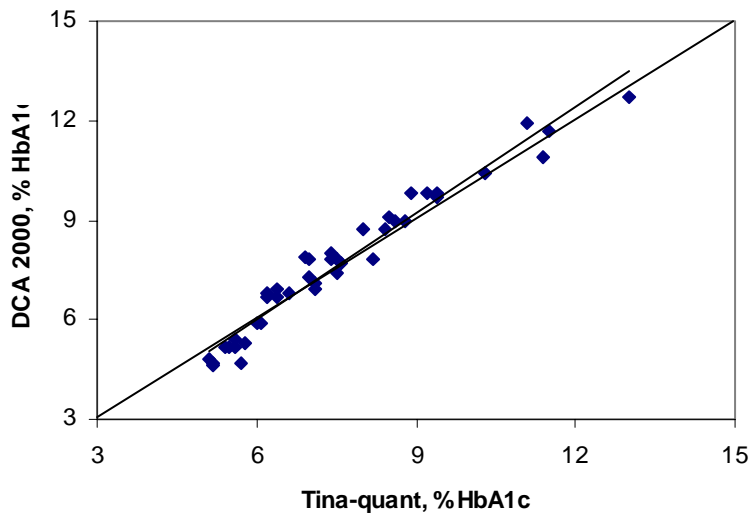
Korrelasjon og regresjon på legekantorene

Korrelasjonen ble gjort med henholdsvis 41 og 40 prøver fra voksne diabetikere. 1. måleresultat fra DCA 2000 på legekontor A og B ble sammenlignet med målingene på Hitachi 917 (Tina-quant). I den lineære regresjonen på legekantorene ble punkt med residual større enn $0 \pm 3,2 \cdot SD_{\text{residual}}$ definert som slengere. Faktorene 3,2 er avhengig av signifikansnivå for testen, og antall prøver som inngår i regresjonen. Her er nivå 5%, antall prøver er 41 og 40. Det ble ikke påvist slengere i de to datasettene.

Resultater

Resultatene av sammenligningen mellom DCA 2000 HbA1c på legekontor A og B og referansemålingene er fremstilt i to spredningsdiagram, figur 3 og 5, og i to differanseplott, figur 4 og 6.

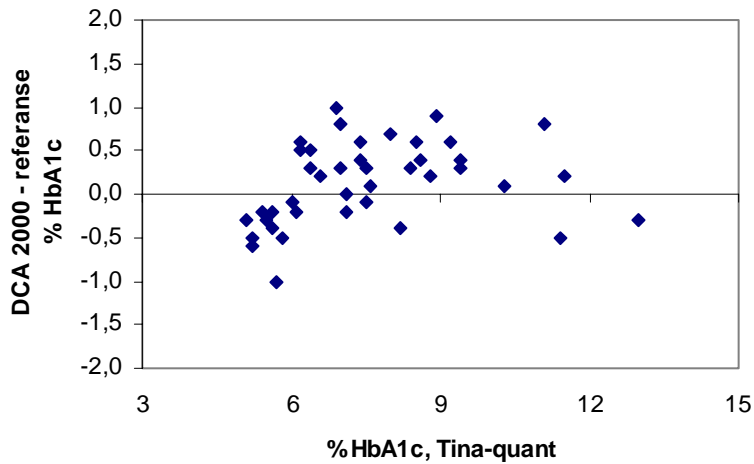
Resultatene fra lineær regresjon er samlet i tabell 5 og 6.



Figur 3. Spredningsdiagram med lineær regresjon på legekantor A. Prøver av 41 voksne diabetikere.

Tabell 5. Lineær regresjon, legekantor A

<p> Regresjonsligning: $y = 1,07x - 0,38$ Determinasjonskoeffisient, R^2: 0,95 Standardfeil $SE_{y/x}$: 0,456 Antall observasjoner: 41 Usikkerhet ved beregnet vinkelkoeffisient, SE_a: 0,037 Usikkerhet ved beregnet intercept, SE_b: 0,291 Vinkelkoeffisient a er ikke signifikant $\neq 1$, $0,05 < p\text{-verdi} < 0,1$ Skjæringspunkt b er ikke signifikant $\neq 0$, p-verdi 0,2 </p>



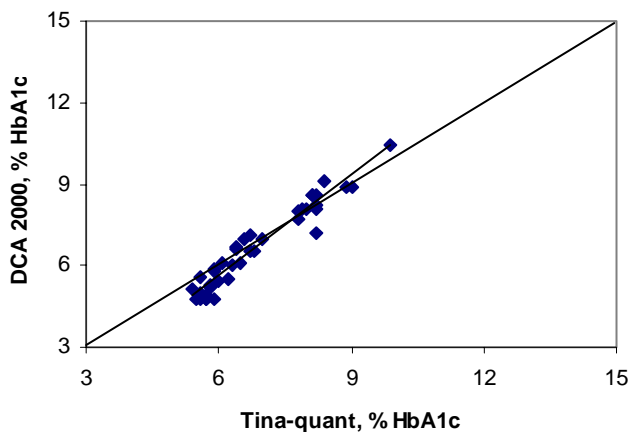
Figur 4. Differanseplott med Tina Quant på X-aksen, og forskjellen mellom DCA 2000 på Legekantor A og referansemålingene på Y-aksen. Prøver av 41 voksne diabetikere.

Vurdering

Spredningsdiagrammet viser godt samsvar mellom resultatene på DCA 2000 på legekantor A og referansemålingene. Den lineære sammenhengen er tilfredsstillende ($R^2 = 0,95$).

Vinkelkoeffisienten for en trendlinje gjennom punktene er ikke signifikant forskjellig fra 1, og skjæringspunktet for linjen er ikke signifikant forskjellig fra 0.

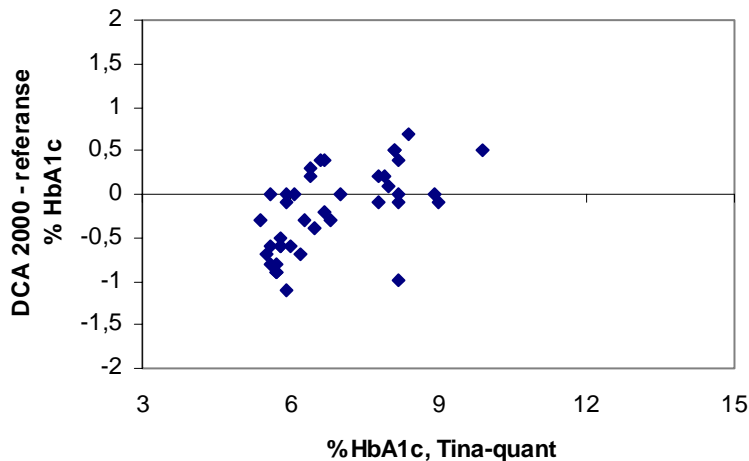
Differanseplottet viser tilsvarende tendens som differanseplottet for resultatene fra Fürst. For HbA1c-verdier $< 6,5\%$ gir DCA 2000 for lave verdier i forhold til Tina-quant, og for HbA1c-verdier mellom $6,5\%$ og 9% gir DCA 2000 høyere verdier enn referansemålingene. I differanseplottet sees også antydningen av at sammenhengen mellom de to metodene likevel ikke er helt lineær.



Figur 5. Spredningsdiagram med lineær regresjon på legekantor B. Prøver av 40 voksne diabetikere.

Tabell 6. Lineær regresjon, legekantor B

Regresjonsligning: $y = 1,23x - 1,78$
Determinasjonskoeffisient, R^2 : 0,94
Standardfeil $SE_{y/x}$: 0,392
Antall observasjoner: 40
Antall slengere: 0
Usikkerhet ved beregnet vinkelkoeffisient, SE_a : 0,052
Usikkerhet ved beregnet intercept, SE_b : 0,363
Vinkelkoeffisient a er signifikant $\neq 1$, p-verdi $< 0,01$
Skjæringspunkt b er signifikant $\neq 0$, p-verdi $< 0,01$

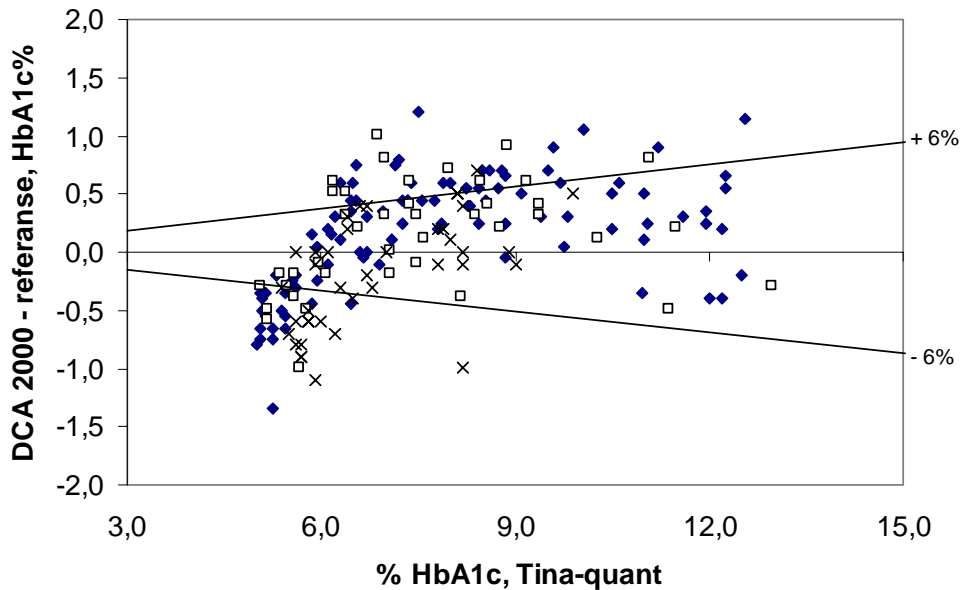


Figur 6. Differanseplott med Tina-quant på X-aksen, og forskjellen mellom DCA 2000 på Legekantor B og referansemålingene på Y-aksen. Prøver av 40 voksne diabetikere.

Vurdering

Den lineære sammenhengen mellom resultatene fra legekantor B og referansemetoden er ikke helt tilfredsstillende ($R^2 = 0,94$). Regresjonslinjen avviker litt fra den ideelle linjen $y = x$. Regresjonslinjens vinkelkoeffisient er signifikant forskjellig fra 1, og skjæringspunktet med y-aksen er signifikant forskjellig fra 0. HbA1c-verdier opp til ca. 6,5 % er for lave på DCA 2000 på legekantor B i forhold til Tina-quant metoden, mens verdiene på DCA 2000 er høyere enn Tina-quant på et HbA1c-nivå 7% og 9%. Legekantor B mangler en del målinger i det høye området av HbA1c, noe som kan forklare at en eventuell ikke-lineær sammenheng ikke vises tydeligere her.

Forskjellen mellom DCA 2000 og Tina-quant på de tre utprøvningsstedene er vist i et differanseplott for hele datamaterialet, figur 7.



Figur 7. Differanseplott med gjennomsnittsverdiene fra DCA 2000 og Tina-quant på X-aksen, og forskjellen mellom DCA 2000 og referansemålingene på Y-aksen.

◆ viser resultater fra Fürst, □ fra legekantor A og X fra legekantor B.

Vurdering

De tre differanseplottene viser samme tendens. For HbA1c-verdier < 6% gir DCA 2000 for lave verdier i forhold til referansemålingene. For HbA1c-verdier > 7%, ligger DCA 2000 systematisk høyere enn Tina-quant metoden. Ca. 1/3 av disse resultatene faller utenfor en avviksgrense på + 6%. Det kan se ut som om sammenhengen mellom de to metodene ikke er helt lineær.

Blodprøver med "Weykampfasit"

I tillegg til det rutinemessige kvalitetskontrollregimet på Fürst, har Tina-quant metoden vært kontrollert 3 ganger i løpet av utprøvningsperioden vha. tilsendte blodprøver med fasit fra dr. Cas Weykamp i Nederland, tilsvarende DCCT-nivå.

Resultatene er vist i tabell 7.

08.03.99 fikk de tre utprøvningsstedene tilsendt ekstern kvalitetskontroll fra NOKLUS.

Kontrollene er fasitbestemt hos Weykamp.

Kontrollresultatene er vist i tabell 8.

Tabell 7. ”Weykamp-prøver” på Tina-quant

Dato	Fasit % HbA1c	Tina-quant % HbA1c
01.03.99	5,4	5,5 - 5,6
01.03.99	10,4	11,0
11.03.99	5,3	5,4 - 5,8
11.03.99	10,6	10,5 - 11,0
18.03.99	5,4	5,5 - 5,4
18.03.99	10,8	11,2 - 11,3

Tabell 8. NOKLUS-kontroller

Weykampfasit % HbA1c	Tina-quant % HbA1c	DCA 2000, Fürst % HbA1c	Legekantor A % HbA1c	Legekantor B % HbA1c
5,51	5,4 - 5,4 - 5,4	5,3	4,8 - 4,9	4,6 - 4,7
9,90	10,2 - 10,1 - 10,2	10,6	9,6 - 9,4	9,5 - 9,3

Vurdering

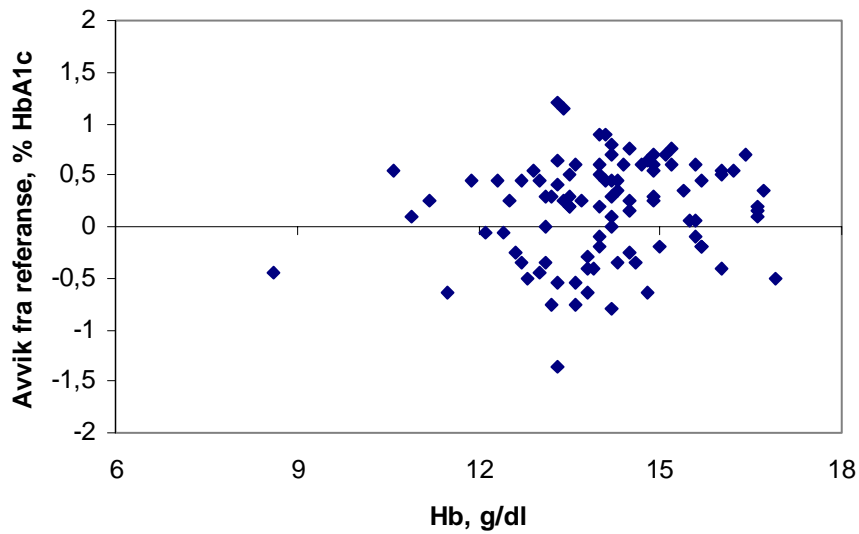
Tina-quant metoden ligger i gjennomsnitt ca. 3,5% høyere enn fasitverdiene bestemt hos Weykamp. For lave verdier av HbA1c er forskjellen mellom Tina-quant og Weykamp av liten betydning. For HbA1c-verdier rundt 10%, ligger Tina-quant ca. 0,4 % HbA1c over Weykamp. En kalibrering av Tina-quant metoden i forhold til ”Weykamp-prøvene”, vil forsterke den forskjellen som er påvist mellom DCA 2000 og Tina-quant for høye verdier av HbA1c. NOKLUS-kontrollene fra 8. mars på Tina-quant metoden gir tilsvarende resultat som på ”Weykamp-prøvene”. Resultatene på DCA 2000 på de tre utprøvningsstedene er ikke helt entydige. De to legekantorene får for lave verdier, både på lav og høy kontroll. Kontrollene er bare analysert en gang på DCA 2000 på Fürst, men resultatene er høyere enn legekantorenes verdier på begge nivå.

HbA1c i forhold til total Hb

DCA 2000 korrigerer for Hb-konsentrasjoner i området 7 - 24 g/dl og gir feilmelding ved for lave og for høye Hb-konsentrasjoner. Hb i alle prøvene ble målt på Coulter STKS, og HbA1c-resultatene er vurdert i forhold til total Hb i prøvene.

Avvik fra referanse i forhold til Hb er fremstilt i figur 8.

Rådata Hb, vedlegg III.



Figur 8. Differanseplott med Hb-verdi på X-aksen, og forskjellen mellom DCA 2000 og referansemålingene (DCA 2000 – referanse) på Y-aksen. Prøver av 96 diabetikere.

Vurdering

Hb i de aktuelle prøvene ligger i et område mellom 10 og 17 g/dl. Differansene mellom de to metodene fordeler seg jevnt rundt null-linjen. Vinkelkoeffisient og skjæringspunkt for en trendlinje gjennom punktene (ikke inntegnet) er ikke signifikant forskjellig fra null. Det ser dermed ikke ut som om forskjellene som er påvist mellom DCA 2000 og referanse-målingene har sammenheng med Hb i prøvene. DCA 2000 korrigerer korrekt for Hb-konsentrasjoner i området 10 til 17 g/dl.

Evaluering

DCA2000 er evaluert etter spørreskjemaene i utprøvningsboken. De viktigste kommentarene er oppsummert her:

Utprøving på Først med.lab.:

Positive kommentarer:

- Instrumentet er greit å betjene.
- Hygienisk i bruk, lite/ikke noe søl.
- Enkelt vedlikehold. Godt forklart i manualen. Tar liten tid.
- Instrumentet tar liten plass.
- Lite prøvevolum.
- Instrumentet har minnefunksjon. Kan lagre pasientprøver, kontroller og opptil 2 kalibreringer.
- Få feilkilder.
- Kontrollmateriale på to nivåer, normal og abnormal.

Negative kommentarer:

- Bråker litt under analysering.
- "Foliefliken" på reagenskassetten er noen ganger hard å dra av.
- Enkelte tall (bl.a 8) kan være litt leie å lese av i displayet.

Utprøving på legekontor:

Positive kommentarer:

- God opplæring fra leverandør.
- God manual, lett å bruke.
- Hygienisk i bruk.
- Lett å bruke.
- Lite og greit vedlikehold.
- Lett å kalibrere.
- Få feilkilder.
- Får svar mens pasienten er hos legen.

Negative kommentarer:

- Spruter litt fra reagenskassetten når man drar opp "foliefliken".
- Analysetiden kan virke lang, særlig når det er mange diabetespasienter samtidig.
- Noe "vanskelig" å dra kodekortene for hver ny eske reagens.
- "Foliefliken" som skal dras av reagenskassetten er noen ganger svært hard å få av.

Vedlegg

Kommentarer fra Bayer AS

- Rapporten viser en dårligere presisjon på testsystemet enn det som er vist tidligere både i studier og i eksterne kvalitetskontrollprogrammer. Kvalitetsavdelingen i USA ble derfor kontaktet, og de bekrefter at batch nr. 0941 har noe dårligere presisjon enn tidligere batcher, men at den selvfølgelig er innenfor deres grenser for godkjenning. Som følge av dette vil de legge om sine krav for godkjenning av batcher, slik at presisjonen holdes på nivået vi har sett tidligere.
- Korrelasjonsstudien viser at DCA 2000 avviker negativt for HbA1c verdier under 6 %, og positivt for verdier over 7 %. Dette er meget overraskende, da metoden ble recalibrert i november i fjor, for å matche DCCT nivå. Den siste NOKLUS utsendelsen vil vise hvorvidt dette avviket fortsatt eksisterer. Bayer AS vil nå i en periode framover følge nøye med m.h.t. nivå, og eventuelt gjøre noe med kalibreringen om det viser seg at det er nødvendig.