
HemoCue Urine Albumin
Et system til måling af U-albumin,
Producert af HemoCue AB, Sverige

*Rapport fra en laboratorieafprøvning,
organiseret af SKUP*

AFPRØVNING AF HemoCue Urine Albumin

INDHOLDSFORTEGNELSE

SAMMENFATNING	2
PLANLÆGNING	4
MATERIALE OG METODER	5
Prøvetagning	5
Opbevaring af prøver	5
Måling af Urin–Albumin	
HemoCue Urine Albumin	5
Sammenligningsmetode fra Roche	7
Sammenligningsmetode fra Beckman	8
Behandling af rådata.....	9
Verificering af sammenligningsmetoderne	10
Afprøvningens gennemførelse	13
Tillægsundersøgelse	17
ANALYTISKE KVALITETSMÅL	19
RESULTAT OG DISKUSSION	21
Impræcision	21
Sammenligning med Roche metode	25
Sammenligning med Beckman metode	30
Erfaringer fra begge metodesammenligninger.....	35
Tillægsundersøgelse	37
PRAKTISKE SYNSPUNKTER	38
REFERENCER	39

Bilag 1 – 5. Rådata. Bilag udelukkende til producenten
a = patientdata, b = internkontroldata.

Bilag 6. Producentens kommentar til SKUP-rapporten.

SAMMENFATNING

SKUP og Karolinska Laboratoriet har på anmodning fra HemoCue AB lavet en afprøvning af målesystemet HemoCue Urine Albumin (HemoCue UA).

HemoCue UA er et system til bestemmelse af albumin i urin på lavt koncentrationsniveau. Bestemmelsen udføres for at opdage tidlige tegn på karskade på patienter med diabetes og/eller hypertension. Systemet er beregnet til patientnær screening og monitorering af lave koncentrationer af albuminuri (mikroalbuminuri). Systemet består af HemoCue UA-mikrokuvetter og HemoCue UA-fotometer som er et specielt tilpasset fotometer.

Når man måler med HemoCue UA fylder man kuvetten med urin, ved hjælp af kapillæreffekt. Prøvevolumen er 15 µL. Kuvetten placeres efterfølgende i fotometeret. I kuvetten blandes prøve og reagens godt ved at kuvetten vibrerer kraftigt. Albumin fra prøven bindes til antistof mod albumin fra reagenset. De dannede albuminantistofkomplekser udvikler en uklarehed (turbiditet). Turbiditeten giver en absorbans som er proportional med albuminkoncentrationen i prøven. Absorbansen måles ved 610 nm. Efter 90 sekunder vises U-Albumin koncentrationen i fotometerets display. Måleområdet er 10 – 150 mg/L. Lavere koncentrationer vises som "LLL" og højere vises som "HHH" i displayet.

HemoCue UA-resultater er i denne afprøvning sammenlignet med to forskellige sygehusmetoder, Roche turbidimetriske metode på mange-kanals-analysatoren Roche Modular og Beckman nefelometriske metode på instrumentet Beckman Image. Begge metoder er akkrediterede og godkendt af den amerikanske myndighed "Food and Drug Administration" (FDA).

Afprøvningens resultater er vurderet ud fra analytiske kvalitetsmål som er udledt fra biologisk variation for U-Albumin. De analytiske kvalitetsmål er i denne afprøvning sat til tilladt total-fejl på ± 8 mg/L, ved resultat der med sammenligningsmetoden er under 18 mg/L, og til ± 45 % indenfor resten af måleområdet. 95 % af alle målinger skal falde inden for tolerancegrænserne.

Resultat

Intra-seriel-impræcision varierede for sygehuslaboratoriet og for lægehuslaboratorierne mellem 4,2 og 8,6 CV % med højeste CV % ved de laveste koncentrationer.

Dag-til-dag impræcisionen blev målt med interne kontroller på sygehuslaboratoriet og i lægehuslaboratorierne, samt med patientprøver på sygehuslaboratoriet. Den varierede mellem 4,3 og 11,9 % CV, med de højeste CV % værdier for de laveste koncentrationer.

Disse resultater kan sammenlignes med afprøvningens analytiske kvalitetsmål som tillader impræcision 18 % CV. Også det alternative kvalitetsmål CV = 15 % og HemoCue ABs egne specifikationer opfyldes. HemoCue UA har lav impræcision og præcisionen bedømmes som god.

Sammenligning med Roche metode

Den lineære regression for resultaterne med HemoCue UA (y) og Roche (x) giver en retningskoefficient som ikke er signifikant forskellig fra 1, og et intercept som ikke er signifikant forskellig fra 0 mg/L. Den lineære korrelation er acceptabel med $R^2 = 0,94$.

HemoCue UA-resultaterne målt på sygehuslaboratoriet viser kun små middelfvigelse i forhold til Roche-resultaterne, og nogen statistisk signifikant middelfvigelse er ikke påvist på noget koncentrationsniveau.

Når effekten af både systematiske afvigelser og tilfældige fejl med HemoCue UA bedømmes mod resultaterne fra sygehuslaboratoriet, viser det sig at disse resultater opfylder de analytiske kvalitetsmål. Resultaterne i lægehuslaboratorierne ligner dem på sygehuslaboratoriet, men andelen af afvigende værdier i det lave koncentrationsområde er større.

Sammenligning med Beckman metode

Den lineære regression mellem HemoCue UA (y) og Beckman (x) giver retningskoefficienten 1,16, som er signifikant forskellig fra 1, og interceptet -2 mg/L, som ikke er signifikant forskellig fra 0 mg/L. Den lineære korrelation er acceptabel med $R^2 = 0,94$.

HemoCue UA-resultaterne målt på sygehuslaboratoriet viser lille middelfvigelse i forhold til Beckman-resultaterne på lavt niveau. På mellem og højt niveau giver HemoCue UA signifikant højere resultater end Beckman.

Når effekten af både systematiske afvigelser og tilfældige fejl med HemoCue UA bedømmes mod resultaterne fra sygehuslaboratoriet viser det sig at disse resultater opfylder de analytiske kvalitetskrav. Resultaterne i lægehuslaboratorierne ligner dem på sygehuslaboratoriet, men andelen af afvigelser i det lave koncentrationsområde er større.

Erfaringer fra sammenligninger med Roche og Beckman metoder

Resultaterne fra de to metodesammenligninger som indgår i denne SKUP-rapport kan forenklet udtrykkes: HemoCue UA, Roche og Beckman, giver overensstemmende middelværdier indenfor koncentrationsområdet 0 – 40 mg/L. Ved koncentrationer over dette interval giver Beckman signifikant lavere resultater end HemoCue UA og Roche.

En tidligere version af HemoCue UA-instrumentet kunne give falsk forhøjede resultater, >150 mg/L, på enkelte prøver når koncentrationen var <10 mg/L. I denne rapport vises, at HemoCue AB har udbedret denne fejl. Ifølge HemoCue AB findes der ikke længere instrumenter med denne fejl på markedet.

I det lave koncentrationsområde, 10 – 30 mg/L, er middelfvigelserne for HemoCue UA i forhold til sammenligningsmetoderne acceptable. Resultaterne på enkelte prøver afviger dog fra sammenligningsmetoderne resultat. HemoCue UA-metoden syntes at være mere følsom end sammenligningsmetoderne for prøvens uklarhed eller anden matrixeffekt. Af de prøver som blev målt i lægehuslaboratorierne, var en større andel af prøver med lav koncentration, sammenlignet med sygehuslaboratoriet. Dette forklarer, at der er en større andel afvigende resultater i lægehuslaboratorierne.

Praktiske synspunkter

De, som deltog i afprøvningen sammenfatter deres synspunkter med, at HemoCue UA-instrumentet er nemt at anvende.

Konklusion

HemoCue Urine Albumin er et instrument til bestemmelse af albumin i urin. Instrumentet er nemt at anvende i primærsektoren. Afprøvningen, både i lægehus og på sygehuslaboratorium, viser at systemet har god præcision og at afvigelserne fra sygehusmetoderne stort set er indenfor de krav som sat op i denne afprøvning.

PLANLÆGNING

HemoCue AB tog i efteråret 2001 kontakt med SKUP Sverige og ønskede en afprøvning af HemoCue Urine Albumin (HemoCue UA) Systemet, som dengang ikke var markedsført i Skandinavien. SKUP skrev et forslag til en afprøvningsprotokol og spurgte Karolinska Laboratoriet om man der kunne gennemføre afprøvningen. Afprøvningen følger retningslinierne i SKUP-manualen som findes publiceret i bogen *Afprøvning av analyseinstrumenter*, Alma Mater Forlag, 1997. SKUP skrev efterfølgende kontrakt om afprøvningen med HemoCue AB og Karolinska Laboratoriet.

Planlægningsmøde vedrørende afprøvningen blev afholdt 2001-11-12 på Klinisk kemi, Danderyds Sygehus. Samtlige personer som angives i tabellen nedenfor deltog i mødet. Afprøvningsprotokollen rettedes til efter planlægningsmødet efter aftale med resten af SKUP.

Følgende personer har hvert deres ansvar for forskellige dele i afprøvningen:

Eva Berzelius	Bioanalytiker og laboratorie-konsulent	Hovedansvarlig for gennemførelse af afprøvningen. Eva har lavet målingerne med HemoCue UA på sygehuslaboratoriet; Klinisk kemi, Karolinska Sygehuset. Dette sygehuslaboratorium er en enhed inden for Karolinska Laboratoriet.
Ulla Pira	Kemiker	Metodeansvarlig for U–Albumin (fra Roche) ved Klinisk Kemi, Danderyds Sygehus. Erstatte hovedansvarlig ved behov. Dette sygehuslaboratorium er en enhed inden for Karolinska Laboratoriet.
Lena Sandlund	Laboratorie-ingeniør	Metodeansvarlig for U–Albumin (fra Beckman) ved Klinisk kemi, Karolinska Sygehuset
Lena Löfgren	Bioanalytiker	Ansvarlig for afprøvningen på laboratoriet ved lægehuset ”Husläkarna i Österåker” på Åkersberga Sygehus. Lena har sammen med to kollegaer udført lægehusets målinger med HemoCue UA. Dette lægehuslaboratorium er en enhed indenfor Karolinska Laboratoriet.
Ghodsi Zolfagar Begi	Bioanalytiker	Ansvarlig for afprøvningen på laboratoriet ved Mörby lægehus. Ghodsi har sammen med to kollegaer udført lægehusets målinger med HemoCue UA. Dette lægehuslaboratorium er en enhed indenfor Karolinska Laboratoriet.
Lena Wahlhed	Produktspecialist	Repræsentant for HemoCue AB ved afprøvningen.
Lena Piscator	Regionsansvarlig repræsentant	Lokal repræsentant for HemoCue AB ved afprøvningen.
Arne Mårtensson	Kemiker	Ansvarlig for SKUP's del i afprøvningen, Hovedforfatter af denne rapport.

SKUP har sendt en præliminær ”SKUP-rapport” til HemoCue AB som diskuterer og kommenterer den præliminære rapport, inden den endelige rapport skrives. HemoCue AB har vedlagt bilag med kommentarer til afprøvningen. Se bilag 6.

MATERIALER OG METODER

Prøvetagning

De urinprøver som anvendes i afprøvningen på sygehuslaboratoriet er opsamlet naturin fra diabetes-patienter. Ifølge Karolinska Laboratoriets prøvetagningsinstruktion opsamles al urin fra en patient over en nat og blandes. Anden opsamlingstid end en nat kan dog forekomme for enkelte prøver. Lægehusenes prøver er derimod fuldstændige friske spoturiner. For at kunne gøre en sikker klinisk bedømmelse af analysesvaret, rekommanderes i litteraturen en måling på opsamlet nat-urin, eller første morgenurin. HemoCue AB nævner dette i indlægssedlen til HemoCue UA. Opsamlet urin har ikke været et krav i afprøvningen, da undersøgelse for imprecision og korrelation ikke påvirkes af opsamling.

Opbevaring af prøver

Urinprøver til undersøgelse af U–Albumin kan opbevares i køleskab, +2 til +8 °C, i mindst en uge før analyse [1], [2], [3]. Ingen litteratur, som påstår noget andet om opbevaring på køl, kan findes. Litteratur om at U–Albumin prøver påvirkes af nedfrysning eller opbevaring i fryser er dog modstridende. Prøverne i afprøvningen opbevaredes på køl i højst tre døgn før analyse, undtagen nogle enkelte prøver som opbevaredes frosne. I afprøvningen findes nogle resultater fra begge lægehuse på prøver som har været frosne før målingen blev udført med sammenligningsmetode fra Roche. Disse resultater afviger ikke fra øvrige resultater.

Måling af U–Albumin

HemoCue Urine Albumin

HemoCue UA er et system til bestemmelse af albumin i urin i lav koncentration. Bestemmelsen udføres for at opdage tidlige tegn på karskade på patienter med diabetes og/eller hypertension. Systemet er lavet til patientnær screening og monitorering af lave koncentrationer af albuminuri (mikroalbuminuri). Målesystemet består af HemoCue UA-mikrokuvetter og HemoCue UA-fotometer som er et specielt tilpasset fotometer.

Sådan analyserer man med HemoCue UA:

1. En dråbe urin placeres på et lille stykke Para-Film® eller lignende.
2. Kuvetten tages ud sin pakning, og dens spids holdes mod urindråben indtil kuvetten er fyldt. Kuvetten fyldes ved hjælp af kapillæreffekten, og skal fyldes af en gang.
Reagenset i kuvetterne er fugt- og temperaturfølsomt. Kuvetterne er derfor pakket stykvis og skal opbevares på køl. De er holdbare på køl i ni måneder efter produktionsdato. Udløbsdato er angivet på pakningen.
3. Kuvetten skal indenfor 30 sekunder placeres i fotometeret og måles.
*I kuvetten blandes prøve og reagens ved at kuvetten vibreres kraftigt af en i fotometeret indbygget mekanisme. Albumin fra prøven bindes til antistof mod albumin fra reagenset. De dannede albuminantistofkomplekser udvikler en uklarhed (turbiditet) som forstærkes af polyetylen glykol fra reagenset.
Turbiditeten giver en absorbansøgning som er proportional med albuminkoncentrationen i prøven. Absorbansen måles ved 610 nm.*
4. Efter 90 sekunder vises resultatet i displayet.

HemoCue Urine Albumin System produktfakta:

Måleprincip	Turbidimetri.
Målemetode	Den uklarhed som skyldtes immunkomplekset mellem albumin i prøven og antistoffet mod albumin i reagenset måles i kuvette med kort lysvej.
Systemet består af	Instrument: HemoCue Urine Albumin-fotometer Mikrokuvetter (til engangsbrug): HemoCue Urine Albumin Mikrokuvetter.
Reagens	Reagenset er portioneret i mikrokuvetterne. Reagenset indeholder polyetylenglykol og polyklonale kaninantistoffer mod humant albumin.
Kalibrering	Systemet er kalibreret mod Dako's turbidimetriske vådkemiske metode. Dakos metode er kalibreret med Dakos Human Serum Protein Calibrator som er sporbar til CRM 470 (Certified Reference Materiale 470).
Måleområde	10 – 150 mg/L Desuden kan instrumentet vise LLL som betyder <10 mg/L og HHH som betyder >150 mg/L.
Prøvevolumen	15 µL
Analysetid	90 s
Tilladte omgivelses temperaturer	18 til 30 °C
Mikrokuvetternes opbevarings-temperatur	+2 til +8 °C
Net adaptor	Ind 230 V AC, ud 12 V DC
Strømstyrke	Max. 580 mA
Fotometrets dimensioner	210 x 160 x 100 mm
Mikrokuvetternes dimensioner	40 x 10 x 2 mm
Fotometrets vægt	1 kg

HemoCue UA produceres af HemoCue AB i Ängelholm og markedsføres i Skandinavien af:

Danmark:

HemoCue Danmark A/S
Bygstubben 5
DK-2950 Vedbæk
Danmark
Tlf.: Int+45 45 66 1320
Fax: Int+45 45 66 1338

Norge:

HemoCue Norge
Postboks 194
N-3521 Jevnaker
Norge
Tlf.: Int+47 6131 4050
Fax: Int+47 6131 4051

Sverige:

HemoCue AB
Box 1204
SE-262 23 Ängelholm
Sverige
Tel: Int+46 431 45 82 00
Fax: Int+46 431 45 82 25

Intern kvalitetskontrol for HemoCue UA

Ifølge HemoCue AB, fandtes der ved afprøvningens gennemførelse kun en kontrol på ét niveau, som man ville rekommandere. Det var MAS™ Liquid Urinalysis Control, Level 2 som laves af Medical Analysis Systems, Inc, Camirillo, CA 93012, USA. Mellemlforhandler i Sverige er Electra-Box Diagnostica AB, Box 2035, 135 02 Tyresö Tlf.: Int+46 8 712 30 00.

Producenten angiver måleintervallet for "Hitachi Series, MicroAlbumin" som 38 – 89 mg/L.

Ved denne afprøvning blev værdien af U-albumin i kontrolmaterialet sat til en værdi som skulle gælde for HemoCue UA. Kontrolmaterialet blev målt ti gange. Middelværdien og standardafvigelsen beregnedes. Under afprøvningen blev acceptgrænserne sat til middelværdien ± 2 SD.

HemoCue AB har efter afprøvningen meddelt, at man fra og med august 2002 kan tilbyde kontrolmaterialer på to niveauer, ca. 25 mg/L og ca. 75 mg/L, i en pakning med 2 x 1 ml.

Sammenligningsmetode fra Roche

På sygehuslaboratoriet for Klinisk kemi ved Danderyds Sygehus anvendes Roche turbidimetriske metode på mange-kanals-analysatoren Roche Modular P-modul for rutineanalyserne af U–Albumin. Metoden er godkendt af den amerikanske myndighed "Food and Drug Administration" (FDA) og anvendelsen ved Danderyds Sygehus er akkrediteret. Ifølge gældende rutine på Danderyds Sygehus, så bestemmes også U–Kreatinin når U–Albumin er bestilt på rekvisitionssedlen. I svaret fra laboratoriet angives da også ratio U–Albumin/U–Kreatinin. I afprøvningen er der ikke lavet sammenligning mellem U–Albumin og ratio-resultatet.

Roche sammenligningsmetode produktfakta:

Måleprincip Turbidimetri. Absorbansøgningen måles når immunkomplekset mellem albumin fra prøven og antistof mod albumin i reagenset dannes.

Instrument Roche Modular P-modul, leveret af Roche, producenten er Hitachi.
Instrumentnummer i laboratedatasystemet: 1007.

Reagens Tina-Quant™ for turbidimetrisk bestemmelse af Urin– eller Plasma–Albumin, produktnummer 1875400, leveret af Roche.
To reagenser indgår:
R1 indeholder polyetylenglykol, EDTA og konserveringsmiddel i trisbuffer.
R2 indeholder polyklonale fåre-antistoffer mod humant albumin i trisbuffer.

Kalibrering Ifølge Roche instruktioner bestemmes den ikke-liniære kalibreringskurve ved hjælp af de fem kalibratorer som medfølger reagenskittet.
Kalibrering gøres ved skift af reagensbatch og ved behov.
Kalibratorerne indeholder humant albumin i fosfatbufferen.
Resultaterne er med denne kombination af rutinemålinger og kalibratorer sporbare til CRM 470.
Laboratoriet ved Danderyds Sygehus har modificeret kalibreringsrutinen så kalibreringskurven bestemmes ved hjælp af den højeste Roche-kalibrator samt fire forskellige fortyndinger af den. Den højeste kalibrator har en fastsat værdi som kan variere fra batch til batch, men er omtrent 400 mg/L.
Anledningen til at kalibreringsrutinen blev modificeret, var at liniariteten efter måling af patientprøver ikke var acceptabel, når samtlige Roche kalibratorer anvendes. Senere viste det sig, at Roche påsatte nye værdier på samtlige kalibratorer i reagenskittet undtagen netop den højeste kalibrator, som anvendes

på Danderyds Sygehus. Eftersom lineariteten var udmærket, og håndteringen af én kalibrator i stedet for fem var enklere, valgte man at fortsætte med den modificerede rutine. En yderligere validering blev gjort ved at måle Roche kalibratorene som dobbeltprøver. Den lineære sammenhæng mellem den af Roche afsatte værdi (x) og opnåede værdi (y) beregnes. Resultat: $y = 0,96x + 4,1$ $R^2 = 0,999$

Måleinterval	3 – 400 mg/L
Intern kontrol	Liquid Check Urine Chemistry Control, Level 1, produkt nummer 397. Liquid Check Urine Chemistry Control, Level 2, produktnummer 398. Lot nummer: 62640. Begge kontroller er leveret af BioRad.
Extern kontrol	Laboratoriet deltager i kvalitetssikringsprogram for U–Albumin, lavt niveau, som leveres af EQUALIS. En ny kontrol udsendes hver 3.
Instrument- Verificering	måned og resultaterne fra deltagerne sammenlignes. Seneste instrumentverificering ifølge akkrediteringskravene blev udført i oktober 2001.

Sammenligningsmetode fra Beckman

På sygehuslaboratoriet for Klinisk kemi ved Karolinska Sygehuset anvendes Beckman nefelometriske metode på instrumentet Image som rutinemetode for U–Albumin.

Det er en akkrediteret metode, der er godkendt af den amerikanske myndighed "Food and Drug Administration" (FDA).

Beckman sammenligningsmetode produktfakta:

Måleprincip	Nefelometri. Øgning af lysspredningen måles, når immunkomplekset dannes mellem albumin fra prøven og antistof mod albumin i reagenset
Instrument	Image™ Immunochemistry Systems, producent Beckman Instrument. Instrumentnummer i laboratedatasystemet: 2146
Reagens	Microalbumin (MA), produktnummer 447690, indeholder reagens A og B. Buffer 1, buffer, produktnummer 447650 Diluent 1, fortyndingsvæske, produktnummer 447640 Wash, vaskeopløsning, produktnummer 447060 samtlige leveret af Beckman.
Kalibrering	Kalibrator: U-Cal, produktnummer 441470, leveret af Beckman. Images kalibrering er specifik for hvert reagenslot. Med hvert reagenslot leveres en kalibreringskurve som indlæses i instrumentet med hjælp af strekkode på reagenspakningen. Ved skift af lot nr. på reagens og Buffer 1 udføres en et-punktskalibrering. Derved justeres den indlæste kalibreringskurve ved at den parallelforskydes. Kalibratoren havde ved afprøvningen den påsatte værdi 19,8 mg/L. Resultaterne er med denne kombination af rutinemålinger og kalibratorene sporbare til CRM 470 (Beckman opgiver sporbarhed til RPPHS fra CAP hvilket er det samme som CRM 470. RPPHS står for "Reference Preparation for Proteins in Human Serum" og CAP står for "College of American Pathologists").

Fortynding af prøve Immage fortynder automatisk prøver med høj koncentration. Behovet for fortynding detekteres ved at følge lysspredningens forandring under hver måling. Når lysspredningen sænkes under målingen tyder det på antigenoverskud, og prøven måles igen med næste højere fortynding. Fortyndingen øges gradvis gennem seriefortynding i følgende trin: 2 – 40 mg/L (ufortyndet) 12 – 240 mg/L (fortyndet 1 + 5) 72 – 1440 mg/L (fortyndet 1 + 5 to gange i serie, det vil sige 1 + 35) 432 – 8640 mg/L (fortyndet 1 + 5 tre gange i serie, det vil sige 1 + 215)
Måleinterval 2 – 8640 mg/L
Intern kontrol Vigil PhRx Level 1 og 2, produktnummer 450125 Level 1 med lot nr. M004051 og Level 2 med lot nr. M007172 Kontrollerne leveres af Beckman. Kontrolmaterialet er beregnet til serumanalyser. For at få koncentrationer som i urin, fortyndes de med Images diluent. Fortyndingen gøres fra volumen 1 til 10 tre gange i serie. Totalt fortyndes kontrollen altså 1 til 1000. Det findes to forskellige måleværdier for albuminkoncentrationen i denne kontrol. Med farvemethoden BCP er måleværdien 36 g/L. Med nefelometrisk metode er måleværdien 33 g/L. Den sidstnævnte værdi divideret med 1000 er angivet som måleværdi i resultattabellen.
Extern kontrol Laboratoriet deltager i kvalitetssikringprogram for U–Albumin, lavt niveau, som leveres af EQUALIS. En ny kontrol udsendes hver 3.
Instrument- verificering måned og resultaterne fra deltagerne sammenlignes. Seneste instrumentverificering ifølge akkrediteringskravene blev udført 2001-09-07. Da blev bl.a. fortyndingsforholdet 1+5 kontrolleret.

Behandling af rådata

Rådata tabellerne indeholder samtlige resultater. Se bilag 1 – 5. Hvis et resultat for en metode mangler, bortfalder prøven i visse beregninger. HemoCue UA giver ved lavere koncentration end måleområdet svaret ”LLL”, og ved højere koncentrationer end måleområdet svaret ”HHH”. Disse resultater er ikke med i metodesammenligningerne, men deres antal fremvises. Ganske få resultater bortfalder, fordi resultaterne er udenfor respektive sammenligningsmetodes måleinterval.

Ifølge SKUP-modellen erstattes et resultat ikke med et omkørt resultat. Derimod testes om en værdi statistisk afviger fra øvrige værdier og derfor skal betragtes som en outlier og udelukkes i de statistiske beregninger. Denne test laves i overensstemmelse med Burnett [4]. Forenklet udtrykt testes om en værdi afviger mere end ca. ± 3 standardafvigelser (SD) fra middelværdien af samtlige værdier.

Før beregning af imprecision har Burnetts regel været anvendt på differenserne på dobbeltbestemmelserne. Først beregnes en præliminær middelværdi og SD for alle differenserne i en gruppe. Afviger nogle differenser med mere end ca. ± 3 SD fra differensernes middelværdi så udelukkes dobbeltbestemmelsen.

På lignede måde, før beregning af lineær korrelation, er Burnetts regel tilpasset residualerne for de enkelte punkter i diagrammet. Residualen er afstanden i y-led fra målepunktet til den beregnede regressionslinie. Præliminær middelværdi og SD for samtlige punkters residualer beregnes først. Afviger nogen residualer fra residualernes middelværdi med mere end ca. ± 3 SD så betragtes dette punkt som en outlier og udelukkes.

Grænsen for udelukkelse var ikke altid præcis ± 3 SD. Antal standardafvigelser varierer noget afhængig af hvor mange værdier der beregnes. Eksempel: Ved $n = 20$ sættes grænsen til $\pm 3,02$ SD, ved $n = 30$ til $\pm 3,14$ SD og ved $n = 100$ til $\pm 3,47$ SD. Afprøvningen gentages i fornødne antal trin, til ingen værdier afviger mere end tilladt.

Antal af resultater som udelukkes ifølge Burnett, redegøres der for i respektive tabeller. Resultater som udelukkes af andre årsager redegøres der for i teksten.

Verificering af sammenligningsmetoderne

Impræcision

Prøveindsamlingen med mere findes beskrevet i afsnittet "Afprøvningens gennemførelse" / "På sygehuslaboratorium" senere i rapporten. For rådata se bilag 2.

Beregningen af intra-seriel-impræcision for sammenligningsmetoderne udføres på patientprøvernes dobbeltbestemmelser, se tabel 1. Værdierne er inddelt i forskellige niveaugrupper efter den første måling i hver dobbeltbestemmelse med HemoCue UA.

Dag-til-dag impræcisionen for sammenligningsmetoderne beregnes på resultaterne fra de interne kontroller som anvendes i rutinearbejdet på de to sygehuslaboratorier, se tabel 2.

Tabel 1. Intra-seriel-impræcision for sammenligningsmetoderne, beregnet på dobbeltbestemmelser på patientprøver.

HemoCue niveau- interval U–Albumin (mg/L)	Sammenligningsmetode Roche			Sammenligningsmetode Beckman		
	Antal outliers	n	CV (%) (95 % konfidensinterval)	Antal outliers	n	CV (%) (95 % konfidensinterval)
LLL	0	8	45,2 (29,9 – 92,0)	0	7	4,1 (2,7 – 9,1)
11 – 40	0	25	10,1 (7,9 – 14,0)	2	23	1,4 (1,1 – 2,0)
41 – 80	1	26	3,6 (2,8 – 5,0)	1	25	2,2 (1,7 – 3,1)
81 – 149	0	28	2,7 (2,1 – 3,6)	2	28	1,7 (1,4 – 2,3)
HHH	1	10	1,5 (1,0 – 2,7)	1	10	2,7 (1,9 – 4,9)

Tabel 2. Dag-til-dag imprecisionen for sammenligningsmetoderne.
Resultat med kontrol materiale.

Metode/Reagenslot/Dato Kontrolmateriale	Angivet U-Albumin (mg/L)	Opnået middelværdi U-Albumin (mg/L)	n	CV (%)* (95 % CI)
Roche/153607/011206-020117 BioRad Liquichek UrinAlb 1	18,2 ± 3,7	15,6	35	5,2 (4,2 – 6,8)
Roche/157725/020118-020222 BioRad Liquichek UrinAlb 1	18,2 ± 3,7	14,9	38	6,5 (5,3 – 8,4)
Roche/153607/011206-020117 BioRad Liquichek UrinAlb 2	96 ± 19	92	35	3,1 (2,5 – 4,1)
Roche/157725/020118-020222 BioRad Liquichek UrinAlb 2	96 ± 19	83	40	4,7 (3,9 – 6,0)
Beckman/-/011203-020225 Beckman Vigil PRx Level 1	9,0 ± 2,0	11,2	10	5,5 (3,8 – 10,0)
Beckman/-/011203-020225 Beckman Vigil PRx Level 2	33	32	56	7,7 (6,5 – 9,5)

* CV (%) i tabellen angiver den totale dag-til-dag imprecision for kontrolresultaterne fra forskellige dage, dvs. inklusiv intraseriel variation.

For Roche har samme kontroller været anvendt under hele afprøvningsperioden, men fra og med 2002-01-18 blev nyt reagenslot taget i brug.

Rigtighed

Sygehuslaboratorierne deltager i kvalitetssikringsprogram for U-Albumin, lav niveau, som leveres af EQUALIS. En ny kontrol udsendes hver 3. måned og resultaterne fra deltagerne sammenlignes. I de udsendelser, som beskrives nedenfor i tabel 3 har et stigende antal, mellem 44 og 91 laboratorier rapporteret resultat for U-Albumin. Danderyds Sygehus har skiftet fra Dako til Roche U-Albumin-metode i oktober 2001. Derfor er deres tidligere data udeladt i tabellen.

Tabel 3. Resultater for sammenligningsmetoderne
i EQUALIS program for extern kvalitetssikring.

År/uge nummer	U-Albumin Middelværdi for samtlige laboratorier (mg/L)	Afvigelse U-Albumin Roche/Danderyd		Afvigelse U-Albumin Beckman/Karolinska	
		(mg/L)	(%)	(mg/L)	(%)
2001-35	58,0	–	–	-12,0	-21
2001-47	19,7	+0,3	+2	-2,7	-14
2002-06	59,1	+1,9	+3	-10,1	-17
2002-20	28,7	-1,7	-6	-0,7	-3
2002-35	104	+4,0	+4	–	–
2002-47	57,8	+2,2	+4	-3,8	-7
2003-02	19,2	-2,2	-12	-2,9	-15

Vurdering af sammenligningsmetoderne

For U–Albumin savnes en alment anerkendt referencemetode. Det betyder, at det er svært at afgøre, hvad der er rigtigt når forskellige metoder ikke giver samme resultat. Begge sammenligningsmetoder er godkendte af den amerikanske myndighed "Food and Drug Administration" (FDA). Det kræves at metoderne er veldokumenteret og at producenten har et kvalitetssystem som kan vise at producentens egne kvalitetsspecifikationer opfyldes. FDA har ingen egne kvalitetskrav for U–Albumin-metoder.

Ved en afprøvning vil man gerne verificere sammenligningsmetodernes rigtighed med et certificeret referencemateriale som har sporbare koncentrationer angivet. For U–Albumin findes intet urin-baseret materiale. I mangel på urinbaseret materiale anvender producenten af U–Albumin-test, et serumbaseret referencemateriale, CRM 470. Resultaterne fra Beckman og Roche metoder er begge sporbare til CRM 470. Beckman kalibrator har lav koncentration (19,8 mg/L) og Roche kalibrator har høj koncentration (400 mg/L).

Roche metode anvendes på Danderyds Sygehus med modificeret kalibreringsrutine. Dermed er de målte værdier ikke strikt sporbare til en angiven kalibrator på lavt niveau. Som det ses senere i denne rapport så giver alle tre metoder HemoCue, Roche og Beckman ens middelværdier på lavt koncentrationsniveau. Se figur 9. Modificeringen af kalibreringsrutinen er derfor ikke afgørende for konklusionerne i denne rapport.

Som det fremgår af tabel 1 er imprecisionen målt på patientprøver på lavt niveau, relativt høj med Roche metode, og lav med Beckman metode. Disse metoder har forskelligt design. Med Roche metode kan de fleste rutineprøver måles uden at prøven fortyndes, men til gengæld er præcisionen ikke så høj i det lave område. Beckman metode har høj præcision i det lave område men til gengæld måtte flere rutineprøver fortyndes. Imprecisionen målt med kontrolmateriale vises i tabel 2. Ved måling på disse prøver er imprecisionen nogenlunde lige stor for begge sammenligningsmetoder.

Rigtigheden ved sammenligningsmetoderne vurderes udefra middelværdier af samtlige deltageres resultater i EQUALIS kvalitetssikringsprogram. Se tabel 3. Allerede her står det klart at der findes en niveau forskel mellem Roche og Beckman metode ved koncentrationer over 40 mg/L. Beckman metode giver lavere resultater end både Roche og HemoCue metode. Dette viser sig endnu tydeligere længere fremme i rapporten.

Med Roche metode fortyndes den høje kalibrator i flere trin ned til lav koncentration. På denne måde får man en ikke-lineær kalibreringskurve som anvendes til at beregne prøvernes resultat.

Med Beckman metode fortyndes høje prøver til niveauer omkring kalibratorenes koncentration, og resultaterne fås ved, at de fortyndede prøvers resultat multipliceres med fortyndingsfaktoren. Med Beckman fremgangsmåde er det meget vigtigt at fortyndingsforholdet virkelig er det som fortyndingsfaktoren angiver. Da afprøvningens resultater blev klare kontaktedes Karolinska Laboratoriet og Beckman Coulters repræsentanter i Sverige, for at høre om fortyndingsforholdene kontrolleres. En sådan kontrol laves ved den årlige instrumentverificering som udføres ifølge akkrediteringskravene. Senest blev denne kontrol udført i september 2001, men resultatet fra ny kontrol er endnu ikke klar. Indtil videre mistænker man at Beckman metode på højt niveau giver resultater som er falsk for lave.

Afprøvningens gennemførelse

Oversigt over udførte målinger i afprøvningen:

	Almen Praksis		Sygehuslaboratorium		
	Lægehus M	Lægehus Å	Karolinska	Karolinska	Danderyd
	Hemo- Cue	Hemo- Cue	Hemo- Cue	Beckman	Roche
HemoCue instrumenternes overenstemmighed, 10 replikater på 3 patientprøver	-	-	X	-	-
Intra-seriel-impræcision og sammenligningsmetode, dobbeltbestemmelser på 101 patientprøver	-	-	X	X	X
Intra-seriel-impræcision og sammenligningsmetode, dobbeltbestemmelser på 54 patientprøver	X	-	-	X	X
Intra-seriel-impræcision og sammenligningsmetode, dobbeltbestemmelser på 58 patient-prøver	-	X	-	X	X
Dag-til-dag impræcision, dobbeltbestemmelser på kontrolprøver	X	X	X	X	X
Tillægsundersøgelse, dobbeltbestemmelser på 154 lave prøver	-	-	X	X	X
I alt antal målinger (ca.)	850		1 350		

Forberedelser

HemoCue AB udvalgte fotometre og lot numre af mikrokuvetter til anvendelse i afprøvningen. Fotometre og kuvette-lotnumre blev tilfældigt udtaget fra salgslageret.

HemoCue UA-fotometrenes serienummer: Sygehuslaboratoriet 0 135 401 031
 Lægehus M 0 118 400 008
 Lægehus Å 0 120 400 012
 Instrument i beredskab..... 0 118 400 004

Mikrokuvetternes lot nr.: 110 013.

HemoCue AB oplyste, at man plejer at give en oplæring af ca. en times varighed til alle, som skal udføre analysen på de lægehuse, som skal anvende HemoCue UA. Lena Piscator havde sådanne gennemgange for involverede parter ved planlægningsmødet, og efterfølgende på sygehuslaboratoriet og lægehusene lige inden de begyndte at anvende HemoCue UA-instrumentet.

Kontrol af HemoCue UA-instrumenternes overensstemmelse

Ved den parallelle afprøvning ved sygehuslaboratoriet og lægehusene behøvedes tre HemoCue UA-fotometre plus et i reserve. Ifølge SKUP-modellen skal instrumenternes, i dette tilfælde fotometrenes, overensstemmelse kontrolleres før afprøvningen.

Alle instrumenterne opstilledes ved siden af hinanden på laboratoriet på Karolinska Sygehuset. En patientprøve med lav U–Albumin-koncentration, ca. 20 – 30 mg/L, og en prøve med høj koncentration, ca. 100 mg/L, blev udvalgt blandt rutineprøverne. Disse prøver analyseredes hver ti gange på alle HemoCue UA-fotometer.

Ifølge specifikation fra HemoCue AB er intra-seriel-impræcision udtrykt som CV 12,7 % ved niveau 22 mg/L og 4,3 % ved niveau 69 mg/L. SKUP foreslog og HemoCue AB accepterede, at CV måtte stige max 30 %, når den gennemsnitlige impræcision for resultaterne fra de forskellige instrumenter sammenlignedes med den totale impræcisionen for resultaterne fra alle fire instrumenter. (Ex.: hvis CV på niveau 22 mg/L beregnes til 10,0 % må CV stige til 13,0 %.) Hvis CV blev højere, skulle det vurderes som, at instrumentet ikke opfylder kravene om overensstemmelse. Beregningerne skulle så udføres på middelværdier for de forskellige instrumenter med henblik på hvilke middelværdier som signifikant udskiller sig fra hinanden. HemoCue AB skulle kontaktes for at bytte afvigende instrumenter.

Da overensstemmelses-afprøvningen var gennemført viste det sig at instrumentet med serienummer 0 118 400 004 gav nogle mulige outlier-resultater på det høje niveau, og ligeledes dårligere CV end de øvrige instrumenter trods fjernelse af disse resultater. Derfor blev der målt på yderligere en prøve på højt niveau. Resultaterne fra samtlige tre prøver fremgår af tabellerne 4 og 5. Rådata, se bilag 1.

Tabel 4. Resultater af overensstemmelses-afprøvningen.
Middelværdier og CV pr. instrument.

	Instrumentnummer			
	0118 400 004	0135 401 031	0120 400 012	0118 400 008
Prøve nr. 1 (n = 10)				
U–Albumin middelværdier (mg/L):	24,2	25,0	24,3	23,0
CV (%):	6,1	5,3	4,4	5,0
Prøve nr. 2 (n = 10)				
U–Albumin middelværdier (mg/L):	109,4	109,1	102,9	103,4
CV (%):	15,5	7,3	6,2	6,7
Prøve nr. 3 (n = 10)				
U–Albumin middelværdier (mg/L):	94,6	95,1	95,9	90,2
CV (%):	7,0	3,7	4,3	5,6

Tabel 5. Resultater af overensstemmelses-afprøvningen. ANOVA-beregning.
Hvordan total CV påvirkes af, at flere instrumenter anvendes.

Prøve nr.:	U-Albumin middelværdi (mg/L)	Intra-instrument-CV (%)	Mellem-instrument-CV (%)	Total CV (%)	CV stigning (%)
1	24,1	5,2	3,0	6,1	15
2	106,2	9,9	1,1	9,9	1
3	94,0	5,3	2,1	5,7	8

”Intra-instrument-CV” beregner gennemsnitligt CV for et instrument

”Mellem-instrument-CV” beregner gennemsnitligt CV mellem instrumenterne eksklusiv intra-instrumentvariationen.

”CV stigning (%)” beregner den procentvise stigning af CV fra ”Intra-instrument-CV” til ”Total CV”.

De opstillede krav om overensstemmelse mellem HemoCue instrumenterne i afprøvningen opfyldes altså med god marginal. Selvom det tredje prøvede instrument (nr. 0 118 400 004) gav noget dårligere CV end øvrige instrumenter. Dette instrument anvendtes ikke under afprøvningen. Det stod i beredskab, for det tilfælde, at et af de andre instrumenter skulle gå i stykker.

På sygehuslaboratoriet

Afprøvningen ved sygehuslaboratoriet afspejler optimale forhold. Analyserne med HemoCue UA er udført af en erfaren bioanalytiker som i mange år dagligt har arbejdet med analysering.

På Danderyds Sygehus målt U-Albumin på rutineprøverne med Roche metode på analyse-automaten Roche Modular P-modul. Denne metode er den ene sammenligningsmetode i denne afprøvning. Blandt rutineprøverne blev prøver udvalgt, så værdierne blev jævnt fordelt over HemoCue UAs måleområde, 10–150 mg/L, samt lige over og under. Desuden blev også nogle prøver med meget høje værdier valgt for at kontrollere, at man ikke kunne få falsk lave resultater ved antigen-overskud. Hvis prøven havde synlig uklarhed eller hemolyse noteredes dette.

Ca. 100 patientprøver analyseres over ca. 25 forskellige arbejdsdage, det vil sige ca. 4 prøver om dagen. Samtlige analyser på en og samme prøve udførtes inden for 3 døgn. Dette gælder naturligvis ikke analyserne til bestemmelse af dag-til-dag imprecisionen (se længere fremme i rapporten). Urinprøverne blandes grundigt før hver analysering. Hver prøve deles op og den ene portion analyseredes yderligere en gang med Roche-metoden på Danderyds Sygehus.

Den anden portion sendes til Karolinska Sygehuset til måling med de andre sammenligningsmetoden, Beckman på instrumentet Image, og med HemoCue UA. Analyserne på Karolinska Sygehuset blev udført gennemsnitligt et døgn efter analyserne med Roche-metoden på Danderyds Sygehus. Der udførtes dobbeltbestemmelser på sammenligningsmetoderne Beckman og på HemoCue UA. Det blev kontrolleret før måling med HemoCue UA at prøven havde stuetemperatur. Synligt uklare prøver blev centrifugeret ved mindst 1200 g i 10 minutter.

Dag-til-dag imprecisionen med HemoCue UA kontrolleres på Karolinska Sygehuset, dels ved daglig måling af intern kontrol og dels ved at patientprøverne måles i duplikat Dag 1 og måles igen som enkeltprøve Dag 2, Dag 3 eller Dag 4. Den dag som prøven måles igen blev varieret. Nogle prøver analyseredes Dag 2, nogle Dag 3 og så videre.

I Almen Praksis laboratorierne

I Sverige er almen praksis organiseret anderledes end i Danmark. I Sverige er det almindeligt med store lægehuse med flere læger. Disse lægehuse kaldes på svensk "vårdcentraler". Ofte, men ikke altid, arbejder bioanalytikere på praksislaboratoriet. På de to lægehuse som deltog i afprøvningen arbejder flere bioanalytikere.

Afprøvningen på de to lægehuse afspejler de forhold, som HemoCue UA normalt kommer til at anvendes under. Det er ikke "superlaboranter" som udvælges, og lægehusene har ikke fået speciel oplæring med tanke på afprøvningen. Man har fulgt vanlige rutiner i lægehusene, og prøverne er håndteret som om de indgik i rutinearbejdet.

Under planlægningsmødet blev det diskuteret, hvor mange personer der skulle udføre analyserne i de respektive lægehuse: I lægehusene har så mange bioanalytikere, som normalt ville udføre en sådan analyse i løbet af en tre ugers periode, udført analyserne. Det er to til tre personer.

Urinprøverne blev taget som stikprøver i hvert lægehus på ca. 40 voksne patienter. Patienterne var enten diabetikere eller hypertensionspatienter. Alle patienter i disse to kategorier, blev valgt konsekutivt i overensstemmelse med SKUP-protokollen. Prøverne i lægehusene kommer fra patienter som ville have fået den taget, hvis analysen havde fandtes i rutinesortimentet. Der findes altså ingen krav om, at analyseresultaterne skal være fordelt over hele måleområdet. Der blev taget ca. tre prøver pr. dag fra hvert lægehus over 20 forskellige arbejdsdage. Analyseringen i lægehusene blev udført på prøvetagningsdagen, og analyseringen med sammenligningsmetoderne blev foretaget dagen efter prøvetagningen.

Urinprøven blev opsamlet i urinbæger af plast. Prøven udportioneres over i to sterile prøverør af plast. Urinprøven analyseres i lægehuset to gange med HemoCue UA. I overensstemmelse med instruktionerne for HemoCue UA, anvendes engangsmateriale, Pasteurpipetter i plast og Para-Film®, for at overføre prøve til kuvetten.

Den ene af prøverne sendes til Klinisk kemi Danderyds Sygehus, og den anden sendes til Klinisk kemi Karolinska Sygehus. På Danderyds Sygehus blev prøverne målt på sammenligningsmetoden Roche, og på Karolinska Sygehuset blev prøverne målt på sammenligningsmetoden Beckman. Analyseringen med de to udvalgte sammenligningsmetoder blev udført dagen efter prøvetagningen.

Dag-til-dag imprecisionen med HemoCue UA kontrolleres i lægehusene ved hjælp af daglig analysering af intern kontrol.

Tillægsundersøgelse

Baggrund

Da den oprindelige planlagte SKUP-afprøvning var gennemført, viste det sig at et af de tre anvendte HemoCue UA-instrumenter på samme prøve gav både LLL-resultat, som betyder <10 mg/L, og HHH-resultat, som betyder >150 mg/L. Fejlen viste sig på to forskellige prøver. Når prøver ifølge protokollen er kørt som duplikat og givet to forskellige resultater, skal de køres om en tredje gang.

	U-Albumin HemoCue UA (mg/L)			U-Albumin Roche (mg/L)		U-Albumin Beckman (mg/L)	
	1.	2.	3.	1.	2.	1.	2.
Sekvens:	1.	2.	3.	1.	2.	1.	2.
Prøve 1:	LLL	HHH	HHH	0	0	<2	<2
Prøve 2:	HHH	LLL	LLL	1	1	4	4

Resultaterne med sammenligningsmetoderne viser at HHH-resultatet med HemoCue UA var falsk høje.

Sammenlagt blev der i afprøvningen målt 34 prøver som gav LLL-resultat. På disse prøver udførtes ca. 70 målinger hvoraf 3 målinger gav falsk HHH-resultat.

Fejlfrekvensen blev da ca. 4 (1 – 12) %, med et tosidet 95 % konfidensinterval for denne binomialfordeling indenfor parenteser.

Da den oprindelige afprøvning var klar meddelte HemoCue AB at man havde opdaget en programfejl i de HemoCue UA-instrumenter som blev produceret til og med maj 2002. Denne fejl kunne være årsag til falske HHH-resultater ved meget lave koncentrationer af albumin i urin. Fejlen fandtes altså på samtlige tre instrumenter som var med i den oprindelige afprøvning. Fra og med juli 2002 fik alle HemoCue UA-instrumenter, både tidligere producerede og nyproducerede, et modificeret program uden fejl. HemoCue AB gav SKUP til opgave at lave en tillægsundersøgelse for at kontrollere at instrumenter med det nye program ikke kunne give falsk høje resultater.

Forberedelser

HemoCue AB sørgede for at de tre instrumenter som anvendtes ved den oprindelige SKUP-afprøvning fik det nye program. HemoCue AB leverede også kufferter til tillægsundersøgelsen. Kufferterne var fra et almindelig lot, som sælges på markedet. Lotnummer: 2 080 014. Udløbsdato: 2003.05.16.

Ligeledes leverede HemoCue AB også den interne kontrol som rekommanderes for HemoCue UA. Denne kontrol hedder "Low AlbuTrol". Lotnummer: 22 642. Udløbsdato: Januar 2003.

Statistik

Tillægsundersøgelsens formål er at vise, at fejlen er væk. Med et rimeligt antal målinger kan man dog i praksis bare fastslå at fejlfrekvensen er lav. Ved den oprindelige afprøvning var fejlfrekvensen 3 på 70 eller ca 4 %. For tillægsundersøgelsen beregnes det, at man skal lave mindst 299 fejlfri målinger for at fastslå at fejlfrekvensen med 95 % sandsynlighed er mindre end 1,0 %. Denne beregning bygger på, at for en binomialfordeling med 299 værdier og prevalens 0 bliver det ensidige 95 % konfidensinterval for prevalensen 0,0 til 1,0 %.

Tillægsundersøgelsens gennemførelse

150 patientprøver, som med Roche eller Beckman metode gav resultatet <10 mg/L, blev udvalgt blandt rutineprøverne på Danderyds Sygehus og Karolinska Sygehuset.

De udvalgte prøver blev derefter målt i duplikat med HemoCue UA af en erfaren bioanalytiker på Karolinska Sygehuset.

- Den første HemoCue UA måling blev altid udført på instrumentet fra lægehus M. Det var det instrument som gav falsk høje resultater ved den oprindelige afprøvning. De andre HemoCue UA målinger blev lavet for hver anden prøve med instrumentet fra Karolinska Sygehuset og for hver anden prøve med instrumentet fra lægehus Å.
- Indtil måling med HemoCue UA opbevares prøverne på køl.
- Samtlige målinger på en og samme prøve udføres inden for fire dage.
- Urinprøven blandes grundigt før hver måling.
- Ingen af de udvalgte urinprøver havde synlig uklarhed eller hemolyse.
- Ved måling på HemoCue UA kontrolleres at prøven ikke havde lavere temperatur end stuetemperatur.

ANALYTISKE KVALITETSMÅL

Ifølge SKUP bør den ønskede analytiske kvalitet specificeres, inden den undersøgte metodes afprøvning begynder. Der findes ingen alment accepterede analytiske kvalitetsmål ved bestemmelse af U–Albumin. Ligesom ved nogle tidligere SKUP-afprøvninger, kommer afprøvningens resultater til at vurderes ud fra analytiske kvalitetsmål, som kan udledes fra oplysninger om biologisk variation for komponenten som måles med den afprøvede metoden.

Analytiske kvalitetsmål udledt af biologisk variation

Modeller der bruger analytiske kvalitetsmål udledt af biologisk variation bliver mere og mere accepterede [5]. Fra data om biologisk variation som intra-individ-CV og inter-individ-CV kan man beregne ønsket kvalitet, udtrykt som ønskværdig-impræcision, ønskværdig bias (middelfvigelse) og ønskværdig-total-fejl. Begrebet total-fejl anvendes for den sammenlagte effekt af impræcision og bias.

Ordet ønskværdig er nedenfor erstattet med ordet tilladt, det er for at fortælle at tallene for impræcision, bias og total-fejl angiver øverste grænseværdi. Det er ønskværdigt at tallene er så lave som muligt, dog maximalt de angivne tal.

I en tidlig publikation af Fraser [6] anføres som analytisk kvalitetsmål, at total-fejlen skal være mindre end halvdelen af den biologiske intra-individ-variation.

I samme artikel skrives, at kvalitetsmålet for U–Albumin er CV = 18 %. Dette begrundes i at intra-individ-CV for U–Albumin er 36 %.

I en senere artikel, til eksempel [7], hvor blandt andre Fraser er medforfatter argumenteres for, at både inter-individ-variationen og bias bør tages med i betragtning når kvalitetsmålene fastsættes.

Ricós et al. [8] angiver for U–Albumin (morgenurin) intra-individ-CV = 36 %, inter-individ-CV = 55 % og beregner tilladt-impræcision-CV = 18 %, tilladt-bias = 16,4 % og tilladt-total-fejl = ±46,1 % (p<0,05). Følgende formler er anvendt:

$$(\text{Tilladt impræcision}) < 0,5 \times (\text{Intra - individ - CV})$$

$$(\text{Tilladt bias}) < 0,25 \times \sqrt{(\text{Intra - individ - CV})^2 + (\text{Inter - individ - CV})^2}$$

$$(\text{Tilladt - total - fejl } (p < 0,05)) < 1,65 \times (\text{Tilladt impræcision}) + (\text{Tilladt bias})$$

Gambaro et al. [9] og Howey et al. [10] angiver for U–Albumin (morgenurin) intra-individ-CV = 35,5 % og inter-individ-CV = 36 %. Ricós formler giver med disse tal tilladt-impræcision CV = 18 %, tilladt bias = 13 % og tilladt total-fejl = ±42 % (p<0,05).

Ifølge Fraser [6] og Gomes et al. [11] er den biologiske variation hos raske også gældende for individer med stabil diabetes. Koncentrationen af de, for diabetes interessante komponenter er naturligvis på et andet niveau, men variationen er dog den samme.

Ifølge Howey et al. [10] er den biologiske variation hos diabetikere større end hos raske. De angiver intra-individ-CV = 61 % og inter-individ-CV = 75 % for U–Albumin i første morgenurin. Dette kunne tyde på at kravene i de analytiske kvalitetsmål, skulle sættes lavere, fordi testen er lavet til anvendelse på urin fra diabetikere.

Ifølge Sacks et al. [12] bør krav til imprecision sættes noget lavere til $CV = 15 \%$ når U–Albumin resultatet skal anvendes i beregninger af udskillelse per tid eller hvis albumin/kreatinin-ratio skal beregnes.

Kun hvis sammenligningsmetoden ikke har nogle fejl skyldes forskellen mellem resultaterne fra den afprøvede metode og sammenligningsmetoden udelukkende af fejl i den afprøvede metode. I denne afprøvning er imprecisionen i sammenligningsmetoderne i forhold til den biologiske variation meget lille. Som vist tidligere i denne rapport var dag-til-dag CV i gennemsnit ca. 3% for sammenligningsmetoderne beregnet på patientprøvernes eller kontrolmaterialets dobbeltbestemmelser. Man kan da regne ud at tilladt total-fejl kun vil stige nogle tiendedele procent pga. fejl i sammenligningsmetoderne. Man behøver altså ikke at tage hensyn til fejl i sammenligningsmetoderne.

Det analytiske kvalitetsmål er derfor i denne afprøvning, sat til en tilladt total-fejl på $\pm 45 \%$. Dette er en afrundet middelværdi ud fra oplysninger i litteraturen. Disse tal er anvendt som tolerancegrænser i afvigelsesdiagrammet i denne rapport. Grænserne er indtegnet som fuldt optrukne linier i diagrammet.

Tolerancegrænser udledt fra beregnet imprecision

Ved lave resultater bliver tolerancegrænserne $\pm 45 \%$ urimeligt strenge med tanke på imprecisionen både med HemoCue og med sammenligningsmetoderne. Derfor beregnes tolerancegrænser i dette interval på en anden måde. For den afprøvede metode er $CV_{\text{dag-til-dag}} = 11,9 \%$ på niveau 23 mg/L . For sammenligningsmetoden er $CV_{\text{dag-til-dag}} = 6,5 \%$ på niveau 15 mg/L , men $CV_{\text{intraserial}} = 10,1 \%$ på niveau 23 mg/L . Fra disse tal kan man beregne, at 95% af HemoCue resultaterne på niveau 23 mg/L burde afvige mindre end $\pm 8 \text{ mg/L}$ forudsat, der ikke findes nogen bias. Ved koncentrationer under 18 mg/L er tolerancegrænserne $\pm 8 \text{ mg/L}$ større end tolerancegrænserne $\pm 45 \%$.

Ved resultater med sammenligningsmetoden under 18 mg/L anvendes faste tolerancegrænser på $\pm 8 \text{ mg/L}$ for at beregne antal resultater, som opfylder de analytiske kvalitetsmål.

SKUP tolerancegrænser for U–Albumin

I fraværet af alment accepterede kvalitetsmål ved måling af U–Albumin har SKUP i denne afprøvning benyttet de ovenfor udledte tolerancegrænser. Et afprøvningsresultat bliver tydeligere, når man vurderer resultaterne mod specificerede krav, selvom der kan stilles spørgsmål til kravets niveau.

Tolerancegrænserne for tilladt-total-fejl $\pm 45 \%$ respektive $\pm 8 \text{ mg/L}$ er sat med 95% sandsynlighed og det betyder at 5% af værdierne må falde udenfor grænserne. Falder mindre end 5% af de enkelte værdier udenfor tolerancegrænserne så er kvalitetsmålene opfyldt. Falder mere end 5% af værdierne udenfor er kvalitetsmålene ikke opfyldt.

RESULTAT OG DISKUSSION

Intra-seriel-impræcision

Resultat fra sygehuslaboratoriet

Prøveindsamling med mere er beskrevet i afsnittet ”Afprøvningens gennemførelse / På sygehuslaboratorium”. For rådata se bilag 2.

Beregning af intra-seriel-impræcision for HemoCue UA på sygehuslaboratoriet udføres på dobbeltbestemmelserne og resultaterne ses i tabel 6. Værdierne er inddelt i forskellige niveauer, afhængig af den første måling i hver dobbeltbestemmelse med HemoCue UA.

Tabel 6. Intra-seriel-impræcision med HemoCue UA på sygehuslaboratorium, beregnet ud fra duplikatværdier på patientprøver.

Niveau-interval U-Albumin (mg/L)	Out- liers	n	Middelværdier U-Albumin (mg/L)	CV (%) (95 % konfidensinterval)
LLL	–	8	–	–
11 – 40	0	25	22,6	8,6 (6,7 – 12,0)
41 – 80	0	27	61,1	4,9 (3,9 – 6,8)
81 – 149	0	29	111,8	4,8 (3,8 – 6,5)
HHH	–	12	–	–

Sammenlign gerne disse resultater med sammenligningsmetodernes resultater i tabel 1.

I lægehuslaboratorierne

Prøveindsamling med mere er beskrevet i afsnittet ”Afprøvningens gennemførelse / I Almen Praksis laboratorierne”. For rådata se bilag 3 og 4.

Beregning af intra-seriel-impræcision for HemoCue UA i lægehuslaboratorierne blev udført på patientprøvernes dobbeltprøveværdier, og resultaterne ses i tabel 7. Værdierne er inddelt i forskellige niveauer, afhængig af den første måling i hver dobbeltbestemmelse med HemoCue UA.

Tabel 7. Intra-seriel-impræcision med HemoCue UA i lægehusene, beregnet ud fra dobbeltbestemmelser på patientprøver.

Lægehus	Niveau-interval U-Albumin (mg/L)	Outliers	n	Middelværdi U-Albumin (mg/L)	CV (%) (95 % konfidensinterval)
M	LLL	–	12	–	–
M	11 – 40	1	25	21,8	7,0 (4,9 – 11,8)
M	41 – 122	0	12	75,0	6,1 (4,7 – 8,5)
M	HHH	–	5	–	–
Å	LLL	–	14	–	–
Å	11 – 40	0	25	23,1	8,4 (6,5 – 11,6)
Å	41 – 137	0	18	80,7	4,2 (3,1 – 6,3)
Å	HHH	–	1	–	–

Sammenlign gerne disse resultater med sammenligningsmetodernes resultat i tabel 1.

Dag-til-dag impræcision**Resultater fra sygehuslaboratoriet**

Prøveindsamling med mere er beskrevet i afsnittet ”Afprøvningens gennemførelse / På sygehuslaboratorium”. For rådata se bilag 2.

Dag-til-dag impræcisionen for HemoCue UA på sygehuslaboratoriet beregnes først på resultaterne fra målinger på den interne kontrol som HemoCue AB rekommanderer. Beregninger ses i tabel 8.

Tabel 8. Dag-til-dag impræcisionen med HemoCue UA på sygehuslaboratoriet, beregnet på resultater fra intern kontrol.

Kontrolmateriale	Out-liers	n	Middelværdier U–Albumin (mg/L)	CV (%) (95 % konfidensinterval)
MAST™ Liquid Urinalysis Control, Level 2	0	32	62,2	4,3 (3,4 – 5,7)

Sammenlign gerne disse resultater med sammenligningsmetodernes resultat i tabel 2.

Dag-til-dag impræcisionen med HemoCue på sygehuslaboratoriet er også beregnet ud fra dobbeltbestemmelser på patientprøver, se tabel 9. Den første værdi i hver dobbeltbestemmelse er fra den første måling med HemoCue og de andre værdier i hver dobbeltbestemmelse er resultatet når prøven måles igen, en, to eller tre dage senere.

Tabel 9. Dag-til-dag impræcisionen med HemoCue UA, beregnet på patientprøvernes dobbeltbestemmelser på sygehuslaboratoriet.

U–Albumin-interval (mg/L)	Out-liers	n	Middelværdier U–Albumin (mg/L)	CV (%) (95 % konfidensinterval)
10 – 40	0	24	22,8	11,9 (9,2 – 16,7)
41 – 80	0	28	60,3	7,5 (6,0 – 10,3)
81 – 147	0	27	111,3	6,4 (5,0 – 8,7)

I lægehuslaboratorierne

Prøveindsamling med mere er beskrevet i afsnittet ”Afprøvningens gennemførelse / I Almen Praksis laboratorierne”. For rådata se bilag 3 og 4.

Dag-til-dag imprecisionen for HemoCue UA i lægehuslaboratorierne beregnes på resultaterne fra målinger med den interne kontrol som HemoCue AB rekommanderer. Beregningerne ses i tabel 10.

Tabel 10. Dag-til-dag imprecisionen med HemoCue UA i lægehusene, beregnet på internkontrollens resultat.

Lægehus/ Kontrolmateriale	Out- liers	n	Middelværdier U–Albumin (mg/L)	CV (%) (95 % konfidensinterval)
Lægehus M/ MAS™ Liquid Urinalysis Control, Level 2	0	31	65,1	6,2 (4,9 – 8,3)
Lægehus Å/ MAS™ Liquid Urinalysis Control, Level 2	0	31	63,9	3,9 (3,1 – 5,2)

Sammenlign gerne disse resultater med sammenligningsmetodernes resultat i tabel 2.

Vurdering af målte intra-seriel og dag-til-dag imprecision

Intra-seriel-imprecision varierede for sygehuslaboratoriet (tabel 6) og lægehuslaboratorierne (tabel 7) mellem 4,2 og 8,6 CV % med de højeste tal for de laveste koncentrationer.

Tilsvarende tal for sammenligningsmetoderne havde CV % mellem 1,4 og 10,1 (tabel 1). Beckman-metoden udmærker sig positivt gennem meget lav imprecision i det lave koncentrationsinterval. Beregningen af intra-seriel-imprecision foretages ifølge SKUP-manualen efter udelukkelse af outliers.

Dag-til-dag imprecision for den interne kontrol på sygehuslaboratoriet ses i tabel 8, patientprøverne på sygehuslaboratoriet i tabel 9 og den interne kontrol i lægehuslaboratorierne i tabel 10. Dag-til-dag imprecisionen varierede mellem 4,3 og 11,9 CV % med den højeste CV % for de laveste koncentrationer.

Man kan sammenligne disse tal med det analytiske kvalitetsmål som tillader en imprecision på 18 CV %. Selv det alternative kvalitetsmål CV = 15 % opfyldes.

HemoCue UA udviser altså lav imprecision og præcisionen bedømmes som god.

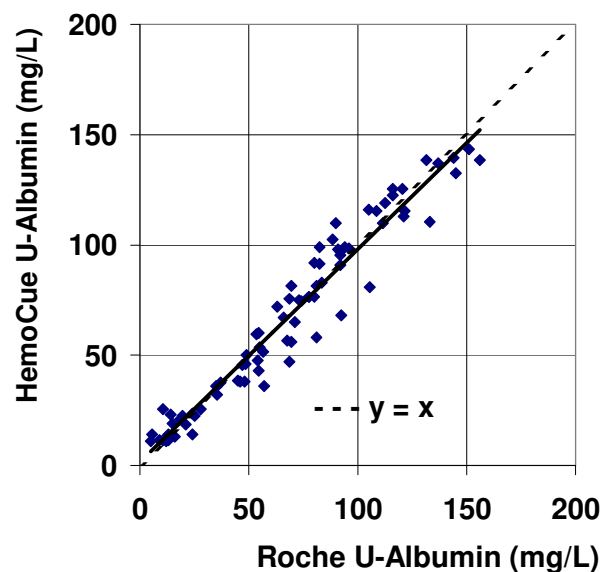
Sammenligning med Roche metode

Resultater fra sygehuslaboratoriet

Prøveindsamling med mere findes beskrevet i afsnittet ”Afprøvnings gennemførelse / I sygehuslaboratoriet”. For rådata se bilag 2.

Korrelation

Korrelationen mellem HemoCue UA og sammenligningsmetoden Roche er baseret på sammenligning af middelværdier af respektive metoders dobbeltbestemmelser og vises i xy-diagram figur 1, og i beregningen af den lineære regression i tabel 11.



Figur 1. Sammenligning af HemoCue UA med Roche. xy-diagram
80 patientprøver målt med HemoCue UA på sygehuslaboratorium

Tabel 11. Sammenligning af HemoCue UA med Roche. Beregning af lineær regression.
Målt med HemoCue UA på sygehuslaboratorium

Parameter	Beregning
Ligning	$y = 0,96 x + 2$
Determinationskoefficient, R^2 (95 % konfidensintervall)	0,94 (0,91 – 0,96)
Antal udelukkede outliers (antal resultater i beregningen)	0 (80)
Standardfejl, SE for residualerne (mg/L)	9
Retningskoefficient (95 % konfidensinterval)	0,96 (0,91 – 1,02)
Intercept (95 % konfidensinterval) (mg/L)	+2 (-3 – +6)

Afvigelse

HemoCue UAs afvigelse i forhold til sammenligningsmetoden Roche fremstilles i tabel 12 og i afvigelsesdiagrammet i figur 2. Det som vises er afvigelsen af den første HemoCue UA-værdi i hver duplikat i forhold til middelværdien for tilsvarende duplikat med sammenligningsmetoden. Diagrammet giver et samlet billede af effekten af både systematiske fejl og tilfældige fejl.

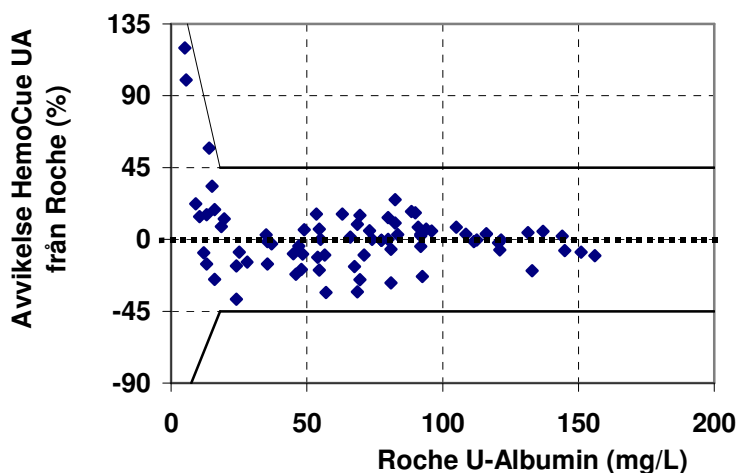
Tabel 12. HemoCue UAs afvigelse på forskellige niveauer til sammenligning med Roche-metoden. Målinger med HemoCue UA er lavet på sygehuslaboratorium.

U-Albumin interval (mg/L)	U-Albumin middelværdier (mg/L)	n	Gennemsnitsafvigelse HemoCue UA - Roche (95 % konfidensinterval) (mg/L)
11 – 40	22	25	-1 (-4 – +2)
41 – 80	62	26	-4 (-7 – 0)
81 – 147	112	28	+2 (-2 – +6)
11 – 147	67	79	-1 (-3 – +1)

Niveaugruppering er lavet efter den første HemoCue UA-måling i hver duplikat.

U-Albumin værdierne i anden kolonne viser den første HemoCue UA-måling i hver duplikat.

Gennemsnitsafvigelsen gælder afvigelsen for den første HemoCue UA-måling i hver duplikat i forhold til middelværdier af tilsvarende duplikat med sammenligningsmetoden.



Figur 2. Sammenligning af HemoCue UA med Roche. Afvigelsesdiagram.

79 patientprøver blev målt med HemoCue UA på sygehuslaboratorium.

En værdi i det lave område falder udenfor skalaen på y-akse.

De fuldt optrukne linier er tolerancegrænser ± 8 mg/L og ± 45 %.

HemoCue UA-målinger er den første værdi i hvert duplikat. Sammenligningsmetodens værdi er middelværdien i tilsvarende duplikat.

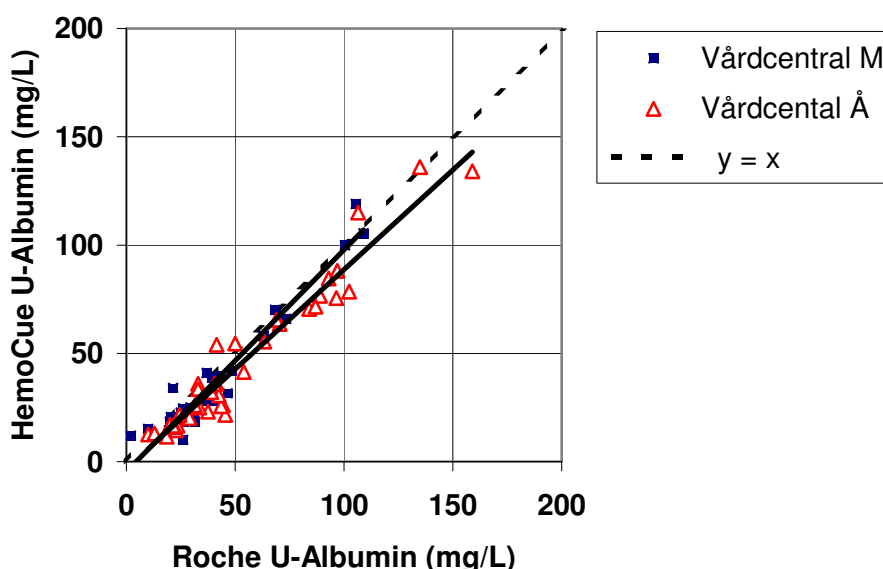
Resultat fra lægehuslaboratorierne

Prøveindsamling med mere er beskrevet i afsnittet ”Afprøvningens gennemførelse / I Almen Praksis laboratorierne”. For rådata se bilag 3 og 4.

For lægehus M er resultatet fra en prøve ekskluderet før korrelations- og afvigelse-beregningerne nedenfor. Formentlig skyldes det afvigende resultat prøveombytning i lægehuset. Da prøven blev genanalyseret med HemoCue UA på sygehuslaboratoriet fik man ikke afvigende værdier i forhold til sammenligningsmetoden.

Korrelation

Korrelationen mellem HemoCue UA og sammenligningsmetoden Roche baseres på sammenligning af middelværdier af respektive metoders dobbeltbestemmelser og ses i xy-diagram, figur 3, og i beregningen af den lineære regression i tabel 13.



Figur 3. Sammenligning af HemoCue UA med Roche, xy-diagram. 71 patientprøver målt med HemoCue UA i lægehus M og Å.

Tabel 13. Sammenligning af HemoCue UA med Roche. Beregning af lineær regression. Målinger med HemoCue UA i lægehus M og Å.

Parameter	Beregning	
	Lægehus M	Lægehus Å

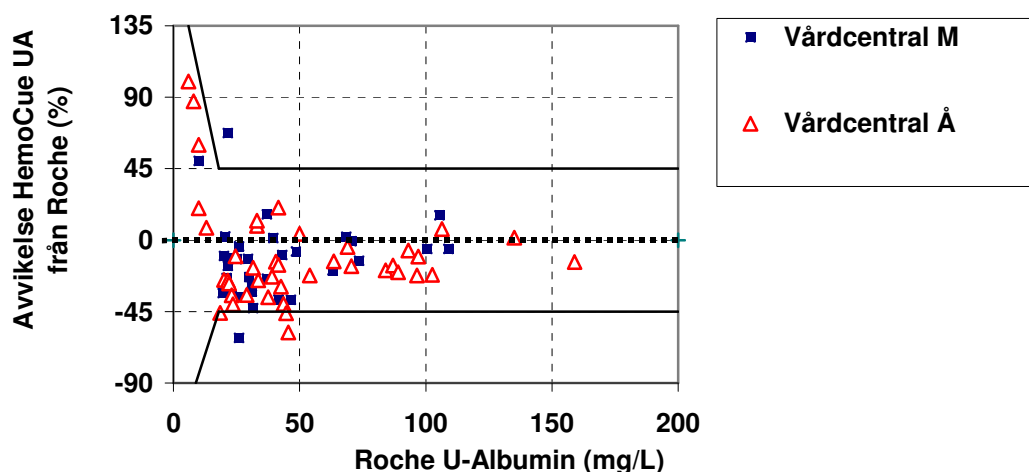
Afvigelse

HemoCue UAs afvigelse i lægehuslaboratorierne i forhold til Roche ses i tabel 14 og i afvigelsesdiagrammet i figur 4. Det er afvigelsen i den første HemoCue UA-måling i forhold til middelværdien for tilsvarende duplikat med sammenligningsmetoden, som vises. Diagrammet giver et samlet billede af effekten af både systematiske fejl og tilfældige fejl.

Tabel 14. HemoCue UAs afvigelse på forskellige niveauer i sammenligning med Roche-metode. Målinger med HemoCue UA er lavet i lægehusene.

Lægehus	U-Albumin interval (mg/L)	U-Albumin middelværdier (mg/L)	n	Gennemsnitsafvigelser HemoCue UA - Roche (95 % konfidensinterval) (mg/L)
M	LLL	–	11	–
M	11 – 40	22	24	-5 (-8 – -1)
M	41 – 122	74	9	-1 (-8 – +5)
M	HHH	–	5	–
Å	LLL	–	9	–
Å	11 – 40	23	26	-5 (-9 – -2)
Å	41 – 137	80	16	-9 (-14 – -4)
Å	HHH	–	1	–

Niveaugruppering er foretaget efter den første HemoCue UA-måling i hver duplikat. U-Albumin målingerne i den tredje kolonne viser den første HemoCue UA-måling i hver duplikat. Gennemsnitsafvigelsen gælder afvigelsen i den første HemoCue UA-måling i hver duplikat, i forhold til middelværdier af tilsvarende duplikat med sammenligningsmetoden.



Figur 4. Sammenligning af HemoCue UA med Roche. Afvigelsesdiagram.

75 patientprøver målt med HemoCue UA på de to lægehuse M og Å. To værdier i det lave område er udenfor skalaen på y-aksen. De fuldt optrukne linier er tolerancegrænser ± 8 mg/L og ± 45 %. HemoCue UA-målingen er den første værdi i hvert duplikat. Sammenligningsmetodens måling er middelværdien i tilsvarende duplikat.

Vurdering af sammenligning med Roche metode

I figur 1 og i tabel 11 ses, at den lineære regression mellem HemoCue UA og Roche er god. Med en retningskoefficient på 0,96 som ikke er signifikant forskellig fra 1 og et intercept på +2 mg/L som ikke er signifikant forskellig fra 0 mg/L. Den lineære korrelation er acceptabel med $R^2 = 0,94$

HemoCue UAs afvigelser i forhold til Roche på sygehuslaboratoriet er små, hvilket fremgår af tabel 12 og af figur 2. I tabel 12 angives middelafravigelserne med konfidensinterval på forskellige niveauer og samtlige konfidensinterval omfatter 0 mg/L. Det betyder, at statistisk signifikante afvigelser ikke kan påvises.

I diagrammet i figur 2 illustreres effekten af både systematiske afvigelser og tilfældige fejl med HemoCue UA på sygehuslaboratoriet. I afsnittet "Analytiske kvalitetsmål" er tolerancegrænser blevet beregnet. Tolerancegrænserne for tilladt-total-fejl $\pm 45\%$ respektive ± 8 mg/L er sat, så 5 % af værdierne må falde udenfor grænserne. 1 af 79 værdier, det vil sige ca. 1 %, falder udenfor grænserne. Resultaterne opfylder dermed de analytiske kvalitetsmål.

I figur 3, og i tabel 13 ses at den lineære regression mellem HemoCue UA i lægehuslaboratorierne og Roche er god, med retningskoefficienter som ikke er signifikant forskellige fra 1, og med intercept som ikke er signifikant forskellig fra 0 mg/L. Den lineære korrelation er ligeledes her acceptabel med $R^2 = 0,94$.

HemoCue UAs afvigelser i lægehuslaboratorierne i forhold til Roche metode er små, hvilket fremgår af tabel 14 og af figur 4. I tabel 14 angives gennemsnitsafvigelserne på forskellige niveauer. Konfidensintervallet for afvigelserne omfatter ikke 0 mg/L hver gang, men afvigelserne er alligevel små.

I diagrammet i figur 4 illustreres effekten af både systematiske afvigelser og tilfældige fejl med HemoCue UA i lægehuslaboratorierne. Tolerancegrænserne for tilladt-total-fejl, $\pm 45\%$ respektive ± 8 mg/L, er sat så 5 % af værdierne må falde udenfor grænserne. 7 af 75 værdier, det vil sige ca. 9 %, falder udenfor grænserne. På grund af det begrænsede materiale er usikkerheden stor vurderet ud fra andel af resultater udenfor tolerancegrænserne. Det går derfor ikke at sige at resultatet med sikkerhed afviger fra de analytiske kvalitetsmål. De fleste af de afvigende resultater ligger i det lave koncentrationsinterval og resultaterne med sammenligningsmetoden var i 5 af totalt 7 tilfælde mindre end 26 mg/L.

Flere HemoCue UA-resultater i lægehuslaboratorierne falder udenfor tolerancegrænserne end på sygehuslaboratoriet. Dette kan forklares med, at lægehuslaboratorierne måler en større andel af prøver med lav albuminkoncentration, og at det er i det lave koncentrationsinterval, 10 – 30 mg/L, som HemoCue UA ofte viser resultater med store procentvise afvigelser.

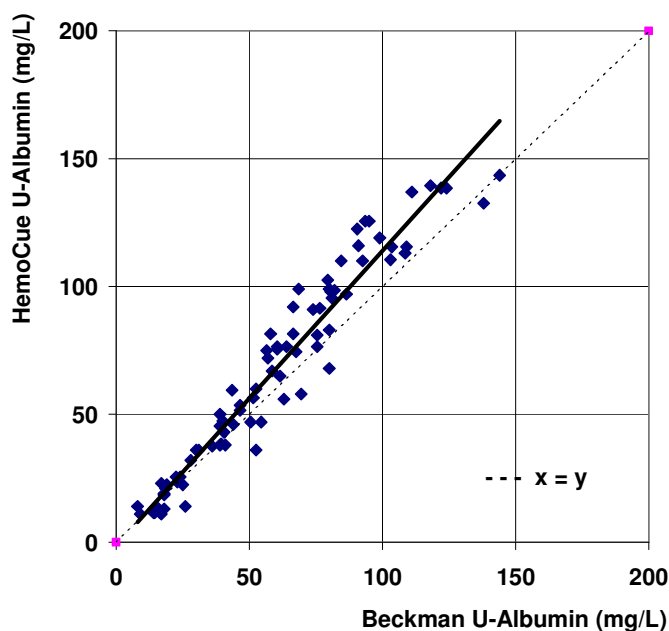
Sammenligning med Beckman metode

Resultater fra sygehuslaboratoriet

Prøveindsamling med mere findes beskrevet i afsnittet ”Afprøvningens gennemførelse / På sygehuslaboratoriet”. For rådata se bilag 2.

Korrelation

Korrelation mellem HemoCue UA og sammenligningsmetode Beckman baserer sig på sammenligning af middelværdier af respektive metodes dobbeltbestemmelser og ses i xy-diagrammet i figur 5, og i beregningen af den lineære regression i tabel 15.



Figur 5. Sammenligning af HemoCue UA med Beckman, xy-diagram. 81 patientprøver målt med HemoCue UA på sygehuslaboratorium.

Tabel 15. Sammenligning af HemoCue UA med Beckman. Målinger med HemoCue UA på sygehuslaboratorium. Beregning af lineær regression.

Parameter	Beregning
Ligning	$y = 1,16 x - 2$
Determinationskoefficient, R^2 (95 % konfidensinterval)	0,94 (0,90 – 0,96)
Antal udelukkede outliers (antal resultater i beregningen)	0 (81)
Standardfejl, SE for residualerne (mg/L)	10
Retningskoefficient (95 % konfidensinterval)	1,16 (1,09 – 1,22)
Intercept (95 % konfidensinterval) (mg/L)	-2 (-6 – +3)

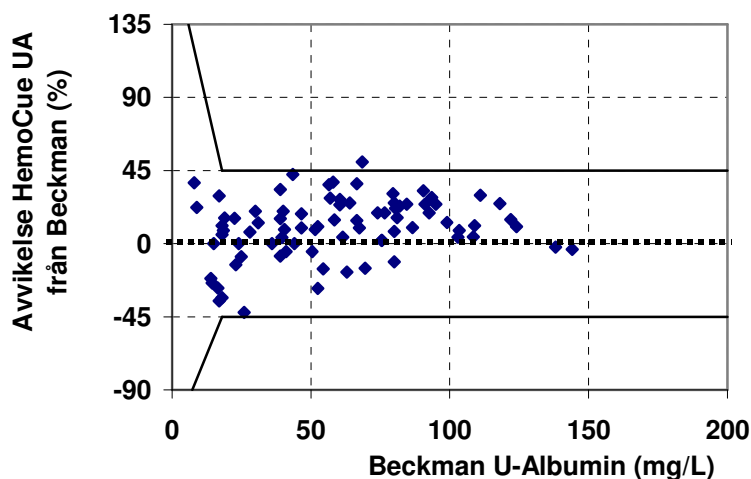
Afviigelser

HemoCue UAs afvigelse på sygehuslaboratoriet i forhold til Beckman metode, vises i tabel 16, og i afvigelsesdiagrammet i figur 6. Det som vises er afvigelsen i den første HemoCue UA-måling i hvert duplikat i forhold til middelværdierne i tilsvarende duplikat med sammenligningsmetoden. Diagrammet giver et samlet billede af effekten af både systematiske fejl og tilfældige fejl.

Tabel 16. HemoCue UAs afvigelse på forskellige niveauer til sammenligning med Beckman-metoden. Målingerne med HemoCue UA er udført på sygehuslaboratorium.

U-Albumin interval (mg/L)	U-Albumin middelværdier (mg/L)	n	Gennemsnitsafvigelser HemoCue UA - Beckman (95 % konfidensinterval) (mg/L)
11 – 40	22	25	-1 (-3 – +1)
41 – 80	62	28	+6 (+2 – +10)
81 – 147	112	28	+17 (+13 – +20)

Niveaugruppering er lavet efter den første HemoCue UA-måling i hver duplikat. U-Albumin værdierne i den anden kolonne viser den første HemoCue UA-måling i hvert duplikat. Gennemsnitsafvigelserne er afvigelsen i den første HemoCue UA-måling i hver duplikat i forhold til middelværdier af tilsvarende duplikat med sammenligningsmetoden.



Figur 6. Sammenligning af HemoCue UA med Beckman. Afvigelsesdiagram. 81 patientprøver målt med HemoCue UA på sygehuslaboratorium. De fuldt optrukne linier er tolerancegrænser ± 8 mg og ± 45 %. HemoCue UA-værdierne er den første værdi i hvert duplikat. Sammenligningsmetodens værdi er middelværdien i tilsvarende duplikat.

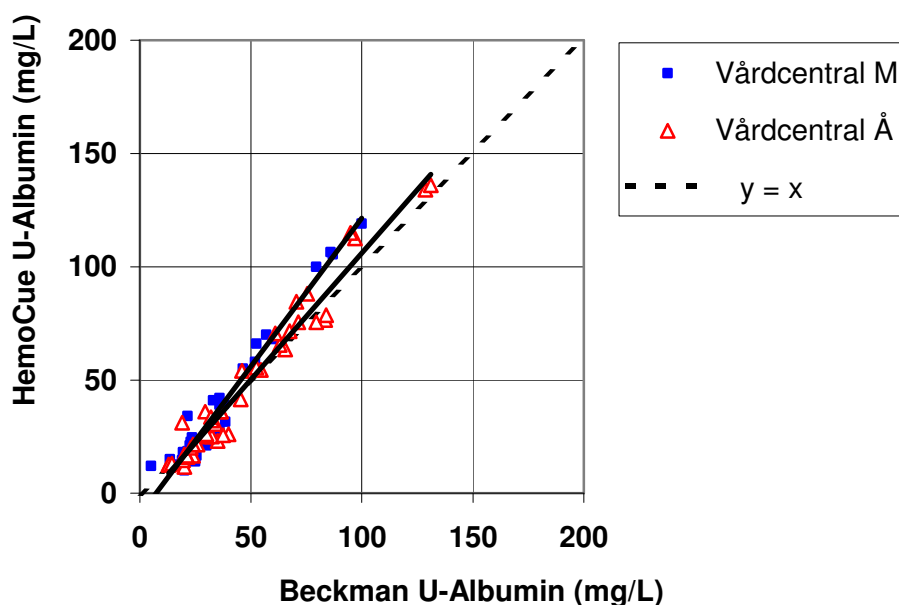
Resultater fra lægehuslaboratorierne

Prøveindsamling med mere findes beskrevet i afsnittet ”Afprøvningens gennemførelse / I Almen Praksis laboratorierne”. For rådata se bilag 3 og 4.

Korrelation

Korrelation mellem HemoCue UA og sammenligningsmetoden Beckman baserer sig på sammenligning af middelværdier af respektive metodes dobbeltprøveværdier og ses i xy-diagrammet i figur 7, og i beregningen af den lineære regression i tabel 17.

For lægehus M er resultat fra en prøve udelukket inden beregning. Formentlig skyldes afvigelsen en prøveombytning i lægehuset. Prøven ble analysert med HemoCue UA på sygehuslaboratoriet uden afvigende resultater i forhold til sammenligningsmetoden.



Figur 7. Sammenligning af HemoCue UA med Beckman. xy-diagram. 80 patientprøver målt med HemoCue UA i lægehus M og Å.

Tabel 17. Sammenligning af HemoCue UA med Beckman. Beregning af lineær regression. Målinger med HemoCue UA er udført i lægehus M og Å.

Parameter	Beregning	
	Lægehus M	Lægehus Å
Ligning	$y = 1,31 x - 10$	$y = 1,12x - 6$
Determinationskoefficient, R^2 (95 % konfidensinterval)	0,96 (0,91 – 0,96)	0,96 (0,93 – 0,98)
Antal udelukkede outliers (antal resultater i beregningen)	0 (37)	0 (43)
Standardfejl, SE for residualerne (mg/L)	6	7
Retningskoefficient (95 % konfidensinterval)	1,31 (1,22 – 1,40)	1,12 (1,05 – 1,19)
Intercept (95 % konfidensinterval) (mg/L)	-10 (-13 – -6)	-6 (-10 – -2)

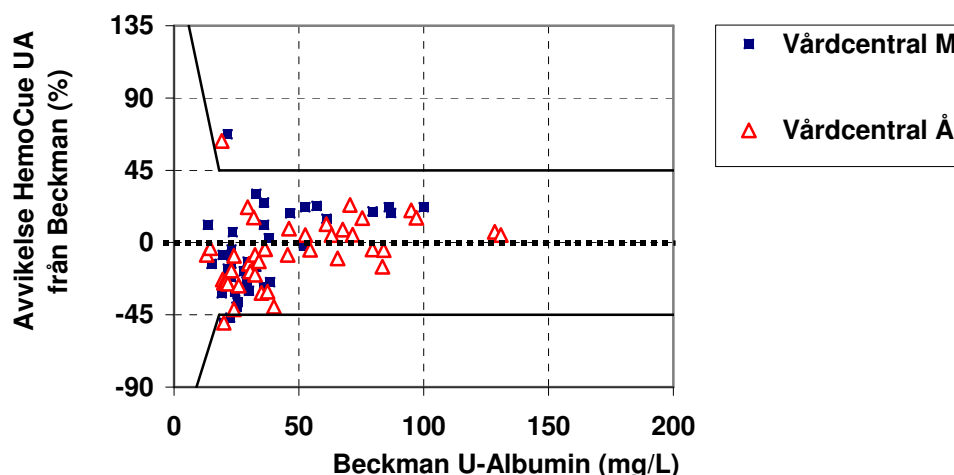
Afvigelse

HemoCue UAs afvigelse i lægehuslaboratorierne i forhold til Beckman metode ses i tabel 18, og i afvigelsesdiagrammet i figur 8. Det er afvigelsen i den første HemoCue UA-måling i forhold til middelværdien for tilsvarende duplikat med sammenligningsmetoden, der vises. Diagrammet giver et samlet billede af effekten af både systematiske fejl og tilfældige fejl.

Tabel 18. HemoCue UAs afvigelser på forskellige niveauer til sammenligning med Beckman-metoden. Målingerne med HemoCue UA er udført i lægehusene.

Lægehus	U-Albumin interval (mg/L)	U-Albumin middelværdier (mg/L)	n	Gennemsnitsafvigelser HemoCue UA - Beckman (95 % konfidensinterval) (mg/L)
M	LLL	–	10	–
M	11 – 40	21	26	-3 (-6 – -1)
M	41 – 137	75	11	+12 (+8 – +16)
M	HHH	–	4	–
Å	LLL	–	9	–
Å	11 – 40	23	25	-4 (-6 – -1)
Å	41 – 137	80	18	+4 (0 – +8)
Å	HHH	–	1	

Niveaugrupperingen er foretaget efter den første HemoCue UA-måling i hver duplikat. U-Albumin værdierne i den tredje kolonne viser den første HemoCue UA-måling i hvert duplikat. Gennemsnitsafvigelserne gælder afvigelsen mellem den første HemoCue UA-måling og middelværdien af duplikaterne med sammenligningsmetoden.



Figur 8. Sammenligning af HemoCue UA med Beckman. Afvigelsesdiagram. 77 patientprøver målt i de to lægehuse. En værdi i det lave område er udenfor skalaen på y-aksen. De fuldt optrukne linier er tolerancegrænser ± 8 mg/L og ± 45 %. HemoCue UA-målingerne er den første måling i hvert duplikat. Sammenligningsmetodens værdier er middelværdier i tilsvarende duplikat.

Vurdering af sammenligning med Beckman metode

I figur 5, og i tabel 15 ses at den lineære regression mellem HemoCue UA og Beckman giver retningskoefficienten 1,16, som er signifikant forskellig fra 1, og interceptet -2 mg/L, som ikke er signifikant forskellig fra 0 mg/L. Den lineære korrelation er acceptabel med $R^2 = 0,94$.

HemoCue UAs afvigelser i forhold til Beckman på sygehuslaboratoriet fremgår af tabel 16, og af figur 6. Afvigelseerne er små på lav og mellemniveau, men lidt større på højt niveau. I tabel 16 angives middelafrvigelseerne med konfidensinterval på forskellige niveauer. På lavt niveau omfatter konfidensintervallet 0 mg/L. Dette betyder, at statistisk signifikant afvigelse ikke påvises på det lave niveau. På mellem og højt niveau omfatter konfidensintervallet ikke 0 mg/L. På disse niveauer er HemoCue UAs resultater signifikant højere end Beckman. Roche metoden afviger på samme måde fra Beckman metode. Det er muligt, at Beckman viser for lave resultater på højt niveau.

I diagrammet i figur 6 illustreres effekten af både systematiske afvigelser og tilfældige fejl med HemoCue UA ved sygehuslaboratoriet. I afsnittet "Analytiske kvalitetsmål" er tolerancegrænser beregnet. Tolerancegrænserne for tilladt-total-fejl $\pm 45\%$ respektive ± 8 mg/L er sat så 5 % af værdierne må falde udenfor grænserne. 1 af 81 værdier, det vil sige ca. 1 %, falder udenfor. Disse resultater opfylder altså de analytiske kvalitetsmål.

I figur 7 og i tabel 17 ses, at den lineære regression mellem HemoCue UA i lægehuslaboratorierne og Beckman giver retningskoefficienterne 1,31, respektive 1,12, som begge er signifikant forskellige fra 1. Interceptet -10, respektive -6 mg/L, er begge signifikant forskellige fra 0 mg/L. Den lineære korrelation er god med $R^2 = 0,96$ for begge lægehusene.

HemoCue UAs afvigelser i lægehuslaboratorierne i forhold til Beckman sammenligningsmetode viser samme tendens som på sygehuslaboratoriet, hvilket fremgår af tabel 18, og af figur 8. I tabel 18 angives gennemsnitsafvigelseerne på forskellige niveauer. HemoCue afviger ligeledes her med højere resultater på højt niveau, men ikke lige så meget som på sygehuslaboratoriet.

I diagrammet i figur 8 illustreres effekten af både systematiske afvigelser og tilfældige fejl med HemoCue UA i lægehuslaboratorierne. Tolerancegrænserne for tilladt-total-fejl, $\pm 45\%$ respektive ± 8 mg/L, er sat så 5 % af værdierne må falde udenfor grænserne. 6 af 77 værdier, det vil sige ca. 8 %, falder udenfor. På grund af det begrænsede materiale er usikkerheden stor i opvejning af antal resultater udenfor tolerancegrænserne. Det kan derfor ikke med sikkerhed afgøres om resultatet afviger fra de analytiske kvalitetsmål. De afvigende værdier ligger alle i det lave koncentrationsinterval, da resultaterne med sammenligningsmetoden var mindre end 23 mg/L.

Flere HemoCue UA-resultater i lægehuslaboratorierne falder udenfor tolerancegrænserne end på sygehuslaboratoriet. Dette kan forklares med, at lægehuslaboratorierne måler en større andel af prøver med lav albuminkoncentration, og at det er i det lave koncentrationsinterval, 10 – 30 mg/L, HemoCue UA har de største procentvise afvigelser.

I en nylig publiceret afprøvning lavet på Akademiska Sygehus i Uppsala af Brännström et al. [13] sammenlignes HemoCue UA (y) med Beckman Array (x) som er et noget ældre nefelometer-instrument fra Beckman. Sammenligningen blev lavet ved at beregne en regressionslinie som tvinges til at gå gennem origo. Da blev $y = 1,11x$ (n=80) ved sammenligning på sygehuslaboratoriet og $y = 1,07x$ (n=25) respektive $y = 0,98x$ (n=29) ved to forskellige lægehuslaboratorier. Ved SKUP-

afprøvninger er det ofte resultaterne fra sygehuslaboratoriet som giver mulighed for den bedste beregning, da måleområdet er bredere. Hvis man regner på resultaterne i denne SKUP-rapport på samme måde som ovenfor med en regressionslinje gennem origo så bliver $y = 1,126x$ ($n=80$). Resultaterne fra metodesammenligningerne på Karolinska Sygehuset og Akademiska Sygehus, som begge anvender nefelometrisk metode fra Beckman, er altså næsten ens.

Erfaringer fra begge metodesammenligninger

Beckman-metoden afviger ved høje koncentrationer

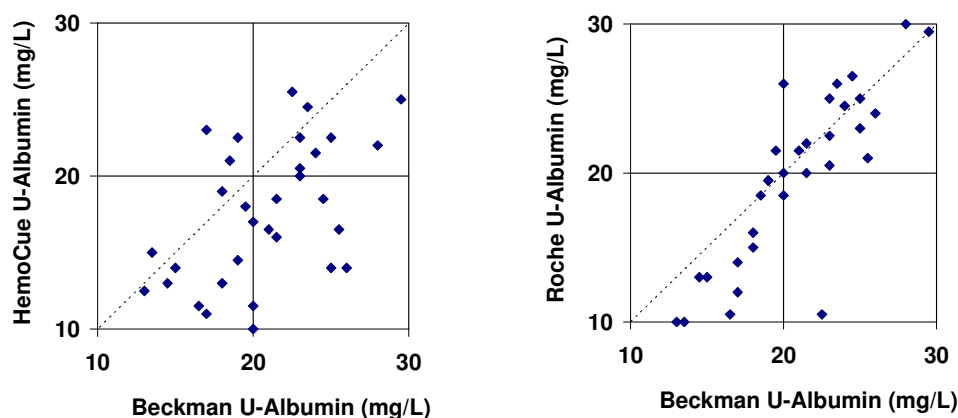
Resultaterne fra de to metodesammenligninger som indgår i denne SKUP-rapport kan forenklet udtrykkes sådan, at alle tre U-Albumin metoder, HemoCue UA, Roche og Beckman, giver overensstemmende middelværdi niveauer indenfor koncentrationsintervallet 0 – 40 mg/L. Ved koncentrationer over dette interval giver Beckman lavere resultater end HemoCue UA og Roche.

Som nævnt tidligere giver Beckman metode ved koncentrationer > 40 mg/L formentlig resultater som er falsk for lave. Dette bekræftes af resultaterne i den eksterne kvalitetssikring som ses i tabel 3.

Diskussion af forskelle ved lav koncentration og effekten af prøveopbevaring

Observerede forskelle

Eftersom afvigelserne for HemoCue UA ved forskellige koncentrationer er omtrent lige store, udtrykt i mg/L, så er afvigelserne regnet i procent størst ved lave koncentrationer. Intervallet 10 – 30 mg/L er interessant eftersom <20 mg/L ofte anvendes som medicinsk ”behandlingsgrænse”. For at belyse forskellene mellem metodernes målinger ved dette niveau, blev resultater, som lå i intervallet 10 – 30 mg/L med samtlige tre metoder, udvalgt. Derefter udelukkes alle resultater som, med en af metoderne, ikke gav reproducerbare resultat, defineret som >5 mg/L forskel mellem dobbeltprøvesvarene. Roche forårsagede eksklusion af fem prøver og HemoCue af en prøve. Dobbeltbestemmelsernes middelværdi fra de resterende 32 prøver er indtegnet i diagrammet i figur 9.



Figur 9. Sammenligning af de forskellige metoders resultat i intervallet 10 – 30 mg/L. Hvorledes udvalget af resultater er gjort fremgår af teksten. Middelværdierne af alle resultater i diagrammet: HemoCue UA 17,6 mg/L, Roche 19,6 mg/L og Beckman 20,8 mg/L.

Det venstre diagram i figur 9 viser at den lineære sammenhæng mellem HemoCue UA resultaterne og Beckman-resultaterne er svagt, $R^2 = 0,26$. Tilsvarende sammenhæng med Roche metode er også svag (data vises ej). Det højre diagram i figur 9 viser at den lineære sammenhæng mellem de to sammenligningsmetoders resultat er ret god ($R^2 = 0,72$, hvilket er signifikant bedre end 0,26).

Dette viser at HemoCue UA på lavt niveau afviger mere fra de to sammenligningsmetoder, end sammenligningsmetoderne indbyrdes gør. HemoCue UA giver en reproducerbar for høj måling på visse prøver og en for lav måling på andre. Afvigelserne viser sig selvom imprecisionen og middelfvigelsen er lav. Når en målemetode viser denne type af afvigelser skyldes det, at den påvirkes af en matrixeffekt. Matrixeffekt defineres som den kombinerede effekt af alle andre komponenter i prøven, end den som måles.

En forklaring til forskellene på lavt niveau, kunne være varierende uklarhed i prøven. HemoCue UA korrigerer ikke målingerne for prøvens egen uklarhed. Sammenligningsmetoderne derimod måler absorbans respektive lysspredning både før og efter antistofreaktionen og kan på denne måde kompensere for prøvens egen uklarhed. En undersøgelse af en eventuel effekt af uklarhed i prøver indgik ikke i protokollen for denne afprøvning.

Effekten af prøveopbevaring

At undersøge effekten af prøveopbevaring indgik heller ikke som en planlagt del af afprøvningen. Efter endt afprøvning blev der spurgt om prøveopbevaring kunne have påvirket afprøvningsresultaterne, for eksempel at prøvens uklarhed forandres eller at albumin adsorberes til opbevaringsglassets sider under opbevaring.

Ved undersøgelse af dag-til-dag imprecisionen blev urinprøverne målt med HemoCue UA to gange ca. et døgn efter prøvetagningen. Derefter målt prøverne en tredje gang, visse prøver to, andre tre respektive fire døgn efter prøvetagningen. Den gennemsnitlige procentvise forandring af målingerne fra døgn et var ved døgn to +0,9 %, ved døgn tre +4,4 % og ved døgn fire -2,9 %. En mulig forklaring til at målingerne med HemoCue UA stiger de tre første døgn er at prøvernes uklarhed øges. At målingerne siden daler døgn fire kan forklares med at albumin adsorberes til prøvetagningsglassets sider.

De sammenlignede målinger med de forskellige metoder blev udført i forskellige sekvenser på sygehuslaboratoriet og i lægehuslaboratorierne. Ved målingerne med HemoCue UA i lægehuslaboratorierne var prøverne helt friske, mens de var ca. 30 timer gamle ved målingerne på sygehuslaboratoriet. Ved målingerne med sammenligningsmetoderne var prøverne i begge tilfælde 24 – 28 timer gamle.

Nedenfor sammenlignes gennemsnitsafvigelserne mellem HemoCue UA og respektive sammenligningsmetode for resultater i intervallet 10 – 40 mg/L. Værdierne kommer fra tabellerne 4 –6.

	Sammenlignet med Roche:	Sammenlignet med Beckman:
HemoCue i lægehus M	-5 (-8 – -1) mg/L, n = 24	-3 (-6 – -1) mg/L, n = 26
HemoCue i lægehus Å	-5 (-9 – -2) mg/L, n = 26	-4 (-6 – -1) mg/L, n = 25
HemoCue på sygehus	-1 (-4 – +2) mg/L, n = 25	-1 (-3 – +1) mg/L, n = 25

HemoCue UA resultaterne på 30 timer gamle prøver ved sygehuslaboratoriet er 2 – 4 mg/L højere end med friske prøver ved lægehuslaboratorierne. En mulig forklaring er, at prøvens uklarhed er øget fra prøvetagning til målingen 30 timer senere. HemoCue UA resultaterne kan da være steget under prøvens opbevaring.

At albumin skulle have adsorberet til prøvetagningsglassets sider, modsiges af at HemoCue resultaterne steg i 30 timer gamle prøver. Når HemoCue UA systemet anvendes som det er tænkt, det vil sige til patientnær måling med friske prøver, ligger HemoCue UA værdierne 3 – 5 mg/L lavere end sammenligningsmetoderne i det lave interval. Denne afvigelse kan ikke forklares af at albumin blev adsorberet til prøvetagningsglassets sider inden prøven blev målt med sammenligningsmetoderne. Tværtimod, hvis albumin blev adsorberet, så skulle HemoCue UA afvige med højere resultater end sammenligningsmetoderne.

Her sammenfattes punktvis ovenstående afsnit:

- Forskel på lavt koncentrationsniveau er observeret mellem HemoCue UA og sammenligningsmetoderne. Forskel i niveau er også observeret ved måling med HemoCue UA ved forskellige tidspunkter efter prøvetagning. Årsagen til begge disse observerede forskelle kan ikke sikkert fastslås. En mulig forklaring er at HemoCue resultaterne i en vis grad påvirkes af prøvens uklarhed.
- I lægehuslaboratorierne hvor flest afvigelser er observeret, måles prøverne med HemoCue UA direkte, uden opbevaring. Prøveopbevaringen kan derfor ikke have forårsaget afvigelse.
- Der findes intet som tyder på at albumin adsorberes til prøvetagningsglassets sider de første døgn efter prøvetagning.

Tillægsundersøgelse

Baggrund for tillægsundersøgelsen

I tabellerne i denne rapport opgøres resultaterne udenfor HemoCue's måleområde, de lave LLL-resultater og de høje HHH-resultater alene i antal. De fleste af disse resultater behøver ikke kommenteres nærmere, eftersom de gav forventet lave eller høje resultater på begge sammenligningsmetoder. Resultaterne på to prøver i lægehus M er dog bemærkelsesværdige. Den ene prøve gav i rækkefølge resultaterne LLL, HHH og HHH. Den anden prøve gav resultaterne HHH, LLL og LLL. Da prøverne ifølge protokollen var kørt som duplikat, og havde givet to forskellige resultater, måles de en tredje gang. Resultaterne med sammenligningsmetoderne viser, at HemoCue UA har givet falsk høje resultater.

Sammenlagt i afprøvningen blev der målt 34 prøver som gav mindst et LLL-resultat. På disse udførtes ca. 70 målinger hvoraf 3 målinger gav falsk høje HHH-resultater. Dette svarer til ca. 4 % fejl på målinger på lavt niveau.

Ifølge HemoCue's instruktioner skal uklare prøver centrifugeres før analyse. Lægehus M har påpeget, at det er svært at afgøre, hvornår en prøve er uklar. Den ene prøve som gav falsk højt resultat var uklar, da prøven skulle analyseres på sygehuslaboratoriet. Det vides ikke hvornår denne uklarhed er opstået. HemoCue AB stiller fra sommer 2002 en turbiditetsskala til rådighed. Det bliver dermed mere objektivt at vurdere, om en urinprøve er uklar.

I afprøvningen på Akademiska Sygehus i Uppsala [13] anså man det for mest praktisk at centrifugere samtlige prøver for at undgå at tage stilling til uklare prøver. Alligevel var der to prøver med falsk for høje resultater på HemoCue UA. I de tilfælde var begge dobbeltprøveværdierne med HemoCue UA falsk for høje.

Da den oprindelige SKUP-afprøvning blev gennemført var der altså risiko for falsk høje resultater med HemoCue UA. HemoCue AB har siden fundet årsagen til de falsk høje resultater og rettet fejlen. Resultaterne fra tillægsundersøgelsen nedenfor viser at problemet med de falsk høje resultater er borte.

Tillægsundersøgelsens resultater

Prøveindsamling med mere findes beskrevet i afsnittet ”MATERIALE OG METODER / / Tillægsundersøgelse”. For rådata se bilag 5.

Ingen falsk høje resultater

Ingen målinger gav falsk HHH-resultat under tillægsundersøgelsen. Under den oprindelige afprøvning var fejlfrekvensen på prøver med lav koncentration ca. 4 %. Ifølge HemoCue AB skyldtes dette en programfejl i instrumentet. Samtlige instrumenter på markedet har siden fået et nyt fejlfrit program. SKUP's tillægsundersøgelse blev udført på de samme instrumenter som den oprindelige afprøvning. Ved tillægsundersøgelsen kunne fejlen ikke påvises.

Med et rimeligt antal målinger og korrekt statistik kan man ikke bevise at en fejl er væk. Man kan vise at fejlprocenten er lav. Totalt blev der udført 308 fejlfri målinger i en serie på 154 prøver med lavt indhold af U-Albumin. Fejlfrekvensen var 0 på 308, det vil sige 0 (0,0 – 1,0) %, hvor det ensidige 95 % konfidensinterval for fejlprocent opgives i parentes. Med 95 % sandsynlighed er fejlfrekvensen mindre end 1,0 %.

PRAKTISKE SYNSPUNKTER:

- Instrumentet er let at anvende. Manualen og instruktionerne er gode og lette at forstå.
- Det er svært at se i urinbægeret om prøven er uklar. Uklare prøver skal centrifugeres for at undgå risiko for falsk høje resultater. Skal man altid centrifugere ?
- Ridsede kuvetter blev observeret, man mener, det gav stor forskel på dobbeltbestemmelserne.
- Noget omstændigt at måle to prøver direkte efter hinanden. Først skal låget åbnes og den gamle kuvette tages ud, derefter skal låget lukkes uden nogen kuvette sidder i for at instrumentet kan nulstilles og først derefter må man sætte den nye kuvette i. Det er let at glemme, at den nye kuvette ikke bare må sættes direkte i instrumentet, når den gamle tages ud.
- Det skete et par gange at HemoCue-fotometret viste en fejlkode som betyder at lysintensiteten er for lav for detektoren. Dette problem klares ved at følge manualen, som siger, at man skal rengøre kuvetteholderen og dækglasset i optikenheden.

REFERENCER

1. Pugia M.J., Lott J.A., Clark L.W., Parker D.R., Wallace J.F., Willis T.W.
Comparison of urine dipsticks with quantitative methods for microalbuminuria.
Eur J Clin Chem Clin Biochem. 1997 Sep;35(9):693–700
2. Hara F., Nakazato K., Shiba K., Shimoda J., Kojima T, Fukumura Y., Kobayashi I.
Studies of diabetic nephropathy. I. Effects of storage time and temperature on microalbuminuria.
Biol Pharm Bull. 1994 Sep;17(9):1241–5.
3. Collins A.C., Sethi M., MacDonald F.A., Brown D., Viberti G.C.
Storage temperature and differing methods of sample preparation in the measurement of urinary albumin. *Diabetologia.* 1993 Oct;36(10):993–7.
4. Burnett R.W., Accurate Estimation of Standard Deviations for Quantitative Methods used in Clinical Chemistry, *Clin Chem*, vol. 21, No. 13, 1975, page 1935–1938.
5. Fraser C.G. & Hyltoft Petersen P., Quality goals in external quality assessment are best based on biology, *Scand J Clin Lab Invest* 1993; 53 suppl 212. Chapter I. Quality planning
6. Fraser C.G., The Necessity of Achieving Good Laboratory Performance, *Diabetic Medicine* 1990; 7: 490–493.
7. Fraser G.F. and Petersen P.H., Analytical Performance Characteristics Should Be Judged against Objective Quality Specifications., *Clin Chem* 1999; 45:3, 321–323.
8. Ricós C. et al., Current databases on biological variation,
Scand J Clin Lab Invest 1999, 59: 491–500.
9. Sebastián-Gambaro M.Á. et al., Intra- and Inter- Individual Biological Variability Data Bank, *Eur J Clin Chem Clin Biochem* 1997; 35 (11): 845–852
Denna databank om biologisk variation finns också återgiven på följande Internet adress:
<http://www.westgard.com>
10. Howey J.E.A., Browning M.C.K., Fraser C.G. Selecting the optimum sample for assessing slight albuminuria, and a strategy for clinical investigation: novel uses of data on biological variation.
Clin Chem 1987; 33:2034-8
11. Gomes M.B. and Gonçalves M.F.R., Is there a physiological variability for albumin excretion rate? Study in patients with diabetes type1 and non-diabetic individuals., *Clin Chim Acta* 2001, 304: 117–123.
12. Sacks D.B., Bruns D.E., Goldstein D.E., Maclaren N.K., McDonald J.M. and Parrott M., Guidelines and Recommendations for Laboratory Analysis in the Diagnosis and Management of Diabetes Mellitus. *Clin Chem* 2002, 48:3: 436–472
13. Brännström C., Palmberg K., Porjebäck A., Johansson K., Löf-Lang E., Sjöberg M. och Larsson A., i tidskrift för Svensk Förening för Klinisk Kemi;
Klinisk Kemi, 2002, 27 (2): 53–57.