

# Lot-lot variasjon -bakgrunn og forslag til utførelse

Med utgangspunkt i CLSI protokoll EP26-A

Joakim Eikeland

Overlege Aker/Rikshospitalet

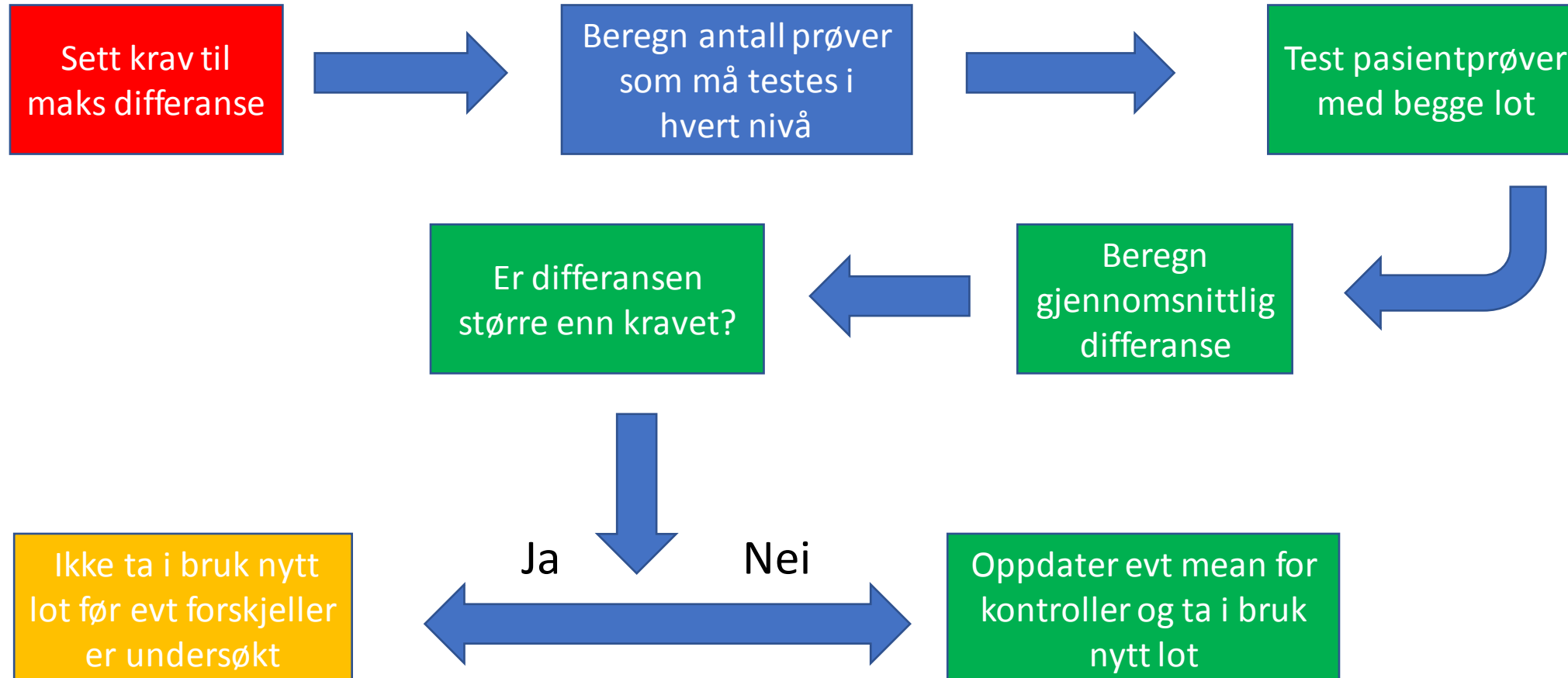
Avdeling for medisinsk biokjemi

Oslo Universitetssykehus

# Bakgrunn for problemstilling

- Alle nye reagenslot kan føre til endring i pasientresultater
  - Derfor må de verifiseres før bruk
- Kontrollmateriale eller lignende bør ikke brukes
  - Kan ha lotspesifikke matrikseffekter som ikke påvirker pasientprøver
  - Bruke pasientmateriale så fremt det er mulig
- Sammenligning forutsetter utført rutine vedlikehold, kalibrering osv

# Foreslått flowchart



# Protokoll fra CLSI



September 2013

---

## EP26-A

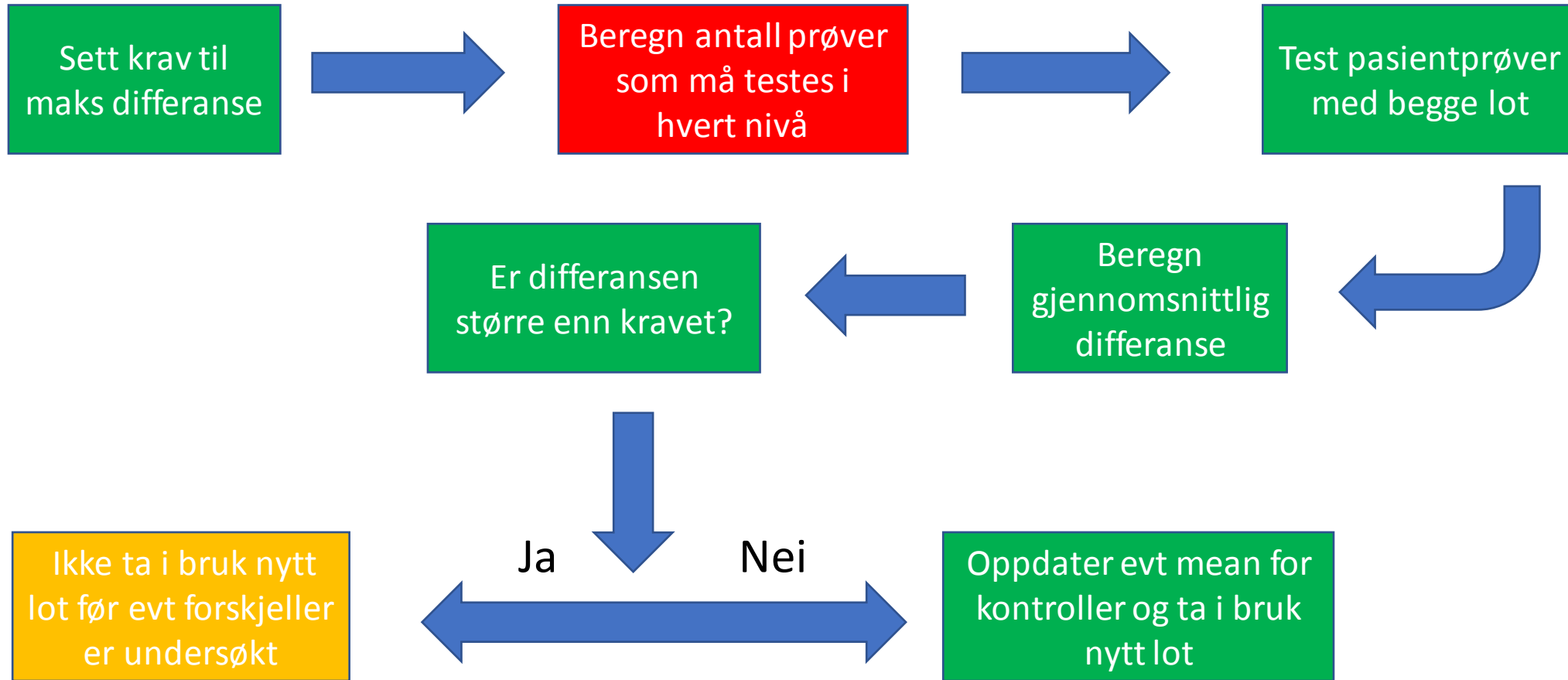
User Evaluation of Between-Reagent Lot  
Variation; Approved Guideline

# Når du har bestemt krav til forskjell

Eget foredrag om tips til hvordan man setter krav

- Dette kravet kalles Critical Difference (CD) i protokollen
- Utfra dette kravet beregnes en avvisningsgrense, f.eks  $0,7 \times CD$ 
  - Kalles Rejection limit (RL) i protokollen
  - Kommer an på ønsket styrke
- Dette er fordi usikkerheten i resultatet ditt ikke skal overskride kravet du har satt til akseptable forskjeller
  - Eks: Hvis kravet ditt er 10 % bør avvisningsgrensen være f.eks 8%
  - jmf usikkerheten i et analysesvar

# Foreslått flowchart



# Bakgrunn for beregning av antall prøver

- Bør ta høyde for å oppdage klinisk signifikante forandringer
  - Dvs sanne positive resultater
- Unngå å konkludere med forskjeller som ikke er relle
  - Dvs falske positive resultater
  - Dette vil skape mye unødvendig arbeid
- Når antall prøver er beregnet én gang basert på et krav trengs det ikke gjøres på nytt ved fremtidige lotskifter

# Beregne antall prøver som skal testes

- Antallet bestemmes av størrelsen på kravet som er satt og presisjonen til analysen
- Generelt vil ytterpunktene her være
  - Vidt krav + god presisjon → Få prøver
  - Strengt krav + dårlig presisjon → Mange prøver



# Hvor mange nivå bør testes?

- Ideelt sett flere konsentrasjonsnivåer som dekker måleområdet
  - Noen lotforandringer påvirker kun lave eller høye verdier nær målegrensene
- Ofte vanskelig og tidkrevende å finne nok prøver til dette
- De fleste analytter har én eller flere beslutningsgrenser
  - Ofte holder det med ett, to eller tre nivåer, jmf kontroller
  - Da vil man også ha beregnet presisjon (VK) i disse områdene

# Tallene i tabellen til EP26-A

## ❖ Baserer seg på

- ✓ Den kjente presisjonen til analysen
  - Både reproduserbarhet og repeterbarhet
- ✓ Ønsket styrke til å oppdage forandringer

## ❖ Nullhypotesen ( $H_0$ ) er at det ikke er lotforskjell

## ❖ Alternativ hypotesen er at forskjellen er større enn kravet

## ❖ En t-test ville i utgangspunktet krevd ganske mange prøver

- I stedet utnytter man at standardavviket/presisjonen er kjent fra før
  - ➔ Dette reduserer behovet for antall prøver til sammenligning av to lot

# Begreper i tabellen

## ❖ Ratioen mellom kravet ditt (CD) og CV til analysen

- Betegnes  $CD/CV_{WRL}$  i protokollen
- $CV_{WRL}$  er CV «Within Reagent Lot» = reproduserbarhet
- Liten ratio → flere prøver nødvendig
- Stor ratio → færre prøver nødvendig
- Eks: kravet ditt er 10 % og analysens CV er 4%  
→ ratioen blir 2,5

## ❖ Ratioen mellom reproduserbarhet og repeterbarhet til analysen

- Betegnes  $S_r/CV_{WRL}$
- $S_r$  er repeterbarhet
- Flere prøver nødvendig jo større forskjellen er
- Eks: Reproduserbarhet er 10% og repeterbarhet er 7%  
→ ratioen blir 0,7

# Forutsetninger

- Normalfordeling
  - Utvalgte prøver i hvert konsentrasjonsområde bør være rimelig like
- Forskjellen mellom prøver bør hovedsakelig være forårsaket av impresisjonen til de to lotene
  - Prøvespesifikk interferens f.eks vil ikke oppfylle krav til normalfordeling
- Krever pålitelig reproduserbarhet (noe de fleste har) og repeterbarhet (noe kanskje ikke alle har?)
  - CLSI guide EP05 gir evt veiledning til beregning av disse verdiene

# Kilder til reproduserbarhet og repeterbarhet

- Fra leverandør (pakningsvedlegg)
- Laboratoriets egen beregning
  
- NB
  - Det er viktig at reproduserbarhet VK ( $CV_{WRL}$ ) kun er fra ett reagenslot (!)
    - Innen-lot VK er tross alt hele utgangspunktet for å beregne forskjeller

# Statistisk signifikans og styrke

- Alfa ( $\alpha$ )
  - Type 1 feil
  - Sannsynligheten for falsk positive resultater
    - Dvs konkludere med en forskjell som ikke er der
  - Settes tradisjonelt til 5% ( $p < 0,05$ ) i de fleste studier
  - **Statistisk signifikans**
- Beta ( $\beta$ ) der  $1-\beta$  er **styrken**
  - Type 2 feil
  - Sannsynligheten for falsk negativ
    - Dvs ikke finne en forskjell som faktisk er der
  - Settes vanligvis mellom 5-20%
  - Dvs at det 80-95% sannsynlighet for å oppdage en forskjell som er større enn kravet
  - Generelt vil flere prøver øke styrken i studien

# Vurdering av ønsket styrke

- Hvis en analytt sterkt påvirker en klinisk beslutning vil man gjerne ha høy styrke ved en lot-lot sammenligning, for eksempel 90-95%
  - F.eks glukose
- Hvis en litt større forandring i resultatet har liten betydning for pasientbehandling trenger man ikke like stor styrke og det holder med f.eks 80%
  - F.eks ALAT/ASAT

# Bestemme antall prøver

- Når man har bestemt styrken og antall nivåer man vil teste i (1-3) kan man så benytte hhv tabell A1-A3
- NB
  - Hvis det antydes i tabellen at én enkelt prøve er nok anbefales det allikevel alltid å teste min 3 prøver for å unngå prøvespesifikke interferenser



# Et eksempel

## ❖ 4 vanlige analytter

- Glukose
- ALAT
- Natrium
- TSH

➤ Krav satt etter forskjellige kriterier

# Beregnede ratioer

Analytt	Nivå	Krav (CD)	Reproduserbarhet ( $CV_{WRL}$ )	Repeterbarhet ( $S_r$ )	$CD/CV_{WRL}$	$Sr/CV_{WRL}$
Glukose	2,8	0,3	0,05	0,03	6	0,6
	8,3	0,8	0,11	0,08	7,5	0,75
	16,6	1,6	0,24	0,19	6,7	0,78
ALAT	40	10	1,3	0,8	7,7	0,6
	200	20	4,1	1,3	4,9	0,3
Natrium	140	5	1,5	1	3,3	0,67
TSH	0,35	0,15	0,02	0,008	7,5	0,4
	5,4	0,8	0,2	0,1	2,5	0,5

# Tabell eksempel (ALAT)

Analytt	Nivå	Krav (CD)	Reproduserbarhet ( $CV_{WRL}$ )	Repeterbarhet ( $S_r$ )	CD/ $CV_{WRL}$	Sr/ $CV_{WRL}$
ALAT	200	20	4,1	1,3	4,9	0,3

Table A2. (Continue

		Number of Samples to Compute Mean Difference (False Rejection Rate, Power if True Difference = CD)				
		Rejection Limit for Mean Difference				
$CD/S_{WRL}$	$S_r/S_{WRL}$	0.90 • CD	0.80 • CD	0.70 • CD	0.60 • CD	0.55 • CD
4.5	0.60	1 (0.004, 0.625)	1 (0.011, 0.738)	2 (0.014, 0.854)	5 (0.024, 0.934)	—
4.5	0.50	1 (0.004, 0.625)	2 (0.017, 0.846)	—	—	—
4.5	0.40	1 (0.004, 0.625)	1 (0.011, 0.738)	2 (0.020, 0.840)	—	—
4.5	0.30	1 (0.004, 0.625)	1 (0.011, 0.738)	2 (0.028, 0.836)	—	—
5	1.00	1 (0.001, 0.638)	1 (0.005, 0.760)	1 (0.013, 0.856)	2 (0.003, 0.977)	2 (0.006, 0.988)
5	0.95	1 (0.001, 0.638)	1 (0.005, 0.760)	1 (0.013, 0.856)	2 (0.004, 0.972)	2 (0.009, 0.984)
5	0.90	1 (0.001, 0.638)	1 (0.005, 0.760)	1 (0.013, 0.856)	2 (0.006, 0.967)	2 (0.012, 0.980)

1. Finn ratio mellom krav og VK, rund nedover (4,9 → 4,5)



2. Finn ratio mellom repeterbarhet og VK



4. Finn antall prøver som må testes i nivået



3. Finn ønsket styrke (her > 80%)



# Resultater for alle 4 analyttene

Analytt	Nivå	Krav (CD)	Reproduserbar (SWRL)	Repeterbar (Sr)	CD/SWR L	Sr/SWR L	Avvisningsgrense	Antall prøver	Styrke
Glukose	2,8	0,3	0,05	0,03	6	0,6	0,6 x CD	2	0,95
	8,3	0,8	0,11	0,08	7,5	0,75	0,7 x CD	1	>0,92
	16,6	1,6	0,24	0,19	6,7	0,78	0,7 x CD	1	>0,92
ALAT	40	10	1,3	0,8	7,7	0,6	0,7 x CD	1	0,9
	200	20	4,1	1,3	4,9	0,3	0,7 x CD	2	0,84
Natrium	140	5	1,5	1	3,3	0,67	0,7 x CD	4	0,69
TSH	0,35	0,15	0,02	0,008	7,5	0,4	0,7 x CD	1	0,9
	5,4	0,8	0,2	0,1	2,5	0,5	0,7 x CD	9	0,83

# Tilbakemelding fra Mayoklinikken

Clinical Biochemistry 50 (2017) 768–771



Contents lists available at ScienceDirect

Clinical Biochemistry

journal homepage: [www.elsevier.com/locate/clinbiochem](http://www.elsevier.com/locate/clinbiochem)



## Evaluation of the CLSI EP26-A protocol for detection of reagent lot-to-lot differences



Brooke M. Katzman, Karl M. Ness, Alicia Algeciras-Schimmich\*

*Department of Laboratory Medicine and Pathology, Mayo Clinic, Rochester, MN, United States*

### ARTICLE INFO

#### Article history:

Received 14 February 2017

Received in revised form 15 March 2017

Accepted 17 March 2017

### ABSTRACT

**Background:** Verification of new reagent lots is a required laboratory task. The Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) EP26-A guideline provides a lot-to-lot verification protocol to detect significant changes in test performance. The aim of this study was to compare the performance of EP26-A with our laboratory reagent lot verification protocol.

# Tilbakemelding fra Mayoklinikken

- Egen prosedyre innebar regresjon med 20 prøver som standard

Analytt	TSH	Tg	T4	T3	ft3	TPOab
Antall prøver med CLSI EP26-A	23 ↑	17 ↓	33 ↑	31 ↑	48 ↑	1 ↓
Innenfor krav egen protokoll	✓	✓	✓	✓	✓	✗
Innenfor krav CLSI EP26-A	✗	✗	✓	✓	✓	✓

- 75% enighet
- 4 av de 6 analyttene krevde flere prøver enn før..

# Min konklusjon

Lot-lot forandringer er en vanlig problemstilling

.. som er vanskelig å forholde seg til

..og det foreligger ingen konsensus om hvordan man gjør det

..men hvis vi jobber sammen for å finne en måte som er enkel og god nok..

..så kanskje det årnær sæ!

Spørsmål?