

Lot-lot variasjon -bakgrunn og forslag til utførelse

Med utgangspunkt i CLSI protokoll EP26-A

Joakim Eikeland

Overlege Aker/Rikshospitalet

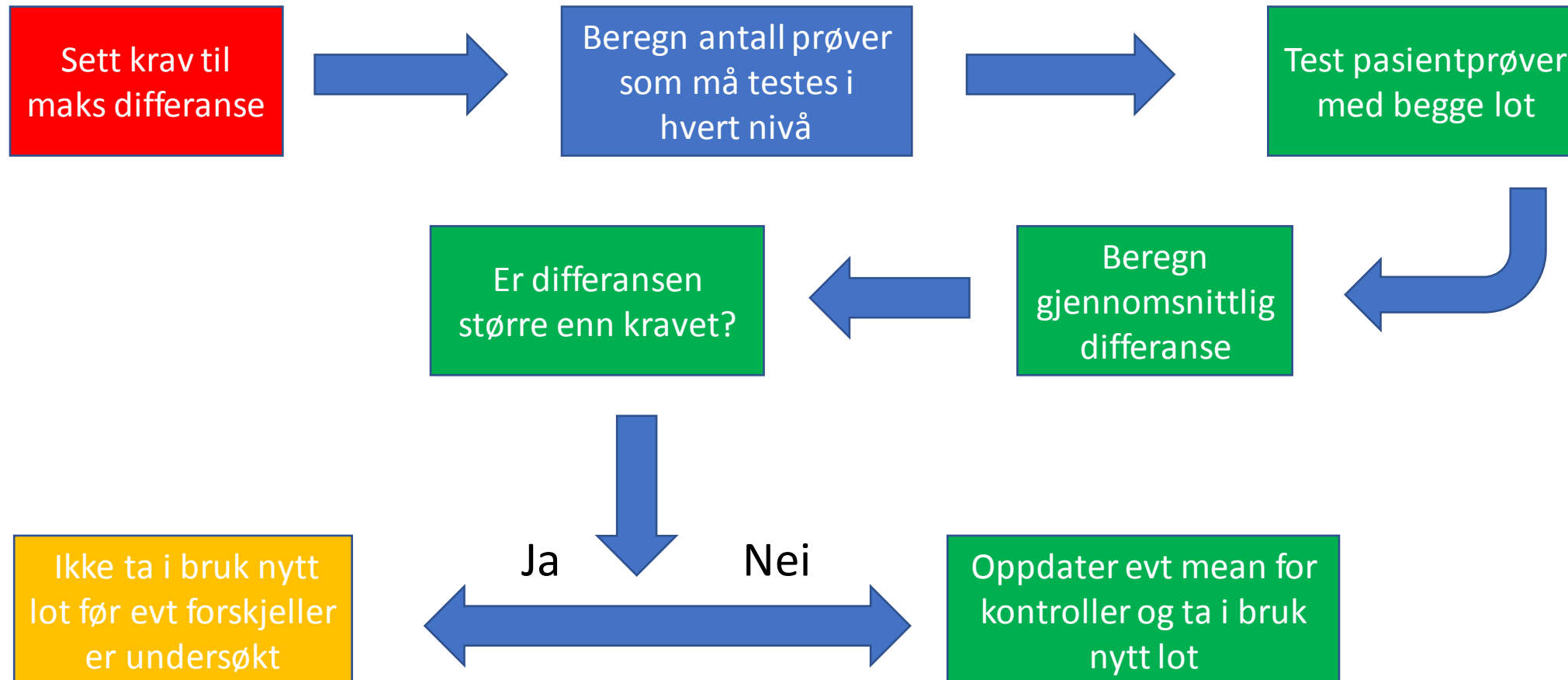
Avdeling for medisinsk biokjemi

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

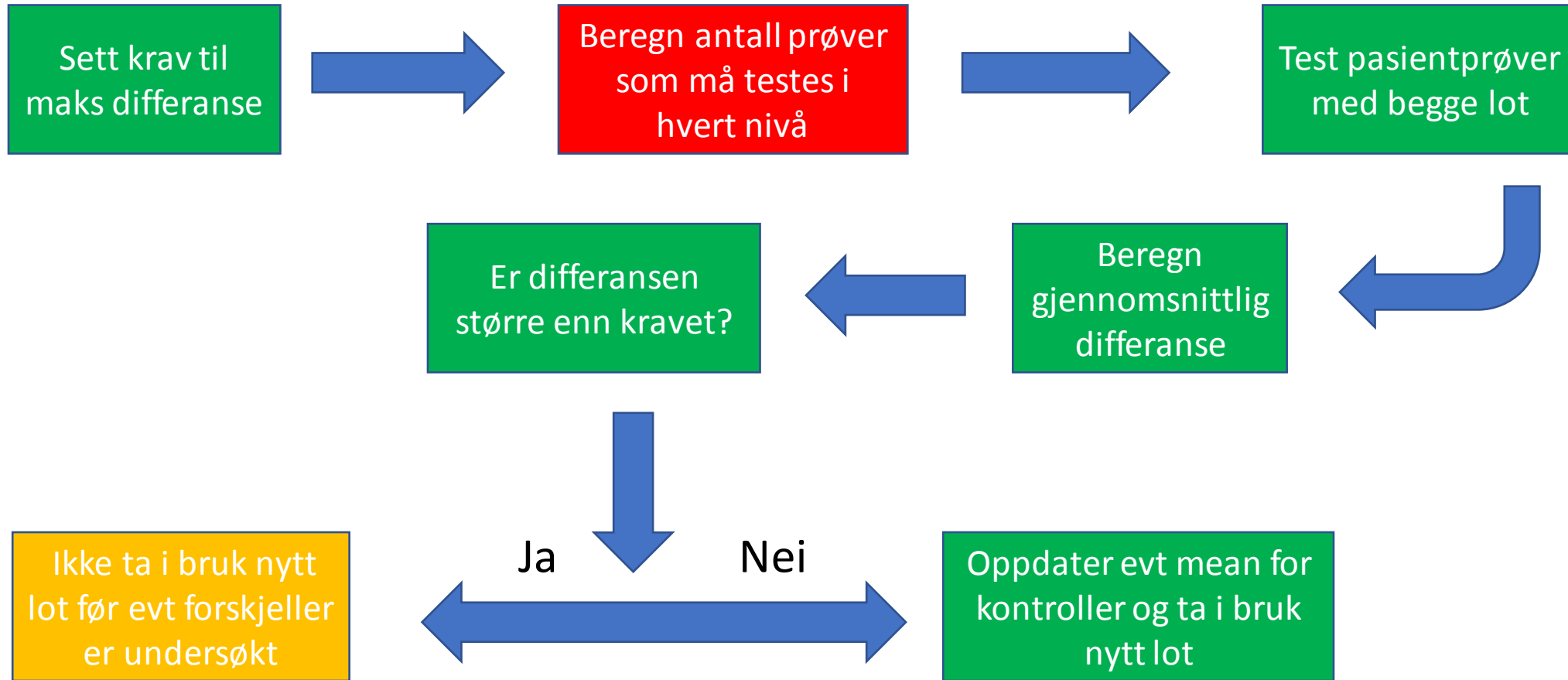
User Evaluation of Between-Reagent Lot
Variation; Approved Guideline

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 (α)
 - 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 (β) 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

Beregneede 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)	1 (0.011, 0.738)	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 (0.023, 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



ELSEVIER

Contents lists available at ScienceDirect

Clinical Biochemistry

journal homepage: 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?