

## **Het externe Laboratoriumkwaliteitscontrole programma van de Federatie van Nederlandse Trombosediensten in 2010**

A.M.H.P. van den Besselaar,  
RELAC-laboratorium, Leiden

### **Inleiding**

Externe kwaliteitsbewaking heeft tot doel de tussen-laboratorium variatie te bepalen. Tevens kan ieder deelnemend laboratorium zijn eigen resultaten vergelijken met de consensuswaarde of een referentiewaarde die onafhankelijk wordt bepaald. Op deze wijze kan iedere deelnemer eventuele systematische afwijkingen op het spoor komen en actie ondernemen om de oorzaak te vinden. In dit verslag worden de resultaten beschreven van het externe Laboratoriumkwaliteitscontrole programma van de Federatie van Nederlandse Trombosediensten (FNT) in 2010.

Tot 2008 werden controlebloedmonsters rondgezonden omdat het programma oorspronkelijk was opgezet voor deelnemers die bepalingen met Thrombotest in bloed uitvoerden. Thans worden PT bepalingen door de overgrote meerderheid van de deelnemers in plasma uitgevoerd. Vanaf januari 2008 worden controleplasma's rondgezonden. In 2010 hebben er tien rondzendingen plaatsgevonden van vijf controleplasma's per zending, waarbij elk controleplasma was bereid uit gepoolde plasma's van patiënten die met vitamine K-antagonisten werden behandeld (VKA monsters). De meeste deelnemers gebruikten Innovin (preparaatnummer 8). In de loop van het jaar hebben enkele deelnemers hun reagens (tromboplastinepreparaat) vervangen door een ander. Sommige deelnemers stuurden resultaten in die met meerdere apparaten in hun laboratorium werden verkregen (zogenaamde dubbele inzendingen). Dubbele inzendingen werden statistisch verwerkt alsof deze van verschillende deelnemers afkomstig waren. In tabel 1 zijn de aantallen per reagens (inclusief en exclusief dubbele inzendingen) weergegeven.

Alle statistische berekeningen werden per preparaatgroep uitgevoerd, d.w.z. per groep deelnemers die hetzelfde tromboplastine gebruikten. Detectie van uitbijters werd met de tolerantieintervalmethode uitgevoerd mits het aantal deelnemers per groep minstens 6 was [1]. Indien het aantal deelnemers per preparaatgroep kleiner dan 6 was, ontvingen deze deelnemers geen Z-score voor hun uitslagen omdat er geen standaarddeviatie werd berekend.

Naast stollingstijden werden ook INR-waarden gerapporteerd. INR-waarden werden eveneens per preparaatgroep geëvalueerd, onafhankelijk van de stollingstijden. Het RELAC laboratorium bepaalde INR-waarden van alle controlemonsters met de meest gebruikte tromboplastinepreparaten, om deze met de uitslagen van de deelnemers te kunnen vergelijken.

### **Bereiding van controleplasma's**

Controleplasma's werden bereid uit gepoold normaalplasma en uit restanten van monsters van patiënten die met vitamine K-antagonisten (VKA) werden behandeld. Aan de controleplasma's werd HEPES buffer toegevoegd om de pH op ongeveer 7,5 te houden. Alle gepoolde VKA plasma's werden fotodynamisch behandeld met behulp van methyleenblauw [3].

Met fotodynamische behandeling kunnen bepaalde virussen zoals HIV, HBV en HCV geïnactiveerd worden. Deze inactivering verhoogt wel de veiligheid van de monsters, maar toch dienen alle controlemonsters als potentieel besmet materiaal te worden behandeld. Aan de monsters werd natrium azide en thiomersal (natriumethylmercurithiosalicylaat) toegevoegd om groei van microorganismen tegen te gaan. Alle controlemonsters werden op de maandag voorafgaande aan de bepalingsdatum bereid en de volgende dag (dinsdag) naar de deelnemers gezonden. De monsters werden tot aan de bepaling op vrijdag bij kamertemperatuur bewaard.

### **Homogeniteit van de monsters**

Homogeniteit van de monsters is essentieel om betrouwbare resultaten van externe kwaliteitsbewaking te verkrijgen. Alle controlemonsters werden door het RELAC laboratorium geanalyseerd om de homogeniteit van de monsters vast te stellen. Homogeniteit heeft geen numerieke waarde, maar het begrip *inhomogeniteit* is gedefinieerd als variatiecoëfficiënt (VC, in %) tussen de individuele buisjes met plasma van een bepaalde batch. Een maximum voor de inhomogeniteit werd bepaald door de variatiecoëfficiënt (VC, in %) van de stollingstijden van 10 afzonderlijke monsters in één run te bepalen. TriniCLOT HTF (Trinity Biotech) en de Thrombolyzer (Coag-A-Mate MAX, Behnk Electronic) werden gebruikt voor de homogeniteitstest. De variatiecoëfficiënten van de stollingstijden lagen tussen 0,5 % en 1,7 % (mediaan VC was 0,9 %). De inhomogeniteit van de monsters is altijd kleiner dan de VC van de stollingstijden omdat de VC van de stollingstijden een combinatie is van de inhomogeniteit van de monsters en de imprecisie van de bepaling zelf. Op basis van de waarnemingen kan worden gezegd dat de inhomogeniteit van de meeste monsters kleiner dan 1 % was. Hierbij moet worden opgemerkt dat de 10 monsters voor de homogeniteitstest op precies dezelfde wijze werden vervoerd en bewaard in het RELAC laboratorium. Bij verschillende vervoer- en bewaaromstandigheden zal de inhomogeniteit van de monsters ongetwijfeld groter zijn [4].

### **Uitbijters**

Bij de statistische evaluatie van de uitslagen van de deelnemers zijn twee categorieën uitbijters te onderscheiden. In de eerste categorie is er sprake van verwisseling van monsters of uitslagen, het verwisselen van stollingstijden en/of INR-waarden, het omrekenen van gemeten stollingstijden naar een andere grootte, of het opgeven van een onjuist preparaatcodenummer. Deze eerste categorie uitbijters zou men kunnen wijten aan slordigheid of administratieve fouten. Het is het beleid van de Federatie om door het Bureau gesignaleerde fouten te verwerken zoals deze werden aangeleverd. Uit het oogpunt van kwaliteitsbevordering is het effectiever om vergissingen niet te corrigeren doch de betrokkene er middels de score mee te confronteren. In de tweede categorie uitbijters is er geen sprake van slordigheid, maar zijn de gemeten stollingstijden of INR-waarden analytisch afwijkend van die van collega's met hetzelfde tromboplastinepreparaat. Uitbijters van de tweede

categorie kunnen veroorzaakt worden door de gebruikte batch van het preparaat (batchverschillen), of door de gebruikte methode of instrumenten, of door inhomogeniteit van de controlemonsters. In tabel 2 is het totaal aantal waarnemingen en het vermoedelijke aantal uitbijters van de eerste en tweede categorie weergegeven. In vergelijking met de gegevens van 2009 is het percentage uitbijters van de eerste categorie afgenomen.

Het totaal percentage uitbijters van de tweede categorie (alle preparaten samen) is licht toegenomen ten opzichte van 2009.

### **Variatie in de stollingstijden**

Uit het voorgaande blijkt hoe belangrijk het is om uitbijters op te sporen en te verwijderen voor berekening van de tussenlaboratoriumvariatie van de stollingstijden. In tabel 3 zijn de mediaan en de range van de VC's van de controlemonsters weergegeven. Vóór verwijdering van uitbijters werden in een aantal gevallen zeer hoge VC's berekend, maar na verwijdering waren alle VC's kleiner dan 10%.

### **Variatie in de INR-waarden**

In tabel 3 zijn de mediaan en de range van de VC's van de INR-waarden van de monsters weergegeven. Na verwijdering van uitbijters waren de VC's van alle controlemonsters kleiner dan 10%. De medianen van de VC's waren in 2010 praktisch gelijk aan die in 2009, met een lichte afname van de mediaan bij preparaat 8 (tabel 4).

### **Systematische INR verschillen**

Zoals in de Inleiding werd gezegd, kan iedere deelnemer eventuele systematische afwijkingen op het spoor komen en actie ondernemen om de oorzaak te vinden, bijvoorbeeld door middel van lokale ISI calibratie. In eerste instantie zal een deelnemer zijn uitslagen van de externe kwaliteitscontrole vergelijken met de groepsgemiddelden van de deelnemers die hetzelfde reagens (preparaat) gebruiken. Naast verschillen tussen deelnemers met hetzelfde preparaat, bestaan er ook verschillen tussen de preparaten. Uit de resultaten van de rondzendingen in 2008 bleek dat de INR uitslagen van de deelnemers met preparaat nummer 8 (Innovin) aanvankelijk lager waren dan die met de andere preparaten. Er zijn twee mogelijke oorzaken voor de INR verschillen tussen de preparaten. Ten eerste zijn de testmonsters niet vers en is het waarschijnlijk dat sommige stollingsfactoren gedeeltelijk zijn geactiveerd of geïnactiveerd. Bovendien bevatten de testmonsters bepaalde toegevoegde stoffen (zie Bereiding van controlemonsters). De tromboplastinepreparaten zijn niet allemaal even gevoelig voor de verschillende stollingsfactoren en toegevoegde stoffen, hetgeen tot verschillen in INR kan leiden. Een tweede mogelijke verklaring voor de verschillen tussen de preparaten is een "fout" in de ISI calibratie. Iedere ISI calibratie heeft een experimentele fout die doorwerkt in de hiermee berekende INR.

In februari 2007 werd een veldstudie uitgevoerd betreffende de ISI van Innovin (preparaat nummer 8)[5]. Uit deze studie bleek dat de door de deelnemers gebruikte ISI gemiddeld lager was dan de ISI die door het RELAC laboratorium werd gebruikt. Dit verschil in ISI kon het verschil in INR verklaren dat reeds in voorafgaande jaren was opgemerkt [4]. De fabrikant van Innovin was in 2006 overgestapt op een nieuwe Master-batch met een ISI die gelijk was aan die van RELAC. Vanaf batch nummer 536943 werden alle nieuwe batches met de nieuwe

Master-batch gecalibreerd. Dit heeft ertoe geleid dat in de loop van 2007 en mogelijk ook in 2008 de gemiddelde ISI van Innovin is toegenomen en daarmee ook de gemiddelde INR uitslagen.

Deze ontwikkelingen in de afgelopen jaren hebben er toe geleid om systematische INR verschillen tussen de preparaatgroepen over langere perioden dan 1 jaar te beschouwen. Waren er in de periode 2008-2010 verschillen in INR tussen de preparaten en waren deze constant of waren er trends te zien? In figuur 1 zijn relatieve verschillen tussen INR consensuswaarden met Innovin en consensuswaarden met Hepato Quick weergegeven. Aan het einde van 2008 was er een toename van het relatieve verschil te zien, gevolgd door een afname in het midden van 2009. Gedurende 2010 bleef het verschil min of meer constant. In figuur 2 zijn de relatieve verschillen tussen INR consensuswaarden met Recombiplastin 2G en consensuswaarden met Hepato Quick in de periode 2009-2010 weergegeven. In de loop van 2009 was er een daling van het verschil, terwijl in 2010 het verschil min of meer constant bleef.

Zonder verdere informatie is het niet mogelijk na te gaan welke preparaten in absolute zin een trend vertoonden. Er is behoefte aan een vast ankerpunt voor ieder monster, een waarde die niet afhankelijk is van toevallige schommelingen en trends. Het RELAC laboratorium gebruikt in iedere ronde meerdere preparaten om de INR van ieder monster te bepalen. In de periode 2009-2010 werden in iedere ronde de preparaten 1, 8, 14, en 60 gebruikt door RELAC. De gemiddelde waarde van INR's bepaald met deze vier verschillende preparaten zal minder schommelingen vertonen dan de waarde bepaald met slechts één preparaat. In het vervolg van dit verhaal wordt de gemiddelde INR van het RELAC laboratorium als ankerpunt gebruikt om een eventuele trend van de consensuswaarden met ieder preparaat aan te tonen. In figuur 3 is het verschil tussen de consensus INR van alle deelnemers met Innovin en de gemiddelde INR van RELAC weergegeven. Vanaf ronde 2009.1 tot ronde 2009.5 was een stijgende trend waarneembaar, gevolgd door een scherpe daling. Vervolgens bleef het verschil min of meer constant.

In figuur 4 is het verschil tussen de consensus INR van alle deelnemers met Recombiplastin 2G en de gemiddelde INR van het RELAC referentielaboratorium weergegeven. Ook hier was het verschil in de eerste helft van 2009 relatief hoog, gevolgd door een daling in de tweede helft van 2009. Vanaf dat moment was er lichte toename tot in 2010.

In figuur 5 is het verschil tussen de consensus INR van alle deelnemers met Hepato Quick en de gemiddelde INR van het RELAC referentielaboratorium weergegeven. In dit geval was er een stijgende trend in 2009 waarneembaar, gevolgd door een min of meer constant verschil in 2010.

Aangenomen dat de gemiddelde INR van het RELAC laboratorium niet wordt beïnvloed door toevallige en systematische fouten, was er in 2009 een dalende trend in de consensuswaarden van Innovin en Recombiplastin 2G, terwijl er een stijgende trend in de consensuswaarde van Hepato Quick werd waargenomen. In 2010 was er nauwelijks een trend te zien.

## **Score voor individuele deelnemers**

Iedere deelnemer ontving een Z-score en een daarvan afgeleide score (“rapportcijfer”) voor iedere uitslag mits het aantal deelnemers met hetzelfde preparaat minimaal 6 was. Kleinere preparaatgroepen ontvingen geen Z-score. In een vorig nummer van Tromnibus is uiteengezet welke nadelen er aan de Z-score verbonden zijn bij de beoordeling van de uitslagen [6].

In de Praktijkrichtlijn van de FNT is 15% afwijking van de consensus- of referentiewaarde als basis voor de normen voor externe kwaliteitsbewaking gekozen. De beoordeling t.o.v. een consensuswaarde (= gemiddelde waarde van de preparaatgroep) vindt plaats indien het aantal deelnemers in een preparaatgroep zes of meer is. Indien vijf of minder deelnemers een bepaald thromboplastinepreparaat gebruiken, is de consensuswaarde een te smalle basis en wordt gebruik gemaakt van een referentiewaarde die door het RELAC laboratorium met een overeenkomstig referentiethromboplastine bepaald is.

Een grootheid  $d$  wordt gedefinieerd als de absolute waarde van het verschil tussen de uitslag van een deelnemer en de consensuswaarde c.q. referentiewaarde gedeeld door deze waarde:

$$d = \left| (INR_i - INR_c) / INR_c \right|$$

waarin  $INR_i$  de uitslag van de deelnemer en  $INR_c$  de consensuswaarde c.q. referentiewaarde voorstelt. Een uitslag van een deelnemer is voldoende (binnen consensus) indien  $d \leq 0.15$ . Een uitslag is onvoldoende indien  $d > 0.15$ . In ieder kalenderjaar wordt het aantal voldoende uitslagen van iedere deelnemer bepaald. In figuur 6 is het percentage voldoende uitslagen van de deelnemers in 2010 weergegeven. Bijna alle deelnemers hadden tenminste 75 % van de uitslagen binnen de consensus- of RELAC-range. Eén deelnemer had 69% en een andere had 71% van de uitslagen binnen de consensus- of RELAC-range.

### **Samenvatting en conclusie**

In 2010 lag de tussen-laboratoriumvariatie van de stollingstijden en INR uitslagen met alle tromboplastinepreparaten op een acceptabel niveau. De mediaan van de tussen-laboratoriumvariatie van de INR per preparaat was 4,1 % (VC) of lager. Het percentage uitbijters bij de stollingstijden en INR uitslagen ten gevolge van verwisselingen en administratieve fouten was afgenomen t.o.v. het voorgaande jaar.

Er waren duidelijke verschillen in INR tussen de preparaten, waarschijnlijk omdat de monsters niet commuteerbaar zijn. De verschillen tussen de preparaten bleven in 2010 min of meer constant.

Op twee na alle deelnemers hadden 75% of meer van de INR uitslagen binnen de consensus- of RELAC-range.

### **Dankwoord**

De controlemonsters werden bereid en verzonden door de Business Unit Reagentia van de Divisie Producten van Sanquin (leiding: M. Baard). Het benodigde patiëntenmateriaal werd ter beschikking gesteld door de Stichting Trombosedienst Leiden en werd opgewerkt door medewerkers van het RELAC laboratorium (E. Witteveen, E. Zoetebier, en C. Abdoel). De verwerking van de uitslagen werd verzorgd door F. Versluijs, medewerker op het bureau van de FNT.

### **Literatuur**

1. Reijnierse GLA, van den Besselaar AMHP, Hermans J. Een nieuw verwerkingsprogramma van ingezonden uitslagen in het kader van externe kwaliteitsbewaking. Ervaringen in 1988. *Tijdschr NVKC* 1989; 14: 122-127.

2. Van den Besselaar AMHP. Het proficiency testing programma van de Federatie van Nederlandse Trombosediensten in 1997. *Tromnibus* 1998; 26: 28-35.
3. Moor ACE, van den Besselaar AMHP. Virusinactivering in plasma door middel van fotodynamische behandeling. Een pilot studie. *Tromnibus* 1997; 25: 44-47.
4. Van den Besselaar AMHP. Het externe kwaliteitscontrole programma van de Federatie van Nederlandse Trombosediensten in 2006. *Tromnibus* 2007; 35: 17-23.
5. Van den Besselaar AMHP. Aanpassing van de ISI calibratie van Innovin. *Tromnibus* 2007; 35:34-37.
6. Van den Besselaar AMHP. Externe kwaliteitsbewaking en laboratoriumcertificaat. *Tromnibus* 1999; 27: 13-14.

## Legenda bij figuren.

Figuur 1: Relatieve verschil in INR tussen consensuswaarde Innovin (preparaat 8) en consensuswaarde Hepato Quick (preparaat 60) in opeenvolgende kwaliteitsrondes in 2008, 2009 en 2010. Zending nr. 1 komt overeen met ronde 7801 (januari 2008) en zending nr. 30 met ronde 8110 (december 2010). Ieder symbool stelt een individueel controlemonster voor. De interpolatielijn is getrokken voor de gemiddelde waarden van de vijf controlemonsters van iedere ronde.

Figuur 2: Relatieve verschil in INR tussen consensuswaarde Recombiplastin 2G (preparaat 14) en consensuswaarde Hepato Quick (preparaat 60) in opeenvolgende kwaliteitsrondes in 2009 en 2010. Zending nr. 11 komt overeen met ronde 7901 (januari 2009) en zending nr. 30 met ronde 8110 (december 2010).

Figuur 3: Relatieve verschil in INR tussen consensuswaarde Innovin (preparaat 8) en gemiddelde van RELAC laboratorium in opeenvolgende kwaliteitsrondes in 2009 en 2010.

Figuur 4: Relatieve verschil in INR tussen consensuswaarde Recombiplastin 2G (preparaat 14) en gemiddelde van RELAC laboratorium in opeenvolgende kwaliteitsrondes in 2009 en 2010.

Figuur 5: Relatieve verschil in INR tussen consensuswaarde Hepato Quick (preparaat 60) en gemiddelde van RELAC laboratorium in opeenvolgende kwaliteitsrondes in 2009 en 2010.

Figuur 6. Histogram van het percentage voldoende INR uitslagen van deelnemers aan de externe kwaliteitscontrole in 2010.

Tabel 1. Tromboplastine-preparaten gebruikt door deelnemers in zending 10-01 (8101) en 10-10 (8110).

Tussen haakjes: aantal deelnemers exclusief dubbele inzendingen.

<b>Preparaatnaam</b>	<b>Code-nummer</b>	<b>Aantal deelnemers in zending 10-01</b>	<b>Aantal deelnemers in zending 10-10</b>
Thrombotest (Axis-Shield)	1	2	3
Innovin (Siemens Healthcare Diagnostics)	8	55 (46)	51 (43)
Recombiplastin 2G (Instrumentation Laboratory)	14	25 (19)	25 (19)
Thromborel-S (Siemens)	18	1	-
Hepato Quick (Roche Diagnostics)	60	36 (27)	36 (28)
Neoplastine R (Roche Diagnostics)	80	1	1



Tabel 2.

Uitbijters bij stollingstijden (ST) en INR in 2010.

Tussen haakjes is het aantal uitbijters als percentage van het totaal aantal waarnemingen uitgedrukt.

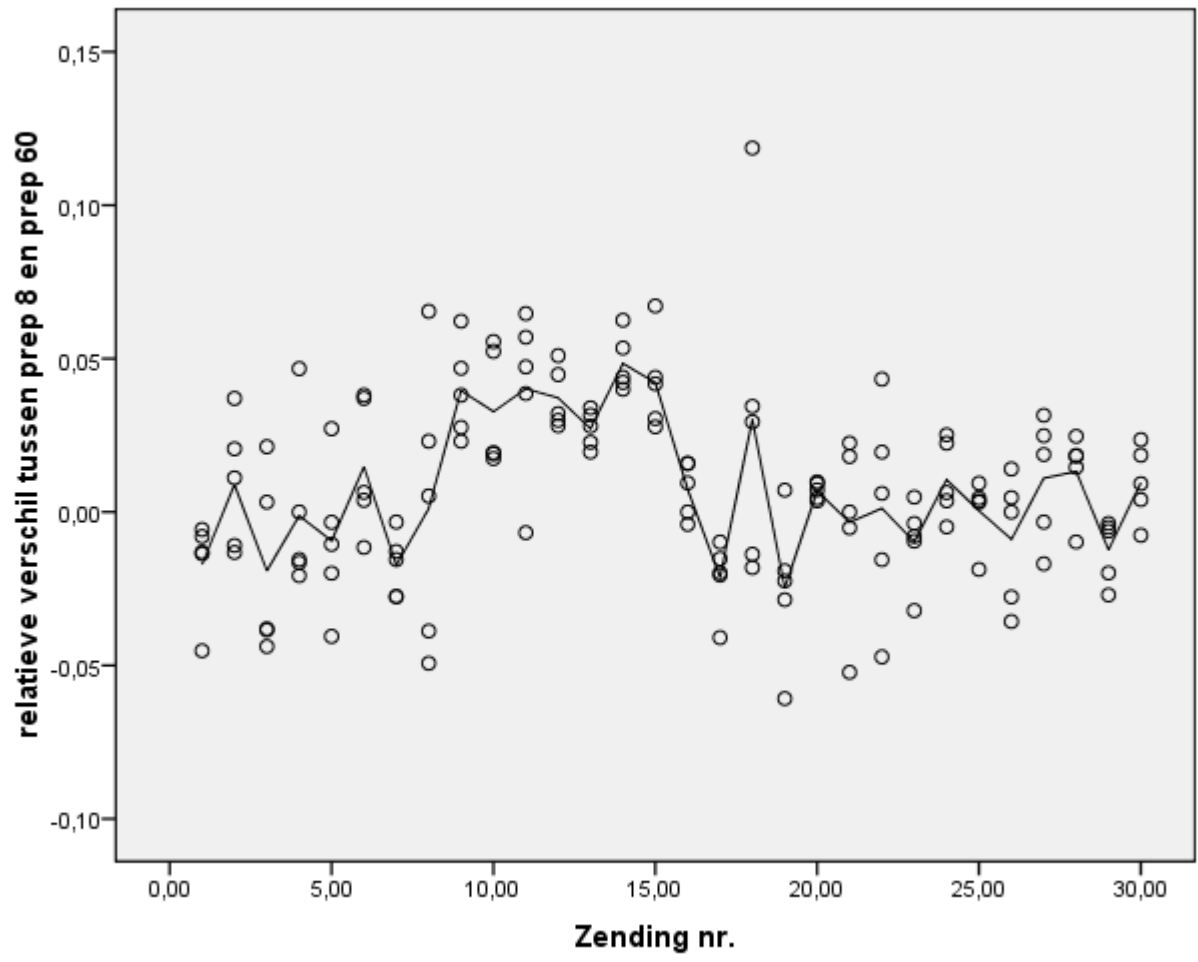
Preparaat nummer (Jaar)	Totaal aantal waarnemingen		Aantal uitbijters eerste categorie		Aantal uitbijters tweede categorie	
	ST	INR	ST	INR	ST	INR
8 (2010)	2650	2658	14	4	151	105
14 (2010)	1240	1240	-	-	37	21
60 (2010)	1663	1778	23	7	27	40
Totaal (2010)	5553	5676	37 (0,7 %)	11 (0,2 %)	215 (3,9 %)	166 (2,9 %)
Totaal (2009)	5533	5623	61 (1,1 %)	28 (0,5 %)	130 (2,3 %)	145 (2,6 %)

Tabel 3. Tussen-laboratoriumvariatiecoëfficiënt (VC) van stollingstijden en INR van testmonsters in 2010. In de tabel zijn de mediaan en de range van de VC's weergegeven.

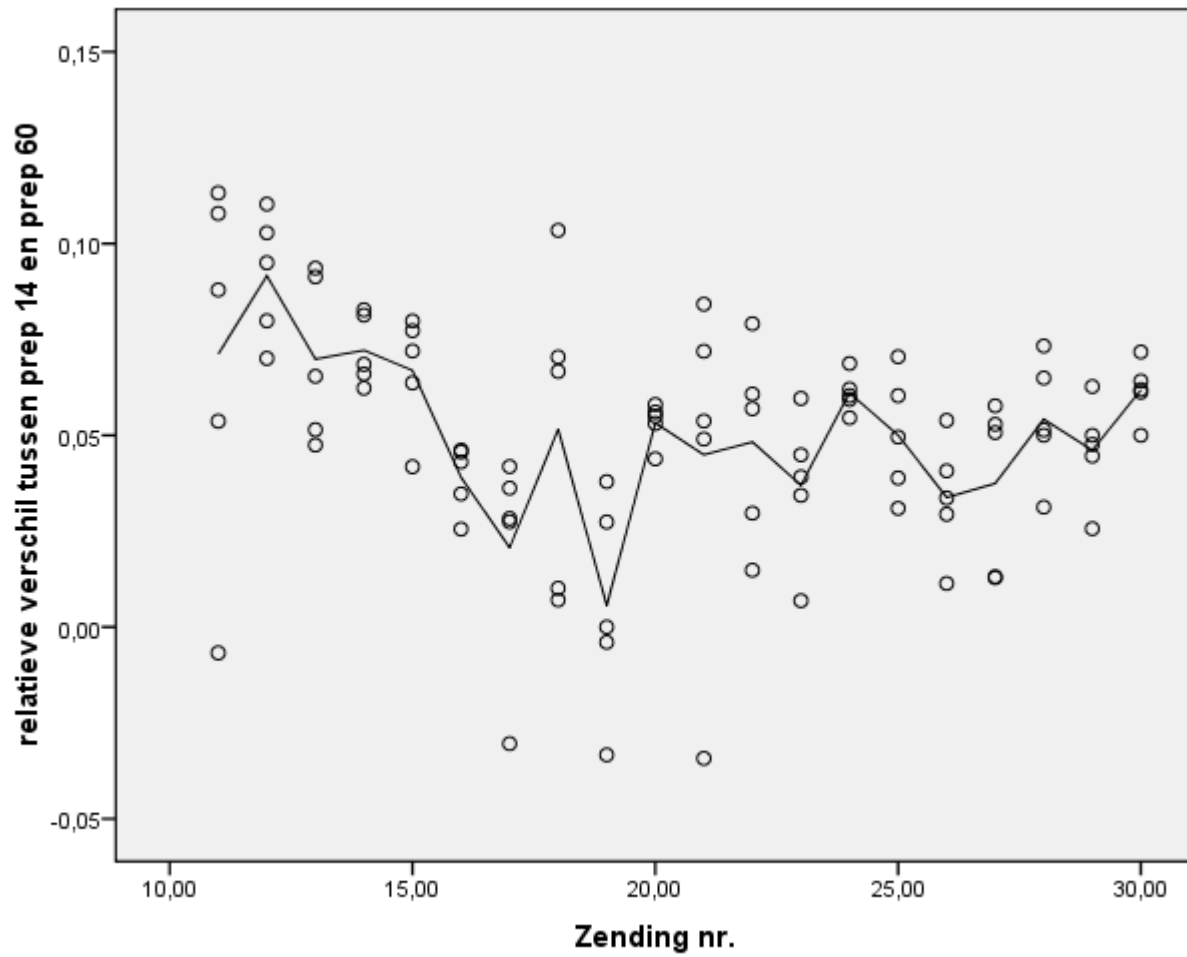
Preparaat nummer	VC (%) van stollingstijden				VC (%) van INR			
	Inclusief uitbijters		Exclusief uitbijters		Inclusief uitbijters		Exclusief uitbijters	
	Mediaan	Range	Mediaan	Range	Mediaan	Range	Mediaan	Range
8	4,15	2,8 – 55,5	3,0	1,9 – 4,9	4,3	2,9 – 10,9	3,45	2,2 – 4,8
14	4,3	1,8 – 6,9	3,2	1,8 – 6,9	4,4	2,6 – 124,8	4,1	2,3 – 6,3
60	5,45	3,1 – 25,6	4,45	3,1 – 6,1	3,65	2,5 – 368,7	3,15	2,1 – 4,5

Tabel 4. Tussen-laboratoriumvariatiecoëfficiënt (mediaan VC, in %) van stollingstijden (St) en INR, exclusief uitbijters, per kalenderjaar.

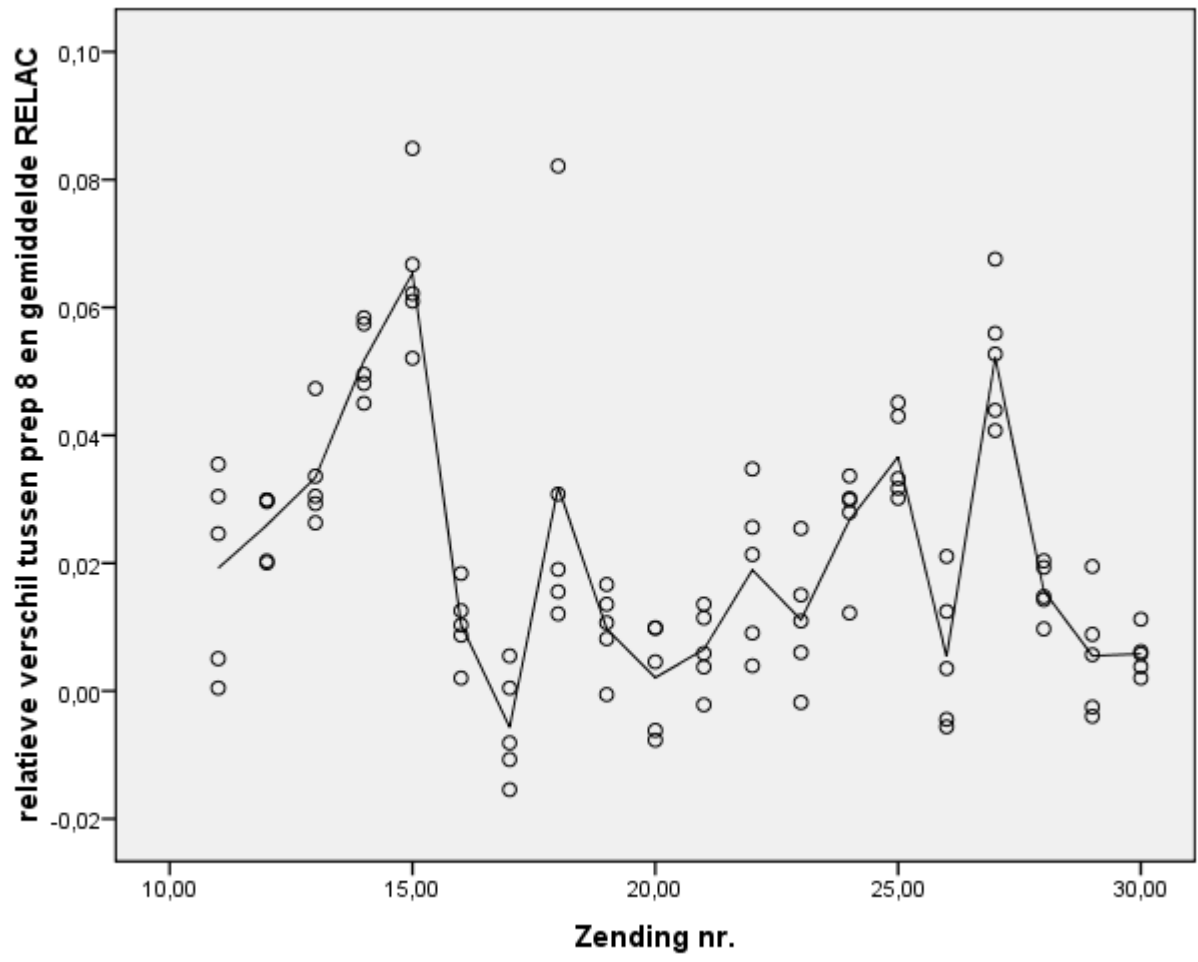
Jaar	Preparaat 1		Preparaat 4		Preparaat 6		Preparaat 8		Preparaat 14		Preparaat 18		Preparaat 60	
	St	INR	St	INR	St	INR	St	INR	St	INR	St	INR	St	INR
1988	6,1	6,8												
1989	5,3	6,5												
1990	5,4	5,7												
1991	5,2	5,4												
1992	5,0	5,2												
1993	5,1	4,8												
1994	4,9	4,8												
1995	5,0	4,7									7,3	8,1	5,5	4,9
1996	4,7	4,7	3,8	6,2							9,3	7,6	4,1	5,9
1997	4,5	5,2	6,2	6,3							7,3	5,9	4,2	6,1
1998	4,6	4,4	4,7	6,3							7,3	5,9	3,6	6,0
1999	5,4	4,9	5,4	6,2	5,8	4,7					5,6	4,9	5,1	4,6
2000	5,6	5,6	4,1	5,3	4,5	5,0	4,4	5,1			5,0	4,5	5,7	4,3
2001	5,1	4,7	5,0	4,4	4,6	5,0	4,0	5,4			5,6	4,6	4,5	3,9
2002	4,8	4,8	4,2	5,5	4,3	4,6	2,4	4,3			5,7	5,9	4,5	4,1
2003	4,9	4,6	5,9	5,4	4,5	4,8	2,6	3,8			5,0	4,6	4,4	3,6
2004	4,6	5,2	5,3	4,5	4,4	5,3	3,1	3,9			4,7	4,3	4,9	3,6
2005	6,0	6,3	7,3	6,1	4,6	5,8	3,5	4,3			4,6	4,6	4,9	4,0
2006	5,7	5,8	7,5	7,2	5,0	6,5	2,8	5,8			4,1	4,3	5,1	3,7
2007			5,5	3,9	3,8	5,1	2,4	4,4			3,9	3,3	5,5	3,4
2008			4,3	3,6	4,6	5,0	3,7	4,0	2,7	3,7	5,7	5,9	3,3	2,9
2009					4,0	4,3	3,6	4,0	4,7	4,0			4,3	3,0
2010							3,0	3,5	3,2	4,1			4,5	3,2



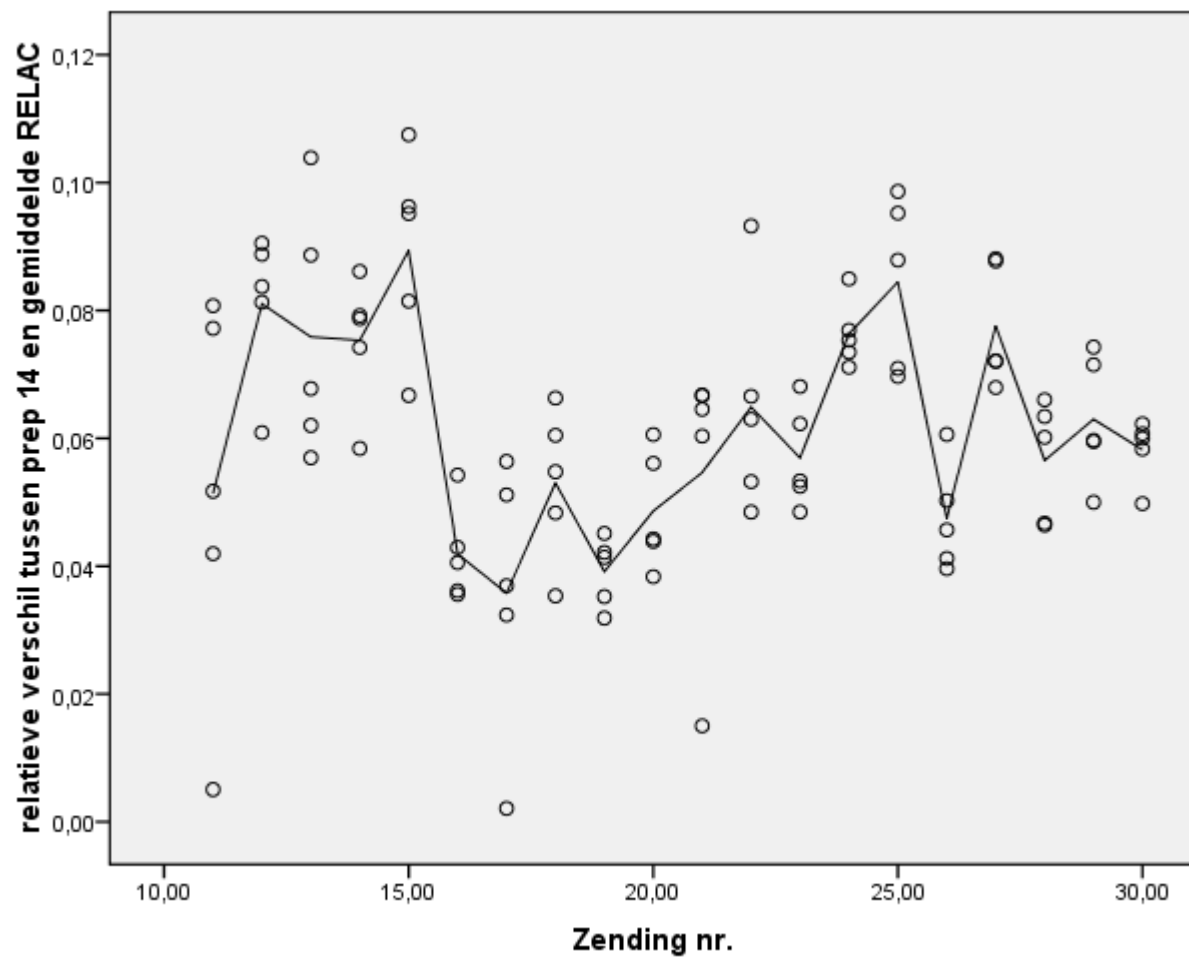
Figuur 1.



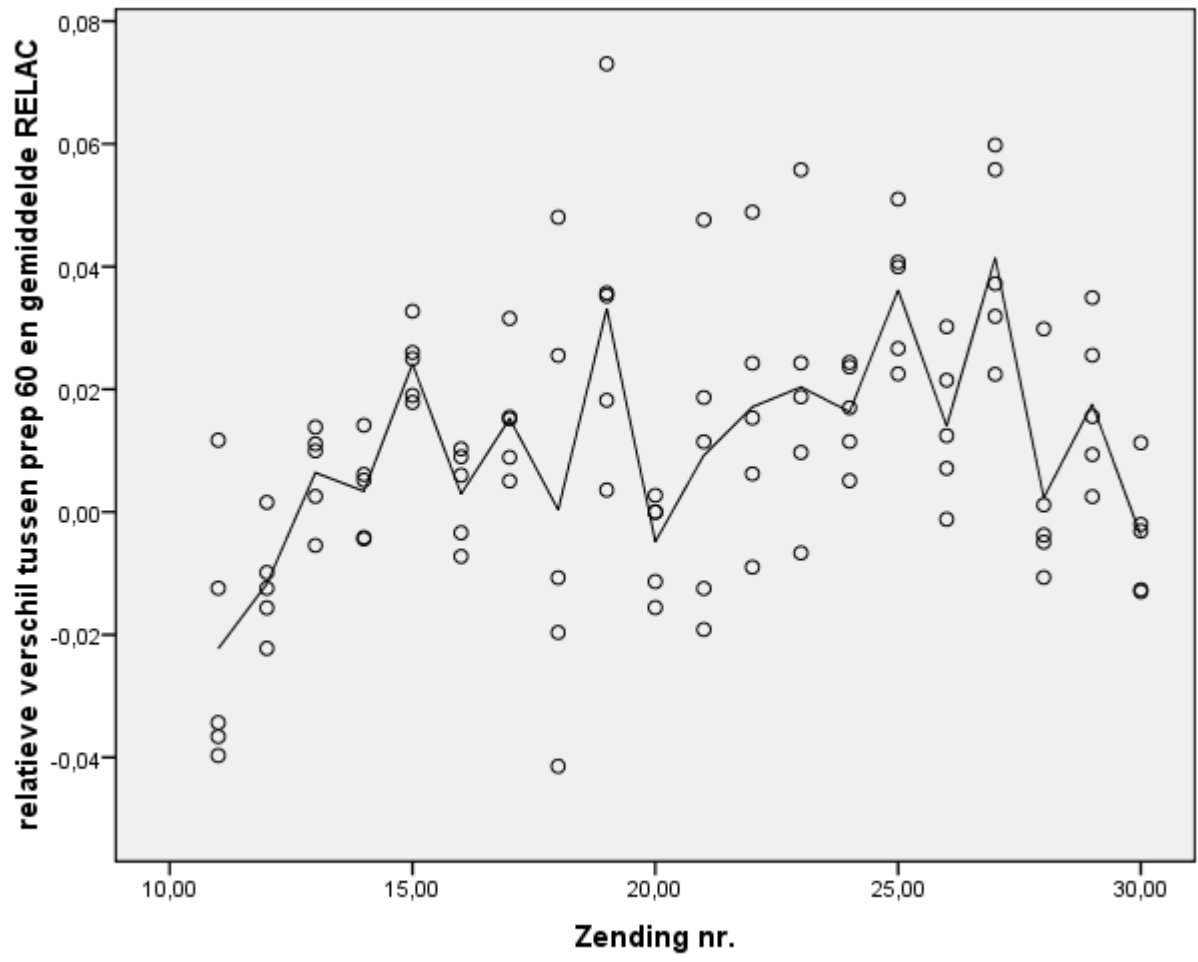
Figuur 2.



Figuur 3.

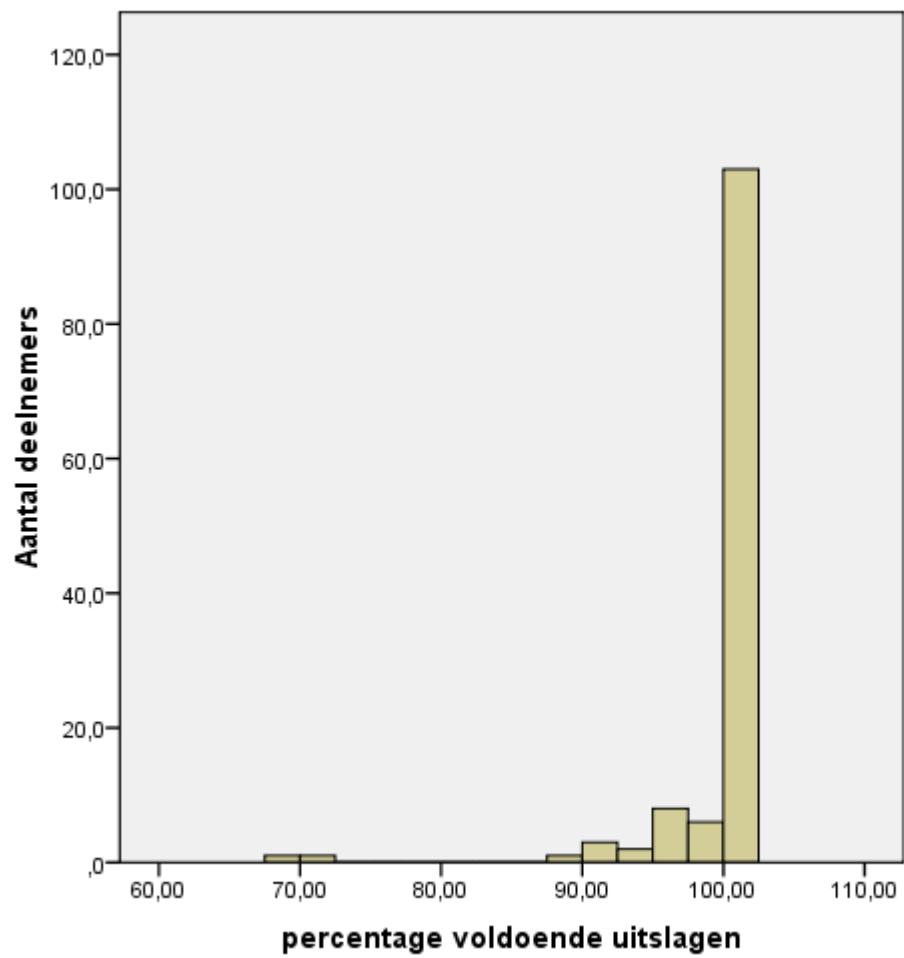


Figuur 4.



Figuur 5.





Figuur 6.