

10024, 10026 og 10010

En sammenligning av analyseresultatene til triglyserid og kolesterol på ABX Pentra 400 og Afinion 2

Bacheloroppgave i Bachelor i Bioingeniørfag

Veileder: Olsen, Sahar og Engstrøm, Heidi

Mai 2019

10024, 10026 og 10010

En sammenligning av analyseresultatene til triglyserid og kolesterol på ABX Pentra 400 og Afinion 2

Bacheloroppgave i Bachelor i Bioingeniørfag
Veileder: Olsen, Sahar og Engstrøm, Heidi
Mai 2019

Norges teknisk-naturvitenskapelige universitet
Fakultet for naturvitenskap
Institutt for biologiske fag Ålesund

Førord

Denne bacheloroppgaven ble utarbeidet i samarbeid med NTNU i Ålesund, og gikk ut på å utføre en resultatsammenligning mellom to instrumenter – Afinion 2 og ABX Pentra 400. Hovedmålet var å sjekke om Afinion 2, som var nyinnkjøpt, var i stand til å måle kolesterol og triglyserid like godt som et av universitetets eldre instrument, ABX Pentra 400. Arbeidet foregikk i en tidsperiode på ti uker, hvor forsøket ble utført ved skolens laboratorier.

Vi var en gruppe på tre bioingeniørstudenter, alle med en interesse for å kunne videreutvikle sine basiskunnskaper innenfor medisinsk biokjemi. Det var derfor svært interessant å kunne strukturere sin egen metodesammenligning, i tillegg til å måtte lese seg ytterligere opp på lipider.

Vi vil gjerne gi en takk til de som har hjulpet oss i denne prosessen:

Prosessveileder Sahar Olsen, for veiledning i skriveprosessen.

Fagveileder Heidi Engstrøm, for faglig veiledning ved laboratoriet.

Laboratoriespesialist Lutz Schwettmann, for veiledning til statistiske beregninger.

Bergman Diagnostika, for god tilbakemelding på eventuelle spørsmål rundt ABX Pentra 400.

Og en spesiell stor takk til alle de frivillige som har bidratt til samling av prøvematerialet.

Sammendrag

I dette forsøket ble det foretatt en metodesammenligning mellom Afinion 2 og ABX Pentra 400. Hovedmålet var å finne ut om Afinion 2 – et nyinnkjøpt instrument fra Abbott - målte kolesterol og triglyserid (i serum) like godt som ABX Pentra 400. Det var ønskelig å teste ut dette ettersom Afinion 2 er et mindre og enklere instrument, i forhold til referanseinstrumentet i dette forsøket. Ved å bruke Afinion 2 sin lipidpanel-testkassett kan man teste triglyserid, kolesterol, non-HDL, HDL og LDL samtidig. Analysene non-HDL, HDL og LDL ble ikke sammenlignet med ABX Pentra 400, ettersom det kreves egne reagens til disse analysene.

I alt ble det tatt blodprøve av 28 frivillige, som alle ble rekruttert vha. en opportunistisk innsamlingsmetode. Alle deltakerne ble informert om hva forsøket handlet om, i tillegg til at de ble bedt om å skrive under på et samtykkeskjema før prøvetakingen. Deretter ble serumprøvene analysert i parallell på de to instrumentene. Det ble også tatt i bruk Pathonorm High/Low for å sikre lave og høye verdier. Etter analysering ble resultatene brukt til å lage Bland-Altman plott og Passing and Bablok-regresjon.

Resultatet viste tendenser til både proporsjonale og konstante forskjeller. Man kunne hovedsakelig se at Afinion 2 målte lavere kolesterolkonsentrasjoner enn ABX Pentra 400. Basert på mistanker om at referanseinstrumentet målte for høyt ble leverandøren av instrumentet kontaktet, og det ble bekreftet at det var noe galt med kolesterol reagenset. Når det gjaldt triglyserid så det ikke ut til å være store uoverensstemmelser mellom de to instrumentene.

Innhold

1	Innledning.....	1
2	Teori.....	3
2.1	Lipider.....	3
2.1.1	Lipidets funksjon og oppbygning i kroppen.....	3
2.1.2	Lipidets kliniske signifikans.....	4
2.2	Kolesterol.....	4
2.2.1	Oppbygningen til kolesterolmolekylet.....	5
2.2.2	Funksjonen til kolesterolmolekylet.....	6
2.3	Triglyserid.....	7
2.3.1	Oppbygningen til triglyseridmolekylet.....	7
2.3.2	Funksjonen til triglyseridet.....	8
2.4	Referanseinstrumentet.....	9
2.5	Testinstrumentet.....	9
2.6	Analyseprinsipp.....	10
2.6.1	Analyseprinsippet for kolesterol.....	10
2.6.2	Analyseprinsippet for triglyserid.....	11
2.7	Preanalyse.....	12
2.8	Interferens.....	13
2.9	Statistiske metoder.....	14
3	Materiale og metode.....	17
3.1	Utstysrliste.....	17
3.2	Prøveinnsamling, samtykkeskjema og etisk vurdering.....	17
3.3	Reliabilitet og validitet.....	18
3.4	Analysering av prøver på Afinion 2.....	19
3.5	Analysering av prøver på ABX Pentra 400.....	20
3.6	Statistiske metoder.....	21
4	Resultat.....	22
4.1	Resultat kolesterol.....	23
4.2	Resultat triglyserid.....	25
4.3	Informasjon fra Bergman Diagnostika.....	26
4.4	Svar på spørreskjema.....	27

5	Diskusjon.....	28
6	Konklusjon.....	32
7	Referanseliste.....	33
8	Vedlegg.....	
8.1	Vedlegg 1 Brukermanual til Afinion 2.....	
8.2	Vedlegg 2 Pakningsvedlegg ABX Pentra 400 reagens: kolesterol	
8.3	Vedlegg 3 Pakningsvedlegg ABX Pentra 400 reagens: triglyserid.....	
8.4	Vedlegg 4 Pakningsvedlegg til Afinion 2 lipidpanel	
8.5	Vedlegg 5 Samtykkeskjema	
8.6	Vedlegg 6 Pakningsvedlegg til Pathonorm High/Low.....	
8.7	Vedlegg 7 Resultat på kontroller og kalibrering	
8.8	Vedlegg 8 Analyseresultat - Kolesterol	
8.9	Vedlegg 9 Analyseresultat - Triglyserid	
8.10	Vedlegg 10 Bland Altman utregninger	
8.11	Vedlegg 11 Passing and Bablok utregninger	
8.12	Vedlegg 12 Informasjon fra Bergman Diagnostika om kolesterol på ABX Pentra 400	
8.13	Vedlegg 13 Resultat fra svaralternativ på samtykkeskjemaet.....	

1 Innledning

Denne bacheloroppgaven handlet om å ta i bruk og se på Afinion 2 sine måleegenskaper ved analysing av triglyserid og kolesterol. For å oppnå dette, i samarbeid med veiledere ved NTNU i Ålesund, sammenlignet vi prøveresultat mellom Afinion 2 og referanseinstrumentet ABX Pentra 400. Derav var hovedfokuset til denne oppgaven å måle kolesterol og triglyserid i serum på begge maskinene, og finne ut hvor godt de samsvarte. Fra dette trakk vi problemstillingen «*Hvor godt samsvarer resultatene mellom Afinion 2 og ABX Pentra 400 når det kommer til analysing av kolesterol og triglyserid?*». I tillegg fikk vi i oppdrag å lage en brukermanual til Afinion 2 (Vedlegg 1: *Brukermanual til Afinion 2*). Manualen er kortfattet og forklarer kun de viktigste funksjonene som trengs for å kunne bruke Afinion 2 og lipidpanel testkassetter.

Vi valgte denne oppgaven nettopp fordi vi er på vei inn i et arbeidsliv hvor det å ta i bruk et nytt instrument ikke er av ukjent praksis. Det er ikke uvanlig i det daglige arbeidet til en bioingeniør å måtte teste ut nye instrument og annet utstyr. Dette gjøres for å sikre at nye instrumenter er pålitelige, slik at man videre kan bruke analyseresultatene til f.eks. pasientbehandling eller utvikling av medikament. Målgruppen for denne oppgaven vil derfor være bioingeniører og laboranter med et forhold til metodesammenligning.

Vi fikk tak i utstyr og analyseinstrument gjennom NTNU i Ålesund, både blodprøvetakingsutstyr og instrumentenes reagenser, kontroller og kalibratorer. Forsøket ble basert på et prøveantall på 32 prøver. Vi utførte selv blodprøvetakingen og annet forarbeid før selve analysingen. Hver enkelt prøve ble analysert på hvert instrument. Videre brukte vi resultatene til å utføre en regresjonsanalyse for å finne ut om det var systematiske forskjeller mellom prøvesvarene. Det ble også tatt i bruk punktdiagram for å sammenligne målingene. Dette blir det mer om i teori- og resultatdelen.

Ettersom Afinion 2 gir ut svar på flere parametere enn bare kolesterol og triglyserid, ble det bestemt at vi ikke skulle ta stilling til alle resultatene som Afinion 2 ga oss. Dette kom av at vi ikke hadde et tilstrekkelig budsjett til å kjøpe nødvendig reagens til ABX Pentra 400. De følgende parameterne som ble ekskluderte fra denne oppgaven var: non-HDL, HDL og LDL.

Oppgaveoppsettet er delt inn etter IMROD-modellen. Dette betyr at det videre kommer en teoridel for å gi leseren en innføring i viktig informasjon rundt prosjektet. I teorien tar vi for oss generell informasjon om analysene vi tok i bruk, instrumentene, og noe preanalyse. I tillegg er det en forklaring om de statistiske metodene som ble brukt i resultatdelen. Deretter blir det omtalt om de materialene og metodene som ble brukt til å sikre forsøkets reliabilitet - at forsøket var mulig å gjennomføre på nytt med lignende resultat. Mot slutten har vi en resultatdel, hvor vi presenterer resultatet før vi diskuterer det og ser på feilkildene som er knyttet rundt oppgaven.

2 Teori

I denne hoveddelen ser vi på generell teori rundt lipider (spesielt triglyserid og kolesterol), referanse- og testinstrumentet, i tillegg til noe preanalyse og interferens. Teorien avsluttes med generell informasjon om de statistiske metodene som ble brukt. Vi utdyper ikke hvordan man utfører de statistiske metodene steg for steg. Dette kommer av at oppgaven er rettet mot fagfolk med kompetanse rundt metodesammenligning.

2.1 Lipider

Lipider er viktige forbindelser i kroppen vår og deles inn i seks grupper: Kolesterol, fettsyrer, acylglycerol, sphingolipider, prostaglandiner og terpener. De har mange ulike oppgaver; som hormoner, kilde til energi, hjelper til i fordøyelsen, og som komponenter i cellemembranen. Innenfor lipidene finner vi lipoproteiner som er med på å frakte lipidene i blodbanen. Disse forbindes med f.eks. utvikling av aterosklerose. Denne lidelsen er ganske vanlig og oppstår i forbindelse med at fett, kolesterol og andre stoffer avleires i arteriene og danner faste strukturer som kalles plakk (*Burtis, C., Bruns, D., & Tietz, N. 2015, s.389*).

2.1.1 Lipidets funksjon og oppbygning i kroppen

Begrepet lipid regnes inn i en gruppe av forbindelser som kan løses i organiske løsemidler, men som så og si er uløselige i vandige miljø. Vanligvis inneholder lipider primært ikke-polare C-H bindinger som ofte gir fettsyrer eller komplekse alkoholer ved hydrolyse. Men noen av lipidene kan også inneholde ladde eller polare grupper slik at de blir amfipatiske. De vil da ha affinitet for både organiske løsningsmidler og vann. Et eksempel er fosfolipider, som finnes på den vandige overflaten til biologiske membraner (*Burtis, C., et al. 2015, s.389*).

De lipidene som blir syntetisert i leveren og i tarmen, blir transportert i plasmaet ved hjelp av et makromolekylært kompleks som kalles lipoprotein. De består av lipider og proteiner og er ofte sfæriske partikler, hvor innsiden består av ikke-polare nøytrale lipider, og utsiden av amfipatiske lipider, som kolesterol og fosfolipider (*Burtis, C., et al. 2015 s.397*).

Lipoproteinene har ulike fysiske og kjemiske egenskaper. Dette er fordi de inneholder ulike mengder av lipider og proteiner. De blir også klassifisert ut ifra sammensetningen i membranen. De seks kategoriene de deles inn i er: Chylomikroner, VLDL (very low density lipoprotein), IDL (intermediate density lipoprotein), LDL (low density lipoprotein), HDL (high

density lipoprotein) og lipoprotein. De største lipoproteinene inneholder generelt flere kjernelipider, triglyserider og kolesterolestere. I tillegg er de ofte lettere når det gjelder tetthet, og har en mindre prosentandel av proteiner. LDL bærer ca. 70% av det totale plasmakolesterolet, men svært lite triglyserid. HDL inneholder vanligvis rundt 20-30% av plasmakolesterolet (Burtis, C., et al. 2015 s.398).

2.1.2 Lipidets kliniske signifikans

Den kliniske signifikansen av lipider er hovedsakelig forbundet med deres bidrag til koronar hjertesykdom (CHD) og ulike forstyrrelser av lipoprotein. CHD er en sykdom der plakk bygger seg opp i koronararteriene som leverer oksygenrikt blod til hjertemuskulaturen. Flere studier har fastslått at når konsentrasjonen av kolesterol og LDL-kolesterol er høye, vil forekomsten og utbredelsen av CHD også være høy. I motsetning til konsentrasjonen til LDL-kolesterol, har økt HDL-kolesterol vist seg å være beskyttende for CHD i både epidemiologiske og kliniske studier (Burtis, C., et al. (2015) s.401). Høye triglyseridverdier kan sees ved f.eks. hyperlipoproteinemier, men blir ikke brukt alene som mål for behandlingseffekt (Nasjonal brukerhåndbok i Medisinsk Biokjemi, 2014). Aterosklerose - åreforkalkning - begynner i en tidlig alder og det kan ta tiår før en klarer å manifestere dette klinisk. Måling av plasmalipider og lipoproteiner er derfor et verdifullt hjelpemiddel for å identifisere personer med risiko for CHD og bestemme den mest hensiktsmessige behandlingen.

Fra det ble utviklet risikoavhengige aksjonsgrenser, har det vært lagt mye innsats i å forbedre og standardisere lipid- og lipoproteinanalyser for å sikre riktig ytelse. En vil også sikre sammenligning av testresultater mellom forskjellige metoder og forskjellige kliniske laboratorier. Dermed vil en redusere feil klassifisering av CHD-risikoen til pasienten (Burtis, C., et al., 2015 s.407).

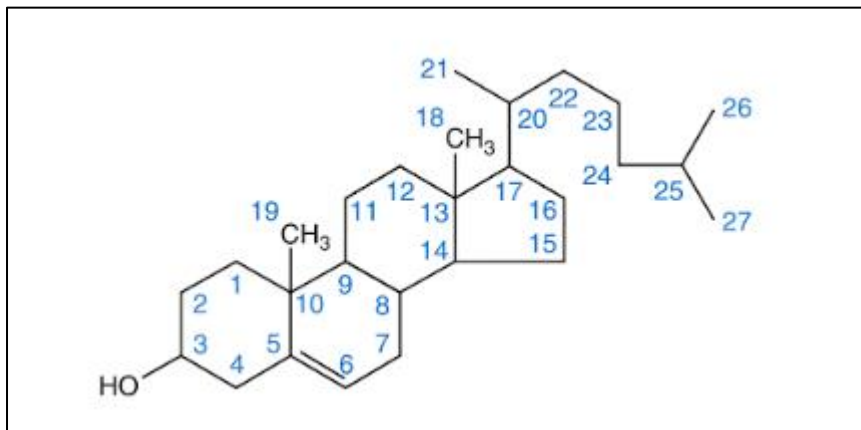
2.2 Kolesterol

Kolesterol, som tilhører steroidene, er et viktig lipid som vi kan få tilført gjennom maten vi spiser. I dag har det blitt mer vanlig med et vestlig kosthold. Dette vil si at vi får i oss et høyt inntak av rødt kjøtt, prosessert og/eller frityrstekt mat, smør, meieriprodukt med høy fettprosent, egg, poteter, og sukkerholdige drikker. Med denne dietten får man i seg ca. 300 til 450 mg kolesterol per dag, der 30-60% av dette blir absorbert (Grundy, S., 2003). Kroppen er

også i stand til å syntetisere sitt eget kolesterol i leveren. I de neste avsnittene vil vi se på oppbyggingen og bruksområdene til kolesterol.

2.2.1 Oppbyggingen til kolesterolmolekylet

Kolesterol finnes nesten utelukkende i alle dyr, ettersom det fungerer som en viktig membrankomponent i dyrecellene. Kolesterolmolekylet består av 27 karbonatomer som er strukturert i et tetracyklisk steranisk ringsystem, med en C-H-sidekjede som vist i figuren (2.2.1) under. På grunn av den amfipatiske egenskapen til molekylet – at det har både en hydrofil og en hydrofob del – har kolesterolet evnen til å feste seg til cellemembraner (Burtis, C., et al. 2015 s. 389).



Figur 2.2.1 Oppbyggingen til kolesterolmolekylet (Rifai, Horvath & Wittwer, 2019 s.393).

Kolesterol blir syntetisert av alle cellene i kroppen, men spesielt av lever- og tarmcellene. Kolesterol syntesen skjer i tre trinn, og utgangspunktet er tokarbonenheten acetyl-CoA. Kolesterol består (som nevnt tidligere) av 27 karbonatom, og alle disse kommer fra acetyl-CoA. Isopentenyl pyrofosfat, som er en aktivert isoprenenhet, er byggesteinen i kolessterolsyntesen og blir dannet i det første trinnet fra acetyl-CoA. I det andre trinnet blir det dannet squalen ved at seks (sluke enheter) isopentenyl pyrofosfat blir koblet sammen. I det siste trinnet omdannes squalen til kolesterol (Burtis, C., et al., 2015 s. 391). Ettersom syntesen er kompleks kommer vi ikke til å gå mer i dybde enn denne oppsummeringen.

Absorpsjonen foregår hovedsakelig i midten av jejunum og den terminale ileum i tynntarmen. Før kolesterolet kan bli absorbert blir det først oppløst vha. en prosess som kalles emulgering. Når kolesterol kommer inn i tarmslimhinnen, er den fullpakket med triglyserider, fosfolipider

og et stort protein som kalles apolipoprotein (apo) B-48, i store lipoproteinpartikler kalt chylomikroner. Chylomikroner blir skilt ut i lymfen og kommer til slutt inn i sirkulasjonen, der de leverer det absorberte lipidet fra kostholdet til leveren og det perifere vevet (Burtis, C., et al., 2015 s.390).

2.2.2 Funksjonen til kolesterolmolekylet

Kolesterol er en viktig byggekloss i produksjonen av steroidhormonene glukokortikoid og mineralkortikoid. Disse er med på å regulere prosesser som energimetabolisme og blodtrykk (Tabas I., 2002). Det er de spesialiserte endokrine cellene som bruker kolesterol til syntesen av steroidhormon, ellers har de fleste perifere celler begrenset evne til å videreformidle kolesterol. Omtrent en tredjedel av det kolesterolet som blir produsert i løpet av en dag, ca. 400 mg/dag, omdannes i leveren til gallesyre. Ca. 90% av disse gallesyrene blir reabsorbert i den nederste delen av ileum og blir returnert til leveren av den enterohepatiske sirkulasjonen (Burtis, C., et al., 2015 s.391-392).

Det fungerer også som en viktig komponent i celleveggen, og brukes f.eks. i veggen til det vi kaller lipoproteiner. Disse blir laget for at fettsyrene skal kunne fraktes i vandige omgivelser (som f.eks. i blodet). Lipoproteinene lager et skall som består av kolesterol og proteiner med plass til triglyserider inni skallet. Kolesterolet er dermed en viktig del av fettsyretransporten i kroppen. Membran sammensetningen til lipoproteinet er avhengig av hvilket lipoprotein det gjelder, ettersom det fins ulike varianter av lipoproteinene (Tabas, I. 2002).

Bortsett fra å inngå i cellemembraner er den største oppgaven til kolesterolet å være substrat for gallesaltene. Omtrent 80% av kolesterolet brukes til dette. Disse produseres i leveren og er viktige for fettfordøyelsen. Etter at fett blir tatt opp i tarmen kan gallesaltene reabsorberes og bli brukt om igjen. Dette er imidlertid også den primære veien vi kvitter oss med kolesterol, da det ikke er alle gallesaltene som blir reabsorbert. Når vi spiser fiber kan dette binde seg til gallesalter og hindre reabsorpsjon. På denne måten er fiber med på å senke kolesterolet ettersom mer kolesterol må brukes til å produsere nye gallesalter. (Li, T., & Chiang, J. Y., 2009).

Tabell 1: Referanseområdet for kolesterol (gjelder både kvinner og menn). Området gjelder for prøver som er tatt fastende (Nasjonal brukerhåndbok i Medisinsk Biokjemi. 2019)

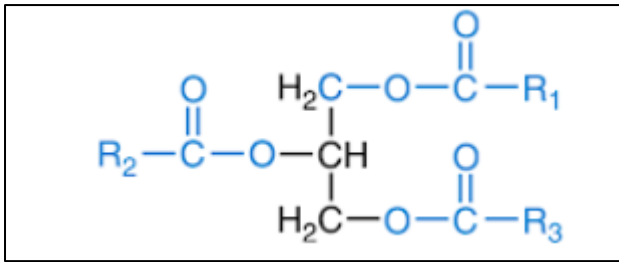
18-29 år:	2,9 – 6,1 mmol/L
30-49 år:	3,3 – 6,9 mmol/L
>49 år:	3,9 – 7,8 mmol/L

2.3 Triglyserid

Triglyseridet blir i dagligtalen kalt for «fett» og utgjør mesteparten av lipidene i kosten, kroppsfettet, og de sirkulerende lipidene i blodet. Det består mest av mettede fettsyrer (dette gjelder pattedyr og fugler). Mettede fettsyrer har bare enkeltbindinger mellom karbonatomene. Dette fører til at fettsyrene ikke kan binde flere hydrogenatom til kjedet, og man kan gjerne si at de er «mettet» med hydrogen. En umettet fettsyre har mindre hydrogenatom i kjedet pga. at det i tillegg har dobbeltbindinger. Etersom triglyseridet har mange mettede fettsyrer vil «fettet» ha et høyere smeltepunkt. Dette vil si at fett er i fast form ved romtemperatur, mens det er flytende ved kroppstemperatur. Umettet fett er flytende ved romtemperatur (Sand, O., Sjaastad, &, Haug, E., Bjålie, J., & Toverud, K. 2006, s.33-34).

2.3.1 Oppbygningen til triglyseridmolekylet

Videre skal vi ta for oss selve oppbygningen til triglyseridet. Dette består av ett glyserolmolekyl og tre fettsyremolekyl, derav navnet triglyserid. Glyserolet har tre karbonatom med hver sin hydroksylgruppe (dette betyr at det er en alkohol). Fettsyrene består av lange karbonkjeder med, som regel, 16 eller 18 karbonatom. I den ene enden har syrene en karboksylgruppe, ellers er det bare hydrogenatom som er festet til kjedene. Bindingen mellom glyserolet og karbonkjeden kommer av kondensjonsreaksjoner mellom hydroksylgruppen i glyserolet og karboksylgruppen i fettsyren. Dette er en esterbinding. Kondensjonsreaksjonene erstatter de polare bindingene med esterbindinger, og det er dette som gjør at triglyseridene er lite løselige i vann. Ellers hadde glyserolet og fettsyrene vært vannløselige, ettersom begge i utgangspunktet har polare grupper før binding (Sand, O., et al. 2006, s.33-34).



Figur 2.3.1: Triglyserid (Generell struktur). R1, R2 og R3 er fettsyrer av varierende kjedelengder (Rifai et al., 2019, s.398).

2.3.2 Funksjonen til triglyseridet

Triglyseridene tas opp i tarmen, deretter blir de transportert i form av kylomikroner gjennom blodbanen. Ved spalting av kylomikronene vil triglyseridene bli omgjort til frie fettsyrer og glyserol. Spaltingen blir gjort vha. lipoproteinlipase i endotelcellene til kapillærene. Fettsyrene kan deretter diffundere gjennom kapillærveggen over i vevet, der de kan bli brukt til å gjendanne triglyserider i fettcellene (altså, bli lagret i fettvevet). De frie fettsyrene kan også bli brukt som energi til musklene. De spaltede kylomikronrestene tas opp i leveren og spaltes ytterligere til frie fettsyrer, glyserol, fritt kolesterol og aminosyrer (Sand, O., et al. 2006, s. 426-428).

Kroppsfettet er et viktig energilager. Dette kommer av at triglyseridet inneholder omtrent dobbelt så mye kjemisk energi per vektenhet som karbohydrater og proteiner. Fettet har i tillegg andre gode egenskaper som f.eks. varmeisolasjon og beskyttelse. Dette kommer av plasseringen til fett. Dette er å finne i f.eks. underhuden (varmeisolasjon) og rundt indre organ (beskyttende). Triglyseridet kan i tillegg bli brukt til å lage ulike kolesterol (Sand, O., et al. 2006, s.33-34).

Tabell 2: Referanseområdet for triglyserid. Det er viktig å huske at området gjelder for prøver som er tatt fastende (Nasjonal brukerhåndbok i Medisinsk Biokjemi. 2014).

Kvinner og menn:	0,45 – 2,60 mmol/L
------------------	--------------------

2.4 Referanseinstrumentet

ABX Pentra 400 er et instrument som blir brukt, innen medisinsk biokjemi, til å foreta ulike analyser innen spektrofotometri og potensiometri. Det er et helautomatisk benkinstrument med stor kapasitet for både rutineparametere som kolesterol og triglyserid, samt spesialanalyser. Instrumentet inkluderer en kontrollstasjon med programvare som er utviklet av HORIBA ABX. Henviser til kapittel 1.4 i brukermanualen, som tar for seg en nærmere beskrivelse av programvareoversikten til instrumentet.

ABX Pentra 400 er i stand til å analysere prøvemateriale som serum, plasma, urin, cerebrospinalvæske, fullblod og homogene væsker. Standard laboratorieprosedyrer for innhenting av prøver må da følges. Instrumentet opererer følgende; prøvene og reagensene til de gitte analysene blir overført til kyvetter. Her skjer det en avlesning av kyvettene vha. en lysgjennomstrømning. Gjennomstrømningen er med på å detektere absorbansen. Instrumentet sammenligner den detekterte verdien opp mot referanseområdene, og gir ut prøvesvar etter dette. Henviser til «*ABX Pentra 400 Brukermanual - RAB125INO - kapittel 2*». Der vil leseren finne mer informasjon om arbeidsgangen til instrumentet.

2.5 Testinstrumentet

Afinion 2, fra Abbott, er et brukervennlig instrument som krever lite vedlikehold. Grunnen til at instrumentet omtales som «brukervennlig» er at apparatet ikke krever manuell kalibrering, analysering av kontroller, og at det automatisk blir gjennomført en egen selvtest ved oppstart. Dette vil vi utdype mer om under 3.3 *Analysering av prøver på Afinion 2*. Ellers har Afinion 2 et enkelt utseende, i tillegg til et system som ikke vil kreve fullt så mye opplæring som et større instrument (f.eks. ABX Pentra 400). Henviser her til brukermanualen vi lagde for Afinion 2 (Vedlegg 1 *Brukermanual til Afinion 2*) for å gi leseren et inntrykk av systemet.

Instrumentet er i stand til å analysere flere typer prøvemateriale (fullblod, plasma og serum). Det har også et analyserepertoar på fire analyser; ACR, CRP, Hb1Ac og Lipidpanel. Hver av disse analysene har sin egen testkassett, så hva man kan analysere er avhengig av den tilgjengelige kassetten. En testkassett kan kun brukes én gang, deretter må den fjernes og kastes. Hvert kassettkitt inneholder 15 prøver.

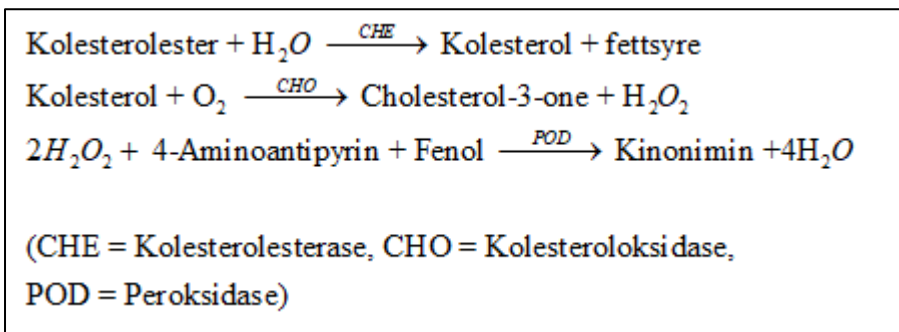
I denne oppgaven ligger fokuset på lipidpanel. Ved bruk av en lipidpanel-testkassett kommer Afinion 2 med en kvantitativ bestemmelse av total-kolesterol, triglyserid, HDL, LDL, non-HDL og Chol/HDL-ratio. Samlet kan disse testene være med på å kartlegge nivået av kolesterol i blodet i forhold til diagnose og behandling, men og også faren for aterosklerose (CHD). Videre vil det være gunstig å ha svar på fordelingen mellom HDL og LDL med tanke på valg av behandlingsmetode ved forhøyet kolesterol. Man kan derfor si at disse seks testene «utfyller hverandre».

2.6 Analyseprinsipp

Måleprinsippet til de to instrumentene er noe likt. Det blir brukt en enzymatisk kolorimetrisk metode ved analysing av totalkolesterol ved begge metodene. Ved triglyserid blir det i stedet brukt en enzymatisk metode på ABX Pentra 400 (Afinion 2 bruker enzymatisk kolorimetri her). Testkassetten til Afinion 2 har en integrert kanyle som suger opp prøvematerialet, deretter settes kassetten på maskinen. Instrumentet greier selv å observere hvilket prøvemateriale som har blitt tatt i bruk. Dette gjøres for å bestemme hvordan prøven skal behandles. Ved fullblod vil celler bli lyserte etter en hematokritmåling (for å korrigere for volum av røde celler). Hemoglobin blir målt fotometrisk, og det fortyndede fullblodet filtreres gjennom et filter, slik at blodcellene blir separert fra plasmaet. Mer om dette i vedlegg 4: *Pakningsvedlegg til Afinion 2 lipidpanel*. Videre blir plasmaet brukt til å måle kolesterol, HDL og triglyserid. I dette forsøket brukte vi serumprøver, ettersom prøvene også skulle analyseres på ABX Pentra 400.

2.6.1 Analyseprinsippet for kolesterol

Følgende analyseprinsipp gjelder Afinion 2. Et enzym vil omdanne fritt kolesterol og kolesterolestere til kolest-4-3-on og hydrogenperoksid. Sistnevnt blir brukt av hydrogenperoksidase til å koble fenol og 4-aminoantipyrin, som vil danne et rødt kinoniminfargestoff. Fargeintensiteten er direkte proporsjonal med konsentrasjonen av fritt kolesterol og kolesterolestere. Det er ganske likt med referanseinstrumentet, men ABX Pentra 400 har et annet utgangspunkt før peroksidase kobler fenol og 4-aminoantipyrin (Vedlegg 2: *Pakningsvedlegg ABX Pentra 400 reagens: kolesterol*). Kolesterolester og vann blir omgjort til kolesterol og fettsyre, deretter blir kolesterolet og oksygen omgjort til Cholesterol-3-one og hydrogen peroksid. Deretter følger resten av reaksjonen Afinion 2. Man kan si at det er ganske like reaksjoner.

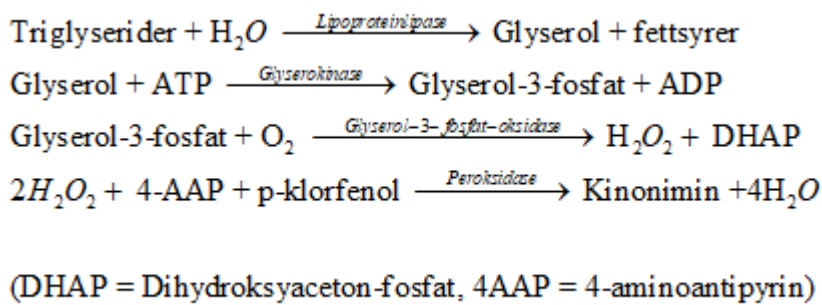


Figur 2.6.1: Figuren tar for seg reaksjonstrinnene for kolesterol på Pentra 400. (Vedlegg 2: Pakningsvedlegg ABX Pentra 400 reagens: kolesterol).

Analyseprinsippet for analysing av HDL kolesterol (gjelder Afinion 2) er det samme som ved total kolesterol og triglyserid, men det blir også tatt i bruk et antistoff. Et anti-humant apolipoprotein (apoB) antistoff binder seg til apoB som er tilstede på alle lipoproteinene utenom HDL. Dette er den første reaksjonen. I reaksjon to vil antistoffet hindre non-HDL fra å bli nedbrutt av kolesterol-metaboliserende enzym. Videre i reaksjon to vil fritt HDL og HDL kolesterolestere bli konvertert til kolest-4-en-3-on og hydrogenperoksid. Peroksidase bruker hydrogenperoksidet til å binde 4-aminoantipyrin til F-DAOS. Dette danner et blått fargekompleks. Her er også fargeintensiteten direkte proporsjonal med konsentrasjonen til fritt HDL kolesterol og HDL kolesterol. Videre, for Afinion 2, blir det tatt i bruk beregninger for å regne ut LDL kolesterol, non-HDL kolesterol og Chol/HDL ratio. Disse blir basert på resultatene til total kolesterolet, triglyseridene og HDL kolesterolet.

2.6.2 Analyseprinsippet for triglyserid

Ved analysing av triglyserider på Afinion 2 brukes det også her en enzymatisk kolorimetrisk metode. Når det kommer til triglyseridene vil disse bli hydrolysert til glyserol vha. lipoproteinlipase. Deretter vil det skje en oksidasjon til dihydroksyacetonfosfat og hydrogenperoksid. Igjen vil sistnevnt reagere med 4-aminofenazon og 4-klorfenol vha. peroksidasen sin katalytiske påvirkning. Dette danner et rødt fargestoff, og intensiteten er direkte proporsjonal med triglyseridkonsentrasjonen. ABX Pentra 400 bruker en enzymatisk metode. Triglyserid og vann blir spaltet av lipoproteinlipase til glyserol og fettsyrer. Glyserolet (og ATP) blir videre omgjort til glyserol-3-fosfat (og ADP) av glyserokinase. Glyserol-3-fosfat blir videre, sammen med oksygen, omgjort til hydrogenperoksid og DHAP av glyserol-3-fosfat-oksidasen. To hydrogenperoksid, 4-AAP og p-klorfenol blir tilslutt omgjort til kinonimin og vann vha. peroksidase.



Figur 2.6.2 Reaksjonstrinnene for triglyserid på ABX Pentra 400 (Vedlegg 3: Pakningsvedlegg ABX Pentra 400 reagens: triglyserid).

2.7 Preanalyse

Preanalytiske faktorer er viktig å ta hensyn til ved analyser. Dette er fordi det finnes så mange faktorer som kan påvirke et prøvesvar og dermed kunne gi et falskt for høyt eller lavt resultat. Når en som bioingeniør skal analysere ulike parametere er det viktig at det svaret en gir ut er helt riktig, for å kunne se tilbake på om det finnes faktorer som kan ha påvirket svaret. Denne teoridelen vil ta for seg preanalytiske faktorer som kan påvirke prøvesvaret til triglyserid og kolesterolmålinger.

Lipemi er når det er mye fett i blodet. Serumet, etter sentrifugering, vil se blakket ut og kan til tider være melkeaktig. Mengden lipemi i en prøve vil avgjøre i hvor stor grad lipemien fører til interferens. Dette kan måles ved en lipemi-indeks som avgjør graden av lipemi. Ved å standardisere prøvetakingen kan en unngå lipemiske prøver. Dette gjøres ved å ikke ta prøven rett etter et fettrikt måltid. Ofte settes denne grensen til at en skal ha fastet de siste 12 timene, siden lipemi sjelden forekommer i fastende prøver (Husøy, A. 2018 s.155). Grunnen til at lipemi kan gi falske analysesvar er at prøvematerialet da ikke er homogent. Dette kan komme av forskyvning av vannet i reaksjonsligningen for analyseprinsippet (2.6.2 analyseprinsippet for triglyserid). Det kan også komme av at turbiditet forstyrrer avlesningen av prøven.

Noen faktorer som ikke kan påvirke prøvetakingssituasjonen er kjønn, alder og kroppsmasse. Men disse variablene kan ha stor betydning for hvordan en tolker hver enkelt parameter. Disse vil gjenspeile seg i valg av referanseområde, hvor en til tider vil skille mellom dem. Grunnen er f.eks. at konsentrasjoner av ulike analytter i blodet vil variere med alderen. Dermed er et aldersbestemt referanseområde en naturlig måte å veie opp for fysiologiske forhold. Kolesterol

er en parameter som ofte vil stige med alderen, mens nyrefunksjonen ofte blir redusert ved økende alder (Guder, W. 2003, s. 6-8).

Klinisk kjemiske analytter blir påvirket av hva vi spiser og drikker og vil kunne føre til endringer i sammensetningen til blodet, som for eksempel fett (lipider). På denne måten stiger visse lipoproteiner etter fettrike måltider. Lipemiske prøver, som en kan få etter fettrike måltider, kan påvirke spektrofotometriske metoder og vil kunne føre til feil prøvesvar. Ved bestemmelse av for eksempel triglyserider, frie fettsyrer eller glyserol, må pasienten være fastende. Dette vil si at pasienten har unngått å spise, drikke eller røkt de siste 12 timene før prøvetakingen (Nasjonal brukerhåndbok i Medisinsk Biokjemi, 2014). Langvarig sult vil føre til nedsatt konsentrasjon av blodets proteiner, kolesterol, triglyserider, apolipoproteiner og urinstoff. Inntak av mat og drikke vil ikke bare resultere i fysiologiske endringer, men kan også føre til problemer med analyseringen.

Inntak av alkohol kan føre til både langvarige og kortvarige effekter av klinisk kjemiske analytter. Den langvarige effekten av alkohol inkluderer blant annet en økning av leverenzymene som ALP, CK og LD, triglyserider og gjennomsnittlig cellevolum i erytrocyttene (MCV) i serum (Guder, W. 2003, s.13). På grunn av disse endringene i analyttkonsentrasjonene, bør ikke pasienten drikke alkohol de siste 24 timene før prøvetakingen (Husøy, A. 2018 s.25).

2.8 Interferens

Interferens kan forklares som et kjemisk eller fysisk fenomen som kan påvirke en reaksjon. Når uttrykket interferens blir brukt innen medisinsk laboratorieteknologi, handler det både om det som skjer inne i kroppen (in vivo) og det som skjer utenfor kroppen (in vitro). In vivo-interferens kan for eksempel være medikamenter som kan påvirke konsentrasjonen av en analytt. In vitro-interferens kan komme av at analyseteknikken påvirker konsentrasjonen av en analytt som da vil forårsake systematisk feil i måleresultatet. I denne sammenhengen med måling av blant annet kolesterol, handler det om medikamenter eller andre parametere som kan gi et falsk forhøyet eller for lavt prøvesvar (Husøy, A. 2018 s. 152).

I pakningsvedlegget til lipidpanelet (Vedlegg 4) er det listet opp en rekke stoff som ble testet for interferens med kolesterol, HDL og triglyserid. Det ble ikke observert noen signifikant

interferens (< 10%) opp til de konsentrasjonene som er oppgitt i listen på side 21-22 i pakningsvedlegget.

Interferens kan påvirke analysesvaret på ulike måter. Det kan inngå i reaksjonen, og påvirke analysereaksjonen ved å f.eks. påvirke reaksjonshastigheten, likevekten og danne kryssreaksjoner. Det kan også skje en påvirkning innpå avlesningen av målesignalet. Eksempel på interferens som kan gå utover dette er hemolyse, lipemi, bilirubin og medikament. De vanligste formene for interferens innen medisinsk laboratorieteknologi er langvarig bruk av stasebånd, hemolyse, lipemi, bilirubin og medikamenter (Husøy, A. 2018 s. 89, 152).

2.9 Statistiske metoder

I dette forsøket ble det tatt i bruk Bland-Altman og Passing and Bablok-regresjon til å fremstille resultatene. Den første metoden, Bland-Altman plott, brukes til å sammenligne to målinger av samme variabler. Den andre metoden, Passing and Bablok-regresjon, brukes derimot til å tolke sammenligningsdata og konkludere med samsvaret mellom de to metodene. Siden sistnevnte er lite omtalt, og mer omfattende å forstå, kommer vi til å beskrive denne metoden mer i dybde. Etersom Bland-Altman er mer omtalt i litteraturen, vil det ikke bli lagt like stor vekt på å beskrive denne statistiske metoden.

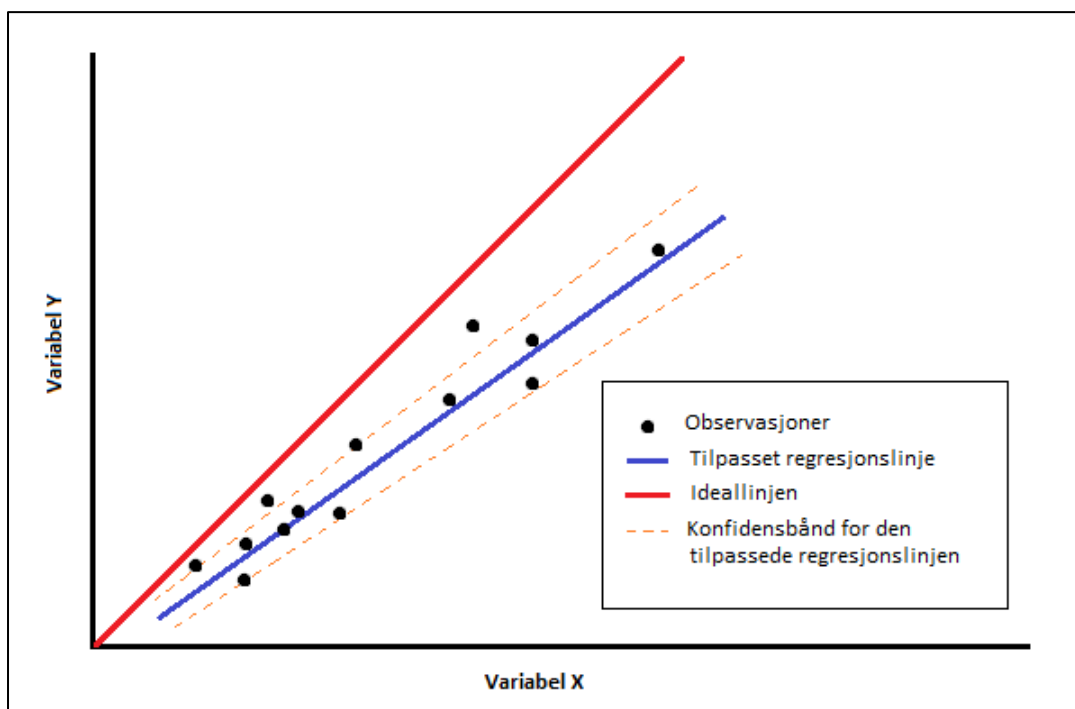
Y-aksen i et Bland-Altman plott viser forskjellen mellom de to metodene, A og B. X-aksen representerer gjennomsnittet av analysene. Forskjellene mellom de to parrede målingene er plottet opp mot gjennomsnittet av de to målingene. Denne forskjellen undersøker eventuelle forhold mellom målefeil og sann verdi. (Giavarina D. 2015)

I et Bland-Altman plott er det anbefalt at 95% av datapunktene skal ligge innenfor $\pm 2s$ av den gjennomsnittlige forskjellen. Dette blir fremstilt ved LoA, Limits of Agreement, som er utregnede verdier som fastsetter en øvre og en nedre samsvarsgrense som ligger på +1,96 og -1,96 standardavvik. Dette er den vanligste måten å sette opp et plott på, men det er også mulig å plote inn forskjellene som prosent (Bolann, B. 2009., s. 78).

Ved Passing and Bablok-regresjon fremstiller programmet, MedCalc, et scatterdiagram med en regresjonslinje som muliggjør en visuell inspeksjon av målte data. Den ser også på åpenbare samsvar ut ifra regresjonslinjen, samt en identitetslinje som representerer den ideelle linjen. Denne metoden går ut på å regne ut en regresjonsligning ut ifra to datasett. Ved Passing and

Bablok-regresjon må man ha et bredt konsentrasjonsområde og et lineært forhold mellom de to metodene (Bolann, B. 2009 s. 81).

Figur 2.9.1 viser en skisse av en Passing and Bablok-regresjon. Den har en ideallinje med ligningen $y = 0 + x$, noe som vil være ønskelig å oppnå ved en sammenligning. Den blå linjen viser den tilpassede regresjonslinjen ut ifra resultatet, og ut ifra figuren ser vi at regresjonsligningen her blir forskjellig fra ligningen til ideallinjen. De stiplede oransje linjene illustrerer konfidensbånd på 95%. X-aksen representerer referansemetoden, mens testmetoden blir representert ved Y-aksen.



Figur 2.9.1: Skisse av hvordan Passing and Bablok-regresjon kan se ut.

Regresjonsligningen ($y = a + bx$) viser en konstant og en proporsjonal forskjell med konfidensintervaller på 95% (95% CI). Skjæringspunktet (a) kan si om det er en konstant forskjell, mens regresjonsligningens stigning (b) sier om det er en proporsjonal forskjell i målingen. Konfidensintervaller forklarer om verdien er forskjellig fra null (0) for avskjæring og fra én (1) for stigning bare ved en tilfeldighet (Bilić-Zulle 2011).

Dersom 95% CI for avskjæringen inkluderer verdien null, kan det konkluderes med at det ikke er noen signifikant forskjell mellom den avskjæringsverdien og nullverdien, og at det dermed

ikke er noen konstant forskjell mellom de to metodene. Hvis 95% CI for stigningen inneholder verdien 1, kan vi konkludere med at det ikke er noen signifikant forskjell mellom stigningsverdien og verdien 1, og at det i dette tilfellet ikke er noen proporsjonal forskjell mellom de to metodene (Bilić-Zulle 2011).

3 Materiale og metode

I dette kapittelet skal vi gå gjennom hvordan prosessen foregikk fra prøveinnsamling til analysering. Blodprøvene ble tatt på skolens laboratorium, og det ble delt ut samtykkeskjema til alle deltakerne. Prøvematerialet ble først analysert på Afinion 2, deretter på ABX Pentra 400 – referanseinstrumentet i dette prosjektet.

3.1 Utstyrliste

- Blodprøvetakingsutstyr
- Samtykkeskjema (Vedlegg 13)
- Sentrifuge - Thermo Scientific, SL 40 FR
- Afinion 2 med tilhørende test- og kontrollkassetter
- ABX Pentra 400 med reagens, kontroll og kalibrator

3.2 Prøveinnsamling, samtykkeskjema og etisk vurdering

Det ble i alt tatt blodprøve av 28 frivillige. Prøvetakingen fant sted på universitetets eget laboratorium, og alle deltakerne hadde en form for tilknytning til NTNU i Ålesund (lærere og studenter). De ble kjent med forsøket gjennom sosiale medier og flyers. Dette var en «opportunistisk» innsamlingsmetode (Briggs & Coleman, 2002, s. 100-101) Denne metoden ble valgt pga. at den er mindre tidkrevende og enkel å gjennomføre. Det ble også tatt i bruk fabrikkerte serum med kjente verdier (mer om dette under 3.3 *Analysering av prøver på Afinion 2*).

Etikk er viktig å ta hensyn til i vurdering av oppgaven. Vi har derfor valgt å lage et samtykkeskjema for å opprettholde retningslinjer for bruk av prøvemateriale i forskning (Lovdata, 2018). Samtykkeskjema er lagt ved som Vedlegg 5. I samtykkeskjemaet forklarte vi hva prøvene skulle brukes til, og at deltakelsen var helt frivillig. Alle som deltok måtte skrive under, og skjemaene ble destruert i etterkant av forsøket.

For å kunne ta hensyn til referanseområde, uventede prøveresultat, eller problemer med analyseringen, ble deltakerne også stilt spørsmål om viktige preanalytiske faktorer rundt kolesterol og triglyserid. Med dette mener vi faktorer som inntak av alkohol og mat de 12 siste

timene, alder og kjønn. Mat- og alkoholinntaket ble basert på definisjonen av fasting (2.7 *Preanalyse*). Dessuten kan et matinntak gi forhøyede kolesterolverdier, mens alkohol har en effekt på triglyseridverdiene. I definisjonen blir det også nevnt at man ikke skal ha røykt, men dette tok vi ikke med som et spørsmål. Dette kommer av at røyking kan redusere HDL, som ikke ble undersøkt i dette tilfellet. Resultatene til disse spørsmålene vil bli presentert i resultatdelen.

Nummerering av prøvene ble utført ved at hvert enkelt samtykkeskjema fikk sitt spesifikke tall. Dette tallet ble videre brukt på samhørende glass, for å ha kontroll på at prøven ble analysert ved begge instrumentene. Prøvene ble i etterkant av forsøket destruert etter forskrifter for biologisk materiale.

I vår oppgave er det i hovedsak informert samtykke vi forholder oss til. Men det ble også gjort en risikovurdering i forkant av laboratoriearbeidet, med tanke på HMS og tilgang til laboratoriet (NTNU HMS, 2019). I tillegg er det viktig å nevne noen andre retningslinjer som kan være hensiktsmessige å ha tenkt igjennom (De nasjonale forskningsetiske komiteene, 2016). En av disse er å gjøre det klart at alt av reagenser, kontroller og annet utstyr, som er brukt i forsøket, ble kjøpt gjennom NTNU, og ikke donert av leverandørene. En annen er at det ikke var et samarbeid mellom forskningsprosjektet og produsent, ettersom det ikke var en hensikt å fremme noens produkter gjennom forskningen. Det ble dermed foretatt en objektiv vurdering av resultatene.

3.3 Reliabilitet og validitet

Det ble tatt hensyn til flere faktorer for å kunne sikre at forsøket fikk en god validitet – at resultatet ble troverdig. Kontroller og kalibratorer ble analysert før analysestart, og alt av prøvemateriale ble behandlet likt for å hindre preanalytiske feil som kunne slå ut på resultatet. For eksempel ble det etter prøvetaking sikret at glassene fikk koagulere i minst 30 minutter før sentrifugering, og ingen sto lengre enn to timer. Alle prøvene ble først analysert på Afinion 2, deretter på ABX Pentra 400, og alle ble analysert samme dag som de ble tatt. Vi tok også i bruk Pathonorm High og Low for å sikre at vi fikk et større spekter med triglyserid- og kolesterolverdier. Dette gjorde vi for å sjekke om høyere eller lavere konsentrasjoner førte til en betydelig forskjell. Vi antok at deltakerne i dette forsøket ikke hadde et større forbruk av

medikament som kunne føre til interferering med reagensene i lipidpanelet (avsnitt 2.8: *Interferens*).

3.4 Analysering av prøver på Afinion 2

Som tidligere nevnt var Afinion 2 testinstrumentet i dette bachelorprosjektet. Instrumentet var nytt, og det ble derfor foretatt en førstegangs oppstart før bruk. Dette vil si at instrumentet ble innstilt slik at det hadde en overensstemmelse med de lokale behovene. Eksempel på disse behovene er generelle innstillinger som dato, klokkeslett, lyd- og skjerminnstillinger, osv. Det var vi som var ansvarlige for å utføre denne oppstarten før vi kunne ta det i bruk, og det ble som tidligere nevnt også laget en brukermanual til apparatet. Denne inneholder en trinnvis forklaring på hvordan man går frem for å utføre en analyse av en lipidpanel-testkassett på Afinion 2. Målet med denne var å lage noe håndfast som studentene ved NTNU i Ålesund kunne dra nytte av i laboratorieundervisningen sin.

I brukermanualen, som følger med instrumentet, kan man finne spesifisert informasjon om hvordan maskinen burde vedlikeholdes. Ved hver oppstart gjennomfører maskinen en selvtest. Dette innebærer at den sjekker maskin- og programvarefunksjonen, transportsystemet til testkassetten, vasketransportsystemet, og kameraets bildebehandlingssystem. En selvtest vil også bli satt i gang dersom maskinen skulle stå på lenge. I tillegg har instrumentet egne feilsikringsmekanismer som passer på at testkassetten blir prosessert rett, og at en «dårlig» kassett ikke blir analysert. Det vil si at instrumentet sjekker dato, feil, brukket kapillær, osv. Ellers er det viktig å huske på å tørke støv av maskinens overflate og kassettkammer. Vedlikeholdet blir gjort for å opprettholde den standarden produsenten har satt.

Før vi analyserte prøvene på instrumentet gjennomførte vi en kvalitetskontrolltest vha. kontroller som var levert og anbefalt av Alere/Abbott Technologies AS. Dette gjorde vi for å sikre at testsystemet fungerte som det skulle, og at det gav pålitelige prøveresultat. Testing av kontrollen ble utført på samme måte som analyseringen av en pasientprøve. Det er anbefalt å ta i bruk kontroller ved førstegangs oppstart, for hvert nye forsendelse av testkitt, ny lot og ved usannsynlige pasientprøveresultat. Når det kommer til kalibrering er ikke dette et krav. Dette kommer av at kalibreringen til instrumentet ligger spesifisert i strekkoden til testkassetten. Hvert lot-nummer har sin spesifikke kalibrering. Dette gjør at det ikke er nødvendig å sette opp

en egen kassett til kalibrering. Først etter at kontrollen var analysert og godkjent ble pasientprøvene analysert på Afinion 2.

For å sikre høye og lave verdier brukte vi Pathonorm High og Pathonorm Low, som er et frysetørket animalsk kontrollserum. PathonormTML/ PathonormTM H er ment å brukes som et kvalitetskontrollmateriale for å kontrollere presisjon og riktighet av laboratoriets måleprosedyrer. Her benyttet vi kontrollserumet for å se om analysering av unormale lave og høye prøver ville by på utfordringer for instrumentet. Henviser til vedlegg 6 for instruksjonene for bruk av PathonormTMH/L.

Prøvene ble deretter analysert på ABX Pentra 400.

3.5 Analysering av prøver på ABX Pentra 400

Det ble tatt i bruk kalibratorer (ABX Pentra MultiCal) og kontroller (ABX Pentra N Control) før vi kunne analysere prøvene. HORIBA leverer egne kalibratorer og kontroller som egner seg til dette. I motsetning til Afinion 2 må ABX Pentra 400 kalibreres hver gang den blir tatt i bruk. Det må også brukes en kontroll hver gang en prøve skal analyseres, og evt. ved ekstra kalibrering må det alltid følge en kontroll analyse. Henviser til brukermanualen til ABX Pentra 400 – RAB125IEN – for mer informasjon om hvordan dette ble utført. For videre informasjon om vedlikehold, se Veiledning for dagligbruk - RAB199ENO.

Kontroll og kalibreringen for triglyserid ble godkjent ved første gangs analysering på instrumentet begge dagene, da resultatene lå innenfor området for de definerte konfidensgrensene (Vedlegg 7). Kolesterol derimot, måtte analyseres om igjen, da resultatene ikke kunne godkjennes ved første analysering. Etter analysering nummer to kunne resultatene for kalibrering og kontroll godkjennes. Dette skjedde begge dagene vi foretok kalibrering og kontroll. Deretter ble prøvene analysert etter prosedyre.

Det ble også her analysert kontrollserum; Pathonorm High og Pathonorm Low. Mer om dette ble forklart tidligere under 3.3 *Analysering av prøver på Afinion 2*.

3.6 Statistiske metoder

Etter analysing av alle prøvene ble resultatene vi fikk satt opp i tabeller og brukt til å lage Bland-Altman plott og Passing and Bablok-regresjon. Dette gjorde vi for å kunne sammenligne resultatene på de to instrumentene på en best mulig måte.

Excel ble brukt for å lage Bland-Altman plott til hver av parameterne vi målte på de forskjellige instrumentene. Først ble differansen og gjennomsnittet mellom hver av resultatene på Afinion 2 og ABX Pentra 400 regnet ut. Deretter beregnet vi bias, standardavvik, nedre LoA og øvre LoA. Henviser til vedlegg 8 og 9 for data brukt i utregningene.

For å kunne ta hensyn til feil ved referanseinstrumentet, har vi tatt i bruk Passing and Bablok-regresjon. Siden denne regresjonsanalysen tillater målefeil i begge metodene og ikke er sensitiv for uteliggere, er det en god og hensiktsmessig modell å bruke for analyse av resultater fra metodesammenligning.

For å lage regresjonslinje med Passing and Bablok-metoden, benyttet vi «MedCalc statistical software». Det første vi måtte gjøre var å legge inn målingene som ble gjort med de to instrumentene i programmets regneark. Deretter satte vi referanseinstrumentet, ABX Pentra 400, som variabel X og testinstrumentet, Afinion 2, som variabel Y. Til slutt gav programmet oss en fremstilling av resultatene i et punktdiagram med tilhørende regresjonslinje og en tabell med beregnede resultater.

4 Resultat

I denne delen vil vi presentere resultatene fra målingen av kolesterol og triglyserid. De ble fremstilt i både Bland-Altman plott og ved Passing and Bablok-regresjon. Disse metodene ble tidligere beskrevet under 2.9 *Statistiske metoder*. Henviser til vedlegg 10 og 11 for mer omfattede informasjon om resultat og utregninger.

Ut ifra tabellene under legger vi merke til at ABX Pentra 400 (metode A) måler høyere kolesterolkonsentrasjon enn Afinion 2 (metode B) på alle prøvene. Når det kommer til triglyserid ser vi at analyseinstrumentene måler ganske likt, og at det er en variasjon i hvilket analyseinstrument som måler høyest.

Tabell 3. Tabellen viser prøveresultatene etter analysering for kolesterol. Resultatene i tabellen er avrundet til to desimaler.

Kolesterol (mmol/L)		
Prøvenr.	ABX Pentra 400	Afinion 2
1	7,09	5,78
2	4,54	3,53
3	5,10	4,08
4	4,94	3,91
5	6,32	5,08
6	5,01	3,98
7	4,32	3,35
8	5,35	4,39
9	7,34	5,75
10	3,77	3,00
11	6,26	5,04
12	9,36	7,39
13	7,36	5,79
14	6,49	5,24
15	6,03	4,66
16	5,97	4,72
17	8,76	6,65
18	6,69	5,23
19	4,91	3,84
20	5,17	4,00
21	7,00	5,61
22	5,72	4,50
23	6,73	5,29
24	6,24	4,94
25	5,95	4,51
26	7,11	5,35
27	6,65	5,41
28	6,04	4,80
29	8,91	7,17
30	8,70	7,39
31	3,18	2,59
32	3,12	2,59

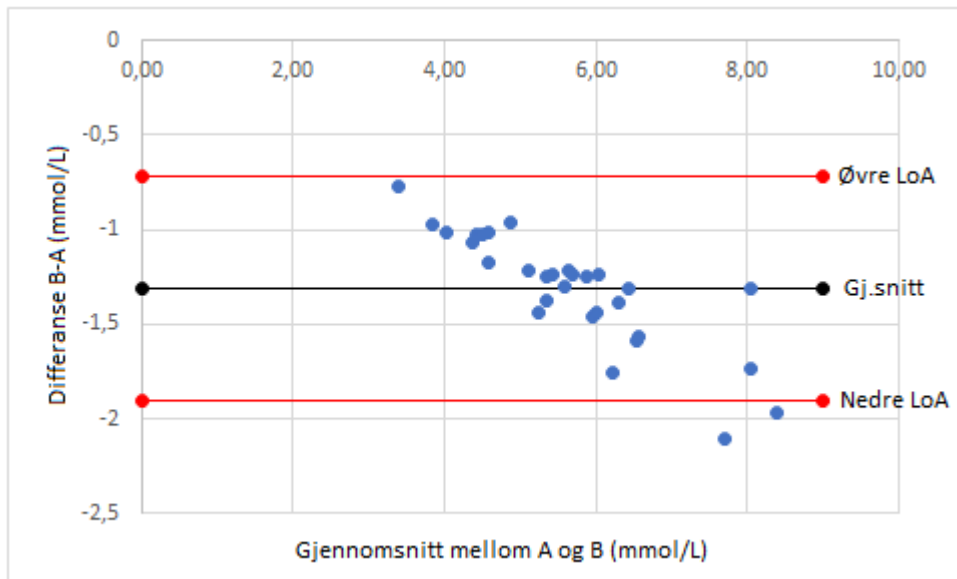
Tabell 4. Tabellen viser prøveresultatene etter analysering for triglyserid. Resultatene i tabellen er avrundet til to desimaler.

Triglyserid (mmol/L)		
Prøvenr.	ABX Pentra 400	Afinion 2
1	2,48	2,42
2	0,92	0,75
3	1,29	1,32
4	0,70	0,74
5	1,52	1,45
6	1,49	1,39
7	1,65	1,54
8	1,30	1,25
9	1,46	1,32
10	0,85	0,87
11	1,04	1,04
12	1,74	1,54
13	1,54	1,48
14	0,76	0,78
15	0,95	0,88
16	2,29	2,00
17	1,90	1,64
18	0,80	0,77
19	1,29	1,24
20	2,24	2,07
21	2,01	1,85
22	1,06	0,96
23	1,13	1,04
24	0,66	0,64
25	1,34	1,32
26	0,89	0,87
27	1,96	1,92
28	0,92	0,92
29	3,86	3,38
30	3,84	3,46
31	0,93	0,77
32	0,85	0,77

For en mer utfyllende oversikt over prøveresultatene og utregninger henviser vi til vedlegg 8 og 9. Her har resultatene blitt satt opp i kronologisk rekkefølge i to kolonner, der den ene er for metode A og den andre er for korresponderende resultat fra metode B. I den neste kolonnen beregnes gjennomsnittet mellom hver måling i A og B, og den etterfølgende kolonnen viser differansen (d) i hvert tallpar. I den siste kolonnen beregnes den gjennomsnittlige differansen i prosent.

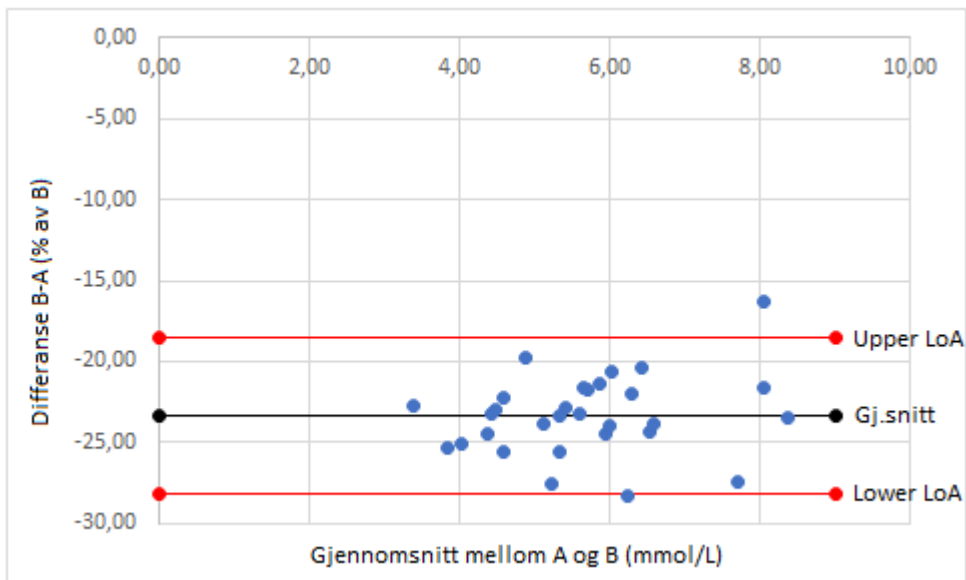
4.1 Resultat kolesterol

Ut ifra figuren under (4.1.1) ser vi at gjennomsnittet av forskjellen, som er representert som den sorte linjen, er -1,32 enheter (mmol/L). Alle datapunktene utenom to holder seg innenfor samsvarsgrensene (Limits of agreement), som strekker seg fra -0,72 til -1,91 mmol/L. Det ser også ut til at differansen mellom de to metodene øker, jo høyere konsentrasjon som blir målt.



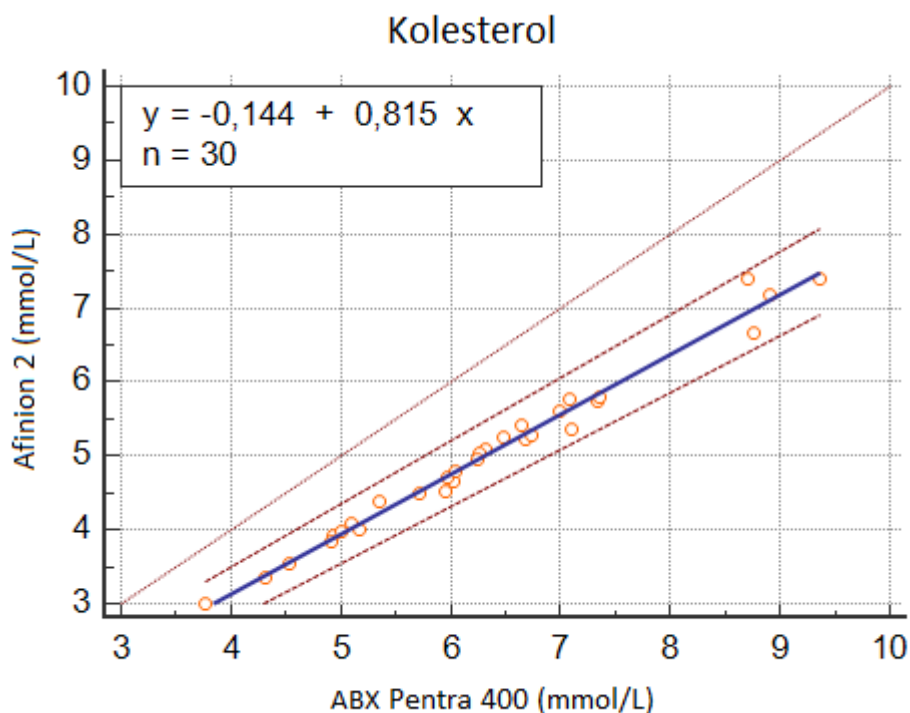
Figur 4.1.1: Bland-Altman plott for kolesterol målt i enheten mmol/L. De røde linjene viser Limits of Agreement, fra -1,96s til +1,96s. Den sorte linjen i midten er gjennomsnittet.

Bland-Altman plottet under (Figur 4.1.2) er fremstilt i prosentandel, der det viser hvor stor forskjell det er mellom analyseresultatene fra metode A og metode B i prosent. Det man kan se er at de fleste datapunktene ligger rundt linjen på -23,07%, som viser den gjennomsnittlige differansen. Noen av prøvene ligger nært den øvre samsvarsgrensen, i tillegg til at vi ser et punkt som ligger utenfor. Det uteliggende punktet er forventet med tanke på et 95% konfidensintervall.



Figur 4.1.2: Bland-Altman plot for kolesterol målt i enheten prosent, %. De røde linjene viser Limits of Agreement, fra -1,96s til +1,96s. Den sorte linjen i midten er gjennomsnittet.

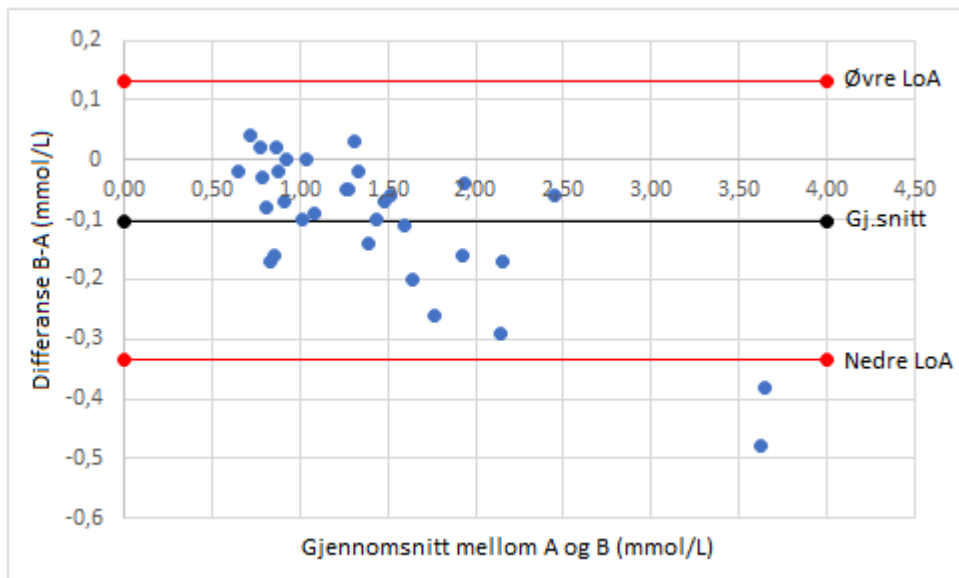
Analysen for Passing and Bablok-regresjonen som er gjort for kolesterol har regresjonslikningen: $y = -0,144 + 0,815x$. Den er forskjellig fra ligningen til ideallinjen, da dette viser en skjæring i y-aksen på -0,144 mmol/L og en stigning på 0,815 %. Konfidensbåndene på 95% er noe brede, da de strekker seg fra -0,22 til 0,22 mmol/L (Vedlegg 11). I tillegg ser vi at regresjonslinjen for kolesterol er plassert noe under ideallinjen.



Figur 4.1.3: Passing and Bablok-plott for kolesterol. Regresjonslikningen og antall prøver er presentert i boksen øverst i hjørnet på figuren.

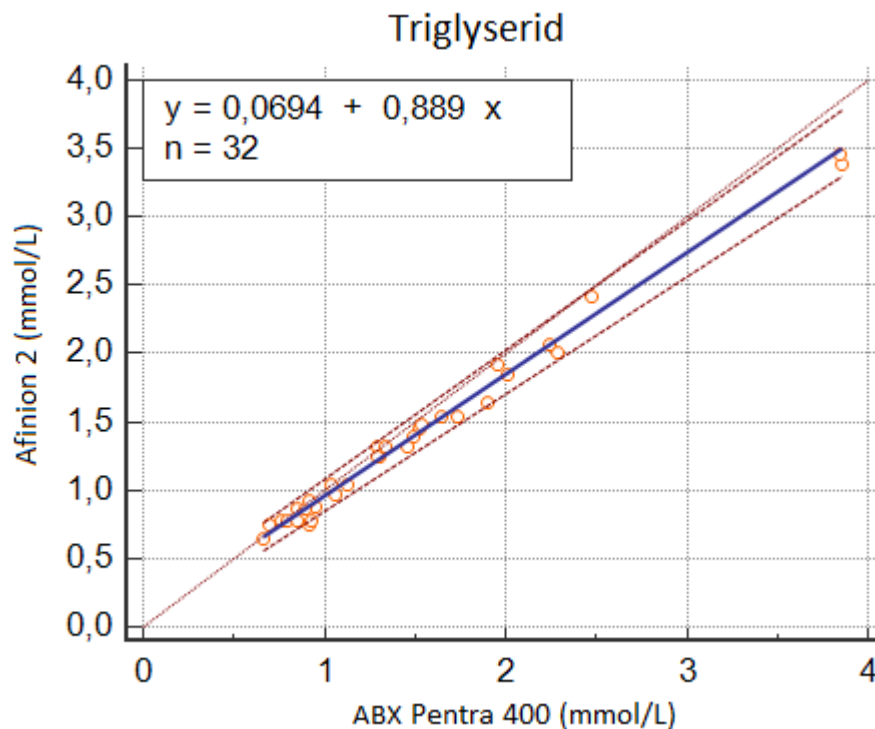
4.2 Resultat triglyserid

Ut fra figur 4.2.1 ser vi at den gjennomsnittlige differansen mellom metodene er -0,10 mmol/L. Her kan man se to punkt som ligger i det øvre konsentrasjonsområdet. Disse ligger utenfor konfidensintervallet pga., som tidligere nevnt, konfidensintervallet på 95%. Når det gjelder de andre datapunktene, som ligger i konsentrasjonsområdet mellom 0,50 til 2,50 mmol/L, holder de seg godt innenfor Limits of agreement. Samsvarsgrensene strekker seg fra 0,13 til -0,33 mmol/L.



Figur 4.2.1: Bland-Altman plott for triglyserid målt i enheten mmol/L. De røde linjene viser Limits of Agreement, fra -1,96s til +1,96s. Den sorte linjen i midten er gjennomsnittet.

Analysen for Passing and Bablok-regresjonen som er gjort for triglyserid viser en skjæring i y-aksen på 0,0694 mmol/L og en stigning på 0,889 %. Dette betyr at regresjonsligningen for triglyserid er $y = 0,0694 + 0,889x$, og at denne også er forskjellig fra ideallinjen. Konfidensbåndene for triglyserid er smale, da den strekker seg fra -0,10 til 0,10 mmol/L (Vedlegg 11). Vi ser også at regresjonslinjen ligger ganske nært ideallinjen.



Figur 4.2.2: Passing and Bablok-plott for triglyserid. Regresjonsligningen og antall prøver er presentert i boksen øverst i hjørnet på figuren.

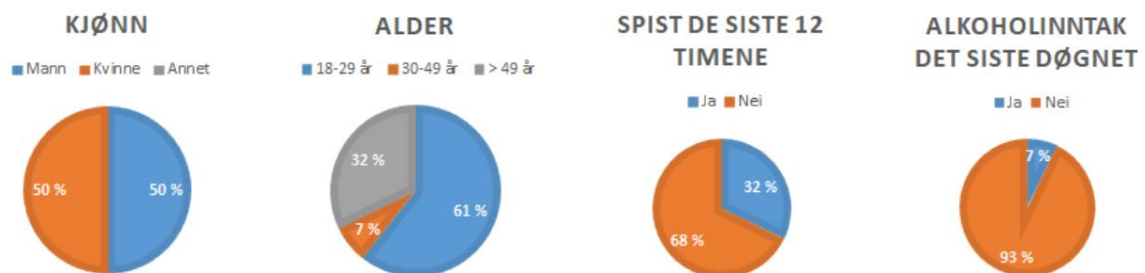
4.3 Informasjon fra Bergman Diagnostika

Under analyseringen av blodprøvene ble det observert at ABX Pentra 400 hadde en tendens til å gi ut høye svar på kolesterol. Det var forventet å få noen høye svar pga. at 32% av deltakerne hadde spist innenfor de tolv siste timene før prøvetakingen. Etter sammenligning med testinstrumentet kunne vi se at Afinion 2 målte lavere enn referanseinstrumentet. Etersom det så ut til at det var en konstant forskjell i prøvesvarene mellom de to instrumentene bestemte vi oss for å kontakte leverandøren av ABX Pentra 400. Bergman Diagnostika gav tilbakemelding på at det var kjent at den siste kolesterol lot-en målte høyt. Dette funnet viser til at man ikke ville fått den samme forskjellen ved bruk av et annet referanseinstrument enn ABX Pentra 400.

Vi fikk tilsendt resultater fra en samkjøring med Unilabs (korrelasjon på 20 prøver), der resultatet viste at ABX Pentra 400 lå ca. 15% høyere (Vedlegg 12). Det var en korrelasjonskoeffisient på 0,99, noe som tilsvarer en meget god korrelasjon, slik at man kunne gå ut fra at forskjellen var konstant. Unilabs løste problemet med å lage en korrelasjonsfaktor på 0,84, der dette tallet blir multiplisert med resultatet til ABX Pentra 400 for å få verdiene nærmest mulig det reelle resultatet.

4.4 Svar på spørreskjema

Under kan man se fire sektordiagram som viser resultatet av svarene til spørsmålene som deltakerne ble stilt (Vedlegg 13). Ved spørsmål om kjønn ser vi at det fordeler seg halvt om halvt menn og kvinner. Når det gjelder alder er fordelingen mer ujevn. Den største andelen er i alderen 18-29 år, og kun 7% mellom 30-49 år. Cirka en tredjedel hadde spist de siste 12 timene og 7% hadde inntatt alkohol i løpet av det siste døgnet. Prosenten er regnet ut ifra et deltakerantall på 28 stk.



Figur 4.4.1 Sektordiagram som illustrerer svarene til deltakerne.

5 Diskusjon

Når vi ser på resultatene knyttet til kolesterol kan vi se at Afinion 2 har en tendens til å måle lavere enn ABX Pentra 400, og at denne tendensen ser ut til å øke med konsentrasjonen. Man kan se dette ved å studere Bland-Altman plottet (Figur 4.1.1), hvor resultatene på Afinion 2 gjennomsnittlig ligger -1,32 enheter under ABX Pentra 400. Videre kan man se at forskjellen øker med konsentrasjonen. For eksempel kan man se dette vha. å sammenligne resultatene på Pathonorm High/Low. Der ser man en differanse på 1,97 mellom de to instrumentene ved Pathonorm High. Denne differansen er lite ønskelig, ettersom det viser en betydelig forskjell i målingene mellom de to instrumentene. Afinion 2 oppga ikke prøvesvar lavere enn 2,59 mmol/L, og det var derfor ikke mulig å sammenligne resultatene til Pathonorm Low.

Videre, om vi ser på figur 4.1.1, kan vi se at gjennomsnittsdifferansen mellom metodene er forskjellig fra null. Verdien ligger på -1,32, og dette er ikke ønskelig da det indikerer en forskjell mellom metodene. I tillegg er konfidensintervallet for gjennomsnittsdifferansen $-1,32 \pm 0,11$, som betyr at grensene er vide, og at analysen har en stor spredning. Ser vi videre på punktene kan vi se en proporsjonal forskjell, ettersom differansen varierer med analyttens konsentrasjon. Jo høyere konsentrasjonen er, jo større blir differansen. Denne påstanden kan støttes med følgende resultat fra Passing and Bablok (Figur 4.1.3). Her har ligningen et stigningstall mindre enn en, og et konfidensintervall som ikke inkluderer en. Dette gir oss en statistisk signifikant proporsjonal forskjell. Med grunnlag i stigningstallet har vi da en stigning på -18% lavere enn det som er ideelt. Fordi konfidensintervallet til skjæringspunktet inkluderer null har vi ingen statistisk signifikant konstant forskjell.

Om man ser nærmere på ABX Pentra 400 sine kolesterol-resultater kan man trekke påstanden om at den måler for høyt. Ettersom de fleste av deltakerne var i aldersgruppen 18-29 år, og at flertallet ($\frac{2}{3}$) fastet før prøvetakingen (avsnitt 4.4), var det ikke forventet å ende opp med så mange høye kolesterolverdier. Jevnt over er det kun resultat i det øvre referanseområdet til alle samtlige kolesterolprøver analysert på ABX Pentra 400. Det er i tillegg ca. 10 prøver som ligger utenfor referanseområdet totalt, men noen av disse hadde spist før prøvetaking. Den naturlige forklaringen til de høye prøvesvarene ville ha vært at flere av deltakerne hadde spist, men når vi ser på Afinion 2 kan vi se at ingen av prøvesvarene ligger utenfor referanseområdet. Dette gjelder også for de som hadde spist i forkant av prøvetakingen.

Ved å se på resultatene til Pathonormserumet, og det faktumet at kontrollen til kolesterol ikke ble akseptert på første forsøk (avsnitt 3.4), kan man få en pekepinn på at reagenset ikke fungerte som det skulle. Dette kommer av at ABX Pentra 400 ga ut høyere verdier enn de akseptable måleområdene som er definert for Pathonorm High/Low (Vedlegg 6). Dette bekrefter også tilbakemeldingen fra Bergman Diagnostika (avsnitt 4.3) – at den analyserer for høyt når det kommer til kolesterol. Ifølge en korrelasjonstest gjort av Unilabs, var denne forskjellen på hele 15% høyere. I vårt tilfelle, som vi ser ut i fra figur 4.1.2, ligger forskjellen på 23%. Unilabs lagde en korrelasjonsfaktor for å korrigere for dette. Fordi denne ikke var laget av leverandøren selv, men en bruker, var ikke dette en korrelasjonsfaktor vi kunne benytte oss av i dette forsøket. Vi hadde heller ingen mulighet for å lage en korrelasjonsfaktor selv fordi vi ikke kan garantere for at Afinion 2 måler riktig. Det skal nevnes at både kontrollene og Pathonorm High la seg fint innenfor måleområdene når det kom til Afinion 2.

Ved triglyserid kan vi se både en proporsjonal og en konstant forskjell mellom de to instrumentene. Om vi ser på analysepunktene i Bland-Altman plottet (Figur 4.2.1), ser vi at differansen blir større, jo høyere konsentrasjonen er. Fordi differansen varierer noe med analyttens konsentrasjon, kan vi si at vi har en proporsjonal forskjell mellom metodene. Dette ser vi også ut ifra regresjonsligningen til triglyserid (Figur 4.2.2). Stigningstallet til linjen er på 0,89, noe som betyr at vi har en stigning på -11% i forhold til ideallinjen. Konfidensintervallet til stigningen inkluderer ikke verdien en, og vi kan dermed si at en statistisk signifikant proporsjonal forskjell er tilstede. Når vi ser på konfidensintervallet for skjæringspunktet, inkluderer det ikke verdien null, noe som vil si at vi her har en statistisk signifikant konstant forskjell tilstede. Gjennomsnittet for skjæringen er derimot liten (0,0694 mmol/L).

I motsetning til kolesterol ser det ut til at triglyserid har en større overensstemmelse mellom de to instrumentene. ABX Pentra 400 analyserer fortsatt noe høyere enn Afinion 2, men differansen er betydelig lavere i forhold til kolesterol. Fra Bland-Altman plottet (Figur 4.2.1) kan vi se at gjennomsnittsdifferansen er forskjellig fra null, men at det er en liten forskjell. Gjennomsnittsdifferansen ligger på -0,1, noe som er akseptabelt med tanke på at denne triglyseridanalysen ikke skal brukes til å stille diagnoser. Konfidensintervallet til gjennomsnittsdifferansen er $-0,1 \pm 0,04$, og ligger tett opp mot null, noe som er ønskelig. Siden de utregnede grensene er smale, kan vi derfor si at vi har en liten spredning. Dette betyr at instrumentene har en overensstemmelse som vi kan godta når det gjelder triglyserid.

Ettersom prøveinnsamlingen var opportunistisk, og ikke stratifisert, kan ikke prøvematerialet brukes til noe annet enn metodesammenligning. Ved å ta i bruk en opportunistisk innsamlingsmetode ble det ikke fokusert på å samle inn generaliserbart prøvemateriale. Dette betyr at prøvematerialet i dette forsøket ikke kan representere en populasjon. Mangelen på generaliserbarhet gjør at resultatene ikke kan brukes i en sammenheng hvor man ser dypere på referanseområdene til de to analysene. For eksempel, om man skulle sett på referanseområdene til kolesterol, ville det vært gunstig å ta prøver av bare fastende deltakere. Dette kommer av at mat virker inn på kolesterolet, slik at prøvesvarene ikke blir reelle. I vårt tilfelle hadde det kanskje vært mer gunstig å sikre bare fastende deltakere for å kunne utelukke at det var matinntaket som førte til at kolesterol ble målt så høyt på ABX Pentra 400. Ved «testing» av referanseområdet til triglyserid hadde det her vært gunstig å ekskludere deltakere som hadde inntatt alkohol de siste 12 timene. Vi valgte likevel å gå for den opportunistiske metoden, ettersom denne er rask og enkel å utføre. En stratifisert metode hadde vært lite hensiktsmessig pga. det ville ha tatt lengre tid å få tak i deltakere som passet til *alle* «kriteriene».

Siden hovedoppgaven vår var å finne forskjeller mellom Afinion 2 og ABX Pentra 400 når det gjaldt analysene, fokuserte vi ikke på å få spredning i alder av deltakere. Det ville vært en fordel å ha flere deltakere som man kunne jevnt fordele utover referanseområdene, til f.eks. kolesterol, om man skulle forsket på noe annet enn sammenligning av metoder. Bare 7% av deltakerne i dette forsøket kunne representere referanseområdet for aldersgruppen 30-49 år. Det var dermed ikke nok deltakere til å representere hver enkel gruppe på en utfyllende måte (kolesterol). Det var aldersgruppen 18-29 som ble best representert. Man kan heller ikke påstå at mengden av deltakere var nok til å teste referanseområdet til triglyserid.

Man vil mest sannsynlig ikke kunne få den samme differansen med et annet lotnummer på reagenset (ABX Pentra 400), eller på et annet instrument, men forsøket er repeterbart. Det enkle oppsettet og den opportunistiske innsamlingen gjør at forsøket er mulig å repetere. Men det er usikkert om man ville ha sittet igjen med den samme differansen, ettersom det er avhengig av reagenset til ABX Pentra 400. Det mest idéelle ville ha vært å bruke en annen lot, men pga. økonomiske begrensninger var ikke dette en mulighet for oss. Bergman Diagnostika nevnte at Unilabs hadde tatt i bruk en korrelasjonsfaktor på 0,84 for å løse problemet (avsnitt 4.3). Dette vil si at resultatet til ABX Pentra 400 ble multiplisert med 0,84 for å få det ned på samme nivå som referanseinstrumentet til Unilabs. Det ble ikke laget noe forslag til en korrelasjonsfaktor

da vi ikke vet hva det reelle resultatet er. Det ville ha vært feil å lage en korrelasjonsfaktor basert på resultatene til Afinion 2, pga. at dette er testinstrumentet i forsøket.

Etter forsøket er det flere punkter som har vært oppe til diskusjon i forhold til forbedringspotensial. Et eksempel på et forbedringsområde er hvordan selve analyseringen foregikk. Med dette mener vi at analyseringen av prøvene kunne ha blitt utført over flere dager, for å utelukke eventuelle variasjoner fra dag til dag. Her ville man også kanskje ønsket å teste ut presisjonen til instrumentene. Dette ble utelukket pga. økonomiske begrensninger. I tillegg kunne innsamlingen av prøvemateriale ha blitt ytterligere organisert. Et eksempel på dette er at vi kunne på forhånd prøvd å lage en oversikt over hvor mange deltakere som ønsket å delta i forsøket de enkelte dagene. Dette ville ha sikret en bedre flyt i prøvetakingen, og en god fordeling av deltakere utover dagene.

Det er også andre tiltak vi kunne ha tatt hensyn til. Som tidligere nevnt, ved triglyserid, kunne vi gjerne hatt en del flere verdier i det øvre konsentrasjonsområdet. Dette kunne ha blitt oppnådd gjennom å bruke flere kjente verdier som f.eks. Pathonorm, ved å f.eks. lage egne fortynninger av Pathonorm serumet. Videre kan man også diskutere om forsøket skulle hatt et større prøveantall, ettersom dette ville gitt en bedre metodesammenligning. I dette tilfellet tok vi kun i bruk 32 prøver ettersom vi ikke hadde flere testkassetter tilgjengelig. Man kunne også ha sammenlignet flere av parameterne (non-HDL, LDL og HDL) til Afinion 2 sitt lipidpanel. Vi gjorde ikke dette ettersom ABX Pentra 400 krever egne reagens for disse analysene, noe som ville ha overskredet forsøkets budsjett.

For å korrigere for analyseforskjellen mellom Afinion 2 og ABX Pentra 400 burde det blitt bestilt et nytt reagens med en annen lot. På den måten ville vi kunne sikret at resultatene fra ABX Pentra 400 samsvarte i større grad med Afinion 2. Dette så lenge den nye lot-en hadde en større nøyaktighet. Så hvis en skulle gått videre med forsøket ville dette vært en måte å få en bedre sammenligning så lenge den nye lot-en hadde en bedre nøyaktighet enn den vi hadde.

6 Konklusjon

Etter å ha sett på resultatet kan man si at det ikke er en samsvarelse mellom Afinion 2 og ABX Pentra 400 når det kommer til kolesterol. Man kan også si at denne uoverensstemmelsen er basert på en proporsjonal forskjell. Siden vi ikke har noen holdepunkter for at ABX Pentra 400 analyserer betydelig høyere på andre analyser enn ved måling av kolesterol, må vi gå ut ifra at ABX Pentra 400 gir ut riktige målinger for triglyserid.

Dette vil si at Afinion 2 måler noe lavere ut ifra resultatene for triglyserid. Videre har vi observert både en statistisk signifikant proporsjonal forskjell og en konstant forskjell. Ettersom gjennomsnittsdifferansen ligger nært null ser vi på disse differansene som «akseptable». Dette er spesielt med tanke på at denne analysen ikke skal brukes til å stille en diagnose. I tillegg er spredningen i resultatet liten. Dette vil si at Afinion 2 gir ut en akseptabel måling på triglyserid.

Basert på problemstillingen: *«Hvor godt samsvarer resultatene mellom Afinion 2 og ABX Pentra 400 når det kommer til analysering av kolesterol og triglyserid?»*. Kan vi konkludere med at det ikke er en overensstemmelse mellom de to instrumentene når det kommer til analysering av kolesterol. Afinion 2 måler lavere kolesterolkonsentrasjon enn ABX Pentra 400, men på grunn av usikkerheten med lot-en til ABX Pentra 400 er det vanskelig å si om Afinion 2 måler «feil». Her vil vi anbefale å bruke en annen lot, eller evt. å lage en korrelasjonsfaktor. Når det gjelder analyseringen av triglyseridkonsentrasjonen kan vi konkludere med at det er en samsvarelse mellom de to instrumentene. Man kan dermed si at det er akseptabelt å analysere triglyserid på Afinion 2 i stedet for på ABX Pentra 400.

7 Referanseliste

- Bilić-Zulle, L. (2011). *Comparison of methods: Passing and Bablok regression*. Tilgjengelig fra: <https://www.biochemia-medica.com/en/journal/21/1/10.11613/BM.2011.010/fullArticle>
- Bolann, B. (2009). *Riktig svar på biokjemiske analyser: En innføring i analytisk kvalitetsovervåking*. Bergen: Fagbokforl. s. 78, 81.
- Briggs, A. and Coleman, M. (2002). *Research methods in educational leadership and management*. London: SAGE Publications, s.100-101.
- Burtis, C., Brun, D., & Tietz, N. (2015). *Tietz fundamentals of clinical chemistry and molecular diagnostics* (7th ed.). St. Louis, Mo: Elsevier. s. 389-392, 397-398, 401, 407.
- De nasjonale forskningsetiske komiteene. (2016, 30.mai). *Generelle forskningsetiske retningslinjer*. Tilgjengelig fra: <https://www.etikkom.no/forskningsetiske-retningslinjer/generelle-forskningsetiske-retningslinjer/>
- Giavarina D. (2015) *Understanding Bland Altman analysis*. *Biochemia medica*, 25(2), 141–151. doi:10.11613/BM.2015.015 Tilgjengelig fra: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4470095/>
- Grundy, S. (2003). *Encyclopedia of Food Sciences and Nutrition* (2nd ed.). Amsterdam: Academic Press.
- Guder, W. (2003). *Samples: From the patient to the laboratory: The impact of preanalytical variables on the quality of laboratory results* (3rd rev. ed.). Weinheim: Wiley-VCH. s. 6-8, 13.
- Husøy, A. (2018). *Blodprøvetaking i praksis* (3. utg. ed.). Oslo: Cappelen Damm akademisk. s. 25, 89, 152, 155.
- Li, T., & Chiang, J. Y. (2009). Regulation of bile acid and cholesterol metabolism by PPARs. *PPAR research*, 2009, 501739. doi:10.1155/2009/501739. Tilgjengelig fra: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2712638/>
- Lovdata. (2018, 15. juni). § 13. *Hovedregel om samtykke*. Hentet fra https://lovdata.no/dokument/NL/lov/2008-06-20-44#KAPITTEL_4
- Nasjonal brukerhåndbok i Medisinsk Biokjemi. (2014, 9. September). *Triglycerider, P*. Tilgjengelig fra: <https://brukerhandboken.no/index.php?action=showtopic&topic=e9d763a48c9dce12e92f&highlight=true>
- Nasjonal brukerhåndbok i Medisinsk Biokjemi. (2019, 21.mars). *Kolesterol, total, P*. Tilgjengelig fra

<https://brukerhandboken.no/index.php?action=showtopic&topic=1c86772ebb53220368a0&highlight=true>

NTNU HMS. (2019, 12. Februar). *Retningslinje for adgang til laboratorier ved NV-fakultetet*. Tilgjengelig fra: https://www.nt.ntnu.no/innsida-dokumentlager/HMS/Retningslinje_tilgang%20til%20laboratorier_2019-02-12.pdf

Rifai, N., Horvath, A., & Wittwer, C. (2019). *Tietz fundamentals of clinical chemistry and molecular diagnostics* (8th ed.). St. Louis: Elsevier. s. 393, 398.

Sand, O., Sjaastad, &., Haug, E., Bjålie, J., & Toverud, K. (2006). *Menneskekroppen: Fysiologi og anatomi* (2. utg. ed.). Oslo: Gyldendal akademisk. s. 33-34, 426-428.

Tabas I. (2002). Cholesterol in health and disease. *The Journal of clinical investigation*, 110(5), 583–590. doi:10.1172/JCI16381, [hentet 15.04.19] Tilgjengelig fra: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC151113/>

8 Vedlegg

8.1 Vedlegg 1 Brukermanual til Afinion 2

Brukermanual: Alere/Abbott Afinion Lipid Panel

Dette er et sammendrag av brukerveiledningen for Alere/Abbott Afinion 2, som tar for seg analysering av lipidpanel.

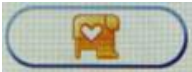
Fremgangsmåte

- Ta ut Afinion 2 testkassetten fra kjøleskapet slik de oppnår romtemperatur før bruk. Det er anbefalt å la den stå i 15 minutter på benk.
- Skru på apparatet i god tid før analysering ved å trykke på bryteren på toppen av instrumentet. Apparatet vil kjøre en selvtest før analysering.

NB! Ved ny lot på kassetten skal det analyseres en kontrollprøve og aksept av kontroll før videre analysering.

- Når lampen lyser grønt er apparatet klart til bruk etter selvtesten. Du får da frem oppstartsmenyen i displayet:



-  Trykk på dette ikonet for gå til pasientprøvemodus. Luken vil da åpnes automatisk. Man skal ikke åpne luken manuelt.
- Ta testkassetten ut av pakningen. Bruk håndtaket til å holde i for å unngå berøring av avlesningsområdet. Det er anbefalt å bruke hansker.
- Snu kassetten opp ned en gang før den settes tilbake i oppreist posisjon.
- Ta prøvetakeren ut av testkassetten og fyll kapillæret med ønsket prøvemateriale. (Serum, kapillærblod eller fullblod)

Fylling av kapillæret

Dra opp prøvetakeren fra testkassetten.



Fyll kapillæret ved å holde prøvetakeren litt oppover, og før så enden av kapillæret like under overflaten på prøvematerialet eller kontrollmaterialet.

Du kan bruke prøvemateriale fra fingerstikk, blodprøveglass eller kontrollflaske.

Sørg for å unngå luftbobler i kapillæret, og at det er fullstendig fylt. Ikke tørk av kapillæret etter fylling.

Etter du har fylt kapillæret setter du det forsiktig tilbake i testkassetten.

Prøven må analyseres innen 1 minutt etter at kapillæret er fylt.

- Straks kapillæret er fylt med prøve, settes prøvetakeren tilbake i testkassetten. Analysen bør settes på så raskt som mulig.
- Testkassetten settes inn i kassettkammeret med strekkoden mot venstre. Kassetten kan bare settes inn på en måte pga. utformingen.
- Dytt inn luken manuelt og analysen vil starte automatisk. Analysetiden til Afinion 2 Lipidpanel er ca. 8 minutter.
- Om en ønsker å merke prøven med pasient-ID, trykker man på  som dukker opp på displayet mens analysen går. Trykk ENTER for å bekrefte at pasient-ID er skrevet inn.
- Når analysen er utført vil det grønne lyset blinke og man kan høre et pip. Det vil da komme en hake på displayet . Denne må du trykke på for at luken kan åpne seg automatisk.
- Fjern den brukte kassetten fra kassettkammeret og kast den i egnet beholder. Dytt inn luken manuelt. Pass på at den er lukket til enhver tid når apparatet ikke er i bruk.

NB!

- Kontroll bør benyttes dersom det analyseres sjeldnere enn hver 30. dag.
- Kassettkammeret bør rengjøres hver 30. dag. Se brukermanual for Afinion 2.

Henviser til brukerveiledning ved tilfeller av informasjonskode/feilmelding forårsaket av

- 24 begrensninger i testen s. feil ved prøve eller testkassett s. 25 instrumentfeil s. 25 eller andre koder s. 26

Lys

- Grønt stabilt = klar til bruk
- Grønt blinkende = ferdig analyse
- Rødt stabilt = opptatt
- Rødt blinkende = melding på skjermen

Lyd

- Et pip = ferdig analyse
- To pip = melding/kode

8.2 Vedlegg 2 Pakningsvedlegg ABX Pentra 400 reagens: kolesterol

ABX Pentra

Cholesterol CP

Diagnostisk reagens for kvantitativ *in vitro*-bestemmelse av kolesterol i serum eller plasma.

2006/07/04
AB3A00142G NO

REF A11A01634

REAGENT 99 ml

IVD CE



HORIBA ABX
BP 7290
34184 Montpellier - cedex 4 - France



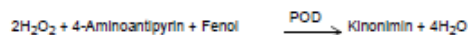
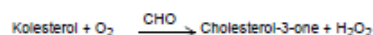
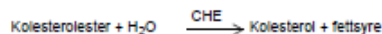
Tilsiktet bruk

Kolesterol er en komponent i celledispermembranene som er en forløper for steroide hormoner og gallsyrer som syntetiseres av kroppscellene og absorberes via mat (1). Kolesterol transporteres i plasma via lipoproteiner, det vil si komplekser av lipider og apolipoproteiner (1). Det finnes fire klasser lipoproteiner: HDL (high density lipoprotein), LDL (low density lipoprotein), VLDL (very low density lipoprotein) og kyllomikroner. Mens LDL er involvert i transport av kolesterol til perifere celler, er HDL ansvarlig for kolesterolopptak fra cellene. De fire forskjellige lipoproteinklassene er direkte relatert til arteriosklerose i kransarteriene (1). LDL-kolesterol (LDL-C) bidrar til dannelse av arteriosklerotisk plakk i arteriens intima og er sterkt forbundet med hjerte- og karsykdommer og relatert dødelighet. Selv om totalt kolesterol ligger innenfor normalt område, indikerer en økt konsentrasjon av LDL-C en høy risiko. HDL-C har en beskyttende effekt og hindrer plakkdannelse, og forholdet til forekomsten av hjerte- og karsykdommer er motsatt. Faktum er at lave HDL-C-verdier utgjør en uavhengig risikofaktor. Bestemmelsen av individuelt totalt kolesterolnivå (TC) benyttes for masseundersøkelserformål, men for å forbedre risikovurderingen er det nødvendig å også måle HDL-C og LDL-C. De siste årene har flere kontrollerte kliniske undersøkelser ved hjelp av diett, livsstilsendringer og/eller forskjellige medikamenter (spesielt HMG CoA-reduktasehemmere [statiner]) vist at å redusere nivåene av totalt kolesterol og LDL betydelig reduserer risikoen for hjerte- og karsykdommer (2).

Metode

"CHOD-PAP": Enzymatisk kolorimetrisk test.

Bestemmelse av kolesterol etter enzymatisk hydrolyse og oksidering (3,4). Den kolorimetriske indikatoren er kinonimin som genereres fra 4-aminoantipyrin og fenol av hydrogenperoksid og katalyseres av peroksidase (Trinders reaksjon) (3).



(CHE = Kolesterolsterase, CHO = Kolesteroloksidase, POD = Peroksidase)

Reagenser

ABX Pentra Cholesterol CP er klar for bruk.

Reagens: Goods buffer	pH 6,7	50 mmol/l
Fenol		5 mmol/l
4-Aminoantipyrin		0,3 mmol/l
Kolesterolsterase (CHE)		≥ 200 U/l
Kolesteroloksidase (CHO)		≥ 50 U/l
Peroksidase (POD)		≥ 3 kU/l
Natriumazid		0,95 g/l

ABX Pentra Cholesterol CP må brukes i henhold til dette pakningsvedlegget. HORIBA ABX kan ikke garantere for produktets ytelse hvis det brukes på annen måte.

Håndtering

Fjern korken på kassetten, og plasser den i den nedkjølte delen av reagenskarusellen på ABX Pentra 400.

Fjern eventuelt skum ved hjelp av en plastpipette.

Kalibrator

For kalibrering, bruk:

ABX Pentra MultiCal, ref. A11A01652 (medfølger ikke)
10 x 3 ml (lyofilisat)

Kontroll

For intern kvalitetskontroll, bruk:

ABX Pentra N Control, ref. A11A01653 (medfølger ikke)
10 x 5 ml (lyofilisat)

ABX Pentra P Control, Ref. A11A01654 (medfølger ikke)
10 x 5 ml (lyofilisat)

Hver kontroll skal testes daglig og/eller etter hver kalibrering.

Hyppigheten av kontrollene og konfidensintervallene må stemme overens med laboratoriets retningslinjer og det aktuelle landets direktiver. Resultatene må befinne seg innenfor spekteret for de definerte konfidensgrensene. Hvert laboratorium bør etablere en prosedyre som skal følges dersom resultatene overstiger disse konfidensgrensene.

Nødvendige men ikke medfølgende materialer

- Automatisert klinisk kjemianalyseapparat
- Standard laboratorieutstyr.

Prøvemateriale

- Serum.
- Heparinplasma eller EDTA-plasma.

Stabilitet: 7 dager ved 20 - 25°C
7 dager ved 4 - 8 °C
3 måneder ved -20 °C

Referanseområde (5)

Ønsket: ≤ 200 mg/dl (5,2 mmol/l)
På grensen til høy risiko: 200 - 240 mg/dl (5,2 - 6,2 mmol/l)
Høy risiko: > 240 mg/dl ($> 6,2$ mmol/l)

Organisasjonen European Task Force on Coronary Prevention anbefaler å redusere TC-konsentrasjonen til under 190 mg/dl (5,0 mmol/l) og LDL-kolesterol til under 115 mg/dl (3,0 mmol/l) (2).

Oppbevaring og stabilitet

Reagenser i uåpnede kassetter er stabile frem til utløpsdatoen på merkelappen dersom de har blitt oppbevart ved 2 - 8 °C, har vært beskyttet mot lys og ikke har blitt kontaminert.

Stabilitet etter åpning: se avsnittet "Ytelse på ABX Pentra 400".

Reagensene må ikke fryses ned.

Merk: Det må nevnes at målingen ikke er påvirket av tilfeldige fargeendringer så fremt reagensets absorbanse er på $< 0,3$ ved 546 nm.

Assayprosedyre

Testinstruksjoner for andre automatiske systemer enn ABX Pentra 400 fås ved forespørsel.

Avfallshåndtering

1. Vennligst overhold lokale lover og regler.
2. Dette reagenset inneholder natriumazid (0,95 g/l) som konserveringsmiddel. Siden natriumazid kan reagere med bly og kopper og danne eksplosive metallazider, må reagenset kastes ved å skylle det ut med rikelige mengder vann.

Generelle forholdsregler

1. Dette reagenset må kun brukes til profesjonell *in vitro*-diagnostikk.
2. Må ikke svelges. Unngå kontakt med hud og slimhinner.
3. Ta nødvendige forholdsregler for bruk av laboratoriumsreagenser.
4. Reagenskassetene er for engangsbruk og må kastes i samsvar med lokale forordninger.
5. Vennligst les produktdatabladet som gjelder for reagenset.

Ytelse på ABX Pentra 400

Ytelsesdataene nedenfor har blitt innhentet ved hjelp av analyseapparatet ABX Pentra 400.

Antall tester: 380 tester

Reagensstabilitet i maskinen:

Dersom reagenskassetten plasseres i den nedkjølte delen av reagenskarusellen på ABX Pentra 400 umiddelbart etter åpning, vil den ha en stabilitet på 48 dager.

Prøvevolum: 3 µl/test

Deteksjonsgrense:

Deteksjonsgrensen er fastsatt i henhold til Valtec-protokollen (6) og tilsvarer 0,09 mmol/L.

Nøyaktighet og presisjon:

- Repeterbarhet (innen serie-presisjon)

3 prøveeksemplarer med lav, middels og høy konsentrasjon og 2 kontrolleksemplarer testes 20 ganger i henhold til anbefalingene i Valtec-protokollen (6).

	Middelverdi mmol/L	CV %
Normal kontroll	2.92	0.82
Patologisk kontroll	4.81	0.74
Prøveeksemplar 1	3.03	1.21
Prøveeksemplar 2	4.93	0.53
Prøveeksemplar 3	10.04	0.62

- Reproducerbarhet (serie-til-serie-presisjon)

2 prøveeksemplarer med lavt og høyt nivå, samt 2 kontroller, blir testet i duplikat i 20 dager (2 serier per dag) i henhold til anbefalingene i NCCLS, EP5-A-protokollen (7).

	Middelverdi mmol/L	CV %
Normal kontroll	2.83	2.96
Patologisk kontroll	4.74	2.34
Prøveeksemplar 1	4.40	2.80
Prøveeksemplar 2	6.45	3.01

8.3 Vedlegg 3 Pakningsvedlegg ABX Pentra 400 reagens: triglyserid

ABX Pentra

Triglycerides CP

Diagnostisk reagens for kvantitativ *in vitro*-bestemmelse av triglyserider i serum og plasma ved hjelp av kolorimetri.

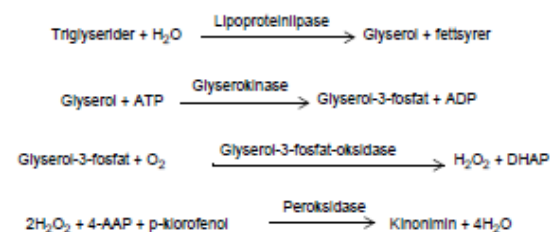
Tilsiktet bruk

Triglyserider består av lipider, glyserol og fettsyreestere som transporteres i plasma og samhandler med lipoproteiner. De inngår hovedsaklig i sammensetningen av kylomikroner som avgis av enterocytter samt i sammensetningen av VLDL som syntetiseres av leveren. Høye konsentrasjoner av triglyserider forbindes med forskjellige patologier som f.eks. hjerte- og karsykdommer, diabetes, hyperlipidemi i forbindelse med alkoholavhengighet, nefrotiske syndromer, hyperglyseridemi type I og type IV, samt hemostatiske lidelser. Lave konsentrasjoner oppstår ved feilernæring og hepatiske infeksjoner.

Bestemmelse av triglyserider benyttes for oppdagelse av disse patologiene samt for diagnostisering og behandlingsovervåking.

Metode

Enzymatisk bestemmelse av triglyserider ved hjelp av følgende reaksjoner:



(DHAP = Dihydroksyaceton-fosfat, 4-AAP = 4-aminoantipyrin)

Reagenser^a

ABX Pentra Triglycerides CP er klar for bruk.

Reagens:	Pipes frie syre	50 mmol/l
	Natriumhydroksid	3,36 g/l
	Triton X-100	1 ml/l
	Magnesiumsolt	14,8 mmol/l
	p-klorofenol	2,69 mmol/l
	ATP	3,14 mmol/l
	Natriumazid	7,99 mmol/l
	Kaliumferrocyanid	9,94 µmol/l
	4-aminoantipyrin	0,31 mmol/l
	Lipoproteinlipase	1,90 U/l
	Glyserokinase	0,5050 KU/l
	Glyserolfosfat-oksidas	4,15 KU/l
	Peroksidase	0,4950 KU/l
	Destillert vann	qs 1 l/l

a. Modifisering fra indeks J til K: ny volum R1 = 90 ml.

2007/09/10
AB3A00272K NO

REF A11A01640

REAGENT 90 ml

IVD CE



HORIBA ABX
BP 7290
34184 Montpellier - cedex 4 - France



ABX Pentra Triglycerides CP må brukes i henhold til dette pakningsvedlegget. HORIBA ABX kan ikke garantere for produktets ytelse hvis det brukes på annen måte.

Håndtering

Fjern korken på kassetten, og plasser den i den nedkjølte delen av reagenskarusellen på ABX Pentra 400. Fjern eventuelt skum ved hjelp av en plastpipette.

Kalibrator

For kalibrering, bruk:
ABX Pentra MultiCal, ref. A11A01652 (medfølger ikke)
10 x 3 ml (lyofilisat)

Kontroll

For intern kvalitetskontroll, bruk:
ABX Pentra N Control, ref. A11A01653 (medfølger ikke)
10 x 5 ml (lyofilisat)
ABX Pentra P Control, Ref. A11A01654 (medfølger ikke)
10 x 5 ml (lyofilisat)

Hver kontroll skal testes daglig og/eller etter hver kalibrering. Hyppigheten av kontrollene og konfidensintervallene må stemme overens med laboratoriets retningslinjer og det aktuelle landets direktiver. Resultatene må befinne seg innenfor spekteret for de definerte konfidensgrensene. Hvert laboratorium bør etablere en prosedyre som skal følges dersom resultatene overstiger disse konfidensgrensene.

Nødvendige men ikke medfølgende materialer

- Automatisert klinisk kjemianalyseapparat
- ABX Pentra Clean-Chem CP, ref. A11A01755, 30 ml
- Standard laboratorieutstyr

Prøvemateriale

- Serum
- Plasma i heparin

Referanseområde (12)

I en studie utført innen NCEP (National Cholesterol Education Program, lansert av helseministeriet i USA), har de totale kolesterolverdiene i serum blitt klassifisert i henhold til risikoen for utvikling av hjerte- og karsykdommer:

Normal:	< 1,5 g/l
Lav risiko:	1,5 - 2,0 g/l
Høy:	2,0 - 5,0 g/l
Ekstremt høy:	≥ 5,0 g/l

Vi anbefaler at hvert laboratorium etablerer sitt eget referanseområde.

Oppbevaring og stabilitet

Reagenser i uåpnede kassetter er stabile frem til utløpsdatoen på merkelappen dersom de har blitt oppbevart ved 2 - 8 °C og har vært beskyttet mot lys.

Stabilitet etter åpning: se avsnittet "Ytelse på ABX Pentra 400".

Reagensets farge kan bli brun over tid, men dette påvirker ikke reagensets ytelse.

Assayprosedyre

Testinstruksjoner for andre automatiske systemer enn ABX Pentra 400 fås ved forespørsel.

Avfallshåndtering

1. Vennligst overhold lokale lover og regler.
2. Dette reagenset inneholder mindre enn 0,1 % natriumazid som konserveringsmiddel. Siden natriumazid kan reagere med bly og kopper og danne eksplosive metallazider, må reagenset avhendes ved å skylle det ut med rikelige mengder vann.

Generelle forholdsregler

1. Reagens, kun for profesjonell *in vitro*-diagnostikk.
2. Eventuelle uklare reagenser blandes forsiktig før bruk.
3. Reagenskassetten er for engangsbruk og må kastes i samsvar med lokale forordninger.
4. Vennligst les produktdatabladet som gjelder for reagenset.

Ytelse på ABX Pentra 400

Ytelsesdataene nedenfor har blitt innhentet ved hjelp av analyseapparatet ABX Pentra 400.

Antall tester^a: 295 tester.

a. Modifisering fra indeks J til K: ny antall tester.

Reagensstabilitet i maskinen:

Dersom reagenskassetten plasseres i den nedkjølte delen av reagenskarusellen på ABX Pentra 400 umiddelbart etter åpning, vil den ha en stabilitet på 48 dager.

Prøvevolum: 3 µl/test

Deteksjonsgrense:

Deteksjonsgrensen er fastsatt i henhold til Valtec-protokollen (8) og tilsvarer 0,08 mmol/L.

Nøyaktighet og presisjon:

- Repeterbarhet (innen serie-presisjon)

3 prøveeksemplarer med lav, middels og høy konsentrasjon og 2 kontrollseksemplarer testes 20 ganger i henhold til anbefalingene i Valtec-protokollen (8).

	Middelverdi mmol/l	CV %
Normal kontroll	1.44	2.52
Patologisk kontroll	2.44	0.82
Prøveeksemplar 1	0.68	2.83
Prøveeksemplar 2	1.24	1.84
Prøveeksemplar 3	2.65	1.00

- Reproducerbarhet (serie-til-serie-presisjon)

2 prøveeksemplarer med lavt og høyt nivå, samt 2 kontroller, blir testet i duplikat i 20 dager (2 serier per dag) i henhold til anbefalingene i NCCLS, EP5-A-protokollen (9).

	Middelverdi mmol/l	CV %
Normal kontroll	1.47	1.91
Patologisk kontroll	2.47	1.70
Prøveeksemplar 1	1.51	1.57
Prøveeksemplar 2	2.78	1.37

Linearitet og måleområde:

Reagenslineariteten er fastsatt i henhold til anbefalingene fra NCCLS, i EP6-P-protokollen (10).

Lav linearitet: 0,08 mmol/l

Høy linearitet: 16,8 mmol/l,

med automatisk etterfortynning: 67,2 mmol/l.

Korrelasjon:

Prøveeksemplarer fra 102 pasienter har blitt korrelert med en annen metode som referanse i henhold til anbefalingene fra NCCLS, i EP9-A2-protokollen (11).

Ligningen for den allometriske linjen man oppnår, er:

$$Y = 0,98x + 0,04 \text{ med korrelasjonskoeffisient } r^2 = 0,9991.$$

Interferenser:

Hemoglobin: Ingen betydelig interferens observert opptil 290 µmol/l

Totalbilirubin: Ingen betydelig interferens observert opptil 385 µmol/l

Direkte Ingen betydelig interferens observert opptil 385 µmol/l bilirubin:

8.4 Vedlegg 4 Pakningsvedlegg til Afinion 2 lipidpanel

NO Alere Afinion™ Lipid Panel

For analysering med Alere Afinion™ AS100 Analyser/Alere Afinion™ 2 analyser.

PRODUKTBESKRIVELSE

Anvendelse

Alere Afinion™ Lipid Panel er en *in vitro* diagnostisk test for kvantitativ bestemmelse av total kolesterol (Chol), high-density lipoprotein (HDL) kolesterol og triglyserider (Trig) i fullblod, serum og plasma. Low-density lipoprotein (LDL) kolesterol, non-HDL kolesterol og Chol/HDL ratio beregnes av Alere Afinion™ analyser.

Kolesterolmålinger brukes i diagnose og behandling av sykdommer som medfører overskudd av eller for lavt kolesterol i blodet, samt sykdommer relatert til lipid- og lipoproteinmetabolismen.

Sammenfatning og forklaring

Høyt kolesterol er en viktig årsak til koronar hjertesykdom (CHD) og en viktig kardiovaskulær risikofaktor. Kliniske studier viser at lipidsenkende behandling reduserer risikoen for CHD, og LDL er anses derfor som primærmål for behandling^{1,2,5,6}.

National Cholesterol Education Program's (NCEP) anbefalinger for testing og behandling av høyt kolesterol er presentert i den tredje utgaven av Adult Treatment Panel (ATP III). NCEP anbefaler at alle voksne over 20 år bør måle sin fastende lipoprotein profil en gang hvert femte år. En lipid profil består av total kolesterol, HDL kolesterol, triglyserider og LDL kolesterol¹.

Sterke epidemiologiske bevis forbinder lave serumnivå av HDL kolesterol med økt sykkelighet og dødelighet, slik at lavt HDL kolesterolnivå er omvendt assosiert med risiko for CHD¹. Et forhøyet nivå av triglyserider i serum er også forbundet med økt risiko for CHD. I tillegg forbindes økt triglyseridnivåer med andre lipid og ikke-lipidrisikofaktorer¹.

ATP III anser non-HDL kolesterol (total kolesterol minus HDL kolesterol) som et sekundært mål for behandling hos personer med høye triglyserider (> 2,26 mmol/L (> 200 mg/dL)). Behandlingsmålet for non-HDL kolesterol hos personer med høyt nivå av serum triglyserider kan settes til 0.78 mmol/L (30 mg/dL) høyere enn for LDL kolesterol^{1,6}.

Generelle retningslinjer for forebygging av hjerte- og karsykdommer i klinisk praksis anbefaler sterkt å vurdere forebyggende tiltak i henhold til total kardiovaskulær risiko⁶.

Testprinsipp

Alere Afinion™ Lipid Panel er en helautomatisert analyse for kvantitativ bestemmelse av Chol, HDL og Trig i venøst blod, serum og plasma. LDL, non-HDL og Chol/HDL ratio beregnes av Alere Afinion™ analyser.

Alere Afinion™ Lipid Panel testkassetten inneholder alle nødvendig reagenser for bestemmelse av Chol, HDL og Trig i fullblod, serum og plasma. Prøvematerialet samles opp ved hjelp av den integrerte prøvetakeren og testkassetten plasseres i Alere Afinion™ analyser. Instrumentet detekterer hvilket prøvemateriale som er benyttet før prøven fortynnes. For fullblodsprøver måles hematokrit for å korrigere for volum av røde blodceller. Fullblod lyseres og hemoglobin måles fotometrisk. Hematokrit er proporsjonal med hemoglobinkonsentrasjonen. Fortynnet fullblod filtreres gjennom et kompositfilter som separerer blodcellene fra plasmafraksjonen. Plasmafraksjonen brukes videre i målingene av Chol, HDL og Trig.

Total Kolesterol

Kolesterol måles ved en enzymatisk kolorimetrisk metode. Fritt kolesterol og kolesterollestere omdannes ved hjelp av enzym til kolest-4-en-3-on og hydrogenperoksid. Hydrogenperoksid brukes av hydrogen peroksidase til koblingen av fenol og 4-aminoantipyrin og danner et rødt kinonimin fargestoff. Fargeintensiteten er direkte proporsjonal med konsentrasjonen av fritt kolesterol og kolesterollestere i prøven.

Triglyserider

Triglyserider måles ved en enzymatisk kolorimetrisk metode. Triglyserider hydrolyseres til glyserol ved hjelp av lipoproteinlipase, etterfulgt av oksidasjon til dihydroksyacetonfosfat og hydrogenperoksid. Den produserte hydrogenperoksid reagerer med 4-aminofenazon og 4-klorfenol under katalytisk innvirkning fra peroksidase og danner et rødt fargestoff. Fargeintensiteten er direkte proporsjonal med triglyseridkonsentrasjonen i prøven.

HDL kolesterol

I den første reaksjonen binder anti-humant apolipoprotein B (apoB) antistoff (R1) seg til apoB som er tilstede på alle lipoproteiner utenom HDL (dvs non-HDL). Antistoffet beskytter non-HDL fra å bli nedbrutt av kolesterol-metaboliserende enzymer i den andre reaksjonen (R2). I R2 konverteres fritt HDL kolesterol og HDL kolesterollestere til kolest-4-en-3-on og hydrogenperoksid. Hydrogenperoksid brukes av peroksidase til å binde 4-aminoantipyrin til F-DAOS og danne et blått fargekompleks. Fargeintensiteten er direkte proporsjonal med konsentrasjonen av fritt HDL kolesterol og HDL kolesterollestere.

LDL kolesterol

NCEP anbefaler å beregne LDL ved hjelp av Friedwald formelen²:

$$\text{LDL (mmol/L)} = \text{Chol} - \text{HDL} - \text{Trig}/2,2$$

$$\text{LDL (mg/dL)} = \text{Chol} - \text{HDL} - \text{Trig}/5$$

Denne ligningen er ikke gyldig for prøver med Trig over 4,52 mmol/L (400 mg/dL), for ikke-fastende prøver eller for pasienter med type III hyperlipoproteinemia.

non-HDL kolesterol

Summen av VLDL (very low density lipoproteins) + LDL kalles non-HDL kolesterol. Rutinemessig beregnes denne som total kolesterol minus HDL: non-HDL = Chol – HDL

non-HDL reflekterer konsentrasjonen av kolesterol i alle lipoproteiner som anses som aterogene^{1,3}.

Chol/HDL ratio

En rekke studier viser at total kolesterol/HDL kolesterol ratio er en sterk prediktor for kardiovaskulær risiko da denne reflekterer to sterke risikokomponenter. Høyt total kolesterol er en markør for aterogene lipoproteiner, mens lavt HDL kolesterol korrelerer med flere risikofaktorer for metabolsk syndrom og er sannsynligvis en selvstendig risikofaktor¹.

$$\text{Chol/HDL} = \text{Total Kolesterol} / \text{HDL Kolesterol}$$

Kitets innhold (per 15 test enhet)

- 15 testkassetter, pakket enkeltvis i folieposer
- 1 pakningsvedlegg

Nødvendig utstyr (ikke inkludert i kitet)

- Alere Afinion™ AS100 Analyser/Alere Afinion™ 2 analyser
- Alere Afinion™ Lipid Panel Kontroll
- Standard prøvetakingsutstyr

Standardisering

Chol og HDL er sporbar til NRS/CHOL (National Reference System for Cholesterol). Trig er sporbar til en CDC-referansemetode (Centers for Disease Control and Prevention).

Referanseområde

Anbefalinger fra NCEP for testing og behandling av kolesterol er presentert i ATP III og beskriver følgende klassifisering av kolesterol og triglyserid:

LDL Kolesterol	[mmol/L]	[mg/dL]
Optimalt	< 2,59	< 100
Nær optimalt/ litt høyere enn optimalt	2,59 - 3,34	100 - 129
Grenseland høyt	3,35 - 4,12	130 - 159
Høyt	4,13 - 4,91	160 - 189
Veldig høyt	≥ 4,92	≥ 190
Total kolesterol		
Ønskelig	< 5,18	< 200
Grenseland høyt	5,18 - 6,19	200 - 239
Høyt	≥ 6,20	≥ 240
HDL kolesterol		
Lavt	< 1,04	< 40
Høyt	≥ 1,55	≥ 60
Serum Triglycerides		
Normalt	< 1,70	< 150
Grenseland høyt	1,70 - 2,25	150 - 199
Høyt	2,26 - 5,64	200 - 499
Veldig høyt	≥ 5,65	≥ 500

Hematokrit

Når fullblod benyttes som prøvemateriale, måles hematokrit (Hct) for å korrigere for volumet av røde blodceller i prøvevolumet (Hct: 20–60 %).

Interferens

Stoffene listet nedenfor ble testet for interferens med Chol, HDL og Trig. Ingen signifikant interferens (< 10 %) ble observert opp til følgende konsentrasjoner:

- Paracetamol 200 mg/L
- Acetylsalisylsyre 1000 mg/L
- Acetylcystein 1590 mg/L
- Ampicillin 1000 mg/L
- Askorbinsyre 6 mg/dL
- Atorvastatin 600 µg/L
- Bilirubin 20 mg/dL
- Kalsiumdobesilat 0,7 mg/dL
- Cefoksitin 2500 mg/L
- Syklosporin A 5 mg/L
- Syklosporin C 5 mg/L
- Fluvastatin 2,97 mg/L
- Hemoglobin (hemolyse) 0,5 g/dL
- Heparin 3000 U/L
- Ibuprofen 500 mg/L
- Intralipid 10 000 mg/L
- Levodopa 15 mg/L
- Lovastatin 216 µg/L
- Metformin 40 mg/L
- Metyldopa 1,4 mg/dL
- Metronidazol 200 mg/L
- Pravastatin 7,32 mg/L
- Rifampicin 64,3 mg/L
- Simvastatin 80,4 µg/L

- Teofyllin 100 mg/L
- Tetrasyklin 50 mg/L
- Antikoagulanter (EDTA og heparin) ved konsentrasjoner som vanligvis brukes i blodprøverør, interfererer ikke.

Viktig! Det er mulig at andre stoffer og/eller faktorer som ikke er listet over kan interferere med testen og gi feilaktige resultater.

Testens begrensninger

- Fortynnede prøver kan ikke benyttes i Alere Afinion™ Lipid Panel.
- Hemolyserte eller koagulerte prøver kan ikke benyttes.
- Kalsiumdobesilat interfererer med Alere Afinion™ Lipid Panel ved terapeutiske nivå og gir for lave Chol, HDL og Trig resultater⁷.
- Metyldopakonsentrasjoner over 1,4 mg/dL (toksisk nivå) interfererer med Alere Afinion™ Lipid Panel og gir for lave Trig resultat. Der er ingen interferens ved terapeutiske nivå⁸.
- Levodopa-konsentrasjoner over 15 mg/L kan gi for lave HDL- og Trig-resultater. Dette er høyere enn legemiddelkonsentrasjonen brukt i behandling⁷.
- Konsentrasjoner av acetylcystein over 1590 mg/L kan føre til for lave Trig-resultater. Denne konsentrasjonen er over terapeutiske nivåer, inkludert bruk av acetylcystein i antidotbehandling av acetaminofenforgiftninger¹¹.
- Metylaminoantipyrin (4-MAP), en aktiv metabolitt av legemidlet Metamizol, interfererer med Alere Afinion™ Lipid Panel ved terapeutiske nivåer og fører til for lavt HDL og for lave Trig-verdier¹².
- Det vil ikke bli gitt noe testresultat dersom pasientens hematokrit er utenfor måleområdet 20-60 %. En informasjonskode vil vises i instrumentets skjerm (se "Feilsøking"). I disse tilfellene anbefales det å benytte serum eller plasma for Lipid Panel analysen.
- Håndkremer og såper med glyserol kan gi falskt forhøyet triglyseridresultat.
- Triglyserid-testen måler triglyserid og fritt glyserol. Fritt glyserol er mindre enn 0,11 mmol/L (10 mg/dL)^{4,10}.

KVALITETSKONTROLL

Kontrolltesting bør utføres for å sikre at Alere Afinion™ instrumentet og analysemetoden fungerer tilfredsstillende og gir riktige resultater. Pasientresultater kan bare utgis når kontroller testes rutinemessig og resultatene ligger innenfor de gitte grensene.



Det anbefales å føre en kontinuerlig protokoll over alle kvalitetskontrollresultater. Alere Afinion™ lagrer kontrollresultater automatisk i en egen logg. Se Alere Afinion™ instrumentets brukermanual.

Valg av kontrollmateriale



Alere Afinion™ Lipid Panel Kontroll fra Alere anbefales for rutinemessig kvalitetskontroll. Se Alere Afinion™ Lipid Panel Kontroll pakningsvedlegget.

Ved bruk av andre kontrollmaterialer, må brukeren selv gjøre presisjons-testing og etablere grenseverdier for Alere Afinion™ testsystemet.

Hvor ofte bør kontroller analyseres?

Det anbefales å analysere kontroller:

- Hver gang man får et uventet testresultat.
- For hver ny forsendelse av Alere Afinion™ Lipid Panel.
- For hver ny lot av Alere Afinion™ Lipid Panel som tas i bruk.
- Ved opplæring av nye brukere av Alere Afinion™ Lipid Panel og Alere Afinion™ instrumentet.
- I henhold til nasjonale direktiver og interne forskrifter.

Tolkning av kontrollresultater

Den målte verdien skal ligge innenfor de gitte grensene for kontrollen. Se Alere Afinion™ Lipid Panel Kontroll pakningsvedlegget.

8.5 Vedlegg 5 Samtykkeskjema

Samtykkeskjema

Dette er et bachelorprosjekt om å ta i bruk et nytt instrument, Afinion 2 fra Abbott, på undervisningslaboratoriet for bioingeniørstudenter. Dette innebærer å sammenligne det nye instrumentet opp mot et referanseinstrument. I dette prosjektet vil vi se på følgende analyser: triglyserid, kolesterol og CRP. Vi trenger derfor ca. 30 venøse blodprøver (serum, et glass per deltaker) for å gjennomføre dette.

Ved å skrive under på dette skjemaet gir du tillatelse til å ta del i et bachelorprosjekt om analysering av triglyserid, kolesterol og CRP på Afinion 2. Du skal vite at deltakelsen er fullstendig frivillig, og at du har rett til å trekke deg fra forsøket om det skulle bli behov for dette. All informasjon rundt blodprøvetakingen blir både konfidensiell og anonymisert. Det er fullt mulig å be om dine egne prøvesvar om det skulle være et ønske om dette.

KJØNN:

- MANN
- KVINNE
- ANNET

ALDER:

- 18 - 29 ÅR
- 30 - 49 ÅR
- > 49 ÅR

HAR DU SPIST DE SISTE 12 TIMENE?

- JA
- NEI

HAR DU INNTATT ALKOHOL DET SISTE DØGNET?

- JA
- NEI

Jeg har lest den øvre informasjonen og sier meg enig i å delta i dette forsøket.

Navn

Dato/sted

8.6 Vedlegg 6 Pakningsvedlegg til Pathonorm High/Low

2016-02

800478

Seronorm™
Seronorm™ Lipid
Pathonorm™ L
Pathonorm™ H



The lot-specific document is available at the SERO website



NO

Produktbeskrivelse

Seronorm™/Pathonorm™ L/Pathonorm™ H/ Seronorm™ Lipid er et frysetørret animalsk kontrolliserum. Disse er produsert fra blod samlet fra veterinær-kontrollerte friske dyr ved norske anlegg som er statlig godkjent i henhold til EUs regelverk. Ettersom ingen metode kan fullstendig utelukke tilstedeværelsen av smitteoffer bør dette materialet håndteres som en vanlig pasientprøve.

Sikkerhetsdatablad (SDS) er tilgjengelig på vår nettside www.sero.no.



Bruk av dette produktet som en niktighetskontroll anbefales kun sammen med det lot-spesifikke dokumentet med analysedata og stabilitetsinformasjon. Besøk www.sero.no/theserolibrary for å laste ned det lot-spesifikke dokumentet. Det åtte-sifrede nummeret som er trykket på etiketten øverst på første side av dette dokumentet er den koden du vil trenge for å få tilgang på det lot-spesifikke dokumentet på websiden. Dersom du ikke har tilgang til internett eller om etiketten mangler, ta kontakt med din lokale forhandler eller SERO direkte. SEROs kontaktinformasjon finnes på siste side av dette dokumentet.

Tiltentkt bruk

Seronorm™/Pathonorm™ L/Pathonorm™ H/Seronorm™ Lipid er ment å brukes som et kvalitetskontrollmateriale for å kontrollere presisjon og riktighet av laboratoriets måleprosedyrer.

Instruksjoner for bruk

For å sikre uniformitet, sørg for at hvert glas blir behandlet på samme måte med hensyn til forberedelse før bruk. Bland alltid innholdet godt før bruk.

1. Dunk forsiktig på glasset for å sikre at kontrollmaterialet er på bunnen av glasset.
2. Fjern skrukorken.
3. Løft forsiktig gummiproppen uten å fjerne den helt. Dette gjør at luft kommer inn i flasken.
4. Fjern forsiktig gummiproppen.
5. Tilsett nøyaktig volumet av sterilt deionisert vann som angitt på glassetiketten.
6. Sett proppen tilbake på glasset og sørg for at alt innhold i glasset er fullstendig løst opp ved kontinuerlig blanding (f.eks på en rulle) i ca 30 minutter. Unngå dannelse av skum. IKKE RIST GLASSET.
7. Dersom materialet skal brukes til analyse av sporelementer, overfør det rekonstituerte materialet til et plastrør med skrukork. Dette er viktig for å hindre forurensning fra glass og gummipropp.
8. Pipetter ut korrekt mengde av materialet som kreves for analysen.
9. Sett gummiproppen tilbake og lagre glasset ved 2-8 °C.
10. Ubrukt materiale som er tatt ut av glasset må ikke føres tilbake i glasset, men må kastes.
11. Etabler middelverdi og analytisk range for kontrollmaterialet basert på måleprosedyrer i laboratoriet.



SERO AS Stasjonsveien 44, NO-1396 Billingstad, Norway. Tel: +47 66 85 89 00. Fax: +47 66 98 22 01. www.sero.no

02/2016/06/09

8.7 Vedlegg 7 Resultat på kontroller og kalibrering

Tabell X: Tabell over ønskede kontrollverdier og selve kontrollresultatene til Afinion 2

	Control C1	Control C2
Chol mmol/L	4,76 (3,81 - 5,71)	6,15 (4,92 - 7,38)
HDL mmol/L	0,95 (0,73 - 1,17)	1,44 (1,11 - 1,77)
Trig mmol/L	1,86 (1,30 - 2,23)	3,43 (2,40 - 4,12)
Resultat: Chol	4,72 mmol/L	6,09 mmol/L
Resultat: Tri	2,03 mmol/L	3,61 mmol/L

Tabell X: Tabell over ønskede kontrollverdier og selve kontrollresultatene på ABX Pentra 400

N-kontroll	Kolesterol mmol/L	Triglyserid mmol/L
Target value	2,05	1,33
Confidence range	1,84 - 2,26	1,18 - 1,48
Resultat: N Kontroll dag 1/4	2,23	1,45
Resultat: N Kontroll dag 2/4	2,13	1,36

8.8 Vedlegg 8 Analyseresultat - Kolesterol

Kolesterol (mmol/L)					
Prøvenr.	Metode A ABX Pentra 400	Metode B Afinion 2	Mean	Differanse (B-A)	Prosent % (Diff./mean)
1	7,09	5,78	6,44	-1,31	-20,36
2	4,54	3,53	4,04	-1,01	-25,03
3	5,10	4,08	4,59	-1,02	-22,22
4	4,94	3,91	4,43	-1,03	-23,28
5	6,32	5,08	5,70	-1,24	-1,75
6	5,01	3,98	4,50	-1,03	-22,91
7	4,32	3,35	3,84	-0,97	-25,29
8	5,35	4,39	4,87	-0,96	-19,71
9	7,34	5,75	6,55	-1,59	-24,29
10	3,77	3,00	3,39	-0,77	-22,75
11	6,26	5,04	5,65	-1,22	-21,59
12	9,36	7,39	8,38	-1,97	-23,52
13	7,36	5,79	6,58	-1,57	-23,88
14	6,49	5,24	5,87	-1,25	-21,31
15	6,03	4,66	5,35	-1,37	-25,63
16	5,97	4,72	5,35	-1,25	-23,39
17	8,76	6,65	7,71	-2,11	-27,38
18	6,69	5,23	5,96	-1,46	-24,50
19	4,91	3,84	4,38	-1,07	-24,46
20	5,17	4,00	4,59	-1,17	-25,52
21	7,00	5,61	6,31	-1,39	-22,05
22	5,72	4,50	5,11	-1,22	-23,87
23	6,73	5,29	6,01	-1,44	-23,96
24	6,24	4,94	5,59	-1,30	-23,26
25	5,95	4,51	5,23	-1,44	-27,53
26	7,11	5,35	6,23	-1,76	-28,25
27	6,65	5,41	6,03	-1,24	-20,56
28	6,04	4,80	5,42	-1,24	-22,88
29	8,91	7,17	8,04	-1,74	-21,64
30	8,70	7,39	8,05	-1,31	-16,28
31	3,18	2,59	2,89	-0,59	-20,45
32	3,12	2,59	2,86	-0,53	-18,56

Tabellen viser prøveresultatene og utregnede verdier av analysene for kolesterol. Tallene/svarene i tabellen er avrundet til to desimaler.

8.9 Vedlegg 9 Analyseresultat - Triglyserid

Triglyserid (mmol/L)					
Prøvenr.	Metode A ABX Pentra 400	Metode B Afinion 2	Mean	Differanse (A – B)	Prosent % (Diff./mean)
1	2,48	2,42	2,45	-0,06	-2,45
2	0,92	0,75	0,84	-0,17	-20,36
3	1,29	1,32	1,31	0,03	2,30
4	0,70	0,74	0,72	0,04	5,56
5	1,52	1,45	1,49	-0,07	-4,71
6	1,49	1,39	1,44	-0,10	-6,94
7	1,65	1,54	1,60	-0,11	-6,90
8	1,30	1,25	1,28	-0,05	-3,92
9	1,46	1,32	1,39	-0,14	-10,07
10	0,85	0,87	0,86	0,02	2,33
11	1,04	1,04	1,04	0,00	0,00
12	1,74	1,54	1,64	-0,20	-12,20
13	1,54	1,48	1,51	-0,06	-3,97
14	0,76	0,78	0,77	0,02	2,60
15	0,95	0,88	0,92	-0,07	-7,65
16	2,29	2,00	2,15	-0,29	-13,52
17	1,90	1,64	1,77	-0,26	-14,69
18	0,80	0,77	0,79	-0,03	-3,82
19	1,29	1,24	1,27	-0,05	-3,95
20	2,24	2,07	2,16	-0,17	-7,89
21	2,01	1,85	1,93	-0,16	-8,29
22	1,06	0,96	1,01	-0,10	-9,90
23	1,13	1,04	1,09	-0,09	-8,29
24	0,66	0,64	0,65	-0,02	-3,08
25	1,34	1,32	1,33	-0,02	-1,50
26	0,89	0,87	0,88	-0,02	-2,27
27	1,96	1,92	1,94	-0,04	-2,06
28	0,92	0,92	0,92	0,00	0,00
29	3,86	3,38	3,62	-0,48	-13,26
30	3,84	3,46	2,65	-0,38	-10,41
31	0,93	0,77	0,85	-0,16	-18,82
32	0,85	0,77	0,81	-0,08	-9,88

Tabellen viser prøveresultatene og utregnede verdier av analysene for triglyserid. Tallene/svarene i tabellen er avrundet til to desimaler.

8.10 Vedlegg 10 Bland Altman utregninger

Kolesterol (mmol/l)		Konfidensintervall for bias (mmol/L) (95% CI)	Kolesterol (%)	
Bias	-1,32		Bias %	-23,30
Standardavvik	0,30	0,10818236	Stvavvik %	2,46
Lower LoA	-1,91		Lower LoA	-28,12
Upper LoA	-0,72		Upper LoA	-18,49
0	-1,91 Lower LoA		0	-28,12 Lower LoA
9	-1,91		9	-28,12
0	-0,72 Upper LoA		0	-18,49 Upper LoA
9	-0,72		9	-18,49
0	-1,32 Bias		0	-23,30 Bias
9	-1,32		9	-23,30
Triglyserid (mmol/L)		Konfidensintervall for bias (mmol/L) (95% CI)	Triglyserid (%)	
Bias	-0,10		Bias prosent	-6,19
Standardavvik	0,12	0,0411157	Standardavvik p	6,18
Lower LoA	-0,33		Lower LoA	-18,31
Upper LoA	0,13		Upper LoA	5,93
0	-0,33 Lower		0	-18,31 Lower
4	-0,33		4	-18,31
0	0,13 Upper		0	5,93 Upper
4	0,13		4	5,93
0	-0,10 Bias		0	-6,19 Bias
4	-0,10		4	-6,19

8.11 Vedlegg 11 Passing and Bablok utregninger

Medfølgende tilleggsinformasjon for Passing and Bablok regresjonen

KOLESTEROL

Variable X	Pentra_400
Variable Y	Afinion_2

Sample size	30		
Lowest value	3,7700	Variable Y	3,0000
Highest value	9,3600	Variable X	3,0000
Arithmetic mean	6,3277	Variable Y	7,3900
Median	6,2500	Variable X	5,0127
Standard deviation	1,3851	Variable Y	4,9900
Standard error of the mean	0,2529	Variable X	1,1282
		Variable Y	0,2060

Regression Equation

$$y = -0,1444440,814815 + x$$

Systematic differences	
Intercept A	-0,1444
95% CI	-0,3765 to 0,06426
Proportional differences	
Slope B	0,8148
95% CI	0,7794 to 0,8561
Random differences	
Residual Standard Deviation (RSD)	0,1136
± 1.96 RSD Interval	-0,2227 to 0,2227
Linear model validity	
Cusum test for linearity	No significant deviation from linearity (P=0,91)

TRIGLYSERID

Variable X	Pentra_400
Variable Y	Afinion_2

Sample size	32		
Lowest value	0,6600	Variable Y	0,6400
Highest value	3,8600	Variable X	3,4600
Arithmetic mean	1,4894	Variable Y	1,3872
Median	1,2950	Variable X	1,2850
Standard deviation	0,7928	Variable Y	0,6998
Standard error of the mean	0,1402	Variable X	0,1237

Regression Equation

$$y = 0,0694444 + 0,888889 x$$

Systematic differences	
Intercept A	0,06944
95% CI	-0,0006742 to 0,1319
Proportional differences	
Slope B	0,8889
95% CI	0,8532 to 0,9438
Random differences	
Residual Standard Deviation (RSD)	0,05310
± 1.96 RSD Interval	-0,1041 to 0,1041
Linear model validity	
Cusum test for linearity	No significant deviation from linearity (P=0,93)

8.12 Vedlegg 12 Informasjon fra Bergman Diagnostika om kolesterol på ABX Pentra 400

E-postkorrespondanse med Bergman Diagnostika (12.04.2019):

Hei! Jeg er med på et bachelorprosjekt som handler om å sammenligne målingene til ABX Pentra 400 og Afinion 2, der Pentra da blir referanseinstrumentet. Det er hovedsaklig analysene triglyserid og kolesterol vi skal se på, og vi har hittil sett at Pentra gir ut et signifikant høyere svar på kolesterol iforhold til Afinion. Det ble brukt prøvemateriale fra fastende deltakere, og det ble ikke forventet høye kolesterolverdier fra en del av disse (dette fikk vi på Pentra), så vi har derfor en mistanke om at Pentra kanskje måler for høyt. Jeg lurte derfor på om dette kanskje var et kjent tilfelle? Vi har ikke hatt noe problem med triglyserid, og hittil vil resultatet vårt på kolesterol være at Afinion måler signifikant lavere.

Svar fra Bergman Diagnostika (12.04.2019):

Ja vi har også fått denne tilbakemeldingen fra andre brukere, spesielt på siste kolesterol lot. En samkjøring med Unilabs viste at Pentra lå ca 15% høyere. I dette tilfellet ble det gjort korrelasjon med ca 20 prøver. Korrelasjonen med Unilabs var meget god, men det er som sagt nivåforskjell.

Vedlagt er korrelasjon gjort mellom Pentra 400 og Unilabs private laboratorium, for siste lot Cholesterol reagens på Pentra. Korrelasjonen viste en correlation coefficient på 0.99, dvs meget god korrelasjon. Brukeren valgte å legge inn korrelasjonsfaktor på 0.84, dvs at alle Chol resultater på Pentra multipliseres med 0.84, for å komme på samme nivå som lab'en de benytter som referanse (Unilabs).

CHOL								
X	Y							
Unilabs	P400	DIFF	% diff			Rettlinje	0,83	Mod diff
5,9	6,9	1,00	16,9	Regr	0,995	Skjæring	0,1	0,1
5,6	6,6	1,00	17,9	R2	0,991			0,1
5,1	6	0,90	17,6					0,1
5,2	6,3	1,10	21,2					-0,1
7,4	8,8	1,40	18,9					0,0
3,5	4,2	0,70	20,0					0,0
7,1	8,4	1,30	18,3					0,0
6,3	7,4	1,10	17,5					0,1
4,8	5,7	0,90	18,8					0,0
3,9	4,7	0,80	20,5					0,0
4,4	5,2	0,80	18,2					0,0
6,3	7,50	1,20	19,0					0,0
5,2	6,2	1,00	19,2					0,0
5,7	6,7	1,00	17,5					0,1
5,3	6,1	0,80	15,1					0,2
7,6	9,4	1,80	23,7					-0,3
5,9	7	1,10	18,6					0,0
4,5	5,5	1,00	22,2					-0,1
4,7	5,8	1,10	23,4					-0,2

8.13 Vedlegg 13 Resultat fra svaralternativ på samtykkeskjemaet

Kjønn	Antall
Mann	14
Kvinne	14
Annet	0

Alder	Antall
18-29 år	17
30-49 år	2
> 49 år	9

Har du spist de siste 12 timene?	Antall
Ja	9
Nei	19

Har du inntatt alkohol det siste døgnet?	Antall
Ja	2
Nei	26

