

Analysekrav til P-Cobalamin (B12)

Anbefaling fra Videnskabeligt Udvalg for Kvalitet (VUK), januar 2023

Udarbejdet af: Morten Pedersen, Ivan Brandslund, Eva Rabing Brix Petersen, Helle T. Kristensen, Lise Pedersen og Marianne Benn

Plasma cobalamin (B12) anvendes til forskellige diagnostiske formål, hvoraf mistanke om B12 mangel og pernicios anæmi er de vigtigste. Der er i Danmark forskellige beslutningsgrænser for, hvornår en lav vitamin-B12 udløser en opfølgende plasma methylmalonat-undersøgelse.

Da plasma B12 anvendes diagnostisk, er en standardisering af det analytiske niveau ønskeligt, da det vil give mulighed for en harmonisering af beslutningsgrænser. En forudsætning for at dette er muligt er, at analysekvaliteten er god. Videnskabeligt Udvalg for Kvalitet kommer her med et forslag til analysekrav til B12 analysen.

Forudsætninger

1. Plasma B12 værdier i området 250-700 pmol/L anvendes i flere laboratorier som referenceinterval, omend der er sparsom evidens i nyere litteratur herfor.
2. Referenceinterval (svarende til 95% af populationen) er foreslået til 200-600 pmol/L i en dansk artikel fra 2022 (1).
3. Værdier i området 125-250 pmol/L tyder på B12-mangel, forudsat relevant klinik (gråzoneområde). Aktuelt anvendes forskellige gråzoneområder i Danmark.
4. Hvis der ikke er relevante kliniske symptomer i området 125-250 pmol/L, suppleres der eventuelt med måling af P-Methylmalonat.
5. P-B12 værdier under 125 pmol/L er sikkert nedsatte, og patienten er behandlingskrævende.
6. P-B12 værdier under 60 pmol/L er svært nedsatte, tyder på pernicios anæmi og skal behandles med Cobalamin injektioner intramuskulært (Lægehåndbogen og DSIM klaringsrapport 2003).
7. Det nødvendige kvantitative måleområde er 50-700 pmol/L. Lower limit of quantification er 50 pmol/L.
8. Laboratorierne i Danmark konverterer ofte målinger under 90-140 pmol/L som "mindre end X pmol/L", hvor X er en lokal værdi ofte defineret af analyseassay.

Krav til maksimalt bias

For at anvende et fælles referenceinterval skal bias i forhold til referencelaboratorier højst være $\frac{1}{4}$ x standard-deviationen (SD) på populationsfordelingen af komponenten, der analyseres (2). En tredjedel standard-deviation er dog acceptabelt (3).

Ved et referenceinterval på 200-600 pmol/L, svarende til nyere litteratur, er 4 x standard-deviationen 400 pmol/L [600-200 pmol/L], hvorfor 1 standard deviation svarer til 100 pmol/L. Kravet til bias er således 25-33 pmol/L [$\frac{1}{4}$ x 100 pmol/L = 25 pmol/L eller $\frac{1}{3}$ x 100 pmol/L = 33 pmol/L]. Data fra en undersøgelse lavet af VUK og DEKS i foråret 2022 viser, at 30 pmol/L er realistisk at overholde, mens 25 pmol/L kun kan overholdes af $\frac{1}{3}$ af hospitalslaboratorierne i Danmark (4). Derfor anbefales det, at kravet til bias er 30 pmol/L. Anvendes et reference-interval på 250-700 pmol/L, er et krav på 30 pmol/L ligeledes realistisk.

Krav til maksimal analytisk variationskoefficient (CV)

Der findes ingen data for den intra-individuelle variation af B12 i Westgards eller EFLMs databaser, men variationen er i litteraturen rapporteret til 6% (5).

For at opnå at den analytiske variation (CV_{anal}) bidrager mindre end 11% (6) på et analyseresultat i forbindelse med beregning af signifikant ændring under patientmonitorering med gentagne målinger over tid, skal CV% være mindre end halvdelen af den biologiske intra-individuelle CV, altså en maksimal $CV_{\text{anal}} < 3\%$. Dette ikke teknisk muligt. Data fra en undersøgelse lavet af VUK og DEKS i foråret 2022 viser, at tilgængelige analyseinstrumenter tillader maksimalt $CV_{\text{anal}} < 10\%$, men flere kun $< 12\%$ (4).

Fastsatte krav er således

Bias < 30 pmol/L

$CV_{\text{anal}} < 12\%$

Heraf følger, at den totale måleusikkerhed (TE) højst er 67 pmol/L i gråzonen/området, hvor værdier tyder på B12 mangel. Ved en koncentration på 187 pmol/L svarende til midtpunktet for gråzonen 125-250 pmol/L, er den totale måleusikkerhed (TE) højst 67 pmol/L [$30 + (1,65 \times [12\% \text{ af } 187 \text{ pmol/L}]) = 67 \text{ pmol/L}$].

Fælles diagnostiske grænser kan derfor benyttes, såfremt ovenstående kvalitetskrav kan overholdes.

Analyseusikkerhed ved beslutnings- og diagnosegrænse

Det bør være muligt at kunne detektere en lav værdi som signifikant forskellig fra 125 pmol/L. Ved en koncentration på 125 pmol/L er usikkerheden (total error) lig bias + $1,65 \times CV_{\text{anal}} = 30 \text{ pmol/L} + 1,65 \times (12\% \text{ af } 125 \text{ pmol/L}) = 55 \text{ pmol/L}$. En målt værdi på under 70 pmol/L kan derfor signifikant skelnes fra en gråzoneværdi på $\geq 125 \text{ pmol/L}$.

Signifikant ændring under monitorering eller gentagen diagnostik

Kravet er, at en ændring fra første plasma B12 resultat til andet resultat overstiger den usikkerhed, som biologisk og analytisk variation bidrager med.

Reglen er, at forskel $> 2,77 \times \sqrt{CV_{\text{anal}}^2 + CV_{\text{biol}}^2} = 2,77 \times \sqrt{12^2 + 6^2} = 37\%$.

Forudsat, at CV-kvalitetskravet på 12% er overholdt, er en ændring i resultatet på over 37% signifikant.

Opsummering

Det anbefales, at krav til bias er < 30 pmol/L og analytisk CV er $< 12\%$ for analyse af plasma cobalamin (B12).

Dette kan ifølge data indsamlet af VUK og DEKS i foråret 2022 overholdes af hovedparten af danske laboratorier (4).

Referencer

1. Abildgaard A, et al. Reference intervals for plasma vitamin B12 and plasma/serum methylmalonic acid in Danish children, adults and elderly. Clin Chim Acta. 2022;525:62-8.
2. Gowans EM, et al. Analytical goals for the acceptance of common reference intervals for laboratories throughout a geographical area. Scand J Clin Lab Invest. 1988;48:757-764.
3. Ross JW. A theoretical basis for clinically relevant proficiency testing evaluation limits. Sensitivity analysis of the effect of inherent test variability on acceptable method error. Arch Pathol Lab Med. 1988;112:421-434.
4. Dansk Institut for Ekstern Kvalitetssikring for Laboratorier i Sundhedssektoren; Videnskabeligt Udvalg for Kvalitet under Dansk Selskab for Klinisk Biokemi. National undersøgelse af Cobalamin i lave koncentrationer 2022; www.deks.dk
5. Cokluk E, et al. Biological Variation of Iron, Transferrin, Ferritin, Folate, Vitamin B12 and 25-OH Vitamin D in Healthy Individuals. Clin Lab. 2021;67(9).
6. Stockl D, et al. Desirable routine analytical goals for quantities assayed in serum. Discussion paper from the members of the external quality assessment (EQA) Working Group A on analytical goals in laboratory medicine. Eur J Clin Chem Clin Biochem. 1995;33:157-169.