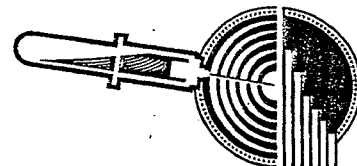


PRECISION Q-I-D og Gen2b ELECTRODE

Rapport fra en utprøving i regi av SKUP



NOKLUS

SKUP Norge mai -99

Abbott Norge
Nesøyveien 4
P.B. 76
1361 Billingstad

Att.: Erik Christensen

Utprøving av Gen2b Electrode for måling av glukose


I regi av *Skandinavisk utprøving av analyseinstrumenter for primærhelsetjenesten, SKUP*, er det gjort en utprøving av Gen2b Electrode for måling av glukose. Gen 2b benyttes på glukoseinstrumentet Precision Q·I·D. Utprøvingen er en tilleggsundersøkelse til en utprøving av Precision G og Precision Plus Electrode som ble gjort i 1998. Gen2b elektroden er identisk med Precision Plus. Det gjøres derfor ikke en fullstendig SKUP-utprøving. I følge avtalen som ble inngått mellom MediSense Norge og SKUP, har utprøvingen dekket følgende:

Korrelasjon mot en fullblodsreferanse, 95 prøver fra voksne diabetikere
Påvirking av hematokritt

Utprøvingen foregikk på Laboratorium for klinisk biokjemi (LKB), Haukeland Sykehus, i perioden februar til april 1999. Det praktiske arbeidet med utprøvingen ble utført av Camilla Eide og Kari Nerhus, LKB. Ansvarlig for utprøvingen er Sverre Sandberg og Grete Monsen.

Vedlagt følger en rapport fra utprøvingen, med resultater, vurderinger og konklusjoner.

Vennlig hilsen


Sverre Sandberg
Leder av faggruppen, SKUP


Grete Monsen
prosjektleder SKUP



Innholdsfortegnelse

Sammendrag	2
Planlegging	3
Gjennomføring	3
<i>Prøvetaking</i>	
<i>Utvelgelse av pasienter</i>	
<i>Innsamling av prøvemateriale</i>	
<i>Precision Q-I-D og Gen2b</i>	
<i>Referansemetoden</i>	4
Resultater	5
<i>Presisjon</i>	5
<i>Riktighet</i>	6
<i>Påvirkning av hematokritt</i>	10
Vedlegg	11

Sammendrag

Bakgrunn

I regi av SKUP, ble det i 1998 gjort en fullstendig utprøving for MediSense av glukose-instrumentet Precision G og testelektroden Precision Plus. Elektroden ble korrelert mot en referansemetode for måling av glukose i serum/plasma. De fleste teststrimler for glukose er kalibrert for å gi verdier som B-glukose. Precision Plus fra MediSense er kalibrert i forhold til YSI fullblod, og multiplisert med en faktor på x 1,08 for å gi "plasmalignende" verdier. Precision G skal ikke lanseres på det norske marked. Strimmelen Precision Plus kalles nå Gen2b og benyttes til glukoseinstrumentet Precision Q·I·D. Teststrimmelen krever svært lite blod (3,5 µl). Blodmengden kan etterfylles innen 30 sekunder. Utformingen av strimmelen skal forhindre at målingen kan starte med for lite blod. Måleområdet er 1,1 – 33,3 mmol/l. Analysetid er 20 sekunder.

I tillegg til utprøvingen som allerede var utført, ønsket MediSense en sammenligning av Gen2b med en fullblodsreferanse.

Formål

Undersøke riktigheten av Gen2b Electrode ved sammenligning med en referansemetode for glukose i fullblod.

Undersøke effekten av hematokritt.

Metode

Kapillærprøver fra 95 voksne diabetikere ble undersøkt mht. riktighet. Det skulle tas prøver til andre undersøkelser fra samme kapillære stikk, og etter avtale med MediSense ble det derfor tatt dobbeltprøver til referansemålingen, men ikke til målingen på Gen2b. Det ble i tillegg tatt en venøs prøve av alle diabetikerne, til måling av EVF.

Gen2b Electrode er biosensorer som inneholder enzymet glukoseoksidase. Målingen skjer ved elektrokjemisk deteksjon. Referansemålingene ble utført på COBAS Fara (Roche), med en dehydrogenase-metode for glukose i hemolysat. COBAS-instrumentet ble kalibrert med glukosekalibrator fra Roche og Standard Reference Material 965 fra National Institute of Standards & Technology, NIST.

Resultat

Dag-til-dag presisjon på mellom 4 og 7% er beregnet på bakgrunn av resultatene fra intern kvalitetskontroll.

Sammenlignet med referansemålingene, er verdiene fra Precision Q·I·D i gjennomsnitt 4% høyere. Under kontrollerte forsøksbetingelser, ligger 95% av resultatene innenfor en grense på rundt $\pm 15\%$ fra referansemålingene.

Hematokritt influerer på målingene av glukose. Glukosekonsentrasjonen blir ca. 1 mmol for høy når hematokritt er lav, mens høye verdier av hematokritt gir litt for lave glukoseverdier.

Planlegging

Etter henvendelse fra Abbott v/dr. Erik Christensen i desember -98 om en parallellanalyse av Precision Q-I-D og Gen2b Electrode med en referansemetode for måling av glukose i fullblod, påtok SKUP seg dette oppdraget i februar -99. Det er ikke snakk om en fullstendig SKUP-utprøving, fordi flere av resultatene fra en tidligere SKUP-utprøving av Precision G er overførbare. Sammenligningen med referansemetoden gjøres med 100 prøver fra voksne diabetikere. Det tas ikke duplikatprøver for beregning av innen-serie presisjon. Effekten av hematokritt undersøkes, ved at glukoseresultatene relateres til aktuell hematokritt i prøvene.

Utprøvingen ble planlagt på et møte i Oslo 17. februar. På møtet deltok:
Erik Christensen, medisinsk sjef, Abbott Norden
Jorun Klokk Holst, salgssjef, Abbott - MediSense
Grete Monsen, prosjektleder, SKUP

Følgende ble avtalt:

Utprøvingen utføres på Laboratorium for klinisk biokjemi (LKB), Haukeland sykehus. Sverre Sandberg og Grete Monsen har ansvaret for utprøvingen. Camilla Eide og Kari Nerhus gjør det praktiske arbeidet på LKB. Gen2b korreleres mot en glukose dehydrogenase-metode for glukose i fullblod på COBAS Fara. Referansemetoden verifiseres vha. et standard referansemateriale fra National Institute of Standards & Technology, NIST. Det praktiske arbeidet med utprøvingen skal foregå i perioden februar - april, og bearbeiding av data og skriving av rapport gjøres etter påske.

Gjennomføring

Prøvetaking

Prøvene til glukosemåling ble tatt kapillært på voksne diabetikere. Målingen på Precision Q-I-D ble utført direkte, ved at en bloddråpe direkte fra stikkstedet ble applisert på Gen2b-strimmelen. Prøvene til COBAS Fara hemolyseres ved prøvetaking, ved at et kapillærrør med 20µl fullblod tilsettes i 1000µl hemolyseringsvæske. Det er oppgitt 5 dagers holdbarhet på dette hemolysatet. Egne holdbarhetsforsøk bekrefter at glukoseverdiene ikke viser signifikant endring over 2 døgn. Alle prøvene til referansemetoden ble analysert innen 28 timer. Det ble også tatt en veneprove til måling av hematokritt.

Utvelgelse av pasienter

Det tas prøver av voksne diabetikere i Hordaland fylke. Diabetikerne kalles inn til poliklinisk prøvetaking på Haukeland sykehus. De deltar frivillig i prosjektet.

Innsamling av prøvemateriale

Det ble tatt prøver av 95 diabetikere. Prøvetakingsperioden varte fra 23. februar til 7. april. Prøvene ble analysert over 15 analysedager.

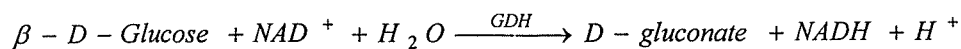
Precision Q-I-D og Gen2b Electrode

Utprøvingen ble gjort på Precision Q-I-D, serienummer 01Q2812, med Gen2b Electrode, lot nr. 82071. Intern kvalitetskontroll ble utført med MediSense Glucose Test Solution, Hi 2 (lot nr. 19225) og Lo 2 (lot nr.19220).

Referansemetoden

Metoden er en glukose dehydrogenase metode for måling av glukose i hemolysat, med applikasjon bl.a. for COBAS Fara.

Prinsipp:



Mengde NADH som dannes er direkte proporsjonalt med konsentrasjonen av glukose, og avleses fotometrisk ved 340 nm. Metoden er kjørt inn på COBAS Fara på LKB, Haukeland Sykehus, i forbindelse med ulike glukoseprosjekt. Referansemålingenes sporbarhet er dokumentert vha Standard Reference Material 965 fra National Institute of Standards & Technology, NIST.

COBAS Fara ble kalibrert med kalibrator fra Roche, lot nr. U1431. Intern kvalitetskontroll ble utført med Controll Serum fra Roche, Normal (lot nr. E 1433A) med fasitverdi 4,33 mmol/l og Patologisk (lot nr. E 1533A) med fasit 12,7 mmol/l.

Resultater

Presisjon

I denne utprøvingen er innen-serie presisjon ikke undersøkt. Tidligere utprøving viste tilfredsstillende innen-serie presisjon, med $CV < 5\%$ både på sentrallaboratoriet og på legekantoret.

Dag-til-dag variasjon ble beregnet vha MediSense Glucose Test Solution på lavt og høyt nivå. Det ble levert ett glass på hvert nivå. Kontroll-løsningen er holdbar en måned etter at glasset er åpnet. Kontroll-løsningen overskred denne holdbarhetsgrensen i løpet av utprøvingen. Resultatene fra dagene etter holdbarhetsfristen gikk ut er ikke tatt med i beregningen av dag-til-dag presisjon.

I hele forsøksperioden lå resultatene fra intern kvalitetskontroll på Precision Q-I-D innenfor grensene som er oppgitt fra leverandør.

Rådata, vedlegg 1.

Resultatene er vist i tabell 1.

Tabell 1. Dag-til-dag presisjon på Precision Q-I-D

Nivå, mmol/l	CV(%)dag-til-dag	95% konfidensintervall	n
2,7	6,8	4,7 – 12,4	10
16,1	4,0	2,8 – 7,3	10

Vurdering

Dag-til-dag presisjonen er beregnet vha. kvalitetskontrollmaterialet (glukose i en vandig løsning), fordi glukose ikke er stabilt i fullblod. Resultater beregnet fra kunstige materialer kan ikke direkte sammenlignes med resultater fra pasientblod. Variasjonen fra dag til dag er beregnet på kun 10 verdier på hvert nivå, og usikkerheten i de beregnede størrelser er derfor ganske stor. I den tidligere utprøving av Precision Plus Electrode (identisk med Gen 2b), fant vi en dag-til-dag variasjon rundt 5%.

Riktighet

Referansemåling

Gen2b elektoden er kalibrert mot YSI fullblod og justert opp med en faktor på 1,08 for å gi "plasmalignende" glukoseverdier. Elektroden er tidligere sammenlignet med en referansemetode for glukose i plasma. Denne gang ble det valgt en glukose-dehydrogenasemetode for glukose i fullblod som referansemetode. Metoden er etablert på LKB på Haukeland Sykehus på COBAS Fara i forbindelse med ulike glukoseprosjekt. Glukosemetoden på COBAS Fara viser meget god presisjon, med CV_{innen-serie} på rundt 1,6%, og CV_{dag-til-dag} i underkant av 2%.

Metoden på Cobas Fara ble kalibrert etter glukosestandarder fra National Institute of Standards & Technology, NIST. Standard Reference Material 965 er frosset humant serum med sertifiserte glukosemengder på 3 nivå. Resultater er vist i tabell 2.

Daglig kalibrering ble utført med bruksstandarder fra Roche, og kontrollert med kvalitetskontrollmateriale fra Roche.

Tabell 2. Standard Reference Material 965.

NIST-verdi, Glukose mmol/l	COBAS Fara, dehydrogenasemetode Glukose mmol/l
5,68	5,59 (mars) – 5,78 (april)
11,097	11,01 (mars) – 11,18 (april)
16,355	16,41 (mars) – 16,28 (april)

Korrelasjon vha prøver fra voksne diabetikere

Korrelasjonen ble gjort med kapillærprøver fra 95 voksne diabetikere. Måleresultatet fra Precision Q-I-D/Gen2b ble sammenlignet med gjennomsnittet av to målinger på COBAS Fara. I den lineære regresjonen ble punkt med residual større enn $0 \pm 3,5 \cdot SD_{\text{residual}}$ definert som slengere. Faktoren 3,5 er avhengig av signifikansnivå for testen, og antall prøver som inngår i regresjonen. Her er nivå 5%, antall prøver er 95. Det ble ikke påvist slengere i datasettet. Rådata, vedlegg 2.

Resultater

Resultatene av sammenligningen mellom Precision Q-I-D/Gen2b og referansemålingen er fremstilt i et spredningsdiagram, figur 1, og i et differanseplott med avvik i mmol/l, figur 2, og med avvik i prosent, figur 3.

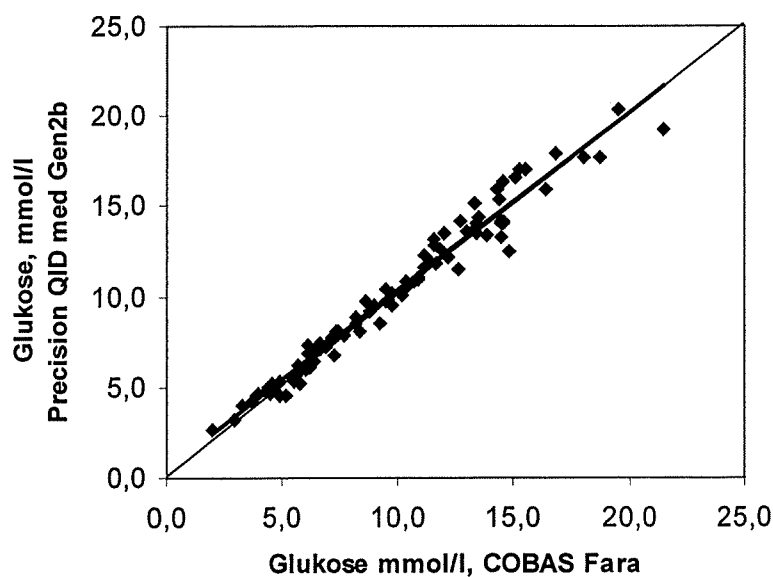
Resultatene fra lineær regresjon er samlet i tabell 3, og avvik mellom metodene er vist i tabell 4.

Tabell 3. Lineær regresjon.

Regresjonsligning: $y = 0,98x + 0,49$
 Determinasjonskoeffisient: $R^2 = 0,97$
 Standardfeil $SE_{y/x} = 0,751$
 Usikkerhet ved beregnet vinkelkoeffisient, $SE_a = 0,019$
 Usikkerhet ved beregnet intercept, $SE_b = 0,197$
 Vinkelkoeffisient a er ikke signifikant $\neq 1$, $p > 0,2$
 Skjæringspunkt b er signifikant $\neq 0$, $p = 0,014$

Tabell 4. Avvik (bias) mellom metodene.

Nivå/ Gjennomsnittsdifferanse (Precision Q-I-D – referanse)	SD for differansene	Antall differanser	t-verdi	95% konfidensintervall for gjennomsnittsdifferanse
< 6 mmol/l / 0,24	0,44	19	2,09	0,03 – 0,45
6-11 mmol/l / 0,33	0,41	39	2,02	0,20 – 0,46
> 11 mmol/l / 0,42	1,09	37	2,02	0,06 – 0,78



Figur 1. Spredningsdiagram med lineær regresjon. Prøver av 95 voksne diabetikere.

Vurdering

Det er god lineær sammenheng mellom metodene ($R^2 = 0,97$). Regresjonsligningen viser at målingene på Precision Q-I-D er litt høyere enn målinger på referansemotoden.

Vinkelkoeffisienten for regresjonslinjen er ikke signifikant forskjellig fra 1. Intercept er signifikant forskjellig fra null. Avviket mellom metodene påvises på alle tre konsentrasjonsnivå.

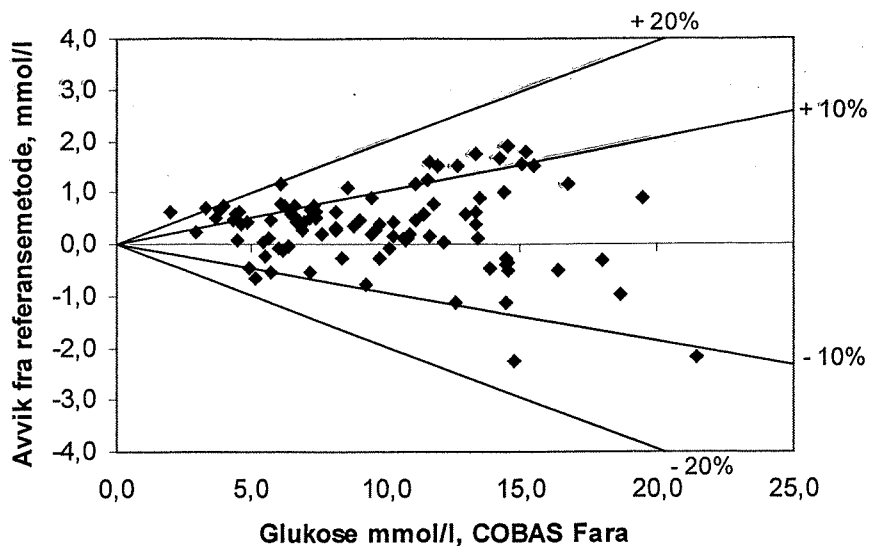
Differanseplott

Referansemetoden har god presisjon, både innen serie og mellom serie. Metoden ble verifisert vha. NIST-standarder. Differanseplottet er derfor tegnet med verdiene fra COBAS Fara på X-aksen (gjennomsnittet av duplikatmålingene), i stedet for gjennomsnittet av de to metodene.

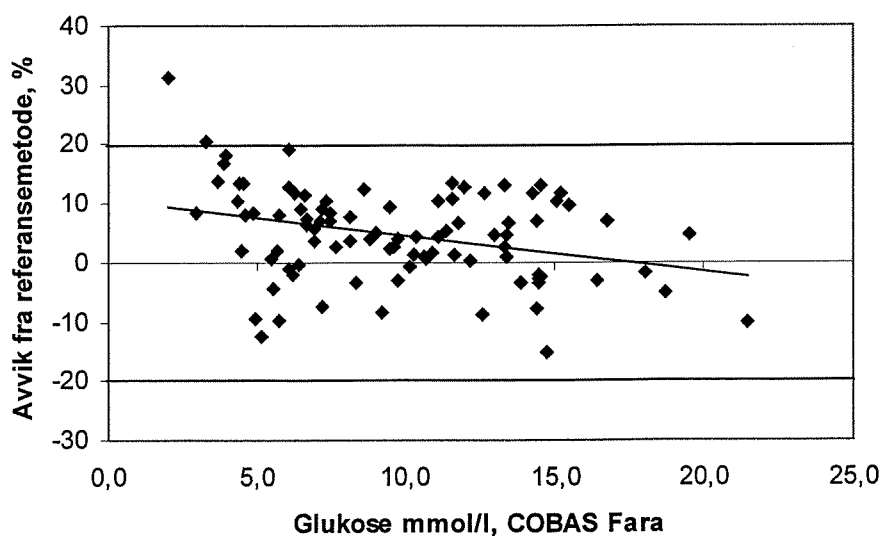
I følge vår utprøvningsbok (*Utprøving av analyseinstrumenter, Alma Mater Forlag*, skal grensene i differanseplottet baseres på de to metodenes dag-til-dag presisjon. Denne presisjonen ble beregnet vha. et kvalitetskontrollmateriale på to nivå, med få resultater på hvert nivå. Dag-til-dag presisjon beregnet på kontrollmateriale avspeiler ikke nødvendigvis den reelle dag-til-dag variasjon. Basert på disse beregningene, blir 95% toleransegrenser for differansen mellom metodene $\pm 15\%$ på lavt nivå, og $\pm 9\%$ på høyt nivå. Hvis det ikke er systematisk forskjell mellom metodene, skal 95% av differansene falle innenfor disse grensene. Gen2b elektroden er kalibrert i henhold til YSI fullblod, og justert opp med en faktor på 1,08. I denne utprøvingen er verdiene fra Precision Q-I-D/Gen2b sammenlignet med en referansemetode for glukose i fullblod. Det forventes følgelig at punktene i differanseplottet vil ligge ca. 8 % over null-linjen.

Det amerikanske diabetesforbundet (American Diabetes Consensus Statement) anbefalte i 1986 at den totale feilen i diabetikernes egenmålinger ikke skulle overstige 10%. I retningslinjer som er under utarbeidelse fra ISO/TC212WG3; ISO/CD15197 (Determination of performance criteria for in-vitro blood glucose monitoring systems for management of human diabetes mellitus), anbefales det at den totale feilen skal være $< 1,1$ mmol/l på målinger under 5,5 mmol/l og $< 20\%$ på målinger over 5,5 mmol/l. Etter en samlet vurdering av de ulike prinsipper for grenser i differanseplottet, er det tegnet inn grenser på $\pm 10\%$ og $\pm 20\%$.

Differanseplott med avvik fra referansemetoden i mmol/l er vist i figur 2, og med avvik i % i figur 3, neste side.



Figur 2. Differanseplott med verdiene fra COBAS Fara på X-aksen, og forskjellen mellom Precision Q·I·D og COBAS i mmol/l på Y-aksen. Prøver av 95 voksne diabetikere.



Figur 3. Differanseplott med verdiene fra COBAS Fara på X-aksen, og forskjellen mellom Precision Q·I·D og COBAS i % på Y-aksen. Prøver av 95 voksne diabetikere.

Vurdering

Verdiene på Precision Q·I·D ligger systematisk noe høyere enn referansemetoden. Avviket mellom metodene er ikke konsentrasjonsavhengig. Stigningstallet for en trendlinje gjennom punktene (ikke inntegnet) er ikke signifikant forskjellig fra null.

For glukoseverdier $> 5,5$ mmol/l, faller over 20% av resultatene utenfor grensen $+ 10\%$. Årsaken til dette kan være den systematiske forskjellen mellom de to metodene. 95% av alle resultatene faller innenfor en grense på rundt $\pm 15\%$. To resultater faller utenfor $\pm 20\%$ grensen. Dette er resultater med glukoseverdi $< 5,5$ mmol/l. Avviket er mindre enn 1,1 mmol/l.

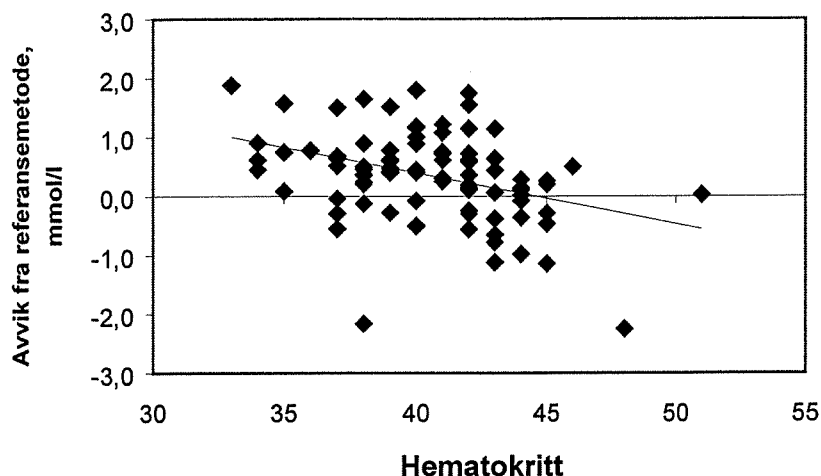
Det prosentvise avviket er i gjennomsnitt ca. 4%, noe mer for lave glukoseverdier, og litt lavere for høye verdier av glukose. Stigningstallet for en trendlinje gjennom disse punktene er signifikant forskjellig fra null.

Påvirkning av hematokritt

Prøvene som ble benyttet til utprøvingen av Gen2b, ble tatt kapillært på frivillige diabetikere. Det ble i tillegg tatt en veneprobe av alle diabetikerne til måling av EVF.

Rådata, vedlegg 2.

Resultatene er vist i figur 4 og tabell 5.



Figur 4. Påvirkning av hematokritt. Prøver av 95 voksne diabetikere.

Tabell 5. Dataanalyse for trendlinje

	Koeffisienter	Standardfeil	t-stat	P-verdi	Konfidensintervall
Skjæringspunkt	3,86	0,90	4,28	< 0,001	2,07 – 5,66
Stigningstall	-0,09	0,022	-3,90	< 0,001	-0,13 - -0,04

Vurdering

Det angis at glukoseresultatene er nøyaktige over et vidt område av hematokritt, og at det ikke er signifikant effekt av hematokrittverdier mellom 20 – 70.

Vi har undersøkt effekten av hematokritt i området 25 til 50. Referanseområdet for hematokritt er 35 – 48. Vi ser at hematokritt influerer på glukosemålingene utført på Precision Q-I-D med Gen2b Electrode. For verdier av hematokritt i nedre del av referanseområdet, måles for høye glukoseverdier. For verdier i øvre del av referanseområdet, måles for lave glukoseverdier. Stigningstallet og skjæringspunktet for trendlinjen gjennom punktene er signifikant forskjellig fra null.

Vedlegg 1
Rådata. Intern kvalitetskontroll, Precision Q-I-D

MediSense Glukose Test Solution			
Lo2 (19220) 2,7 mmol/l og Hi2 (19225) 16,1 mmol/l			
Dato	Glukose, mmol/l	Glukose, mmol/l	Kommentar
23.02.99	3,0	15,8	
24.02.99	2,5	15,7	
26.02.99	2,6	15,5	
01.03.99	2,6	16,1	
08.03.99	2,8	16,6	
12.03.99	2,5	15,1	
15.03.99	2,5	15,5	
19.03.99	2,9	17,2	
22.03.99	2,8	16,6	
23.03.99	2,8	16,0	
24.03.99	2,7	15,6	Utgått på dato
25.03.99	2,8	14,9	Utgått på dato
29.03.99	2,6	14,6	Utgått på dato
30.03.99	2,4	15,7	Utgått på dato

Vedlegg 2
Rådata, 95 voksne diabetikere

Prøve	Precision QID/ Gen2b mmol/l	COBAS Fara (gjennomsnitt) mmol/l	EVF	Prøve	Precision QID/ Gen2b mmol/l	COBAS Fara (gjennomsnitt) mmol/l	EVF
1	10,1	10,17	0,44	51	14,2	14,55	0,44
2	17,7	18,68	0,44	52	4,8	4,35	0,40
3	7,2	6,94	0,41	53	8,5	8,21	0,44
4	11,8	11,66	0,42	54	9,9	9,64	0,45
5	14,1	14,48	0,43	55	5,0	4,41	0,42
6	12,6	11,82	0,36	56	9,5	9,04	0,38
7	2,6	1,98	0,41	57	8,8	8,18	0,39
8	5,2	4,59	0,39	58	9,7	9,49	0,45
9	13,5	13,39	0,44	59	10,2	9,80	0,39
10	7,1	6,51	0,42	60	16,6	15,05	0,42
11	13,3	14,44	0,45	61	7,2	6,70	0,46
12	11,6	11,12	0,39	62	15,9	16,39	0,40
13	5,8	5,69	0,42	63	13,6	13,00	0,42
14	14,0	13,37	0,42	64	4,6	4,51	0,35
15	7,0	6,27	0,42	65	6,2	5,75	0,34
16	12,3	11,15	0,43	66	10,8	10,74	0,43
17	12,8	11,58	0,41	67	10,4	9,50	0,40
18	13,5	11,98	0,39	68	8,1	7,35	0,41
19	16,4	14,51	0,33	69	8,1	7,48	0,34
20	4,5	3,86	0,43	70	11,0	10,87	0,42
21	17,7	18,00	0,42	71	7,7	7,20	0,46
22	15,9	14,25	0,38	72	10,8	10,36	0,43
23	17,0	15,20	0,40	73	9,2	8,84	0,38
24	13,2	11,62	0,35	74	15,1	13,35	0,42
25	9,7	8,62	0,41	75	4,5	4,96	0,45
26	14,2	12,69	0,39	76	14,0	14,50	0,40
27	15,4	14,39	0,40	77	7,9	7,69	0,38
28	7,1	6,68	0,39	78	11,5	12,61	0,43
29	12,0	11,40	0,39	79	6,1	6,22	0,38
30	4,0	3,32	0,37	80	8,5	9,27	0,43
31	11,1	10,91	0,42	81	5,2	5,76	0,42
32	17,0	15,49	0,37	82	6,4	6,43	0,37
33	7,3	6,12	0,40	83	12,5	14,75	0,48
34	8,1	8,38	0,45	84	3,2	2,95	0,38
35	7,4	6,65	0,35	85	19,3	21,46	0,38
36	8,5	8,19	0,41	86	6,7	7,24	0,37
37	4,2	3,69	0,38	87	5,3	4,89	0,39
38	12,2	12,17	0,51	88	9,5	9,79	0,37
39	5,3	5,54	0,42	89	8,0	7,48	0,37
40	5,5	5,47	0,44	90	6,9	6,12	0,39
41	4,7	3,98	0,41	91	10,8	10,69	0,42
42	6,0	6,07	0,40	92	5,0	4,63	0,38
43	4,5	5,15	0,43	93	13,4	13,86	0,45
44	10,5	10,35	0,44	94	14,4	13,49	0,34
45	14,2	14,48	0,39	95	13,7	13,33	0,42
46	7,4	6,99	0,40				
47	7,9	7,25	0,37				
48	20,4	19,50	0,38				
49	17,9	16,75	0,42				
50	12,3	11,13	0,40				

