
**Referenční laboratoř pro klinickou biochemii
při Ústavu lékařské biochemie a laboratorní diagnostiky VFN**
Karlovo nám. 32, 121 11 Praha 2, tel.: +420 224 966 410



Zkušební laboratoř č.1250.3 akreditovaná ČIA podle ČSN EN ISO/IEC 17025

V Praze dne 2.8.2012

Č.j. 3/2012

Protokol o testování systému glukometr – měřící proužky Glukometr Accu-Chec Performa Nano

Žadatel o posouzení (objednavatel):

ROCHE s.r.o.

Dukelských hrdinů 12

170 00 Praha 7

IČO 49617052

DIČ: CZ 49617052

tel. +420 220 382 556

bankovní spojení UniCredit Bank č.ú. 11480430001/2700

e-mail jana.safarova@roche.com

Předmět posouzení

Ověření výsledků měření hladiny glukózy v krvi POCT přístrojem **Accu-Chec Performa Nano** v porovnání s výsledky získanými ze stejného odběru srovnávací metodou stanovení glukózy v lidské plazmě hexokinázovou spektrofotometrickou metodou. Glukometr je určen pro domácí měření glykémie in vitro.

Přístroj: Accu-Chec Performa Nano

Výrobce: ROCHE Diagnostics GmbH

Sandhofer Strasse 116

D-68305 Mannheim

Germany

Výrobní číslo: č.1: 59204807911

č.2: 59204807912

Diagnostické proužky: Accu-Chec Performa

Velikost balení: 1x50 ks

Počet balení k testování: 8 x 50 ks (400 ks)

Číslo šarže: 470538 470550

Exspirace: 31.7.2013 31.8.2013

Výrobce: Roche Diagnostic

68305 Mannheim
Germany

Distributor v ČR: Roche s.r.o.
ROCHE s.r.o.
Karlovo náměstí 17
120 00 Praha 2

Srovnání bylo provedeno akreditovanou zkouškou dle SOP-ÚLBLD-GLU2

1. Charakteristika a princip měření

Testovaný systém je určen pro in vitro stanovení koncentrace glukózy v kapilární krvi. Rozmezí měřitelnosti hladin glukózy je výrobcem stanoveno na 1,1-33,3 mmol/l.

Principem stanovení je elektrochemické měření za použití mutantní varianty chinoproteinu glukózodehydrogenázy.

2. Materiál

a) Venózní krev (antikoagulans Li-heprinát) Biologický materiál se získává od dobrovolných dárců z Odběrového centra po podpisu informovaného souhlasu. Den před zahájením po sobě jdoucího 4denního testování jsou odebrány 3 vzorky krve, které se nechají inkubovat 24 hod. při 2 - 8°C. Každý další den testování je odebráno 27 vzorků krve asi po 4,5 ml. 3 vzorky se použijí bez úprav, 3 se nechají inkubovat 24 hod. při 2 - 8°C a stanoví se až další den. Další vzorky se upraví rozdílným množstvím 7% vodného roztoku glukózy dle schématu v tabulce č.1.

Tab. 1 Přídavky vodného roztoku glukózy k testované krvi

počet vzorků	přídavek 7% vodného roztoku glukózy v μ l	Označení vzorku při analýze
3	50 μ l	Ven1
3	100 μ l	Ven2
3	150 μ l	Ven3
3	200 μ l	Ven4
3	250 μ l	Ven5
3	300 μ l	Ven6
3	350 μ l	Ven7

4.den testování se odebírá pouze 24 vzorků, příprava vzorků inkubací na další den už není potřeba. Po přídavku vodného roztoku glukózy je třeba vzorky minimálně půl hodiny opatrně promíchat, aby se krev nasytila kyslíkem.

- b) Odběrové zkumavky Vacutainer Becton-Dickinson na 7 ml krve s Li-heparinát
- c) Sada kalibračních roztoků s koncentrací glukózy dle následující tabulky č.2.

Tab. 2: Koncentrace připravených glukózových kalibračních roztoků:

	mmol/l
1	0,415
2	1,050
3	2,090
4	4,170
5	8,330
6	12,500
7	16,700
8	25,100
9	33,300

- d) Kontrolní materiály. Šarže, expirace a deklarované hladiny jsou uvedeny v následující tabulce č. 3.

Tab. 3: Kontrolní materiály

	Deklarovaná hodnota (mmol/l)	Číslo šarže	expirace
Lyphochek1	4,86	14411	30.4.2014
Lyphochek2	15,3	14412	30.4.2014
SONO1	5	123111	7.13
Lyo N	5,27	108811	10.12
LyoP	13,9	135211	5.13

- e) Testovaný glukometr : **Accu-Chec Performa Nano**
 Testované měřicí proužky: **Accu-Chec Performa**
- f) **Spektrofotometrický analyzátor Express 550 (Ciba Corning), výr.č. 2479AA**
- g) Diagnostická souprava pro stanovení glukózy Beckman Coulter Glucose, OSR 6121, 4x25 ml + 4x12,5 ml, č.š.2876 exsp. 2.1.2014

3. Provedení analýz a výsledky

3.1. Přesnost

Hodnota hematokritu se v používaných vzorcích pohybovala v rozmezí 0,35-0,55. Vzhledem k tomu, že výrobce glukometru garantuje nezměněné výsledky pro hodnoty hematokritu v rozmezí 0,10-0,65 nebylo nutné brát při hodnocení na hematokrit zřetel.

Ve všech připravených vzorcích nesrážlivé krve byla stanovena hladina glukózy pomocí testovaného glukometru v souladu s **akreditovaným postupem** dle **SOP-ULBLD-RL-GLU2**. Všechny vzorky krve (s přídavkem i bez přídavku glukózy) pak byly odstředěny a v plazmě byla stanovena glukóza spektrofotometricky hexokinázovou metodou postupem dle firemního návodu, který byl upraven pro použití analyzátor ve shodě s **akreditovanou metodou** dle **SOP-ULBLD-RL-GLU1**.

Před stanovením byla v každé sérii měření provedena kalibrace pomocí připravených kalibračních roztoků měřených v duplikátu.

Měření absorbancí se provádí na analyzátoru Express 550 za použití následujících parametrů metody:

Test Type:	endpoint		
Curve Type:	blanked linear		
Units:	A		
Number of Decimal Places:	3		
Primary Wavelength:	340 nm		
Secondary Wavelength:	380 nm		
Read Time/Interval:	20 s		
Sample Blank?	No		
Factor:	1.0000		
Number of Calibrators:	1 (slepá)		
Number of Replicates:	2		
Sample Volume:	3 ul		
Reagent Volume	Diluent Volume	Lag Time	
Reagent 1	75 ul	225 ul	20 s
Reagent 2	37 ul	37 ul	250 s

Kalibrační závislosti byly stanoveny matematicky lineární regresí s přímkovým modelem metodou nejmenších čtverců pomocí statistického programu Statistica 10.0, kalibrační křivky viz příloha 1. Ze sestrojené kalibrační křivky byly matematickým výpočtem získány výsledky kontrolních i testovaných vzorků.

Každá série měření byla provedena v jiném dni.

Časový rozdíl mezi stanovením na glukometru a srovnávací metodou pro kterýkoliv vzorek krve nebyl delší než 30 minut.

Kontrola správnosti byla provedena pomocí kontrolních sér, výsledky jsou uvedeny v tabulce č.4.

Tab. 4: Výsledky kontrolních analýz glukózy hexokinázovou metodou. V každé sérii měření byla provedena vždy 2 paralelní stanovení v kontrolních materiálech, které byly zpracovány stejně jako testované vzorky. Odchytky v % jsou vypočítány vzhledem k deklarované hodnotě.

Kontrolní vyšetření		1.série	2.série	3. série	4.série
(mmol/l)	Deklarovaná hodnota	změřeno	změřeno	změřeno	změřeno
Lyphochek1	4,86	4,81	4,95	4,90	5,07
	odchytka od HK metody (%)	1,07	-1,93	-0,84	-5,51
Lyphochek2	15,3	16,05	15,66	16,16	15,75
	odchytka od HK metody (%)	-4,87	-2,37	-5,63	1,84
SONO1	5	5,02	5,13	5,03	4,97
	odchytka od HK metody (%)	-0,45	-2,68	-0,70	1,07
Lyo N	5,27	5,54	5,40	5,10	5,31
	odchytka od HK metody (%)	-5,13	-2,55	3,19	4,21
Lyo P	13,9	13,70	13,39	13,51	13,16
	odchytka od HK metody (%)	1,46	3,64	2,83	3,93

Ve vzorcích Li-heparinátové žilní krve upravené přidavkem vodného roztoku glukózy i bez úprav byla stanovena glukometrem hladina glukózy. V odpovídajících vzorcích plazmy pak byla stanovena glukóza hexokinázovou metodou a to vždy v duplikátu. V tabulce č.5 jsou průměry paralelních stanovení a rozdíl v % mezi stanoveními vztažený na výsledek hexokinázové (HK) metody.

Typy vzorku:

ven-1 – venózní krev bez přidavku glukózy inkubovaná 24 h při 4st.C

ven 0 - venózní krev bez přidavku glukózy

Ostatní vzorky jsou značeny jak je uvedeno v tabulce č.1.

Výsledky byly rozděleny na dvě části podle hladiny glukózy. Podle doporučení „Laboratorní diagnostika a sledování stavu diabetu mellitu“, schváleného Českou společností klinické biochemie ČLS JEP a Českou diabetologickou společností ČLS JEP (dále Doporučení), vypracovaného ve shodě s novým světovým doporučením „The National Academy of Clinical Biochemistry Guidelines and Recommendations for laboratory analysis in the diagnosis and management of diabetes mellitus. Ed. D.B.Sacks. January 2011“, musí 95 % výsledků dosažených na glukometrech vykazovat tyto maximální difference od referenční metody:

± 0,8 mmol/l pro koncentrace nižší než 5,6 mmol/l

± 15 % pro koncentrace vyšší než 5,6 mmol/l

Tab. 5a: Výsledky stanovení glukózy glukometrem a HK metodou pro hodnoty < 5,6 mmol/l

série	typ vzorku	HK metoda	nano	glukom-HK
4	ven -0	1,14	1,85	0,71
2	ven -0	1,24	1,55	0,31
1	ven-0	1,65	1,35	-0,30
1	ven -0	1,66	1,45	-0,21
1	ven -0	1,69	1,55	-0,14
4	ven -0	2,03	2,65	0,62
3	ven0	2,88	3,35	0,47
2	ven -0	3,55	3,65	0,10
3	ven-0	3,65	4,05	0,40
3	ven -0	3,83	4,5	0,67
4	ven0	3,86	4,9	1,04
2	ven0	4,00	4,25	0,25
4	ven-0	4,01	4,85	0,84
4	ven0	4,34	4,95	0,61
3	ven -0	4,74	5,45	0,71
2	ven0	5,03	5,05	0,02
1	ven0	5,14	5,25	0,11
2	ven-0	5,22	4,95	-0,27
4	ven0	5,33	6	0,67
3	ven1	5,40	5,45	0,05
3	ven1	5,53	5,6	0,07
1	ven0	5,55	5,3	-0,25

Průměr rozdílů: 0,29 mmol/l

Tab. 5b: Výsledky stanovení glukózy glukometrem a HK metodou pro hodnoty > 5,6 mmol/l

série	typ vzorku	HK metoda	nano	rozdíl v %
1	ven0	6,27	6,25	-0,36
2	ven0	6,33	6,7	5,80
2	ven2	8,68	8,5	-2,05
1	ven1	8,96	9,4	4,89
2	ven2	9,30	8,8	-5,34
4	ven1	9,76	9,75	-0,11
2	ven1	9,88	10,95	10,87
1	ven1	10,12	10,9	7,67
3	ven1	10,26	11,4	11,08
2	ven1	10,60	10,75	1,43
1	ven1	10,83	10,3	-4,90
2	ven1	11,05	11,05	0,01
4	ven1	11,15	11,65	4,45
3	ven2	11,28	12,6	11,69
4	ven3	12,70	14,4	13,36
1	ven2	12,80	13,6	6,25
3	ven5	13,01	14,75	13,37
4	ven2	13,95	15,5	11,09
1	ven5	14,48	16,3	12,57
3	ven0	14,50	15,2	4,84
4	ven3	14,62	14,55	-0,46
2	ven4	14,76	16,55	12,13
3	ven0	14,83	16,45	10,90
1	ven2	14,87	15,25	2,55
3	ven2	15,08	15,4	2,16
4	ven1	15,28	15,4	0,78
2	ven2	15,37	15,1	-1,73
4	ven2	15,67	15,7	0,18
4	ven4	15,80	17,6	11,38
4	ven7	15,88	16,9	6,42
3	ven2	15,92	17	6,79
3	ven6	16,64	18	8,15
4	ven3	16,73	18,8	12,40
2	ven6	16,90	16,85	-0,29
4	ven2	16,97	15,6	-8,09
3	ven3	17,09	18,6	8,86
1	ven3	17,72	19,65	10,86
3	ven6	18,04	18,45	2,29
1	ven3	18,36	19,45	5,96
3	ven7	18,45	18	-2,46
2	ven3	18,77	19,95	6,30
3	ven3	18,83	19,6	4,10
1	ven5	19,30	18,4	-4,68
3	ven6	19,31	19,8	2,53
3	ven4	19,57	17,75	-9,28
4	ven4	19,60	19,85	1,25
2	ven4	19,66	20,1	2,25

1	ven2	20,09	20,8	3,56
3	ven4	20,12	18,8	-6,54
2	ven3	20,34	22,05	8,41
3	ven4	20,79	19,15	-7,87
2	ven3	20,79	21,8	4,85
1	ven6	20,99	24,1	14,79
3	ven5	21,51	21,5	-0,04
2	ven7	21,90	20,4	-6,85
3	ven5	22,07	21,65	-1,91
1	ven3	22,33	24,15	8,13
3	ven7	22,60	23,25	2,90
4	ven4	22,98	22,95	-0,12
1	ven4	23,28	25,65	10,18
1	ven4	25,19	26,55	5,41
4	ven6	25,28	26,95	6,60
1	ven4	25,52	26,2	2,68
4	ven5	25,76	26,95	4,61
3	ven3	25,79	26,4	2,38
3	ven7	25,92	27,25	5,13
2	ven6	26,10	26,95	3,25
4	ven5	26,40	25,95	-1,71
4	ven5	26,48	25	-5,59
1	ven6	26,82	28,5	6,28
1	ven5	26,89	27,3	1,52
2	ven7	26,99	27,45	1,71
4	ven7	27,25	26,5	-2,74
2	ven5	27,27	28,2	3,40
4	ven7	27,31	26,15	-4,26
2	ven6	27,58	28,5	3,33
2	ven4	27,62	30,3	9,70
2	ven5	27,67	29,05	4,98
4	ven6	28,51	27,15	-4,77
2	ven5	29,27	28,25	-3,49
2	ven7	30,52	30,05	-1,54
1	ven7	30,68	31,4	2,35
1	ven7	30,96	30,25	-2,28
1	ven6	31,87	31,4	-1,46
4	ven6	37,89	high	
1	ven7	43,42	high	

Průměr rozdílů: 3,13 %

Úspěšnost 95% výsledků jak předpokládá doporučení „Diabetes mellitus - laboratorní diagnostika a sledování stavu pacientů (2012)“ : +/- 0,8 mmol/l pro < 5,6 mmol/l

+/- 15% pro >5,6 mmol/l

Rozdělení všech výsledků podle odchylek od hodnot změřených hexokinázovou metodou je uvedeno v tabulce č. 6.

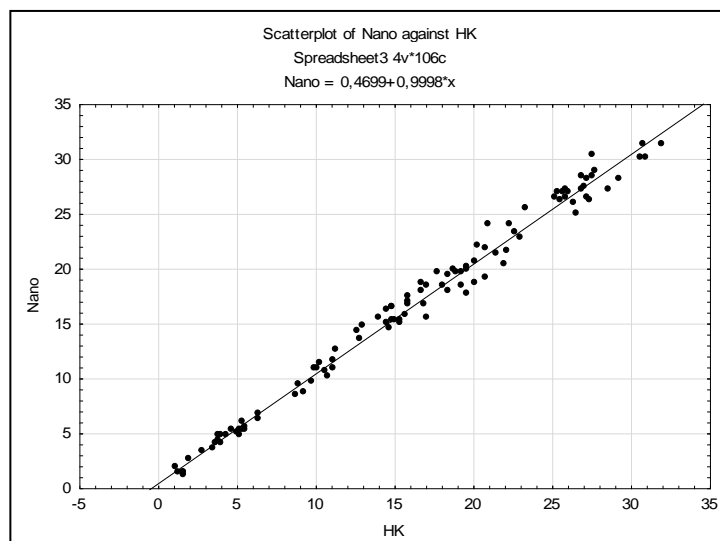
Tab. 6 Shoda výsledků z glukometru s HK metodou.

Do ±0,3 mmol/L	Do ± 0,55 mmol/L	Do ± 0,83 mmol/L
30/57 (52,6 %)	41/57 (71,9 %)	56/57 (98,2 %)

Do ± 5 %	Do ± 10 %	Do ± 15 %
108/199 (54,3 %)	166/199 (83,4 %)	195/199 (98,0 %)

Korelace byla počítána ze 106 výsledků. Párový korelační koeficient je $r = 0,9938$
 Korelační graf je uveden na obrázku č.1. Všechny výsledky byly zpracovány jako průměr z duplicitního stanovení vzorku.

Obrázek 1: Korelace stanovení glukózy hexokinázovou metodou a pomocí glukometru **Accu-Chec Performa Nano**:



Regresní rovnice závislosti mezi stanovením na glukometru (GM) a hexokinázovou metodou (HK) je **$HK = 0,4699 + 0,9998 * \text{glukometr}$**

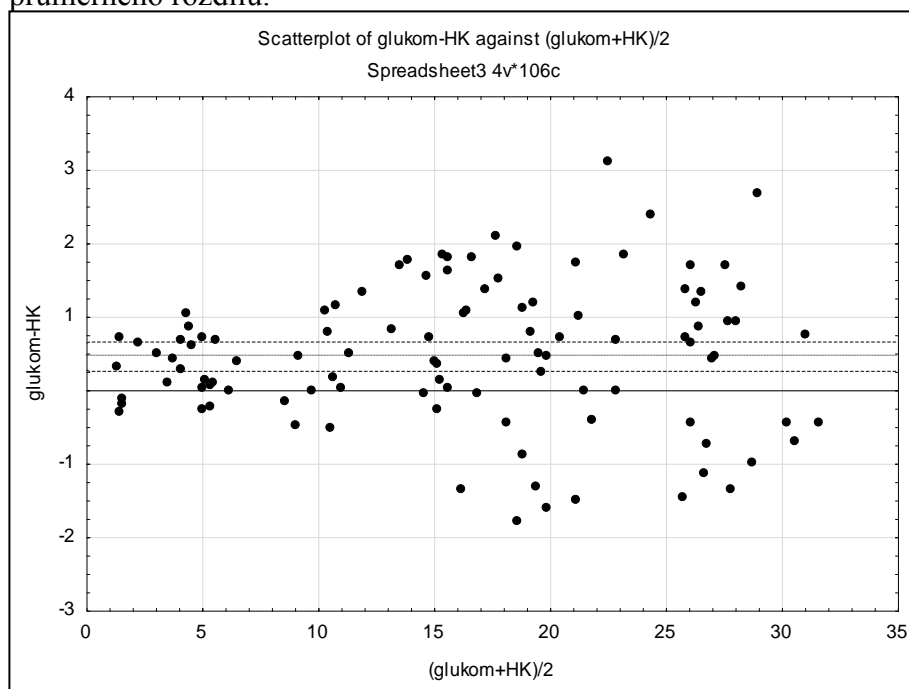
Rozdíly výsledků měření glukometrem a hexokinázovou metodou byly statisticky zpracovány a jsou uvedeny v tabulce č.7. Všechny výsledky byly zpracovány jako průměr z duplicitního stanovení vzorku.

Tab. 7: Průměrný rozdíl stanovení hexokinázovou metodou a glukometrem **Accu-Chec Performa Nano**.

Počet vzorků	Průměrný rozdíl	Dolní mez intervalu spolehlivosti prům. rozdílu	Horní mez intervalu spolehlivosti prům. rozdílu	Minimum	Maximum
106	0,47	0,28	0,65	-1,82	3,11

Na obrázku 2 jsou zpracovány rozdíly mezi výsledky získanými měřením na glukometru a pomocí hexokinázové metody.

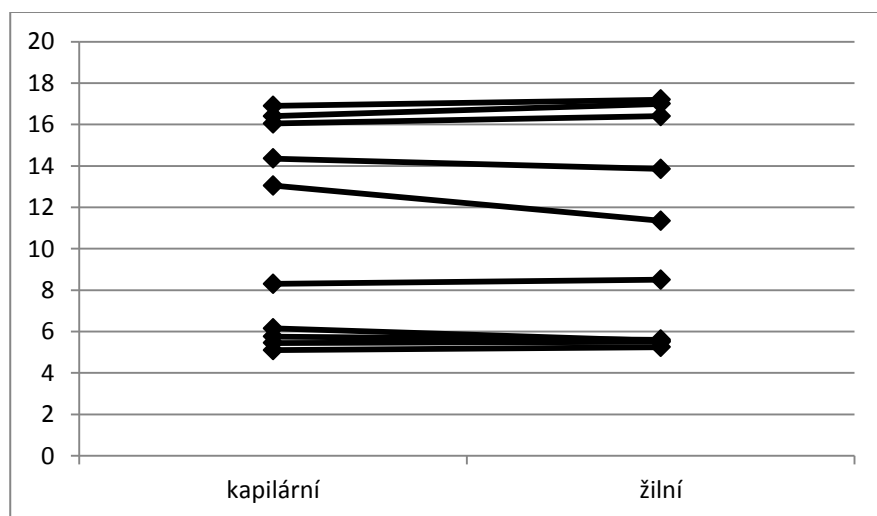
Obrázek 2: Rozdílový graf. Na ose x jsou vyneseny průměry rozdílů $(HK + \text{Accu-Chec Performa Nano})/2$, na ose y jsou rozdíly hladin HK - Accu-Chec Performa Nano. Plná čára zvýrazňuje polohu 0, přerušovaná čára vyznačuje průměrný rozdíl, tečkované čáry jsou hranice intervalu spolehlivosti průměrného rozdílu.



3.2 Srovnatelnost výsledků získaných ze žilní a kapilární krve

U pěti dobrovolníků bylo provedeno srovnání výsledků získaných měřením kapilární a žilní krve z odběru v jednom čase. Průměrný rozdíl mezi **kapilární a žilní krví** byl **-0,13 mmol/l (-1,87%)**. Graficky je srovnání uvedeno na obrázku č.3.

Obrázek č. 3 Srovnání výsledků měření kapilární a žilní krve odebrané ve stejném čase.



3.3 Opakovatelnost a mezilehlá preciznost

3.3.1 Opakovatelnost

Opakovatelnost měření na testovaném glukometru byla stanovena ve třech sériích měření neupravené Li-heparinátové venózní krve s různou hladinou glukózy. Výsledky jsou uvedeny v tabulce č.8

Tab. 8: Opakovatelnost (mmol/l)

	1.hladina	2.hladina	3.hladina
1	3,2	6	15,1
2	3,2	5,9	15,5
3	3,2	6	15
4	3,2	5,9	15,1
5	3,3	6,2	15,4
6	3,3	5,9	14,9
7	3,2	5,9	15,3
8	3,2	5,8	15
9	3,2	5,9	15,3
10	3,2	5,9	15,1
11	3,3	6,2	15,1
12	3,3	6	15,4
13	3,2	6,2	15,1
14	3,3	6	15,3
15	3,2	6,1	15,1
průměr	3,23	5,99	15,18
SD	0,049	0,128	0,174
CV %	1,51	2,14	1,15

Pro zhodnocení reprodukovatelnosti se používá výpočet variačního koeficientu, nalezena byla velmi dobrá opakovatelnost naměřených výsledků.

3.3.2 Mezilehlá preciznost

Mezilehlá preciznost měření byla na testovaném glukometru stanovena v pěti dnech měření kontrolního materiálu Accucheck Performa Roche (č.š. 10101031 exp. 07/2013) a kontrolního materiálu použitého při externí kontrole kvality organizované SEKK z cyklu GLC 1/12. Výsledky jsou uvedeny v tabulce č.9.

Tab. 9: Mezilehlá preciznost (mmol/l)

	1.den	2.den	3.den	4.den	5.den	průměr	SD	CV %
Control 1	2,55	2,6	2,7	2,6	2,55	2,6	0,061	2,36
Control 2	16,8	17,2	17,35	17	17,3	17,13	0,228	1,33
SEKK "B"	8,35	8,25	8,5	8,45	8,3	8,37	0,104	1,24

Provedla Referenční laboratoř MZ ČR pro klinickou biochemii při ÚLBLD VFN a 1.
LF UK

Karlovo nám. 32

121 11 Praha 2

tel. 22496 6661

Měření provedla: Květa Omastová

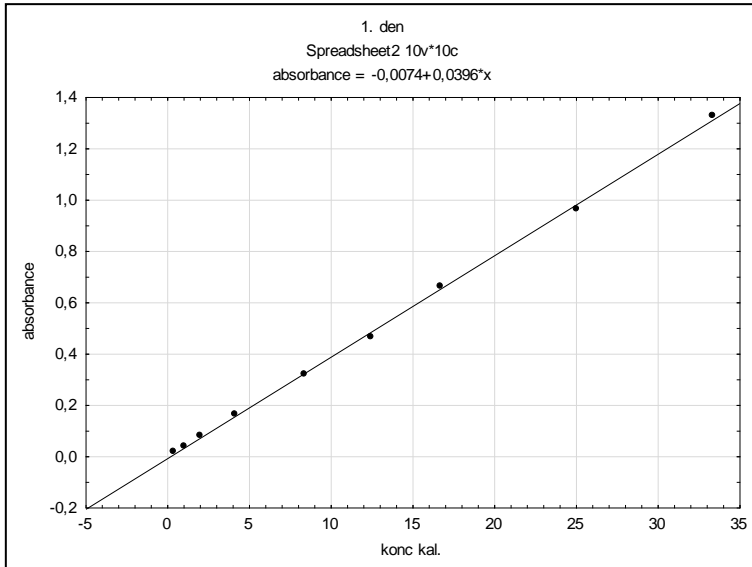
Protokol vypracovala a schválila: Ing. Drahomíra Springer, Ph.D.

springer@vfn.cz

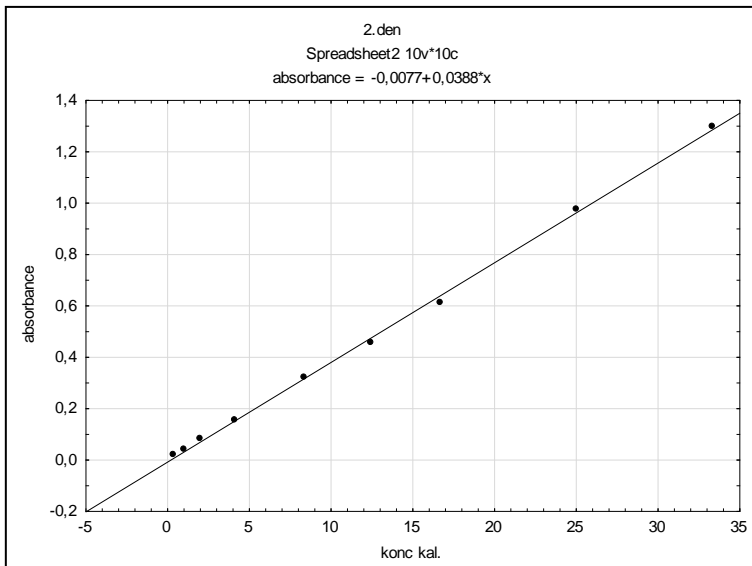
V Praze dne 2.8.2012

Příloha 1 obsahuje kalibrační grafy pro jednotlivé série měření hladiny glukózy hexokinázovou metodou.

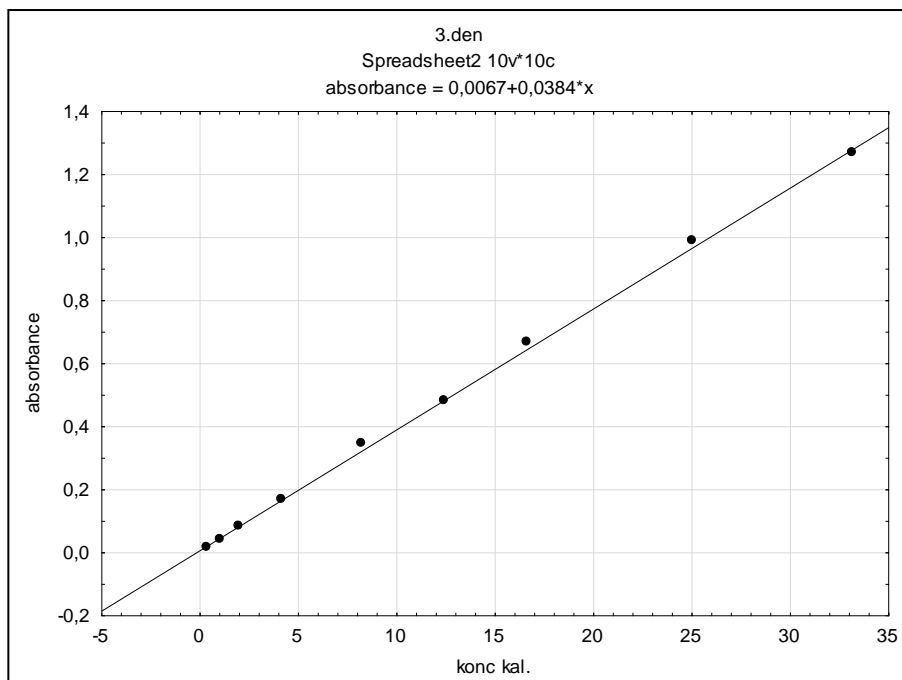
Kalibrační křivka použitá při testování 1.série



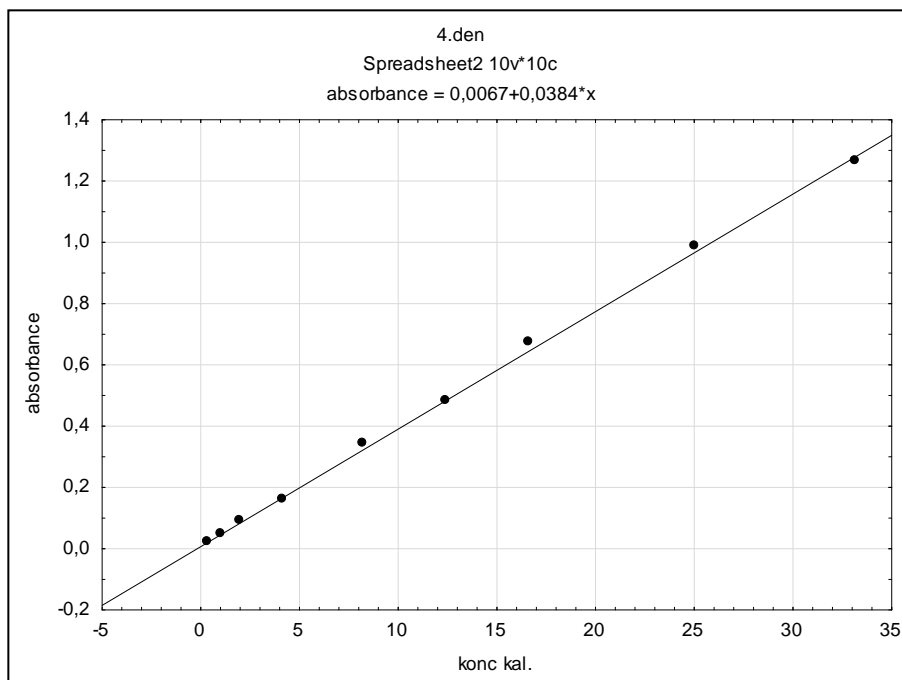
Kalibrační křivka použitá při testování 2.série



Kalibrační křivka použitá při testování 3.série



Kalibrační křivka použitá při testování 4.série



Testování systému glukometr – testovací proužky Accu-Chec Performa Nano protokol č.j. 3/2012

Souhrn výsledků

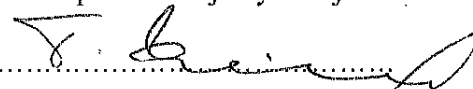
- Testování glukometru bylo provedeno akreditovaným postupem dle SOP-ULBLD-RL-GLU2 s návazností na akreditovanou metodu stanovení glukózy dle SOP-ULBLD-RL-GLU1.
- Závislost výsledků na teplotě a na hodnotě hematokritu nebyla testována, stejně jako případné interference.
- Nejvyšší hodnota naměřená glukometrem byla 31,8 mmol/l, odpovídající hladina v plazmě měřená hexokinázovou metodou byla 31,9 mmol/l
Nejnižší hodnota naměřená glukometrem byla 1,3 mmol/l, odpovídající hladina v plazmě měřená hexokinázovou metodou byla 1,65 mmol/l
- Výsledky získané glukometrem byly v průměru vyšší o 0,29 mmol/l pro hladiny <5,6 mmol/l a o 3,13% vyšší oproti výsledkům z plazmy pro hladiny vyšší než 5,6 mmol/l.
- Průměrný rozdíl výsledků je 0,47 mmol/l. Interval spolehlivosti průměru rozdílů nezahrnuje nulu, výsledky se od sebe systematicky liší. Z regresní rovnice plyne systematický posun k nižší hodnotě při měření glukometrem.
- Úspěšnost 95% výsledků požadovaná doporučením „Diabetes mellitus - laboratorní diagnostika a sledování stavu pacientů (2012)“ je pro hladiny < 5,6 mmol/l +/- 0,8 mmol/l a pro hladiny >5,6 mmol/l +/- 15%. **Celkově se do nastavených kritérií vešlo 98,1% všech naměřených výsledků.** Rozdělení podle odchylek od hodnot změřených hexokinázovou metodou je uvedeno v tabulce:

Do ±0,3 mmol/L	Do ± 0,55 mmol/L	Do ± 0,83 mmol/L
30/57 (52,6 %)	41/57 (71,9 %)	56/57 (98,2 %)

Do ±5 %	Do ± 10 %	Do ± 15 %
108/199 (54,3 %)	166/199 (83,4 %)	195/199 (98,0 %)

- Průměrný rozdíl mezi kapilární a žilní krví byl - 0,13 mmol/l (- 1,87%).
- Opakovatelnost byla stanovena na třech hladinách a pro nejnižší hladinu 3,23 mmol/l je CV 1,51% , pro střední 5,99 mmol/l je CV 2,14 % a pro nejvyšší hladinu 15,2 mmol/l je CV 1,15 %.
- Mezilehlá preciznost byla také stanovena na třech hladinách: pro nejnižší hladinu 2,6 mmol/l je CV 2,36% , pro střední 8,37 mmol/l je CV 1,33 % a pro nejvyšší hladinu 17,1 mmol/l je CV 1,33 %.
- Dodaný český návod k přístroji je vyhovující
- Dodaný český návod k testovacím proužkům je vyhovující

V Praze dne 1.9.2012



Prof. MUDr. Tomáš Zima, DrSc.
vedoucí Referenční laboratoře
MZ ČR pro klinickou biochemii
při ÚLBLD VFN a 1.LF UK