

**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 19.12.2012

Č.j. 7b/2012

Protokol o testování systému glukometr – měřící proužky Glukometr Glucocard X-mini plus

Žadatel o posouzení (objednavatel):

MEDISTA spol s r.o.,
Rosmarin Business Center,
Dělnická 12,
170 00 Praha 7
ČO: 60199865
DIČ: CZ60199865

Bankovní spojení: : 525 525 555 / 2700 UniCredit Bank
tel.: +420 241 444 668
fax: +420 241 445 980
e-mail glucocard@medista.cz

Předmět posouzení

Ověření výsledků měření hladiny glukózy v krvi POCT přístrojem Glucocard X-mini plus v porovnání s výsledky získanými ze stejného odběru srovnávací metodou stanovení glukózy v lidské plazmě hexokinázovou spektrofotometrickou metodou. Glukometr je určen pro domácí i ambulantní měření glykémie in vitro.

Přístroj: Glucocard X-mini plus

Výrobce: ARKRAY, Inc.
Kyoto Miyuki Bldg. 10F,
689 Takanna-cho, Nakagyo-ku, Kyoto
604-8153, JAPAN
<http://www.arkray.co.jp/english/>

Výrobní číslo: č.1: 1960S 2200357
 č.2: 1960R 2200331

Diagnostické proužky: Glucocard X-senzor
Velikost balení: 1 x 50 ks
Počet balení k testování: 16 x 50 ks (800 ks)

Číslo šarže: B12K301 Exsp: 04/2014
B12K305 Exsp: 04/2014

Výrobce:

ARKRAY, Inc.
Kyoto Miyuki Bldg. 10F,
689 Takanna-cho, Nakagyo-ku, Kyoto
604-8153, JAPAN

Distributor v ČR:

MEDISTA spol s r.o.,
Rosmarin Business Center,
Dělnická 12,
170 00 Praha 7

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 0,6 - 33,3 mmol/l.

Principem stanovení je elektrochemické měření za použití glukózadehydrogenázy (GDH) a hexaaminruthenium chloridu.

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, aby došlo k samovolnému poklesu hladiny glukózy – ven 0. 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 přidavku vodného roztoku glukózy je třeba vzorky minimálně půl hodiny opatrně promíchat, aby se krev nasýtila kyslíkem.

- b) Odběrové zkumavky Vacutainer Becton-Dickinson na 7 ml krve s Li-heparinátém
- 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

	Deklarace (mmol/l)	Číslo šarže	expirace
Lyphocek1	4,86	14411	30.4.2014
Lyphocek2	15,3	14412	30.4.2014
SONO1	5	123111	31.7.2013
Lyo N	5,27	108811/1	30.4.2013
LyoP	13,9	135211	30.5.2013

- e) Testovaný glukometr : **Glucocard X-mini plus**
Testované měřicí proužky: **Glucocard X-senzor**
- 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 exp. 2.1.2014

3. Provedení analýz a výsledky

3.1. Přesnost

Hodnota hematokritu se v používaných vzorcích pohybovala v rozmezí 35-55%. Vzhledem k tomu, že výrobce glukometru garantuje nezměněné výsledky pro hodnoty hematokritu v rozmezí 20 – 60%, 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 firmního návodu, který byl upraven pro použitý 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 sestavené 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. Odchyly v % jsou vypočítány vzhledem k deklarované hodnotě.

Kontrolní vyšetření		1.série	2.série	3. série	4. série
(mmol/l)	deklarace	změřeno	změřeno	změřeno	změřeno
SONO1	5	5,08	5,12	5,12	4,73
odchylka od HK metody (%)		-1,62	-2,30	-2,40	6,99
Lyo N	5,27	5,45	5,19	5,19	5,35
odchylka od HK metody (%)		-3,42	1,46	1,52	1,76
Lyo P	13,9	14,49	14,20	14,20	14,25
odchylka od HK metody (%)		-4,24	-2,15	-2,16	1,67
Lyphocek1	4,86	5,24	4,87	4,87	4,80
odchylka od HK metody (%)		-7,82	-0,12	-0,21	8,38
Lyphocek2	15,3	16,57	16,01	16,01	15,83
odchylka od HK metody (%)		-8,30	-4,61	-4,64	4,45

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 diference 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	vzorek	HK metoda	X-mini
1	ven0	1,35	1,15
4	ven0	1,3	1,38
1	ven2	2,04	1,7
2	ven0	3,05	2,35
3	ven0	3,05	2,35
2	ven0	3,35	2,95
3	ven0	3,35	3
3	ven0	3,75	3,2
1	ven0	3,89	3,35
3	ven0	3,94	3,45
3	ven1	4,32	3,5
2	ven1	4,32	3,6
3	ven0	4,17	3,65

2	ven7	4,47	3,65
2	ven0	3,94	3,7
2	ven0	4,17	3,75
2	ven0	3,75	3,8
3	ven7	4,47	3,8
3	ven1	4,17	3,85
1	ven4	4,15	4,01
4	ven3	4,67	4,05
1	ven0	4,23	4,1
4	ven0	4,75	4,1
4	ven3	4,55	4,1
2	ven7	5,05	4,25
3	ven7	5,05	4,3
4	ven2	4,67	4,45
2	ven1	5,17	4,5
4	ven0	4,86	4,5
1	ven0	5,36	4,9
4	ven0	4,63	4,95
2	ven0	5,76	5,05
4	ven0	6,19	5,2
4	ven1	5,93	5,2
1	ven1	5,96	5,25
1	ven0	6,16	5,35
1	ven0	5,11	5,5

Průměr rozdílů: - 0,69 mmol/l

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

série	vzorek	HK metoda	X-mini
3	ven0	6,5	5,74
1	ven6	6,99	5,75
4	ven1	6,88	6,6
4	ven2	6,72	6,6
4	ven4	9,03	7,75
1	ven4	7,25	8,15
3	ven2	7,5	8,38
2	ven2	9,74	8,45
1	ven2	9,85	8,76
1	ven3	10,47	9,05
1	ven3	10,2	9,06
3	ven1	8,83	9,1
1	ven4	8,35	9,60
4	ven2	9,65	9,9
4	ven0	9,60	10,65
1	ven5	12,45	10,9

1	ven3	13,34	11,5
3	ven3	13,53	11,55
2	ven5	13,20	11,75
1	ven1	13,15	11,78
2	ven2	12,81	12,1
3	ven3	12,35	12,1
2	ven4	14,45	12,55
2	ven4	15,23	12,6
3	ven4	14,45	12,8
3	ven4	15,23	13,1
2	ven3	14,63	13,2
4	ven4	14,47	13,45
1	ven5	15,81	13,75
2	ven3	16,35	13,75
3	ven2	12,9	14,18
2	ven4	13,91	14,45
1	ven1	15,55	14,73
4	ven1	16,35	14,86
1	ven7	15,05	15
2	ven7	18,03	15
3	ven4	13,91	15,15
3	ven7	18,03	15,45
3	ven3	14,84	15,55
4	ven5	16,53	15,75
1	ven6	19,54	15,9
4	ven4	15,00	16,25
2	ven3	14,84	17,2
1	ven5	17,65	17,35
1	ven2	20,50	19,05
4	ven3	17,7	19,14
3	ven5	19,3	19,24
2	ven6	19,68	19,45
1	ven7	21,07	19,55
3	ven6	19,68	19,9
3	ven6	21,57	20,45
2	ven6	21,57	20,95
4	ven6	24,66	21,05
3	ven5	20,78	21,5
2	ven5	20,78	21,65
2	ven1	21,75	21,92
4	ven5	20,07	22,2
4	ven7	26,81	22,45
4	ven5	22,71	24,2
4	ven6	26,53	24,95
4	ven6	26,48	25
3	ven7	23,3	25,11

2	ven7	27,25	25,63
4	ven7	30,47	27
4	ven7	29,67	27,45
2	ven6	27,48	27,6
1	ven6	26,92	28,25
2	ven5	28,23	28,95
3	ven5	28,23	29,15
3	ven6	27,48	29,35
1	ven7	36,08	33,2

Průměr rozdílů: -2,54 %

Úspěšnost 95% výsledků jak předpokládá doporučení „Diabetes mellitus - laboratorní diagnostika a sledování stavu pacientů (2012)“ : +/- 0,83 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 ±5 %	Do ± 10 %	Do ± 15 %
21/71 (29,6 %)	42/71 (59,2 %)	67/71 (94,4 %)

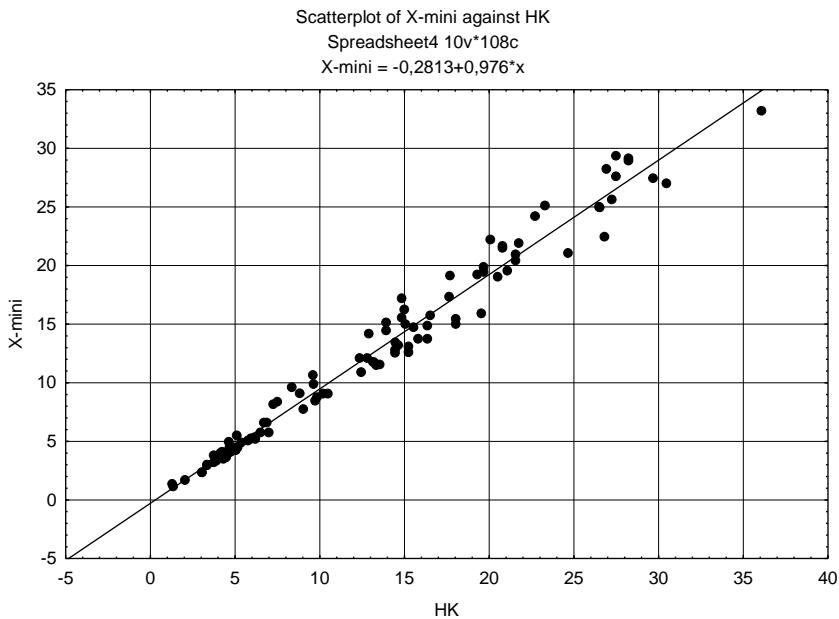
Do ±0,3 mmol/L	Do ± 0,55 mmol/L	Do ± 0,83 mmol/L
6/37 (16,2 %)	18/37 (48,6 %)	36/37 (97,3 %)

Korelace byla počítána ze 108 výsledků.

Korelační graf je uveden na obrázku č.1.

Výsledky byly zpracovány jako průměr z duplicitního stanovení vzorku.

Obrázek 1: Korelace stanovení glukózy hexokinázovou metodou a pomocí glukometru **Glucocard X-mini plus** :



Regresní rovnice závislosti mezi stanovením na glukometru Glucocard X-mini plus a hexokinázovou metodou (HK) je **HK = -0,2813 + 0,976*glukometr**

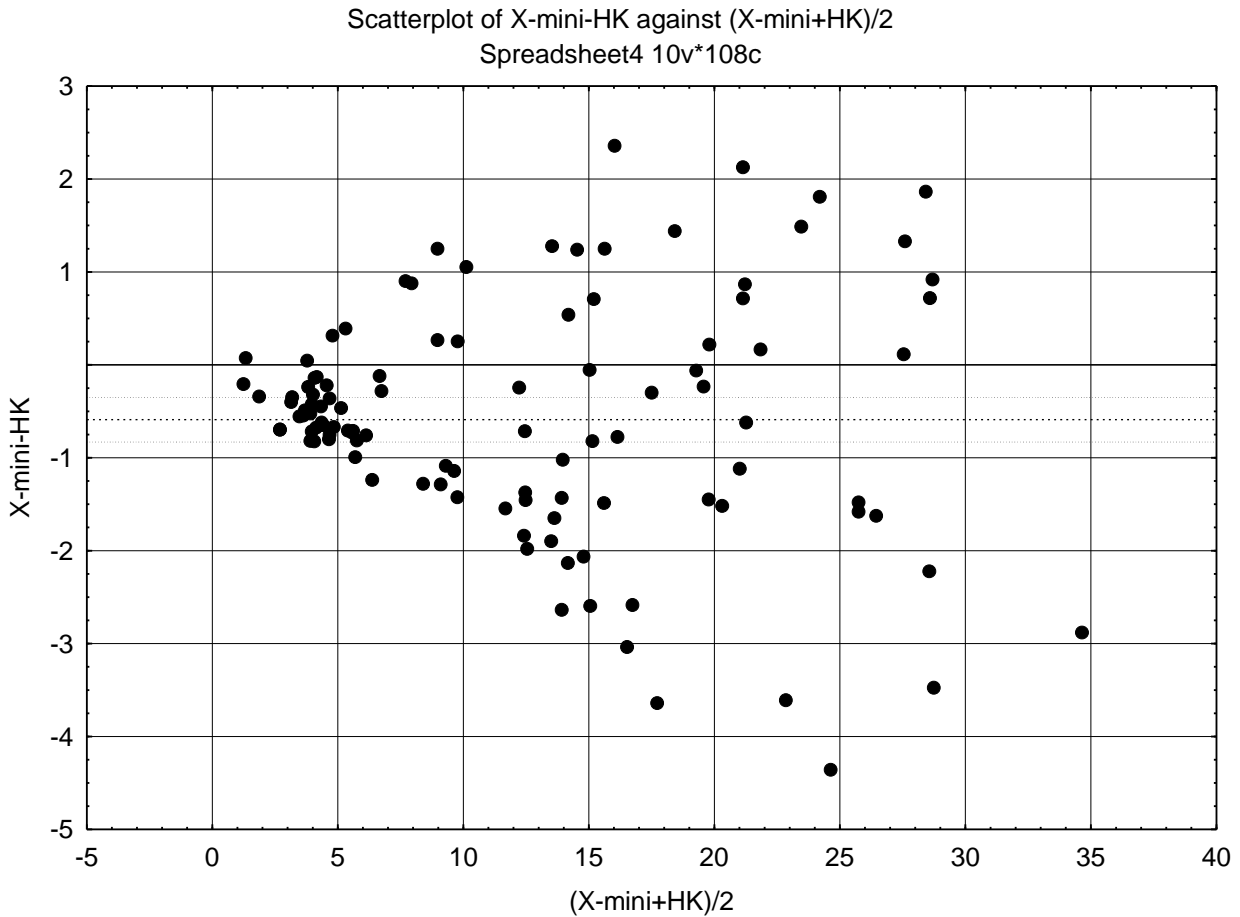
Rozdíly výsledků měření glukometrem a hexokinázovou metodou byly statisticky zpracovány a jsou uvedeny v tabulce č.7. Všechny výsledky byly zpracovány jako průměr z duplicitního stanovení vzorku.

Tab. 7: Průměrný rozdíl stanovení hexokinázovou metodou a glukometrem **Glucocard X-mini plus**

Počet vzorků	Průměrný rozdíl	Dolní mez intervalu spolehlivosti prům. rozdílu	Horní mez intervalu spolehlivosti prům. rozdílu	Minimum	Maximum
108	-0,588	-0,828	-0,348	-4,357	2,360

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

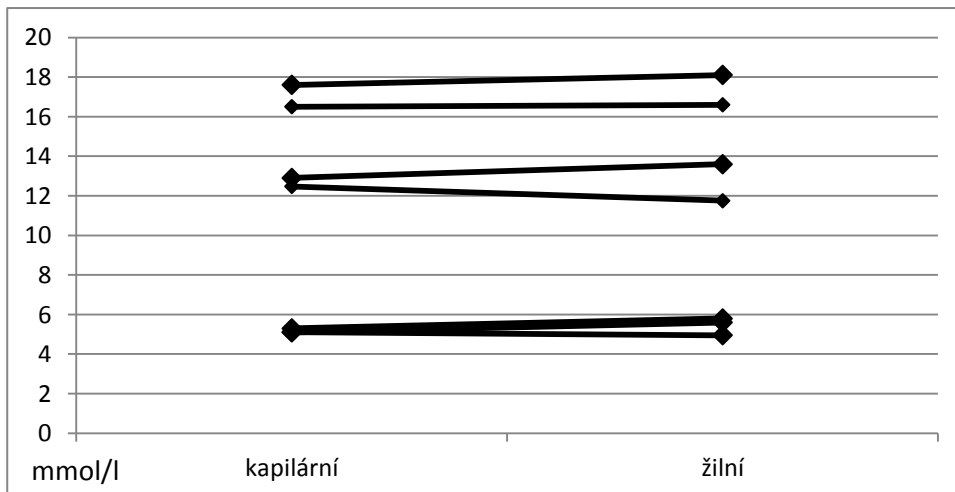
Obrázek 2: Rozdílový graf. Na ose x jsou vyneseny průměry rozdílů $(HK + \text{Glucocard X-mini plus})/2$, na ose y jsou rozdíly hladin $HK - \text{Glucocard X-mini plus}$. Plná čára zvýrazňuje polohu 0, přerušovaná čára vyznačuje průměrný rozdíl, tečkované čáry jsou hranice intervalu spolehlivosti průměrného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



3.2 Srovnatelnost výsledků získaných ze žilní a kapilární krve

U sedmi dobrovolníků bylo provedeno srovnání výsledků získaných měřením kapilární a žilní krve z odběru v jednom čase. Průměrný rozdíl mezi **kapilární a žilní krví** byl **0,21 mmol/l (2,4%)**. 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 v několika sériích měření neupravené Li-heparinátové venózní krve s různou hladinou glukózy. Stanovení bylo prováděno na obou dodaných glukometrech, na jednom ve třech sériích, na druhém pouze ve dvou sériích. Výsledky jsou uvedeny v tabulce č.8.

Tab. 8: Opakovatelnost (mmol/l)

1960R2200331				1960S2200357		
	1.hladina	2.hladina	3.hladina		1.hladina	2.hladina
1	3	11,8	13,7	1	5	12,8
2	3,2	12	14	2	5,5	12,4
3	3,4	12,2	13,3	3	5,4	12
4	3,4	12,4	13,8	4	5,4	11,9
5	3,4	12	14	5	4,8	12
6	3,1	11,8	14,5	6	4,9	12,5
7	3,1	11,7	13,7	7	4,9	12
8	3	11,9	13,9	8	5	12,5
9	3	12	14,3	9	5,4	12,1
10	3,2	12,6	13,9	10	5	11,8
11	2,9	12	13,6	11	5,1	12,6
12	3,4	11,8	13,6	12	5,5	12,3
13	3,4	12	14,7	13	4,8	12,8
14	3	12,1	14	14	4,9	12
15	3,3	11,8	14,3	15	5	12,1
průměr	3,19	12,01	13,95	průměr	5,11	12,25
SD	0,18	0,24	0,37	SD	0,26	0,33
CV %	5,79	2,03	2,67	CV %	5,04	2,67

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

3.3.2 Mezilehlá preciznost

Mezilehlá preciznost byla na testovaném glukometru stanovena v pěti dnech měření kontrolního materiálu Lyonorm P (č.š. 135211, exsp.31.5.2013) a Lyonorm N (č.š. 108811, exsp.30.4.2013) a materiálu použitého firmou SEKK Pardubice ke kontrole glukózy měřené systémy POCT v cyklu GLC 2/12. 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 %
Lyonorm N	6,7	6,6	7	6,9	6,8	6,8	0,16	2,33
Lyonorm P	21,25	21,35	21,65	21,95	21,8	21,6	0,3	1,37
SEKK "A"	13,7	14,35	13,3	13,65	14,25	13,85	0,44	3,18

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

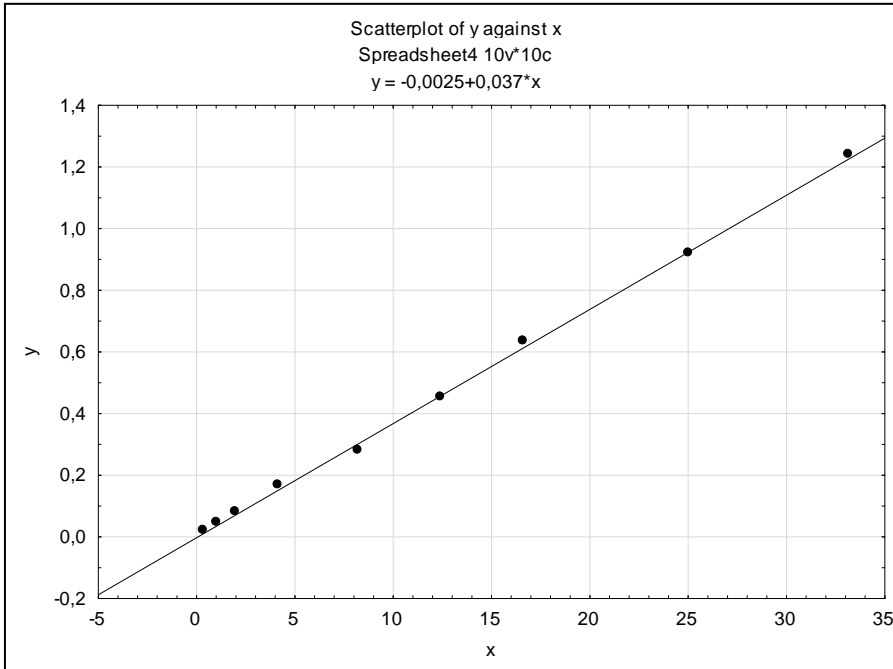
Protokol vypracovala a schválila: Ing. Drahomíra Springer, Ph.D.

springer@vfn.cz

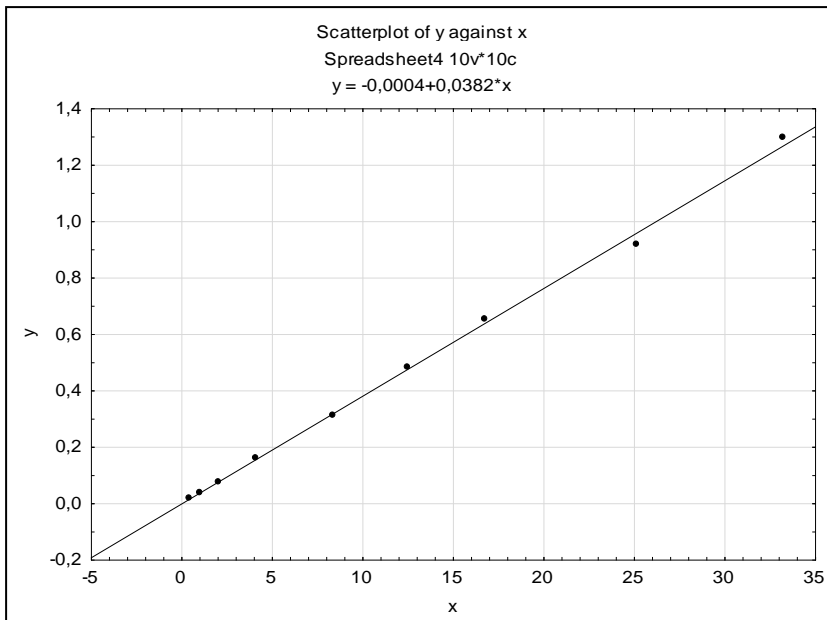
V Praze dne 18.12.2012

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

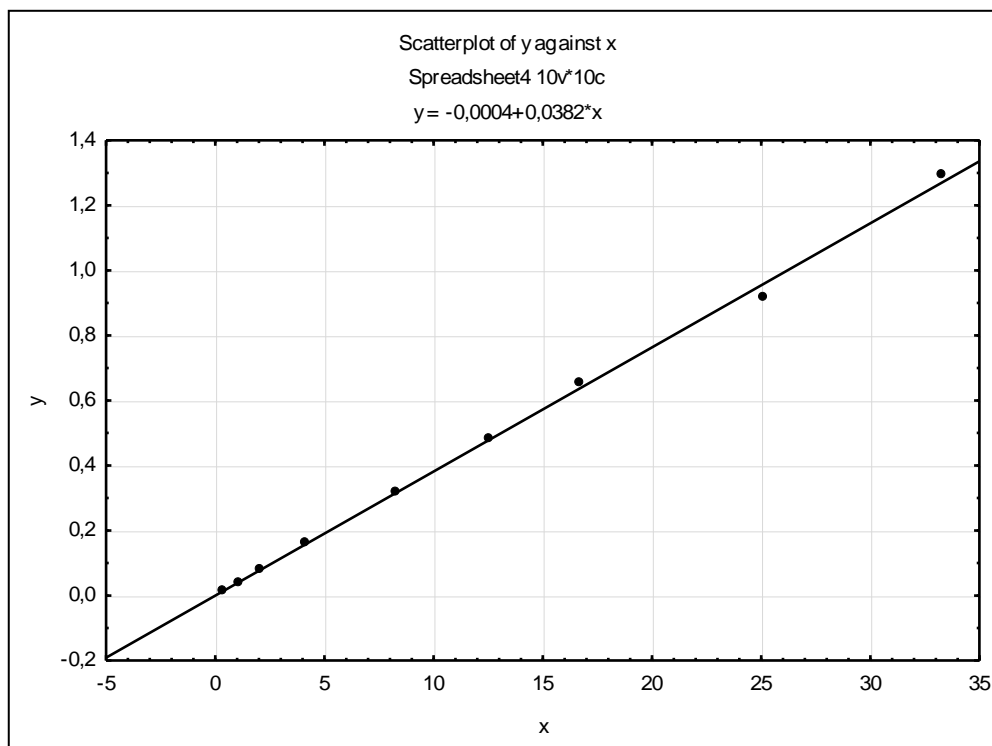
Kalibrační křivka použitá při testování 1. série



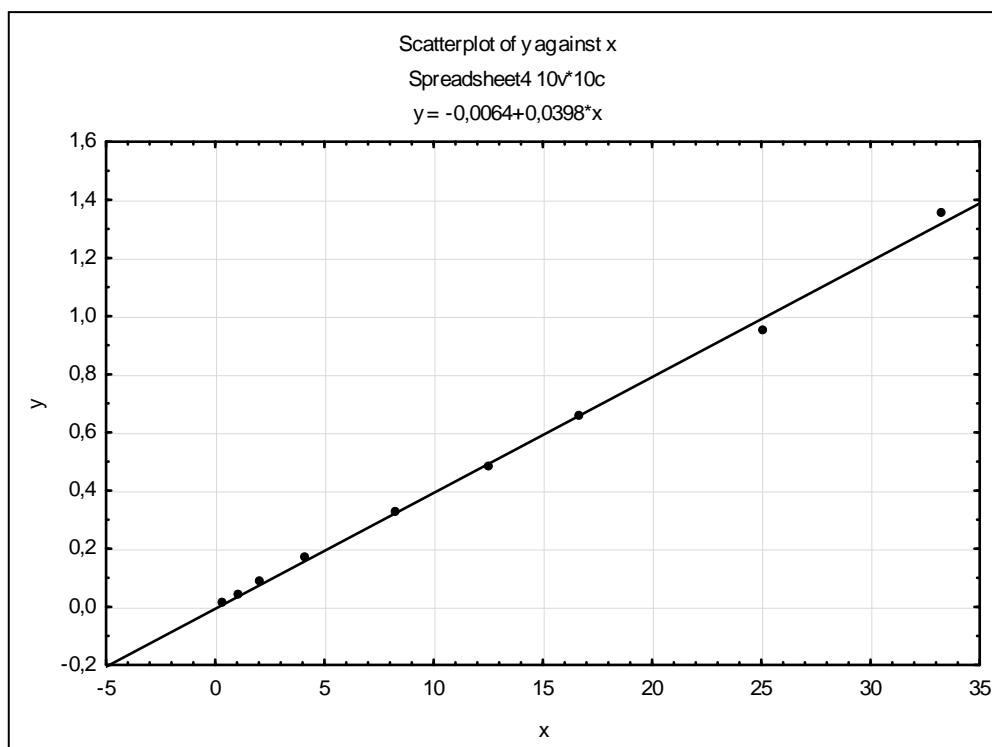
Kalibrační křivka použitá při testování 2. série



Kalibrační křivka použitá při testování 3. série



Kalibrační křivka použitá při testování 4. série



Testování systému glukometr – testovací proužky GLUCOCARD X-MINI PLUS protokol č.j. 7b/2012

Souhrn výsledků

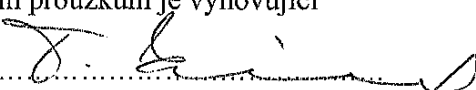
- Testování glukometru bylo provedeno akreditovaným postupem dle SOP-ULBLD-RL-GLU2 s návazností na akreditovanou metodu stanovení glukózy dle SOP-ULBLD-RL-GLU1.
- Závislost výsledků na teplotě a na hodnotě hematokritu nebyla testována, stejně jako případné interference.
- Nejvyšší hodnota naměřená glukometrem byla 33,2 mmol/l, odpovídající hladina v plazmě měřená hexokinázovou metodou byla 36,1 mmol/l
Nejnižší hodnota naměřená glukometrem byla 1,2 mmol/l, odpovídající hladina v plazmě měřená hexokinázovou metodou byla 1,35 mmol/l
- Výsledky získané glukometrem byly v průměru nižší o 0,69 mmol/l pro hladiny <5,6 mmol/l a o 2,52% nižší oproti výsledkům z plazmy pro hladiny vyšší než 5,6 mmol/l.
- Průměrný rozdíl výsledků je -0,59 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 95,8% všech naměřených výsledků.** Rozdělení podle odchylek od hodnot změřených hexokinázovou metodou je uvedeno v tabulce:

Do ± 5 %	Do ± 10 %	Do ± 15 %
21/71 (29,6 %)	42/71 (59,2 %)	67/71 (94,4 %)

Do ± 0,3 mmol/L	Do ± 0,55 mmol/L	Do ± 0,83 mmol/L
6/37 (16,2 %)	18/37 (48,6 %)	36/37 (97,3 %)

- Průměrný rozdíl mezi kapilární a žilní krví byl 0,21 mmol/l (2,4%).
- Opakovatelnost byla stanovena na třech hladinách dvěma glukometry. Pro nejnižší hladiny 3,3 mmol/l je CV 5,79% a pro 5,1 mmol/l je CV 5,04% , pro hladinu 12,1 mmol/l je CV 2,03 – 2,67 % a pro hladinu 13,9 mmol/l je CV 2,67 %.
- Mezilehlá preciznost byla stanovena na třech hladinách v pěti dnech: pro nejnižší hladinu 6,8 mmol/l je CV 2,33% , pro střední 13,8 mmol/l je CV 1,37 % a pro nejvyšší hladinu 21,6 mmol/l je CV 3,18 %.
- Dodaný český návod k přístroji je vyhovující
- Dodaný český návod k testovacím proužkům je vyhovující

V Praze dne 18.12.2012


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

Prohlášení laboratoře: Protokol o zkoušce nesmí být bez písemného souhlasu laboratoře reprodukován jinak než celý.