

**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 24.1.2014

Č.j. 1/2014

Protokol o testování systému glukometr – měřící proužky Glukometr Contour PLUS

Žadatel o posouzení (objednavatel):

PROMEDICA Praha Group a.s.
Novodvorská 1800/136
142 00 Praha 4
IČO 25099019
DIČ: CZ 25099019

tel. +420 221 595 111
bankovní spojení ČSOB a.s. č.ú. 000166-0800060853/0300
e-mail renc@promedica-praha.com

Předmět posouzení

Ověření výsledků měření hladiny glukózy v krvi POCT přístrojem **Contour PLUS** 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. Při klinickém využití je možné použít i čerstvou venózní plnou krev.

Přístroj: Contour PLUS

Výrobce: BAYER HealthCare, Diabetes Care
555 White Plains Road
Tarrytown NY 10591
USA

Výrobní číslo: č.1: SN 1113286 7600P
č.2: SN 1113029 7600P

Diagnostické proužky: Contour PLUS

Velikost balení: 1x50 ks
Počet balení k testování: 10 x 50 ks (500 ks)
Číslo šarže: DP3CLHCO1B
Exspirace: 03/2015
Velikost balení: 1x10 ks
Počet balení k testování: 2 x 10 ks (20 ks)

Číslo šarže: DP3CLHC71C

Expirace: 03/2015

Výrobce: Bayer Consumer Care AG
Peter Merian Str. 84
4052 Basel
Switzerland

Distributor v PROMEDICA Praha Group a.s.
Novodvorská 1800/136
142 00 Praha 4

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. Při klinickém využití je možné použít i čerstvou venózní plnou krev.

Rozmezí měřitelnosti hladin glukózy je výrobcem stanoveno na 0,6 - 33,3mmol/l.

Principem stanovení je elektrochemické měření za použití flavinadenindinukleotid (FAD) dependentní glukózadehydrogenázy (FAD-GDH) v prostředí kynoželezitanu draselného.

2. Materiál

a) Venózní krev (antikoagulans Li-heparinát) 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 Přidavky vodného roztoku glukózy k testované krvi

počet vzorků	přídavek 7% vodného roztoku glukózy v μ l	Označení vzorku při analýze
6	50 μ l	Ven1
4	100 μ l	Ven2
2	150 μ l	Ven3
1	200 μ l	Ven4

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 promíchávat, aby se krev nasytila kyslíkem.

- b) Odběrové zkumavky Vacutainer Becton-Dickinson na 7 ml krve s Li-heparinátem
- 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
Lyphocek 1	4,64	14431	6/2015
Lyphocek 2	15,3	14432	6/2015
SONO1	5,0	135312	9/2014
Lyo N	5,2	148212	10/2014
LyoP	13,9	129912	5/2014

- e) Testovaný glukometr : **Contour PLUS**
 f) Testované měřicí proužky: **Contour PLUS**
 g) **Spektrofotometrický analyzátor Viva -E** (Siemens), výr. č. 6-7335
 h) Diagnostická souprava pro stanovení glukózy Beckman Coulter Glucose, OSR 6121, 4x25 ml + 4x12,5 ml, č.šarže 4280, expirace 02/2015

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 **0 -70 %** 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 přídatkem i bez přídatku glukózy) pak byly odstředěny a v plazmě byla stanovena glukóza spektrofotometricky hexokinázovou metodou postupem dle návodu výrobce,

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 Viva -E (Siemens)

Kalibrační závislosti byly stanoveny softwarem analyzátoru a první den překontrolovány výpočtem pomocí statistického programu Statistica 11.0 a to metodou lineární regrese s přímkovým modelem metodou nejmenších čtverců.

Každá série měření byla provedena v jiném dni.

Časový rozdíl mezi stanovením na glukometru a srovnávací metodou pro kterýkoliv vzorek krve nebyl delší než 60 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)	deklarace	změřeno	změřeno	změřeno	změřeno
SONO1	5	5,399	5,40	5,42	5,38
odchytky od deklarace (%)		-7,98	-7,99	-8,40	-7,60
Lyo N	5,2	5,22	5,28	5,01	4,71
odchytky od deklarace (%)		-0,38	-1,54	3,73	9,42
Lyo P	13,9	14,16	13,70	12,72	14,07
odchytky od deklarace (%)		-1,87	1,44	8,49	-1,22
Lyphochek1	4,64	5,01	4,70	4,80	4,75
odchytky od deklarace (%)		-7,97	-1,21	-3,34	-2,37
Lyphochek2	15,3	15,76	15,55	15,54	15,57
odchytky od deklarace (%)		-3,01	-1,63	-1,57	-1,76

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:

± 0,83 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	glukometr	glukometr-HK
4	ven0	1,27	1,50	0,23
3	ven0	1,33	1,80	0,47
2	ven0	1,49	1,90	0,41
1	ven0	1,56	1,40	-0,16
4	ven0	1,63	1,90	0,27
3	ven0	1,74	1,95	0,21
2	ven0	1,75	2,20	0,45
4	ven0	1,89	2,15	0,26
1	ven0	1,99	1,85	-0,14
1	ven0	2,14	2,10	-0,04
3	ven0	2,23	2,25	0,02
2	ven0	2,53	2,85	0,32
4	ven1	2,90	3,15	0,25
4	ven1	3,80	4,05	0,25
4	ven1	3,85	4,25	0,40
4	ven1	3,91	4,05	0,14
4	ven1	3,93	4,00	0,07
3	ven1	3,96	4,15	0,19
1	ven1	4,28	3,80	-0,48
2	ven1	4,28	4,60	0,32
1	ven1	4,29	3,85	-0,44
3	ven1	4,33	4,30	-0,03
1	ven1	4,34	3,85	-0,49
1	ven1	4,36	3,90	-0,46
1	ven1	4,36	4,05	-0,31
1	ven1	4,47	4,00	-0,47
2	ven1	4,61	4,75	0,14
2	ven1	4,70	5,15	0,45
2	ven1	4,77	5,05	0,28
1	ven1	4,78	4,45	-0,33
1	ven1	4,81	4,65	-0,15
2	ven1	4,86	5,05	0,19
1	ven1	4,86	4,15	-0,71
2	ven1	5,18	5,15	-0,03
1	ven1	5,21	4,80	-0,41
4	ven1	5,23	5,40	0,17
3	ven1	5,29	5,20	-0,09

Průměr rozdílů: -0,20 mmol/l

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

série	typ vzorku	HK metoda	glukometr	rozdíl v %
4	ven1	5,65	5,55	-1,71
2	ven1	5,68	5,50	-3,23
3	ven1	5,82	6,20	6,18
2	ven1	5,85	5,95	1,61
3	ven1	6,04	6,00	-0,67
3	ven1	6,22	6,25	0,41
2	ven1	6,46	6,65	2,83
3	ven1	6,87	6,70	-2,54
4	ven1	7,17	7,15	-0,29
2	ven1	7,20	7,25	0,74
3	ven1	7,54	7,25	-4,00
1	ven2	7,64	6,65	-14,92
3	ven1	8,00	7,60	-5,20
4	ven1	8,17	8,05	-1,46
4	ven1	8,24	8,15	-1,10
1	ven2	8,28	7,30	-13,49
2	ven2	9,23	9,45	2,29
1	ven2	9,32	8,25	-12,97
2	ven2	9,60	9,60	0,05
4	ven2	9,61	9,15	-5,07
4	ven2	9,88	8,75	-12,95
3	ven2	10,00	9,60	-4,15
1	ven2	10,21	9,40	-8,65
2	ven2	10,90	10,45	-4,28
4	ven2	10,95	11,10	1,37
4	ven2	10,96	10,25	-6,89
1	ven3	11,36	10,15	-11,89
3	ven2	11,82	10,55	-12,05
3	ven1	12,29	11,55	-6,41
4	ven2	12,79	12,35	-3,55
4	ven3	13,16	12,55	-4,84
2	ven2	13,37	13,25	-0,90
1	ven3	13,96	12,25	-13,92
1	ven2	14,21	13,05	-8,87
3	ven3	14,46	13,60	-6,29
4	ven3	14,56	13,45	-8,22
3	ven3	14,84	13,85	-7,12
1	ven2	14,88	13,05	-14,03
4	ven2	15,08	14,85	-1,54
2	ven2	15,09	15,20	0,73
2	ven3	15,35	14,20	-8,09
4	ven3	15,77	14,15	-11,44
2	ven2	15,95	15,15	-5,30
2	ven3	16,06	16,50	2,68
1	ven3	16,25	14,30	-13,66
2	ven3	16,43	16,30	-0,80
1	ven4	16,54	13,10	-26,28
1	ven3	16,92	14,80	-14,32
2	ven3	18,36	16,85	-8,99
3	ven2	18,44	17,00	-8,49

3	ven2	18,59	17,80	-4,45
4	ven4	18,97	17,50	-8,41
1	ven4	19,79	17,55	-12,76
3	ven2	21,26	20,65	-2,96
4	ven5	21,29	19,80	-7,53
4	ven4	21,74	19,50	-11,48
3	ven3	22,19	20,50	-8,24
3	ven2	23,34	21,75	-7,29
2	ven4	23,47	21,35	-9,94
2	ven4	23,63	22,55	-4,81
1	ven5	24,09	20,70	-16,38
1	ven5	25,29	23,50	-7,60
3	ven3	27,17	26,45	-2,72
2	ven5	27,90	26,70	-4,49
3	ven5	31,14	30,65	-1,59
3	ven4	32,70	30,85	-6,00
4	ven5	33,68	30,30	-11,17

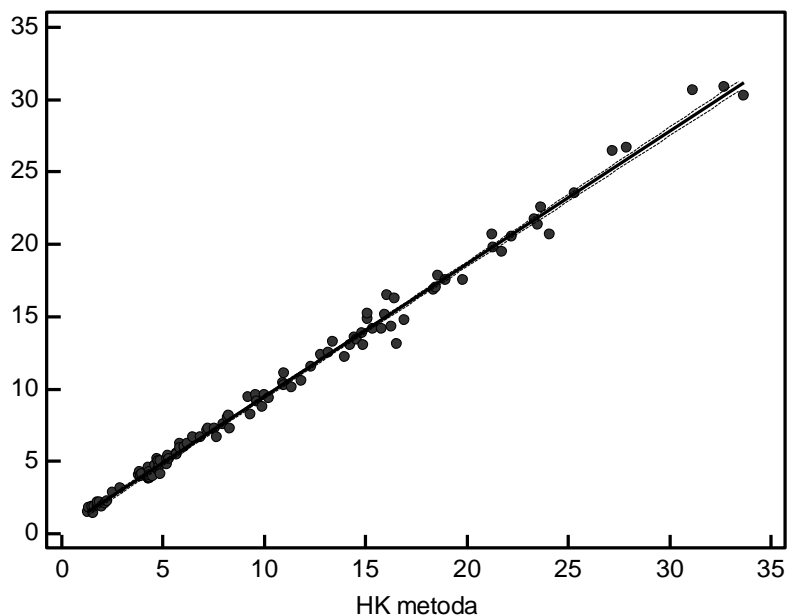
Průměr rozdílů: -6,1 %

Korelace byla počítána ze 105 vzorků.

Regressní rovnice: $\text{Contour} = 0,3047 + 0,9175 \text{ HK}$

Korelační graf je uveden na obrázku č.1

Obrázek 1: Korelace stanovení glukózy hexokinázovou metodou a pomocí glukometru Contour Plus při zpracování Passing Bablockovým grafem:



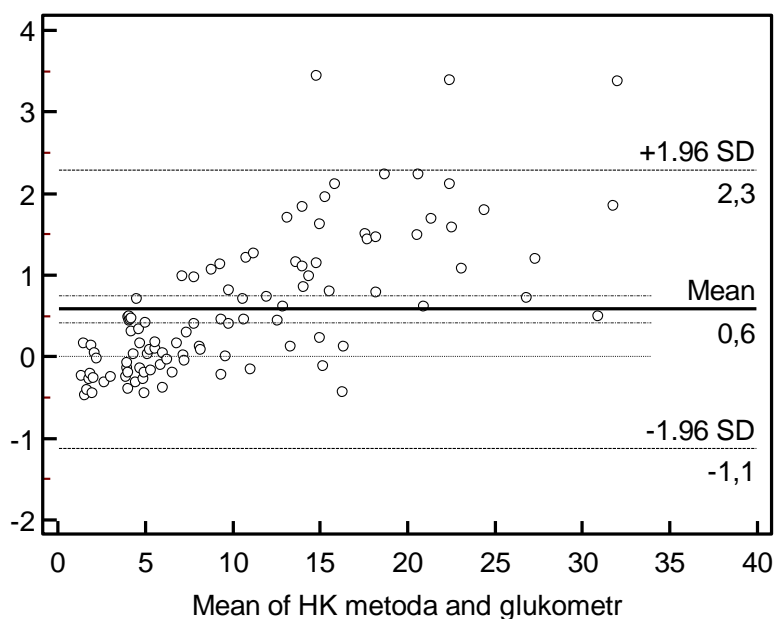
Rozdíly výsledků měření glukometrem a hexokinázovou metodou byly statisticky zpracovány a jsou uvedeny v tabulce č.6

Tab. 6: Průměrný rozdíl stanovení hexokinázovou metodou a glukometrem Contour Plus:

Počet vzorků	Průměrný rozdíl	Dolní mez intervalu spolehlivosti prům. rozdílu	Horní mez intervalu spolehlivosti prům. rozdílu	Sm.odch.
105	-0,629	0,145	0,374	0,987

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

Obrázek 2: Rozdílový graf Bland Altman. Na ose x jsou vyneseny průměry výsledků (HK+ Contour Plus)/2, na ose y jsou rozdíly hladin HK- Contour Plus. Modrá čára zvýrazňuje průměrný rozdíl, čárkované čáry jsou hranice intervalu spolehlivosti průměrného rozdílu.



3.2 Opakovatelnost

3.2.1 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 ve dvou sériích.

Výsledky jsou uvedeny v tabulce č.7.

Tab. 7: Opakovatelnost (mmol/l)

výr č. SN11132867600P

	1.hladina	2.hladina
1	12,6	3,9
2	13,3	3,6
3	12,9	3,6
4	12,7	4,1
5	12,6	3,7
6	12,8	3,9
7	12,7	3,9
8	12,7	3,8
9	12,7	3,8
10	12,6	3,7
průměr	12,8	3,8
SD	0,21	0,16
CV %	1,66	4,11

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

3.2.2 Mezilehlá preciznost

Mezilehlá preciznost měření byla na testovaném glukometru stanovena v pěti dnech měření kontrolního materiálu používaného firmou SEKK Pardubice ke kontrole glukózy měřené systémy POCT. Výsledky jsou uvedeny v tabulce č.8.

Tab. 8: Mezilehlá preciznost (mmol/l)

1.měření	1.den	2.den	3.den	4.den	5.den	průměr	SD	CV %
Lyonorm N	4,9	5	4,6	4,6	4,4	4,7	0,25	5,211
Lyonorm P	12,4	12,2	12,9	12,6	12	12,42	0,35	2,81
SEKK GLC2/13	8,9	8,6	7,4	8,2	9	8,42	0,65	7,72

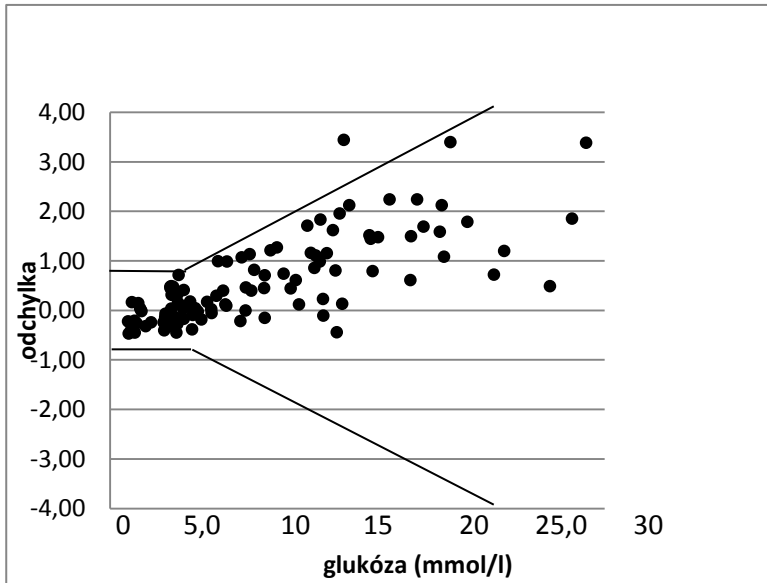
3.2.3 Správnost

Rozdělení podle odchylek od hodnot změřených hexokinázovou metodou je uvedeno v tabulce:

Do ± 5 %	Do ± 10 %	Do ± 15 %
30/67 (44,8 %)	51/67 (76,1 %)	65/67 (97,0 %)

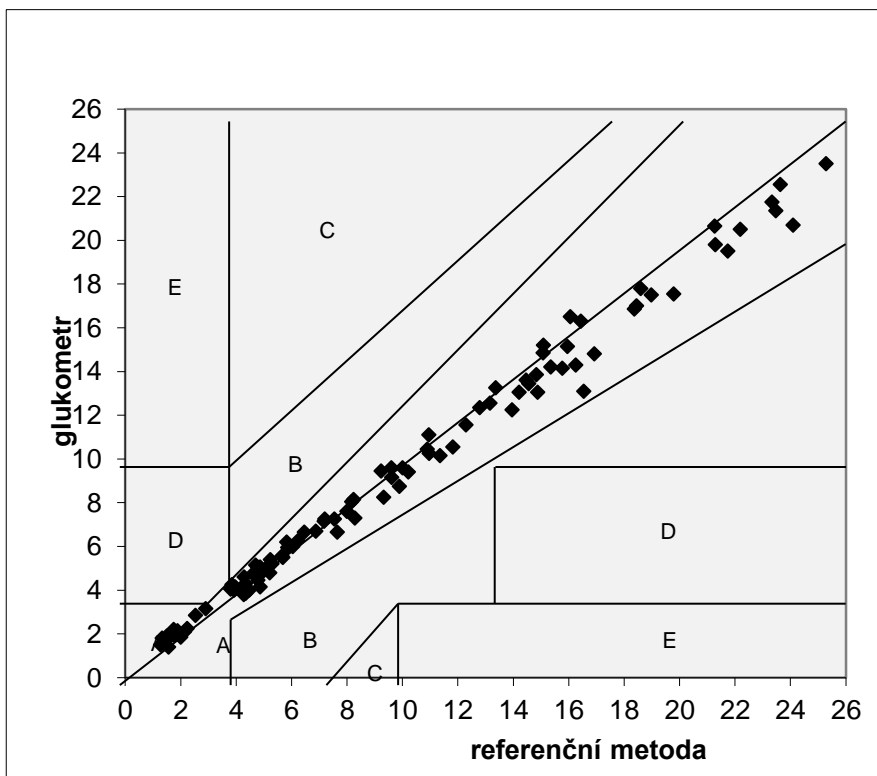
Do ±0,3 mmol/L	Do ± 0,55 mmol/L	Do ± 0,83 mmol/L
22/37 (59,5 %)	36/37 (37,3 %)	37/37(100,0 %)

Obrázek č.4: Odchylka výsledku získaného glukometrem od hodnoty naměřené hexokinázovou metodou s vyznačenými liniemi povolených odchylek dle normy 15197:2013



Dle normy ISO 15197:2013 se srovnávané výsledky mají nacházet z 99% uvnitř zóny A na následujícím grafu u glukometrů, které jsou používány ke sledování pacientů s diabetem 1. nebo 2. typu.

Obrázek č. 5: Diagram s povolenou chybovou sítí v mmol/l



Provedla Referenční laboratoř 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 10.1.2014

Testování systému glukometr – testovací proužky systém Contour PLUS

Závěr k protokolu č.j. 1/2014

- a) Testování glukometru bylo provedeno akreditovaným postupem dle SOP-ULBLD-RL-GLU2 s návazností na akreditovanou metodu stanovení glukózy dle SOP-ULBLD-RL-GLU1.
- b) Závislost výsledků na teplotě a na hodnotě hematokritu nebyla testována, stejně jako případné interference.
- c) Nejvyšší hodnota naměřená glukometrem byla 30,3 mmol/l, odpovídající hladina v plazmě měřená hexokinázovou metodou byla 33,7 mmol/l
Nejnižší hodnota naměřená glukometrem byla 1,5 mmol/l, odpovídající hladina v plazmě měřená hexokinázovou metodou byla 1,27 mmol/l
- d) Výsledky získané glukometrem byly v průměru nižší o 0,20 mmol/l pro hladiny <5,6 mmol/l a o 6,1% nižší oproti výsledkům z plazmy pro hladiny vyšší než 5,6 mmol/l.
- e) Průměrný rozdíl výsledků je -0,63 mmol/l. Z regresní rovnice plyne systematický posun k vyšší hodnotě při měření glukometrem, ale při hodnocení nižších výsledků je to posun spíše k nižším naměřeným hladinám.
- f) Úspěšnost 95% výsledků požadovaná doporučením „Diabetes mellitus - laboratorní diagnostika a sledování stavu pacientů (2012)“ je pro hladiny < 5,6 mmol/l +/- 0,83 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:

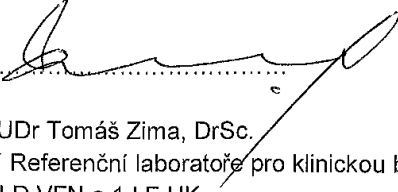
g)

Do ± 5 %	Do ± 10 %	Do ± 15 %
30/67 (44,8 %)	51/67 (76,1 %)	65/67 (97,0 %)

Do $\pm 0,3$ mmol/L	Do $\pm 0,55$ mmol/L	Do $\pm 0,83$ mmol/L
22/37 (59,5 %)	36/37 (37,3 %)	37/37 (100,0 %)

- h) Opakovatelnost byla stanovena na dvou hladinách. Pro hladinu 3,8 mmol/l je CV 4,11 %, a pro hladinu 12,8 mmol/l je CV 1,66 %.
- i) Mezilehlá preciznost byla stanovena na třech hladinách v pěti dnech: pro nejnižší hladinu 4,7 mmol/l je CV 5,2 %, pro střední 8,42 mmol/l je CV 7,72 % a pro nejvyšší hladinu 12,4 mmol/l je CV 2,81 %.
- j) Dodaný český návod k přístroji je vyhovující
- k) Dodaný český návod k testovacím proužkům je vyhovující

V Praze dne 30.1.2014


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

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