

**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 10.12.2014

Č.j. 5/2014

**Protokol o testování systému glukometr – měřící proužky
Glukometr GluNeo
2. testování**

Žadatel o posouzení (objednavatel):

Novatin s.r.o.
V Sadech 15/4
160 00 Praha 6
IČO: 27930815
DIČ: CZ 27930815

tel. +420 602 657 341

e-mail:karel.pesl@novatin.cz

Předmět posouzení

Ověření výsledků měření hladiny glukózy v krvi POCT přístrojem **GluNeo** 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. Pro měření glykémie je možné použít kapilární i čerstvou venózní plnou krev.

Přístroj: GluNeo

Výrobce: Infopia Co. Ltd.

132,Anyangcheondong-ro

Dongan-gu

Anyang-si

Gyeonggi-do

Republic of Korea

Výrobní číslo: č.1: G101B14 E1901083

č.2: G101B14 E1901084

Diagnostické proužky:

GluNeo

Velikost balení: 2x25 ks

Počet balení k testování: 5 x 50 ks (250 ks)

Číslo šarže: X14D17-5B1

X14D19-5B1

Kód č. 9

Expirace: 04/2016

Výrobce: Infopia Co. Ltd.
891, Hogye-Dong
Dongan-gu
Anyang
Kyunggi
831-080 Korea

Distributor: **Novatin s.r.o.**

V Sadech 15/4
160 00 Praha 6

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 odběr z alternativních míst. V návodu ke glukometru je uvedena i možnost použití venózní krve při klinickém testování.

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

Principem stanovení je elektrochemické měření za použití glukózadehydrogenázy (GDH-FAD).

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. 10 vzorků se použije 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 Přidávky vodného roztoku glukózy k testované krvi

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

Poslední 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
Lyphochek 1	4,64	14431	6/15
Lyphochek 2	15,30	14432	6/15
SONO1	5,00	107814	3/15
Lyo N	5,16	1306132	3/15
LyoP	14,00	1307131	3/15

- e) Testovaný glukometr : **GluNeo**
- f) Testované měřicí proužky: **GluNeo, kód 9**

- 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 5983, expirace 03/2016

3. Provedení analýz a výsledky

3.1. Přesnost

Hodnota hematokritu se v používaných vzorcích pohybovala v rozmezí 35-55 %. Kontrola byla provedena v databázi hematologických výsledků podle rodných čísel z informovaného souhlasu. Vzhledem k tomu, že výrobce glukometru garantuje nezměněné výsledky pro hodnoty hematokritu v rozmezí **20 -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 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.

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. Všechny výsledky se od deklarovaných hodnot nelišily více než je přípustná odchylka a je možné považovat použitou hexokinázovou metodu za vhodnou ke srovnání naměřených hladin glukózy.

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	5,00	5,38	5,42	5,22	5,58
odchylka od deklarace (%)		-7,55	-8,40	-4,44	-11,58
Lyo N	5,16	5,34	5,25	5,23	5,32
odchylka od deklarace (%)		-3,49	-1,83	-1,26	-3,04
Lyo P	14,00	14,35	14,25	14,07	14,65
odchylka od deklarace (%)		-2,48	-1,77	-0,52	-4,66
Lyphochek1	4,64	4,81	4,77	4,66	5,43
odchylka od deklarace (%)		-3,72	-2,90	-0,40	-16,96
Lyphochek2	15,30	15,30	15,30	15,51	15,81
odchylka od deklarace (%)		0,00	0,00	-1,37	-3,32

Ve vzorcích Li-heparinátové žilní krve upravené přídavkem 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 přídavku glukózy inkubovaná 24 h při 4st.C

ven 0 - venózní krev bez přídavku 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:

$\pm 0,83$ 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	vzorek	HK metoda	glukometr	glukometr-HK
3	ven0	1,81	2,05	0,24
3	ven0	1,88	2,3	0,42
2	ven0	1,95	1,5	-0,45
2	ven0	2,35	1,75	-0,60
2	ven0	2,48	2,1	-0,38
3	ven0	2,66	2,7	0,04
3	ven1	2,68	3,1	0,42
4	ven0	3,00	2,9	-0,10
3	ven1	3,14	3,1	-0,04
1	ven0	3,63	2,9	-0,73
4	ven0	3,65	3,9	0,25
4	ven0	3,75	3,9	0,16
3	ven1	3,88	3,85	-0,03
4	ven1	3,91	4,15	0,24
1	ven0	4,07	3,35	-0,72
2	ven1	4,43	3,6	-0,83
3	ven1	4,46	4,6	0,14
1	ven0	4,54	4,05	-0,49
4	ven1	4,54	4,55	0,01
2	ven1	4,57	4,35	-0,22
3	ven1	4,62	4,75	0,13
1	ven1	4,73	4	-0,73
3	ven1	4,76	4,75	-0,01
2	ven1	4,87	4,05	-0,82
1	ven1	4,90	4,15	-0,75

2	ven1	4,91	4,4	-0,51
1	ven1	5,06	4,3	-0,76
1	ven1	5,07	4,45	-0,62
3	ven1	5,08	5,4	0,32
4	ven1	5,15	5,3	0,15
2	ven1	5,16	5,1	-0,06
4	ven1	5,21	5,1	-0,11
3	ven1	5,24	5,85	0,61
4	ven1	5,24	5	-0,24
1	ven1	5,26	4,7	-0,56
2	ven1	5,30	4,55	-0,75
2	ven1	5,33	5,6	0,27
4	ven1	5,45	5,1	-0,35
4	ven1	5,46	5,1	-0,36
1	ven1	5,47	4,85	-0,62
1	ven1	5,51	4,65	-0,86
2	ven1	5,53	5,85	0,32
1	ven1	5,55	4,5	-1,05

Průměr rozdílů: - 0,23 mmol/l

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

série	vzorek	HK metoda	glukometr	rozdíl v %
3	ven1	5,79	5,65	-2,44
2	ven1	6,14	5,75	-6,82
4	ven1	6,15	6,45	4,60
4	ven1	6,17	6,2	0,52
2	ven1	6,25	6,3	0,79
4	ven1	6,62	7,3	9,30
2	ven2	6,64	6,1	-8,83
3	ven1	6,80	7,1	4,21
3	ven2	6,83	6,95	1,78
1	ven1	6,92	5,45	-27,01
4	ven2	7,07	6,65	-6,26
4	ven2	7,39	7,9	6,51
1	ven1	7,95	6,45	-23,25
4	ven2	8,31	7,75	-7,27
4	ven2	8,42	8,7	3,26

4	ven2	8,45	7,9	-7,01
4	ven2	8,60	7,6	-13,16
3	ven2	8,86	9	1,54
2	ven2	8,89	8,65	-2,83
2	ven2	9,11	8,55	-2,84
4	ven2	9,16	8,5	-7,71
2	ven2	9,45	8,55	-10,49
3	ven2	9,58	9,7	1,28
2	ven2	9,88	9,3	-6,22
1	ven2	9,91	9,4	-5,46
1	ven2	9,92	9,05	-9,59
2	ven2	10,00	10,05	0,53
1	ven2	10,05	9,8	-2,53
1	ven2	11,48	11,15	-2,92
4	ven2	12,35	12,25	-0,80
2	ven2	12,50	13,4	6,71
1	ven2	12,83	11,8	-8,76
4	ven3	12,99	13,75	5,52
3	ven2	13,15	12,65	-3,97
4	ven3	13,52	13,25	-2,02
3	ven2	13,57	12,45	-8,96
4	ven3	13,57	13,85	2,02
1	ven2	13,63	14,8	7,91
3	ven2	14,22	14,45	1,58
4	ven4	14,49	14,8	2,10
2	ven3	15,10	16,75	9,84
3	ven2	15,14	15,6	2,98
1	ven2	15,29	14,8	-3,28
2	ven3	15,39	13,9	-10,71
3	ven2	15,54	15,95	2,59
1	ven3	17,01	14,3	-18,92
1	ven3	17,33	16,15	-7,32
4	ven4	17,88	18,3	2,31
3	ven3	18,15	18,7	2,92
3	ven3	18,27	17,1	-6,85
1	ven3	18,71	16,2	-15,48
2	ven3	19,12	18,15	-1,64
1	ven4	21,33	20,8	-2,56

3	ven3	21,85	24,35	10,29
2	ven4	23,22	23,75	2,25
2	ven4	23,45	24,55	4,47
3	ven4	23,74	22,6	-5,05
1	ven4	24,85	22,7	-9,46
3	ven4	24,93	25,2	1,07
1	ven5	26,66	24,55	-8,58
3	ven5	26,82	27,5	2,47
4	ven5	27,40	30,65	-0,68
2	ven5	33,06	31,5	-4,95

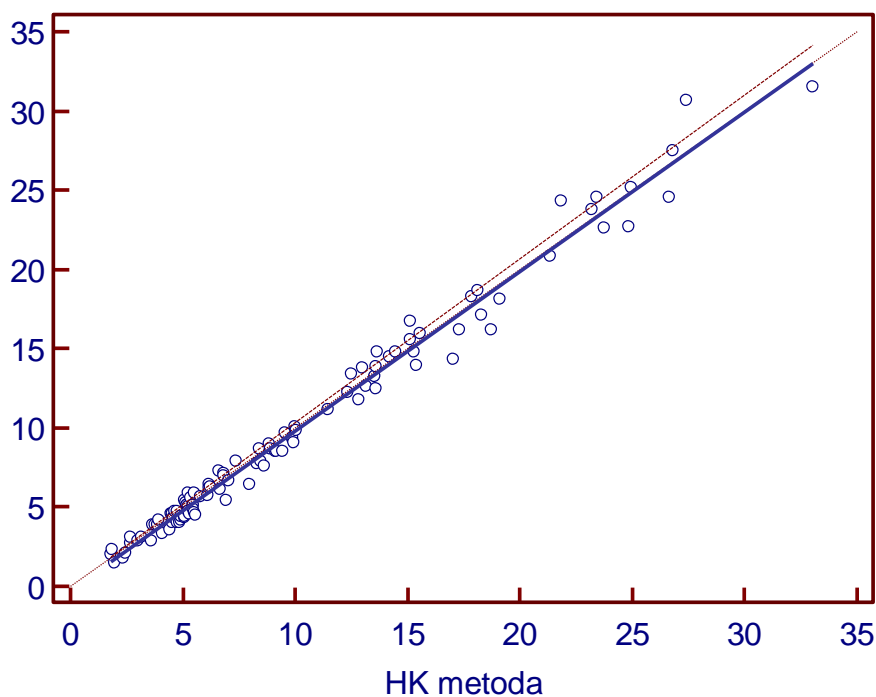
Průměr rozdílů: -2,72 %

Korelace byla počítána ze všech 106 vzorků.

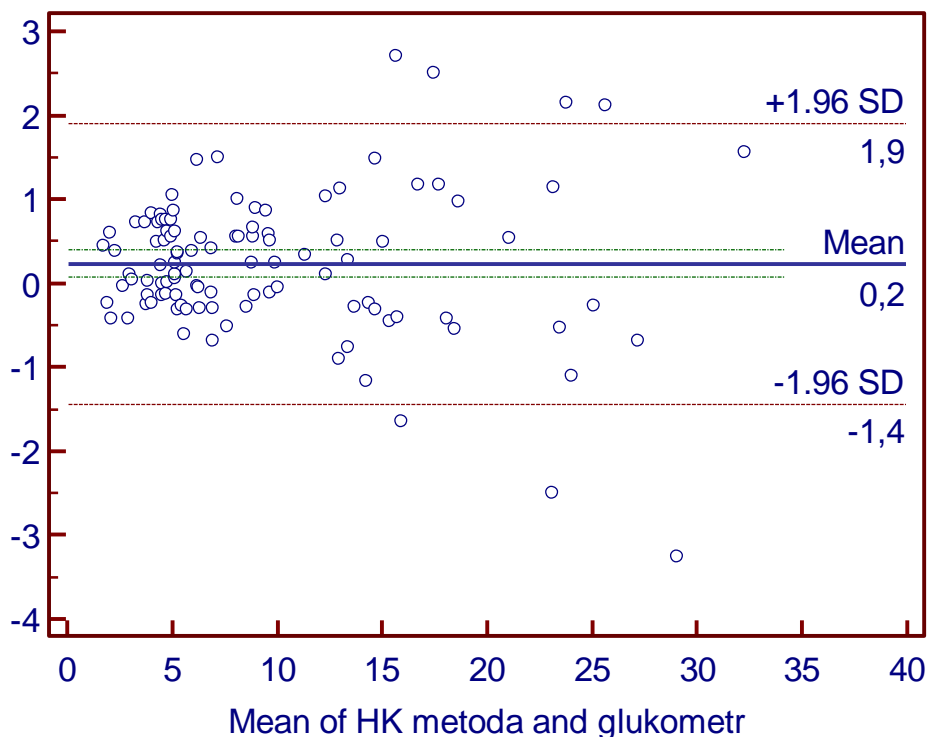
Regresní rovnice: $\text{GluNeo} = -0,287 + 1,007 \times \text{HK}$

Korelační graf je uveden na obrázku č.1

Obrázek 1: Korelace stanovení glukózy hexokinázovou metodou a pomocí glukometru GluNeo při zpracování Passing Bablockovým grafem pro všechny testované vzorky krve:



Rozdíly výsledků měření glukometrem a hexokinázovou metodou byly statisticky zpracovány nejprve pro všechny naměřené výsledky a jsou uvedeny v Bland Altmanově grafu na obrázku 2.



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.6.

Tab. 6: Opakovatelnost (mmol/l)
výr č. G101B14E1901084

	1.hladina	2.hladina
1	4,6	9,5
2	4,7	9,8
3	4,5	9,7
4	4,7	9,5
5	4,6	9,4
6	4,3	9,5
7	4,6	9,8
8	4,5	9,2
9	4,7	9,5
10	4,5	9,7
11	4,6	9,4
12	4,7	9,8
průměr	4,58	9,57
SD	0,119	0,192
CV %	2,604	2,010

Pro zhodnocení opakovatelnosti se používá výpočet variačního koeficientu, nalezena byla 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.7.

Tab. 7: Mezilehlá preciznost (mmol/l)

1.měření	1.den	2.den	3.den	4.den	5.den	průměr	SD	CV %
Lyonorm N	6,4	6,2	6,2	6,5	6,6	6,38	0,179	2,804
Lyonorm P	20,9	20,6	20,4	20,7	20,5	20,62	0,192	0,933
GLC1/14	9	9	9,2	8,8	8,9	8,98	0,148	1,652

3.3. Správnost

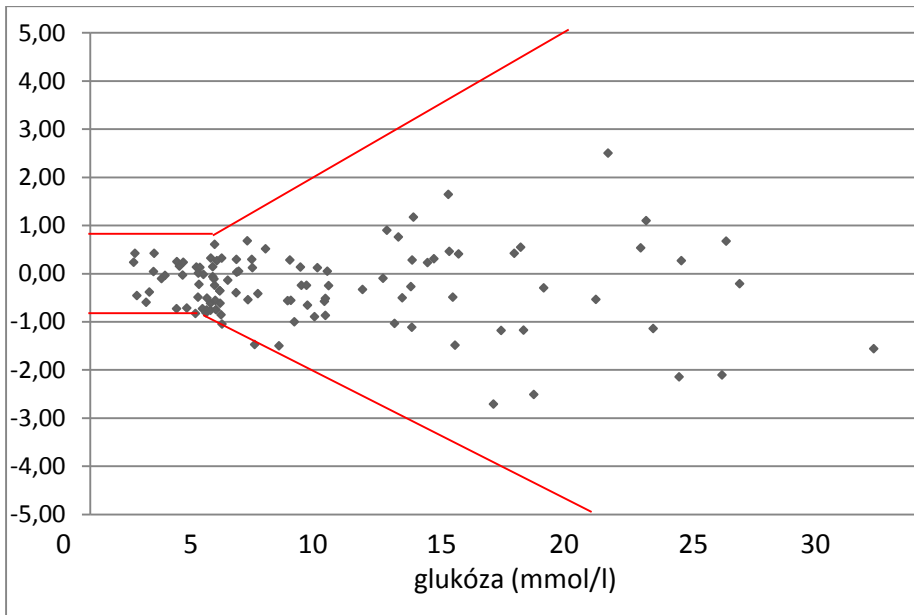
Rozdělení podle odchylek od hodnot změřených hexokinázovou metodou je uvedeno v tabulce:

Do ± 5 %	Do ± 10 %	Do ± 15 %
33/63 (52,4%)	55/63 (87,3 %)	60/63 (95,2 %)

Do $\pm 0,3$ mmol/L	Do $\pm 0,55$ mmol/L	Do $\pm 0,83$ mmol/L
19/43 (44,2 %)	29/43 (67,4 %)	41/43 (95,3 %)

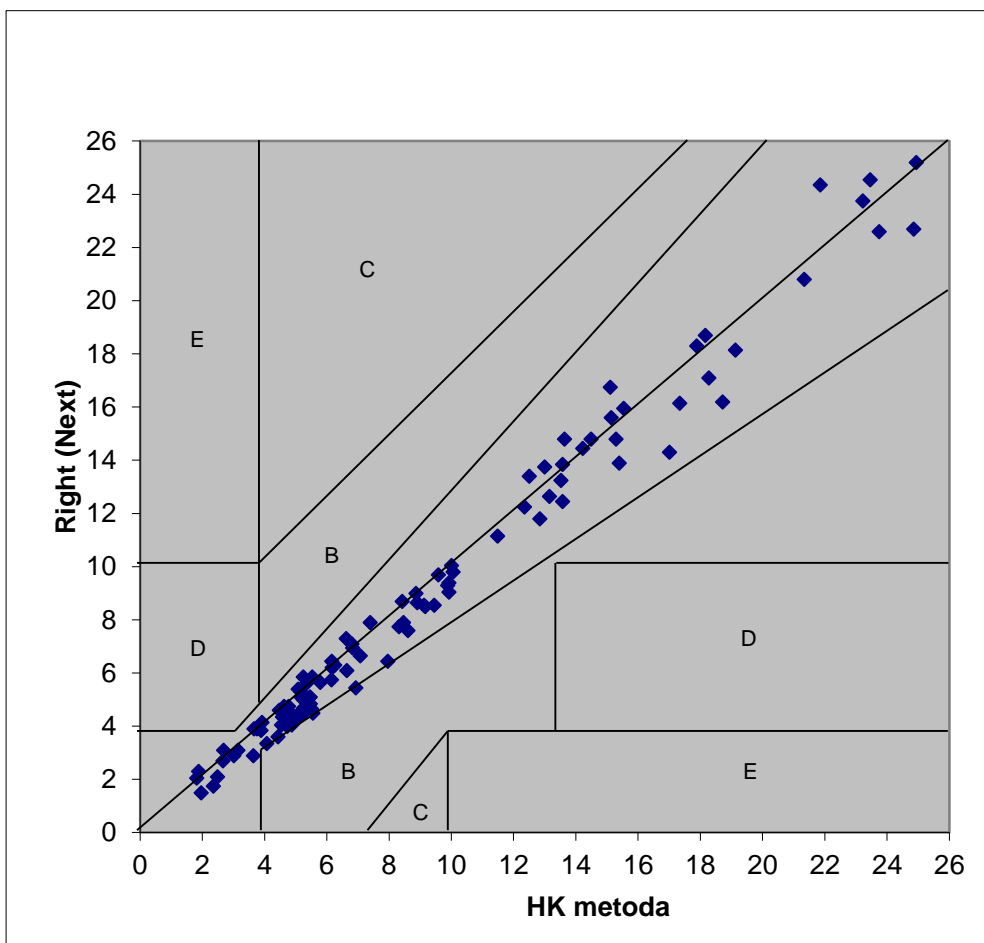
Celkově nastavená kritéria splnilo 95,3 % všech naměřených výsledků.

Obrázek č.3: 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.

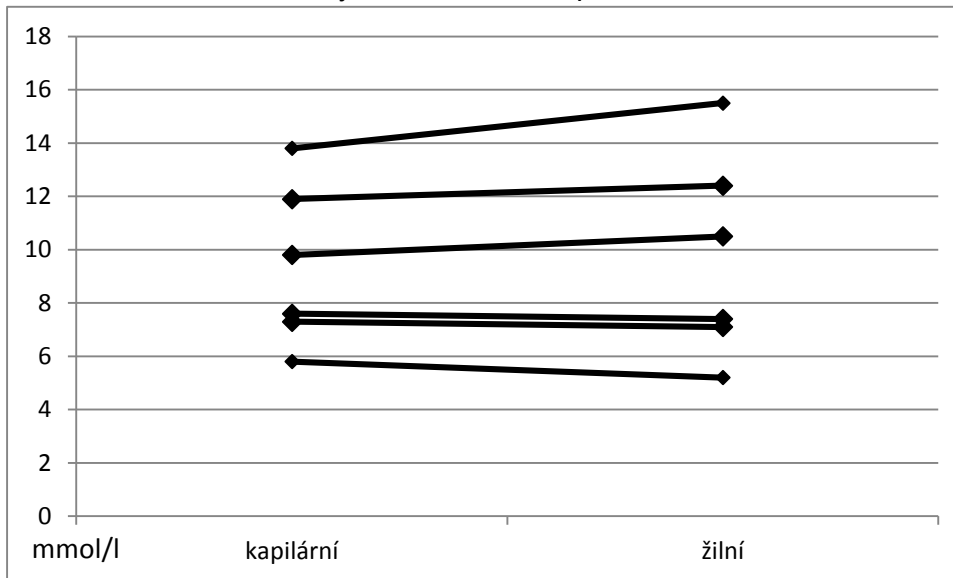
Obrázek č. 4: Diagram s povolenou chybovou sítí v mmol/l



3.4. Srovnatelnost výsledků získaných ze žilní a kapilární krve

U 9 dobrovolníků bylo provedeno srovnání výsledků získaných měřením kapilární a žilní krve z odběru v jednom čase. Průměrný rozdíl mezi **kapilární a žilní krví** byl **0,32 mmol/l (0,16 %)**. Graficky je srovnání uvedeno na následujícím obrázku.

Obrázek č. 5: Srovnání výsledků měření kapilární a žilní krve odebrané ve stejném čase.



Provedla Referenční laboratoř pro klinickou biochemii při ÚLBDL 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 10.12.2014

Testování systému glukometr – testovací proužky systém GluNeo

Závěr k protokolu č.j. 5/2014

- a) Toto opakované testování bylo provedeno na žádost výrobce po dodávce nové šarže testovacích proužků, které se ukázaly pro český trh vhodnější.
- b) Testování glukometru bylo provedeno akreditovaným postupem dle SOP-ULBLD-RL-GLU2 s návazností na akreditovanou metodu stanovení glukózy dle SOP-ULBLD-RL-GLU1.
- c) Závislost výsledků na teplotě a na hodnotě hematokritu nebyla testována, stejně jako případné interference.
- d) Nejvyšší hodnota naměřená glukometrem byla 31,5 mmol/l, odpovídající hladina v plazmě měřená hexokinázovou metodou byla 33,1 mmol/l
- e) Nejnižší hodnota naměřená glukometrem byla 2,05 mmol/l, odpovídající hladina v plazmě měřená hexokinázovou metodou byla 1,81 mmol/l
- f) Výsledky získané glukometrem byly v průměru nižší o 0,23 mmol/l pro hladiny <5,6 mmol/l a pro hladiny vyšší než 5,6 mmol/l byly naměřené výsledky průměrně o 2,72 % nižší.
- g) Z regresní rovnice pro všechny naměřené výsledky (glukometr = - 0,287 + 1,007 HK) plyne mírný systematický posun k nižší hodnotě při měření glukometrem.
- h) 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 nastavená kritéria splnilo 95,3 % všech naměřených výsledků.** Rozdělení podle odchylek od hodnot změřených hexokinázovou metodou je uvedeno v tabulce:

Do ±5 %	Do ± 10 %	Do ± 15 %
33/63 (52,4%)	55/63 (87,3 %)	60/63 (95,2 %)

Do ±0,3 mmol/L	Do ± 0,55 mmol/L	Do ± 0,83 mmol/L
19/43 (44,2 %)	29/43 (67,4 %)	41/43 (95,3 %)

- i) Opakovatelnost byla stanovena na dvou hladinách. Pro hladinu 4,58 mmol/l je CV 2,60 %, a pro hladinu 9,57 mmol/l je CV 2,01 %.
- j) Mezilehlá preciznost byla stanovena na třech hladinách v pěti dnech: pro hladinu 6,38 mmol/l je CV 2,80 %, pro další hladinu 8,98 mmol/l je CV 1,65 % a pro nejvyšší hladinu 20,6 mmol/l je CV 0,93 %.
- k) Dodaný český návod k přístroji je vyhovující
- l) Dodaný český návod k testovacím proužkům byl upraven dle připomínek RL.a v současné chvíli je vyhovující.

V Praze dne 12.12.2014

Prof. MUDr Tomáš Zima, DrSc.
vedoucí Referenční laboratoře 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.