



Zdravotně
sociální fakulta
Faculty of Health
and Social Sciences

Jihočeská univerzita
v Českých Budějovicích
University of South Bohemia
in České Budějovice

Stanovení glukózy různými analytickými systémy

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

Studijní program:

SPECIALIZACE VE ZDRAVOTNICTVÍ

Autor: Monika Štecherová, DiS.

Vedoucí práce: Ing. Iveta Náprstková

České Budějovice 2023

Prohlášení

Prohlašuji, že svoji bakalářskou práci s názvem „Stanovení glukózy různými analytickými systémy“ jsem vypracovala samostatně pouze s použitím pramenů v seznamu citované literatury.

Prohlašuji, že v souladu s § 47b zákona č. 111/1998 Sb. v platném znění souhlasím se zveřejněním své bakalářské práce, a to v nezkrácené podobě elektronickou cestou ve veřejně přístupné části databáze STAG provozované Jihočeskou univerzitou v Českých Budějovicích na jejích internetových stránkách, a to se zachováním mého autorského práva k odevzdanému textu této kvalifikační práce. Souhlasím dále s tím, aby toutéž elektronickou cestou byly v souladu s uvedeným ustanovením zákona č. 111/1998 Sb. zveřejněny posudky školitele a oponentů práce i záznam o průběhu a výsledku obhajoby bakalářské práce. Rovněž souhlasím s porovnáním textu mé bakalářské práce s databází kvalifikačních prací Theses.cz provozovanou Národním registrem vysokoškolských kvalifikačních prací a systémem na odhalování plagiátů.

V Českých Budějovicích dne 2.května 2023

.....

Monika Štecherová

Poděkování

Ráda bych tímto poděkovala paní Ing. Ivetě Náprstkové za její odborné vedení, trpělivost a ochotu, kterou mi v průběhu zpracování bakalářské práce věnovala. A v neposlední řadě bych ráda poděkovala rodině a přátelům za podporu a trpělivost.

Stanovení glukózy různými analytickými systémy

Abstrakt

Tato bakalářská práce je věnována stanovení glukózy na třech různých analytických systémech, Abbott Architect c16000, glukometr SensoStar GL 30 touch a osobní glukometr Contour Plus Bayer. Na přístrojích bylo změřeno 30 náhodných vzorků pacientů.

V rámci této práce byla sledována interní kontrola kvality a provedena verifikace metody na přístrojích Abbott Architect a glukometrech SensoStar v období prosinec 2022 - leden 2023.

Dalším bodem této práce je pravidelné měsíční srovnání dvou glukometrů SensoStar na patientských vzorcích.

Vyhodnocení získaných výsledků je součástí dlouhodobého sledování kontroly kvality v laboratoři.

Klíčová slova

Diabetes mellitus, glukóza, fotometrické a elektrochemické metody, POCT

The determination of blood glucose by different analytic system

Abstract

This bachelor thesis deals with the determination of blood glucose by three different analytic systems, Abbot Architect c16000, glucometer SensoStar GL 30 Touch and the self-monitoring glucometer Contour Plus Bayer. Overall 30 random patient samples were measured at four analyzers.

The measured values for the internal control quality were evaluated and the regular verifications of the methods were realized at the analyzer Abbott Architect c16000 and at both glucometers SensoStar GL 30 Touch in the period from December 2022 to January 2023 in this bachelor thesis.

The regular comparation of both analyzers Sensostar GL 30 Touch was performed by the measurement of laboratory samples.

The evaluation of the acquired results is part of the longtime monitoring of the laboratory determination quality control.

Key words

Diabetes mellitus, glucose, Photometric and electrochemical methods, POCT

Obsah

1	ÚVOD	8
2	TEORETICKÁ ČÁST	10
2.1	Glukóza	10
2.2	Metabolismus sacharidů.....	12
2.2.1	Glykolýza.....	13
2.2.2	Glukoneogeneze.....	13
2.2.3	Glykogenolýza	13
2.2.4	Pentosový cyklus	14
2.3	Diabetes mellitus	14
2.3.1	Diabetes mellitus I. typu (DM I.typu).....	16
2.3.2	Diabetes mellitus II. typu (DM II.typu)	17
2.3.3	Gestační diabetes mellitus (GDM).....	17
2.3.4	Prediabetes (PDM).....	18
2.3.5	Sekundární diabetes	18
2.4	Diagnostika diabetu	19
2.4.1	Jednorázová glykémie.....	19
2.4.2	Glykemický profil.....	20
2.4.3	Glykovaný hemoglobin HbA1c	20
2.4.4	Glukózový toleranční test OGTT	20
2.4.5	Ostatní sledované analyty u diabetiků.....	21
2.5	Metody stanovení glykémie.....	21
2.5.1	Metody spektrofotometrické	22
2.5.2	Metody elektrochemické.....	23
2.6	Analytické vlastnosti metody	23
2.6.1	Správnost (pravdivost) metody	23
2.6.2	Preciznost metody.....	24
2.6.3	Přesnost.....	25
2.7	Validace a verifikace.....	25
2.8	Verifikační protokol	26
2.9	Interní kontrola kvality (IKK).....	27
2.10	Externí kontrola kvality (EHK).....	27
3	CÍL PRÁCE.....	28

4	METODIKA	29
4.1	Přístrojová technika	29
4.1.1	Abbott Architect c16000	29
4.1.2	Glukometr SensoStar GL 30 Touch	36
4.1.3	Osobní glukometr Contour plus	43
4.2	Pracovní postup zpracování vzorků na přístrojích	44
4.2.1	Zpracování vzorků na přístroji Abbott Architect	44
4.2.2	Zpracování vzorků na přístroji SensoStar	44
4.2.3	Zpracování vzorků na přístroji Contour plus	45
4.3	Zpracování naměřených dat pacientů	46
4.3.1	Lineární regresní analýza	46
4.3.2	Korelační koeficient	46
4.3.3	Srovnání koncentrací glukózy naměřených na přístroji Abbott Architect a glukometr SensoStar „hala“	48
4.3.4	Srovnání koncentrací glukózy naměřených na přístroji Abbott Architect a glukometr SensoStar „akutka“	49
4.3.5	Srovnání koncentrací glukózy naměřených na přístroji Abbott Architect a osobním glukometru Contour Plus	49
4.3.6	Srovnání koncentrací glukózy naměřených na přístroji glukometr „hala“ a glukometr „akutka“	50
5	DISKUZE	52
6	ZÁVĚR	53
7	SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY	55
8	SEZNAM ZKRATEK	57
9	PŘÍLOHY	59

1 Úvod

Diabetes mellitus neboli cukrovka je chronické onemocnění postihující metabolismus sacharidů. Regulační mechanismy metabolismu mohou být poškozeny patologickými procesy a dochází k narušení homeostázy sacharidů. Nejčastějším znakem cukrovky je zvýšená koncentrace glukózy v krvi, hyperglykémie. Ta může zapříčinit rozvoj mnoha život ohrožujících poruch v organismu. Diabetes mellitus lze rozdělit do několika typů: diabetes mellitus I. typu, diabetes mellitus II. typu, gestační diabetes mellitus, který se vyskytuje v období těhotenství a prediabetes, který se vyznačuje poruchou glukózové tolerance.

Hlavní příčinou onemocnění je porucha β -buněk Langerhansových ostrůvků pankreatu, a tím je snižená tvorba inzulínu nebo úplný zánik tvorby tohoto hormonu. Inzulín je v metabolismu glukózy důležitým prostředníkem, zajišťuje vstup glukózy do buněk, díky němuž se sníží koncentrace glukózy v periferní krvi. β -buňky Langerhansových ostrůvků mohou být poškozeny viry nebo může být vyčerpána jejich produkční kapacita.

Pro diagnostiku a sledování průběhu této nemoci se stanovuje hladina glykémie (koncentrace glukózy) v krvi. U zdravých jedinců se koncentrace glukózy pohybuje v rozmezí 3,9-5,6 mmol/l. Pro průkaz nemoci se využívá funkční test, tzv. orální glukózový toleranční test (oGTT). Jeho principem je zatížení organismu roztokem glukózy a následné měření hladiny glykémie ve třech časových intervalech (před podáním glukózy, hodinu po podání a dvě hodiny po vypití roztoku).

V laboratořích klinické biochemie lze glykémii měřit různými laboratorními přístroji, které k měření používají různé principy stanovení. Ve výsledku by měly být hodnoty glykemií, stanovené na různých přístrojích, srovnatelné. Kritériem pro hodnocení kvantitativních výsledků je stanovený seznam doporučených přijatelných rozdílů $D_{\max}$ podle SEKK.

V této práci bude sledována vnitřní kontrola kvality laboratoře pro stanovení glukózy v určeném časovém období. Dále bude provedena verifikace metody na přístrojích Abbott Architect c16000 a glukometrech SensoStar GL 30 Touch. Posledním bodem této práce bude porovnání naměřených hodnot glykemií u třiceti náhodných pacientů na třech různých analytických systémech. Měření vzorků proběhne na přístrojích Abbott

Architect, glukometrech SensoStar GL 30 Touch a na osobním glukometru Contour Plus.
Získané výsledky budou statisticky zpracovány.

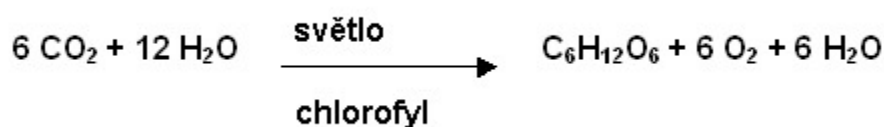
2 Teoretická část

2.1 Glukóza

Sacharidy, proteiny a lipidy jsou základní skupinou látek podílejících se na metabolismu a struktuře biologických systémů (Zíma, 2013).

Sacharidy jsou nejrozšířenější organické sloučeniny, které vznikají při fotosyntéze z oxidu uhličitého, vody a energie viditelného záření zachyceného v chlorofylu zelených rostlin. V lidském organismu mají řadu funkcí. Jsou zdrojem energie (glukóza) nebo se ukládají ve formě glykogenu jako zásobní forma energie (Dostál, 2005).

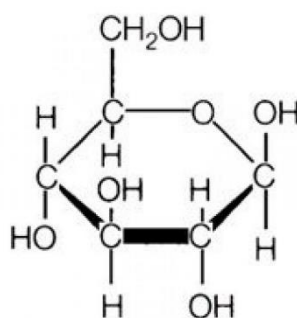
Obrázek č. 1 Vzorec fotosyntézy



(Internetový zdroj č. 1, staženo 13.3.2023)

Glukóza je nejrozšířenější a nejdůležitější monosacharid v přírodě, je základní stavební složkou škrobu, glykogenu a celulózy (Dostál, 2005). Pro řadu orgánů a tkání je důležitým zdrojem energie a její nedostatek vede k potřebě získat energii z jiných zdrojů (zásobní glykogen a volné mastné kyseliny). Pro zajištění homeostázy organismu je důležité, aby koncentrace sacharidů v extracelulárním i intracelulárním prostředí byly ve fyziologických mezích (Zíma, 2013).

Obrázek č. 2 Vzorec glukózy



(Internetový zdroj č. 2, staženo 12.3.2023)

Dysbalance sacharidů (glukózy) může ovlivnit vnitřní prostředí organismu, funkci orgánů, ale i metabolické pochody jiných základních živin, jako například metabolismus lipidů a proteinů. Pokud dojde k narušení homeostázy sacharidů mimo fyziologické rozmezí, jedná se o hromadění sacharidů nebo o jejich nedostatek v extracelulárním i intracelulárním prostředí, v klinické praxi nazývané jako syndrom hyperglykémie a syndrom hypoglykémie (Zima, 2013). Podle doporučení ČSKB jsou fyziologické hodnoty glukózy v kapilární krvi stanoveny v rozmezí 3,9 – 5,6 mmol/l.

Metabolismus sacharidů začíná a končí glukózou, ta je nejdůležitějším zdrojem energie a zajišťuje životní pochody organismu. Glukóza se získává z potravy ve formě fruktózy, galaktózy, sacharózy a z polysacharidů. Po jídle dochází ke zvýšení koncentrace glukózy, která se u zdravého člověka během 60–90 minut vrátí zpět k výchozím hodnotám. Je-li glukózy v organismu nadbytek, dochází k přeměně na tuk ve formě triacylglycerolu v tukových tkání nebo je přeměněna na glykogen obsažený v játrech a kosterním svalstvu. Zásobní sacharid v játrech, glykogen, slouží jednak pro potřeby jaterních buněk, ale také slouží jako zásobárna glukózy pro ostatní orgány. Pokud není potravou zajištěn dostatečný přísun glukózy, dochází k přeměně zásobních složek. Štěpení jaterního glykogenu probíhá procesem glykogenolýzy nebo dochází k přeměně nesacharidových látek. Neesterifikované mastné kyseliny a aminokyseliny se rozkládají procesem glukoneogeneze, ta probíhá z 90 % v jaterních buňkách, (hepatocytech) a z 10 % v ledvinách. Regulace glukózy v organismu je také řízena hormonálně – hormony pankreatu a buněk Langerhansových ostrůvků, hormony kůry a dřeně nadledvin, hormony štítné žlázy (Čermáková, 2003).

V Langerhansových ostrůvcích produkují α -buňky glukagon, podnětem k jeho vyplavení je fyzická námaha, stres a hypoglykémie způsobená hladověním. Glukagon v jaterních buňkách spouští glykogenolýzu a z laktátu, aminokyselin a glycerolu je procesem glukoneogeneze syntetizována glukóza a hodnota glykémie v krvi se zvýší.

V β -buňkách Langerhansových ostrůvků se tvoří inzulin, který umožňuje vstup glukózy do tkáňových buněk, a tím je hladina glukózy v krvi a tělesných tekutinách snížena (Štern, 2005).

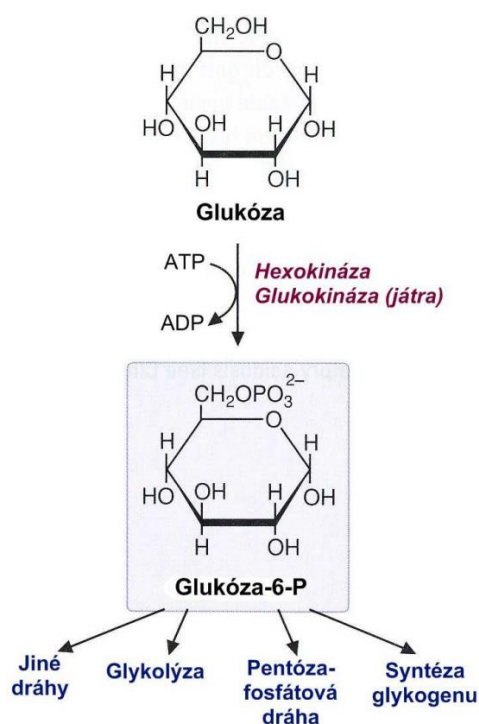
2.2 *Metabolismus sacharidů*

Sacharidy jsou přijímány potravou nebo jsou syntetizovány organismem procesem glukoneogeneze.

Trávení sacharidů začíná ve dvanáctníku, kde jsou štěpeny působením pankreatické α -amylasy (1,4- α -D-glukan-glukanhydrolasy). Produktem štěpení je maltóza, maltotrióza a dextriny (větší sacharidové zbytky o 6-8 glukózových jednotkách). Další štěpení probíhá v kartáčovém lemu tenkého střeva, v enterocytech, působením sacharolytických enzymů. Sacharidy se postupně štěpí na glukózu, která je transportována do portálního řečiště. Hlavním účelem těchto štěpení je získání energie a vznik dalších substrátů pro jiné metabolické děje.

Metabolismus sacharidů probíhá ve čtyřech navzájem spjatých cyklech: glykolýza, glukoneogeneze, glykogenolýza a pentosový cyklus (Štern, 2005).

Obrázek č. 3 Vzorec glykolýzy



(Skoumalová, staženo 8.4.2023)

2.2.1 Glykolýza

Metabolickou přeměnou glukózy procesem glykolýzy je zajišťován zdroj energie, tento děj probíhá v cytoplazmě skoro všech buněk lidského organismu. Jde o hlavní metabolickou přeměnu glukózy, která může probíhat za přítomnosti kyslíku, aerobní glykolýza nebo bez přítomnosti kyslíku, anaerobní glykolýza (Dostál, 2005).

Konečným produktem glykolýzy je pyruvát, který se za anaerobních podmínek redukuje na laktát. Z jednoho molu glukózy vznikají při anaerobní glykolýze dvě energetické sloučeniny ATP. Při aerobní glykolýze vzniká z jedné molekuly glukózy 36 molů ATP, je tedy pro získání energie významnější (Štern, 2005).

2.2.2 Glukoneogeneze

Jde o proces, při kterém se syntetizuje glukóza z nesacharidových (necukerných) zdrojů. Tento děj je důležitý pro udržení koncentrace glukózy ve fyziologických mezích, při hladovění nebo velké tělesné námaze. Pro syntézu glukózy jsou využívány pyruvát, laktát, glycerol a glukogenní aminokyseliny. Glukoneogeneze probíhá především v jaterních buňkách, ale i ledvinách a střevech. V endoplazmatickém retikulu těchto buněk je obsažen enzym glukóza-6-fosfatáza, který katalyzuje přeměnu sloučeniny glukóza-6-fosfát na glukózu (Štern, 2005).

2.2.3 Glykogenolýza

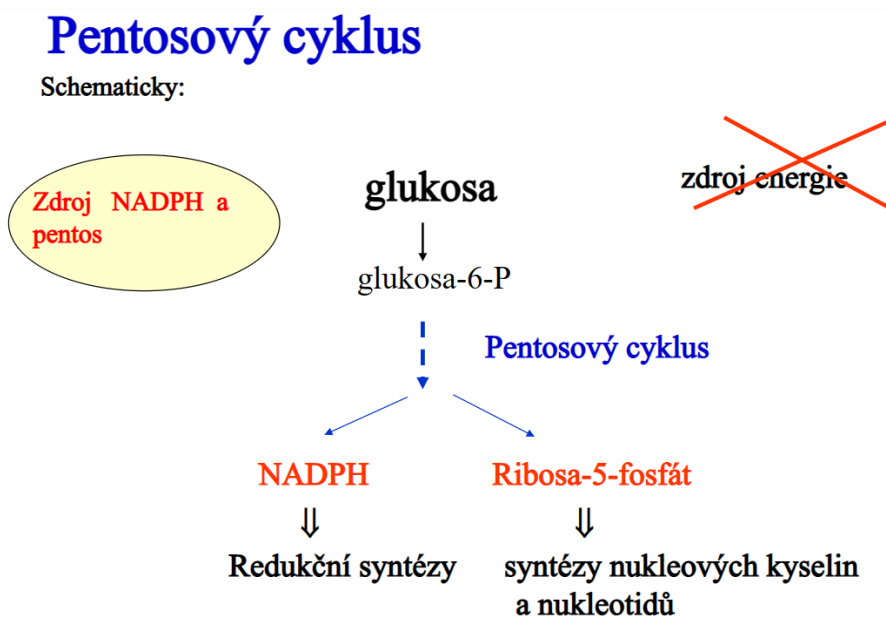
Při dostatečném přísunu sacharidů potravou může být část glukózy, která není oxidována, ukládána ve formě glykogenu (zásobní forma glukózy). Ten je uložen v cytoplazmě buněk ve formě glykogenových granulí (Dostál, 2005), ty mají na svém povrchu vrstvu enzymů, které se podílejí na štěpení glykogenu (glykogenolýza), tak i jeho syntéze (Štern, 2005).

Pokud není potravou zajištěn dostatečný přísun glukózy je glykogen fosforolyticky štěpen a vzniká glukóza-1-fosfát (G-1-P) (Dostál, 2005). Z něhož dále vzniká glukóza-6-fosfát, který je meziproduktem v metabolismu sacharidů. Ten se může jednak dále odbourávat na jiné meziprodukty a působit v jiných metabolických cyklech nebo se přeměnit v glukózu, a tím se zvýší její koncentrace v krvi. Přeměna na glukózu je závislá na přítomnosti enzymu glukóza-6-fosfatázy ve tkáni (Štern, 2005).

2.2.4 Pentosový cyklus

Tento cyklus je další metabolickou cestou přeměny glukózy. V tomto cyklu se ovšem z glukózy nezískává energie, ale je zdrojem koenzymu NADPH, který je potřebný pro syntetické pochody v buňkách. A také je zdrojem ribosa-5-fosfátu, který je potřebný pro syntézu nukleotidů a nukleových kyselin. (Dostál, 2005).

Obrázek č. 4 Schéma pentosového cyklu



(Internetový zdroj č. 4, staženo 8.4.2023)

2.3 Diabetes mellitus

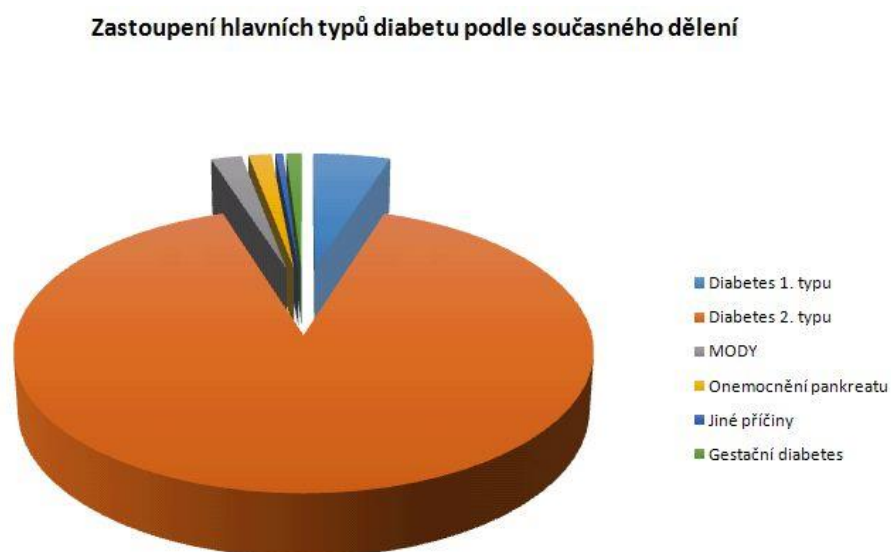
Jde o chronické onemocnění s poruchou metabolismu sacharidů, kde mohou být patologickými procesy postiženy regulační mechanismy, v jejichž důsledku se poruší homeostáza glukózy a dochází ke zvýšení koncentrace (hyperglykémie) nebo ke snížení koncentrace (hypoglykémie) glukózy (Štern, 2005).

Onemocnění diabetes mellitus je celospolečenský problém vyspělých společností, který je stále na vzestupu. Pozdější komplikace onemocnění patří k nejčastějším příčinám úmrtí (Čermáková, 2003). Včasná diagnostika onemocnění a adekvátní léčba mohou výrazně ovlivnit stav a celkovou léčbu pacienta. Uvádí se, že 20-30 % diagnostikovaných nemocí nese známky pozdních komplikací diabetu, které se rozvíjejí postupně, až po dobu sedmi a více let (Racek, 2006).

Diabetologie je obor, který se zabývá léčbou a vyhledáváním nemocných. Cíleně jsou vyšetřováni lidé s genetickou zátěží (pokrevní příbuzní diabetiků), osoby nad 45 let věku, těhotné ženy a matky dětí, jejichž porodní váha byla nad 4500 g, dále pak pacienti s onemocněním jater a pankreatu. Rozlišují se tyto typy onemocnění:

- Diabetes Mellitus I. typu (DM I. typu) – absence tvorby inzulínu
(IDDM-Insulin-Dependent Diabetes Mellitus) závislý na dodání inzulínu
- Diabetes Mellitus II. typu (DM II. typu) – inzulínová rezistence
(NIDDM-Non-Insulin-Dependent Diabetes Mellitus) nezávislý na dodání inzulínu
- Gestační diabetes mellitus (GDM) – narušení glukozové tolerance v průběhu těhotenství
- Prediabetes (PDM) – narušení glukózové tolerance
- Sekundární diabetes – zvýšená koncentrace glukózy způsobená infekcí pankreatu nebo destrukcí β -buněk pankreatu

Obrázek č. 5 Koláčový graf zastoupení typů diabetu



(Internetový zdroj č. 3, staženo 8.4.2023)

Technologie sledující vývoj terapie u onemocnění DM (diabetes mellitus) jsou v posledních 10 letech na vzestupu. Metody pro sledování hladiny glukózy v krvi jsou inovovány. Všechny tyto technologické vývoje mají jediný cíl, zlepšit kvalitu života pacientům s diagnózou DM, usnadnit lékařům diagnostiku a následnou cílenou léčbu a také předcházet komplikacím spojených s DM (kardiovaskulární komplikace).

Technickými pokroky v diabetologii jsou okamžité monitorování glykémie FGM (flash glucose monitoring), kontinuální monitorování glukózy CMG (continuous glucose monitoring) a inzulínové pumpy.

S monitorováním hladiny glykémie se vytvořily nové parametry, které hodnotí míru kompenzace pacientů s diabetem, tímto parametrem je TIR (time in range – čas strávený v cílových hodnotách). Jde o parametr získaný z dat CMG, který nám udává kolik času pacient strávil v cílovém glykemickém pásmu, to bylo stanoveno v rozmezí hodnot 3,9- 10,0 mmol/l a výsledek nám udává procentuální podíl hodnot nebo jaký čas pacient v tomto rozmezí strávil (Flekač, 2022).

Inzulínová pumpa je integrovaný zásobník inzulínu umístěný na povrchu těla (rameno), kdy zavedenou kanylou je inzulín dodáván do podkoží. Data z CMG senzoru se přenášejí do přijímače, kterým může být smartphone nebo samotná inzulínová pumpa. Získaná data lze využít k automatické titraci inzulínu podle aktuální hodnoty glykémie v krvi (Kopecký, 2022).

2.3.1 *Diabetes mellitus I. typu (DM I. typu)*

Jde o inzulinodeficitní typ diabetu, u něhož dochází k ničení vlastních β -buněk Langerhansových ostrůvků, které vytvářejí a uvolňují inzulín (Perušicová, 2017). Inzulín zprostředkovává transport glukózy z krevního řečiště do buněk, a tím snižuje koncentrace glukózy v krvi (Dostál, 2005).

Porucha tvorby inzulínu je způsobena genetickými faktory, především těmi, jež vedou k vyšší dispozici pro virová onemocnění postihující právě β -buňky Langerhansových ostrůvků. Dochází ke změně povrchu antigenní struktury β -buněk a imunitní systém vlastního organismu je začne považovat za buňky cizorodé a produkuje vůči nim protilátky, tím dojde k destrukci β -buněk a k omezené tvorbě inzulínu nebo k úplnému zániku jeho tvorby.

Mezi klinické příznaky onemocnění DM I. typu patří únava, slabost, polyurie, zvýšená žízeň a následné hubnutí. V laboratorních výsledcích je patrná hyperglykémie a glykosurie (Štern a kol., 2005).

Jak bylo již uvedeno, DM I. typu je závislý na inzulínu, to znamená, že jej musíme do těla pacienta dodávat, to sice zajistí snížení hyperglykémie, ale zároveň vzniká riziko nefyziologických hypoglykemií. Díky novým technologiím (kontinuální sledování hladiny glykémie a inzulínové pumpy) mají pacienti s touto nemocí lepší možnosti zlepšit dlouhodobou kompenzaci glukózy (Perušicová, 2017).

2.3.2 *Diabetes mellitus II. typu (DM II. typu)*

Vznik onemocnění DM II. typu je úzce spojen s obezitou. Léčba, a především prevence obezity, je způsob, jak oddálit rozvoj této nemoci (Perušicová, 2017).

Tento typ diabetu se nejčastěji vyskytuje v rodinách s genetickou predispozicí, pacienti trpí obezitou, vyskytuje se ve středním a vyšším věku. Onemocnění vzniká při zvýšeném příjmu sacharidů, kdy neustálá stimulace β -buněk pankreatu může vyčerpat produkční kapacitu tvorby inzulínu. Také může vzniknout porucha receptorů pro inzulín na membránách tkáňových buněk, a tím se sníží jeho účinnost.

K odhalení onemocnění dochází zpravidla náhodně při preventivních vyšetřeních glykémie nebo glykosurie, jelikož komplikace spojené s onemocněním nastupují nenápadně. Projevy onemocnění jsou podobné jako u DM I. typu, až rozvinutý a neléčený DM se projeví slabostí, únavou, svěděním kůže, mravenčením a bolestí dolních končetin, špatným hojením drobných ran a zvýšeným výskytem zánětlivých afekcí na kůži a sliznici (Štern a kol., 2005).

2.3.3 *Gestační diabetes mellitus (GDM)*

U tohoto onemocnění jde o poruchu tolerance glukózy, která vznikla v těhotenství a po porodu spontánně odezní (Haluzík, 2009). V těhotenství podstupují všechny ženy screening gestačního diabetu. Test probíhá mezi 24.-28. týdnem těhotenství. Jde o tříbodový orálně glukózový toleranční test, první odběr žilní krve je na lačno, druhý odběr za hodinu po substituci glukózou a poslední odběr vzorku žilní krve je dvě hodiny od substituce (Racek, 2021).

Zvýšené riziko vzniku tohoto onemocnění mají ženy s rodinou anamnézou nemoci DM, těhotné ženy nad 30 let a ženy trpící obezitou. Po porodu dojde k úpravě metabolismu glukózy, stále je zde riziko vzniku onemocnění DM II. typu (Racek, 2021).

Dlouhotrvající hyperglykémie u těhotných žen může být příčinou vzniku komplikací pro matku i plod. Glukóza v krvi matky velice dobře prochází přes placentu k plodu, který má poté stejně jako matka zvýšenou koncentraci glukózy, na kterou reaguje produkcí inzulinu, a to může být příčinou vzniku dalších komplikací. Neléčená GDM způsobuje makrosomii plodu (hmotnost novorozence nad 4000 g), jsou zvětšeny i vnitřní orgány (játra, srdce, nadledviny). Také může docházet ke zpomalenému vyžrávání tkání plodu, a tím vznikat další poporodní komplikace (Haluzík, 2009).

2.3.4 Prediabetes (PDM)

Asymptomatické onemocnění, které předchází vzniku onemocnění DM II. typu, může trvat až několik let. Bývá diagnostikován náhodně při preventivních prohlídkách nebo při vyšetření jiných metabolických poruch. U pacientů je zvýšené riziko aterosklerotických komplikací, je zde i riziko vzniku onkologických onemocnění. Dalším rizikovým faktorem pro vznik PDM je rodinná anamnéza s diagnózou DM II. typu nebo přítomnost metabolického syndromu. Prediabetes je doprovázen obezitou, arteriální hypertenzí, které pacienta poškozují a zvyšují riziko morbidit i mortality.

Prediabetes je diagnostikován, pokud se hladina glukózy ve venózní plazmě (IFG—impaired fasting glucose) nachází v rozmezí 5,6–6,9 mmol/l. Druhým možným nálezem u PDM je zvýšená hladina glukózy ve 120. minutě orálně glukózového tolerančního testu, která je v rozmezí 7,8–11,0 mmol/l ve venózní plazmě, v tomto případě mluvíme o porušené glukózové toleranci. Pro diagnózu prediabetu stačí nález hodnoty glykémie v jednom z uvedených diagnostických pásem. Pokud je hodnota glykémie nad diagnostickým pásmem, jedná se již o diabetes mellitus II. typu.

Cílem léčby prediabetu je normalizace hladiny glykémie a oddálení rozvoje vzniku nemoci DM II. typu (Internetový zdroj č. 7).

2.3.5 Sekundární diabetes

Sekundární diabetes mellitus vzniká poškozením slinivky břišní způsobené pankreatitidami, infekcemi, traumaty nebo karcinomem slinivky. Exogenní poškození

pankreatu vede k inzulínové deficienci a chybění glukagonové sekrece, to zapříčiní vznik hyperglykémie a rozvoji onemocnění diabetes mellitus. Zahájením základní léčby, která poškození slinivky způsobila, můžeme cukrovku léčit (Perušičová, 2017).

2.4 Diagnostika diabetu

Podle doporučení České diabetologické společnosti a České společnosti klinické biochemie se pro diagnostiku diabetu používá pouze koncentrace glukózy z plazmy žilní krve označována FPG (Racek, 2021).

Stanovení koncentrace glukózy v krvi se používá pro určení diagnózy DM a pro vyhledávání osob se zvýšeným rizikem vzniku onemocnění. K potvrzení onemocnění DM je potřeba potvrdit výsledky opakovaným měřením v následujících dnech a také je důležitá přítomnost typických klinických příznaků (doporučení ČSKB).

Tabulka č. 1 Rozhodovací mez

FPG mmol/l	Interpretace
<5,6	Vyloučení diabetu mellitu
5,6 až 6,9	Zvýšená FPG (IFG, zvýšená koncentrace glukózy nalačno)
≥ 7,0	Diabetes mellitus (nutno potvrdit opakovaným měřením nebo přítomnými příznaky diabetu)

(Internetový zdroj č. 5.)

Pacienti s potvrzeným DM musejí být sledováni v diabetologických ordinacích a jsou zapotřebí laboratorní kontroly, kdy se sleduje hodnota glykémie na lačno, za 2 hod po jídle, glykosurie a ketonurie (Čermáková, 2003).

2.4.1 Jednorázová glykémie

Jde o vyšetření, které udává aktuální koncentraci glukózy v době odběru. Je požadováno při podezření na hypo či hyperglykémii. Toto měření si může nemocný provádět sám pomocí testovacích proužků a osobního glukometru (self-monitoring) nebo se měří koncentrace glukózy přímo u lůžka pacienta pomocí glukometru (point-of-care testing, POCT). Díky tomuto vyšetření lze okamžitě reagovat na stav pacienta, a to podáním

inzulínu při hyperglykémii nebo naopak dodáním sacharidů při hypoglykémii (Racek, 2021).

2.4.2 Glykemický profil

Vyšetření informuje o změnách koncentrací glukózy pacienta v průběhu 24 hod. Materiál pro vyšetření je odebírán z prstu (kapilární krev) ve stanovený čas (5-9 odběrů za den) – před jídlem, po jídle, během dne a v nočních hodinách. Podle stanovených hodnot je řízena léčba inzulinem (interval léčby, dávka inzulínu).

Prst pacienta se dezinfikuje a provede se vpich lancetou, do kapiláry určené pro tento odběr nabere kapilární krev a vložíme do mikrozkušavky s roztokem. Takto odebrané vzorky se správně konzervují a mohou se do laboratoře zaslat najednou, nejedná se o akutní vyšetření (Racek, 2021).

2.4.3 Glykovaný hemoglobin HbA1c

Stanovení glykovaného hemoglobinu slouží lékaři jako zpětný přehled o koncentraci glukózy z dlouhodobého hlediska (během 6-8 týdnů).

Glykací bílkovinného řetězce hemoglobinu vzniká glykovaný hemoglobin. Jde o vratnou reakci, při hyperglykémii se na hemoglobin váže molekula glukózy a při poklesu koncentrace glukózy dojde k jejímu odštěpení. Toto se děje jen tehdy, je-li hyperglykémie krátkodobá. Glykace je tedy závislá na koncentraci glukózy v krvi a stanovení glykovaného podílu hemoglobinu poukazuje na průměrnou hodnotu glukózy za delší období (Racek, 2021).

2.4.4 Glukózový toleranční test OGTT

Jde o zátěžový test k potvrzení nebo k vyloučení nemoci diabetes mellitus. Provádí se u pacientů, kteří měli koncentrace glukózy v plazmě nalačno v rozmezí 5,6-6,9 mmol/l nebo byla koncentrace glukózy vyšší než 7,0 mmol/l bez klinických příznaků DM (Racek, 2021).

Pacient tři dny před testem dodržuje normální stravu s běžným přísunem sacharidů a zhruba 8 hodin před odběrem, v průběhu noci, lační. V odběrové laboratoři je pacientovi odebrán vzorek krve nalačno a poté mu je podán roztok 75g glukózy ve 250 ml vody, který musí během pěti minut vypít. Po dobu dvou hodin zůstává pacient v klidu bez

příjmu tekutin. Po této době je opět proveden odběr žilní krve. Podle naměřených koncentrací glukózy můžeme pacienty rozdělit do tří skupin (Internetový zdroj č. 5).

Tabulka č. 2 Dělení pacientů do skupin dle naměřené koncentrace glukózy 2h po zátěži

Glukóza mmol/l	Interpretace
<7,8	Vyloučení diabetes melitus
7,8-11,0	Porušená glukózová tolerance
> 11,0	Diabetes mellitus

(internetový zdroj č. 5.)

2.4.5 Ostatní sledované analyty u diabetiků

Mezi další analyty sledované u diabetiků je stanovení poměru albumin/kreatinin (g/mol kreatinu) ve vzorku ranní moče (internetový zdroj č.5).

Albuminurie, kvantitativní stanovení albuminu vylučovaného močí, jde o základní vyšetření u diabetiků, které nám udává informace o možném rozvoji poškození ledvin (nefropatie). Albuminurii lze stanovit v prvním ranním vzorku moči spolu s koncentrací kreatinu nebo se albumin stanovuje ve vzorku sbírané moči (Zima, 2013).

2.5 Metody stanovení glykémie

Pro stanovení koncentrace glukózy (glykémie) za účelem průkazu onemocnění DM se v laboratořích nejčastěji používají elektrochemické nebo spektrofotometrické metody. Hodnota glykémie se nejčastěji stanovuje z plazmy žilní krve. Odběr je prováděn do zkumavek s obsahem protisrážlivého činidla EDTA, NaF a citrátu sodného, tím je zabráněno glykolýze, která snižuje koncentraci glukózy ve vzorku. Díky přítomnosti citrátu sodného je glykolýza eliminována tím, že se sníží hodnota pH na 5,3-5,9. Enzymy způsobující glykolýzu jsou na hodnotách pH závislé a díky tomu jsou účinky těchto enzymů deaktivovány (internetový zdroj č.5).

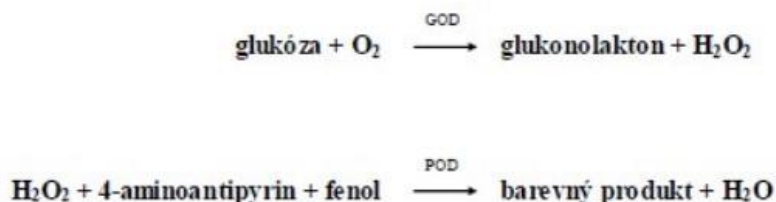
2.5.1 Metody spektrofotometrické

2.5.1.1 Metoda glukózooxidázová-peroxidázová (GOD-POD)

Standardizovaná metoda, která se v laboratořích nejčastěji využívá.

Vzdušný kyslík (O_2) oxiduje glukózu, reakce je katalyzována enzymem GOD (glukózooxidáza), vzniká peroxid vodíku (H_2O_2) a kyselina glukonová. Vzniklý peroxid vodíku reaguje s 3-methylfenolem a 4-aminofenazonem a vzniká červeně zbarvený chinonimin, tato reakce je katalyzována enzymem POD (peroxidáza). Koncová sloučenina reakce, chinonimin, je fotometricky měřena, kdy intenzita zbarvení produktu reakce je přímo úměrná koncentraci glukózy (Čermáková, 2003).

Obrázek č. 6 Rovnice reakce glukózooxidázová-peroxidázová



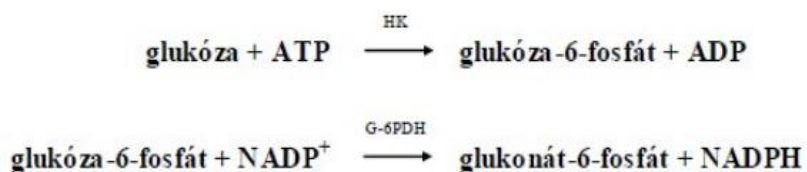
(Černá, 2018)

2.5.1.2 Hexokinázová metoda

Jde o referenční metodu, která poskytuje nejpresnější výsledky (Čermáková, 2003).

Glukóza je spolu s ATP (adenosintrifosfát) přeměněna na glukóza-6-fosfát (G-6-P), tato reakce je katalyzována enzymem hexokinázou (HK). Vzniklý glukóza-6-fosfát je koenzymem $NADP^+$ (nikotinamidadenindinukleotidfosfát) oxidován a vzniká kyselina glukóza-6-fosfoglukonová, tato reakce je katalyzována enzymem glukóza-6-fosfátdehydrogenázou (G-6-P-DH). V reakci vzniká 6-fosfoglukonát a NADPH, ten absorbuje ultrafialové záření při 340 nm (Racek, 2021).

Obrázek č. 7 Rovnice hexokinázové reakce



(Černá, 2018)

2.5.2 Metody elektrochemické

U těchto metod lze pracovat s plnou krví, optické vlastnosti plné krve metodě nijak nevadí. Metody jsou využívány, jak u laboratorních glukometrů, které pracují s naředěnou kapilární krví, tak i u osobních glukometrů, do kterých se vkládají diagnostické proužky, na které se nanáší kapka kapilární krve (Racek, 2021).

Elektrochemické metody využívají ke stanovení koncentrace glukózy ampérometrického principu, kde se stanovuje přírůstek peroxidu vodíku na platinové elektrodě (Čermáková, 2003). Vznikající peroxid vodíku je detekován pomocí imobilizovaného enzymu GOD na elektrodě. Při oxidaci peroxidu vodíku na anodě dochází ke vzniku elektrického proudu, jehož hodnota je přímo úměrná koncentraci glukózy v krvi (Racek, 2021).

Dále se používá Clarkova kyslíková elektroda, která má na povrchu vrstvu enzymu GOD (glukózaoxidáza). Tento enzym katalyzuje reakci glukózy s kyslíkem a H_2O . Vzniká peroxid vodíku a kyselina glukonová. Po oxidaci glukózy na kyselinu glukonovou dochází k úbytku kyslíku, který se projeví poklesem elektrodového proudu (Čermáková, 2003).

2.6 Analytické vlastnosti metody

Vlastní měření analytu v laboratořích může být zdrojem variability laboratorních výsledků. I přes pečlivost laboratorních pracovníků je každý krok při laboratorní analýze zatížen chybou (Racek, 2021).

Výsledky, kterých dosáhneme měřením v laboratoři pomocí analytických metod, by se měly co nejvíce přiblížit skutečné koncentraci stanovovaného analytu v organismu člověka. Proto, aby mohla být metoda použita v laboratoři, musí splňovat požadované analytické vlastnosti jako jsou správnost, přesnost, citlivost a specifčnost (Čermáková, 2003). Tyto parametry jsou v laboratoři denně kontrolovány v rámci tzv. interní kontroly kvality. Další stupeň kontroly je v rámci externí kontroly kvality prováděn jednou za půl roku.

2.6.1 Správnost (pravdivost) metody

Pravdivost vyjadřuje shodu měření se skutečnou hodnotou měřeného analytu (Racek, 2021, s. 38).

Správnost metody (pravdivost) nám ukazuje, že metoda poskytuje skutečnou hodnotu měřeného analytu jako je v organizmu pacienta. Tato analytická vlastnost metody je však ovlivňována řadou faktorů, jako například technikou zpracování biologického materiálu jednotlivými zaměstnanci laboratoře nebo nesprávným skladováním, jak biologického materiálu, tak samotných reagensů (Čermáková, 2003).

Nepravdivost nebo také nesprávnost metody vyjadřujeme stanovením hodnoty bias, lze to také vyjádřit jako stanovení chyby měření. Tato hodnota se stanovuje opakovaným měřením vzorku se známou koncentrací (nejméně 10krát). Správnou koncentraci posuzovaného materiálu získáme referenční metodou měřenou v referenční laboratoři. Hodnotu bias (chybu měření) získáme tak, že z naměřených hodnot vypočítáme aritmetický průměr měření a od něj odečteme skutečnou koncentraci analytu (Racek, 2021).

Výpočet bias:

$$\text{bias (\%)} = \frac{\bar{x} - x_0}{x_0} * 100$$

x_0 referenční hodnota

$\bar{x}$ aritmetický průměr

(Racek, 2021)

2.6.2 *Preciznost metody*

Jde o schopnost metody poskytovat stejné výsledky opakovaným měřením vzorku se známou koncentrací analytu. Preciznost lze testovat v různých časových obdobích a na různých přístrojích (Racek, 2006). Preciznost měření můžeme vyjádřit hodnotami jako směrodatná odchylka, rozptyl nebo variační koeficient, jde o číselné vyjádření míry nepřeciznosti (Internetový zdroj č. 8).

Precizností měření definujeme opakovatelnost měření (měření vzorku stejným přístrojem a pracovníkem, v krátkém časovém úseku), reprodukovatelnost metody (měření na různých místech, různé měřicí systémy a personál) a mezilehlá preciznost označovaná CV (jde o stejný postup měření na stejném místě v širším časovém období s možnou změnou testovací sady nebo kalibrátoru) (Internetový zdroj č. 8).

Výpočet mezilehlé preciznosti:

$$CV (\%) = \frac{SD}{\bar{x}} * 100$$

SD směrodatná odchylka

$\bar{x}$ aritmetický průměr

Výpočet směrodatné odchylky:

$$SD = \sqrt{\frac{1}{n-1} \sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2}$$

n počet měření vzorku

x_i i-té měření (výsledek)

$\bar{x}$ aritmetický průměr

2.6.3 Přesnost

Udává nám shodu mezi naměřenou koncentrací analytu a skutečnou hodnotou měřeného analytu. Je-li u metody stanovena menší chyba měření, lze ji prohlásit za přesnou. Přesnost metody lze vyjádřit jako celkovou chybu měření TE (total error).

Výpočet chyby měření:

$$TE = 1,96 * s + \text{bias}$$

2.7 Validace a verifikace

Validace je proces experimentů, které dokládají, že analytickou metodu lze používat pro diagnostiku a léčbu pacienta. Musí být popsány analytické vlastnosti metody, jako je preciznost (mezilehlá preciznost, opakovatelnost), bias (vychýlení), mez detekce a stanovitelnost, pracovní rozsah měření. Validace je prováděna při vývoji nové metody nebo při modifikaci stávající metody. Pro laboratorní účely používáme soupravy, které tímto procesem prošly a nesou označení CE (Conformite Européne) pro IVD MD (in vitro diagnostic-medical devices). Takto označené metody nám zaručují, že jejich výrobce tyto experimenty provedl a zaručuje vlastnosti metody (Racek, 2021).

Verifikaci metody provádíme, abychom dokázali, že používaná metoda splňuje výrobcem uváděné vlastnosti v naší laboratoři. Provádí se při zavedení nové metody nebo při výměně analytického systému a jedenkrát ročně ji ověřujeme (Racek, 2021).

Kontrolními materiály průběžně kontrolujeme preciznost a bias, jejichž výsledky můžeme použít pro verifikaci metody (Racek, 2021).

2.8 Verifikační protokol

Verifikační protokol je dokument, kterým daná laboratoř dokládá, že je schopna ve svých laboratorních podmínkách poskytovat výsledky shodné s výrobcem.

První ze série výpočtů je stanovení mezilehlé preciznosti, kterou dostaneme pomocí výsledků naměřených kontrol na dvou hladinách v časovém intervalu. Ze získaných koncentrací testovaných vzorků vypočítáme aritmetický průměr, směrodatnou odchylku a variační koeficient.

Další částí verifikačního protokolu je stanovení opakovatelnosti a bias. Opakovatelnost stanovíme tak, že testovaný vzorek změříme v sérii deseti měření za sebou. Ze získaných hodnot vypočítáme průměrnou hodnotu/koncentraci měřeného analytu (aritmetický průměr), směrodatnou odchylku, variační koeficient a bias. Pro výpočet bias je nutné znát koncentraci referenčního materiálu dodávaného výrobcem, tyto údaje jsou uvedeny ve validačním protokolu. Hodnoty referenčního materiálu jsou ve verifikačním protokolu uváděny jako Cílová hodnota, jde o hodnotu, jakou by měla laboratoř změřit.

Třetí část verifikačního protokolu je zaměřena na stanovení tzv. kombinované nejistoty. Jde o údaj, kterým lze vyjádřit rozmezí, v jakém se výsledek měření pravděpodobně nachází.

Vzorec pro výpočet kombinované nejistoty:

$$U_{r,cel} = \sqrt{CV_A^2 + B^2 + U_{ref}^2 + U_{pr}^2}$$

CV_A mezilehlá preciznost kontrolního vzorku

B bias

U_{ref} nejistota referenčního materiálu

U_{pr} nejistota průměru referenčního materiálu

Vzorec pro výpočet rozšířené kombinované nejistoty

$$U_{c,rel} = 2 * U_{r,cel}$$

Výsledek relativní rozšířené kombinované nejistoty měření nesmí přesáhnout hodnotu $D_{\max}$, která je uvedena v SEKK. Přijatelný rozdíl $D_{\max}$ podle SEKK pro stanovení glukózy v programu EHK AKS (analyty krevního séra) je 8 % a v programu GLC (stanovení glukózy včetně glukometru) je 15 %. Splňuje-li metoda všechna kritéria, je vhodná ke klinickému použití (internetový zdroj č. 6).

2.9 Interní kontrola kvality (IKK)

Jde o měření kontrolních roztoků (kontrol) se známou koncentrací stanovovaného analytu, dodávaných výrobcem. IKK poskytuje informace o analytické kvalitě vydávaných výsledků (bias a nepřesnost) (Racek, 2021).

Měření kontrol je prováděno před měřením vzorků pacientů, aby byly zajištěny stejné podmínky měření a je prováděno na rozdílných hladinách (vysoké a nízké hladiny). Výsledky měření jsou zapsány do LIS (laboratorní informační systém) a vyhodnoceny v regulačním grafu (Racek, 2021).

2.10 Externí kontrola kvality (EHK)

Jde o mezilaboratorní kontroly, kdy kontrolní společnost (v České republice ji zajišťuje společnost SEKK) rozesílá vzorky o neznámé koncentraci analytu a laboratoře je mají změřit ve vlastních podmínkách. Výsledky jsou pak porovnávány, jednak mezi laboratořemi, ale i s referenční hodnotou stanovenou dodavatelem kontroly. Dosažené výsledky EHK informují laboratoře jednak o přesnosti a pravdivosti metody, ale také srovnávají jednotlivé laboratoře mezi sebou. Celý tento proces odesílání vzorku do laboratoří se nazývá cyklus EHK a měl by probíhat několikrát ročně (minimálně 2x). Je-li laboratoř v cyklu EHK úspěšná znamená to, že rozdíl mezi naměřenou hodnotou v laboratoři a referenční hodnotou je menší než přijatelný rozdíl $D_{\max}$ (Racek, 2021).

3 Cíl práce

Cíl 1: Sledování interní kontroly kvality v období prosinec 2022 - leden 2023 a následné statistické zpracování naměřených dat.

Hypotéza 1: Sledované analytické znaky metody odpovídají hodnotám uvedeným v Doporučení ČSKB (variační koeficient $<2,5\%$).

Cíl 2: Verifikace metod na přístrojích Abbott Architect c16000 a glukometrech SensoStar GL 30 Touch. Zpracování verifikačních protokolů.

Hypotéza 2: Metody jsou vhodné ke klinickému použití.

Cíl 3: Srovnání 30 patientských vzorků na přístrojích Abbott Architect c16000 a glukometrech SensoStar GL 30 Touch.

Hypotéza 3: Mezi použitými přístroji k měření glukózy se nebudou vyskytovat statistické rozdíly.

Cíl 4: Srovnání 30 patientských vzorků na přístrojích Abbott Architect c16000 a osobním glukometru Contour Plus.

Hypotéza 4: Mezi použitými přístroji k měření glukózy se nebudou vyskytovat statistické rozdíly.

Cíl 5: Srovnání 30 patientských vzorků dvou glukometrech SensoStar GL 30 Touch.

Hypotéza 5: Mezi použitými přístroji k měření glukózy se nebudou vyskytovat statistické rozdíly.

4 Metodika

Koncentrace glukózy ve třiceti náhodně vybraných vzorcích séra byla měřena na přístroji Abbott Architect c16000, glukometrech SensoStar od firmy Bio-Vendor, a na osobním glukometru Contour plus firmy Bayer, které používáme na oddělení klinické biochemie Oblastní nemocnice Příbram a.s. Měření vzorků proběhlo v únoru 2023. Všechny použité přístroje byly nakalibrovány a zkontrolovány dle denního rozpisu. Laboratoř musí splňovat podmínky normy ČSN EN ISO 15189 (2013).

Požadavek na analytickou kvalitu měření pro spektrofotometrické stanovení hexokinázovou metodou i pro elektrochemické stanovení na laboratorním zařízení je podle doporučení ČSKB určen hodnotou CV (mezilehlá preciznost) <2,5 % (Internetový zdroj č. 5).

4.1 *Přístrojová technika*

Ke stanovení koncentrace glukózy ve vzorku využívají přístroje různé principy měření. Přesto, že přístroje využívají různé principy stanovení, výsledná hodnota stanovovaného analytu, v našem případě glukózy, by měla dosahovat srovnatelných hodnot. Doporučený přijatelný rozdíl $D_{\max}$ podle SEKK pro stanovení glukózy v programu EHK AKS (analyty krevního séra) je 8 % a v programu GLC (stanovení glukózy včetně glukometru) je 15 %.

Návody a pokyny k obsluze jednotlivých přístrojů jsou uvedeny v programu SLP na Oddělení klinické biochemie ONP a.s.

4.1.1 *Abbott Architect c16000*

Plně automatizovaný analyzátor, který provádí kvantitativní stanovení glukózy v plazmě, séru, mozkomíšním moku a moči. Glukóza je stanovována fotometricky za použití hexokinázové metody.

Absorpční spektrofotometrie je optická analytická metoda, která kvantitativně stanovuje hladinu analytu měřením intenzity záření po průchodu analytickým prostředím (intenzita prošlého záření vzorkem je přímo úměrná koncentraci stanovovaného analytu). Metoda se řídí Lambert-Beerův-Bouguerovým zákonem.

Glukóza reaguje s ATP a za přítomnosti enzymu HK (hexokináza) vzniká ADP a glukóza-6-fosfát (G-6-P). Vzniklý glukóza-6-fosfát reaguje s NADP⁺ a s enzymem

G6PDH (glukóza-6-dehydrogenáza) za vzniku NADPH, který je fotometricky měřen při 340nm. Množství vzniklého NADPH při reakci je přímo úměrné koncentraci glukózy ve vzorku (příbalový leták Glucose HK).

Obrázek č. 8 Přístroj Abbott Architect c16000

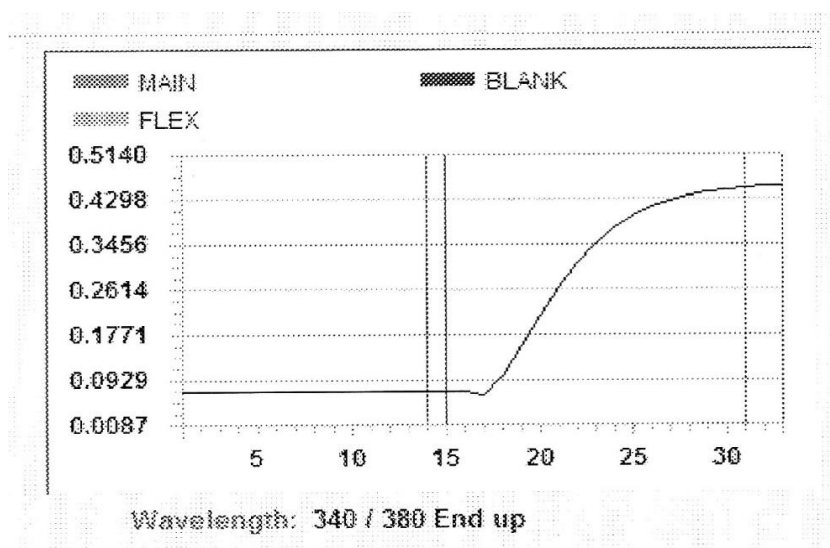


(zdroj vlastní)

4.1.1.1 Parametry metody

Reakce je měřena metodou End up při vlnové délce 340/380 nm. Přístroj provede 33 kroků měření (doba reakce cca 10 minut). Na začátku reakce je pipetována reagencie R1 o objemu 90 μ l a vzorek o objemu 2 μ l. Po ustálení dojde mezi kroky 14 a 15 k měření blanku. Při 17. kroku je pipetována reagencie R2 o objemu 21 μ l a dojde k reakci. Mezi kroky 31 až 33 jsou měřeny absorbance, z jejichž hodnot se vypočítá průměrná hodnota a odečte se hodnota blanku. Rozsah měření metody je 0,11-45 mmol/l.

Obrázek č. 9 Průběh reakce End up



(zdroj vlastní dle přístroje Abbott Architect c16000)

4.1.1.2 Složení reagenční soustavy

- Reagencie 1 (R1) kapalná, připravená k použití, obsahuje:

TRIS pufr, pH 7,4	100 mmol/l
ATP	2,5 mmol/l
NAD ⁺	2,5 mmol/l

- Reagencie 2 (R2) kapalná, připravená k použití, obsahuje:

MgCl ₂	25 mmol/l
Hexokinase	> 10 kU/l
G-6-PDH	> 10 kU/l

4.1.1.3 Kalibrace metody

Kalibrace metody se provádí každé ráno na začátku pracovní směny, po výměně reagensů a pokud nevyjde kontrola.

Kalibrátor Lyonorm firmy BIO-LA-TEST® je lyofilizované kalibrační sérum humánního původu (bylo vytvořeno ze séra dárců), které má katalytické koncentrace analytů v normální až mírně zvýšeném rozsahu, lze jej použít pro kalibraci automatických, tak manuálních postupů.

Kalibrátor je před použitím potřeba naředit destilovanou nebo redestilovanou vodou o objemu 3,00 ml. Po naředění se obsah lahvičky cca 30 min rozpouští. Lahvičkou netřepeme, aby nevznikla na povrchu tekutiny pěna, obsah občas promísíme krouživým pohybem lahvičky. S naředěným (rekonstituovaným) kalibrátorem zacházíme jako s nativní krví nebo sérem, činidla soupravy obsahují biologický materiál a jsou tak potencionálně infekční. Expirace kalibrátoru je uvedena na lahvičce.

Při kalibraci metody přístroj pipetuje kalibrátor LYO KAL 1 a vodu (nulový kalibrátor) o objemech 2 µl. Koncentrace kalibrátoru je 11,1 mmol/l.

Obrázek č. 10 Kalibrace přístroje Abbott Architect

Cal Curve Details Report

Operator ID: FSE

System serial number: 20523

Assay name: gl

Assay number: 2000

Reagent lot: 2106057

Expiration date: 30.04.2023

Serial no.: 057

Cal status: Active

Module / Serial no.: 1 / c1601821

Cal date: 26.01.2023

Cal time: 07:59

Calibration method: Linear

Operator ID: FSE

Cal type: Full

Curve expiration date / time

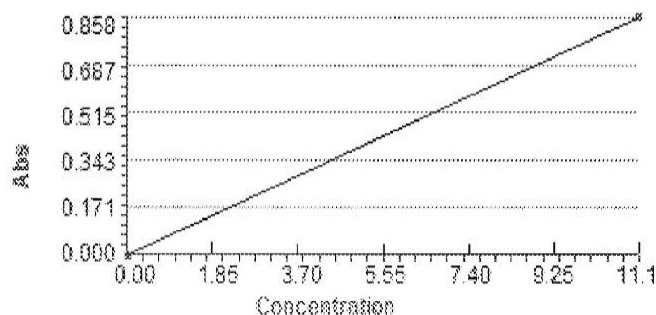
Calibrator lot: 2111055

Full:

Lot expiration: 28.02.2023

Adjustment:

Cal ID	Concentration mmol/L	Cal absorbance	Cal factor	Rep. 1 absorbance	Rep. 2 absorbance	Rep. 3 absorbance
Blank	0.0000	0.0006		0.0006	0.0005	
Cal 1	11.1000	0.8589	12.9234	0.8636	0.8554	



(zdroj vlastní dle přístroje Abbott Architect)

4.1.1.4 Kontrola metody

Kontrola metody se provádí pomocí kontrolních sér, každý den na začátku pracovní směny před sérií vzorků. Pokud výsledky kontrol vyjdou mimo stanovená rozmezí, je nutné opakovat měření kontrolního vzorku. Jsou-li výsledky kontrolních sér stále mimo daná rozmezí, musí se metoda kalibrovat a kontroly poté opakovat. Pokud ani po kalibraci nejsou výsledky kontrolních sér v daném rozmezí, je nutné vyměnit reagentie a metodu kalibrovat a poté opět zkontrolovat.

Kontrolní séra firmy BIO-LA-TEST® Lyonorm HUM N a HUM P jsou lyofilizovaná séra humánního původu a jsou potencionálně infekční. Kontrolní sérum LYO HUM N obsahuje koncentrace analytů v normálním až mírně zvýšené rozsahu. Kontrolní sérum LYO HUM P obsahuje koncentrace analytů v patologickém rozsahu.

Obsah lahvičky s lyofilizátem se rozpustí v 5,00 ml redestilované vody a krouživým pohybem obsah lahvičky promísíme, necháme 30 min stát, poté je roztok kontrolního séra připraven k použití.

Výsledné hodnoty kontrolních vzorků jsou v rámci vnitřní kontroly kvality laboratoře statisticky zpracovávány. Každé dva měsíce jsou údaje získané měřením kontrol zpracovávány vysokoškolskými pracovníky a slouží ke sledování dlouhodobého trendu kontroly kvality. Pro účely této bakalářské práce jsou sledovány výsledky kontrolních vzorků za období 1.12.2022 - 4.2.2023, naměřené hodnoty a následné statistické zpracování jsou uvedeny v tabulce č. 3 a 4. Tyto údaje jsou dále používány pro zpracování verifikačního protokolu, který je více popsán v kapitole 4.1.1.5 Verifikace metody.

Tabulka č. 3 Přehled naměřených kontrol na přístroji Abbott Architect

Glukóza Abbott Architect c16200 KONTROLY ZMĚŘENÉ 1.12.2022 - 4.02.2023					
Název QC	HUM N	HUM P	Název QC	HUM N	HUM P
Šarže	2107064	2102120A	Šarže	2107064	2102120A
Atest (mmol/l)	5,03	13,3	Atest (mmol/l)	5,03	13,3
Atest (výpočet)	5,05	13,08	Atest (výpočet)	5,05	13,08
SD (mmol/l)	0,17	0,5	SD (mmol/l)	0,17	0,5
SD (výpočet)	0,08	0,18	SD (výpočet)	0,08	0,18
Datum měř.	Hodnota (mmol/l)	Hodnota (mmol/l)	Datum měř.	Hodnota (mmol/l)	Hodnota (mmol/l)
01.12.2022	5	13	03.01.2023	5	13,1
02.12.2022	5	13,2	04.01.2023	5,1	13,1
03.12.2022	5	13,1	05.01.2023	5	13,1
04.12.2022	5	13	06.01.2023	5	13
05.12.2022	4,9	13	07.01.2023	5	13,1
06.12.2022	5	12,9	08.01.2023	5,1	13
07.12.2022	5	13	09.01.2023	5,1	13
08.12.2022	5	12,9	10.01.2023	5,1	13
09.12.2022	5	13,1	11.01.2023	5,2	13,2
10.12.2022	5	13	12.01.2023	5,1	13,2
11.12.2022	5	13	13.01.2023	5,2	13
12.12.2022	5	13,1	14.01.2023	5,1	12,9
13.12.2022	5	12,9	15.01.2023	5,2	13,3
14.12.2022	5	12,9	16.01.2023	5,1	13,2
15.12.2022	5,2	13,5	17.01.2023	5,1	13,1
16.12.2022	5,1	13,2	18.01.2023	5,1	13
17.12.2022	5,1	13,3	19.01.2023	5,1	13,2
18.12.2022	5,1	13,2	20.01.2023	5	12,9
19.12.2022	5,2	13,2	21.01.2023	5	12,9
20.12.2022	5,1	13,4	22.01.2023	5	13,1
21.12.2022	5,1	13,2	23.01.2023	5	13,1
22.12.2022	5,1	13,2	24.01.2023	5,1	13,1
23.12.2022	5,1	13,2	25.01.2023	5,1	12,9
24.12.2022	5	13,3	26.01.2023	5,2	12,9
25.12.2022	5,2	13,4	27.01.2023	5,1	13
26.12.2022	5	13,1	28.01.2023	5,2	12,9
27.12.2022	5,1	13	29.01.2023	5,1	12,8
28.12.2022	5	12,9	30.01.2023	5,2	13,2
29.12.2022	5	13	31.01.2023	5,2	13,1
30.12.2022	5,2	13,1	01.02.2023	5,2	12,9
31.12.2022	5	13,1	02.02.2023	5,2	13,2
01.01.2023	5,1	13,2	03.02.2023	5,1	13
02.01.2023	5,1	13,2	04.02.2023	5,2	13,2

Tabulka č. 4 Výpočty z hodnot uvedených v tabulce č. 3

Název QC	Atest kont. (mmol/l)	SD (mmol/l)	Dmax SEKK (%)	N	$\bar{x}$ (mmol/l)	SD (mmol/l)	CV	TEa (%)
HUM N	5,03	0,17	8,00	70	5,076	0,081	1,59	4,09
HUM P	13,30	0,50	8,00	70	13,067	0,162	1,24	4,23

SD směrodatná odchylka

Dmax povolená chyba uvedená v SEKK (%)

N počet měření

$\bar{x}$ aritmetický průměr

CV variační koeficient (%)

TEa total error, celková analytická chyba (%)

4.1.1.5 Verifikace metody

V rámci měření této bakalářské práce byla provedena verifikace metody, stanovení glukózy, na přístroji Abbott Architect c16000.

Na přístroji bylo v období 1.12.2022 - 4.2.2023 změřeno 70 kontrolních vzorků (N) na dvou hladinách (název QC) HUM N a HUM P, výsledky naměřených hodnot jsou uvedeny v tabulce č. 3. Ze získaných dat byl vypočítán aritmetický průměr ($\bar{x}$), směrodatná odchylka (SD) a mezilehlá preciznost (CV), vypočtené hodnoty jsou uvedeny v tabulce č. 4. Dle doporučení ČSKB v podmínkách pro analytickou kvalitu měření hodnota mezilehlé preciznosti (CV) má být nižší <2,5%.

Tabulka č. 5 Výsledky CV na přístroji Abbot Architect c16000

Název QC	Výsledek CV (%)
Vzorek 1 Lyo HUM N	1,599
Vzorek 2 LYo HUM P	1,239

Podle výsledků uvedených v tabulce č. 5, metoda pro stanovení hladiny glukózy na přístroji Abbott Architect c16000 doporučení ČSKB splňuje.

Druhá část verifikačního protokolu je zaměřena na výpočet opakovatelnosti a bias. Data pro výpočet opakovatelnosti byla měřena v sérii deseti měření na dvou hladinách referenčního materiálu AKS 6896 (vzorek A) a AKS 6506 (vzorek B). Ze získaných dat byl vypočten aritmetický průměr, směrodatná odchylka, variační koeficient a bias. Pro výpočet bias je nutné znát hodnotu referenčního materiálu, kterou uvádí výrobce ve validačním protokolu pro vzorky použité v EHK.

Poslední část verifikačního protokolu je zaměřena na stanovení relativní kombinované rozšířené nejistoty ($U_{C, rel}$), tato hodnota nesmí přesáhnout D_{max} SEKK. Doporučený přijatelný rozdíl D_{max} podle SEKK pro stanovení glukózy v programu EHK AKS (analyty krevního séra) je 8 %.

Tabulka č. 6 Výsledky relativní kombinované rozšířené nejistoty změřených na přístroji Abbott Architect

Název materiálu	$U_{C, rel}$ (%)
Vzorek A	3,290
Vzorek B	2,605

Kombinovaná rozšířená nejistota (výsledky uvedeny v tabulce č. 6) splňuje požadavky D_{max} EHK.

Ze získaných dat verifikačního protokolu, příloha č.1 a č.2, dále vyplývá, že metoda stanovení hladiny glukózy na přístroji Abbott Architect c16000 je vhodná ke klinickému použití.

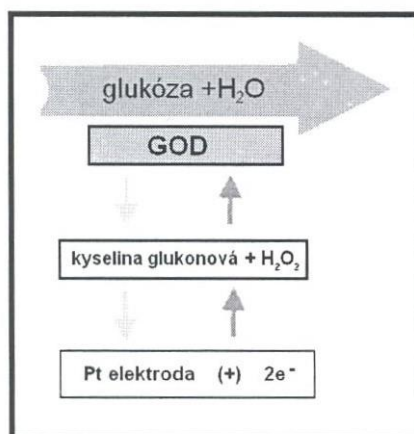
4.1.2 Glukometr SensoStar GL 30 Touch

Jedná se o automatický analyzátor pro stanovení glukózy nebo laktátu v biologickém materiálu (kapilární, žilní nebo arteriální krve, séra, plazmy a mozkomíšním moku), princip stanovení je elektrochemická detekce v biosenzoru.

Stanovované vzorky, kontroly a kalibrátory jsou pomocí jehly nasávány do biosenzoru, který obsahuje platinovou elektrodu s imobilizovanou GOD (enzym glukózaoxidáza) na

membráně. Na těchto membránách probíhá reakce znázorněná na obrázku č. 11. Enzym GOD je fixovaný na membráně biosenzoru a katalyzuje přeměnu glukózy na kyselinu glukonovou. Při této reakci vzniká peroxidu vodíku (H_2O_2), který je elektrochemicky detekován na platinové elektrodě.

Obrázek č. 11 Průběh reakce v biosenzoru glukometru SensoStar 30 GL Touch



(pracovní manuál k přístroji)

Analyzátor má kapacitu měření 180 vzorků za hodinu, na karusel lze umístit při měření jedné série až 30 vzorků. Přístroj disponuje přednostním stanovení vzorků s označením STATIM. K dispozici je čtečka čárových kódů, připojení k LIS (laboratorní informační systém) a automatický přenos dat. Po skončení měření jsou výsledky tištěny na externí tiskárně připojené k analyzátoru. Po spuštění nebo při statimovém stanovení vzorku analyzátor provádí automatické měření kontroly (SLP, SOPT-OKB-13).

Obrázek č. 12 Přístroj glukometr SensoStar GL 30 Touch „akutka“ (vlevo) a „hala“ (vpravo)



(zdroj vlastní)

4.1.2.1 Parametry metody

Pro stanovení koncentrace glukózy na glukometru SensoStar lze použít plnou krev odebranou do kapiláry (dodávané výrobcem/kalibrované kapiláry), která se vloží do zkumavky eppendorf s obsahem 1 ml systémového roztoku nebo lze koncentrace glukózy stanovit z krevního séra nebo plazmy.

Zkumavku s biologickým materiálem zcentrifugujeme a oddělíme sérum nebo plazmu. Pokud k separaci erytrocytů dojde do 30 min od odběru, je koncentrace glukózy ve vzorku stabilní 1 den při teplotě 20-25 °C a 7 dní při teplotě 4-8 °C. Jsou-li odebrané vzorky transportovány z detašovaných pracovišť, je nutné krev odebírat do zkumavek s obsahem protisrážlivého činidla EDTA a NaF, který zabrání glykolýze.

Před analýzou vzorku je důležité sérum (nebo jiný stanovovaný materiál) naředit v poměru 1:50 do mikrozkušavek (eppendorfký), v naší laboratoři ředíme 20 µl vzorku s 1 ml systémového roztoku (pokud je biologického materiálu malé množství, lze snížit použité objemy ředění, např. 10 µl séra a 500 µl systémového roztoku. Výslednou koncentraci glukózy je poté nutné vynásobit 2).

Systémový roztok GL 0007 dodávaný výrobcem je vodná směs fosfátového pufru o koncentraci 100 mmol/l, fluoridu sodného $c=1$ mmol/l, stabilizátoru a detergentu.

Měřicí rozsah metody je 0,6-50 mmol/l glukózy. Je-li výsledná koncentrace glukózy vyšší než 50 mmol/l, je nutné stanovení opakovat. Pokud je opakované měření i nadále vysoké, je nutné vzorek séra naředit systémovým roztokem v poměru 1:9 a výsledná koncentrace se vynásobí 10 x.

4.1.2.2 Kalibrace metody

Kalibrace přístroje se provádí každé ráno na začátku pracovní směny, po výměně biosenzoru nebo dle potřeby. Kalibraci provádí přístroj sám automaticky nebo lze kalibraci navolit manuálně v menu přístroje. Zkumavky eppendorf s kalibračním roztokem jsou uchovávány v lednici.

Použitý kalibrátor GL Standard FS je vodný kalibrační roztok určený k přímému použití o koncentraci glukózy 12 mmol/l.

4.1.2.3 Kontrola metody

Kontrola metody se provádí pomocí kontrolních roztoků, které jsou na karuselu ve zkumavkách eppendorf přítomny. Přístroj si kontrolu provádí sám před každou sérií měření nebo lze kontrolu přístroje provést navolením požadavku v menu přístroje.

Kontrolní roztoky BIO-LA-TEST® SOLUNORM jsou standardní stabilizované vodné roztoky o dvou hladinách, určené pro denní kontrolu. Kontrolní roztok číslo 1 má koncentraci glukózy 5 mmol/l, kontrolní roztok číslo 2 má koncentraci glukózy 10 mmol/l.

Pro účely této bakalářské práce byly statisticky zpracovány výsledky kontrolních vzorků získaných měření na glukometrech SensoStar 30 GL za období 1.12.2022 - 2.2.2023. Naměřené hodnoty kontrolních vzorků jsou v rámci vnitřní kontroly kvality laboratoře statisticky zpracovávány. Každé dva měsíce jsou údaje získané měření kontrol zpracovávány vysokoškolskými pracovníky a slouží ke sledování dlouhodobého trendu kontroly kvality. Hodnoty naměřených kontrolních vzorků a následné statistické zpracování jsou uvedeny v tabulkách č. 7 a 8. Tyto údaje jsou dále používány pro zpracování verifikačního protokolu, který je více popsán v kapitole 4.1.2.4 Verifikace metody.

Tabulka č. 7 Přehled naměřených kontrol na přístroji glukometr SensoStar GL 30 Touch „hala“ a „akutka“

Glukóza SensoStar GL 30 Touch KONTROLY ZMĚŘENÉ 1.12.2022 - 2.02.2023									
Název QC	SONO I Hala	SONO II Hala	SONO I Akutka	SONO II Akutka	Název QC	SONO I Hala	SONO II Hala	SONO I Akutka	SONO II Akutka
Šarže	2107019	2107019	2107019	2107019	Šarže	2107019	2107019	2107019	2107019
Atest (mmol/l)	4,8	9,8	4,4	9,8	Atest (mmol/l)	4,8	9,8	4,4	9,8
Atest (vyp)	4,8	9,84	4,93	9,8	Atest (vyp)	4,8	9,84	4,93	9,8
S (mmol/l)	0,14	0,3	0,22	0,3	S (mmol/l)	0,14	0,3	0,22	0,3
S (výpočet)	0,13	0,21	0,1	0,2	S (výpočet)	0,13	0,21	0,1	0,2
Dat.měř.	(mmol/l)	(mmol/l)	(mmol/l)	(mmol/l)	Dat.měř.	(mmol/l)	(mmol/l)	(mmol/l)	(mmol/l)
01.12.2022	4,99	10,1	4,92	9,85	02.01.2023	4,7	9,81	4,95	10
02.12.2022	4,89	10	4,93	9,86	03.01.2023			4,95	9,87
03.12.2022	5	9,81			04.01.2023	4,59	9,5	4,99	9,95
04.12.2022	4,7	9,76			05.01.2023	4,78	9,96	4,96	9,94
05.12.2022	4,74	9,81	4,85	9,87	06.01.2023	5,06	9,94	5,03	9,82
06.12.2022	4,71	10	5,06	10,1	07.01.2023	4,81	9,67	4,94	9,68
07.12.2022	4,69	9,89	4,72	10	08.01.2023			4,88	9,74
08.12.2022	4,75	9,76	4,99	9,97	09.01.2023	4,82	9,95	4,99	9,83
09.12.2022	4,81	9,31	4,77	9,48	10.01.2023	4,71	9,87		
10.12.2022	4,65	9,98	4,68	9,28	11.01.2023	4,74	9,78		
11.12.2022	4,83	9,79			12.01.2023	4,76	9,88	4,88	9,69
12.12.2022	4,81	9,77			13.01.2023	4,89	9,76	4,74	9,88
13.12.2022	4,89	10	4,91	9,85	14.01.2023	4,7	9,96	4,82	9,66
14.12.2022	4,73	10,1	4,9	9,96	15.01.2023	4,68	9,69	4,98	9,79
15.12.2022	4,61	9,76	4,92	9,87	16.01.2023	4,89	10,1	5	9,85
16.12.2022	4,61	9,76	4,97	9,86	17.01.2023	4,67	9,72		
17.12.2022	4,74	9,83			18.01.2023	4,69	9,96		
18.12.2022	4,79	9,9			19.01.2023	4,82	9,8	4,99	9,92
19.12.2022	4,86	10	4,99	9,8	20.01.2023	4,8	9,8	4,85	9,75
20.12.2022	4,8	9,75	4,83	9,65	21.01.2023	4,76	9,99	4,96	10
21.12.2022	4,75	9,89	4,98	9,85	22.01.2023	5,08	9,96		
22.12.2022	4,77	10	5,03	10	23.01.2023	4,68	9,75	4,9	9,73
23.12.2022	4,69	9,68	4,99	10	24.01.2023	5,05	10,4		
24.12.2022	4,83	9,81			25.01.2023	4,68	10,3		
25.12.2022	4,83	9,77	4,93	9,91	26.01.2023	4,68	10,1	4,92	9,89
26.12.2022	5,04	9,93			27.01.2023	4,72	9,98	4,9	9,74
27.12.2022	4,67	9,77	4,99	9,98	28.01.2023			5,01	9,9
28.12.2022	4,71	9,83	4,81	9,66	29.01.2023	4,85	10,1	4,89	9,8
29.12.2022	4,59	9,76	4,69	9,29	30.01.2023	4,75	9,73	4,86	9,81
30.12.2022	4,76	9,32	4,78	9,51	31.01.2023	4,72	9,93	4,88	9,69
31.12.2022	4,98	9,91			01.02.2023	4,81	9,73		
01.01.2023	4,88	10,1			02.02.2023	5	10		

Tabulka č. 8 Výpočty z hodnot uvedených v tabulce č. 7

Název QC	Atest Kont. (mmol/l)	SD (mmol/l)	Dmax SEKK (%)	N	$\bar{x}$ (mmol/l)	SD (mmol/l)	CV (%)	TEa (%)
SONO I Hala	4,80	0,14	15,00	63	4,784	0,119	2,48	5,30
SONO II Hala	9,80	0,30	15,00	63	9,868	0,187	1,90	4,50
SONO I Akutka	4,40	0,22	15,00	47	4,910	0,091	1,86	15,30
SONO II Akutka	9,8	0,3	15,0	47	9,821	0,172	1,75	3,72

SD směrodatná odchylka

Dmax povolená chyba uvedená v SEKK (%)

N počet měření

$\bar{x}$ aritmetický průměr

CV variační koeficient (%)

TEa total error, celková analytická chyba (%)

4.1.2.4 Verifikace metody

Verifikace metody byla provedena i na glukometrech SensoStar GL 30 Touch „hala“ a „akutka“. Data použitá pro verifikační protokol jsou uvedena v tabulce č. 7. Verifikační protokoly jsou uvedeny v příloze č. 3 – 6.

Na glukometrech „hala“ a „akutka“ bylo v období od 1.12.2022 - 2.2.2023 provedeno měření kontrolního materiálu (název QC) SONO I a SONO II. Na glukometru SensoStar „hala“ bylo v daném období provedeno 63 měření na obou hladinách a na glukometru SensoStar „akutka“ bylo v daném období provedeno 47 měření. Ze získaných dat byl vypočten aritmetický průměr ($\bar{x}$), směrodatná odchylka (SD) a mezilehlá preciznost (CV), vypočtené hodnoty jsou uvedeny v tabulce č. 8. Podle doporučení ČSKB v podmínkách pro analytickou kvalitu měření hodnota CV má být nižší <2,5 %.

Tabulka č. 9 Výsledky CV na glukometrech

CV (%)	„hala“	„akutka“
SONO 1	2,487	1,853
SONO 2	1,895	1,743

Podle výsledků, uvedených v tabulce č. 9, metoda použitá pro stanovení glukózy na glukometrech „hala“ a „akutka“ doporučení ČSKB splňuje.

Druhá část verifikačního protokolu je zaměřena na výpočet opakovatelnosti a bias. Data pro výpočet opakovatelnosti byla měřena v sérii deseti měření na dvou hladinách referenčního materiálu GLC 2/21 6569 (vzorek A) a GLC 2/21 6570 (vzorek B), měření opakovatelnosti proběhlo na obou glukometrech SensoStar GL 30. Ze získaných dat byl vypočten aritmetický průměr, směrodatná odchylka, variační koeficient a bias. Pro výpočet bias je nutné znát hodnotu referenčního materiálu, kterou uvádí výrobce ve validačním protokolu pro vzorky použité v EHK.

Další hodnota, která nás pro hodnocení metody zajímá je výsledek relativní kombinované rozšířené nejistoty $U_{c, rel} (\%)$, ta nesmí přesáhnout D_{max} SEKK. Doporučený přijatelný rozdíl D_{max} SEKK v programu GLC (stanovení glukózy včetně glukometru) je 15 %.

Tabulka č. 10 Výsledky relativní kombinované rozšířené nejistoty

$U_{c, rel} (\%)$.	„hala“	„akutka“
Vzorek A	4,974	3,706
Vzorek B	3,790	3,486

Podle výsledků uvedených v tabulce č. 10 je zřejmé, že kombinovaná rozšířená nejistota splňuje požadavky D_{max} GLC.

Pro stanovení koncentrace glukózy na přístrojích glukometr SensoStar GL 30 Touch „hala“ a „akutka“, bylo ze získaných dat zjištěno, že je metoda vhodná ke klinickému použití.

4.1.3 Osobní glukometr Contour plus

Tímto POCT přístrojem lze stanovit koncentraci glukózy ve vzorku žilní a kapilární krve v rozmezí 0,6-33,3 mmol/l. Stanovení probíhá pomocí testovacích proužků. Přístroj nasaje 0,6 µl vzorku a výsledek vyhodnotí zhruba do 5 sekund. Tyto osobní glukometry se nepoužívají jako diagnostické nástroje pro potvrzení onemocnění cukrovky, ale slouží pouze k udávání aktuální koncentrace glukózy v krvi pacienta a používají se jako POCT přístroje (point of care testing) například u lůžka pacienta na lůžkových odděleních, v ordinaci praktického lékaře nebo je diabetici používají doma pro sledování hladiny glukózy.

Principem stanovení je měření elektrického proudu, který při reakci vzniká. Na testovacím proužku se nachází oblast mediátoru a enzymu FAD-dependentní glukózo-dehydrogenázy, které reagují s glukózou v krvi pacienta. Reakcí se vytváří proud, který je přímo úměrný koncentraci glukózy ve vzorku (uživatelská příručka).

Obrázek č. 13 Osobní glukometr Contour plus



(zdroj vlastní)

4.1.3.1 Kalibrace přístroje a kontrola kvality

Osobní glukometry jsou pravidelně kontrolovány (4x ročně, dle interních předpisů ONP PP021-Provoz glukometrů v režimu POCT) na oddělení OKB vysokoškolskými pracovníky, a to pouze s kontrolami dodávanými výrobcem označeny Contour plus CONTROL (použitá šarže LOT DP2EQHH07A), které jsou na oddělení dostupné.

Kontroly jsou dodávány ve třech hladinách označených L-low ($c = 2,1-2,8$ mmol/l), hladina N-normal ($c = 6,1-8,0$ mmol/l) a hladina H-high ($c = 18,2-23,7$ mmol/l). Má-li zdravotní personál podezření, že glukometr nepracuje správně nebo výsledky vycházejí opakovaně mimo očekávané rozmezí, dojde ke kontrole přístroje dříve.

V rámci kontroly je prováděna také návaznost výsledků s laboratoří a měření cyklu EHK GLC: Stanovení glukózy včetně glukometrů 2x za rok.

4.2 Pracovní postup zpracování vzorků na přístrojích

4.2.1 Zpracování vzorků na přístroji Abbott Architect

Vzorky byly po příjmu do LIS zcentrifugovány a sérum bylo alikvotováno do zkumavek. Z alikvotovaných sér jsem vybrala třicet náhodných vzorků, které jsem si označila čísly 1-30 a vložila do přístroje, který pracuje automaticky dle navolených požadavků. Výsledné hodnoty jsou uvedeny v tabulce č. 11.

4.2.1.1 Složení reagensů a spotřební materiál

- Reagencie R1
- Reagencie R2
- Alikvotační zkumavky

4.2.2 Zpracování vzorků na přístroji SensoStar

Dalším přístrojem pro stanovení glukózy byl glukometr SensoStar od firmy BioVendor, které máme v naší laboratoři dva, pracovníě označené jako Glukometr „hala“ a Glukometr „akutka“.

Před samotným stanovením koncentrací je potřeba vzorek séra naředit. Do mikrozkušavek (eppendorf) dám pomocí automatické pipety 1 ml systémového roztoku a k tomu přidám 20 μ l séra pacienta. Každou mikrozkušavku označím stejným číslem jako je číslo vzorku pacienta. Všechny vzorky jsem promísila pomocí přístroje Vortex a vložila do karuselu přístroje. Na ovládacím displeji přístroje jsem zvolila START a ten začal se samotným měřením. Po skončení měření na glukometru „hala“ jsem vzorky z karuselu vyndala a umístila je do glukometru „akutka“ a opět jsem spustila měřicí proces. Výsledky z každého přístroje jsme uvedla do tabulky č. 11.

4.2.2.1 *Složení reagensí a spotřební materiál*

- Systémový roztok GL 0007
- Automatická pipeta o objemu 20 µl a 1 ml
- Jednorázové špičky
- Zkumavky eppendorf
- Kalibrátor GL Standard FS 12 mmol/l
- Kontrolní séra Solunorm

4.2.3 *Zpracování vzorků na přístroji Contour plus*

Poslední přístroj, který jsme k porovnání koncentrací glukózy použila, byl osobní glukometr Contour plus od výrobce Bayer. Tyto přístroje se používají jako POCT technika u lůžkových pacientů na odděleních ONP.

Pomocí automatické pipety jsem si na Petriho misce vytvořila kapku zkoumaného séra. Testovací proužek jsem zasunula šedým koncem do zdířky glukometru, přístroj se rozsvítil a na display se zobrazil symbol proužku s blikající kapkou. Proužek jsem druhým koncem ponořila do kapky séra, kde jsem jej nechala, dokud glukometr nezapípal. Do 5 sekund se na displeji zobrazil výsledek, který jsem si zaznamenala. Takto postupuji u všech třiceti vzorků zkoumaných sér. Výsledky koncentrace glukóz u patientských vzorků jsou uvedeny v tabulce č. 11.

4.2.3.1 *Spotřební materiál*

- Osobní glukometr
- Testovací proužky
- Petriho miska
- Automatická pipeta
- Jednorázové špičky

4.3 Zpracování naměřených dat pacientů

Pro stanovení hladiny glukózy a k porovnání výsledných koncentrací analytu na jednotlivých přístrojích jsem si náhodně vybrala 30 vzorků sér od různých pacientů a zkumavky označila čísly 1-30.

Odběr krve byl u pacientů proveden do plastových zkumavek Vacuette firmy Greiner a separace séra proběhla dle preanalytických předpisů (centrifugace 3500 ot/4 min). Následně jsem vzorky sér na všech přístrojích změřila a výsledné hodnoty zaznamenala do tabulky č. 11.

Ze získaných dat jsem pomocí statistické metody, lineární regresní analýzy, porovnála výsledné koncentrace glukóz měřených na přístrojích a zaznamenala do grafu.

4.3.1 Lineární regresní analýza

Je statistická metoda hodnocení linearitu dvou hodnot. Na ose X jsou uvedeny hodnoty nezávisle proměnné a na ose Y jsou hodnoty závisle proměnné. Výsledkem lineární regrese je přímka ve tvaru $y = ax + b$

4.3.2 Korelační koeficient

Popisuje nám vztah mezi dvěma hodnotami, které se navzájem ovlivňují. Hodnota korelačního koeficient označovaného v grafu jako R^2 by neměla klesnout pod hodnotu 0,95.

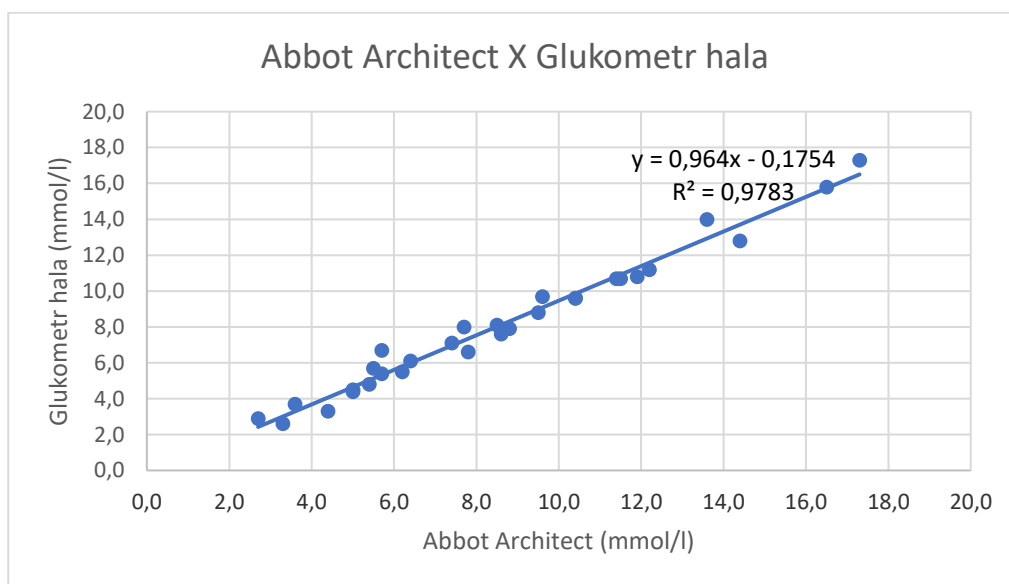
Tabulka č. 11 Měření patientských vzorků

Měření koncentrací glukózy na přístrojích v laboratoři OKB ON Příbram a.s.				
Přístroj	Abbott Architect	Glukometr hala	Glukometr akutka	Osobní glukometr
Číslo pacienta	Hodnoty (mmol/l)	Hodnoty (mmol/l)	Hodnoty (mmol/l)	Hodnoty (mmol/l)
1	17,3	17,3	15,9	17,5
2	4,4	3,3	3,6	4,6
3	5,0	4,4	4,3	5,1
4	6,4	6,1	5,6	6,6
5	12,2	11,2	10,6	13,3
6	11,9	10,8	10,4	12,3
7	14,4	12,8	12,4	14,8
8	7,8	6,6	6,4	8,4
9	11,5	10,7	10,1	11,9
10	8,8	7,9	7,4	8,8
11	9,5	8,8	8,4	9,9
12	8,5	8,1	7,6	8,8
13	11,4	10,7	10,8	11,3
14	6,2	5,5	5,5	6,7
15	16,5	15,8	14,6	17,6
16	3,3	2,6	3,1	3,4
17	5,7	5,4	5,5	5,6
18	7,7	8,0	7,3	8,1
19	10,4	9,6	9,1	10,2
20	10,4	9,6	9,2	11,9
21	5,4	4,8	4,6	5,7
22	7,4	7,1	6,7	7,1
23	5,0	4,5	4,7	4,8
24	5,5	5,7	5,5	4,6
25	9,6	9,7	9,3	9,6
26	3,6	3,7	3,6	3,4
27	2,7	2,9	2,8	2,8
28	5,7	6,7	5,7	5,4
29	13,6	14,0	13,1	14,1
30	8,6	7,6	8,4	8,8

4.3.3 Srovnání koncentrací glukózy naměřených na přístroji Abbott Architect a glukometr SensoStar „hala“

První graf (obrázek č. 14) porovnává naměřené koncentrace glukózy na přístroji Abbott Architect a na automatickém glukometru SensoStar GL 30 Touch „hala“. Výsledkem této analýzy je rovnice regrese a korelační koeficient R^2 .

Obrázek č. 14 Graf srovnání výsledků naměřených na přístroji Abbott Architect a glukometr SensoStar GL 30 Touch „hala“

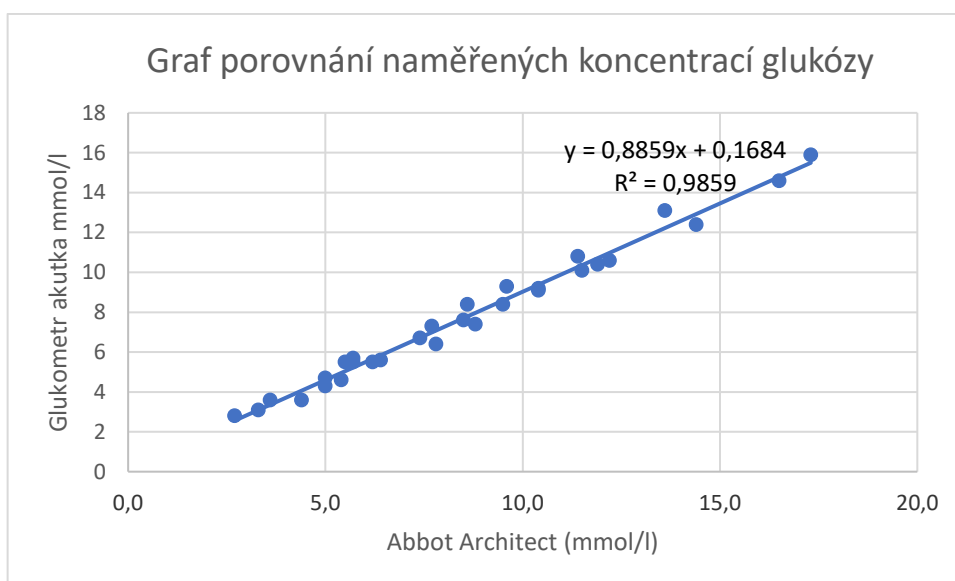


Pro dobrou shodu výsledků mezi přístroji by hodnota korelačního koeficientu R^2 neměla být nižší než 0,95. V našem případě je hodnota R^2 0,9783, což nám ukazuje na velmi dobrou shodu porovnávaných přístrojů Abbott Architect a glukometr SensoStar „hala“.

4.3.4 Srovnání koncentrací glukózy naměřených na přístroji Abbott Architect a glukometru SensoStar „akutka“

V grafu (obrázek č. 15) porovnáváme přístroje Abbott Architect a glukometr SensoStar „akutka“. Na ose X jsou hodnoty nezávisle proměnné získané měřením na přístroji Abbott Architect a na ose Y jsou hodnoty závisle proměnné, jde o koncentrace glukóz měřené na přístroji glukometr SensoStar „akutka“.

Obrázek č. 15 Graf srovnání výsledků naměřených na přístroji Abbott Architect a glukometr SensoStar GL 30 Touch „akutka“

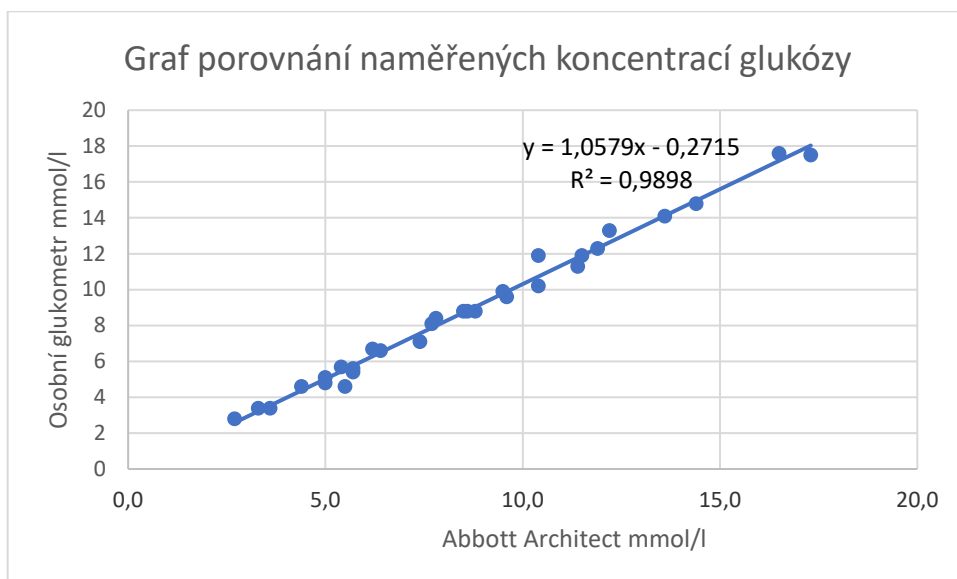


Hodnota R^2 je 0,9859, výsledek je opět vyšší než 0,95, což opět dokazuje velmi dobrou shodu porovnávaných přístrojů.

4.3.5 Srovnání koncentrací glukózy naměřených na přístroji Abbott Architect a osobním glukometru Contour Plus

Další lineární regresní analýza znázorněná na grafu (obrázek č. 16) porovnává koncentrace glukóz získaných měřením na přístroji Abbott Architect a na osobním glukometru Contour Plus.

Obrázek č. 16 Graf srovnání výsledků naměřených na přístroji Abbott Architect a osobním glukometru Contour plus

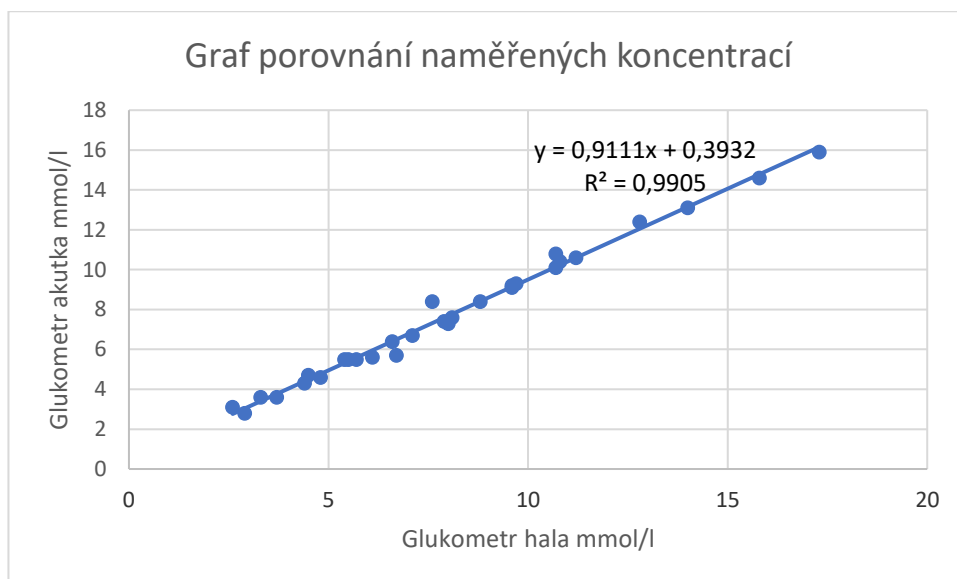


Korelační koeficient R^2 má hodnotu 0,989. Hodnota korelačního koeficientu opět dokazuje velmi dobrou shodu měření mezi použitými přístroji.

4.3.6 Srovnání koncentrací glukózy naměřených na přístroji glukometr „hala“ a glukometr „akutka“

Poslední graf (obrázek č. 17) znázorňuje porovnání koncentrací glukózy měřených na automatických glukometrech SensoStar. Hodnoty stanovené na glukometru „hala“ jsou vyneseny na ose X a hodnoty získané měřením na glukometru „akutka“ jsou znázorněny na ose Y.

Obrázek č. 17 Graf srovnání výsledků naměřených na přístrojích glukometr GL 30 Touch „hala“ a „akutka“



I v tomto případě je korelační koeficient vyšší jak 0,95 v tomto případě R^2 vyšlo 0,9905 což opět dokazuje na velmi dobrou shodu měření mezi glukometry.

5 Diskuze

Tématem mé bakalářské práce bylo stanovit koncentrace glukóz ve třiceti náhodných vzorcích sér různými analytickými systémy. Stanovení jsem provedla v laboratoři klinické biochemie Oblastní nemocnice Příbram a.s. Měření koncentrací glukóz proběhlo na čtyřech přístrojích, které v této laboratoři ke stanovení tohoto analytu používáme. Při psaní této práce jsem se podrobně seznámila s přístrojovou technikou, která byla ke stanovení koncentrace glukóz použita a také jsem se seznámila s jednotlivými principy, které přístroje k měření využívají. Nadále jsem se zaměřila na sledování analytických znaků metody a proces verifikace.

Stanovení koncentrace glukózy v krvi slouží jako nástroj k odhalení onemocnění diabetes mellitus a používá se ke sledování průběhu této nemoci. Diabetes mellitus neboli cukrovka je celosvětový společenský problém, který je již několik let na vzestupu a ohrožuje všechny věkové kategorie.

Samotná laboratorní diagnostika se dělí na tři fáze: preanalytická, která zahrnuje přípravu pacienta, odběr a transport vzorku do laboratoře. Druhá fáze, analytická, zahrnuje nejen samotné stanovení vzorku, ale také přípravu přístroje (kalibrace a kontrola přístroje). Poslední fáze laboratorní diagnostiky je fáze postanalytická, při které dochází k interpretaci výsledků lékařům. Pro zajištění co nejlepších výsledků je nutné dodržet preanalytickou a analytickou fázi. Špatně poučený pacient, nedostatečný nebo nesprávně provedený odběr, chybně nastavený nebo zkontrolovaný přístroj, kvalita reagensů a chybná kalibrace metody mohou ovlivnit výsledné koncentrace analytu. Kvalifikovanost personálu je dalším faktorem ovlivňujícím kvalitu výsledku. Pracovníci laboratoře musí dodržovat pravidla správné laboratorní praxe (SLP).

6 Závěr

Cílem této bakalářské práce bylo sledovat kontrolu kvality stanovení koncentrace glukózy na přístrojích Abbott Architect c16000 a glukometrech SensoStar GL 30 Touch. Na vyhodnocení IKK navazovala verifikace metody na těchto přístrojích.

Dalším cílem bylo zpracování koncentrace glukózy 30 patientských vzorků na měřících systémech používaných v naší laboratoři, Abbot Architect c16000, glukometry SensoStar GL 30 Touch a osbní glukometr Contour Plus.

Hypotéza 1 byla potvrzena. Sledované analytické znaky metody odpovídají požadavkům uvedeným v Doporučení ČSKB. Mezilehlá preciznost získaná měřeními kontrolních vzorků na přístrojích Abbott Architect c16000 a glukometrech SensoStar v období prosinec 2022 – leden 2023 nepřesáhla hodnotu 2,5 %. V Doporučení ČSKB je hodnota CV <2,5 % hraniční.

Hypotéza 2 byla potvrzena. Měřeními kontrolních vzorků na přístrojích Abbott Architect c16000 a glukometrech SensoStar GL 30 Touch byly výsledné koncentrace zpracovány ve verifikačním protokolu. Metody jsou vhodné pro klinické použití, ani v jednom případě nepřekročila vypočítaná nejistota povolenou hranici $D_{\max}$.

Hypotéza 3 byla potvrzena. Vzorky 30 pacientů byly změřeny na přístrojích Abbott Architect c16000, na obou glukometrech SensoStar GL 30 Touch a osobním glukometru Contour Plus. Přístroj Abbott Architect používá k měření koncentrace glukózy hexokinázovou metodu, která je považována za metodu referenční. Výsledné koncentrace glukózy byly porovnány lineární regresní analýzou vztaženou právě k přístroji Abbott Architect a byl vypočten korelační koeficient. Hodnota korelačního koeficientu nesmí být nižší než 0,95. Na přístroji glukometr SensoStar „hala“ vyšel výsledek R^2 0,9783 a na glukometru označeném jako „akutka“ vyšel výsledek R^2 0,9859. získané výsledky dokazují velmi dobrou shodu měření mezi přístroji.

Hypotéza 4 byla potvrzena. Vzorky 30 pacientů byly změřeny na přístrojích Abbott Architect c16000 a na osobním glukometru Contour Plus. Přístroj Abbott Architect používá k měření koncentrace glukózy hexokinázovou metodu, která je považována za metodu referenční. Výsledné koncentrace glukózy byly porovnány lineární regresní analýzou vztaženou právě k přístroji Abbott Architect a byl vypočten korelační koeficient. Hodnota korelačního koeficientu nesmí být nižší než 0,95. Výsledek

korelačního koeficientu na osobním glukometru Contour Plus je $R^2 0,9898$, což dokazuje velmi dobrou shodu měření mezi přístroji.

Hypotéza 5 byla potvrzena. Vzorky 30 pacientů byly změřeny na glukometrech SensoStar GL 30 Touch „hala“ a „akutka“. Výsledné koncentrace glukózy byly porovnány lineární regresní analýzou a byl vypočten korelační koeficient. Výsledek korelačního koeficientu je $R^2 0,9905$. Získané výsledky dokazují na velmi dobrou shodu měření mezi glukometry.

7 Seznam použité literatury

1. BAYER HEALTHCARE, *Uživatelská příručka Contour Plus*. Praha: Promedica Praha Group, a.s., 2012
2. BIOLATEST[®], *Příbalový leták Lyonorm HUM N (LYO HUM N 10x5)*. Brno: Erba Lachema s.r.o., 2011
3. BIOLATEST[®], *Příbalový leták Lyonorm HUM P (LYO HUM P 10x5)*. Brno: PLIVA-Lachema Diagnostika s.r.o., 2010
4. BIOLATEST[®], *Příbalový leták Lyonorm kalibrátor (LYO KAL 10x3)*. Brno: Erba Lachema s.r.o., 2011
5. BIOLATEST[®], *Příbalový leták Solunorm*. Brno: Erba Lachema s.r.o., 2020
6. ČERMÁKOVÁ, M., ŠTĚPÁNOVÁ, I. *Klinická biochemie 1. díl*. Brno: vydavatelství Idvpz, 2003. ISBN 80-7013-372-4
7. ČERNÁ, Iva. *Bakalářská práce: Vliv preanalytické fáze na vyšetření glukózy a kália v krvi*. České Budějovice: Jihočeská univerzita, 2018.
8. DOSTÁL, Jiří, Hana PAULOVÁ, Jiří SLANINA a Eva TÁBORSKÁ. *Biochemie pro bakaláře*. Brno: vydavatelství MU, 2005. ISBN 80-210-3232-4
9. ERBA[®] MANNHEIM XL SYSPACK. *Návod k použití Glucose HK*. Brno: Erba Lachema s.r.o., 2020
10. FLEKAČ, M., 2022. Time in range: nový parametr v diabetologii. *Vnitř lék.* 2022;68(5):315-323. ISSN 0042-773X
11. HAZULÍK, Martin. *Praktická léčba diabetu*. Praha: Mladá fronta a.s. 2009. ISBN 978-80-204-2071-8
12. Internetový zdroj č. 1. Fotosyntéza: projects.czu.cz/ef/p3p1.html (staženo 13.3.2023)
13. Internetový zdroj č. 2. Glukóza: <https://www.cukrovka.cz/glukoza> (staženo 12.3.2023)
14. Internetový zdroj č. 3. Dělení diabetu: <https://www.cukrovka.cz/deleni-diabetu> (staženo 8.4.2023)
15. Internetový zdroj č. 4. Metabolismus sacharidů: <https://slideplayer.cz/slide/11711486/> (staženo 8.4.2023)
16. Internetový zdroj č. 5. Doporučení ČSKB - Diabetes mellitus_laboratorní diagnostika a sledování stavu pacientů revize 2020, https://www.cskb.cz/wp-content/uploads/2020/11/DM_doporuceni-revize-2020.pdf (staženo 23.04.2023)

17. Internetový zdroj č. 6. Cykly EHK. Analyty krevního séra. <http://sekk.cz/> (staženo 23.04.2023)
18. Internetový zdroj č. 7. KAREN, Igor, SVAČINA Štěpán. *Prediabetes novelizace 2022*. <https://www.svl.cz/files/files/Doporucene-postupy/2020/DP-PREDIABETES-2022.pdf> (staženo 25.4.2023)
19. Internetový zdroj č. 8. *Metrologická terminologie*. http://sekk.cz/terminologie/index.php?akce=terminologie#rejstrik_P (staženo dne 25.4.2023).
20. KAREN, Igor, Štěpán SVAČINA a kol. *Diabetes mellitus v primární péči*. Praha: Axonite CZ, 2011. ISBN 978-80-904899-0-5
21. PERUŠIČOVÁ, Jindřiška. *Diabetes mellitus onemocnění celého organismu*. Praha: Maxdorf s.r.o. 2017. ISBN 978-80-7345-512-5
22. RACEK, Jaroslav a RAJDL Daniel et al. *Klinická biochemie 3., přepra. a rozš. vydání*. Praha: Galén, 2021. ISBN 978-80-7492-545-0
23. SKOUMALOVÁ, A. Glykolýza, glukoneogeneze, regulace: <http://biochemie.lf2.cuni.cz/cesky/biox2zimni/prednasky/Glykolyza%20a%20glukoneogeneze%20%5BRe%C5%BEim%20kompatibility%5D.pdf> (staženo 8.4.2023)
24. ŠKRHA, Jan et al. *Diabetologie*. Praha: Galén, 2009. ISBN 978-80-7262-607-6
25. ŠTERN, Petr a kol. autorů. *Obecná a klinická biochemie*. Praha: Univerzita Karlova, 2005. ISBN 80-246-1025-6
26. ZIMA, Tomáš hlavní autor a pořadatel. *Laboratorní diagnostika, třetí, doplněné a přepracované vydání*. Praha: Galén, 2013. ISBN 978-80-7492-062-2

8 Seznam zkratek

ADP	adenosindifosfát
AKS	analyty krevního séra
ATP	adenosintrifosfát
BIAS	systematická chyba
CE	conformite européene
CMG	continuous glucose monitoring
CV	variační koeficient
ČSKB	Česká společnost klinické biochemie
DM	diabetes mellitus
DM I. TYPU	diabetes mellitus prvního typu
DM II. TYPU	diabetes mellitus druhého typu
EDTA	protisrážlivé činidlo kyselina ethylendiamintetraoctová
EHK	externí hodnocení kvality
FGM	okamžité monitorování glukózy
FPG	plazmatická koncentrace glukózy v žilní krvi nalačno
GDM	gestační diabetes mellitus
GOD	enzym glukozooxidáza
G-6-P	glukóza-6-fosfát
G-1-P	glukóza-1-fosfát
HbA1c	frakce glykovaného hemoglobinu
HK	hexokináza
IDDM	diabetes mellitus závislý na inzulínu
IFG	zvýšená koncentrace glukózy nalačno
IKK	interní kontrola kvality
IVD MD	in vitro diagnostic – medical devices
LIS	laboratorní informační systém

NADPH	nikotinamidadenindinukleotidfosfát
NIDDM	diabetes mellitus nezávislý na inzulínu
oGTT	orálně glukózový toleranční test
OKB	oddělení klinické biochemie
ONP	oblastní nemocnice Příbram
PDM	prediabetes
pH	záporný dekadický logaritmus vodíkových iontů
POCT	point of care testing
POD	enzym peroxidáza
SEKK	systém externí kontroly kvality
SLP	správná laboratorní praxe (informační systém pro klinické laboratoře)
TE	celková chyba (total error)
TIR	time in range

9 Přílohy

Seznam příloh:

Příloha č. 1 Verifikační protokol Abbott Architect c16000 1A

Příloha č. 2 Verifikační protokol Abbott Architect c16000 1B

Příloha č. 3 Verifikační protokol glukometr SensoStar „akutka“ 2A

Příloha č. 4 Verifikační protokol glukometr SensoStar „akutka“ 2B

Příloha č. 5 Verifikační protokol glukometr SensoStar „hala“ 3A

Příloha č. 6 Verifikační protokol glukometr SensoStar „hala“ 3B

Příloha č. 1 Verifikační protokol Abbott Architect c16000 1A

Verifikační protokol: Verifikační protokol ze dne 31.01.2023 Glukóza

Metoda: Glukóza Název soupravy: GLUCOSE HK 330
 Analyzátor: Architect c16000 Výrobce: Erba Lachema s.r.o.
 Vyhodnotil: Štecherová Katalogové číslo: XSYS0095
 Datum: 31.01.2023

Mezilehlá preciznost

	Datum (od - do)	Použitý materiál	Počet hodnot	Průměr	SD	CV	CV výrobce
Vzorek 1	01.12.2022 - 31.01.2023	Lyonorm HUM N	70	5,076	0,081	1,595	5,000
Vzorek 2	01.12.2022 - 31.01.2023	Lyonorm HUM P	70	13,067	0,162	1,239	4,900
Vzorek 3							

Nejistota kalibrátoru: 0,400 %

Ostatní nejistoty - druh	Vzorek 1	Vzorek 2	Vzorek 3	Jednotky

Opakovatelnost, bias

Provedl: Štecherová Použitý materiál: Vzorek A = AKS 6896
 Datum: 29.01.2023 Vzorek B = AKS 6506
 Vzorek C =

Výsledné hodnoty:

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Vzorek A	7,000	7,000	7,000	7,000	7,000	7,000	7,000	7,000	7,000	6,990
hodnoty 11-20										
hodnoty 21-30										
hodnoty 31-40										
hodnoty 41-50										
Vzorek B	13,200	13,300	13,200	13,200	13,300	13,200	13,300	13,300	13,300	13,200
hodnoty 11-20										
hodnoty 21-30										
hodnoty 31-40										
hodnoty 41-50										
Vzorek C										
hodnoty 11-20										
hodnoty 21-30										
hodnoty 31-40										
hodnoty 41-50										

	Vzorek A	Vzorek B	Vzorek C	Jednotky
Průměr	6,999	13,250		mmol/l
Cílová hodnota	6,899	13,890		mmol/l
Nejistota ref. materiálu	0,500	0,500		%
SD	0,003	0,052		mmol/l
CV	0,045	0,397		%
CV výrobce	2,600	2,400		%
b _{rel}	1,449	-4,607		%
významnost bias				

Příloha č. 1 Verifikační protokol Abbott Architect c16000 1B

Verifikační protokol: Verifikační protokol ze dne 31.01.2023 Glukóza

Biologické variability

Intraindividuální biologická variabilita (CV_i) =	5,6	Přesnost odvozená z biologických variabilit (I_{biol}) =	2,8
Interindividuální biologická variabilita (CV_g) =	7,5	Bias odvozený z biologických variabilit (B_{biol}) =	2,3
Celková biologická variabilita =	9,3	Celková chyba odvozená z biologických variabilit (TE_{biol}) =	6,9

Relativní kombinovaná rozšířená nejistota ($k = 2$)

	$U_{c,rel}$ (%)	pro cílovou hodn.	Výsledek měření se pohybuje v tomto intervalu (při 95% intervalu spolehlivosti)	Kritická difference dvou následných měření (hodnota CD %)
Vzorek 1	3,290	5,076	4,908 - 5,243	Vzorek 1 16,1
Vzorek 2	2,605	13,067	12,726 - 13,407	Vzorek 2 15,9
Vzorek 3				Vzorek 3

Maximální přípustná nejistota určena:

a) odvozením z biologických variabilit - maximální přípustná nejistota = Intraindividuální biologická variabilita (CV_i)

d) podle D_{max} EHK: 8,000 Zdroj: D_{max} SEKK

Vyhodnocení nejistoty

Vzorek 1:

Kombinovaná rozšířená nejistota splňuje požadavky: biologických variabilit, D_{max} EHK.

Vzorek 2:

Kombinovaná rozšířená nejistota splňuje požadavky: biologických variabilit, D_{max} EHK.

Vzorek 3:

Pracovní rozsah metody:

Ostatní znaky metody:

Senzitivita, specifita:

Závěr:

Metoda je vhodná ke klinickému použití. Hodnota kombinované nejistoty je vyhovující vzhledem k požadavkům TMU SEKK.

Datum schválení: 31.01.2023

Schválil: ing. Náprstkova Iveta

Platnost do: 31.01.2024

Příloha č. 3 Verifikační protokol glukometr SensoStar „akutka“ 2A

Verifikační protokol: Verifikační protokol ze dne 31.01.2023 glukometr Sensostar akutka

Metoda: Glukóza v plasmě Název soupravy: Systémový roztok pro glukózové analyzátoři
 Analyzátor: Glukometr SensoStar Výrobce: BioVendor-Laboratorní medicína a.s.
 Vyhodnotil: Štecherová Katalogové číslo: GL 0007
 Datum: 31.01.2023

Mezilehlá preciznost

	Datum (od - do)	Použitý materiál	Počet hodnot	Průměr	SD	CV	CV výrobce
Vzorek 1	01.12.2022 - 31.01.2023	Solunorm N	47	4,910	0,091	1,853	2,000
Vzorek 2	01.12.2022 - 31.01.2023	Solunorm P	47	9,808	0,171	1,743	2,000
Vzorek 3							

Nejistota kalibrátoru:

Ostatní nejistoty - druh	Vzorek 1	Vzorek 2	Vzorek 3	Jednotky

Opakovatelnost, bias

Provedl: Štecherová
 Datum: 29.01.2023

Použitý materiál: Vzorek A = GLC 2/21 6569
 Vzorek B = GLC 2/21 6570
 Vzorek C =

Výsledné hodnoty:

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Vzorek A	3,830	3,780	3,750	3,820	3,740	3,830	3,780	3,780	3,790	3,840
hodnoty 11-20										
hodnoty 21-30										
hodnoty 31-40										
hodnoty 41-50										
Vzorek B	13,200	13,200	13,300	13,300	14,000	13,400	13,400	13,300	13,400	13,400
hodnoty 11-20										
hodnoty 21-30										
hodnoty 31-40										
hodnoty 41-50										
Vzorek C										
hodnoty 11-20										
hodnoty 21-30										
hodnoty 31-40										
hodnoty 41-50										

	Vzorek A	Vzorek B	Vzorek C	Jednotky
Průměr	3,794	13,390		mmol/l
Cílová hodnota	4,311	14,520		mmol/l
Nejistota ref. materiálu	0,500	0,500		%
SD	0,034	0,228		mmol/l
CV	0,914	1,704		%
CV výrobce	6,300	5,200		%
b _{rel}	-11,992	-7,782		%
významnost bias		významný		

Příloha č. 4 Verifikační protokol glukometr SensoStar „akutka“ 2B

Verifikační protokol: Verifikační protokol ze dne 31.01.2023 glukometr Sensostar akutka

Biologické variability

Intraindividuální biologická variabilita (CV_i) =	7,3	Přesnost odvozená z biologických variabilit (I_{biol}) =	3,6
Interindividuální biologická variabilita (CV_g) =	10,3	Bias odvozený z biologických variabilit (B_{biol}) =	3,1
Celková biologická variabilita =	12,6	Celková chyba odvozená z biologických variabilit (TE_{biol}) =	9,1

Relativní kombinovaná rozšířená nejistota ($k = 2$)

	$U_{p,rel}$ (%)	pro cílovou hodn.	Výsledek měření se pohybuje v tomto intervalu (při 95% intervalu spolehlivosti)	Kritická difference dvou následných měření (hodnota CD %)
Vzorek 1	3,706	4,910	4,728 - 5,092	Vzorek 1 20,9
Vzorek 2	3,486	9,808	9,466 - 10,150	Vzorek 2 20,8
Vzorek 3				Vzorek 3

Maximální přípustná nejistota určena:

a) odvozením z biologických variabilit - maximální přípustná nejistota = Intraindividuální biologická variabilita (CV_i)

d) podle D_{max} EHK: 15,000 Zdroj EHK SEKK

Vyhodnocení nejistoty

Vzorek 1:

Kombinovaná rozšířená nejistota splňuje požadavky: biologických variabilit, D_{max} EHK.

Vzorek 2:

Kombinovaná rozšířená nejistota splňuje požadavky: biologických variabilit, D_{max} EHK.

Vzorek 3:

Pracovní rozsah metody:

Ostatní znaky metody:

six sigma = $(TMU - b/f) / CV$

Senzitivita, specifčnost:

Závěr:

Metoda je vhodná ke klinickému použití. Hodnota kombinované nejistoty je vyhovující vzhledem k požadavkům TMU SEKK.

Datum schválení: 31.01.2023

Schválil: ing. Náprstková Iveta

Platnost do: 31.01.2024

Příloha č. 5 Verifikační protokol glukometr SensoStar „hala“ 3A

Verifikační protokol: Verifikační protokol ze dne 31.01.2023 glukometr Sensostar hala

Metoda: Glukóza v plasmě
 Analyzátor: Glukometr SensoStar
 Vyhodnotil: Štecherová
 Datum: 31.01.2023

Název soupravy: Systémový roztok pro glukózové analyzátoři
 Výrobce: BioVendor-Laboratorní medicína a.s.
 Katalogové číslo: GL 0007

Mezilehlá preciznost

	Datum (od - do)	Použitý materiál	Počet hodnot	Průměr	SD	CV	CV výrobce
Vzorek 1	01.12.2022 - 31.01.2023	Solunorm N	63	4,784	0,119	2,487	2,000
Vzorek 2	01.12.2022 - 31.01.2023	Solunorm P	63	9,868	0,187	1,895	2,000
Vzorek 3							

Nejistota kalibrátoru:

Ostatní nejistoty - druh	Vzorek 1	Vzorek 2	Vzorek 3	Jednotky

Opakovatelnost, bias

Provedl: Štecherová
 Datum: 29.01.2023

Použitý materiál: Vzorek A = GLC 2/21 6569
 Vzorek B = GLC 2/21 6570
 Vzorek C =

Výsledné hodnoty:

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Vzorek A	3,850	3,780	3,780	3,820	3,770	3,870	3,850	3,820	3,820	3,840
hodnoty 11-20										
hodnoty 21-30										
hodnoty 31-40										
hodnoty 41-50										
Vzorek B	13,600	13,200	13,200	13,200	14,000	13,400	13,200	13,300	13,400	13,400
hodnoty 11-20										
hodnoty 21-30										
hodnoty 31-40										
hodnoty 41-50										
Vzorek C										
hodnoty 11-20										
hodnoty 21-30										
hodnoty 31-40										
hodnoty 41-50										

	Vzorek A	Vzorek B	Vzorek C	Jednotky
Průměr	3,820	13,390		mmol/l
Cílová hodnota	4,311	14,520		mmol/l
Nejistota ref. materiálu	0,500	0,500		%
SD	0,033	0,251		mmol/l
CV	0,889	1,877		%
CV výrobce	6,300	5,200		%
b _{rel}	-11,389	-7,782		%
významnost bias		významný		

Příloha č. 6 Verifikační protokol glukometr SensoStar „hala“ 3B

Verifikační protokol: Verifikační protokol ze dne 31.01.2023 glukometr Sensostar hala

Biologické variability

Intraindividuální biologická variabilita (CV_i) =	7,3	Přesnost odvozená z biologických variabilit (I_{biol}) =	3,6
Interindividuální biologická variabilita (CV_g) =	10,3	Bias odvozený z biologických variabilit (B_{biol}) =	3,1
Celková biologická variabilita =	12,6	Celková chyba odvozená z biologických variabilit (TE_{biol}) =	9,1

Relativní kombinovaná rozšířená nejistota ($k = 2$)

	$U_{c,rel}(\%)$	pro cílovou hodn.	Výsledek měření se pohybuje v tomto intervalu (při 95% intervalu spolehlivosti)	Kritická difference dvou následných měření (hodnota CD %)
Vzorek 1	4,974	4,784	4,546 - 5,022	Vzorek 1 21,4
Vzorek 2	3,790	9,868	9,494 - 10,242	Vzorek 2 20,9
Vzorek 3				Vzorek 3

Maximální přípustná nejistota určena:

a) odvozením z biologických variabilit - maximální přípustná nejistota = Intraindividuální biologická variabilita (CV_i)

d) podle D_{max} EHK: 15,000 Zdroj: EHK SEKK

Vyhodnocení nejistoty

Vzorek 1:

Kombinovaná rozšířená nejistota splňuje požadavky: biologických variabilit, D_{max} EHK.

Vzorek 2:

Kombinovaná rozšířená nejistota splňuje požadavky: biologických variabilit, D_{max} EHK.

Vzorek 3:

Pracovní rozsah metody:

Ostatní znaky metody:

Senzitivita, specifčnost:

Závěr:

Metoda je vhodná ke klinickému použití. Hodnota kombinované nejistoty je vyhovující vzhledem k požadavkům TMU SEKK.

Datum schválení: 31.01.2023

Schválil: ing. Náprstková Iveta

Platnost do: 31.01.2024