

Laboratorní diagnostika a sledování stavu diabetes mellitus

Česká společnost klinické biochemie ČLS JEP a Česká diabetologická společnost
ČLS JEP

Autor: Friedecký B.

Spolupracovníci: Buryška J., Franeková J., Jabor A., Pelikánová T., Škrha J., Vávrová J.

Aktualizovaná verze ze dne 1. 9. 2005.

OBSAH

1 Souhrn základních poznatků

- 1.1 Laboratorní zkoušky, diagnostická kritéria, rozhodovací meze
 - 1.1.1 Glukóza v plazmě nalačno – FPG – Fasting Plasma Glucose
 - 1.1.2 Glykovaný hemoglobin HbA_{1c}
 - 1.1.3 Glukózový toleranční test OGTT, hodnota glukózy v plazmě po 2 hodinách po zátěži 75 g glukózy
 - 1.1.4 Albumin v moči
 - 1.1.5 Glukóza v krvi stanovovaná glukometry
- 1.2 Požadavky na analytickou kvalitu měření
 - 1.2.1 FPG
 - 1.2.2 HbA_{1c}
 - 1.2.3 Albumin v moči
 - 1.2.4 Glukóza v krvi glukometry
- 1.3 Preanalytické podmínky
 - 1.3.1 FPG
 - 1.3.2 HbA_{1c}
 - 1.3.3 Albumin v moči
- 1.4 Požadavky na způsobilost
 - 1.4.1 FPG
 - 1.4.2 HbA_{1c}
 - 1.4.3 Albumin v moči
 - 1.4.4 Glukometry

2 Stanovení glukózy jako nástroj určení diagnózy diabetes mellitus

- 2.1 Role měření koncentrace glukózy v plazmě nalačno (FPG)
 - 2.1.1 Diagnostická kritéria diabetu
 - 2.1.2 Vyhledávání osob se zvýšeným rizikem diabetu
- 2.2 Preanalytické podmínky
- 2.3 Vztahy mezi koncentrací glukózy v krvi (B), plazmě (P) a séru (S)
- 2.4 Požadavky na analytické ukazatele kvality měření FPG k diagnóze diabetu a vyhledávání osob s jeho zvýšeným rizikem
- 2.5 Nejistota výsledků měření
- 2.6 Návaznost měření FPG
 - 2.6.1 Referenční metody
 - 2.6.2 Referenční materiály
 - 2.6.3 Kalibrátory rutinních měření
 - 2.6.4 Kontrolní materiály programů externího hodnocení kvality (EHK)

3 Glykovaný hemoglobin HbA_{1c} – nástroj sledování průběhu léčby diabetes mellitus

- 3.1 Význam
- 3.2 Rozhodovací kritéria ADA (Americké diabetologické asociace)
- 3.3 Preanalytické podmínky
- 3.4 Návaznost měření
- 3.5 Ukazatele analytické kvality rutinních měření
- 3.6 Nejistota výsledků měření
- 3.7 Referenční metoda IFCC
- 3.8 Fruktózamin
- 4 **Sledování stavu diabetiků měřením glukózy osobními glukometry**
 - 4.1 Význam a role
 - 4.2 Preanalytické podmínky
 - 4.3 Analytické podmínky
 - 4.4 Kontrola analytické kvality
 - 4.5 Požadavky na výrobce systémů k sebesledování glukózy u diabetických pacientů podle mezinárodní normy ISO/DIS 15197–2
 - 4.5.1 Opakovatelnost měření
 - 4.5.2 Reprodukovatelnost měření
 - 4.5.3 Celková chyba měření
 - 4.6 Vztah mezi laboratorním měřením plazmatické glukózy a měřením glukózy v krvi glukometry
- 5 **Albumin v moči jako nástroj časně detekce diabetické nefropatie**
 - 5.1 Význam
 - 5.2 Kritéria detekce mikroalbuminurie podle WHO a ADA
 - 5.3 Preanalytické podmínky
 - 5.4 Analytické podmínky
 - 5.5 Kvalitativní zkoušky detekce mikroalbuminurie
- 6 **Koncentrace glukózy v moči**
- 7 **Koncentrace ketolátů v moči a krvi**
 - 7.1 Role
 - 7.2 Preanalytické podmínky
 - 7.3 Analytické podmínky
 - 7.4 Shrnutí klinické interpretace
- 8 **Glukózový toleranční test (OGTT)**
 - 8.1 Provedení a vyhodnocení
 - 8.2 Preanalytické vlivy
- 9 **Ukazatele autoimunity a diagnostika diabetes mellitus**
 - 9.1 Screening tyreopatií
 - 9.2 Sérologický screening asymptomatické, němé formy celiakie
- 10 **Genetické ukazatele**
- 11 **Doporučení ČSKB a ČDS o změně kalibrace hemoglobinu A_{1c} a referenčních mezí**

- 12 Literatura**
Příloha 1: Stanovisko výboru ČDS a ČSKB ke změně rozhodovacího limitu plazmatické glukózy nalačno
Příloha 2: Algoritmus pro laboratorní screening DM u dospělých
Příloha 3: Algoritmus pro laboratorní screening gestačního DM

1 Souhrn základních poznatků

1.1 Laboratorní zkoušky, diagnostická kritéria, rozhodovací meze

- Glukóza v plazmě nalačno – FPG
- HbA_{1c}
- OGTT
- Albumin v moči
- Glukóza v krvi měřením glukometry

1.1.1 Glukóza v plazmě žilní krve nalačno – FPG – Fasting Plasma Glucose

Role: Nástroj laboratorní diagnózy diabetes mellitus (DM).

Diagnostická kritéria pro FPG přijatá Českou společností klinické biochemie a Českou diabetologickou společností (viz Příloha 1) byla v červenci 2005 převzata od Americké asociace pro diabetes. Kritéria ADA/ČSKB a ČDS jsou následující:

- Vyloučení diabetes mellitus < 5,6 mmol/l
- Zvýšená FPG (IFG, prediabetes) ≥ 5,6 mmol/l až < 7,0 mmol/l
- Diabetes mellitus ≥ 7,0 mmol/l (nutno potvrdit opakovaným měřením)

1.1.2 Glykovaný hemoglobin HbA_{1c}

Role: Nástroj sledování stavu diabetu. V blízké perspektivě též další nástroj laboratorní diagnózy diabetu.

Kritéria WHO/ADA jsou platná pro kalibraci návaznou na referenční metodu IFCC:

Cílová hodnota terapie ≤ 5,0 %

Změna terapie > 6,0 %

Kritéria kompenzace používaná v České republice uvádí tabulka 1 (viz též kapitola 11 – Doporučení ČSKB a ČDS o změně kalibrace hemoglobinu A_{1c} a referenčních mezí).

Tab. 1. Používaná kritéria kompenzace

Stav kompenzace	Kritérium HbA _{1c} [%]
Výborná kompenzace	< 4,5 %
Uspokojivá kompenzace	4,5–6,0
Neuspokojivá kompenzace	> 6,0 %

Tab. 2. Albumin v moči

Vzorek	Normální exkrece	Mikroalbuminurie	Proteinurie
Sběr moči	< 30 mg/d	30–299 mg/d	≥ 300 mg/d (0,3 g/d)
Náhodný vzorek	< 2,8 μg/mmol kreatininu	2,8–22,8 μg/mmol kreatininu	> 22,8 μg/mmol kreatininu
Časovaný vzorek	< 20 μg/min	20–199 μg/min	≥ 200 μg/min

1.1.3 Glukózový toleranční test OGTT, hodnota glukózy v plazmě žilní krve po 2 hodinách po zátěži 75g glukózy

Role: Diagnóza diabetu, verifikace zvýšené hodnoty FPG.

Diagnostická kritéria:

- Vyloučení diabetes mellitus < 7,8 mmol/l
- Porušená glukózová tolerance ≥ 7,8 mmol/l až < 11,1 mmol/l
- Diabetes mellitus ≥ 11,1 mmol/l

1.1.4 Albumin v moči

Role: Klasifikace stavu mikroalbuminurie jako průkazu časně detekce diabetické nefropatie. Diagnostický závěr je možné učinit na podkladě tří opakovaných měření (tab. 2).

Současné imunochemické metody hrubě podhodnocují koncentraci albuminu v moči, a tím i prevalenci (mikro)albuminurie až o polovinu skutečné hodnoty.

1.1.5 Glukóza v krvi stanovovaná glukometry

Role: Sledování stavu diabetika v režimu POCT nebo jeho sebesledování.

Kritéria: Hodnoty rozhodovacích limitů a četnost měření nejsou striktně definovány. Klinická účinnost stanovení není podložena průkazy (nemá charakter EBM).

1.2 Požadavky na analytickou kvalitu měření

1.2.1 FPG

- Přesnost (reprodukovatelnost) CV < 2,5 %
- Pravdivost (bias) b < 2,0 %
- Návaznost na referenční metodu ID-GC/MS
- Celková kombinovaná nejistota U_c = 5,0–7,0 %

1.2.2 HbA_{1c}

- Přesnost (reprodukovatelnost) CV ≤ 3,0 %
- Pravdivost (bias) b ≤ 3,0 %
- Návaznost na referenční metodu IFCC

1.2.3 Albumin v moči

- Přesnost (reprodukovatelnost) CV < 15 %
- Návaznost hodnot pracovních kalibrátorů na CRM 470

1.2.4 Glukóza v krvi glukometry

Celková chyba měření (diference od laboratorní metody měření FPG):

- pro koncentrace > 3,3–5,5 mmol/l 15,0 %,
 - pro koncentrace < 3,3–5,5 mmol/l 0,5–0,8 mmol/l.
- Glukometry by měly být schopny měřit s reprodukovatelností do 5,0 % a vychýlením (bias) do 5,0 %.

1. 3 Preanalytické podmínky

1. 3. 1 FPG

Materiál: žilní krev.

Odběr: po minimálně 8 hodinovém lačnění, s vyloučením fyzické námahy, s vyloučením kouření, vsedě, do odběrové nádoby s antiglykolytickou směsí (2,5 mg NaF/ml krve). (Tyto zkumavky jsou dodávány výrobcem a jsou identifikovatelné barevným značením svých uzávěrů.)

Oddělení plazmy od krevních elementů: do 60 minut od odběru.

Transport do laboratoře: okamžitý.

Přepočtení faktory: FPG = 1,11 x B-glukóza (je-li vzorek krve ředěn před analýzou)

FPG = 0,94 x B-glukóza (je-li vzorek krve měřen bez ředění)

(Hodnoty obou faktorů představují statistický průměr a mají významnou intraindividuální variaci.)

1. 3. 2 HbA_{1c}

Materiál: žilní nebo kapilární krev.

Odběr: do EDTA.

Skladování: nejméně 1 týden při 4 °C, nejméně 1 rok při -80 °C.

1. 3. 3 Albumin v moči

Materiál: sběr moči za 24 hodin, časovaný sběr (za 4 hodiny nebo přes noc), náhodný vzorek (nejlépe druhá ranní moč).

Sběr, odběr: s úplným vyloučením fyzické námahy.

Skladování: 1 týden při 4 °C, 6 měsíců při -70 °C.

1. 4 Požadavky na způsobilost

1. 4. 1 FPG

– Platný certifikát úspěšnosti v oficiálním programu externího hodnocení kvality.

1. 4. 2 HbA_{1c}

– Platný certifikát úspěšnosti v oficiálním programu externího hodnocení kvality.

1. 4. 3 Albumin v moči

– Platný certifikát úspěšnosti v oficiálním programu externího hodnocení kvality.

1. 4. 4 Glukometry

– Zavedený a fungující systém vnitřní kontroly kvality.
– Splnění kritéria celkové chyby měření jako diference od laboratorní metody měření glukózy v plazmě, respektive dosažení reprodukovatelnosti do 5 % a vychýlení (bias) rovněž do 5 %.
– Systém zácviku a prověřování jeho účinnosti u osob používajících glukometry (zdravotnického nelaboratorního personálu a pacientů).

2 Stanovení glukózy jako nástroj určení diagnózy diabetes mellitus

2. 1 Role měření koncentrace glukózy v plazmě nalačno (FPG)

Koncentrace FPG je nástrojem:

- Určení diagnózy diabetes mellitus
- Vyhledávání osob se zvýšeným rizikem diabetes mellitus

2. 1. 1 Diagnostická kritéria diabetu [1, 2, 3, 4, 28]

- Kombinace klinických symptomů s náhodným stanovením koncentrací glukózy v plazmě $\geq 11,1$ mmol/l.
- Koncentrace glukózy v plazmě nalačno (FPG) $\geq 7,0$ mmol/l.
- Koncentrace glukózy v plazmě po 2 hodinách po zátěži při orálním glukózovém tolerančním testu OGTT $\geq 11,1$ mmol/l.

K učinění závěru o diagnóze diabetu je nezbytné potvrdit výsledek opakovaným měřením z dalšího odběru v některém z příštích dnů.

Grafické schéma rozhodovacího algoritmu pro laboratorní screening DM u dospělých – viz Příloha 2.

Poznámka: OGTT je sice v doporučení WHO uveden, avšak není doporučován s patřičným důrazem. Doporučení ADA (Americké diabetologické asociace) považuje OGTT za diagnostický nástroj pouze v případě gestačního diabetes mellitus. Podrobněji se problematika rozebírá v části 8.

2. 1. 2 Vyhledávání osob se zvýšeným rizikem diabetu [1, 2, 3, 4, 28]

Zvýšené riziko diabetu je charakterizováno hodnotami FPG $\geq 5,6$ mmol/l, tj. intervalem hodnot $\geq 5,6$ –6,99 mmol/l. Pro tento stav označovaný ADA jako Impaired Fasting Glucose (IFG) nebo také pre-diabetes je navržen český termín **Hraniční Glukóza Nalačno (HGL)**.

2. 2 Preanalytické podmínky [3, 6]

Krev se odebírá po hladovění (lačnění) přes noc, minimálně však po dobu 8 hodin. Jakákoliv fyzická námaha musí být vyloučena, stejně jako kouření. Pacient má být při odběru v klidové poloze (vsedě). Vzorek žilní krve se odebírá do odběrové nádoby s obsahem inhibitoru glykolýzy. Obvyklou kombinací pro získání plazmy s dostatečnou stabilitou glukózy je směs fluoridu sodného a EDTA. K účinné inhibici glykolýzy je nutná koncentrace minimálně 2,5 mg fluoridu sodného na 1 ml krve. Plazma musí být oddělena od krevních elementů do 60 minut.

Někteří autoři doporučují umístit zkumavky s krví před oddělením plazmy do ledové vodní tříště.

2. 3 Vztahy mezi koncentrací glukózy v krvi (B-glukóza), plazmě (FPG) a séru (S-glukóza) [3, 7]

$$\text{FPG} = \text{B-glukóza} \times 1,11$$

jestliže je vzorek krve před analýzou ředěn hemolyzačním nebo deproteinizačním činidlem.

$$\text{FPG} = \text{B-glukóza} \times 0,94$$

jestliže je vzorek krve měřen bez ředění.

Z dostupných dat nelze zcela jednoznačně určit, zda mezi hodnotami koncentrací glukózy v séru a plazmě jsou významné systematické rozdíly. Naprostá většina literárních dat považuje obě hodnoty za rovnocenné. Nicméně recentní a perfektně dokumentovaná studie skandinávských referenčních intervalů NORIP 2000 [31] zaznamenala, že hodnoty FPG byly o 0,3 mmol/l vyšší než hodnoty v séru. Doporučení WHO a ADA jednoznačně **zmiňují pouze použití plazmy a vůbec nezmiňují krevní sérum.**

Rozdíl mezi žilní a kapilární krví je dále uveden v části 8.

2. 4 Požadavky na analytické ukazatele kvality měření FPG k diagnóze diabetu a vyhledávání osob s jeho zvýšeným rizikem [8]

Požadovaná přesnost je definována vztahem:

$$CV_a 0,5 \leq CV_i [\%]$$

Požadovaná hodnota pravdivosti (vyjádřená jako bias) je definována vztahem:

$$b 0,25 \leq CV_b [\%]$$

CV_a [%] je analytická reprodukovatelnost měření, vyjádřená jako variační koeficient.

CV_i [%] je hodnota intraindividuální biologické variace FPG, vyjádřená jako variační koeficient; její hodnota je 4,9 % (www.westgard.com).

CV_b [%] je hodnota celkové biologické variace FPG, vyjádřená jako variační koeficient, vypočtené kovariací intraindividuální a skupinové (populační) biologické variace; její hodnoty jsou v literatuře uváděny v intervalu 7–10 %.

b [%] je hodnota bias měření definovaná jako odchylka průměru vhodného počtu opakovaných výsledků měření od referenční hodnoty (získané referenční metodou).

(K vyhodnocení hodnoty bias lze doporučit provedení duplicitních měření kontrolních materiálů s hodnotou glukózy získanou referenční metodou po dobu pěti dnů.)

Hodnoty přesnosti a pravdivosti požadované pro měření FPG jsou pak tyto:

$$CV_a \leq 2,5 [\%]$$

$$b \leq 2,0 [\%]$$

Při dosažení těchto hodnot reprodukovatelnosti a bias je dosaženo vysoké pravděpodobnosti, že četnost falešných diagnostických klasifikací nepřekročí hodnotu 5 % [9], pokud jsou provedena dvě nezávislá měření u jednoho pacienta.

Klinické laboratoře používající měření FPG k diagnóze diabetu a jeho zvýšeného rizika musí vlastnit certifikát úspěšnosti v programech externího hodnocení kvality. Platnost certifikátu je maximálně 12 měsíců. Americké laboratorní doporučení diagnózy diabetes mellitus [3] vyžaduje též akreditaci příslušné klinické laboratoře.

2. 5 Nejistota výsledků měření

Dílčími nejistotami, které musí být vzaty do úvahy při hodnocení výsledku měření jsou:

- nejistota preanalytických procesů (odběr, skladování, transport do laboratoře),

- dlouhodobá reprodukovatelnost analytických měření,
- bias analytických měření.

I při dosažení požadovaných analytických ukazatelů (viz výše) a při předpokladu natolik optimalizovaného preanalytického procesu, že jeho variabilita nepřesahuje hodnotu $CV \% = 1,0$, nelze předpokládat, že kombinovaná rozšířená ($k = 2$) nejistota měření, vypočtená pro 95% interval spolehlivosti, poklesne pod 7,0 %. Hodnota intraindividuální biologické variace činí v průměru 5 %, proto je nezbytné:

- Provést diagnostický závěr na bázi aspoň dvou výsledků měření.
- Hodnoty FPG vyšší než 5,59 mmol/l by měly být vždy opakovány jako podezřelé z možného potvrzení diagnózy diabetes mellitus, respektive pacienti s takovými hodnotami by měli být vyšetřováni s vyšší frekvencí.

Klinické laboratoře by měly být v souladu s požadavky akreditačních norem (např. ISO 15189:2003) schopné doložit na požádání svou nejistotu měření FPG [10].

2. 6 Návaznost měření FPG

2. 6. 1 Referenční metody

Referenční metody měření FPG jsou založeny na principu ID-GC/MS (izotopová diluce – plynová chromatografie/hmotnostní spektrometrie). Referenční metody slouží ke stanovení hodnot glukózy v referenčních materiálech používaných ke kalibraci rutinních metod měření a v referenčních materiálech externího hodnocení kvality (měly by být též používány v laboratorních programech vnitřní kontroly kvality).

2. 6. 2 Certifikované referenční materiály

- Mají hodnoty koncentrace glukózy stanovené referenční metodou – disponují certifikovanými hodnotami koncentrace glukózy.
- Mají být testované na nekomutabilitu (má být prokázáno, že vlivy matrice jsou minimalizovány – zanedbatelné).
- Mají určenou nejistotu.

2. 6. 3 Kalibrátory rutinních měření

Klinické laboratoře musí používat kalibrátory, jejichž výrobci jsou schopni dokumentovat v souladu se Směrnicí rady 98/79 ES a s nařízením vlády České republiky NV č. 458, 2004 Sb., že hodnoty koncentrace glukózy v nich jsou určeny srovnáním s certifikovanými referenčními materiály. To značí, že kalibrátory rutinních metod musí mít dokumentovanou návaznost na referenční metodu ID–GC/MS. Výrobci musí uvádět rovněž nejistoty hodnot těchto kalibrátorů.

2. 6. 4 Kontrolní materiály programů externího hodnocení kvality (EHK)

Požaduje se:

- aby byly jejich hodnoty koncentrace glukózy získány referenční metodou a certifikovány,
- aby byly tyto hodnoty dostupné i se svou rozšířenou nejistotou (faktor rozšíření $k = 2$),
- aby byly minimalizovány vlivy osnovy – matrice.

3 Glykovaný hemoglobin HbA_{1c} – nástroj sledování průběhu léčby diabetes mellitus

3. 1 Význam [11, 12]

Podíl látkové koncentrace HbA_{1c} na celkovém hemoglobinu krve je považován za rutinní a nejvíce efektivní nástroj sledování průběhu DM. Představuje nejlepší způsob kontroly koncentrací glukózy u diabetiků, neboť je považována za její vážený dlouhodobý průměr.

3. 2 Rozhodovací kritéria

Kritéria IFCC a kritéria ČDS jsou uvedena v kapitole 11.

Pouze kritéria pro kompenzované diabetiky a kritéria pro diabetiky vyžadující změnu terapie jsou oficiálními kritérii sledování průběhu diabetu. Kritérium diskriminující nediabetiky od diabetiků není doposud oficiálně doporučeno k používání pro diagnostickou klasifikaci. Použití HbA_{1c} jako nástroje diagnostiky DM je však otázkou blízké budoucnosti.

3. 3 Preanalytické podmínky

Plná krev odebraná ze žíly nebo kapilární krev odebraná po vpichu z prstu jsou rovnocenné materiály. Odběrové nádoby obsahují antikoagulační činidlo, obvykle EDTA.

Stabilita HbA_{1c}:

- 1 týden při 4 °C,
- minimálně 1 rok při -70 °C a nižší teplotě.

Pro skladování při -20 °C se uvádějí kontroverzní literární údaje o stabilitě, a nemůže být proto doporučeno.

Vlivy věku, pohlaví, etnicity, ročního období nejsou považovány za významné.

Hemoglobinopatie ovlivňují výsledky měření, ale nesytematicky a v závislosti na metodě měření. V případě neočekávaného výsledku je však třeba pomyslet i na ně. Záznamy chromatogramů (HPLC, LC) dávají dobrou možnost zpětné kontroly jejich výskytu.

Anémie může být příčinou snížených výsledků měření.

U uremických pacientů dochází ke karbamylaci hemoglobinu, která působí silné interference při měření HbA_{1c} v závislosti na použité metodě.

3. 4 Návaznost měření

Rutinní metody měření musí vykazovat návaznost na referenční metodu IFCC.

Certifikace rutinní metody vyžaduje dosažení reprodukovatelnosti CV ≤ 3,0 [%] a systematické odchylky od referenční metody 1 % (vyhodnocení diferenčním diagramem podle Blanda-Altmana).

Kontrolní materiály programů externího hodnocení kvality mají mít cílové hodnoty určené referenční metodou IFCC.

3. 5 Ukazatele analytické kvality rutinních měření

- Reprodukovatelnost CV ≤ 3,0 [%]
- Vychýlení (bias) B ≤ 3 %

- Dokumentovaná návaznost použitých měřicích systémů HbA_{1c}
- Úspěšná účast ve dvou cyklech programů mezilaboratorního porovnávání (EHK) za jeden rok

3. 6 Nejistota výsledků měření

Hodnota intraindividuální biologické variability je podle údajů NGSP (USA) velmi nízká: CV_i = cca 1 %. Vysoká stabilita analytu dovoluje zanedbat nejistotu způsobenou preanalytickým rozptylem. Po kombinaci dílčích nejistot korespondujících s reprodukovatelností, hodnotou bias a hodnotou CV_i [%] lze odhadnout výslednou kombinovanou nejistotu (odpovídající 95% intervalu spolehlivosti) na ≤ 8–9 %.

3. 7 Referenční metoda IFCC [14, 29; www.sekk.cz]

Je založena na principu HPLC/MS (vysokoúčinná kapalinová chromatografie v kombinaci s hmotnostní spektrometrií) nebo alternativně HPLC/CE (vysokoúčinná kapalinová chromatografie v kombinaci s kapilární elektroforézou).

Metoda IFCC poskytuje významně nižší výsledky měření než dřívější referenční metoda DCCT.

Hodnoty rozhodovacích kritérií založených na použití referenční metody IFCC (viz kapitola 11):

- Referenční interval ≤ 4,0 %
- Kompenzovaní diabetici ≤ 5,0 %
- Potřeba změny terapie ≥ 6,0 %

3. 8 Fruktózamin

Není součástí rutinního souboru vyšetření diagnózy a terapie diabetiků.

Ketoaminy sérových proteinů (zejména pak albuminu) redukují v slabě alkalickém prostředí (pH 10,35) nitrotetrazoliovou modř (NTB) na formazany, jejichž množství se měří fotometricky. Měření je standardizováno pomocí poly-L-lysinu nebo pomocí glykovaného proteinu, přičemž stupeň glykace je v kalibrátorech stanoven organickou elementární analýzou. Hodnota 285 μmol/l je považována za horní hranici referenčního intervalu. Při stanovení interferuje kyselina askorbová, kyselina močová, bilirubin a methyldopa [5]. Snížená proteosyntéza v játrech a zvýšená renální clearance proteinů při zánětlivých chorobách působí sníženou koncentrací fruktózinu v séru. Poločas fruktózinu je pouze 10–14 dnů, zatímco u HbA_{1c} je jeho hodnota asi 120 dní. Stanovení fruktózinu lze doporučit jen v případech, kdy není možné spolehlivé měření HbA_{1c} (hemoglobinopatie, anémie), ale nelze je považovat za rovnocennou náhradu stanovení HbA_{1c} [4]. V případě použití je nutno opakovat měření 1krát měsíčně (zatímco měření HbA_{1c} se doporučuje provádět 3–4krát ročně).

4 Sledování stavu diabetiků měřením glukózy osobními glukometry [15, 16, 17]

4. 1 Význam a role

Koncentrace glukózy v kapilární krvi stanovená pomocí osobního glukometru je nástrojem sledování sta-

vu všech diabetiků závislých na inzulínu (diabetes 1. typu) a některých vybraných skupin diabetiků 2. typu. Toto sledování nehraje žádnou roli v diagnostice diabetu a nemá s ní ani žádnou spojitost.

4. 2 Preamalytické podmínky

Vyžaduje se důkladná instrukce a zcvik zdravotnického personálu na klinických odděleních a pacientů před zahájením sledování. Nedílnou součástí instrukcí jsou postupy kontroly kvality.

Významné potenciální zdroje preanalytických chyb jsou:

- změny hodnot hematokritu,
- změny teploty a vlhkosti vnějšího prostředí,
- vysoké koncentrace triacylglycerolů v krevním séru,
- hypoxie a hypotenze pacienta,
- použití vzorku krve s obsahem glykolytického inhibitoru.

Soudobá měřicí analytická technologie již v podstatě eliminovala preanalytické chyby pocházející ze špatného dávkování vzorku krve do měřicího prostoru glukometru, ze špatného časování reakce a z nevhodného způsobu odstraňování přebytku vzorku.

4. 3 Analytické podmínky

Na trhu jsou k dispozici desítky různých typů glukometrů produkované a dodávané řadou výrobců. Úroveň shody mezi výsledky dosaženými různými typy glukometrů je však doposud nízká. Teprve v současné době se intenzivně pracuje na jejím zlepšení dosažením porovnatelnosti s referenční metodou prostřednictvím referenčních materiálů s certifikovanými hodnotami glukózy.

Základní analytické požadavky na glukometry lze shrnout následovně:

- Používání nových typů instrumentace s vyloučením nutnosti odstraňovat přebytek krve, s akustickou kontrolou objemu vzorku, s automatickým časováním doby reakce, se čtečkou čárového kódu, s možností ukládat data výsledků vzorků a kontrolních analýz do paměti glukometru.
- Preferování glukometrů kalibrovaných tak, aby získané výsledky měření v krvi odpovídaly hodnotám glukózy v plazmě.
- Preferování glukometrů s návazností kalibrační funkce a vlastního měření na certifikované referenční materiály, v nichž byla koncentrace glukózy stanovena referenční metodou.

4. 4 Kontrola analytické kvality

Je navrženo několik možných postupů realizace kontroly kvality. Obecně přístupným postupem je porovnávání výsledků, dosažených glukometry s výsledky laboratorní metody měření FPG. Ukazatelem kvality je velikost difference mezi oběma výsledky (celková chyba měření), reprodukovatelnost měření a vychýlení (bias) měření.

Hodnota celkové chyby nemá být vyšší než 15 %, hodnoty reprodukovatelnosti a vychýlení by měly dosahovat maximálně 5 %.

4. 5 Požadavky na výrobce systémů k sebesledování glukózy u diabetických pacientů podle mezinárodní normy ISO/DIS 15197–2 [8]

4. 5. 1 Opakovatelnost měření

Kontrolní materiál je představován souborem pěti vzorků žilní krve s hematokritem 0,35–0,50 o teplotě 18–28 °C s koncentracemi, které uvádí tabulka 3.

Tab. 3. Koncentrace

Vzorek	mmol/l
1	1,7–2,8
2	2,9–6,1
3	6,2–8,3
4	8,4–13,9
5	14,0–22,2

- Testuje se minimálně 10 balení výrobní šarže a minimálně 10 glukometrů systému.
- Pro každou testovanou jednotku je nutné vykonat deset opakovaných měření výše uvedených vzorků.
- Vypočte se průměr měření, hodnota kumulativní směrodatné odchylky a variačního koeficientu. Koncentrace pod 4,2 mmol/l se hodnotí pomocí směrodatné odchylky, koncentrace nad 4,2 mmol/l variačním koeficientem.

Požadované hodnoty opakovatelnosti nebyly dosud zveřejněny.

4. 5. 2 Reprodukovatelnost měření

Jako kontrolní materiál slouží materiál dodávaný výrobcem. Používají se tři vzorky s intervaly koncentrací, které jsou v tabulce 4.

Tab. 4. Intervaly koncentrací

Vzorek	mmol/l
1	1,7–2,8
2	5,3–8,0
3	15,5–23,3

- Testuje se deset balení výrobní šarže a deset glukometrů.
- Každý vzorek se měří jednou denně po deset dnů. Reprodukovatelnost se hodnotí jako hodnota směrodatné odchylky pro koncentrace nižší než 4,2 mmol/l a jako hodnota variačního koeficientu pro koncentrace nad 4,2 mmol/l. Rovněž požadované hodnoty reprodukovatelnosti nebyly dosud obecně přijaty.

4. 5. 3 Celková chyba měření

Používá se vzorků kapilární krve o teplotě 18–28 °C, pocházejících od nejméně 100 různých jedinců a vykazujících diverzifikaci koncentrací (tab. 5).

Tab. 5. Diverzifikace koncentrací

Procento vzorků	mmol/l
5	< 2,8
15	2,8–4,3
20	4,4–6,7
30	6,7–11,1
15	11,2–16,6
10	16,6–22,2
5	> 22,2

Testuje se minimálně 10 balení výrobní šarže. Každý vzorek se měří referenční metodou v duplikátu a na dvou glukometrech výrobce. Vyhodnocení se provádí diferenčním diagramem, kde na ose x jsou referenční hodnoty dosažené laboratorní metodou měření FPG a na ose y difference měření glukometry od referenčních hodnot, uvedené v mmol/l. Při aplikaci regresní analýzy se obdobně používá osa x pro výsledky referenční metody a osa y pro výsledky dosažené na glukometrech.

95 % výsledků, dosažených na glukometrech, musí vykazovat následující maximální difference od referenční metody:

± 0,83 mmol/l pro koncentrace nižší než 4,2 mmol/l;
± 20 % pro koncentrace vyšší než 4,2 mmol/l.

Tyto požadavky mohou sloužit jako základní orientace při výběru osobních glukometrů v souladu s doporučeními POCT vypracovanými výborem České společnosti klinické biochemie (www.cskb.cz).

4. 6 Vztah mezi laboratorním měřením plazmatické glukózy a měřením glukózy v krvi glukometry [2, 4]

Laboratorní měření by mělo být omezeno na měření FPG pro diagnostické účely a na měření plazmatické glukózy jako referenční metody sledování kvality měření glukometrů.

Pro měření glukózy v krvi glukometry by měly být vyvinuty a rutinně používány pravidelné programy externího hodnocení kvality.

V současné době se doporučuje provést kontrolu osobního glukometru srovnáním s měřením v laboratoři jednou ročně a odchylka obou měření nemá přesáhnout 15 %.

5 Albumin v moči jako nástroj časně detekce diabetické nefropatie

5. 1 Význam

Měření koncentrace albuminu v moči diabetiků vykazuje významnou schopnost časně predikce diabetické nefropatie. Zvýšené vylučování albuminu močí, které předpovídá stav nefropatie, ale které není detekovatelné kvalitativními metodami realizovanými běžnými testovacími proužky pro průkaz proteinů v moči či jinými metodami kvalitativní analýzy, se označuje jako *mikroalbuminurie*.

5. 2 Kritéria detekce mikroalbuminurie podle WHO a ADA [4, 5, 19]

Hodnoty kritérií byly verifikovány a potvrzeny řadou studií. Klinická citlivost zjištěná na bázi velké meta-analytické studie [21] dosáhla hodnoty 91 %.

Mikroalbuminurii lze požadovat za prokázanou (tab. 6.), jestliže je překročení uvedených kritérií dosaženo ve dvou ze tří po sobě následujících vzorcích moči analyzovaných v intervalu 3–6 měsíců [19]. Potřeba zvýšeného počtu měření je dána vysokou hodnotou intraindividální biologické variace albuminu v moči. Hodnoty přesahující uvedené horní intervaly kritérií jsou označovány jako *proteinurie*. Ty lze již spolehlivě dete-

kovat kvalitativními zkouškami na celkové proteiny prováděnými testovacími proužky, naopak analýza vzorků s proteinurií je zcela nevhodná ke stanovení mikroalbuminurie imunochemickými metodami (nebezpečí „hook efektu“).

Tab. 6. Hodnoty kritérií

Typ vzorku	Mikroalbuminurie
Sběr moči	30–299 mg/24 h
Časovaný vzorek	20–199 µg/min
Náhodný vzorek	2,8–22,8 µg/mmol kreatininu

5. 3 Preanalytické podmínky

Národní doporučení dává přednost 2. rannímu vzorku moče nebo stanovení ve sběru moče získaném během nočního odpočinku. Vyšetření v moči sbírané 24 hodin se v ČR nedoporučuje.

Mezinárodní doporučení pro detekci *mikroalbuminurie* preferují stanovení albuminu ve sběru moči za 24 hodin před stanoveními v jednorázových vzorcích moči s hodnotami albuminu vztaženými ke koncentraci kreatininu v moči nebo v časových vzorcích vyjádřených jako µg/min. Nicméně analýzy jednorázových i časovaných vzorků jsou akceptovány. Při aplikaci jednorázových vzorků jde vždy o vzorky první ranní moče [20], u časovaných vzorků se jedná o sběr za 4 hodiny nebo o vzorek sebraný přes noc.

Albumin je v moči stabilní minimálně 1 týden při teplotě 4–20 °C. Zatímco během skladování při -20 °C lze pozorovat mírné snižování koncentrace albuminu v moči, při teplotě -70 °C a nižší k poklesu koncentrace nedochází ani po 6 měsících uskladnění.

U diabetiků nevykazuje albumin v moči diurnální variabilitu.

Koncentrace albuminu v moči jsou ovlivňovány akutními chorobnými stavy, infekcí močových cest, zvýšenou fyzickou námahou, zvýšenou koncentrací glukózy v krvi, infekcí GIT, kardiálními chorobami, arteriální hypertenzí.

5. 4 Analytické podmínky

Imunoturbidimetrie a imunonefelometrie hrubě podhodnocují koncentraci albuminu v moči. Příčinou je fragmentace albuminu v moči a ztráta části imunoreaktivty. Za spolehlivou metodu se považuje pouze HPLC [30]. Bude nezbytné vytvořit nový referenční systém měření albuminu v moči založený na metodě HPLC, certifikovaných referenčních materiálech s hodnotami, určenými touto metodou, a na pracovních kalibrátorech rutinních metod s hodnotami odvozenými srovnáním s takovými certifikovanými referenčními materiály. Následně dojde k radikálním změnám hodnot rozhodovacích diagnostických limitů.

Požadovaná reprodukovatelnost měření je CV < 15 %.

Akceptovatelné hodnoty bias musí být zabezpečeny realizací návaznosti rutinní metody na mezinárodní referenční materiál CRM 470, tedy odvozením hodnoty pracovního kalibrátoru porovnáním s materiálem CRM 470.

Mez detekce musí dosahovat minimálně hodnoty 20 mg/l albuminu nebo raději nižší.

Při pozitivě celkového proteinu v moči diagnostickým proužkem se stanovení mikroalbuminurie neprovádí (je překročen pracovní rozsah měření).

5. 5 Kvalitativní zkoušky detekce mikroalbuminurie

Dosavadní údaje ukazují velmi nízké hodnoty klinické citlivosti těchto zkoušek. Ty se navíc snižují, jestliže jsou zkoušky prováděny na nemocničních odděleních nebo v ordinacích praktických lékařů. V současné době lze učinit relevantní závěry o přítomnosti/nepřítomnosti mikroalbuminurie pouze na bázi kvantitativních laboratorních metod. Kvalitativní detekce mikroalbuminurie může hrát roli pouze jako nástroj screeningu, avšak každý pozitivní nález musí být potvrzen kvantitativním měřením.

6 Koncentrace glukózy v moči

Kvalitativní ani kvantitativní zkoušky průkazu či měření glukózy v moči nejsou řazeny mezi základní nástroje diagnózy diabetu ani sledování jeho stavu [1, 2, 3, 4, 5].

Znalost hodnot glukózy v moči nepřináší žádné zásadní informace o stavu pacienta, jeho choroby a nemá kauzální vztah k hodnotě glukózy v plazmě (krvi), pokud její hodnota nepřekročí 10 mmol/l (renální práh). Interindividuální hodnota renálního prahu však silně kolísá.

Sledování glukózy v moči může sloužit pouze jako nedokonalá náhrada sledování glukózy v krvi osobními glukometry, a to jen v případech, kdy pacient není prokazatelně schopen/ochoten dosáhnout akceptovatelné kvality práce s glukometrem.

K zabezpečení nezbytných analytických podmínek plně postačuje použití testovacích proužků [20].

Mez detekce glukózy v moči při použití testacích (diagnostických) proužků by se měla podle manuálu WHO [5] pohybovat kolem 5,5 mmol/l.

Je nutné zabránit bakteriální kontaminaci vzorků moči rychlým provedením analýzy, krátkou mimolaboratorní dobou odezvy, případně skladováním vzorků při 4 °C. Oxidanty (peroxidové látky, chlornany) působí falešnou pozitivitu reakcí, reduktanty (zejména pak kyselina askorbová) falešnou negativitu.

7 Koncentrace ketolátek v moči a krvi

[22, 23]

7. 1 Role

Stanovení ketolátek v krvi a moči má význam pro diagnózu diabetické ketoacidózy. Ketolátky mají být stanovovány u všech diabetických pacientů s hodnotou glukózy nad 16,7 mmol/l a též při výskytu klinických symptomů diabetické ketoacidózy. V krvi a moči jsou přítomny tři ketolátky: kyselina acetoctová, aceton a kyselina β -hydroxymáselná (3-hydroxybutyrát). Klasické testovací proužky jsou však schopné detekovat pouze kyselinu acetoctovou a aceton (ketony), nikoliv kyselinu β -hydroxymáselnou. Za normálního stavu jsou kyselina acetoctová a β -hydroxymáselná přítomny v krvi

a moči v ekvimolárních množstvích. Avšak při tkáňové hypoxii je kyselina acetoctová redukována na kyselinu β -hydroxymáselnou a v důsledku toho klasické diagnostické proužky významně podhodnocují celkovou koncentraci ketolátek. Při diabetické ketoacidóze dochází ke tkáňové hypoxii, proto má pro její diagnózu mnohem větší význam stanovení kyseliny β -hydroxymáselné než klasické stanovení ketolátek standardními diagnostickými proužky.

7. 2 Preanalytické podmínky

Falešně pozitivní výsledky při stanovení v moči mohou být způsobeny:

- silným zbarvením vzorků,
- některými léky (např. inhibitory ACE),
- poškozením proužků nevhodným zacházením (expozice ovzduším, teplotou apod.),
- lačněním nebo sníženým kalorickým příjmem (redukční diety),
- těhotenstvím (u asi 30 % případů).

Falešně negativní výsledky mohou být způsobeny:

- velmi nízkým pH moči,
- vysokým příjmem kyseliny askorbové,
- mikrobiálním rozkladem a následným únikem těkavého acetonu.

7. 3 Analytické podmínky

Při stanovení ketonů v krvi klasickými testovacími proužky nebo tabletami na bázi nitroprusidové barevné reakce není kyselina β -hydroxymáselná detekována. Jsou však k dispozici metody určené přímo k měření kyseliny β -hydroxymáselné v krvi. Měření se provádí alternativně v krvi, séru nebo plazmě. V případě měření z plazmy používají jednotliví výrobci různá antikoagulantia. V séru/plazmě je stabilita analytu 1 týden při 4 °C a několik týdnů, skladuje-li se vzorek při -20 °C. Validní data o analytických znacích metody a ukazatelích analytické kvality nejsou dosud k dispozici nebo jsou kontroverzní.

7. 4 Shrnutí klinické interpretace

- Stanovení ketonů v moči klasickými metodami není podloženo důkazy při diagnostice diabetické ketoacidózy ani ke sledování jejího průběhu.
- Stanovení ketonů v krvi klasickými metodami lze použít v procesu diagnózy diabetické ketoacidózy, nikoliv však k sledování jejího průběhu.
- Stanovení kyseliny β -hydroxymáselné lze doporučit jak k diagnostikování, tak ke sledování průběhu diabetické ketoacidózy, avšak případné výhody tohoto přístupu vůči tradičním metodám také nejsou dostatečně podloženy důkazy.

8 Glukózový toleranční test (OGTT)

Orální glukózový toleranční test se používá k potvrzení diagnózy diabetes mellitus v případě, že diagnóza není jednoznačně potvrzena nálezem FPG vyšší než 7,0 mmol/l. Jde jednak o stavy s hraniční FPG (IFG, 5,6–6,99 mmol/l), jednak v situacích s FPG nižší než

5,6 mmol/l, při nichž bylo vysloveno podezření na poruchu tolerance glukózy z předchozích vyšetření, nebo jedná-li se o jedince se zvýšeným rizikem vzniku diabetu. Při nálezů porušené glukózové tolerance (PGT) se OGTT opakuje ve dvouletých intervalech.

OGTT se dále používá v těhotenství u skupin se zvýšeným rizikem vzniku diabetu (viz Standardy péče o těhotné s diabetem). V tomto případě se test provádí ve 24.–28. týdnu gravidity.

8. 1 Provedení a vyhodnocení

Podle doporučení WHO lze OGTT doporučit jako doplňující diagnostickou zkoušku v případech, kdy se hodnota FPG pohybuje v intervalu 5,6–6,99 mmol/l.

Doporučení ADA nepoužívá v diagnostice diabetu OGTT vůbec.

V obou případech však slouží OGTT k diagnóze gestačního diabetes mellitus.

Rozhodovací limit OGTT pro diagnózu diabetes mellitus je definován jako:

„Hodnota **plazmatické** glukózy v žilní krvi ve druhé hodině po zátěži $\geq 11,1$ mmol/l.“

K vyslovení diagnózy musí být překročení tohoto rozhodovacího limitu potvrzeno opakovaně.

Doporučení WHO [5] používá k diagnostice gestačního diabetu stejného uspořádání OGTT a stejného rozhodovacího limitu jako při diagnóze diabetu 1. a 2. typu.

Diagnóza gestačního diabetu podle ADA [4] je založena na použití OGTT v modifikovaném provedení a s pozměněnými hodnotami rozhodovacích limitů.

Doporučení ČDS a ČSKB představuje kombinaci obou. Používá zátěž 75 g glukózy a hodnotí koncentraci glukózy v plazmě před zátěží a po dvou hodinách po zátěži.

Gestační diabetes je laboratorně diagnostikován, je-li dosaženo aspoň jednoho ze dvou uvedených kritérií: FPG $\geq 5,6$ mmol/l

P-glukóza po 2 hodinách $\geq 7,7$ mmol/l

Grafické schéma algoritmu pro laboratorní screening gestačního DM – viz Příloha 3.

8. 2 Preanalytické vlivy

Biologickým materiálem pro OGTT je plazma žilní krve. V plazmě kapilární krve je za běžných okolností stejná koncentrace glukózy jako v plazmě žilní krve. Avšak po zátěži glukózou činí rozdíl mezi plazmou kapilární a žilní krve 20–25 % (v řadě případů i více). Také mezi koncentracemi glukózy v plné krvi a v plazmě jsou významné diference, uvedené již v předchozím textu. Uvedené hodnoty rozhodovacích limitů nemohou být proto použity, je-li při OGTT z plné žilní krve nebo materiálu získaného kapilárním odběrem. V dřívějších edicích dokumentů WHO byly hodnoty rozhodovacích limitů pro plnou krev a pro kapilární náběry publikovány, v současné době se od této praxe již upustilo.

Uvádí se, že reprodukovatelnost klasifikace diabetes mellitus pomocí jednoho provedení OGTT se pohybuje v rozmezí pouze 50–70 % [24].

K dosažení potřebné diagnostické správnosti OGTT se požaduje lačnění před odběrem po dobu 8–14 hodin, předchozí třídní dieta se zvýšeným přísunem sacharidů v potravě v množství minimálně 150 g za den

a neomezovaná fyzická aktivita ve stejném období. Malabsorpce, nauzea a kouření ovlivňují výsledek OGTT. Snížení obsahu sacharidů v dietě snižuje diagnostickou senzitivitu OGTT.

9 Ukazatele autoimunity a diagnostika diabetes mellitus

Tyto ukazatele nejsou ještě doporučovány jako nástroje rutinní diagnózy diabetes mellitus. Slouží zejména k vyhledávání vhodných dobrovolných dárců k provedení transplantace částí pankreatu pro indikované případy terapie diabetiků 1. typu.

Destrukce β -buněk pankreatu diabetiků 1. typu je zprostředkována T lymfocyty produkujícími tyto typy autoprotilátek:

- ICA (islet cell cytoplasm) – protilátky cytoplazmy T lymfocytů
- IAA (insulin autoantibodies) – protilátky proti inzulinu
- Anti-GAD 65 A (anti glutamic acid decarboxylase) – protilátky proti dekarboxyláze kyseliny glutamové
- IA-2A, IA-2 β A (insulinoma associated antigens)

Četnost výskytu autoprotilátek u nově diagnostikovaných diabetiků 1. typu je následující:

- ICA: 80 %
- Anti-GAD 65 A: 60 %
- IA-2A: 40 %
- IA-2 β A: 20 %
- IAA u 90 % dětí s diabetem 1. typu do věku 5 let a vyšší než 40 % po věku 12 let.

Klinická laboratoř stanovující autoprotilátky má být akreditována, má mít dobře vypracovaný program kontroly analytické kvality včetně úspěšné účasti v programu externího hodnocení kvality. Metodická standardizace k datu tohoto doporučení není zatím rozvinuta, ale intenzivně se na ní pracuje.

K dosažení potřebné úrovně klinické citlivosti a specifčnosti se doporučuje [25]:

- dosažení specifčnosti nad 99 %,
 - dokumentace výsledků externího hodnocení kvality,
 - kombinované použití všech autoprotilátek,
 - sledování v čase.
- Tento algoritmus však není obecně akceptovaný.

9. 1 Screening tyreopatií

Diabetes mellitus se může sdružovat s tyreopatiemi v rámci tzv. sdružených autoimunit. Přítomnost tyreopatie pak případně může ovlivnit i stav jeho kompenzace. Vzhledem k často subklinickému průběhu je screening tyreopatií vhodný. U každého diabetika má být vyšetřen TSH a v případě diabetu 1. typu se provádí vyšetření protilátek proti tyreoglobulinu (anti TG) a proti tyreoidální peroxidáze (anti TPO).

9. 2 Sérologický screening asymptomatické, němé formy celiakie

Riziko asymptomatické, němé formy celiakie je v populaci 1 : 200, u diabetes mellitus 1. typu, podobně jako u jiných autoimunitních onemocnění, je toto riziko 10krát větší a popsána incidence je 1 : 20.

Význam diagnostiky celiakie je doložen pozitivním efektem dodržování bezlepkové diety. Při dodržování bezlepkové diety klesá riziko malignit zažívacího traktu a dochází ke zlepšení kontroly i vlastního diabetu.

Doporučen je screening sérologickými markery celiakie (CD markery) – protilátky ke gliadinu IgA a IgG (AGA-A, AGA-G), protilátky k endomyziu IgA (EmA), protilátky ke tkáňové transglutamináze IgA (atTG-A). U dospělých je doporučen screening alespoň 1krát ročně, u dětí je doporučován screening každé 2 roky.

Při pozitivitě tří ze čtyř CD markerů je doporučeno provedení biopsie tenkého střeva a histologické vyhodnocení, které je spolehlivým diagnostickým průkazem celiakie.

Senzitivita a specificita kombinace CD markeru dosahuje hodnot > 90 %.

Pro uvedené čtyři CD markery je zaveden systém externího hodnocení kvality.

10 Genetické ukazatele

Jejich určení nemá zatím prokázaný význam v rutinní diagnostice a v procesu kontroly terapie diabetes mellitus [26].

Detekce některých mutací HLA-DR/DQ, souvisejících s některými diabetickými syndromy diabetu 1. typu, může poskytnout cenné informace jak o stupni genetického rizika, tak o stupni protektivity individua pro diabetes 1. stupně. Cenné by mohlo být zejména zdokonalení identifikace alel souvisejících s MODY (maturity onset diabetes of youth) diabetem. Pět typů diabetu MODY je klasifikováno právě genetickými nástroji.

Materiálem pro detekci mutací jsou vzorky DNA získané z leukocytů krve. PCR je metodou volby, existuje však řada variant metodického postupu, aniž je dostatek údajů o jejich analytických znacích.

11 Doporučení ČSKB a ČDS o rozhodovacích mezích hemoglobinu A_{1c} při sledování stavu kompenzace diabetes mellitus

- Referenční meze zdravých dospělých osob podle nové kalibrace jsou 2,8–4,0 % (95% interval).
- Kritéria kompenzace diabetu navržená Českou diabetologickou společností k používání v České republice jsou uvedena v tabulce 7.

Tab. 7. Kritéria kompenzace DM

Kompenzace diabetu	Hodnoty
Výborná	< 4,5 %
Uspokojivá	4,5–6,0 %
Neuspokojivá	> 6,0 %

Připouští se vyjadřování v procentech (%) i ve zlomku z jedné (1,0). Jiné vyjadřování výsledků je v zásadním rozporu s návazností tohoto stanovení na mezinárodně doporučené postupy.

12 Základní literatura

- Definition, Diagnosis and Classification of Diabetes mellitus and Its Complications.* World Health Organisation 1999, WHO/ NCD/NCS/ 99.2.
- American Diabetes Association Report of the Expert Committees on the Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus. *Diabetes Care*, 2002, 25, Supplement 1, S6–S20.
- Sacks, D. B., Bruns, D. E., Goldstein, D. E., Maclaren, N. K. et al.** Guidelines and Recommendations for Laboratory Analysis in the Diagnosis and Management of Diabetes Mellitus. *Clin. Chem.*, 2002, 48, p. 436–472.
- American Diabetes Association. Clinical Practice Recommendations. *Diabetes Care*, 2003, 36, Suppl 1, S1–S56.
- Reinauer, H., Home, P. D., Kanabagasagathy, A. S., Heuck, C. Ch.** *Laboratory diagnosis and monitoring of diabetes mellitus.* World Health Organization 2002.
- Stahl, M., Joergensen, G. M., Hyltoft-Petersen, P.** Optimization of preanalytical conditions and analysis of plasma glucose. *Scand. J. Clin. Lab. Invest.*, 2001, 61, p. 169–180.
- Burnett, R. W., D’Orazio, P., Fogh-Andersen, A. et al.** IFCC recommendation on reporting results for blood glucose. *Clin. Chim. Acta.*, 2001, 307, p. 205–209.
- Fraser, C. G.** Biological variation: From principles to practice. AACC Press 2001.
- Jorgensen, G. M., Stahl, M., Brandslund, I., Hyltoft-Petersen, P. et al.** Plasma glucose reference interval in a low risk population. 2. Impact of the new WHO and ADA recommendations on the diagnosis of diabetes mellitus. *Scand. J. Clin. Lab. Invest.*, 2001, 61, p. 181–190.
- prISO 15189.2 Quality management in the medical laboratory.* ISO : Geneva 2002.
- NGSP Steering Committee. Implementation of the national glycohemoglobin standardization program. *Diabetes*, 1997, 46, 151A.
- Little, R. R., Rohlfing, C. L., Wiedemayer, H. M. et al.** The National Glycohemoglobin Standardization Program (NGSP) – a five-year progress report. *Clin. Chem.*, 2001, 47, p. 1985–1992.
- Joergensen, L. G. M., Brandslund, I., Stahl, M. et al.** Upper reference limit, analytical quality specifications and clinical use of haemoglobin A_{1c}. *Scand. J. Clin. Lab. Invest.*, 2002, 62, p. 609–622.
- Kobold, U., Jeppson, J. O., Dulffer, T. et al.** Candidate reference methods for hemoglobin A_{1c} based on peptide mapping. *Clin. Chem.*, 1997, 43, p. 1944–1951.
- Weitgasser, R., Gappmayer, P., Pichler, M.** Newer portable glucose meters – analytical improvement compared with previous generation devices? *Clin. Chem.*, 1999, 45, p. 1821–1825
- American Diabetes Association. Consensus statement on self-monitoring of blood glucose. *Diabetes Care*, 1987, 10, p. 93–99.
- National Committee for Clinical Laboratory Standards. *Ancillary (bedside) blood glucose testing in acute and chronic care facilities.* Approved guideline C30–A 1994, 14, p. 1–14.
- In vitro diagnostic test systems-Requirements for blood-glucose monitoring systems for self-monitoring in managing diabetes mellitus. ISO/DIS 15197–2. International Organization for Standardization 2002.
- American Diabetes Association. Diabetes Nephropathy. *Diabetes Care*, 1999, 22, Suppl 1, S66–S69.
- Kouri, T., Fogazzi, G., Gant, V., Hallander, H., Hofmann, W., Guder, W. G.** European Urinalysis Guidelines. *Scand. J. Clin. Lab. Invest.*, 2000, 60, Supplement 231, p. 1–96.

21. **Poulsen, P. L., Hansen, B., Amby, T., Terkelsen, T., Mogensen, C. E.** Evaluation of dipstick test for microalbuminuria in three different clinical settings including the correlation with urinary albumin excretion rate. *Diabetes Metab.*, 1992, 18, p. 395–400.
22. **Porter, W. H., Yao, H. H., Karounos, D. G.** Laboratory and clinical evaluation of assays for γ -hydroxybutyrate. *Am. J. Clin. Pathol.*, 1997, 107, p. 353–358.
23. American Diabetes Association. Test of glycemia (Position Statement). *Diabetes Care*, 2000, 23, Suppl 1, S80–S82.
24. **Ko, G. T., Chan, J. C., Woo, J., Lau, E., Yeung, V. T. et al.** The reproducibility and usefulness of the oral glucose tolerance test in screening for diabetes. *Ann. Clin. Biochem.*, 1998, 35, p. 62–67.
25. **Atkinson, M. A., Eisenbarth, G. S.** Type 1 diabetes: new perspectives on disease pathogenesis and treatment. *Lancet*, 2001, 358, p. 21–229.
26. **Klein, J., Sato, A.** The HLA system. First of two. *Engl. J. Med.*, 2000, 343, p. 702–709.
27. *Monitoring glycaemic control in the diabetic patient.* Ed. In W. Gary John *IFCC Series*. Excerpta Medica Publications : London 2002.
28. Position statement ADA. Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus. *Diabetes Care*, 2005, 28, S37–S42.
29. **Hoelzel, W., Weykamp, C., Jeppson, J. O., Miedema, K., Barr, J. et al.** IFCC Reference System for Measurement of hemoglobin A_{1c} in Human Blood and the National Standardization Schemes in the United States, Japan and Sweden. A method-Comparison Study. *Clin. Chem.*, 2004, 50, p. 166–174.
30. **Comper, W. D., Jerums, O., Osicka, T. M.** Differences in urinary albumin detected by four immunoassays and high-performance liquid chromatography. *Clin. Biochem.*, 2004, 37, p. 105–111.
31. **Rustad, P., Felding, P., Franzson, V., Kairisto, V., Lahti, A. et al.** The Nordic Reference Interval Project 2000: recommended reference intervals for 25 common biochemical properties. *Scand. J. Clin. Lab. Invest.*, 2004, 66, p. 271–284.

Příloha 1

Stanovisko výboru ČDS a ČSKB ke změně rozhodovacího limitu plazmatické glukózy nalačno

Výbory České diabetologické společnosti ČLS JEP a České společnosti klinické biochemie ČLS JEP po vzájemné dohodě doporučují používat hodnotu koncentrace glukózy v plazmě žilní krve nalačno:

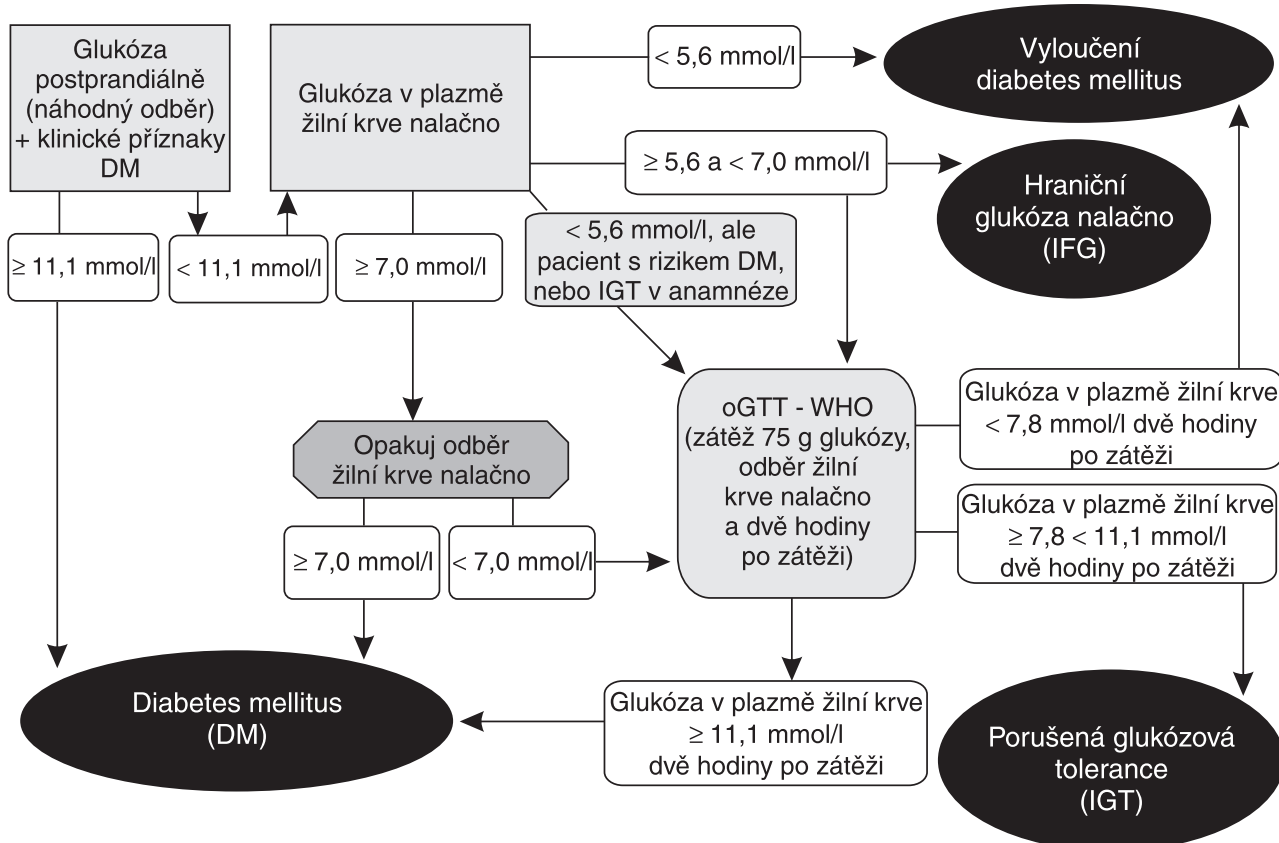
– **5,60 mmol/l** jako limit pro přítomnost zvýšené koncentrace glukózy nalačno (Impaired Fasting Glucose). Horní referenční mez plazmatické koncentrace glukózy nalačno (Fasting Plasma Glucose) je: **5,59 mmol/l**.

Pásmo **5,60–6,99 mmol/l** se označuje jako zvýšená koncentrace glukózy nalačno (v terminologii ADA a v zahraniční literatuře rovněž jako prediabetes).

23. 8. 2005

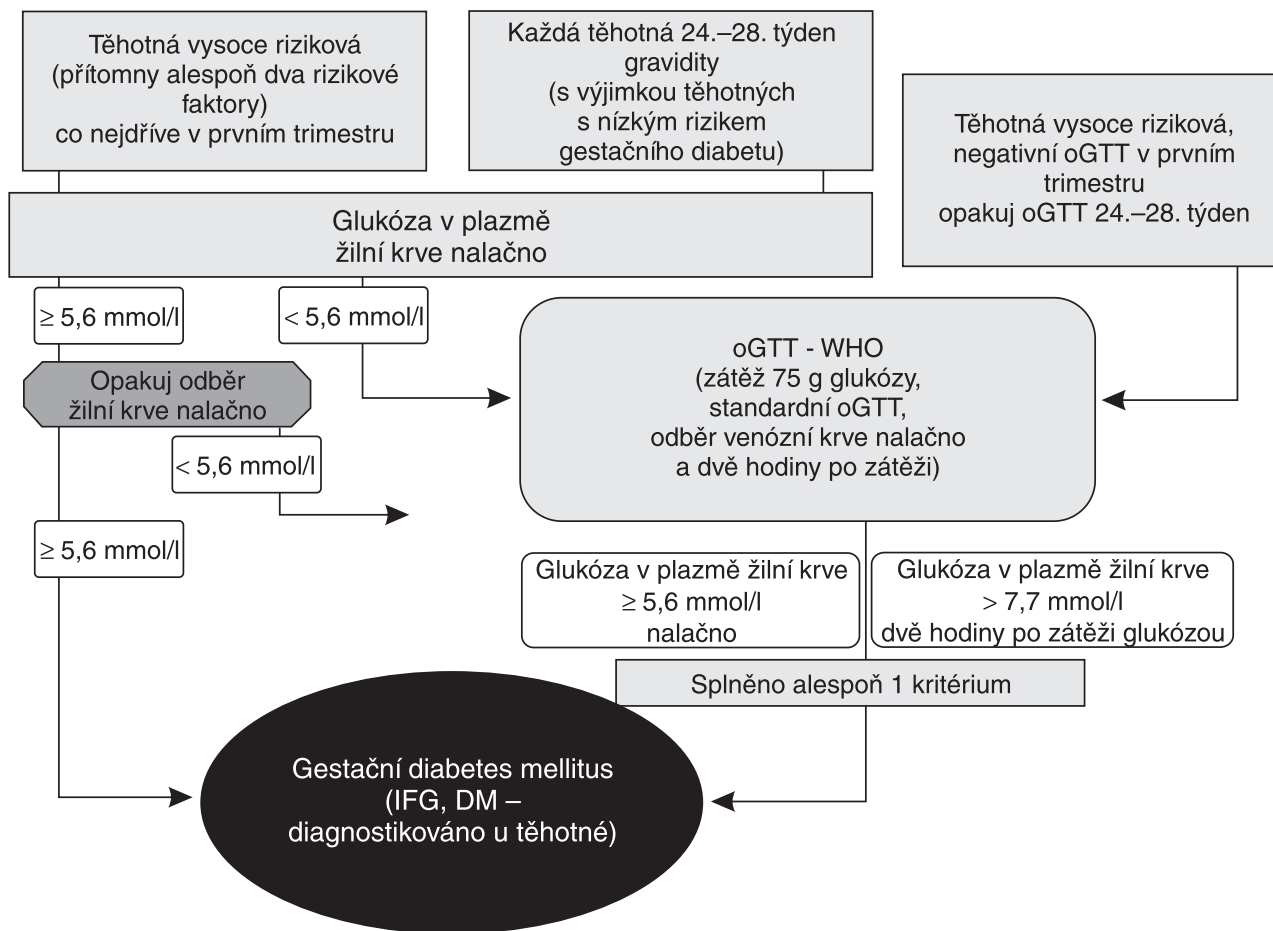
Příloha 2

Algoritmus pro laboratorní screening DM u dospělých – doporučení ČDS a ČSKB



Obr. 1. Algoritmus pro laboratorní screening DM u dospělých

Algoritmus pro laboratorní screening gestačního DM – doporučení ČDS a ČSKB



Obr. 2. Algoritmus pro laboratorní screening gestačního DM