

# Diabetes mellitus – laboratorní diagnostika a sledování stavu pacientů

Toto doporučení vydávají společně: Česká společnost klinické biochemie ČLS JEP  
Česká diabetologická společnost ČLS JEP

Autoři: Bedřich Friedecký, Josef Kratochvíla, Drahomíra Springer, Martin Prázný, Terezie Pelikánová, Tomáš Zima, Jaroslav Racek

## Obsah

1. Laboratorní diagnostika diabetu .....	2
1.1. Stanovení glukózy jako nástroje pro určení diagnózy diabetu mellitu .....	2
1.1.1. Diagnostická kritéria diabetu [1, 2, 3] .....	2
1.1.2. Porucha glukózové homeostázy (diabetu + prediabetu) je definována jako: .....	2
1.1.3. Vztahy mezi koncentrací glukózy v krvi (B-glukóza), plazmě (FPG) a séru (S-glukóza) [6] .....	2
1.1.4. Rozhodovací meze .....	3
1.1.5. Preamalytika .....	3
1.2. Glukózový toleranční test (oGTT).....	3
1.2.1. Provedení a vyhodnocení .....	3
1.2.2. Rozhodovací meze .....	3
1.2.3. oGTT u dětí.....	3
1.3. Gestační diabetes mellitus (GDM) [36].....	3
1.3.1. Definice gestačního diabetu .....	3
1.3.2. Screening gestačního diabetu .....	4
1.4. Glykovaný hemoglobin HbA <sub>1c</sub> .....	5
1.4.1. Rozhodovací meze .....	5
1.4.2. Diagnóza diabetu .....	5
2. Ostatní významné biomarkery diabetu .....	5
2.1. Stanovení poměru albumin/kreatinin - ACR .....	6
2.2. Koncentrace glukózy v moči .....	6
2.3. Koncentrace ketolátek v moči a krvi .....	7
2.4. C-peptid a inzulín .....	7
2.5. Autoprotilátky .....	7
3. Sledování stavu diabetiků.....	7
3.1. HbA <sub>1c</sub> .....	7
3.2. Použití glukometrů .....	8
3.3. Kontinuální monitorování glukózy [53].....	9
3.3.1. AGP (ambulantní glukózový profil) u CGM a jeho standardizace [47]. .....	9
3.3.2. Klíčové trendy vývoje CGM .....	10
3.3.3. Konektivita glukometrů a CGM systémů .....	10
4. Teoretické podklady a analytické podmínky.....	10
4.1. Požadavky na průkaz analytické způsobilosti laboratoře .....	10
4.2. Glukóza .....	10
4.2.1. Standardizace měření a návaznost kalibrace.....	10
4.2.2. Diference koncentrace glukózy mezi jednotlivými typy vzorků.....	10
4.2.3. Eliminace vlivu glykolýzy ve vzorcích odebrané krve .....	11
4.2.4. Požadavky na analytickou kvalitu měření.....	11
4.2.5. Metrologická návaznost .....	11
4.3. POCT systémy.....	11
4.3.1. Požadavky na analytickou kvalitu měření.....	11

4.3.2.	Požadavky na průkaz analytické způsobilosti .....	11
4.4.	Kontinuální monitorování glukózy (CGM).....	12
4.5.	Glykovaný hemoglobin HbA <sub>1c</sub> .....	12
4.5.1.	Požadavky na analytickou kvalitu měření.....	12
4.5.2.	Standardizace stanovení glykovaného hemoglobinu HbA <sub>1c</sub> .....	12
4.5.3.	Přepočtové vztahy pro výsledky uvedené v jiných jednotkách.....	13
4.5.4.	Metrologická návaznost.....	13
4.6.	Albumin .....	13
4.7.	Ketolátky .....	14
4.8.	C-peptid a inzulin .....	14
5.	Pokyny pro praktické ordinace .....	14
5.1.	Stanovení glykémie pro účely diagnostiky diabetu.....	14
5.2.	oGTT.....	14
5.3.	Doporučené hodnoty glykémie nalačno a po jídle.....	15
5.4.	HbA <sub>1c</sub> .....	15
5.4.1.	Výhody stanovení glykovaného hemoglobinu HbA <sub>1c</sub> ve srovnání s FPG.....	15
5.4.2.	Nevýhody stanovení glykovaného hemoglobinu HbA <sub>1c</sub> ve srovnání s FPG.....	15
5.5.	Diabetické onemocnění ledvin.....	15
6.	Zkratky.....	16
7.	Literatura.....	17
Příloha 1.	Algoritmus pro screening DM u dospělých .....	20
Příloha 2.	Algoritmus pro laboratorní screening gestačního DM – I. fáze.....	21
Příloha 3.	Algoritmus pro laboratorní screening gestačního DM – II.fáze.....	22
Příloha 4.	Návrh algoritmu pro diagnózu diabetu pomocí stanovení HbA <sub>1c</sub> .....	23
Příloha 5.	Preanalytické podmínky a interference .....	24

## 1. Laboratorní diagnostika diabetu

### 1.1. Stanovení glukózy jako nástroje pro určení diagnózy diabetu mellitu

Plazmatická koncentrace glukózy v žilní krvi nalačno (FPG) je nástrojem pro:

- určení diagnózy diabetu mellitu
- vyhledávání osob se zvýšeným rizikem diabetu mellitu

#### 1.1.1. Diagnostická kritéria diabetu [1, 2, 3]

- Koncentrace glukózy v plazmě žilní krve kdykoliv během dne  $\geq 11,1$  mmol/l.
- Koncentrace glukózy v plazmě žilní krve na lačno  $\geq 7,0$  mmol/l.
- Koncentrace glukózy v plazmě při orálním glukózovém tolerančním testu  $\geq 11,1$  mmol/l.

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

Grafické schéma rozhodovacího algoritmu pro laboratorní screening DM u dospělých uvádí Příloha 1.

#### 1.1.2. Porucha glukózové homeostázy (prediabetes)

Zvýšené riziko diabetu označované jako Impaired Fasting Glucose (IFG), zvýšená koncentrace glukózy nalačno, případně jako prediabetes, je charakterizováno hodnotami FPG v intervalu hodnot  $\geq 5,6 - 6,9$  mmol/l (nikoliv při měření na glukometru), nebo stanovením glykovaného hemoglobinu (HbA<sub>1c</sub>) v laboratoři  $\geq 39$  mmol/mol dle IFCC.

#### 1.1.3. Vztahy mezi koncentrací glukózy v krvi (B-glukóza), plazmě (FPG) a séru (S-glukóza) [6]

---

FPG = 1,11 · B-glukóza	jestliže je vzorek krve před analýzou ředěn hemolyzačním nebo deproteinačním činidlem
------------------------	---

---

FPG = 0,94 · B-glukóza	jestliže je vzorek krve měřen bez ředění
------------------------	--

---

Naprostá většina literárních dat považuje hodnoty koncentrací glukózy v plazmě a séru za rovnocenné. Doporučení WHO a ADA zmiňují pouze použití plazmy a vůbec nezmiňují krevní sérum. Rozdíl mezi žilní a kapilární krví je dále uveden v kapitole *Glukózový toleranční test (oGTT)*.

#### 1.1.4. Rozhodovací meze

<b>FPG [mmol/l]</b>	<b>Interpretace</b>
< 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)

Protože hodnota intraindividuální biologické variability činí v průměru 4,7 %, je nezbytné provést diagnostický závěr na podkladě alespoň dvou výsledků nezávislých měření. [43]

Hodnoty FPG 5,6 mmol/l a vyšší by měly být vždy opakovány pro podezření z možného potvrzení diagnózy diabetu mellitu, respektive pacienti s takovými hodnotami by měli být vyšetřováni s vyšší frekvencí.

**Hypoglykémie** [40]:

- Je definována hodnotou FPG ≤ 3,0 mmol/l
- hodnota FPG 3,1-3,9 mmol/l je považována za varovnou mez hypoglykémie

#### 1.1.5. Preanalytika

Zásadním předpokladem kvality diagnózy diabetu a prediabetu měřením plasmatické lačné glukózy (FPG) je minimalizace glykolýzy ve vzorku odebrané krve. Maximální možná doba mezi odběrem a oddělením plasmy od krevních elementů je 30 minut. Pokud není možné tuto dobu dodržet, je nutné odebrat vzorek krve do nádoby, obsahující antiglykolytickou směs fluoridu sodného (NaF), EDTA a citrátu sodného. Takové odběrové zkumavky nabízí téměř všichni distributoři uzavřených odběrových systémů. Při použití odběrových zkumavek s obsahem NaF a EDTA bez citrátu sodného není inhibice glykolýzy dostatečná.

Další požadavky na preanalytickou fázi u jednotlivých analytů a možné interference jsou uvedeny v Příloze 5

## 1.2. Glukózový toleranční test (oGTT)

### 1.2.1. Provedení a vyhodnocení

Podle doporučení WHO lze oGTT doporučit jako doplňující diagnostickou zkoušku v případech, kdy se hodnota FPG pohybuje v intervalu 5,6 až 6,9 mmol/l. oGTT se však doporučuje k potvrzení diagnózy prediabetu a slouží k diagnóze gestačního diabetu.

### 1.2.2. Rozhodovací meze

Koncentrace plasmatické glukózy v plazmě žilní krve po 2 hodinách po zátěži 75 g glukózy.

<b>Glukóza [mmol/l]</b>	<b>Interpretace</b>
< 7,8	Vyloučení diabetu mellitu
7,8 až 11	Porušená glukózová tolerance
≥ 11,1	Diabetes mellitus

### 1.2.3. oGTT u dětí

U dětí se standardně (dle WHO i ADA) počítá použitá dávka glukózy pro oGTT počítá 1,75 g / kg tělesné hmotnosti do maxima 75 gramů.

## 1.3. Gestační diabetes mellitus (GDM) [36]

### 1.3.1. Definice gestačního diabetu

**Gestační diabetes mellitus (GDM)** je porucha metabolismu glukózy různého stupně, která se objeví v těhotenství a spontánně odezní v průběhu šestinedělí.

V těhotenství může být kromě GDM zachycen také tzv. **zjevný diabetes mellitus** (dále také **DM**), který splňuje diagnostická kritéria diabetu platná pro všeobecnou populaci (glykémie nalačno  $\geq 7,0$  mmol/l a/nebo v 120. min oGTT  $\geq 11,1$  mmol/l) a zpravidla přetrvává i po šestinedělí.

GDM v užším slova smyslu je nově definován jako diabetes zachycený ve II. až III. trimestru těhotenství u žen, u kterých nebyl přítomen zjevný diabetes před těhotenstvím.

### 1.3.2. Screening gestačního diabetu

Screening GDM je: **dvoufázový**: I. fáze: do 14. týdne, II. fáze: ve 24. – 28. týdnu; je

- indikován **u všech těhotných** s výjimkou žen s již známou pregestačně vzniklou poruchou metabolismu glukózy
- organizován **gynekologem**
- prováděn **v certifikované laboratoři**, která se řídí doporučeným postupem České společnosti klinické biochemie ČLS JEP pro vyšetření glykémie nalačno z žilní krve a 75 g orálního glukózového tolerančního testu (dále také oGTT) standardní laboratorní metodou

#### I. fáze screeningu

**Indikace:** všechny těhotné ženy

**Termín:** do 14. týdne

**Metoda:** glykémie nalačno z žilní plazmy

#### Diagnostický postup:

Glykémie nalačno $< 5,1$ mmol/l	glykémii není třeba opakovat
Glykémie nalačno $\geq 5,1$ mmol/l	glykémii nalačno je nutné opakovat co nejdříve, ale ne ve stejný den
Glykémie nalačno $\geq 5,1$ mmol/l a opakovaná glykémie $< 5,1$ mmol/l	doporučeno doplnění 75 g oGTT v I. fázi screeningu

#### Hodnocení výsledků a další postup:

Glykémie nalačno $< 5,1$ mmol/l	v normě	žena podstoupí II. fázi screeningu
Glykémie nalačno opakovaně 5,1 – 6,9 mmol/l	= GDM	žena je odeslána na diabetologii
Glykémie nalačno opakovaně $\geq 7,0$ mmol/l	= zjevný DM	žena je odeslána na diabetologii
Glykémie při oGTT v 60. min $< 10,0$ mmol/l a ve 120. min $< 8,5$ mmol/l	v normě	žena podstoupí II. fázi screeningu
Glykémie při oGTT v 60. min $\geq 10,0$ mmol/l a/nebo ve 120. min $\geq 8,5$ mmol/l	= GDM	žena je odeslána na diabetologii

#### II. fáze screeningu

**Indikace:** všechny těhotné ženy s negativním výsledkem v I. fázi screeningu (i ženy, které I. fázi screeningu z nějakého důvodu nepodstoupily)

**Termín:** ve 24. – 28. týdnu

**Metoda:** **tříbodový 75 g oGTT**, a to vždy za standardních podmínek:

- test se provádí v ranních hodinách po minimálně 8 hodinovém lačnění (těhotná žena smí pít pouze čistou vodu)
- těhotná má být poučena, aby 3 dny před testem měla své obvyklé stravovací návyky (neomezovala příjem sacharidů) a den před testem vyloučila zvýšenou fyzickou námahu
- všechny odběry musí být provedeny ze žíly, **nelze použít kapilární krev z prstu**
- jednotlivé glykémie musí být stanoveny standardní metodou, a to buď ze standardní zkumavky nejpozději do 30 minut od odběru nebo ze zkumavky s tříšložkovým antiglykolytickým činidlem (fluorid sodný + EDTA + citrát sodný) nejpozději do 24 hodin od odběru
- po celou dobu testu zůstává vyšetřovaná žena ve fyzickém klidu v laboratoři, před testem a během testu nesmí kouřit
- pravidelné dávky léků s antiinzulinovým efektem (zejména hydrokortizon, thyroxin, betasympatikomimetika, progesteron) lze užít v den testu až po jeho dokončení
- důvodem k odložení testu je akutní onemocnění např. viróza, hyperemesis gravidarum apod.

**Diagnostický postup:** nejprve je stanovena glykémie nalačno; další postup je podle výsledku

Glykémie nalačno < 5,1 mmol/l	žena podstupuje 75 g oGTT: vypije roztok 75 g glukózy rozpuštěný ve 300 ml vody během 3 – 5 minut, další vzorek krve se odebírá v 60. a 120. minutě po zátěži glukózou
Glykémie nalačno ≥ 5,1 mmol/l	glykémii nalačno je nutné opakovat co nejdříve, ale ne ve stejný den
Glykémie nalačno ≥ 5,1 mmol/l a opakovaná glykémie nalačno < 5,1 mmol/l	žena podstupuje 75 g oGTT
Glykémie nalačno ≥ 5,1 mmol/l a opakovaná glykémie nalačno ≥ 5,1 mmol/l	= GDM, žena nepodstupuje oGTT

**Hodnocení výsledků a další postup:**

všechny výsledky glykémie jsou v normě: nalačno < 5,1 mmol/l v 60. min < 10,0 mmol/l ve 120. min < 8,5 mmol/l	= negativní screening	standardní péče
splněno kterékoliv z následujících kritérií: nalačno opakovaně ≥ 5,1 mmol/l v 60. min ≥ 10,0 mmol/l ve 120. min ≥ 8,5 mmol/l	= GDM	žena je odeslána na diabetologii

#### 1.4. Glykovaný hemoglobin HbA<sub>1c</sub>

Koncentrace HbA<sub>1c</sub> v krvi je považována za rutinní a efektivní nástroj sledování průběhu DM. Hodnotu glykovaného hemoglobinu je možno použít v rámci screeningu poruch glukózové homeostázy, zejména ve vztahu k prediabetu. Představuje vhodný způsob kontroly koncentrací glukózy u diabetiků, neboť je považována za její vážený dlouhodobý průměr.

Koncentrace HbA<sub>1c</sub> v krvi je v současnosti velmi často považována za nástroj screeningu prediabetu. Ke zvýšení citlivosti diagnózy diabetu je výhodné kombinovat stanovení FPG (případně s 2hod oGTT) se stanovením HbA<sub>1c</sub>.

Jednotkou měření je **mmol/mol hemoglobinu**. Přepočtení na starší jednotky (% NGSP či % IFCC), dosud užívané v některých zemích, je uveden v kapitole 2.2.4.

Hodnota intraindividuální biologické variability  $CV_i = 1,3 \%$  je významně nižší než u FPG ( $CV_i = 4,8 \%$ ). Na základě kombinace dílčích nejistot odpovídajících soudobým úrovním preciznosti, bias a hodnotě  $CV_i$  lze odhadnout, že výsledná kombinovaná nejistota výsledku měření HbA<sub>1c</sub> (odpovídající 95 % intervalu spolehlivosti)  $U_c$  leží v intervalu 3 až 4 mmol/mol HbA<sub>1c</sub>.

##### 1.4.1. Rozhodovací meze

Plná krev odebraná ze žíly nebo kapilární krev odebraná po vpichu z prstu jsou rovnocenné materiály.

##### 1.4.2. Diagnóza diabetu

V diagnostickém procesu se výsledky diskriminují podle hodnot cut off

<b>HbA<sub>1c</sub></b> <b>[mmol/mol]</b>	<b>Interpretace</b>
< 38	diabetes nepřítomen
38 až 48	hraniční hodnoty
> 48	diagnóza diabetu

## 2. Ostatní významné biomarkery diabetu

Měření koncentrace albuminu v moči diabetiků vykazuje významnou schopnost včasné predikce **diabetického onemocnění ledvin** a stanovení kardiovaskulárního rizika (parametr endotelové dysfunkce). Zvýšené vylučování albuminu močí, které není detekovatelné kvalitativními metodami realizovanými běžnými

testovacími proužky pro průkaz proteinů v moči či jinými metodami kvalitativní analýzy, se dříve označovalo jako *mikroalbuminurie*.

Pacienti s diabetem by měli být testováni na přítomnost diabetického onemocnění ledvin jednou ročně.

## 2.1. Stanovení poměru albumin/kreatinin - ACR

Zahrnuje stanovení poměru albumin/kreatinin ACR (g/mol kreatininu) v prvním ranním vzorku moči; vyšetření albuminu v moči sbírané 24 hodin se nedoporučuje. Přednost se dává vyšetření v jednorázovém vzorku moči. Vzhledem k vysoké intraindividuální variabilitě (až 30 %) by pro diagnózu albuminurie měly být pozitivní alespoň 2 ze 3 po sobě následujících vzorků moči analyzovaných v intervalu 3 – 6 měsíců [1, 2].

Vyšetření by nemělo být prováděno při současné infekci močových cest, po zvýšené fyzické námaze a při menses.

Hodnoty přesahující horní hranice rozhodovacích mezí jsou označovány jako *proteinurie*. Ty lze již spolehlivě detekovat kvalitativními zkouškami na celkové bílkoviny prováděnými testovacími proužky. Analýza vzorků s proteinurií, detekovatelnou již standardním diagnostickým proužkem je zcela nevhodná ke stanovení albuminurie a ACR imunochemickými metodami (je překročen pracovní rozsah měření a může dojít k „hook efektu“).

Podle doporučení KDIGO 2012 [26] přichází v úvahu následující stanovení:

- kvantitativní stanovení albuminu a albumin-kreatininového kvocientu (ACR) v moči
- kvantitativní stanovení celkového proteinu a protein-kreatininového kvocientu (PCR) v moči
- orientační semikvantitativní stanovení proteinu testovacími proužky v moči.

Tyto tři testy jsou seřazeny podle klesající výpovědní schopnosti. Semikvantitativní zkoušky nejsou dostatečně citlivé, při pozitivním výsledku je nutno tento nálezn vždy ověřit v laboratoři. Pokud se stanoví hodnota ACR  $\geq 3$  mg/mmol, je zapotřebí vyšetření opakovat s použitím vzorku první ranní moče.

Tabulka (KDIGO 2012)

Kategorie	Albuminurie [mg/24 h]	ACR [g/mol kreatininu]	Proteinurie [mg/24 h]	PCR [g/mol kreatininu]
Fyziologická až mírně zvýšená (A1)	< 30	< 3	< 150	< 15
Zvýšená (A2)	30 až 300	3 až 30	150 až 500	15 až 50
Závažná (A3)	> 300	> 30	> 500	> 50

Jestliže je výsledek měření vyšší než hodnota rozhodovacího limitu, je diagnostický závěr možné učinit až na podkladě tří opakovaných měření.

Podrobněji viz společné doporučení České společnosti klinické biochemie a České nefrologické společnosti [39] a mezinárodní doporučení **KDIGO 2012** [25, 26].

Současné imunochemické metody poskytují výsledky, které jsou dostatečně kvalitní pro diagnostická rozhodování. Imunoturbidimetrie a imunonefelometrie převládá při stanovení albuminu v moči.

Vylučování albuminu močí, které může predikovat nefropatii, má být stanovováno v laboratoři metodami s těmito parametry:

Mezilehlá preciznost	Mez detekce
CV < 15 %	$\leq 10$ mg/l

Jako referenční metoda je navržena metoda LC-MS/MS.

Akceptovatelné hodnoty bias mají být zabezpečeny realizací metrologické návaznosti rutinní metody na mezinárodní referenční materiál ERM-DA470k/IFCC.

## 2.2. Koncentrace glukózy v moči

Stanovení glukózy v moči není doporučeno pro diagnostiku a sledování pacienta s diagnózou DM. Pohled na glykosurii se však zásadně mění v souvislosti s aktuálním používáním terapie pomocí inhibice Na-glukózového kotransportéru SGLT2, kdy zvýšená exkrece glukózy močí je důsledkem této léčby [27].

### 2.3. Koncentrace ketolátek v moči a krvi

Stanovení ketolátek v krvi a moči má význam pro diagnózu diabetické ketoacidózy. Ketolátky mají být stanovovány u 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  $\beta$ -hydroxymáselná (3-hydroxybutyrát). Klasické testovací proužky jsou však schopné detekovat pouze kyselinu acetoctovou a aceton (ketony), nikoliv kyselinu  $\beta$ -hydroxymáselnou. Za normálního stavu jsou kyselina acetoctová a  $\beta$ -hydroxymáselná přítomny v krvi a moči v ekvimolárních množstvích. Při tkáňové hypoxii je kyselina acetoctová redukována na kyselinu  $\beta$ -hydroxymáselnou a v důsledku toho klasické testovací proužky významně podhodnocují celkovou koncentraci ketolátek.

#### Shrnutí klinické interpretace

- Stanovení ketonů v moči klasickými metodami není podloženo důkazy při diagnostice diabetické ketoacidózy ani k sledování jejího průběhu.
- Stanovení ketonů v krvi klasickými metodami lze použít v procesu diagnózy diabetické ketoacidózy, nikoliv však k sledování jejího průběhu.
- Stanovení kyseliny  $\beta$ -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.

### 2.4. C-peptid a inzulin

Stanovení C-peptidu a inzulinu není zakotveno v žádném doporučení pro diagnostiku diabetu a nemá význam při rutinním sledování pacientů s DM. Stanovení C-peptidu se provádí při rozhodování o vhodnosti volby terapie inzulinem u diabetu 2. typu, tj. při podezření na selhání sekrece inzulinu. Vyšetření inzulinu má význam při podezření na inzulinovou rezistenci u syndromu polycystických ovarií a při diagnostice inzulinomu.

### 2.5. Autoprotilátky

Tyto testy nejsou doporučovány jako nástroje rutinní diagnózy diabetu mellitu, ale jsou vhodné při podezření na autoimunitní původ diabetu. Slouží zejména při podezření na diabetes LADA (latentní autoimunitní diabetes dospělých, tj. pomalu progredující diabetes 1. typu) a dále též k vyhledávání vhodných dobrovolných dárců k provedení transplantace částí pankreatu pro indikované případy terapie diabetiků 1. typu. Protilátky jsou často prokázány dříve, než se klinicky projeví onemocnění. U 1 až 2 % populace se vyskytuje jeden typ protilátky a při tomto nálezu je riziko vzniku autoimunitního diabetu nízké. Při nálezu více autoprotilátek riziko stoupá až na 90 %. Vysokou výpovědní hodnotu má kombinované vyšetření tří autoprotilátek anti IAA, anti-GAD a anti IA-2.

Screening autoprotilátek u příbuzných pacientů s diabetem mellitem 2. typu není doporučený. Analytická kvalita a harmonizace stanovení protilátek je v současnosti nevhodně nízká, jak je zjevné z výsledků programů EHK.

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 tyreotropin TSH a v případě diabetu 1. typu se provádí vyšetření protilátek proti tyreoglobulinu (anti TG) a proti tyreoidální peroxidáze (anti TPO).

Riziko asymptomatické, němé formy celiakie je v populaci 1:200. U diabetu mellitu 1. typu, podobně jako u jiných autoimunitních onemocnění, je toto riziko 10x větší a popsána incidence je 1:20. Ke screeningu celiakie je doporučeno použít protilátky proti endomysiu (EMA) nebo proti tkáňové transglutamináze (aTTG) a v případě jejich pozitivitu je přítomnost celiakie nutno verifikovat pomocí enterobiopsie. Protilátky proti gliadinu nejsou díky nízké specifitě ke screeningu vhodné.

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

## 3. Sledování stavu diabetiků

### 3.1. HbA<sub>1c</sub>

Sledování stavu choroby

<b>HbA<sub>1c</sub></b> <b>[mmol/mol]</b>	<b>Interpretace</b>
--	---------------------

20 až 42	referenční interval (dospělí, negravidní)
43 až 53	kompensovaný diabetes (dospělí, negravidní)
> 53	dekompensovaný diabetes; signál k změně terapie a režimu
< 59	kompensovaný DM v dětském věku

Literární údaje týkající se rozhodovacích mezí se mnohdy liší. Příčinou těchto rozdílů je i nejistota stanovení HbA<sub>1c</sub>, která v závislosti na zvolené měřicí technice může dosahovat maximální velikosti U<sub>c</sub> = 4 mmol/mol.

### 3.2. Použití glukometrů

Koncentrace glukózy v kapilární krvi, stanovená pomocí osobního glukometru je nástrojem sledování stavu u diabetu typu 1 a u pacientů s diabetem 2. typu, léčených insulinem. Naopak jeho role u diabetu 2 typu zůstává zatím nejasná (44).

#### Základní požadavky na glukometry při patientském selfmonitoringu podle požadavků normy ISO 15197: [12]

Požadavky na hodnoty celkové chyby měření, vypočtené jako rozdíl výsledku glukometru od hodnoty, zjištěné v akreditované klinické laboratoři jsou uvedeny v tabulce.

Tabulka. Požadované hodnoty celkové chyby a preciznosti glukometrů pro selfmonitoring

% výsledků	mmol/l glukózy	maximální chyba	CV %
95	≥ 5,55	± 15 %	
	< 5,55	± 0,83 mmol/l	
99	v zónách A, B mřížkového grafu		≤ 5,0

Další významné podmínky analytické kvality osobních glukometrů podle normy ISO 15197 jsou:

- 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, uvádějících v průvodní dokumentaci základní metrologická data měření (preciznost, maximální bias, měřicí rozsah, způsob a možnosti provádění VKK a EHK).
- Preferování glukometrů, certifikovaných některým z k tomu pověřených institutů např.: Scandinavian evaluation of laboratory equipment for primary health care - SKUP <http://www.skup.nu> Referenční laboratoř ÚLBLD VFN a 1. LF UK, Praha. (<http://ulbld.lf1.cuni.cz/referencni-lab>)
- Používání glukometrů, korigujících automaticky výsledek měření plné krve na výsledek, odpovídající koncentraci glukózy v krevním séru a plazmě.

Hodnoty rozhodovacích mezí a četnost měření nejsou striktně definovány.

Kontroly osobních glukometrů srovnáním s měřením v laboratoři se doporučuje provádět v pravidelných časových intervalech minimálně jednou ročně.

Na trhu jsou stále k dispozici desítky různých typů glukometrů produkovaných řadou výrobců a volně prodávaných a nabízených bez jakékoliv regulace. Jejich použití by mělo být označováno za naprosto nevhodné a pro sledování stavu pacientů rizikové.

Požadavky na glukometry, používané na nemocničních jednotkách intenzivní péče [37] jsou uvedeny v následující tabulce

Tabulka. Maximální chyba glukometrů („for profesional use“) na JIP

% výsledků	koncentrace glukózy mmol/l	maximální chyba
95	> 4,2	± 12 %
	< 4,2	± 0,67 mmol/l
99	> 4,2	± 15%
	< 4,2	± 0,83 mmol/l

U pacientů v kritickém stavu existuje významné riziko snížení spolehlivosti výsledků měření při kapilárních odběrech. Vhodnější alternativou u těchto pacientů je použití vzorku arteriální nebo venózní krve, nebo volba jiného principu měření - laboratorní vyšetření resp. kontinuální sledování glukózy. Snížené hodnoty hematokritu, hypoxie a interference některých léčiv jsou častou příčinou problémů. Lékovými/látkovými interferenty jsou zejména vitamin C, icodextrin, acetaminofen/paracetamol, případně xylóza, galaktóza a maltóza.



Diference mezi typy vzorků jsou u měření pomocí glukometrů významné:

- Pro odběry na lačno až o 0,3 mmol/l vyšší výsledky u arteriálního odběru ve srovnání s kapilárním odběrem; kapilární odběr o 0,1 až 0,3 mmol/l vyšší, než u vzorků žilní krve, arteriální vzorek o 0,4 až 0,6 mmol/l vyšší, než vzorek žilní krve.
- Při odběru bez lačnění: arteriální/kapilární vzorek krve jsou vyšší než žilní vzorek o až 1 až 4 mmol/l.

Programy EHK doposud nemají k dispozici možnost použití vhodných komutabilních kontrolních materiálů na bázi vzorků plné krve a je nutné při hodnocení jejich výsledků vystačit s hodnocením v rámci vlastní skupiny glukometrů, což velmi omezuje jejich výpovědní hodnotu [46].

Hodnoty rozhodovacích mezí a četnost měření nejsou striktně definovány.

Kontroly osobních glukometrů srovnáním s měřením v laboratoři se doporučuje provádět v pravidelných časových intervalech minimálně jednou ročně.

### 3.3. Kontinuální monitorování glukózy [53]

Používání systémů pro kontinuální monitorování koncentrace glukózy (CGM) umožňuje bezpečnější dosažení lepší kompenzace diabetu a představuje posun k aspektům personalizované medicíny. Systém pro kontinuální monitorování koncentrace glukózy měří koncentraci glukózy v reálném čase po 24 hodin denně (rt-CGM). Systém rt-CGM se skládá ze snímače glukózy zavedeného pod kůži, který měří koncentraci glukózy v intersticiální tekutině, vysílače, který vysílá informace ze snímače do inzulínové pumpy nebo smartfónu či tabletu (telemedicínský přístup). Systém používá alarm při nízkých a vysokých hodnotách. Většina těchto systémů v současné době vyžadují denně kalibraci pomocí osobního glukometru, ale existují i systémy s interní, výrobcem provedenou kalibrací (rovněž provedenou pomocí glukometrů) v softwaru přístroje, ty pak tuto denní recalibraci nevyžadují. Zároveň se rozšiřuje používání systémů pro okamžité (intermitentní) monitorování glukózy (is-CGM; Flash Glucose Monitoring – FGM)), které pracují na podobném principu snímače, ale nemají aktivní alarmy a pacient zjistí aktuální hodnotu glukózy a trend pouze v případě, že aktivně přiblíží přijímač k snímači – tzv. skenuje snímač. Výhodou je zde zejména omezení psychologických dopadů častých alarmů aktivních CGM systémů na pacienta a praktická eliminace vpichů do prstů při měření glukometrem – systém je schválen pro dvoutýdenní použití s firemním kalibračním faktorem, odvozeným z měření glukometrem, bez nutnosti uživatelovy recalibrace glukometrem. Novinkou jsou pak snímače implantabilní, které se zavádí z malého řezu do podkoží a jejich doba použití je v současné době až 6 měsíců [52].

#### 3.3.1. AGP (ambulantní glukózový profil) u CGM a jeho standardizace [47].

Tři základní parametry, popisující efektivitu CGM jsou:

- TIR – „Time in Range“ je čas, po který jsou výsledky měření koncentrace glukózy pacienta v intervalu 3,9 až 10 mmol/l
- TAR – „Time above Range“ je čas, po který jsou výsledky měření koncentrace glukózy nad 10 mmol/l
- TBR – „Time below Range“ je čas, po který jsou výsledky nižší než 3,9 mmol/l glukózy. Přitom interval TBR je shodný s pojetím definice hypoglykémie podle ADA-2020 [44].

Tabulka standardizace dat AGP

Parametr	Hodnoty	% výsledků/den
Dny činnosti CGM	14 dní	
Glukóza mmol/l	Průměr/den mmol/l	
Preciznost měření	CV % (den)	
GMI	Odhad hodnoty HbA <sub>1c</sub> z glukózy	
TIR	3,9 - 10,0 mmol/l	> 70
TAR - Level 1	10,1 - 13,9 mmol/l	< 25
TAR - Level 2	> 13,9 mmol/l	< 5
TBR – Level 1	3,0 - 3,9 mmol/l	< 4
TBR – Level 2	< 3,0 mmol/l	< 1

#### MARD jako parametr analytické kvality CGM

Diference výsledků stanovení glukózy CGM od referenční hodnoty (MARD), stanovené laboratorní metodou v plazmě by měly být nižší, než 15 %.

Hodnota MARD u 11 nejčastěji používaných systémů rt-CGM a is-CGM(F) v roce 2019 se pohybovala v intervalu 9 až 21 % a u hypoglykemií v intervalu 12 až 45 % [48].

### 3.3.2. Klíčové trendy vývoje CGM

- Zlepšování pravdivosti měření pomocí realizace návaznosti kalibrace (ať firemní nebo pomocí glukometrů.
- Velmi zajímavé perspektivy náhrady glukometrů k sledování stavu diabetu pomocí is-CGM(FGM).
- Zavedení doposud neexistujícího systému analytické kontroly kvality.
- Zpřesnění indikace používání insulinových pump.
- Systém edukace pacientů, který je ve srovnání s jinými případy velmi náročný.

K realizaci klíčových trendů u CGM byla ustanovena pracovní skupina IFCC-WG-CGM (září 2019)[45]. Problém vztahu CGM a glykovaného hemoglobinu HbA<sub>1c</sub> je třeba chápat v širších souvislostech. HbA<sub>1c</sub> je populační parametr rizika diabetu, CGM výsledky jsou parametry personalizovaného přístupu k sledování, HbA<sub>1c</sub> je standardizovaný a dobře kontrolovaný parament, zatímco CGM, TIR, TAR a TBR zatím možnost standardizace a důsledné analytické kontroly postrádají. Jde o dva různé přístupy sledování diabetu, které spolu úzce souvisí, ale nejsou navzájem zaměnitelné. [49, 50] Korelace mezi glykovaným hemoglobinem HbA<sub>1c</sub> a parametry CGM kolísá. U veličiny TIR (glukóza 3,9 až 10 mmol/l) se uvádí hodnota  $r=0,75$ , pro glukózu nad 13,8 mmol/l je hodnota  $r$  nižší (0,72) a u hodnot glukózy < 3,9 mmol/l, veličiny vzájemně nekorelují a  $r = -0,39$  [51].

### 3.3.3. Konektivita glukometrů a CGM systémů

Umožňuje propojení výsledků v

- nemocniční síti
- dálkovou správu zařízení včetně relevantní kontroly kvality
- realizaci telemedicínských postupů zejména u pacientů s diabetem 1 typu.

## 4. Teoretické podklady a analytické podmínky

### 4.1. Požadavky na průkaz analytické způsobilosti laboratoře

Pro stanovení glukózy, glykovaného hemoglobinu HbA<sub>1c</sub>, albuminu i kreatininu se požaduje doložená úspěšná účast v programu externího hodnocení kvality akreditovaném dle ISO 17043 (minimálně 2x ročně).

### 4.2. Glukóza

#### 4.2.1. Standardizace měření a návaznost kalibrace

Standardní laboratorní metodou pro stanovení glykémie pro účely diagnostiky diabetu mellitu se rozumí:

- spektrofotometrické stanovení glukózaoxidázovou nebo hexokinázovou metodou
- stanovení elektrochemické na laboratorním zařízení (ne na glukometru, který používá testovacích proužků).

Stanovení se provádějí z plazmy žilní krve (ne ze vzorků kapilární krve, ani plné žilní krve).

Glykolýza je eliminována odběrem vzorku do antiglykolytické směsi EDTA, NaF a citrátu sodného.

Metrologická návaznost kalibrace je dána:

- referenční metodou měření LC-GC/MS
- certifikovanými referenčními materiály s hodnotami, ustanovenými referenční metodou, s uvedenou nejistotou měření a s validovanou komutabilitou
- kalibrátory rutinních metod s hodnotami metrologicky návaznými na referenční metodu a komutabilními.

*Hodnoty požadované preciznosti, bias a akceptované nejistoty (acceptable performance specification-APS) jsou formulovány na podkladech dat biologických variabilit v databázi EuBIVAS [38].*

#### 4.2.2. Diference koncentrace glukózy mezi jednotlivými typy vzorků

- arteriální vs kapilární krev (při odběrech nalačno): vyšší výsledky až o 0,3 mmol/l; kapilární vs žilní krev (při odběrech nalačno) 0,1 až 0,3 mmol/l
- při odběru bez lačnění: arteriální/kapilární vzorek krve jsou vyšší než žilní vzorek o až 1 až 4 mmol/l

- arteriální vs žilní krev (při odběrech nalačno) 0,4 až 0,6 mmol/l

#### 4.2.3. Eliminace vlivu glykolýzy ve vzorcích odebrané krve

Glykolýza snižuje významně koncentraci glukózy ve vzorcích odebraných krví. Inhibice glykolýzy pomocí fluoridu sodného + EDTA je nedostatečná, zejména v první hodině po odběru. Přesto se této neúčinné inhibice v laboratořích i nadále používá. V roce 1988 byla vyvinuta a v USA patentována pro potřebu firmy Terumo zlepšená inhibice glykolýzy přidáním citrátu sodného a kyseliny citronové. Podstatou zlepšení je snížení pH v odběrové směsi na hodnotu 5,3 - 5,9. Enzymy závislé na pH, které způsobují glykolýzu ihned po odběru (hexokináza a fosfofruktokináza), jsou deaktivovány nízkým pH citrátu, zatímco fluoridy deaktivují jen enolázu (fosfopyruvát hydratáza), která je téměř na konci glykolytické metabolické cesty.

Na trhu je několik odběrových nádobek používajících zlepšené antiglykolytické směsi NaF, citrátu, EDTA (tyto jsou uvedeny v příloze 5 doporučení). Urgentní potřebu vyřešení problému glykolýzy a stability glukózy v krvi potvrzuje i článek uveřejněný v časopise Diabetes Care [33]. K dosažení minimalizace negativních efektů glykolýzy na diagnostiku diabetu jsou k dispozici účinné nástroje. Jejich obecné používání narazí na řadu organizačních a technických problémů, ale ty nepředstavují závažný důvod minimalizaci glykolýzy nedoporučit a neřešit.

#### 4.2.4. Požadavky na analytickou kvalitu měření

Mezilehlá preciznost	Pravdivost (bias)	Celková chyba
CV < 2,5 %	b < 2,0 %	TE < 7,0 %

Z dat uvedených v tabulce plyne hodnota Six-sigma  $\geq 2,0$ .

#### 4.2.5. Metrologická návaznost

**Referenční metody** měření FPG jsou založeny na principu ID-GC(LC)/MS. Tyto referenční metody slouží pomocí nepřerušovaného řetězce metrologické návaznosti ke stanovení hodnot glukózy v referenčních materiálech, používaných ke kalibraci rutinních metod měření.

**Certifikované referenční materiály** mají hodnoty koncentrace glukózy stanovené referenční metodou v referenční laboratoři - disponují certifikovanými hodnotami koncentrace glukózy včetně nejistoty této hodnoty a mají být testované na komutabilitu (má být prokázáno, že vlivy matrice jsou minimalizovány - zanedbatelné). Klinické laboratoře mají používat pouze takové **kalibrátory**, jejichž výrobci jsou schopni dokumentovat v souladu se Směrnicí 98/79 ES [41] a s nařízením vlády České republiky 458/2004 Sb., že hodnoty koncentrace glukózy v nich jsou určeny srovnáním s certifikovanými referenčními materiály. To značí, že kalibrátory rutinních metod mají mít dokumentovanou metrologickou návaznost na referenční metodu ID-GC/MS. Výrobci mají uvádět nejistoty hodnot těchto kalibrátorů.

Hodnoty preciznosti a bias jsou odvozeny z hodnot biologických variabilit. Při dosažení těchto hodnot preciznosti a bias je dosaženo vysoké pravděpodobnosti, že četnost falešných diagnostických klasifikací nepřekročí hodnotu 5 % [7] pokud jsou provedena dvě nezávislá měření u jednoho pacienta.

### 4.3. POCT systémy

#### 4.3.1. Požadavky na analytickou kvalitu měření

Celková chyba měření je vypočtena jako odchylka od výsledku akreditované klinické laboratoře při měření FPG: [12].

pro koncentrace $\geq 5,6$ mmol/l	< 15 %
pro koncentrace < 5,6 mmol/l	< 0,8 mmol/l

Tyto požadavky jsou převzaty z normy ISO 15197:2013 [23] a mohou sloužit jako základní orientace při výběru osobních glukometrů v souladu s doporučeními POCT vypracovanými výborem České společnosti klinické biochemie [13].

#### 4.3.2. Požadavky na průkaz analytické způsobilosti

- Zavedený a fungující systém vnitřní kontroly kvality.
- Systém zácvičení a prověřování jeho účinnosti u osob používajících glukometry (zdravotnického nelaboratorního personálu a pacientů).

#### 4.4. Kontinuální monitorování glukózy (CGM)

Vývoj systémů pro monitoraci glukózy je v současné době velmi rychlý a prakticky každý rok přichází nové technologické novinky nebo vylepšení stávajících systémů. Přijímačem může být buď samostatné zařízení, „chytrý“ telefon (smartphone), nebo inzulínová pumpa. Inzulínová pumpa může být vybavena funkcí pro automatickou odezvu na hodnotu glukózy senzoru (Minimed, Tandem) a může zastavit dávkování inzulínu v případě predikované nízké hodnoty glukózy. V USA je schválen pro použití systém inzulínové pumpy, která umožňuje i dávkování inzulínu podle hodnoty senzoru (tzv. hybridní uzavřený okruh).

Doba použití senzorů se s vývojem prodlužuje, podle typu senzoru jsou nyní k dispozici senzory s dobou použití 6, 7, 10, 14 dnů a v případě senzoru implantabilního pak až 6 měsíců. Rovněž se liší nutnost a způsob kalibrace senzorů pomocí osobních glukometrů. Některé systémy používají firemní kalibrace a nevyžadují kalibraci ze strany uživatele. Základem kalibrace je však vždy měření glukometry. Typ is-CGM (FGM) musí firemní kalibrace využívat z technických důvodů.

V současnosti jsou systémy CGM používány dvěma způsoby. Profesionální CGM je prováděno lékaři a probíhá v tzv. zaslepeném módu. Pacient se chová běžným způsobem, hodnoty koncentrace glukózy systém nezobrazuje a analýza je retrospektivní po stažení dat. Na základě výsledků je možné provádět např. diagnostiku nočních a nerozpoznaných hypoglykemií nebo hodnotit compliance pacienta. Tento nástroj lze s výhodou použít k rozhodnutí o úpravě terapie a hodnocení jejího efektu. Druhým způsobem použití je monitorace glukózy v reálném čase (rt-CGM). Pacient je prakticky informován o aktuální hodnotě koncentrace glukózy, trendech a dosažení kritických hodnot. Tento způsob CGM je spojen se snížením výskytu hypoglykemií a glykemické variability, zvýšením podílu času stráveném v cílovém rozmezí glykémie a vede k poklesu hodnoty HbA<sub>1c</sub>.

Specifickým systémem je tzv. intermitentní monitorování glukózy is-CGM (Flash Glucose Monitoring – FGM, Abbott), které neposkytuje aktivní alarmy a pacient zjistí aktuální hodnotu glukózy a trend pouze v případě, že aktivně přiblíží přijímač k snímači – tzv. skenuje snímač. Výhodou je zde zejména omezení psychologických dopadů častých alarmů aktivních CGM systémů na pacienta a praktická eliminace vpichů do prstů při měření glukometrem – systém je schválen pro dvoutýdenní použití s firemní kalibrací.

Technologie CGM je velmi perspektivní a dá se očekávat, že v relativně blízké budoucnosti dojde k jejímu většímu rozšíření. CGM by měla být nabídnuta všem pacientům s DM 1. typu, kteří jsou ochotni ji používat.

#### 4.5. Glykovaný hemoglobin HbA<sub>1c</sub>

Glykovaný hemoglobin HbA<sub>1c</sub> vyjadřuje dlouhodobý stav glykémie za 8 až 12 týdnů, hodnota FPG zachycuje okamžitý stav glykémie. Okamžitá hodnota glykémie je ovlivněna řadou vnějších faktorů, hodnota HbA<sub>1c</sub> může být zkreslena (snížena) vlivem zkrácení doby života erytrocytů.

##### 4.5.1. Požadavky na analytickou kvalitu měření

Hodnoty indikátorů analytické kvality měření jsou převzaty z dat IFCC Task Force On Implementation of HbA<sub>1c</sub> Standardization [30, 31]; a jsou uvedeny v následující tabulce:

Mezilehlá preciznost	Pravdivost (bias)	Celková chyba
CV < 3 %	b < 2,0 %	TE ≤ 5 mmol/mol

Z dat uvedených v tabulce plyne hodnota Six-sigma ≥ 2,0.

Tyto požadavky bylo schopno v roce 2014 splnit 77 % laboratoří Nizozemska, Belgie, Finska a Řecka a 12 testovacích souprav z 26 použitých (program CAP NGSP USA).

Podrobné výsledky mezilaboratorních studií externího hodnocení kvality stanovení HbA<sub>1c</sub> v evropských laboratořích (42) a výsledky programu CAP-NGSP (35) v letech 2017 až 2018 ukazují u standardizovaných rutinních metod měření, založených na principech iontové a afinitní HPLC, na kapilární elektroforéze, na enzymové barevné reakci a na imunoanalytických postupech schopnost dosažení mezilehlé preciznosti CV < 3 % a bias < 2,0 mmol/mol. Stejně kvality dosahují například i metody měření POCT Alere-Abbott Afinion a Siemens Vantage.

##### 4.5.2. Standardizace stanovení glykovaného hemoglobinu HbA<sub>1c</sub>

Je založena na celosvětovém konsensu pěti mezinárodních lékařských organizací [8], zabývajících se diabetem:

- IDF (International Diabetes Federation)
- ADA (American Diabetes Association)

- EASD (European Association for the Study of Diabetes)
- IFCC (International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine)
- ISPAD (International Society for Pediatric and Adolescent Diabetes)

Uvedený konsenzus byl uveřejněn v roce 2010.

Hlavní rysy tohoto konsenzu jsou:

- Celosvětová platnost
- Jednotný referenční systém měření
- Použití základní jednotky měření mmol/mol HbA<sub>1c</sub>
- Možnost přepočtu výsledků v měření v mmol/mol na jednotku % NGSP podle vzorce:  

$$\% \text{ NGSP} = (0,0915 \times \text{IFCC}) + 2,15$$

Referenční systém měření sestává z [28, 29] :

- referenční metody IFCC na bázi HPLC-MS (HPLC-CE)
- certifikovaných referenčních materiálů IRMM/IFCC 467 a 468
- sítě mezinárodních referenčních laboratoří (uvedena na <http://www.ngsp.org>).

Výsledky mezilaboratorních studií externího hodnocení kvality stanovení HbA<sub>1c</sub> v evropských laboratořích (42) a výsledky programu CAP-NGSP (35) v letech 2017 až 2018 ukazují u standardizovaných rutinních metod měření, založených na principech iontové a afinitní HPLC, na kapilární elektroforéze, na enzymové barevné reakci a na imunoanalytických postupech schopnost dosažení mezilehlé preciznosti CV < 3 % a bias < 2,0 mmol/mol. Stejně kvality dosahují i metody měření POCT Alere-Abbott Afinion a Siemens Vantage.

#### 4.5.3. Přepočtové vztahy pro výsledky uvedené v jiných jednotkách

Přepočet z jednotky % IFCC (v ČR používána do 31. 12. 2011) na jednotku mmol/mol:

$$X_{\text{mmol/mol}} = 10 \cdot X_{\% \text{IFCC}}$$

Přepočet z jednotky % NGSP/DCCT (jednotka % NGSP/DCCT zůstává nadále v platnosti a používá se zejména v USA. V ČR není používána od 1. 1. 2004) na jednotku mmol/mol:

$$X_{\text{mmol/mol}} = (X_{\% \text{NGSP/DCCT}} - 2,152) / 0,09148$$

#### 4.5.4. Metrologická návaznost

Rutinní metody měření mají vykazovat metrologickou návaznost na referenční metodu IFCC [7].

Referenční metoda IFCC je založena na principu HPLC/MS nebo alternativně HPLC/CE.

**Certifikované referenční materiály** mají hodnoty HbA<sub>1c</sub> stanovené referenční metodou - disponují tedy certifikovanými hodnotami HbA<sub>1c</sub> včetně nejistoty této hodnoty a mají být testované na komutabilitu.

Klinické laboratoře mají používat **kalibrátory**, jejichž výrobci jsou schopni dokumentovat v souladu se Direktivou 98/79 ES [41] a s nařízením vlády České republiky 458/2004 Sb., že hodnoty HbA<sub>1c</sub> v nich jsou určeny srovnáním s certifikovanými referenčními materiály.

Metody POCT jsou považovány až na výjimky, vlastní certifikát FDA (Alere-Abbott, Vantage, Clover, Quotest, i-Chroma II) za orientační a měly by být pravidelně ověřovány srovnáním s výsledky klinických laboratoří a používány hlavně ke sledování stavu diabetiků. Algoritmus pro diagnózu DM pomocí stanovení HbA<sub>1c</sub> uvádí Příloha 4.

Zmiňuje se také o použití POCT v diagnostice a konstatuje jeho striktní omezení na přístroje procházející úspěšně a dlouhodobě kontrolou kvality prováděnou srovnáním s hodnotami referenčních metod a s použitím komutabilních kontrolních materiálů.

Preferovány jsou POCT přístroje ověřené některým z k tomu pověřených institutů, např.

Scandinavian evaluation of laboratory equipment for primary health care - SKUP <http://www.skup.nu>

Doporučení WHO 2011 však zpochybňuje použití glykovaného hemoglobinu HbA<sub>1c</sub> k diagnóze v řadě případů:

- u dětí a adolescentů
- v těhotenství
- u renálních chorob
- u pankreatitidy
- u diabetu mellitu I. typu
- v období akutní choroby (až do jejího odeznění)
- u anemických stavů.

WHO doporučení 2011 bylo přijato britskými diabetology (UK Department of Health Advisory Committee on Diabetes) a publikováno [32].

#### 4.6. Albumin

Současné imunochemické metody poskytují výsledky, které jsou dostatečně kvalitní pro diagnostická rozhodování. Imunoturbidimetrie a imunonefelometrie převládá při stanovení albuminu v moči.

Jako referenční metoda je navržena metoda LC-MS/MS. Její zdlouhavý vývoj pokračuje prostřednictvím pracovní skupiny IFCC-NKDPEP-WG-SAU.

Akceptovatelné hodnoty bias mají být zabezpečeny realizací metrologické návaznosti rutinní metody na mezinárodní referenční materiál ERM-DA470k/IFCC.

#### 4.7. Ketolátky

V současnosti jsou dostupné nemocniční systémy s proužky na stanovení hydroxybutyrátu.

Při diabetické ketoacidóze dochází ke tkáňové hypoxii, proto má pro její diagnózu mnohem větší význam stanovení kyseliny  $\beta$ -hydroxymáselné než klasické stanovení ketolátek standardními testovacími proužky.

Při stanovení ketonů v krvi klasickými testovacími proužky nebo tabletami na bázi nitroprussidové barevné reakce není kyselina  $\beta$ -hydroxymáselná detekována. K dispozici již jsou metody určené přímo k měření kyseliny  $\beta$ -hydroxymáselné v krvi. Validní data o analytických znacích metody a ukazatelích analytické kvality nejsou dosud k dispozici nebo jsou kontroverzní.

#### 4.8. C-peptid a inzulin

Oba parametry se stanovují imunoanalytickými metodami a výsledky závisí na použité metodě. Standardizace výsledků měření obou analytů je v současné době ve vývoji.

Pro stanovení **C-peptidu** se používá standard WHO IRR 84/510 [17]. Mezilaboratorní experiment, provedený ve 20 laboratořích s použitím 12 vzorků a 8 různých metod, ukázal rozdíly mezi výsledky metod měření C-peptidu až 90 % a nárůst chyby s rostoucí koncentrací. Souběžně prováděné přepočty na referenční materiál WHO IRR 84/510 nevedly k podstatnému zlepšení [20]. Studie stanovení C-peptidu na analyzátoru Architect ukázaly preciznost 2,1 - 6,5 % a hodnotu recovery 99 - 112 % [21]. Jiné údaje o imunochemických stanoveních C-peptidu došly k hodnotám preciznosti 8 - 12 % a chybě měření 25 %.

Pro **inzulin** byla navržena referenční metoda na principu ID-LC/MS/MS. Bias rutinních metod pro stanovení inzulinu před standardizací byl vyšší než 16 %. Standardizace vedla ke zlepšení pouze po přepočtu na soupravu sér s hodnotami stanovenými metodou ID-MS [18]. Marcovinová a spol. udávají preciznost mezi metodami v intervalu 12 % až 66 % a celkovou chybu u sedmi z deseti testovaných souprav nad 32 % (což je hodnota odvozená z biologických variabilit) [22].

### 5. Pokyny pro praktické ordinace

#### 5.1. Stanovení glykémie pro účely diagnostiky diabetu

Standardní laboratorní metodou pro stanovení glykémie pro účely diagnostiky diabetu mellitu se rozumí:

- spektrofotometrické stanovení glukózaoxidázovou nebo hexokinázovou metodou
- stanovení elektrochemické na laboratorním glukometru (nelze užít glukometr měřící pomocí diagnostických proužků).

Všechna stanovení se musí provést z plazmy žilní krve (nelze užít kapilární krev ani plnou žilní krev).

Konzervace přidávkem soli EDTA a NaF je nedostačující, krev musí být konzervována přidávkem fluoridu, EDTA i citrátu sodného (k dosažení pH 5,7) – viz kap. 1.3.

#### 5.2. 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 IFG (zvýšená glykémie nalačno) s hodnotami FPG 5,6 až 7 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 nálezu porušené glukózové tolerance se oGTT opakuje ve dvouletých intervalech.

V místech, kde není k dispozici stanovení glukózy standardizovanou metodou, lze před podáním roztoku se 75 g glukózy v rámci oGTT ověřit, zda nemocný (nemocná) nemá hyperglykémii, pomocí proužku a osobního glukometru. Povoleny jsou však jen glukometry, které prošly testem Referenční laboratoře pro klinickou biochemii a jejichž úspěšný protokol o testování je zveřejněn na webu Referenční laboratoře – jejich chyba v hodnotách kolem horní referenční meze je < 0,83 mmol/l, v hodnotách vyšších je menší než 15 %. Roztok glukózy se nepodává při zjištěné glykémii  $\geq 8,1$  (tj. 7 mmol/l + 15 %), v případě oGTT v těhotenství  $\geq 5,9$  mmol/l (tj. 5,1 + 0,8 mmol/l). Před dalším rozhodováním je nutné změřit hladinu glukózy v plazmě žilní krve nalačno standardizovanou metodou.

### 5.3. Doporučené hodnoty glykémie nalačno a po jídle

Doporučené hodnoty glykémie u dospělých pacientů

Glykemický parametr	cíl	pacienti s vysokým KV rizikem
Glykémie v žilní plazmě nalačno/před jídlem (mmol/l)	≤ 6,0	< 7,0
Glykémie v plné kapilární krvi (selfmonitoring) nalačno/před jídlem (mmol/l)	4,0 – 6,0	< 8,0
Glykémie v plné kapilární krvi (selfmonitoring) postprandiální (mmol/l)	5,0 – 7,5	< 9,0

U pacientů s vysokým kardiovaskulárním rizikem je možné stanovit i jiné, individuální hodnoty.

Kritéria kompenzace diabetu v dětském věku (selfmonitoring).

Glykémie nalačno (mmol/l)	4,0 – 7,0
Glykémie po jídle (mmol/l)	5,0 – 8,0
Glykémie před spaním (mmol/l)	5,5 – 8,0
Glykémie v noci (mmol/l)	4,5 – 7,0

### 5.4. HbA<sub>1c</sub>

Klinická hodnota stanovení HbA<sub>1c</sub> spočívá v:

- monitorování dlouhodobé hodnoty koncentrace glukózy v krvi
- nastavení odpovídající terapie DM
- posouzení kvality péče o diabetika
- hodnocení rizika vývoje mikrovaskulárních komplikací
- screeningu rizika diabetu
- diagnóze diabetu.

#### 5.4.1. Výhody stanovení glykovaného hemoglobinu HbA<sub>1c</sub> ve srovnání s FPG

- není nutné lačnění pacienta
- odběr lze provést kdykoliv bez nějaké přípravné doby
- preanalytické podmínky jsou při stanovení HbA<sub>1c</sub> mnohem jednodušší než u stanovení glukózy (například stabilita v čase, žádná glykolýza)
- biologická variabilita HbA<sub>1c</sub> je významně příznivější (CV<sub>i</sub> = 1,3 %), než u FPG (CV<sub>i</sub> = 4,8 %)

#### 5.4.2. Nevýhody stanovení glykovaného hemoglobinu HbA<sub>1c</sub> ve srovnání s FPG

- změna střední doby života erytrocytu (zatím není spolehlivá metoda jejího měření)
- interference patologických hemoglobinů jsou závislé na metodě/přístroji a postupně jsou úspěšně řešeny.

Aktualizované informace lze nalézt na <http://www.ngsp.org>

Rozdíly mezi stanovením HbA<sub>1c</sub> a FPG ale nejsou důvodem k odmítnutí HbA<sub>1c</sub> jako diagnostického nástroje diabetu, zachycují jen problémy mezi oběma analyty v celé šíři při všech jejich možných použití. Také dále uvedený vliv doby života erytrocytů ovlivňuje HbA<sub>1c</sub> jak při použití pro sledování, tak i pro diagnostiku diabetu.

Střední doba života erytrocytů se pohybuje v rozmezí 100 až 140 dnů s průměrem 120 dnů. V literatuře je uváděna obvykle jako **120 ± 10 dnů**. Již tento rozptyl údajně způsobuje významnou variabilitu hodnot HbA<sub>1c</sub> (viz tabulka).

Změny hodnot HbA<sub>1c</sub> pro střední hodnotu HbA<sub>1c</sub> = 53 mmol/mol při zvolené střední době života erytrocytů 120 dnů

Střední doba života erytrocytů	110 dnů	120 dnů	130 dnů
Hodnota HbA <sub>1c</sub>	46 mmol/mol	<b>53 mmol/mol</b>	60 mmol/mol

### 5.5. Diabetické onemocnění ledvin

Diabetické onemocnění ledvin je klinický syndrom, který se projevuje postupně narůstající albuminurií a/nebo postupně se snižující renální funkcí při nepřítomnosti známek jiného onemocnění jako příčiny poškození ledvin. Prvním prokazatelným projevem bývá nejčastěji zvýšené vylučování albuminu do moči (albuminurie), které však nedosahuje detekovatelné hranice manifestní proteinurie. Albuminurie signalizuje možnost vzniku

trvalého poškození ledvin a predikuje vývoj cévních změn. Jednorázový záchyt albuminurie nelze považovat za jednoznačný důkaz přítomnosti počínajícího diabetického onemocnění ledvin, protože zejména albuminurie nižší úrovně může být i spontánně reverzibilní.

Malá nebo střední albuminurie může být spojena pouze s nefrosklerózou při hypertenzi a je markerem vyššího kardiovaskulárního rizika. Bez cílené terapie dochází u značné části nemocných k postupnému nárůstu albuminurie a současně ke zvyšování krevního tlaku. Po dalším několikaletém období je již přítomna trvalá proteinurie, hypertenze a postupně klesá renální funkce. Nežádka se rozvíjí proteinurie nefrotické úrovně (> 3,5 g/24 hod), případně až nefrotického syndromu s jeho klasickými projevy a významně zhoršenou prognózou. Postižení ledvin postupně progreduje a je provázeno projevy obvyklými i u jiných renálních onemocnění včetně rozvoje terminálního stadia chronického selhání ledvin s nezbytným zahájením náhrady jejich funkce.

U pacientů s diabetem 2. typu je vývoj diabetického onemocnění ledvin modifikován vyšším věkem nemocných, opožděným zjištěním diagnózy diabetu a přítomnými aterosklerotickými komplikacemi. Pokles renální funkce je nežádka první známkou postižení ledvin. U pacientů s DM 2. typu představuje albuminurie především významný ukazatel rizika vzniku kardiovaskulárních komplikací a albuminurie nebo proteinurie bývá častěji než u diabetu 1. typu podmíněna i nediabetickým postižením ledvin.

Protože diabetické onemocnění ledvin může mít různý klinický průběh, u části nemocných se zpočátku projevuje pouze albuminurií, jindy zase pouze poklesem renální funkce, event. mohou být přítomny obě abnormality současně, dáváme v současné době přednost klasifikaci diabetického onemocnění ledvin, která kopíruje klasifikaci CKD a zohledňuje úroveň GFR a míru albuminurie (viz výše). Tato klasifikace nahrazuje dříve používané hodnocení stádií diabetické nefropatie.

## 6. Zkratky

ACE-I	Inhibitory angiotenzin konvertujícího enzymu
ACR	albumin-creatinine ratio (poměr koncentrace albuminu a kreatininu)
ADA	American Diabetes Association (Americká diabetologická společnost)
CAP NGSP	College of American Pathologists - National Glycohemoglobin Standardization Program USA ( <a href="http://ngsp.org">http://ngsp.org</a> )
CE	Kapilární elektroforéza
CKD	Chronic kidney disease
CGM	Continuous glucose monitoring (rt – real time; is – intermittent scanning)
CRM	Certified Reference Material (Certifikovaný referenční materiál)
CV	Coefficient of Variation (variační koeficient, relativní směrodatná odchylka)
CV <sub>a</sub>	Analytická preciznost vyjádřená jako variační koeficient (odhad preciznosti výsledků měření)
CV <sub>g</sub>	Interindividuální biologická variabilita vyjádřená variačním koeficientem
CV <sub>i</sub>	Intraindividuální biologická variabilita vyjádřená variačním koeficientem
DCCT	Diabetes Control and Complications Trial (Součást vědecké výzkumné báze Americké diabetologické společnosti)
DM	Diabetes mellitus
EASD	European Association for the Study of Diabetes (Evropská asociace pro studium diabetu)
EDTA	Sůl kyseliny etyléndiaminotetraoctové
EHK	Externí hodnocení kvality
ERM	European Reference Material (Evropský certifikovaný referenční materiál)
EuBIVAS	Biological Variation Database; nově EuBIVAS – European biological variation study
FPG	Fasting Plasma Glucose (plazmatická koncentrace glukózy v žilní krvi nalačno)
GDM	Gestační diabetes mellitus
HbA <sub>1c</sub>	Glykovaný hemoglobin A <sub>1c</sub>
HPLC	High Performance Liquid Chromatography (Vysokoučinná kapalinová chromatografie)
HPLC/CE	High Performance Liquid Chromatography / Capillary Electrophoresis (Vysokoučinná kapalinová chromatografie v kombinaci s kapilární elektroforézou)
HPLC/MS	High Performance Liquid Chromatography/Mass Spectrometry (Vysokoučinná kapalinová chromatografie v kombinaci s hmotnostní spektrometrií)
ID/MS	Isotopic dilution – Mass spektrometry (Hmotnostní spektrometrie s izotopovým zředováním)
IDF	International Diabetes Federation (Mezinárodní diabetologická federace)



IFCC	International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (Mezinárodní federace klinické chemie a laboratorní medicíny – vrcholný světový orgán laboratorní medicíny)
IFG	Impaired Plasma Glucose (mírně zvýšená plazmatická koncentrace glukózy v žilní krvi nalačno, často též označovaná jako prediabetes)
IGT	Impaired Glucose Tolerance (porušená glukózová tolerance)
IRMM	Institute for Reference Materials and Measurements (Ústav pro referenční materiály a měření v Geelu)
ISPAD	International Society for Pediatrics and Adolescent Diabetes (Mezinárodní společnost pro diabetes v pediatrii a u adolescentů)
K2EDTA	Draselná sůl kyseliny etyléndiaminotetraoctové
LC-MS/MS	Liquid Chromatography / Tandem Mass Spectrometry (Kapalinová chromatografie ve spojení s tandemovou hmotnostní spektrometrií)
MARD	Mean absolute relative difference
NGSP	National Glycohemoglobin Standardization Program (Národní program pro standardizaci glykovaného hemoglobinu HbA <sub>1c</sub> v USA)
NKDEP	National Kidney Disease Education Program ( <a href="http://www.nkdep.nih.gov">www.nkdep.nih.gov</a> )
oGTT	Glukózový toleranční test
PCR	Protein - creatinine ratio (poměr bílkovina - kreatinin)
POCT	Point of Care Testing (testování u lůžka nemocného či v přímém kontaktu s ním)
U <sub>c</sub>	Rozšířená kombinovaná nejistota výsledku měření
VKK	Vnitřní kontrola kvality
WG-SAU	Standardisation of Albumin Assay in Urine (in cooperation with NKDEP)

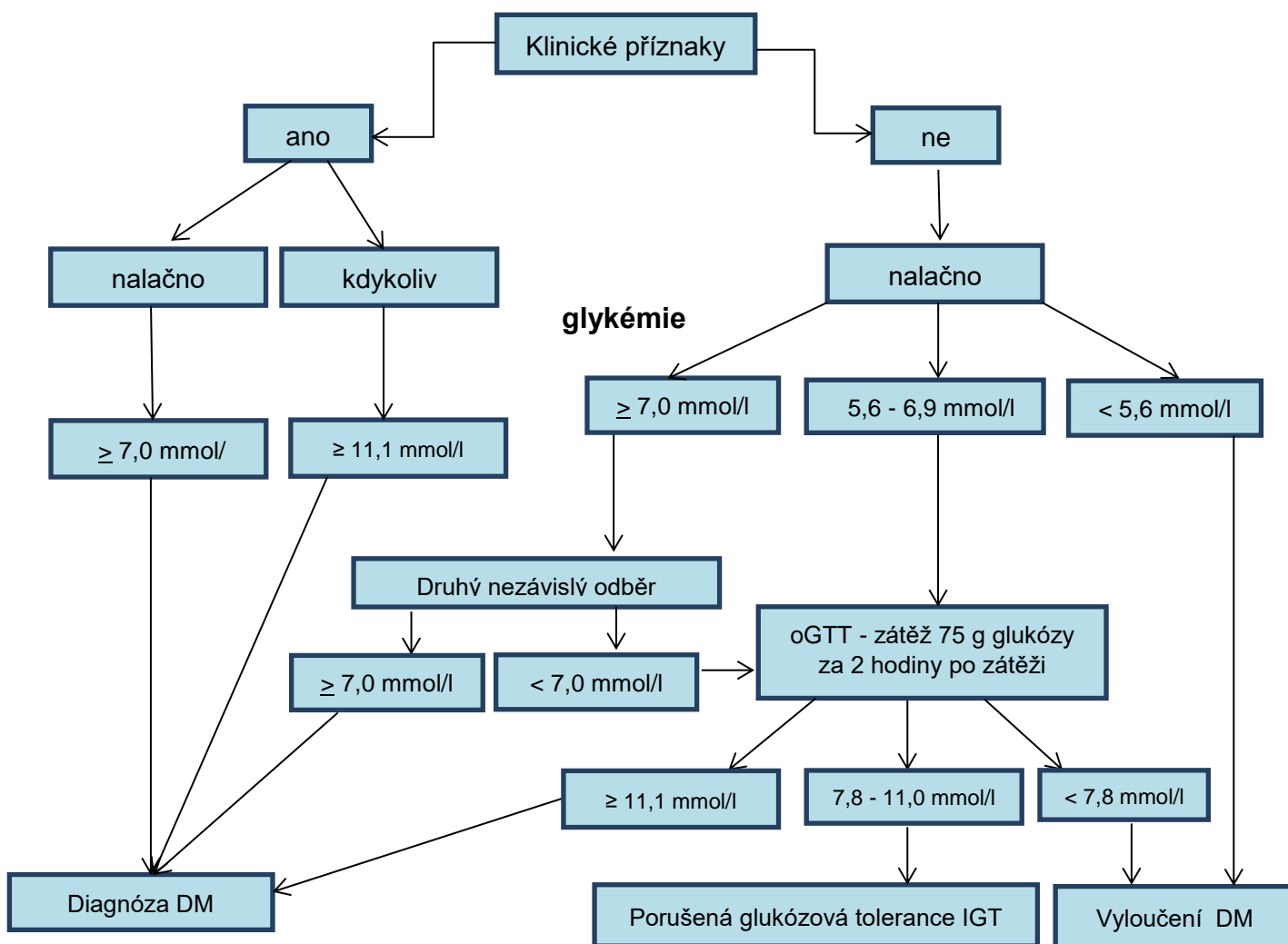
## 7. Literatura

- 1 The National Academy of Clinical Biochemistry Guidelines and Recommendations for laboratory analysis in the diagnosis and management of diabetes mellitus. Ed. D.B.Sacks. January 2011. Dostupné na: [http://www.aacc.org/members/nacb/LMPG/OnlineGuide/PublishedGuidelines/diabetes\\_update/Documents/DiabetesEntireLMPG.pdf](http://www.aacc.org/members/nacb/LMPG/OnlineGuide/PublishedGuidelines/diabetes_update/Documents/DiabetesEntireLMPG.pdf)
- 2 Sacks DB, Arnold M, Baktris GL. et al. Executive Summary Guidelines and Recommendations for laboratory analysis in the diagnosis and management of diabetes mellitus. Clin Chem 2011, 57:793-798.
- 3 Standards of Medical Care in Diabetes 2011. Diabetes Care 2011, 34, Suppl 1:S1-S61.
- 4 Stahl M, Joergessen LGM, Hyltoft Petersen P, Branslund I, De Fine Olivarius K. et al. Optimization of preanalytical conditions and analysis of plasma glucose. 1. Impact of the new WHO and ADA recommendations on diagnosis of diabetes mellitus. Scand J Clin Lab Invest 2001, 61:169-179.
- 5 Gambino R, Piscitelli J, Ackattupathil TA, Theriault JL, Andrin RD. et al. Acidification of blood is superior to sodium fluoride alone as an inhibitor of glycolysis. Clin Chem 2009, 55/5:1019-1021.
- 6 Burnett RW, D'Orazio P, Fogh-Andersen B, Kuwa K, Kulpmann WR. et al. IFCC recommendation on reporting results for blood glucose. Clin Chim Acta 2001, 307:205-209.
- 7 Weykamp C, John WG, Mosca A, Hoshino T, Little R. et al. The IFCC reference measurement system for HbA<sub>1c</sub>: A 6 year progress report. Clin Chem 2008, 54/2:240-248.
- 8 Hanas R, John G, consensus committee HbA<sub>1c</sub>. Consensus statement on the worldwide standardization of the hemoglobin A<sub>1c</sub> measurement. Clin Chem 2010, 56/8:1362-1364.
- 9 Weykamp C, Mosca A, Gillery P, Panteghini M. The Analytical Goals for Hemoglobin A<sub>1c</sub> in IFCC units and National Glycohemoglobin Standardization Program units are different. Clin Chem 2011, 57/8:1204-1206.
- 10 Scott MG, Bruns DE, Boyd JC, Sacks DB. Tight glucose control in the intensive care unit. Are glucose meters up to the task? Clin Chem 2009, 55/1:18-20.
- 11 Frenckmann G, Baumstark A, Jendrike N, Zschornack E, Kocher S. et al. System accuracy evaluation of 27 blood glucose monitoring systems according to DIN EN ISO 15197. Diabetes Technol Ther 2010, 12/3:221-231.
- 12 Skeie S, Thruue G, Nerhus K, Sandberg S. Instruments for self-monitoring of blood glucose: comparison of testing quality achieved by patients and a technicians. Clin Chem 2002, 48/7:994-1003.
- 13 Doporučení ČSKB. Správné zavádění a používání prostředků POCT. Dostupné na: [https://www.cskb.cz/res/file/POCT\\_dop.pdf](https://www.cskb.cz/res/file/POCT_dop.pdf)

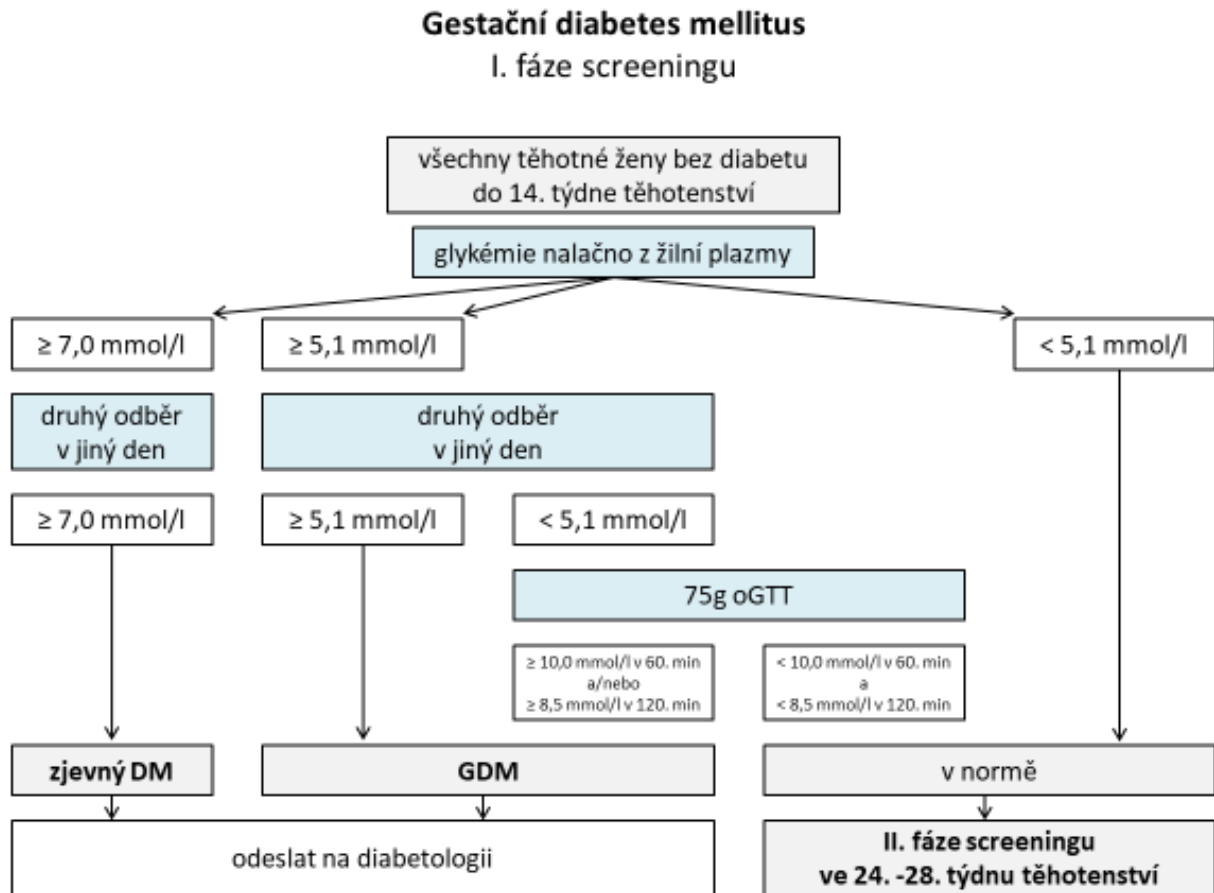
14	Miller GW, Bruns DE, Hortin GL et al. Current issues in measurement and reporting of urinary albumin excretion. <i>Clin Chem</i> 2009, 55/1:24-38.
15	Lamb EJ, MacKenzie F, Stevens PE. How should proteinuria be detected and measured. <i>Ann Clin Biochem</i> 2009, 46/3:205-217.
16	Doporučení České nefrologické společnosti a České společnosti klinické biochemie k vyšetřování proteinurie. Dostupné na: <a href="https://www.cskb.cz/res/file/KBM-pdf/2011/2011-1/dop-proteinurie.pdf">https://www.cskb.cz/res/file/KBM-pdf/2011/2011-1/dop-proteinurie.pdf</a> , publikováno také v <i>Klin Biochem Metab</i> 2011, 19/1:28- 35.
17	Little RR, Rohlfing CL, Tennill AL, Madsen RW, Kenneth SP. et al. Standardization of C-peptide measurements. <i>Clin Chem</i> 2008, 54/6:1023-1026.
18	Miller GW, Thienpont LM, van Uypfanghe K, Clark PM, Linstedt P. et al. Toward standardization of insulin immunoassays. <i>Clin Chem</i> 2009, 55/5:1011-1018.
19	Doporučení ČSKB a ČDS: Změna jednotky pro stanovení glykovaného hemoglobinu A1c (HbA1c) a rozhodovacích mezí. Dostupné na: <a href="http://www.cskb.cz">http://www.cskb.cz</a> .
20	Wiedmeyer HM, Polonski KS, Myers GL Little RR, Greenbaum CJ. et al. International Comparison of C-peptide measurements. <i>Clin Chem</i> 2007, 53/4:784-787.
21	Schultess J, van Duren C, Martens M, Costa M, Liop T. et al. Diagnostic performance of the Architect C-peptide immunoassay. <i>Clin Chem Lab Med</i> 2009, 47/7:834-841.
22	Marcovina S, Bowsher RR, Miller WG, Stanton M, Myers G. et al. Standardization of insulin immunoassays: Report of the American Association of Diabetes Workgroup. <i>Clin Chem</i> 2007, 53/4:711-716.
23	EN ISO 15197:2013. In vitro diagnostic test systems – Requirements for blood-glucose monitoring systems for self-testing in managing diabetes mellitus. ISO Geneve 2013.
24	Friedecký B, Springer D, Kratochvíla J, Škrha J, Zima T. Doporučení k použití, výběru a kontrole glukometrů. <i>Klin Biochem Metab</i> 2014, 22(43)/3:155–164.
25	Zima T, Racek J, Tesař V, Viklický O, Teplan V. et al. Doporučení k diagnostice chronického onemocnění ledvin (odhad glomerulární filtrace a vyšetřování proteinurie). <i>Klin Biochem Metab</i> 2014, 22 (43)/3:128–152.
26	National Kidney Disease Education Program. Laboratory Evaluation. Dostupné na <a href="http://www.nkdep.nih.gov">http://www.nkdep.nih.gov</a> .
27	Thomas MC, Jandeleit-Dahn K, Bonnet F. Beyond glycosuria: Exploring the intrarenal effects of SGLT 2 inhibition in diabetes. <i>Diabetes Metab</i> 2014, 40/6, Suppl.1:S17-S22.
28	John G, English E.: IFCC standardized HbA1c: should the world be as one? <i>Clin Chem Lab Med</i> 2012, 50/7:1243-1248.
29	Sacks DB. Measurement of Hemoglobin A <sub>1c</sub> . A new twist of the path to harmony. <i>Diabetes Care</i> 2012, 35/12:2674-2680.
30	Weykamp C, John G, Gillery P, English E, Ji L, Linters-Westra E, et al. Investigation of 2 Models to Set and evaluate Quality Targets for HbA <sub>1c</sub> . <i>Biological Variations and Sigma-Metrics. Clin Chem</i> 2015, 61/5:752-759.
31	Sikaris KA. The Role and Quality of HbA <sub>1c</sub> . A Continuing Evolution. <i>Clin Chem</i> 2015, 61/5:689-690.
32	John G.: Expert Position Statement. Use of HbA <sub>1c</sub> in the diagnosis of diabetes mellitus in the UK. The implementation of World Health Organization guidance 2011. <i>Diab Med</i> 2012, 29:1350-1357.
33	Peake MJ, Bruns DE, Sacks DB, Horvath AR.: It's time for a better blood collection tubes to improve the reliability of glucose results. <i>Diabetes Care</i> 2013, 36/1:e2.
34	Friedecký B, Springer D, Kratochvíla J. Stabilita glukózy ve vzorcích krve po odběru. <i>FONS</i> 2015,1:15-16.
35	Doporučení NGSP. Dostupné na: <a href="http://www.ngsp.org">http://www.ngsp.org</a>
36	Andělová K, Anderlová K, Bláha J, Čechurová D, Černý M. et al.: Gestační diabetes mellitus. Doporučený postup screeningu, gynekologické, perinatologické, diabetologické a neonatologické péče 2017. Dostupné na: <a href="http://www.diab.cz/dokumenty/DP_GDM_2017.pdf">http://www.diab.cz/dokumenty/DP_GDM_2017.pdf</a>
37	Kolektiv autorů: How Should Glucose Meters Be Evaluated For Critical Care. IFCC Working Group GMECC. Submitted to IFCC 10. December 2017. Dostupné na: <a href="https://www.ifcc.org/ifcc-education-division/emd-committees/c-poct/wg-gmecc/">https://www.ifcc.org/ifcc-education-division/emd-committees/c-poct/wg-gmecc/</a>
38	Databáze EuBIVAS. Dostupné na: <a href="https://www.eflm.eu/">https://www.eflm.eu/</a>
39	Pelikánová T, Viklický O, Rychlík I, Saudek F, Kvapil M. Doporučené postupy při diabetickém onemocnění ledvin. Dostupné z: <a href="http://www.diab.cz/dokumenty/standard_dmev_ledviny.pdf">http://www.diab.cz/dokumenty/standard_dmev_ledviny.pdf</a>
40	Standards of medical care in diabetes – 2019. <i>Diabetes Care</i> 2019, 42:Supplement 1.
41	Regulation (EU) 2017/746 of the European Parliament and of the Council of 5. April 2017 on in vitro diagnostic medical devices and repealing Directive 98/79/EC and Commission Decision 2010/227/EU. <i>Official Journal of the European Union</i> 2017; May 5.: L 117/L 176.

- 
- 42 EurA1c: The European HbA1c Trial to investigate the performance of HbA1c assays in 2166 laboratories across 17 countries and 24 manufacturers by use of the IFCC model for quality targets. Clin Chem 2018, 64/8:1183-1192.
- 
- 43 Aarsland AK, Diaz-Garzon J, Fernandez.Calle P, Guerra E, Locatelli M. et al. The EuBIVAS within- and between-subject biological variation data for electrolytes, lipids, urea, uric acid, total protein, total bilirubin, direkt bilirubin and glucose. Clin Chem 2018, 64/9:1380-1393.
- 
- 44 Standards of medical care in diabetes. ADA -2020. Diabetes Care 2020, 43/Suppl.1:S1-S212.
- 
- 45 Working Group on Continuous Glucose Monitoring (WG-CGM) IFCC. Dostupné na: <https://www.ifcc.org/ifcc-scientific-division/sd-working-groups/wg-cgm/>
- 
- 46 Bukve T, Sandberg S, Vie WS, Solvik U, Christensen NG. et al. Commutability of a whole blood external quality assessment material for point-of-care, C reactive protein, glucose and hemoglobin testing. Clin Chem 2019, 65/6:791-797.
- 
- 47 Battelino T, Danne T, Bergenstal RM, Amiel SA, Beck R. a spol.: Clinical targets for continuous glucose monitoring data interpretation: Recommendations from the international consensus on time in range. Diabetes Care 2019, 42/8:1593-1603
- 
- 48 Heinemann L, Schoemaker M, Schmelzeisen-Redecker G, Hinzmann R, Kassab A. a spol.: Benefits and limitations of MARD as a performance parameter for continuous glucose monitoring in the interstitial space. J Diabetes Sci Technol 2020, 14/1:135-150.
- 
- 49 Bergenstal RM, Beck RW, Close KL, Grunberger D, Sacks DB. a spol.: Glucose management indicator (GMI): A New term for estimating A1C from continuous glucose monitoring. Diabetes Care 2018, 41/11:2275-2280
- 
- 50 Stellungnahme der Kommission Labordiagnostik in der Diabetologie der DDG und DGKL: Zur Nutzung des „Time in Range“: Alternative oder sinnvolle Ergänzung zum HbA1c? 7. Mai 2019. Dostupné na: <https://www.deutsche-diabetes-gesellschaft.de/home.html>
- 
- 51 Hirsch IB, Welsh JB, Calhoun P, Pühr S, Walker TC. a spol.: Association between HbA1C and continuous glucose monitoring-derived glycaemic variables. Diabet Med 2019, 36/12:1637-1642.
- 
- 52 Friedecký B, Kratochvíla J.: Současný stav kontinuálního sledování glukózy. Minireview. Klin Biochem Metab 2020, 2 v tisku.
- 
- 53 Freckmann G, Mende J.: Continuous glucose monitoring: data management and evaluation by patients and health care professionals - current situation and development. J Lab Med 2018 42/6:225-233.
-

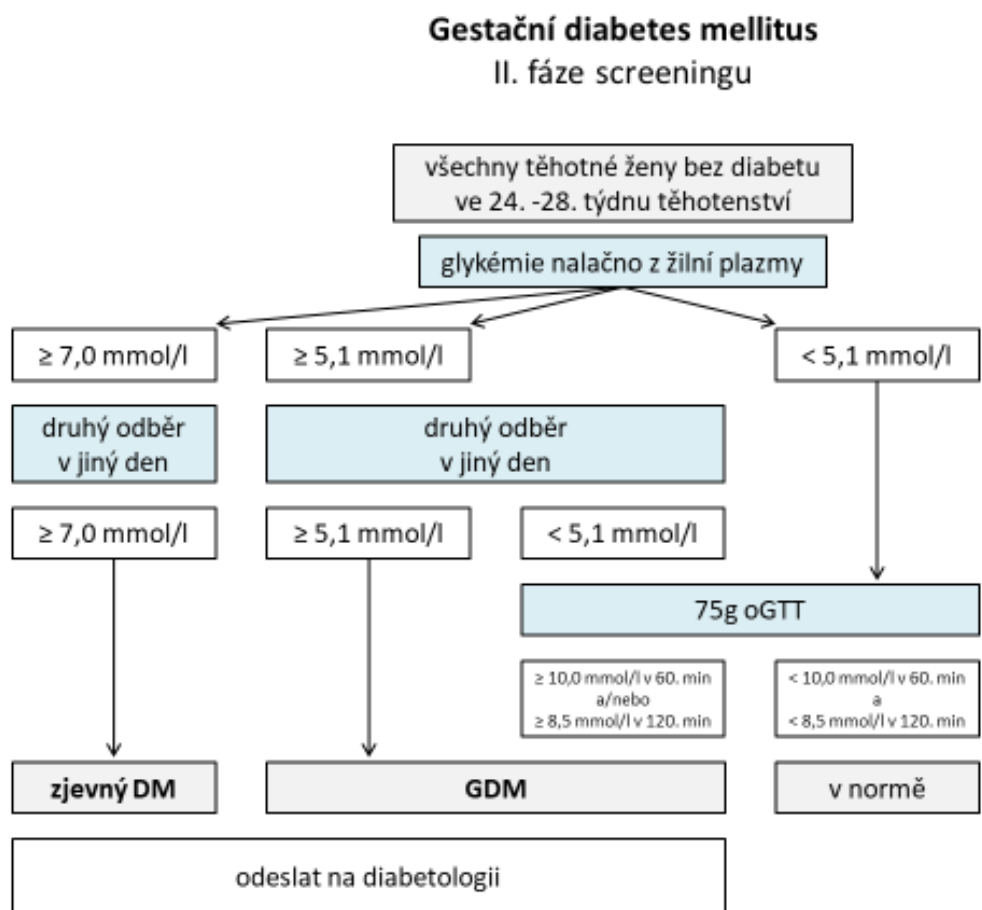
# Příloha 1. Algoritmus pro screening DM u dospělých



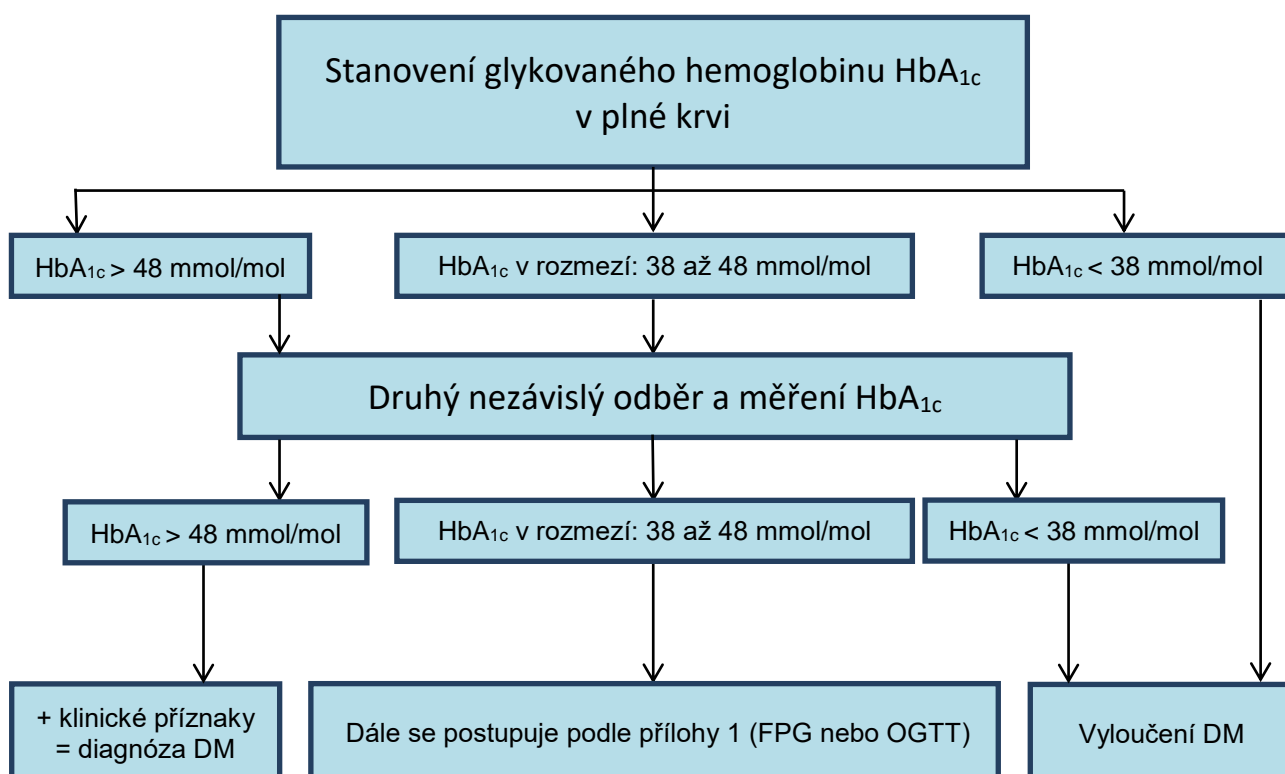
## Příloha 2. Algoritmus pro laboratorní screening gestačního DM – I. fáze



### Příloha 3. Algoritmus pro laboratorní screening gestačního DM – II.fáze



#### Příloha 4. Návrh algoritmu pro diagnózu diabetu pomocí stanovení HbA<sub>1c</sub>



## Příloha 5. Preanalytické podmínky a interference

### Souhrn preanalytických podmínek

Analyt	Materiál	Odběr	Skladování
<b>Glukóza</b>	plazma žilní krve	Použití antiglykolytického přípravku složeného z NaF, EDTA a citrátové směsi.	Stabilní minimálně 24 hodin při pokojové teplotě nebo v +4 až +8 °C. Pokud se neodebere krev do antiglykolytické směsi, oddělí se plazma do 30 minut
<b>oGTT</b>	plazma žilní krve	Po zátěži glukózou je rozdíl mezi koncentrací glukózy v kapilární a žilní krvi okolo 25 %.	
<b>HbA<sub>1c</sub></b>	plná a kapilární krev jsou rovnocenné materiály.	Odběrové nádoby obsahují antikoagulační činidlo, obvykle EDTA.	Max. 1 týden při +4 °C Max. 6 měsíců při -20 °C Max. 1 rok při -80 °C
<b>Albumin</b>	první ranní vzorek moče	Vliv akutních stavů, uroinfekcí, zvýšené námahy, vysoké koncentrace glukózy, infekcí GIT, kardiálních chorob, arteriální hypertenzí. Vyšetření nemá být prováděno při menses.	Max. 1 týden při +4 až +8 °C Max. 1 měsíc při -20 °C (hodnota mírně klesá) Max. 6 měsíců při -70 °C
<b>Ketolátky</b>	sérum nebo plazma	Různá antikoagulancia.	1 týden při +4 °C několik týdnů při -20 °C
<b>C-peptid</b>	sérum	Vliv fyzické zátěže, kouření a užívání biotinu.	Max. 1 den při +4 až +8 °C Max. 1 měsíc při teplotě -20 °C, nesmí se opakovaně rozmrazovat
<b>Inzulín</b>	sérum	Vliv fyzické zátěže, hemolýzy a užívání biotinu.	Max. 1 den při +4 až +8 °C Max. 6 měsíců při -20 °C Max. 2 roky při -70 °C

### Stanovení glukózy [5, 34]

Krev se odebírá po hladovění (lačnění) přes noc, minimálně však po 8 hodinách. 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. K účinné inhibici glykolýzy je nutná koncentrace minimálně 2,5 mg fluoridu sodného na 1 ml krve. K bezpečné zábraně glykolýzy by měly být vzorky po odběru uloženy do nádob s ledovou tříští. Praktičtější alternativou, zajišťující stabilitu vzorku krve po odběru dostatečným potlačením in vitro glykolýzy, je odběr do antiglykolytického činidla obsahujícího kromě fluoridu a EDTA i citrát sodný (k dosažení pH 5,7). Potřebné odběrové nádoby vyrábějí přední výrobci Terumo, Greiner, Sarstedt a další a jejich typy a dostupnost (květen 2015) je uvedena v tabulce.

### Dostupné odběrové nádoby s antiglykolytickým přídavkem včetně citrátů pro stanovení glukózy v krvi

Výrobce	Označení/Popis	Objem	Antiglykolytické přísady	Poznámky
<b>Sarstedt</b>	S-Monovette-GlucoEXACT	3,1 ml	NaF/Citrat/EDTA	Kapalná přísada Ředící faktor: 1,16
<b>Greiner</b>	Vacurette Glucomedics	2,0 ml	NaF/Citrat/EDTA azid sodný	Kapalná přísada Ředící faktor: 1,16
<b>Kabe Labortechnik</b>	Primavette S	2,6 ml	NaF/Citrat	Kapalná přísada Ředící faktor: 1,05
<b>Kabe Labortechnik</b>	Kavevette G	3,5 ml	NaF/Citrat	Kapalná přísada Ředící faktor: 1,05
<b>Terumo</b>	VenoSafe Glycemia	2,0 ml / 3,0 ml	NaF/Citrat/EDTA	Pevná přísada, důkladné promíchání nutné, bez korektury na ředění



## Odběr krve

V případě, že není použito odběru do antiglykolytika, mělo by být provedeno oddělení plazmy od krevních elementů do 30 minut. Transport do laboratoře je pak okamžitý.

---

## Glukózový toleranční test (oGTT)

V plazmě kapilární krve je za běžných okolností stejná koncentrace glukózy jako v plazmě žilní krve. Po zátěži glukózou činí rozdíl mezi koncentrací glukózy v kapilární a žilní krvi 25 % i více. Pro hodnocení oGTT není možné použít hodnot naměřených v plné žilní nebo kapilární krvi. Reprodukovatelnost klasifikace diabetu mellitu pomocí jednoho provedení oGTT se pohybuje v rozmezí pouze 50 až 70 %.

Malabsorpce, nauzea a kouření ovlivňují výsledek oGTT.

---

## Stanovení glukózy metodami POCT

Vyžaduje se důkladná instrukce a záchvat 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,
- rozdíly ve vlastnostech šarží reagenčních čipů (slidů, proužků, cartridge aj.),
- mikrobiologická kontaminace reagenčních čipů (slidů, proužků, cartridge aj.).

---

## Glykovaný hemoglobin HbA<sub>1c</sub>

K měření se používá vzorek nesrážlivé krve, obvykle odebraný do EDTA.

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

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

Anémie a snížená koncentrace hemoglobinu mohou způsobovat snížené výsledky měření.

Snížená hodnota doby života erytrocytů je příčinou falešně snížených hodnot HbA<sub>1c</sub> v krvi.

Faktory negativně ovlivňující výsledky měření HbA<sub>1c</sub> jsou uvedeny a aktualizovány na webu NGSP [35].

U uremických pacientů dochází ke karbamylaci, která působí silné interference při měření HbA<sub>1c</sub> v závislosti na použité metodě a přístroji.

---

## Albumin

Dle mezinárodních doporučení [33] je jednoznačně preferováno použít náhodný, nejlépe první ranní vzorek moče, protože v něm poměr albumin/kreatinin koreluje nejlépe s 24hodinovým vylučováním albuminu. Vyšetření v moči sbírané 24 hodin se nedoporučuje (problematika kvality sběru, fragmentace albuminu, atd.). Při vyšetřování ve vzorku nesbírané moče se doporučuje stanovit poměr albumin/kreatinin (ACR). Pokud se používá sběr za kratší časový úsek, jde o sběr za 4 hodiny.

U diabetiků nevykazuje albumin v moči diurnální variabilitu.

---

## Ketolátky

Falešně pozitivní výsledky při stanovení v moči mohou být způsobeny:

- silným zbarvením vzorků,
- některými léky (například ACE-I),
- poškozením proužků nevhodným zacházením (expozice vzduchem, teplota apod.),
- lačněním nebo sníženým kalorickým příjmem (redukční diety),
- těhotenstvím (u asi 30 % případů).

Falešně negativní výsledky mohou být způsobeny:

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

---

**C-peptid**

Koncentraci C-peptidu ovlivňuje fyzická zátěž, kouření a užívání biotinu.

---

**Inzulin**

Koncentraci inzulinu ovlivňuje fyzická zátěž, užívání biotinu a hemolýza vzorku.

U pacientů léčených inzulinem může docházet při stanovení k nespecifické reakci.