



Laboratorní diagnostika a sledování stavu diabetu mellitu

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

Recenzi provedly výbory ČSKB a ČDS
Zveřejněno 10.9.2003

OBSAH

1.	Souhrn základních poznatků	3
1.1.	Laboratorní zkoušky, diagnostická kritéria, rozhodovací meze	3
1.1.1.	Glukóza v plasmě nalačno – FPG – Fasting Plasma Glucose	3
1.1.2.	Glykovaný hemoglobin HbA1c	3
1.1.3.	Glukózový toleranční test OGTT, hodnota glukózy v plasmě po 2 hodinách po zátěži 75g glukózy	3
1.1.4.	Albumin v moči	3
1.1.5.	Glukóza v krvi stanovovaná glukometry	4
1.2.	Požadavky na analytickou kvalitu měření	4
1.2.1.	FPG	4
1.2.2.	HbA1c	4
1.2.3.	Albumin v moči	4
1.2.4.	Glukóza v krvi glukometry	4
1.3.	Preanalytické podmínky	4
1.3.1.	FPG	4
1.3.2.	HbA1c	5
1.3.3.	Albumin v moči	5
1.4.	Požadavky na způsobilost	5
1.4.1.	FPG	5
1.4.2.	HbA1c	5
1.4.3.	Albumin v moči	5
1.4.3.	Glukometry	5
2.	Stanovení glukózy jako nástroj určení diagnózy diabetu mellitu	5
2.1.	Role měření koncentrace glukózy v plasmě nalačno (FPG)	5
2.1.1.	Diagnostická kritéria diabetu	5
2.1.2.	Vyhledávání osob se zvýšeným rizikem diabetu	6
2.1.3.	Prevalence diabetes mellitus	6
2.1.4.	Jak byl určen diagnostický limit pro FPG?	6
2.2.	Preanalytické podmínky	6
2.3.	Vztahy mezi koncentrací glukózy v krvi (B), plasmě (P) a séru (S)	6
2.4.	Požadavky na analytické ukazatele kvality měření FPG k diagnóze diabetu a vyhledávání osob s jeho zvýšeným rizikem	7
2.5.	Nejistota výsledků měření	7
2.6.	Návaznost měření FPG	8
2.6.1.	Referenční metody	8
2.6.2.	Referenční materiály	8
2.6.3.	Kalibrátory rutinních měření	8
2.6.4.	Kontrolní materiály programů externího hodnocení kvality (EHK)	8

3.	Glykovaný hemoglobin HbA_{1c} - nástroj sledování průběhu léčby diabetu mellitu	8
3.1.	Význam	8
3.2.	Rozhodovací kritéria ADA (Americké diabetologické asociace)	8
3.3.	Preanalytické podmínky	9
3.4.	Analytické podmínky	9
3.5.	Návaznost měření	9
3.6.	Ukazatele analytické kvality rutinních měření	9
3.7.	Nejistota výsledků měření	9
3.8.	Referenční metoda IFCC	10
3.9.	Fruktózamin	10
4.	Sledování stavu diabetiků měřením glukózy osobními glukometry	10
4.1.	Význam a role	10
4.2.	Preanalytické podmínky	11
4.3.	Analytické podmínky	11
4.4.	Kontrola analytické kvality	11
4.5.	Požadavky na výrobce systémů k sebesledování glukózy u diabetických pacientů podle mezinárodní normy ISO/DIS 15197-2	12
4.5.1.	Opakovatelnost měření	12
4.5.2.	Reprodukovatelnost měření	12
4.5.3.	Celková chyba měření	12
4.6.	Vztah mezi laboratorním měřením plasmatické glukózy a měřením glukózy v krvi glukometry	13
5.	Albumin v moči jako nástroj časně detekce diabetických nefropatií	13
5.1.	Význam	13
5.2.	Kritéria detekce mikroalbuminurie podle WHO a ADA	13
5.3.	Preanalytické podmínky	13
5.4.	Analytické podmínky	14
5.5.	Kvalitativní zkoušky detekce mikroalbuminurie	14
6.	Koncentrace glukózy v moči	14
7.	Koncentrace ketolátek v moči a krvi	15
7.1.	Role	15
7.2.	Preanalytické podmínky	15
7.3.	Analytické podmínky	15
7.4.	Shrnutí klinické interpretace	15
8.	Glukózový toleranční test (OGTT)	15
8.1.	Provedení a vyhodnocení	16
8.2.	Preanalytické vlivy	16
9.	Ukazatele autoimunity a diagnostika diabetes mellitus	16
9.1.	Screening tyreopatií	17
9.2.	Serologický screening asymptomatické, němé formy céliakie	17
10.	Genetické ukazatele	17
11.	Doporučení ČSKB a ČDS o změně kalibrace hemoglobinu A_{1c} a referenčních mezí	18
12.	Literatura	18

1. Souhrn základních poznatků

1.1. Laboratorní zkoušky, diagnostická kritéria, rozhodovací meze

- Glukóza v plasmě na lačno – FPG
- HbA1c
- OGTT
- Albumin v moči
- Glukóza v krvi měřením glukometry

1.1.1. Glukóza v plasmě žilní krve na lačno –FPG – Fasting Plasma Glucose

Role: Nástroj laboratorní diagnózy diabetu mellitu.

Kritéria WHO/ADA

Vyloučení diabetu mellitu	< 6,1 mmol/l
Zvýšené riziko diabetu (IFG)	≥ 6,1 mmol/l až < 7,0 mmol/l
Diabetes	≥ 7,0 mmol/l (potvrdit opakovaným měřením)

1.1.2. Glykovaný hemoglobin HbA1c

Role : Nástroj sledování stavu diabetu.

Kritéria WHO/ADA

Cílová hodnota	< 7,0 %
Změna terapie	≥ 8,0 %

Kritéria kompenzace používaná v ČR

(viz též kapitola 11 – Doporučení ČSKB a ČDS o změně kalibrace hemoglobinu A1c a referenčních mezí)

Stav kompenzace	Kritérium HbA _{1c} [%]
Výborná kompenzace	<6,5
Uspokojivá kompenzace	6,5 - 7,5
Neuspokojivá kompenzace	>7,5

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

Role : Diagnóza diabetu

Vyloučení diabetu mellitu	< 7,8 mmol/l
Porušená glukózová tolerance	≥ 7,8 mmol/l až < 11,1 mmol/l
Diabetes	≥ 11,1 mmol/l

1.1.4. Albumin v moči

Role : Klasifikace stavu mikroalbuminurie jako průkazu časně detekce diabetické nefropatie. Diagnostický závěr je nutno učinit na podkladě tří opakovaných měření.

Vzorek	Normální exkrece	Mikroalbuminurie	Proteinurie
Sběr moči	< 30 mg/24 h	30 - 299 mg/24 h	≥300 mg/24 h (0,3 g/l)
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

1.1.5. *Glukóza v krvi stanovovaná glukometry*

Role: Sledování stavu diabetika v režimu POCT nebo jeho sebesledování

Kriteria: Hodnoty rozhodovacích limitů a četnost měření nejsou striktně definovány

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
Analytická nejistota	U _c cca 5,0 [%]

Poznámka:

Analytická nejistota je statistické vyhodnocení kombinace přesnosti a pravdivosti měření.

1.2.2. *HbA1c*

Přesnost (reprodukovatelnost)	CV ≤ 3-4 [%]
Pravdivost (bias)	b ≤ 4,0 [%]
Návaznost na referenční metodu	DCCT respektive 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	10 - 20 [%]
pro koncentrace < 3,3 - 5,5 mmol/l	0,5 - 0,8 [mmol/l]

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 výrobcí a jsou identifikovatelné barevným značením svých uzávěrů)
Oddělení plasmy od krevních elementů :	Do 60 minut od odběru
Transport do laboratoře:	Okamžitý
Přepočtní 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. HbA1c

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 (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
- Akreditace klinické laboratoře (v blízké budoucnosti)

1.4.2. HbA1c

- 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 difference od laboratorní metody měření glukózy v plasmě
- Systém zácvicu a jeho prověřování u osob používajících glukometry

2. Stanovení glukózy jako nástroj určení diagnózy diabetes mellitus

2.1. Role měření koncentrace glukózy v plasmě na lačno (FPG)

Koncentrace FPG je nástrojem:

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

2.1.1. Diagnostická kritéria diabetu (1,2,3)

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

Diagnostický limit pro FPG byl určen ROC analýzou při aplikaci OGTT jako „zlatého diagnostického standardu, kdy byla získána hodnota 6,8 mmol/l nebo dosažením shody prevalence FPG s OGTT, kdy byly v různých studiích získány hodnoty 6,7-7,0 mmol/l (4).

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

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 diabetu mellitu. Podrobněji se problematika rozebírá v části 8.

2.1.2. Vyhledávání osob se zvýšeným rizikem diabetu (1,2,3)

Zvýšené riziko diabetu je charakterizováno rozhodovacím limitem pro FPG $\geq 6,1$ mmol/l, tj. intervalem hodnot 6,1 - 6,99 mmol/l. Pro tento stav označovaný ADA jako Impaired Fasting Glucose (IFG) je navržen český termín **Hraniční Glukóza Nalačno (HGL)**.

2.1.3. Prevalence diabetu mellitu (4,5)

V doporučení WHO (5) je odhadována prevalence diabetu u populace, „žijící západním stylem“ 6 - 7,6 % s tím, že asi 50 % diabetiků není vůbec diagnostikováno. Materiály ADA (4) udávají hodnoty prevalence diabetes mellitu v populaci USA v závislosti na hodnotě diagnostického rozhodovacího limitu následovně :

Diagnostický limit (mmol/l FPG)	Prevalence %
Bez limitu	7,26
$\geq 7,8$ (dřívější WHO limit)	14,26
$\geq 7,0$ (současný limit WHO přijatý v ČR)	12,27

Prevalence diabetes mellitus v České republice není přesně známa, ale odhady se podstatně neliší od výše uvedených.

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 (v sedě). Vzorek žilní krve se odebírá do odběrové nádoby s obsahem inhibitoru glykolýzy. Obvyklou kombinací pro získání plasmy 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. Plasma musí být oddělena od krevních elementů do 60 minut.

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

2.3. Vztahy mezi koncentrací glukózy v krvi (B-glukóza) a plasmě (FPG) (3,7)

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

jestliže je vzorek krve před analýzou ředěn hemolyzačním nebo deproteinačním činidlem

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

jestliže je vzorek krve měřen bez ředění.

Z dostupných dat nelze jednoznačně určit, zda mezi hodnotami koncentrací glukózy v séru a plasmě jsou významné systematické rozdíly. Naprostá většina literárních dat však považuje obě hodnoty za rovnocenné. Také četné publikované hodnoty referenčních intervalů téměř nikdy nerozlišují mezi plasmou a sérem. Nicméně doporučení WHO a ADA jednoznačně preferují plasmu před krevním sérem.

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

$$CV_a \leq 0,5 \cdot CV_i \text{ [%]}$$

Požadovaná hodnota pravdivosti (vyjádřená jako bias) je definována vztahem

$$b \leq 0,25 \cdot CV_b \text{ [%]}$$

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 kovariancí intraindividuální a skupinové (populační) biologické variace, její hodnoty jsou uváděny v literatuře 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:

$$CV_a \leq 2,5 \text{ [%]}$$

$$b \leq 2,0 \text{ [%]}$$

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 6 měsíců. Americké laboratorní doporučení diagnózy diabetu mellitu (3) vyžaduje též akreditaci příslušné klinické laboratoře.

2.5. Nejistota výsledků měření

Díličními nejistotami, které musí být v každém případě vzaty do úvahy při hodnocení výsledku měření jsou :

- nejistota preanalytických procesů (odběr, skladování, transport do laboratoře)
- reprodukovatelnost analytických měření
- bias analytických měření
- intraindividuální biologická variace

I při dosažení požadovaných analytických ukazatelů (viz výše) a při předpokladu natolik optimalizovaného preanalytického procesu, že jeho variabilita nepřesahuje hodnotu 1%, nelze předpokládat, že kombinovaná nejistota individuálního výsledku měření, vypočtená pro 95% interval spolehlivosti, poklesne při započtení díličích nejistot preanalytického, analytického a biologického původu pod 12%. Protože nejvyšší podíl (> 50%) hodnoty kombinované nejistoty musíme přičíst intraindividuální biologické variaci, plynou z toho přinejmenším tři důležité důsledky:

- Kromě výjimečných, jasně specifikovaných situací nelze provést diagnostický závěr na bázi jediného výsledku měření
- Při vyhledávání osob se zvýšeným rizikem DM je nutno uvážit, že již hodnota FPG = 5,4 mmol/l signalizuje potřebu častějšího provedení stanovení FPG
- Hodnoty FPG vyšší než 6,1 mmol/l by měly být vždy opakovány jako podezřelé z možného potvrzení diagnózy diabetu mellitu

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 musí být použity ke stanovení hodnot glukózy v referenčních materiálech a v 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 kalibrátorů, jejichž výrobci jsou schopni dokumentovat (v souladu s normou IVD MD), že hodnoty koncentrace glukózy v nich jsou určeny srovnáním s referenčními materiály. To značí, že kalibrátory rutinních metod musí mít dokumentovanou návaznost na referenční metodu ID-GC/MS. Výrobci musí uvádět rovněž vlastní nejistoty kalibračních hodnot.

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 překrytí $k = 2$)
- aby byly minimalizovány vlivy osnovy - matrice

3. Glykovaný hemoglobin HbA_{1c} - nástroj sledování průběhu léčby diabetu mellitu

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 ADA (Americké diabetologické asociace)

Stav zdraví	Kritérium HbA _{1c} [%]
Osoby bez postižení DM (nediabetici)	≤ 6,0
Plně kompenzovaní diabetici	≤ 7,0
Diabetici vyžadující změnu terapie	≥ 8,0

Kriteria kompenzace používaná v ČR (viz kapitola 11)

Stav kompenzace	Kriterium HbA _{1c} [%]
Výborná kompenzace	<6,5
Uspokojivá kompenzace	6,5 - 7,5
Neuspokojivá kompenzace	>7,5

Pouze kritéria pro kompenzované diabetiky a kritéria pro diabetiky vyžadující změnu terapie jsou oficiálními kritérii sledování průběhu diabetu. Kriterium, diskriminující nediabetiky od diabetiků není doposud doporučeno k používání pro diagnostickou klasifikaci.

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 se používá 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 nesystematicky 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. Analytické podmínky

Všechna uvedená kritéria jsou platná pouze za předpokladu, že použité metody měření, měřicí přístroje a pracovní kalibrátory mají certifikovanou návaznost na referenční systém NGSP USA (National Glycohemoglobin Standardization Program).

3.5. Návaznost měření

Referenční metodou programu NGSP USA je metoda vysokoúčinné kapalinové chromatografie (HPLC), označovaná jako referenční metoda DCCT (Diabetes Control and Complications Trial).

Referenční materiály mají hodnotu HbA_{1c} stanovenou referenční metodou DCCT.

Návaznost rutinní metody na referenční metodu DCCT vyžaduje dosažení reprodukovatelnosti $CV \leq 3,0$ [%] a systematické odchylky od referenční metody $\leq 1\%$ (vyhodnocení diferenčním diagramem dle Blanda - Altmana).

Kontrolní materiály programů externího hodnocení kvality musí mít cílové hodnoty určené referenční metodou DCCT.

3.6. Ukazatele analytické kvality rutinních měření

Uvedená kritéria jsou předpokladem pro akreditaci laboratoře.

- Reprodukovatelnost $CV \leq 3,0$ [%] (ideální hodnota)
- $CV \leq 4$ [%] (ještě akceptovatelná hodnota)
- Dokument o certifikaci návaznosti použitých měřících systémů HbA_{1c}
- Úspěšná účast ve dvou cyklech programů mezilaboratorního porovnávání (EHK) za jeden rok.

3.7. Nejistota výsledků měření

Hodnota intraindividuální biologické variability je podle údajů NGSP (USA) velmi nízká: $CV_i = \text{cca } 1\%$. 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 $\leq 7\%$. Vyjádříme-li hodnoty rozhodovacích kritérií s použitím nejistoty, pak platí:

$$7,0 \pm 0,4 \text{ [HbA1c \%]}$$

$$8,0 \pm 0,5 \text{ [HbA1c \%]}$$

Jiní autoři v dobře dokumentované studii (28) však uvádějí hodnotu $CV_i = 4,1\%$. V tomto případě lze odhadnout hodnotu kombinované nejistoty na 11% a proto obdržíme širší intervaly hodnot rozhodovacích kritérií:

$$7 \pm 0,77 \text{ [HbA1c \%]}$$

$$8 \pm 0,88 \text{ [hbA1c \%]}$$

3.8. Referenční metoda IFCC (14)- www.sekk.cz

Metoda IFCC je na konci několikaletého vývoje. Je založena na principu HPLC/MS (vysokoučinná kapalinová chromatografie v kombinaci s hmotnostní spektrometrií) nebo alternativně HPLC/CE (vysokoučinná kapalinová chromatografie v kombinaci s kapilární elektroforézou).

Metoda IFCC poskytuje významně nižší výsledky měření, než metoda DCCT.

Následkem toho je nutno počítat s tím, že po jejím všeobecném akceptování se značně změní hodnoty rozhodovacích kritérií. Stejně tak je nutno počítat se změnou referenčních hodnot programů externího hodnocení kvality.

Prozatímní odhad nových rozhodovacích kritérií, založených na použití nové referenční metody IFCC (viz kapitola 11):

Osoby bez přítomnosti DM	$\leq 4,0\%$
Kompenzovaní diabetici	$\leq 5,5\%$
Potřeba změny terapie	$\geq 6,5\%$

3.9. Fruktóзамин

V současné době se do rutinní vyšetřovací palety diabetiků nezařazuje.

Ketoaminy sérových proteinů (zejména pak albuminu) redukuje 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 $\mu\text{mol/l}$ 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 koncentraci fruktóзамину v séru. Poločas fruktóзамину je pouze 10 - 14 dní, zatímco u HbA1c je jeho hodnota asi 120 dní. Stanovení fruktóзамину lze doporučit jen v případech, kdy není možné spolehlivé měření HbA1c (hemoglobinpatie, amemie), ale nelze je považovat za rovnocennou náhradu stanovení HbA1c (4). V případě použití je nutno opakovat měření 1x měsíčně (zatímco měření HbA1c se doporučuje provádět 3 - 4 x 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 stavu všech diabetiků závislých na insulinu (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. Preanalytické 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 hypotense 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 plasmě
- 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 diference mezi oběma výsledky (celková chyba měření). Navržené hodnoty akceptovatelné celkové chyby měření se však od sebe značně liší. Tento fakt lze demonstrovat na rozdílnosti údajů, pocházejících z různých zdrojů.

Doporučení/ norma	Celková chyba [%]	Celková chyba [mmol.l ⁻¹]
ADA-USA	5,0	-
CLIA 88-USA	10,0 pro glukózu > 5,5 mmol/l	0,3 pro glukózu ≤ 5,5 mmol/l
NCCLS-USA	20,0 pro glukózu > 5,5 mmol/l	0,8 pro glukózu ≤ 5,5 mmol/l
Rilibäk 2002-Německo	15,0 pro glukózu > 3,33 mmol/l	0,5 pro glukózu ≤ 3,33 mmol/l

Obecně lze pozorovat, že kritérium pro celkovou chybu 5 – 10 % není schopná podstatná část měřících zařízení splnit.

Reprodukovatelnost měření by měla dosahovat hodnot $CV \leq 3,0$ % pro koncentrace glukózy korespondující s hypoglykemickými stavy (údaje jsou založeny na studiích, v nichž svůj stav pozorovali a hodnotili samotní pacienti).

4.5. Požadavky na výrobce systémů k sebesledování glukózy u diabetických pacientů podle mezinárodní normy ISO/DIS 15197-2 (18)

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 následujícími koncentracemi:

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 pomocí variačního koeficientu.

Požadované hodnoty opakovatelnosti nebyly dosud zveřejněny.

4.5.2. Reprodukovatelnost měření

Jako kontrolní materiál slouží materiál dodávaný výrobcem. Používá se tří vzorků s následujícími 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 podobu deseti 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 následující diversifikaci koncentrací:

% 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 osy x pro výsledky referenční metody a osy 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 plasmatické glukózy a měřením glukózy v krvi glukometry (2,4)

Laboratorní měření by mělo být omezeno na měření FPG pro diagnostické účely a na měření plasmatické 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 je doporučeno pro jeho 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)

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

Hodnoty uvedených 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, 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 uvedených kritérií jsou označovány jako *proteinurie*. Ty lze již spolehlivě detekovat kvalitativními zkouškami na celkové proteiny prováděnými testovacími proužky, naopak analýza vzorků s proteinurií je zcela nevhodná k stanovení mikroalbuminurie imunochemickými metodami (nebezpečí „hook efektu“).

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 $\mu\text{g}/\text{min}$. 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 jsou považovány za vhodné rutinní metody měření.

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 $\mu\text{g}/\text{l}$ albuminu, nebo lépe nižší.

Při pozitivitě 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 plasmě (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 tam, kde není pacient 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 močí 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 (například inhibitory ACE)
- Poškozením proužků nevhodným zacházením (expozice ovzduším, teplotou a pod.)
- 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 nitroprussidové 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 plasmě. V případě použití plasmy používají různí výrobci různých antikoagulancií. V séru/plasmě 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 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 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 glykémie nalačno vyšší než 7.0 mmol/l. Jde jednak o stavy s hraniční glykemií nalačno (IFG, 6.1-6.9 mmol/l), jednak v situacích s glykemií nižší než 6.1 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 6,1 - 7,0 mmol/l.

Doporučení ADA nepoužívá v diagnostice diabetu OGTT vůbec.

V obou případech však slouží OGTT k diagnóze gestačního diabetu mellitu.

Rozhodovací limit OGTT pro diagnózu diabetu mellitu je definován jako:

Hodnota **plasmatické** 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.

	Zátěž glukózou (g)	
	75 (WHO)	100 (ADA)
	Glukóza v plasmě (mmol/l)	
FPG	5,3	5,3
po 1 hodině	10,0	10,0
po 2 hodinách	8,6	8,6
po 3 hodinách		7,8

K diagnostikování gestačního diabetu musí být překročeny aspoň dvě hodnoty uvedených rozhodovacích limitů.

8.2. Preanalytické vlivy

Biologickým materiálem pro OGTT je plasma žilní krve. V plasmě kapilární krve je za běžných okolností stejná koncentrace glukózy jako v plasmě žilní krve. Avšak po zátěži glukózou činí rozdíl mezi plasmou kapilární a žilní krve až 20 – 25 % (v řadě případů i více). Také mezi koncentracemi glukózy v plné krvi a v plasmě jsou významné (a výše již uvedené) diference. Uvedených hodnot rozhodovacích limitů nemůže být proto použito, je-li při OGTT použito 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 diabetu mellitu 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 třídenní dieta se zvýšeným přísunem sacharidů v potravě v množství minimálně 150 g za den a neomezovaná fyzická aktivita ve stejném období. Malabsorpce, nevolnost 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 diabetu mellitu. 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 cytoplasmy T-lymfocytů
- IAA (insulin autoantibodies), protilátky proti inzulinu
- Anti GAD 65 A (anti glutamic acid decarboxylase), protilátky proti dekarboxyláze kys. glutamové
- IA-2A, IA-2 β A (insulinoma associated antigens)

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

- ICA 80 %
- Ani-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 < 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. Serologický screening asymptomatické, němé formy céliakie

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

Význam diagnostiky céliakie 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 serologickými markery céliakie (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 1x 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 céliakie.

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

Pro uvedené čtyři CD markery je zaveden systém kontroly kvality EQA.

10. Genetické ukazatele

Jejich určení nemá zatím prokázaný význam v rutinní diagnostice a v procesu kontroly terapie diabetu mellitu (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 allel 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 změně kalibrace hemoglobinu A_{1c} a referenčních mezí

Česká společnost klinické biochemie ČLS JEP (ČSKB) a Česká diabetologická společnost (ČDS) ČLS JEP ve spolupráci s Referenční laboratoří pro klinickou biochemii a na základě rozhodnutí Světové federace klinické chemie a laboratorní medicíny (IFCC, International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine) upozorňují, že **s platností od 1. ledna 2004 se mění způsob kalibrace stanovení hemoglobinu A_{1c}** a dochází ke změnám referenčních hodnot a rozhodovacích limitů.

- a) Referenční meze zdravých dospělých osob podle nové kalibrace jsou 2,8 až 4,0 % (95% interval).
- b) Kritéria kompenzace diabetu jsou uvedena v tabulce:

Kompenzace diabetu	Meze pro dosavadní kalibraci DCCT, platné do 31.12.2003	Meze pro kalibraci IFCC, platné od 1. ledna 2004
Výborná	< 6,5 %	< 4,5 %
Uspokojivá	6,5 – 7,5 %	4,5 – 6,0 %
Neuspokojivá	> 7,5 %	> 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. Změna kalibrace za použití kalibrátoru IFCC je pro laboratoře závazná ke stejnému datu. Technicky je aplikace tohoto doporučení zajištěna dodavateli. Další informace jsou uvedeny v doporučení ČSKB Laboratorní diagnostika a sledování stavu diabetu mellitu, dostupném na www.cskb.cz.

12. Základní literatura

1. Definition, Diagnosis and Classification of Diabetes mellitus and Its Complications. World Health Organisation 1999, WHO/NCD/NCS/ 99.2
2. American Diabetes Association. Report of the Expert Committee on the Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus. *Diabetes Care*, 25, Supplement 1, January 2002 : S5-S20
3. Sacks DB, Bruns DE, Goldstein DE, Maclaren NK a spol. Guidelines and Recommendations for Laboratory Analysis in the Diagnosis and Management of Diabetes Mellitus. *Clin Chem* 2002; 48: 436-472
4. American Diabetes Association. Clinical Practice Recommendations. *Diabetes Care* 2003; 36, Suppl 1, S1- S56
5. Reinauer H , Home PD, Kanabasagapathy AS , Heuck C-Ch. Laboratory diagnosis and monitoring of diabetes mellitus. World Health Organization 2002.
6. Stahl M, Joergensen GM, Hyltoft Petersen P. Optimization of preanalytical conditions and analysis of plasma glucose. *Scand J Clin Lab Invest* 2001; 61;169 -180
7. Burnett RW,D´Orazio P, Fogh-Andersen A, Kuwa K, Kulpmann WR,a spol. IFCC recommendation on reporting results for blood glucose. *Clin Chim Acta* 2001; 307:205-209
8. Fraser CG. Biological variation: From principles to practice.AACC Press 2001
9. Joergensen GM, Stahl M, Brandslund I, Hyltoft Petersen P, Borch-Johnsen K, De Fine Olivarius N. 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; 181 – 190
10. prISO 15189.2 Quality management in the medical laboratory. ISO. Geneva 2002
11. NGSP Steering Committee.Implementation of the national glycohemoglobin standardization program.*Diabetes* 1997; 46: 151A
12. Little RR, Rohlfing CL, Wiedemayer HM, Myers GL, Sacks DB, Goldstein DE.The National Glycohemoglobin Standardization Program (NGSP)- a five-year progress report. *Clin Chem* 2001;47:1985 –1992
13. Joergensen LGM, Brandslund I, Stahl M, Hyltoft Petersen P, Iversen S et.al. Upper reference limit, analytical quality specifications and clinical use of haemoglobin A1c. *Scand J Clin Lab Invest* 2002 ; 62 : 609-622.
14. Kobold U, Jeppson JO, Dulffer T, Finke A, Hoelzel W, Miedema K. Candidate reference methods for hemoglobin A1c based on peptide mapping. *Clin Chem* 1997; 43:1944-1951
15. Weitgasser R, Gappmayer P, Pichler M. Newer portable glucose meters- analytical improvement compared with previous generation devices? *Clin Chem* 1999; 45:1821-1825
16. American Diabetes Association. Consensus statement on self-monitoring of blood glucose. *Diabetes Care* 1987; 10:93-99
17. National Committee for Clinical Laboratory Standards.Ancillary (bedside) blood glucose testing in acute and chronic care facilities. Approved guideline C30-A 1994; 14:1-14. NCCLS, Villanova, PA.
18. 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.
19. American Diabetes Association. Diabetes Nephropathy.*Diabetes Care* 1999; 22 (Suppl 1): S66-S69
20. Kouri T, Fogazzi G, Gant V, Hallander H, Hofmann W, Guder WG.: European Urinalysis Guidelines. *Scand J Clin Lab Invest* 2000; vol.60; Supplement 231 1 - 96
21. Poulsen PL, Hansen B, Amby T, Terkelsen T, Mogensen CE.Evaluation of dipstick test for microalbuminuria in three different clinical settings including the correlation with urinary albumin excretion rate. *Diabetes Metab* 1992; 18:395-400
22. Porter WH, Yao HH,Karounos DG. Laboratory and clinical evaluation of assays for β -hydroxybutyrate.*Am J Clin Pathol* 1997; 107:353-358
23. American Diabetes Association. Test of glycemia(Position Statement). *Diabetes Care* 2000; 23 (Suppl 1):S80-S82
24. Ko GT,Chan JC,Woo J, Lau E, Yeung VT a spol. The reproducibility and usefulness of the oral glucose tolerance test in screening for diabetes. *Ann Clin Biochem* 1998; 35:62-67
25. Atkinson MA, Eisenbarth GS. Type 1diabetes: new perspectives on disease pathogenesis and treatment. *Lancet* 2001; 358: 21-229
26. Klein J, Sato A. The HLA system. First of two. *A Engl J Med* 2000; 343:702-709
27. Monitoring glycaemic control in the diabetic patient. Ed. W Garry John IFCC Series. Excerpta Medica Publications, London, 2002