

Diabetes mellitus – laboratorní diagnostika a sledování stavu pacientů

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

Schváleno výborem ČSKB dne 29. 1. 2019

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

Obsah

| | |
|--|----|
| 1. Laboratorní diagnostika a sledování stavu pacientů | 2 |
| 1.1. Stanovení glukózy jako nástroje pro určení diagnózy a sledování stavu diabetu mellitu | 2 |
| 1.1.1. Diagnostická kritéria diabetu [1, 2, 3] | 2 |
| 1.1.2. Vztahy mezi koncentrací glukózy v krvi (B-glukóza), plazmě (FPG) a séru (S-glukóza) [6] | 3 |
| 1.1.3. Rozhodovací meze | 3 |
| 1.1.4. Požadavky na průkaz analytické způsobilosti laboratoře | 3 |
| 1.1.5. Doporučené hodnoty glykémie nalačno a po jídle | 3 |
| 1.2. Glykovaný hemoglobin HbA _{1c} | 3 |
| 1.2.1. Jednotky měření | 4 |
| 1.2.2. Nejistota výsledků měření | 4 |
| 1.2.3. Rozhodovací meze | 4 |
| 1.2.4. Požadavky na průkaz analytické způsobilosti | 4 |
| 1.3. Preanalytika | 4 |
| 1.4. POCT | 5 |
| 1.4.1. Základní požadavky na glukometry | 5 |
| 1.4.2. Požadavky na průkaz analytické způsobilosti | 5 |
| 1.5. Glukometry v intenzivní péči | 5 |
| 1.5.1. Diference koncentrace glukózy mezi jednotlivými typy vzorků | 5 |
| 1.6. Kontinuální monitorování glukózy | 5 |
| 1.7. Albumin v moči | 6 |
| 1.7.1. Screening | 6 |
| 1.7.2. Diabetické onemocnění ledvin | 7 |
| 1.7.3. Požadavky na průkaz analytické způsobilosti | 7 |
| 1.8. Koncentrace glukózy v moči | 7 |
| 1.9. Koncentrace ketolátek v moči a krvi | 7 |
| 1.10. Glukózový toleranční test (oGTT) | 8 |
| 1.10.1. Provedení a vyhodnocení | 8 |
| 1.10.2. Rozhodovací meze | 8 |
| 1.10.3. oGTT u dětí | 8 |
| 1.11. Gestační diabetes mellitus (GDM) [36, 38] | 8 |
| 1.11.1. Definice gestačního diabetu | 8 |
| 1.11.2. Screening gestačního diabetu | 8 |
| 1.12. C-peptid a inzulín | 10 |
| 1.13. Autoprotilátky | 10 |
| 2. Teoretické podklady a analytické podmínky | 10 |
| 2.1. Glukóza | 10 |
| 2.1.1. Eliminace vlivu glykolýzy ve vzorcích odebrané krve | 10 |
| 2.1.2. Stanovení glykémie pro účely diagnostiky diabetu | 11 |

| | | |
|--------|--|----|
| 2.1.3. | Požadavky na analytickou kvalitu měření..... | 11 |
| 2.1.4. | Metrologická návaznost..... | 11 |
| 2.1.5. | Požadavky na analytickou kvalitu měření - POCT systémy..... | 11 |
| 2.1.6. | Kontinuální monitorování glukózy (CGM)..... | 12 |
| 2.2. | Glykovaný hemoglobin HbA _{1c} | 12 |
| 2.2.1. | Výhody stanovení glykovaného hemoglobinu HbA _{1c} ve srovnání s FPG..... | 12 |
| 2.2.2. | Nevýhody stanovení glykovaného hemoglobinu HbA _{1c} ve srovnání s FPG..... | 12 |
| 2.2.3. | Požadavky na analytickou kvalitu měření..... | 13 |
| 2.2.4. | Přepočtové vztahy pro výsledky uvedené v jiných jednotkách..... | 13 |
| 2.2.5. | Metrologická návaznost..... | 13 |
| 2.2.6. | Standardizace stanovení HbA _{1c} | 13 |
| 2.2.7. | Doporučení WHO 2011 o diagnóze diabetu (stanovení HbA _{1c})..... | 14 |
| 2.3. | Albumin..... | 14 |
| 2.4. | Ketolátky..... | 14 |
| 2.5. | C-peptid a inzulin..... | 15 |
| 3. | Zkratky..... | 15 |
| 4. | Literatura..... | 16 |
| | Příloha 1. Algoritmus pro screening DM u dospělých..... | 17 |
| | Příloha 2. Algoritmus pro laboratorní screening gestačního DM – I. fáze..... | 18 |
| | Příloha 3. Algoritmus pro laboratorní screening gestačního DM – II. fáze..... | 20 |
| | Příloha 4. Návrh algoritmu pro diagnózu diabetu pomocí stanovení HbA _{1c} | 21 |
| | Příloha 5. Preanalytické podmínky a interference..... | 22 |

1. Laboratorní diagnostika a sledování stavu pacientů

1.1. Stanovení glukózy jako nástroje pro určení diagnózy a sledování stavu diabetu mellitu

Koncentrace 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.

Vyhledávání osob se zvýšeným rizikem diabetu

Zvýšené riziko diabetu je charakterizováno hodnotami FPG v intervalu hodnot 5,6 – 6,9 mmol/l. Tento stav je označován jako Impaired Fasting Glucose (IFG), zvýšená koncentrace glukózy nalačno, případně jako prediabetes.

Screeningové vyšetření poruch glukózové homeostázy (diabetu + prediabetu) je pozitivní v případech, kdy je:

- náhodná glykémie (stanovená kdykoliv během dne a nezávisle na jídle) v plné kapilární krvi (stanovení na glukometru je možné) $\geq 7,0$ mmol/l nebo v žilní plazmě $\geq 7,8$ mmol/l nebo
- glykémie nalačno v žilní krvi stanovená v laboratoři (nikoliv na glukometru) $\geq 5,6$ mmol/l nebo
- glykovaný hemoglobin (HbA_{1c}) stanovený v laboratoři ≥ 39 mmol/mol dle IFCC (fakultativně).

1.1.2. 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)*.

1.1.3. Rozhodovací meze

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

Protože hodnota intraindividuální biologické variability činí v průměru 5 %, je nezbytné provést diagnostický závěr na podkladě aspoň dvou výsledků nezávislých měření.

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 3,9 mmol/l (a nižší) je považována za varovnou mez hypoglykémie

1.1.4. Požadavky na průkaz analytické způsobilosti laboratoře

Doložená úspěšná účast v programu externího hodnocení kvality akreditovaném dle ISO 17043 (minimálně 2x ročně).

1.1.5. Doporučené hodnoty glykémie nalačno a po jídle

Doporučené hodnoty glykémie nalačno a po jídle 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 |

1.2. Glykovaný hemoglobin HbA_{1c}

Koncentrace HbA_{1c} 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_{1c} 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_{1c}.

1.2.1. Jednotky měření

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

1.2.2. Nejistota výsledků měření

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_{1c} (odpovídající 95 % intervalu spolehlivosti) U_c leží v intervalu 3 až 5 mmol/mol HbA_{1c}.

1.2.3. Rozhodovací meze

Sledování stavu choroby

| HbA_{1c} [mmol/mol] | Interpretace |
|--|--|
| 20 až 42 | referenční interval (dospělí, negruvidní) |
| 43 až 53 | kompensovaný diabetes (dospělí, negruvidní) |
| > 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_{1c}, která v závislosti na zvolené měřicí technice může dosahovat maximální velikosti $U_c = 5$ mmol/mol.

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

Diagnóza diabetu

V diagnostickém procesu se výsledky diskriminují podle hodnot cut off

| HbA_{1c} [mmol/mol] | Interpretace |
|--|---------------------|
| < 38 | diabetes nepřítomen |
| 38 až 48 | hraniční hodnoty |
| > 48 | diagnóza diabetu |

1.2.4. Požadavky na průkaz analytické způsobilosti

Doložená účast v programu externího hodnocení kvality akreditovaném dle ISO 17043 (minimálně 2x ročně).

1.3. 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

1.4. POCT

Koncentrace glukózy v kapilární krvi, stanovená pomocí osobního glukometru, je nástrojem sledování stavu všech diabetiků závislých na inzulínu (diabetes 1. typu) a některých vybraných skupin diabetiků 2. typu. Toto sledování nehraje žádnou roli v diagnostice diabetu a nemá s ní ani žádnou spojitost.

1.4.1. Základní požadavky na glukometry

Na trhu jsou k dispozici desítky různých typů glukometrů produkovaných řadou výrobců. Úroveň shody mezi výsledky dosaženými různými typy glukometrů je však doposud nedostatečná [10, 11]. Rozhodující při volbě glukometru je splnění požadavků na kvalitu podle kritérií normy ISO 15197:2013 [23], která vymezuje všechny zásadní požadavky. Základní analytické požadavky na glukometry jsou shrnuty v Doporučení k použití, výběru a kontrole glukometrů [24]. Další významné požadavky 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: 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

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.

1.4.2. 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).
- Doložená účast v programu externího hodnocení kvality akreditovaném dle ISO 17043 (2 účasti ročně).
- Používání glukometru v souladu s Doporučením o POCT [13].

1.5. Glukometry v intenzivní péči

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

1.5.1. 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

1.6. Kontinuální monitorování glukózy

Zvláštní problematiku tvoří používání systémů pro kontinuální monitoraci koncentrace glukózy, které pacientům poskytují dynamické informace o vývoji koncentrace glukózy a umožňují bezpečnější dosažení lepší kompenzace diabetu. Systém pro kontinuální monitorování koncentrace glukózy (CGM) měří koncentraci glukózy v reálném čase po 24 hodin denně. 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 a inzulínové pumpy, která zobrazuje koncentraci glukózy na displeji pumpy (místo inzulínové pumpy může být jako přijímač použito i jiné samostatné zařízení nebo tzv. chytrý telefon - smartphone). Systém používá časné upozornění blížících se nízkých a vysokých hodnot a alarm při nízkých a vysokých hodnotách. Většina těchto systémů v současné době vyžadují denně kalibraci pomocí osobního glukometru, ale existují

již i systémy s interní kalibrací v softwaru přístroje, ty pak tuto denní kalibraci nevyžadují. Zároveň se rozšiřuje systém pro tzv. okamžité monitorování glukózy (Flash Glucose Monitoring – FGM), který pracuje na podobném principu snímače, ale nemá aktivní alarmany 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 bez nutnosti kalibrace 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.

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

1.7. Albumin v moči

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 předpovídá stav poškození ledvin, ale 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. Screening je doporučen u pacientů s diabetem mellitem 1. typu (děti a adolescenti) od 5. roku od zjištění diagnózy diabetu každý rok, u pacientů s diabetem mellitem 2. typu se začne ihned po stanovení diagnózy; je doporučeno provádět vyšetření 1x ročně.

1.7.1. Screening

Screening zahrnuje stanovení poměru albumin/kreatinin v prvním ranním vzorku moči; vyšetření albuminu v moči sbírané 24 hodin se nedoporučuje. V praxi se však dává přednost vyšetření v jednorázovém vzorku moči, výsledek se vztahuje ke koncentraci kreatininu v moči (g/mol kreatininu). 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. Naopak analýza vzorků s proteinurií je zcela nevhodná ke stanovení albuminurie imunochemickými metodami (je překročen pracovní rozsah měření a může dojít k „hook efektu“).

Vyšetření albuminurie/proteinurie

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
- event. orientační semikvantitativní stanovení proteinu testovacími proužky v moči.

Tyto tři základní uvedené testy jsou seřazeny podle klesající výpovědní schopnosti. Kvalitativní a semikvantitativní zkoušky nejsou dostatečně citlivé, při pozitivním výsledku je nutno tento nálezn vždy ověřit v laboratoři. Kvalitativní detekce albuminurie může hrát roli pouze jako nástroj screeningu, avšak každý pozitivní nálezn musí být potvrzen kvantitativním měřením. Preferují se vyšetření jednorázového vzorku ranní moče před sběry za časové údobí, protože sběry moče jsou zatíženy velkými chybami na straně pacienta. Pokud se u náhodného vzorku stanoví hodnota $ACR \geq 3$ mg/mmol, je zapotřebí vyšetření opakovat s použitím vzorku první ranní moče.

Výsledky albuminurie je doporučeno uvádět ve vztahu ke koncentraci kreatininu ve vzorku ranní moče jako poměr ACR (mg albuminu / mmol kreatininu), eventuálně jako koncentrace v ranní moči (mg/l). Výsledky celkové proteinurie je doporučeno uvádět ve vztahu ke koncentraci kreatininu ve vzorku ranní moče jako PCR (g/mmol), eventuálně jako koncentrace proteinu ve vzorku ranní moči (g/l). U nemocných s nefrotickým syndromem a dobrou spoluprací stále vyšetřujeme kvantitativní proteinurii za 24 hodin (g/den).

Podrobněji viz společné doporučení České společnosti klinické biochemie a České nefrologické společnosti **Doporučení k diagnostice chronického onemocnění ledvin (odhad glomerulární filtrace a vyšetřování proteinurie)**, **Doporučené postupy při diabetickém onemocnění ledvin** České diabetologické společnosti, České nefrologické společnosti a České společnosti klinické biochemie [39] a mezinárodní doporučení **KDIGO 2012** [25, 26].

Doporučenými nástroji pro sledování albuminurie jsou stanovení poměru koncentrace albuminu a kreatininu (ACR) a stanovení koncentrace albuminu v časovaném sběru moče.

| 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.

1.7.2. 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. Nezřídka 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 nezřídka 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 (chronic kidney disease) a zohledňuje úroveň GFR a míru albuminurie (viz výše). Tato klasifikace nahrazuje dříve používané hodnocení stádií diabetické nefropatie.

1.7.3. Požadavky na průkaz analytické způsobilosti

Doložená účast v programu externího hodnocení kvality akreditovaném dle ISO 17043 (2 účasti ročně).

1.8. 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].

1.9. 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 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. Při tkáňové

hypoxii je kyselina acetoctová redukována na kyselinu β -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 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.

1.10. Glukózový toleranční test (oGTT)

Orální glukózový toleranční test se používá k potvrzení diagnózy diabetes mellitus v případě, že diagnóza není jednoznačně potvrzena nálezem FPG vyšší než 7,0 mmol/l.

Jde jednak o stavy IFG (zvýšená glykemie 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 nálezů porušené glukózové tolerance se oGTT opakuje ve dvouletých intervalech.

1.10.1. 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.

1.10.2. Rozhodovací meze

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

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

1.10.3. 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.

1.11. Gestační diabetes mellitus (GDM) [36, 38]

1.11.1. 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.

1.11.2. 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 ≥ 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 < 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 ≥ 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 ≥ 10,0 mmol/l a/nebo ve 120. min ≥ 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: **třibodový 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 |

1.12. 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 ovarii a při diagnostice inzulinomu.

1.13. 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.

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 popsaná incidence je 1:20. Ke screeningu celiakie je doporučeno použít protilátky proti endomysiu (EMA) nebo proti tkáňové transglutamináze (aTTG) a v případě jejich pozitivita 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.

2. Teoretické podklady a analytické podmínky

2.1. Glukóza

2.1.1. 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.

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

V místech, kde není k dispozici stanovení glukózy standardizovanou metodou, lze před podáním roztoku se 75 g glukózy 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 < 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.

2.1.3. 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 $\geq 2,0$.

2.1.4. 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.

2.1.5. Požadavky na analytickou kvalitu měření - POCT systémy

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].

2.1.6. 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. V klasickém pojetí se systém pro monitoraci glukózy skládá z jednorázového invazivního senzoru, transmiteru (vysílače) a přijímače. Senzor může být buď transkutánní (Medtronic, Dexcom, Abbott) nebo nově implantabilní subkutánní (Senseonics).

V některých případech je senzor kombinovaný s vysílačem, v tom případě jde o jednorázově použitelnou kombinaci. V případě systému pro zaslepené profesionální použití (Medtronic) je senzor připojen k přijímači bez vysílače a zároveň slouží jako záznamník naměřených hodnot glukózy k retrospektivní analýze. 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 až 6 měsíců. Rovněž se liší nutnost a způsob kalibrace senzorů pomocí osobních glukometrů. Některé systémy jsou již schválené pro použití bez kalibrace.

Přesnost senzoru se v závislosti na typu senzoru a času od jeho zavedení pohybuje typicky v hodnotách MARD 10 – 15 % první den a většinou pod 10 % v následujících dnech.

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 až retrospektivní po stažení dat ze systému CGM. 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. 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_{1c}, ovšem pouze za podmínky, že je používán po většinu času, typicky více než 70 % času.

Specifickým systémem je tzv. okamžité monitorování glukózy (Flash Glucose Monitoring – FGM, Abbott), které neposkytuje aktivní alamy 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 bezkalibrační použití.

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 po většinu času.

2.2. Glykovaný hemoglobin HbA_{1c}

Glykovaný hemoglobin HbA_{1c} 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_{1c} může být zkreslena (snížena) vlivem zkrácení doby života erytrocytů.

2.2.1. Výhody stanovení glykovaného hemoglobinu HbA_{1c} ve srovnání s FPG

- není nutné lačnění pacienta
- odběr lze provést kdykoliv bez nějaké přípravné doby
- preanalytické podmínky jsou při stanovení HbA_{1c} mnohem jednodušší než u stanovení glukózy (například stabilita v čase, žádná glykolýza)
- biologická variabilita HbA_{1c} je významně příznivější (CV_i = 1,3 %), než u FPG (CV_i = 5,0 %)

2.2.2. Nevýhody stanovení glykovaného hemoglobinu HbA_{1c} 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_{1c} a FPG ale nejsou důvodem k odmítnutí HbA_{1c} 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_{1c} 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_{1c} (viz tabulka).

Změny hodnot HbA_{1c} pro střední hodnotu HbA_{1c} = 53 mmol/mol při zvolené střední době života erytrocytů 120 dnů

| | | | |
|--------------------------------|-------------|--------------------|-------------|
| Střední doba života erytrocytů | 110 dnů | 120 dnů | 130 dnů |
| Hodnota HbA _{1c} | 46 mmol/mol | 53 mmol/mol | 60 mmol/mol |

2.2.3. Požadavky na analytickou kvalitu měření

Hodnoty indikátorů analytické kvality měření jsou převzaty z dat IFCC Task Force On Implementation of HbA_{1c} Standardization [30, 31]; 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_{1c} 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 < 3,5 % a bias < 2,0 mmol/mol. Stejně kvality dosahují i metody měření POCT Alere-Abbott Afinion a Siemens Vantage.

2.2.4. Přepočtové vztahy pro výsledky uvedené v jiných jednotkách

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

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

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:

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

2.2.5. 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_{1c} stanovené referenční metodou - disponují tedy certifikovanými hodnotami HbA_{1c} 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_{1c} v nich jsou určeny srovnáním s certifikovanými referenčními materiály.

Metody POCT jsou považovány až na výjimky za orientační a měly by být pravidelně ověřovány srovnáním s výsledky klinických laboratoří

2.2.6. Standardizace stanovení HbA_{1c}

Je založena na celosvětovém konsenzu 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.

Hlavními rysy tohoto konsenzu jsou:

- Celosvětová platnost

- Jednotný referenční systém měření
- Použití základní jednotky měření mmol/mol HbA_{1c}
- 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>).

Klinická hodnota stanovení HbA_{1c} 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 a v diagnóze diabetu.

2.2.7. Doporučení WHO 2011 o diagnóze diabetu (stanovení HbA_{1c})

Považuje stanovení HbA_{1c} za základní nástroj diagnózy diabetu. Rozhodovacím limitem pro diagnózu je hodnota HbA_{1c} ≥ 48 mmol/mol. Algoritmus pro diagnózu DM pomocí stanovení HbA_{1c} 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_{1c} 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]. Stanovení glykovaného hemoglobinu v ČR se k diagnostice neuzívá.

2.3. Albumin

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 % | ≤ 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.

2.4. Ketolátky

Při diabetické ketoacidóze dochází ke tkáňové hypoxii, proto má pro její diagnózu mnohem větší význam stanovení kyseliny β-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 β-hydroxymáselná detekována. K dispozici již jsou metody určené přímo k měření kyseliny β-hydroxymáselné v krvi. Validní data o analytických znacích metody a ukazatelích analytické kvality nejsou dosud k dispozici nebo jsou kontroverzní.

2.5. 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].

3. Zkratky

| | |
|-------------------|--|
| ACE-I | Inhibitory angiotenzin konvertujícího enzymu |
| ACR | albumin-creatinine ratio (poměr koncentrace albuminu a kreatininu) |
| ADA | American Diabetes Association (Americká diabetologická společnost) |
| CRM | Certified Reference Material (Certifikovaný referenční materiál) |
| CV | Coefficient of Variation (variační koeficient, relativní směrodatná odchylka) |
| CV _a | Analytická preciznost vyjádřená jako variační koeficient (odhad preciznosti výsledků měření) |
| CV _g | Interindividuální biologická variabilita vyjádřená variačním koeficientem |
| CV _i | 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) |
| FPG | Fasting Plasma Glucose (plazmatická koncentrace glukózy v žilní krvi nalačno) |
| GDM | Gestační diabetes mellitus |
| HbA _{1c} | Glykovaný hemoglobin A _{1c} |
| 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) |

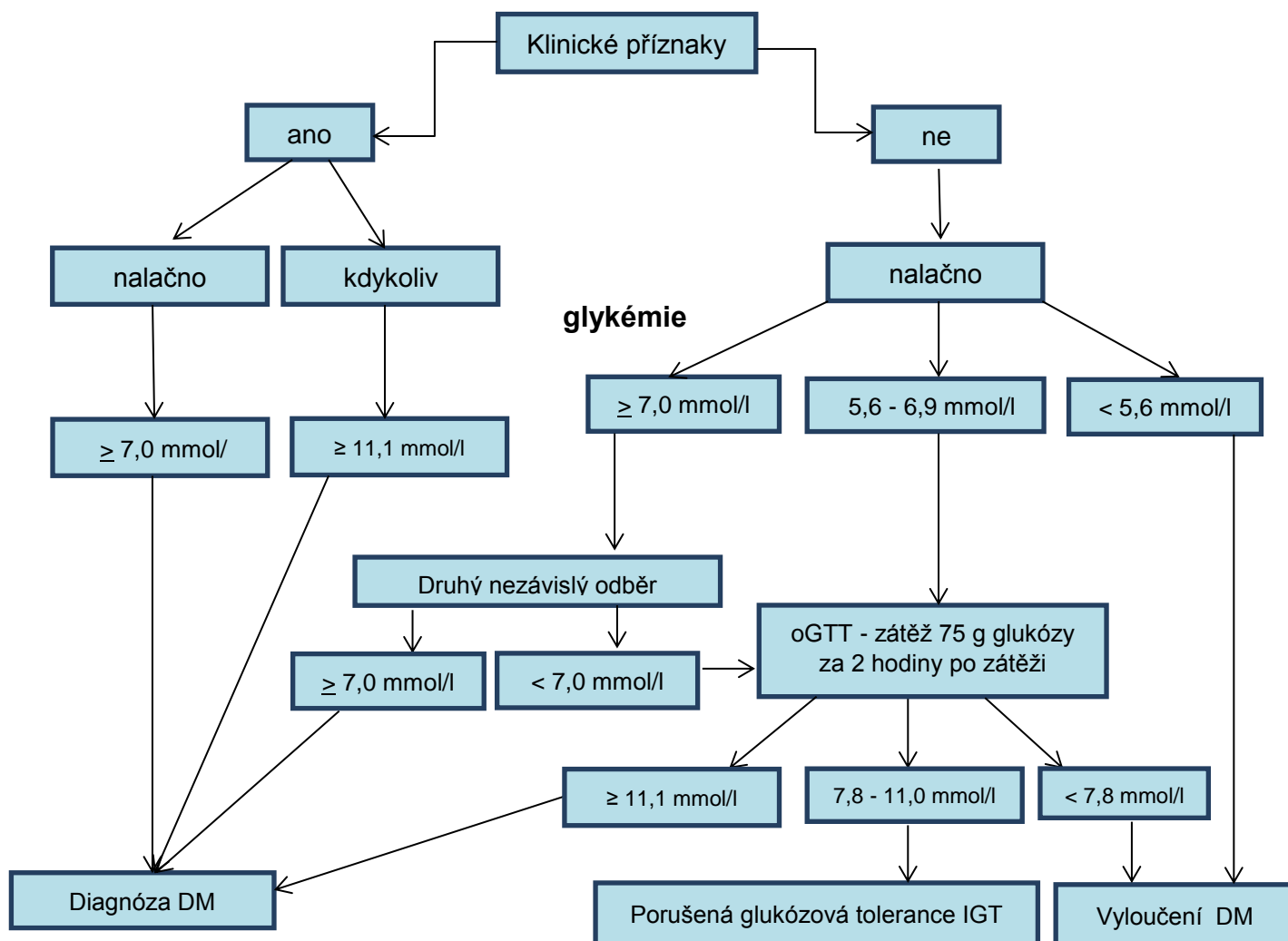
| | |
|----------------|--|
| MARD | Mean absolute relative difference |
| NGSP | National Glycohemoglobin Standardization Program (Národní program pro standardizaci glykovaného hemoglobinu HbA _{1c} v USA) |
| oGTT | Glukózový toleranční test |
| PCR | Protein - creatinine ratio (poměr bílkovina - kreatinin) |
| POCT | Point of Care Testing (testování u lůžka nemocného či v přímém kontaktu s ním) |
| U _c | Rozšířená kombinovaná nejistota výsledku měření |
| VKK | Vnitřní kontrola kvality |

4. 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
- 2 Sacks DB,Arnold M,Baktris GL at 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 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,Ackatupatil TA et al. Acidification of blood is superior to sodium fluoride alone as an inhibitor of glycolysis.Clin Chem 2009;55: 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 et al.The IFCC reference measurement system for HbA1c: A 6 year progress report. Clin Chem 2008,54:240-248.
- 8 Hanas R,John WG. Consensus statement on the worldwide standardization of the hemoglobin A1c measurement. Clin Chem 2010,56:1362-1364.
- 9 Weykamp C,Mosca A,Gillery P,Panteghini M. The Analytical Goals for Hemoglobin A1c in IFCC units and National Glycohemoglobin Standardization Program units are different. Clin Chem 2011,57:1204-1206.
- 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 et al. System accuracy evaluation of 27 blood glucose monitoring systems according to DIN EN ISO 15197. Diabetes Technol Ther 2010,12:221-231.
- 12 Skeie S,Thruue G,Nerhus K,Sandberg S. Instruments for self-monitoring of blood glucose:comparison of testing quality achived by patients and a technician. Clin Chem 2002,48:994-1003.
- 13 Doporučení ČSKB. Správné zavádění a používání prostředků POCT. Dostupné na: <http://www.cskb.cz/cskb.php?pg=doporuceni>
- 14 Miller GW,Bruns DE,Hortin GL et al.Current issues in measurement and reporting of urinary albumin excretion. Clin Chem 2009,55:24-38.
- 15 Lamb EJ,MacKenzie F,Stevens PE. How should prtoeinuria be detected and measured, Ann Clin Biochem 2009,46:205-217.
- 16 Doporučení České nefrologické společnosti a České společnosti klinické biochemie k vyšetřování proteinurie. Dostupné na: <http://www.cskb.cz/cskb.php?pg=doporuceni>, publikováno také v Klin Biochem Metab 2010;19/ 40:28- 35.
- 17 Little RR,Rohlfing CL,Tennill AL et al. Standardization of C-peptide measurements. Clin Chem 2008 54:1023-1026.
- 18 Miller GW,Thienpont LM,van Uypfanghe K et al.Toward standardization of insulin immunoassays. Clin Chem 2009,55:1111-1118.
- 19 Doporučení ČSKB a ČDS: Změna jednotky pro stanovení glykovaného hemoglobinu A1c (HbA1c) a rozhodovacích mezí. Dostupné na: <http://www.cskb.cz/cskb.php?pg=doporuceni>
- 20 Wiedmeyer HM,Polonski KS,Myers GL et al. International Comparison of C-peptide measurements. Clin Chem 2007,53:784-786.
- 21 Schultess J,van Duren C,Martens M et al. Diagnostic perfomance of the Architect C-peptide immunoassay. Clin Chem Lab Med 2009,47:834-841.

| | |
|----|--|
| 22 | Marcovina S, Bowsher RR, Miller WG et al. Standardization of insulin immunoassays: Report of the American Association of Diabetes Workgroup. Clin Chem 2007,53:711-716. |
| 23 | EN ISO 15197:2013. In vitro diagnostic test systems – Requirements for blood-glucose monitoring systems for self-testing in managing diabetes mellitus. Geneve 2013. |
| 24 | Doporučení k použití, výběru a kontrole glukometrů. Klin Biochem Metab, 22 (43), 2014, No. 3, 155–164. |
| 25 | Doporučení k diagnostice chronického onemocnění ledvin (odhad glomerulární filtrace a vyšetřování proteinurie) 2014. Dostupné na http://www.cskb.cz/cskb.php?pg=doporuceni--archiv#10 |
| 26 | National Kidney Disease Education Program.Laboratory Evaluation. Dostupné na http://www.nkdep.nih.gov dne 13.10.2013. |
| 27 | Thomas MC, Jandeleit-Dahn K, Bonnet F.: Beyond glycosuria: Exploring the intrarenal effects of SGLT 2 inhibition in diabetes. Diabetes Metab 2014,40,Suppl.1:S17-22. |
| 28 | John G, English E.: IFCC standardized HbA1c:should the world be as one? Clin Chem Lab Med 2012?:50:1243-1248. |
| 29 | Sacks DB.: Measurement of Hemoglobin A1c.A new twist of the path of harmony. Diabetes Care 2012,35:2674-2680. |
| 30 | Weykamp C, John G, Gillery P, English E, Ji L, Linters-Westra E, Little RR et al.: Investigation of 2 Models to Set and evaluate Quality Targets for Glycated Hemoglobin. Biological Variations and Sigma-Metrics. Clin Chem 2015 doi:10.1373/clinchem.2014.235333. |
| 31 | Sikaris KA.:The Role and Quality of HbA1c ! A Continuing Evolution. Clin Chem 2015.doi:10.1373/clinchem.2015.239319. |
| 32 | John G.: Expert Position Statement.Use of HbA1c in the diagnosis of diabetes mellitus in the UK. The implementation of World Health Organization guidance 2011. Diab Med 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. Diabetes Care 2013,36.DOI:10.2337/dc12-1312. |
| 34 | Friedecký B, Springer D, Kratochvíla J.: Stabilita glukózy ve vzorcích krve po odběru. FONS 2015,1:15-16. |
| 35 | Dostupné na: http://www.ngsp.org |
| 36 | Andělová K, Anderlová K, Bláha J et al.: Gestační diabetes mellitus. Doporučený postup screeningu, gynekologické, perinatologické, diabetologické a neonatologické péče 2017. Dostupné na: http://www.diab.cz/dokumenty/DP_GDM_2017.pdf |
| 37 | Kolektiv autorů: How Should Glucose Meters Be Evaluated For Critical Care. IFCC Working Group GMECC. Submitted to IFCC 10 December 2017. Dostupné na: www.ifcc.org |
| 38 | Gestační diabetes mellitus. Doporučený postup screeningu, gynekologické, perinatologické, diabetologické a neonatologické péče 2017. Dostupné z: http://www.diab.cz/dokumenty/DP_GDM_2017.pdf |
| 39 | Doporučené postupy při diabetickém onemocnění ledvin. Dostupné z: http://www.diab.cz/dokumenty/standard_dmev_ledviny.pdf |
| 40 | Standards of medical care in diabetes – 2019. Diabetes Care 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. Official Journal of the European Union 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. |

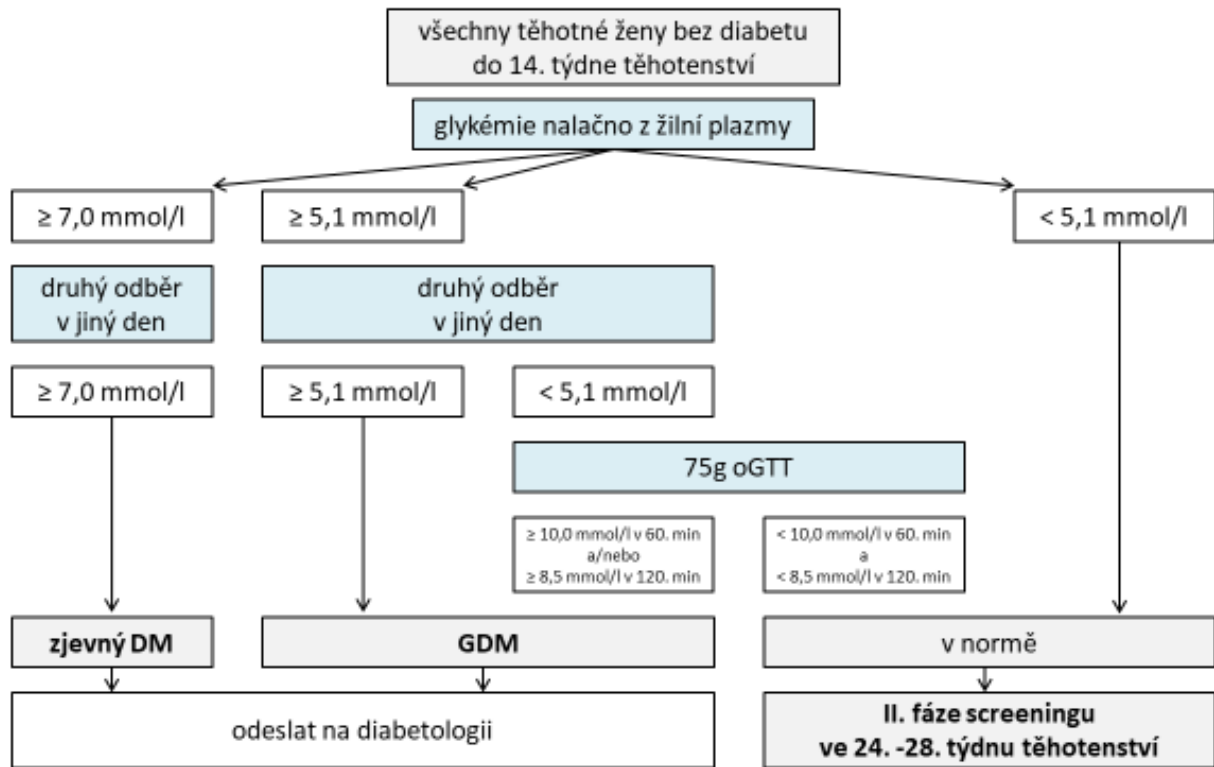
Příloha 1. Algoritmus pro screening DM u dospělých



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

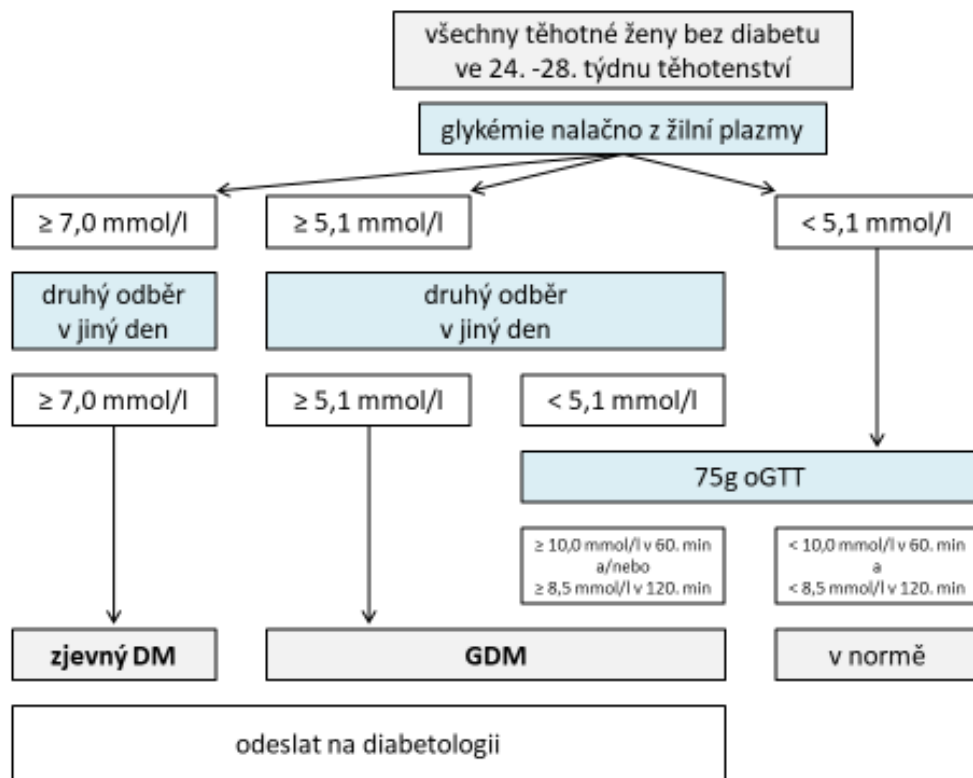
Gestační diabetes mellitus

I. fáze screeningu

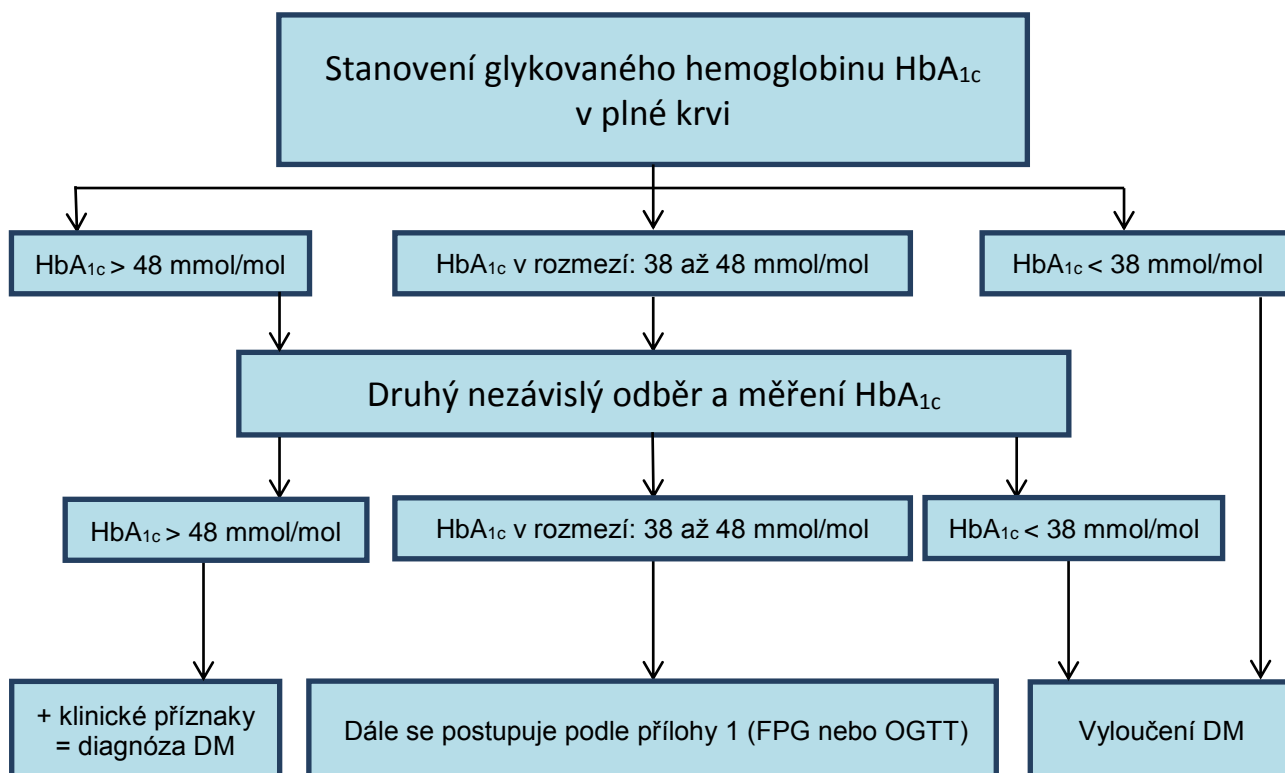


Příloha 3. Algoritmus pro laboratorní screening gestačního DM – II.fáze

Gestační diabetes mellitus II. fáze screeningu



Příloha 4. Návrh algoritmu pro diagnózu diabetu pomocí stanovení HbA_{1c}



Příloha 5. Preamalytické podmínky a interference

Souhrn preanalytických podmínek

| Analyt | Materiál | Odběr | Skladování |
|-------------------------|--|---|--|
| Glukóza | 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 |
| oGTT | plazma žilní krve | Po zátěži glukózou je rozdíl mezi koncentrací glukózy v kapilární a žilní krvi okolo 25 %. | |
| HbA_{1c} | 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 |
| Albumin | 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 |
| Ketolátky | sérum nebo plazma | Různá antikoagulancia. | 1 týden při +4 °C několik týdnů při -20 °C |
| C-peptid | 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 |
| Inzulín | 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 [17, 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 |
|------------------------------|------------------------|-----------------|-------------------------------|---|
| Sarstedt | S-Monovette-GlucoEXACT | 3,1 ml | NaF/Citrat/EDTA | Kapalná přísada Ředící faktor: 1,16 |
| Greiner | Vacurette Glucomedics | 2,0 ml | NaF/Citrat/EDTA azid sodný | Kapalná přísada Ředící faktor: 1,16 |
| Kabe Labortechnik | Primavette S | 2,6 ml | NaF/Citrat | Kapalná přísada Ředící faktor: 1,05 |
| Kabe Labortechnik | Kavevette G | 3,5 ml | NaF/Citrat | Kapalná přísada Ředící faktor: 1,05 |
| Terumo | 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 zcvik zdravotnického personálu na klinických odděleních a pacientů před zahájením sledování. Nedílnou součástí instrukcí jsou postupy kontroly kvality.

Významné potenciální zdroje preanalytických chyb jsou:

- změny hodnot hematokritu,
- změny teploty a vlhkosti vnějšího prostředí,
- vysoké koncentrace triacylglycerolů v krevním séru,
- hypoxie a hypotenze pacienta,
- použití vzorku krve s obsahem glykolytického inhibitoru,
- rozdíly ve vlastnostech šarží reagenčních čipů (slidů, proužků, cartridge aj.),
- mikrobiologická kontaminace reagenčních čipů (slidů, proužků, cartridge aj.).

Glykovaný hemoglobin HbA_{1c}

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_{1c} v krvi.

Faktory negativně ovlivňující výsledky měření HbA_{1c} jsou uvedeny a aktualizovány na webu NGSP [35].

U uremických pacientů dochází ke karbamylaci, která působí silné interference při měření HbA_{1c} 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.