



ČESKÉ VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V PRAZE

Fakulta biomedicínského inženýrství
Katedra zdravotnických oborů a ochrany obyvatelstva

**Využití POCT prostředků k monitorování koncentrace glukózy u
pacientů v nemocniční péči**

**The use of POCT devices for glucose monitoring in patients in hospital
care**

Bakalářská práce

Studijní program: Specializace ve zdravotnictví
Studijní obor: Zdravotní laborant

Vedoucí práce: Mgr. Irena Knapovská

Romana Ondrášková

Kladno 2017

Zadání bakalářské práce

Student: **Romana Ondrášková**
Obor: Zdravotní laborant
Tema: **Využití POCT prostředků k monitorování koncentrace glukózy u pacientů v nemocniční péči**
Tema anglicky: The use of POCT devices for glucose monitoring in patients in hospital care

Zásady pro vypracování:

Monitorování koncentrace glukózy (glykémie) je nedílnou součástí nemocniční péče. Jedná se nejen o diabetiky v ambulantní péči, ale také o pacienty na lůžkových odděleních. Vedle měření velkými analyzátory klinických laboratoří jsou v nemocnicích ke stanovení glykémie využívány i testy prováděné u pacienta, point-of-care testing (POCT) za použití glukometrů. V celém procesu je nezbytná úzká spolupráce laboratoře s klinickými pracovníky a její dohled nad správným používáním prostředků POCT tak, aby poskytovaly přesné a spolehlivé výsledky.

V práci budou shrnuty základní klinické a analytické aspekty prováděných měření. Praktická část bude zaměřena na porovnání výsledků získaných na glukometrech s výsledky měření v klinické laboratoři, na hodnocení výsledků vnitřní kontroly kvality spolu se zapojením se do externího hodnocení kvality.

Seznam odborné literatury:

- [1] RACEK, Jaroslav. Klinická biochemie, ed. 2. přepr., Praha: Galén, c2006, 329 s., ISBN 80-7262-324-9
- [2] DOLEZALOVA, V. a kolektiv autorů. Principy biochemických vyšetřovacích metod I. a II. Institut pro další vzdělávání pracovníků ve zdravotnictví v Brně, Brno, 1995, 231 a 234 s., ISBN 80-7013-206-X
- [3] Doporučení k použití, výběru a kontrole glukometrů, Klin. Biochem. Metab., 22 (43), 2014, No. 3, 155-164, ISSN 1210-7921
- [4] Diabetes mellitus - laboratorní diagnostika a sledování stavu pacientů, Klin. Biochem. Metab., 24 (45), 2016, No. 1, p. 39 - 50, ISSN 1210-7921

Zadání platné do: 11.09.2018
Vedoucí: Mgr. Irena Knapovská


vedoucí katedry / pracoviště


děkan

V Kladně dne 31.10.2016

Prohlášení

Prohlašuji, že jsem bakalářskou práci s názvem Využití POCT prostředků k monitorování koncentrace glukózy u pacientů v nemocniční péči vypracovala samostatně pouze s použitím pramenů, které uvádím v seznamu bibliografických odkazů.

Nemám závažný důvod proti užití tohoto školního díla ve smyslu § 60 zákona č. 121/2000 Sb., o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon).

V Kladně dne 12.05.2017

.....
podpis

Poděkování

Děkuji vedoucí mé bakalářské práce Mgr. Ireně Knapovské za odbornou pomoc, cenné rady, konstruktivní připomínky a trpělivost při zpracování mé bakalářské práce. Dále bych chtěla poděkovat oddělení klinické biochemie, klinice KARIM a EMERY Ústřední vojenské nemocnice za umožnění realizace praktické části.

Abstrakt

Monitoring koncentrace glukózy je nedílnou součástí ambulantní péče (diabetici) i nemocniční péče (pacienti po operacích a v kritickém stavu). Ke stanovení glykémie jsou rutinně používány velké biochemické analyzátory v laboratořích a současně systémy POCT (Point-of-care testing) s využitím glukometrů. Práce shrnuje základní poznatky o diabetu mellitu, analytické aspekty a nejčastěji využívané technologie pro stanovení koncentrace glukózy.

Praktická část práce spočívá v měření vzorků pacientů z KARIM ÚVN na POCT systému StatStrip (Nova Biomedical Corporation, USA), porovnání těchto výsledků s referenční hexokinázovou metodou na analyzátoru cobas® 8000 (Roche Diagnostics, USA) a následném statickém zpracování výsledků měření s cílem ověřit srovnatelnost obou systémů.

Byl použit soubor 81 párových hodnot glykemií pacientů z KARIM ÚVN a byla prokázána shoda výsledků z obou analytických systémů: $p = 0,40$ v intervalu spolehlivosti 95%; průměrná hodnota pro měření v režimu POCT $8,07 \pm 2,70$ mmol/l a pro referenční soubor $8,43 \pm 2,87$ mmol/l.

Klíčová slova

Diabetes mellitus; glukometrie; point-of-care-testing; glukometr.

Abstract

Glucose concentration monitoring is crucial part of ambulant care (diabetics) and hospital care (patients after surgery and in critical state). Big biochemical analysators and simultaneously systems POCT (Point-of-care testing) with using glukometers are routine used for glycemc assessment in laboratories. Thesis summarizes basic knowledge about diabetes mellitus, analytic aspects and frequently used technologies for assessment glucose concentration.

Practical part of thesis is based on meassuring patient's samples from KARIM ÚVN on POCT system StatStrip (Nova Biomedical Corporation, USA), comparison these results with referential hexokinase method by using analysator Cobas® 8000 (Roche Diagnostics, USA) and consequent statistical processing of measuring results. The aim is verifying comparability of these both systems.

It was used collection of 81 pair values of glycemc patients from KARIM ÚVN and the results of both analytic systems were shown to be consistent: $p = 0,40$ confidence interval 95%; mean value for measuring in POCT $8,07 \pm 2,70$ mmol/l and for refential collection $8,43 \pm 2,87$ mmol/l.

Keywords

Diabetes mellitus; glucometry; point-of-care testing; glucose meter.

Obsah

1	Úvod.....	9
2	Současný stav	11
2.1	Diabetes mellitus	11
2.1.1	Klasifikace onemocnění.....	12
2.1.2	Komplikace DM.....	16
2.1.3	Laboratorní vyšetření u DM, monitoring	18
2.1.4	Léčba	24
2.2	POCT	26
2.3	Glukometrie.....	28
2.3.1	Metody stanovení glukózy	28
2.3.2	Principy detekce	30
2.3.3	Přenosné glukometry.....	34
2.3.4	Zajištění kvality výsledků	35
3	Cíl práce.....	39
4	Metodika	40
4.1	Přístrojové vybavení.....	40
4.1.1	Cobas® 8000	40
4.1.2	POCT systém StatStrip	43
4.2	Odběr vzorků	45
4.2.1	Odběr žilní krve.....	46
4.2.2	Odběr z centrálního žilního vstupu pro stanovení parametrů ABR	46
4.2.3	Odběr kapilární krve.....	47

4.2.4	Vzorky použité k měření.....	47
4.3	Měření	48
4.3.1	Rutinní glukometrie v laboratoři	48
4.3.2	Glukometrie v režimu POCT.....	49
5	Výsledky.....	51
5.1	Statistické zpracování dat.....	51
5.2	Porovnání měření na systémech.....	54
6	Diskuze	57
7	Závěr	60
8	Seznam použitých zkratk.....	61
9	Seznam použité literatury.....	64
10	Seznam použitých obrázků	69
11	Seznamu použitých tabulek	70

1 ÚVOD

Diabetes mellitus, cukrovka či úplavice cukrová je onemocnění známe po tisíciletí. První dochovaná písemná zmínka pochází již z 16. století př. n. l., která popisuje onemocnění projevující se polyurií. Diabetes je choroba, jejíž incidence v populaci prudce stoupá v celosvětovém měřítku, zejména v rozvinutých zemích. Pro Českou republiku uvádějí data z roku 2015 více než 8% populace postižených DM.

Strmě stoupající incidence DM v populaci klade zvýšené nároky na měření koncentrace glukózy v krvi nejen v rámci diagnostiky, ale i při sledování účinnosti léčby. Následkem rostoucích požadavků na stanovení glukózy se rozvíjí i oblast point-of-care testing (POCT) vyšetření v ambulantní i nemocniční péči. POCT systémy, všeobecně, musí splňovat požadavky kladené na kvalitu měření, které jsou zakotveny v normě ISO 15197:2013. Tyto požadavky udávají přesnost a správnost měření, kvalitu technologie, ale také ověřují správné zacházení s přístrojem. Mezi POCT prostředky se řadí i přenosné glukometry, které podléhají doporučení ČSKB „Správné zavádění a používání prostředků POCT“ z května 2011. Vznik glukometrů umožnil lékařům i pacientům lépe sledovat a tím kompenzovat diabetes, a zpomalit nebo předejít rozvoji komplikací s ním spojených. Přes všechny tyto klady je ale nutné, abychom si uvědomili možnosti a přesné meze použitelnosti glukometrů.

Následující práce je zaměřena na porovnávání výsledků měření na POCT systému s výsledky analyzátoru rutinně používaném v klinické laboratoři. První kapitola teoretické části stručně charakterizuje onemocnění diabetes mellitus (jeho klasifikaci, laboratorní stanovení a léčbu). Ve druhé kapitole je vysvětlen pojem POCT a nastínění požadovaných podmínek k zavádění POCT systémů. Dále práce

pokračuje přehledem technologií, analytických principů a metod využívaných v glukometrii. Kapitola je zakončena popisem osobních a profesionálních glukometrů a systémem zajištění kvality měření.

POCT – glukometrie je nedílnou součástí péče o pacienty s DM i o pacienty v intenzivní péči, proto byla praktická část zaměřena na měření a srovnání hodnot glykémie získaných glukometry StatStrip – POCT s biochemickým analyzátozem cobas8000 u pacientů ošetřovaných na klinice KARIM. Získaná data byla statisticky zpracována v programu Statistica 11 a následně vyhodnocena.

2 SOUČASNÝ STAV

2.1 Diabetes mellitus

Diabetes mellitus je doživotní, avšak léčitelná choroba. Má různé klinické formy s rozdílnou etiologií, klinickými projevy a průběhem. Společným rysem je hyperglykémie, ale také komplexní porucha metabolismu cukrů, tuků a bílkovin [1].

Typické laboratorní známky DM představuje hyperglykémie, glykosurie, ketonémie a ketonurie. Při nedostatku inzulínu či inzulínové rezistenci se glukóza nemůže vstřebat do buňky, hromadí se v krvi a to zapříčiňuje její zvýšenou koncentraci. Glykosurie vzniká při překročení renálního prahu pro glukózu, který je kolem 10 mmol/l (tato hodnota je individuální). Proximální tubuly ledvin jsou glukózou přehlceny, nestíhají ji absorbovat a tak se dostává do definitivní moče. Ketonémie a ketonurie vznikají vlivem nedostatku glukózy, kdy je energetický defekt kompenzován spalováním mastných kyselin a tím vzniká velké množství ketolátek v krvi i v moči [9].

Mezi klasické klinické známky dekompenzovaného DM patří polyurie, noční močení, žízeň a nadměrné pití, hubnutí při normální chuti k jídlu, únavnost, malátnost, přechodné poruchy zrakové ostrosti, poruchy vědomí až kóma a dech páchnoucí po acetonu.

Dalšími projevy mohou být stenokardie, klaudikační bolesti, poruchy potence, poruchy vyprazdňování žaludku, průjmy, recidivující infekce urogenitálního ústrojí a kůže, zvýšená kazivost chrupu, předčasná parodontóza, trvalé poškození zraku při diabetické retinopatii, noční bolesti a brnění dolních končetin [2].

2.1.1 Klasifikace onemocnění

Termínem Diabetes mellitus je označována velká skupina chorob s charakteristickým znakem, hyperglykemií. V této podkapitole bude popsána současná klasifikace DM.

Diabetes mellitus 1. typu

Z celkového počtu evidovaných diabetiků je méně než 10% případů diabetes 1. typu. Onemocnění se nejčastěji vyskytuje u mladistvých a dětí, ale může se projevit kdykoliv v průběhu života. Zvláště u dětí a mladistvých bývá nástup nemoci vážnější. U starších osob (nad 30 let) bývají projevy DM mírnější, nebo chybí úplně, což může vést k záměně za DM 2. typu. Pro tento pomalu rozvíjející se typ DM u dospělých se také používá název LADA (latent autoimmune diabetes of adulthood) [3].

Příčinou vzniku je selektivní destrukce B buněk pankreatu, která je nejčastěji způsobena autoimunitním zánětem Langerhansových ostrůvků neboli inzulitidou. Tento proces vede k nedostatku inzulinu až k jeho úplnému chybění a tudíž k celoživotní závislosti na substituční léčbě. U geneticky predisponovaných jedinců je potřeba určitý spouštěcí mechanismus ke vzniku choroby, kterým může být například virová infekce, chemikálie a psychický stres. K manifestaci choroby dochází při poklesu B buněk pod 20% z původního množství [4].

Diabetes mellitus 2. typu

Do této skupiny můžeme zařadit až 90% diabetiků. Dříve byl tento typ diabetu označován jako inzulin non-dependentní diabetes mellitus (INDDM), protože v počátečních stádiích není třeba podávat inzulin. Onemocnění je vyvoláno dvěma

mechanismy: rezistencí periferních buněk na inzulin nebo relativním nedostatkem inzulinu; je možné i spojení obou mechanismů. Inzulinová rezistence může být způsobena sníženým počtem plazmatických membránových receptorů na cílových buňkách nebo postrecepční blokádou metabolismu glukózy v buňkách [5]. V počátečním stadiu onemocnění se organismus snaží s rezistencí vypořádat pomocí zvýšené produkce inzulinu. V pozdějších stádiích se B buňky Langerhansových ostrůvků vyčerpávají a produkce inzulinu klesá. Tím vzniká relativní nedostatek inzulinu a je nutné ho exogenně podávat [4].

Na vzniku choroby se podílí dědičnost, věk, a faktory životního stylu. Jedná se o tzv. civilizační chorobu. Mezi nejčastější patří obezita spolu s nadměrným příjmem energie a špatnou stravou, stres, nízká fyzická aktivita a kouření [2].

Nemocní s DM 2. typu trpí hyperglykemií a dalšími abnormalitami, které zvyšují kardiovaskulární riziko, jako jsou dyslipidémie, arteriální hypertenze, centrální obezita, endoteliální dysfunkce či vyšší pohotovost k tvorbě trombů [6].

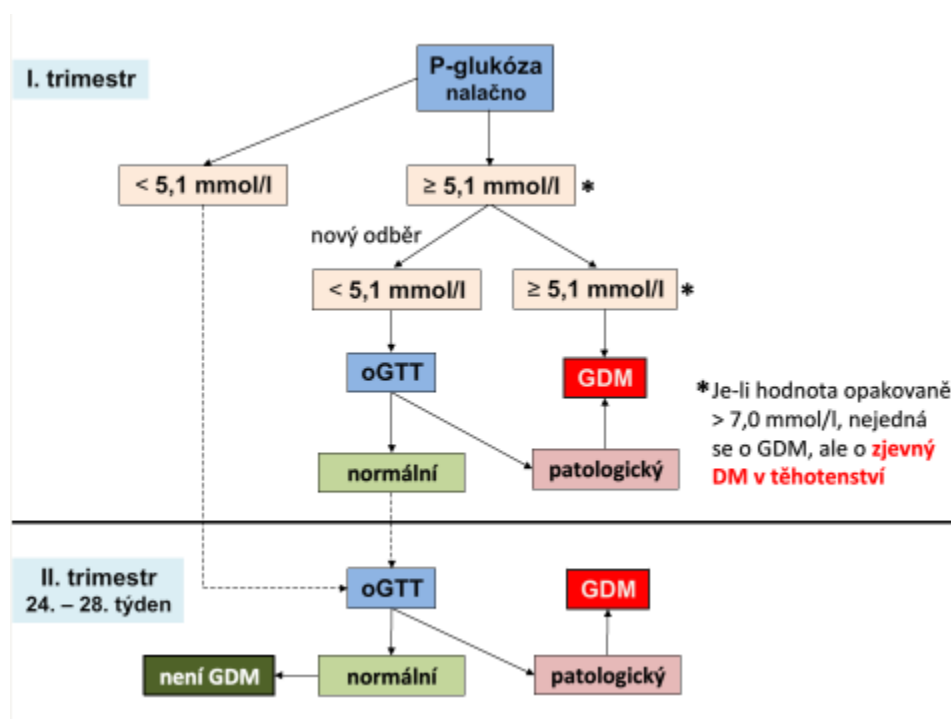
Gestační DM

V současnosti tato nemoc postihuje 5% těhotných žen. Do této nozologické jednotky jsou řazeny různě závažné poruchy glukózové tolerance v těhotenství, které jsou charakterizovány normální nebo zvýšenou sekrecí inzulinu či rostoucí rezistencí buněk na inzulin. Po porodu obvykle odeznívá, ale může se jednat i o prvozáchyt pregestačního DM. Neléčený GDM představuje pro matku i plod určitá rizika jako například předčasný porod, riziko preeklampsie, porod císařským řezem, hyperbilirubinémie, hypoglykémie novorozence, nutnost intenzivní neonatální péče nebo porod velkých většinou nezralých dětí se zvýšeným rizikem vzniku diabetu v dospělosti [7]. Mezi rizikové faktory patří

nadváha matky, věk nad 30 let, diabetes v rodině, kouření, předchozí porod plodu nad 4 kg a opakované potraty [8].

Pokud se vyskytuje diabetes již v prvním trimestru těhotenství, tedy v období organogeneze, může těžší hypoglykémie či hyperglykémie způsobit závažné vrozené poruchy zvané jako diabetické embryopatie. V dalším období těhotenství se již výše zmíněné komplikace nazývají jako diabetická fétopatie [5].

Screening GDM se v ČR provádí ve dvou stupních, kdy všechny těhotné ženy podstupují vyšetření na začátku gravidity a mezi 24. -28. týdnem gravidity. Přítomnost GDM se v prvním trimestru vyšetřuje odběrem krve na lačno, je-li hodnota nižší než 5,1 mmol/l, pokračuje se v II. Trimestru těhotenství zátěžovým testem. Pokud je glykémie vyšší, odebírá se nový vzorek. Při negativním výsledku druhého vzorku se dále provádí oGTT (orální glukózový toleranční test) a je třeba ho zopakovat ve 24. – 28. týdnu těhotenství. Opakovaná zvýšená hodnota glykémie na lačno potvrzuje gestační diabetes. Je-li hodnota opakovaně nad 7 mmol/l jedná se o zjevný diabetes mellitus v těhotenství. Na obrázku 1 je uvedeno přehledné schéma provádění screeningu GDM [9].



Obrázek 1: Schéma vyšetření GDM. [9]

Ostatní specifické typy diabetu

Existuje mnoho jiných příčin a onemocnění, které mohou vyvolat diabetes. Můžeme mezi ně zařadit akutní či chronickou pankreatitidu, pankreatomie, cystickou fibrózu, karcinom pankreatu, hemochromatózu, Cushingův syndrom i léčbu steroidními hormony, jejichž důsledkem je destrukce B buněk Langerhansových ostrůvků [4].

Vzácnou geneticky podmíněnou formou diabetu s autozomálně dominantní dědičností je Maturity onset diabetes of the young (MODY). Dělí se do dvou skupin podle typu mutace.

První skupina je tvořena MODY 1 a MODY 3-6. Příčinou vzniku těchto typů DM je defekt některého z transkripčních faktorů v jádře B buňky. To má za následek zhoršování funkce těchto buněk, které přestávají tvořit inzulin. Rozvíjí se DM

s těžkými chronickými komplikacemi. Nutností je léčba inzulinem nebo deriváty sulfonylurey.

Do druhé skupiny patří glukokinázový diabetes (MODY 2). Příčinou vzniku je zde porucha funkce glukokinázy způsobující mírnou chronickou hyperglykémii. Glukokináza plní funkci senzoru B-buněk pro glukózu, proto je sekrece inzulinu zahájena až při vyšší glykémii než je fyziologické. Nemocní obvykle nevykazují klinické příznaky a nedochází u nich ke vzniku diabetických komplikací. Ostatní monogenní formy diabetu jsou někdy řazeny mezi MODY, proto se můžeme setkat i s označením MODY 7-10 [2].

Samotnou kapitolu tvoří poruchy glukózové tolerance. Jde o stav, který tvoří přechod mezi normální tolerancí glukózy a diabetem. Vyznačuje se zvýšenou glykemií na lačno a porušenou glukózovou tolerancí po zátěži glukózou. Nemocným s touto poruchou hrozí rozvoj DM 2. Typu a zvyšuje se riziko kardiovaskulárních a onkologických onemocnění [10].

2.1.2 Komplikace DM

U osob s diagnostikovaným diabetem mellitem se mohou vyskytnout akutní či chronické komplikace ohrožující život. Pokud je DM dekompenzován, je riziko komplikací zvýšené. Je-li dobře kompenzován, toto riziko je poměrně nízké.

Akutní komplikace mají rychlý nástup a rozvíjí se během několika desítek minut až hodin. Jedná se o stavy spojené buď s hyper- nebo hypo-glykemií, které mohou vést až ke kómatu. Hyperglykemické koma je způsobeno nedostatkem inzulinu. Glukóza zůstává v extracelulární tekutině, to vede ke zvýšení osmolality plazmy, polyurii s velkou ztrátou minerálů, dehydrataci až šokovému stavu. Deficit glukózy v buňkách zapříčiňuje oxidaci mastných kyselin a tudíž tvorbu ketoláték,

kteřé vedou ke ketoacidóze, snížení pH krve a následnému bezvědomí. Léčba spočívá v podání inzulinu, doplnění tekutin a minerálů.

Hypoglykemické koma je obvykle navozeno podáním nadměřné dávky inzulinu, nedostatečným přívodem sacharidů nebo nezvyklou fyzickou zátěží, při normální dávce inzulinu. Závažnost klinických příznaků jako například pocení, třes až koma se zvyšuje s rychlostí poklesu glykémie. První pomoc u hypoglykemického komatu je přívod glukózy per os, u osob v bezvědomí se podává infuze glukózy.

Chronické komplikace mají plíživý charakter, rozvíjí se pomalu až v řádu let a v počátečních fázích jsou bezpříznakové. Proto je velmi důležitá časná diagnostika diabetu, která napomáhá zpomalovat rozvoj pozdních komplikací [4]. Společným jmenovatelem těchto chronických komplikací jsou změny na cévách. Rozlišujeme je podle typu postižených cév na mikrovaskulární – sem patří retinopatie, nefropatie a neuropatie, které jsou pro diabetes specifické a makrovaskulární - urychlená ateroskleróza, tedy nespecifické [2].

Mikroangiopatie vznikají následkem nestále euglykémie, která vede ke glykaci proteinu s dlouhým biologickým poločasem, oxidaci molekuly navázaného cukru až k ireverzibilní přeměně na tzv. AGE- látky (advanced glycation end-products). Ty reagují s dalšími bílkoviny, tvoří sítě a stimulují tvorbu zánětlivých a proliferačních cytokinů, které mění charakter a tloušťku cévní stěny. Změnou struktury cév také dochází k poruchám okysličení tkáně. Mezi nejzávažnější komplikace řadíme poruchy cév očního pozadí neboli diabetická retinopatie, které mohou vést až k úplné slepotě. Dále porušení cév glomerulů (diabetická nefropatie) končící selháním ledvin, cév vyživujících nervy (diabetická neuropatie) a v neposlední řadě cév dolních končetin s následnými gangrénami.

U makroangiopatií jsou postiženy velké tepny. Diabetik je ohrožen zvýšeným rizikem vzniku aterosklerózy a jejími komplikacemi jako například ischemickým onemocněním srdce, infarktem myokardu a cévní mozkovou příhodou [4].

2.1.3 Laboratorní vyšetření u DM, monitoring

DM lze včasné diagnostikovat pouze laboratorními testy, proto jsou screenigová vyšetření velmi důležitá zejména vzhledem strmému nárůstu počtu diabetiků v populaci. Je samozřejmé, že laboratorní vyšetření tvoří také nedílnou součást péče o pacienty. Jsou využívána ke sledování kompenzace DM/léčby DM a časnému odhalení nástupu komplikací [11].

V České republice se diagnostika a screening DM řídí podle doporučení České společnosti klinické biochemie a České diabetologické společnosti s názvem „Diabetes mellitus – laboratorní diagnostika a sledování stavu pacientů“ vydaná v roce 2016. Doporučení obsahuje teoretické podklady, analytické podmínky stanovení, diagnostická kritéria DM, rozhodovací meze či popis jednotlivých vyšetření pro diagnostiku DM.

Screening DM

K vyhledávání osob s diabetem mellitem se používá vyšetření glykémie na lačno. Vzorek žilní krve se pacientovi odebírá ráno po 8 – 12 hodinovém lačnění. Hodnoty koncentrace glukózy v krvi na lačno menší než 5,6 mmol/l jsou považovány za fyziologické, hodnoty nad 5,6 mmol/l jsou považovány za rizikové a další diagnostický postup se řídí podle schématu popsaném na obrázku 2.

Aby bylo vyšetření přesné, je třeba zajistit včasné oddělení plazmy od krevních elementů (do 30 minut), není-li to možné je nutno provést odběr do zkumavky,

která obsahuje fluorid sodný a EDTA. Fluorid sodný slouží k inhibici glykolýzy a EDTA jako antikoagulační činidlo [12].

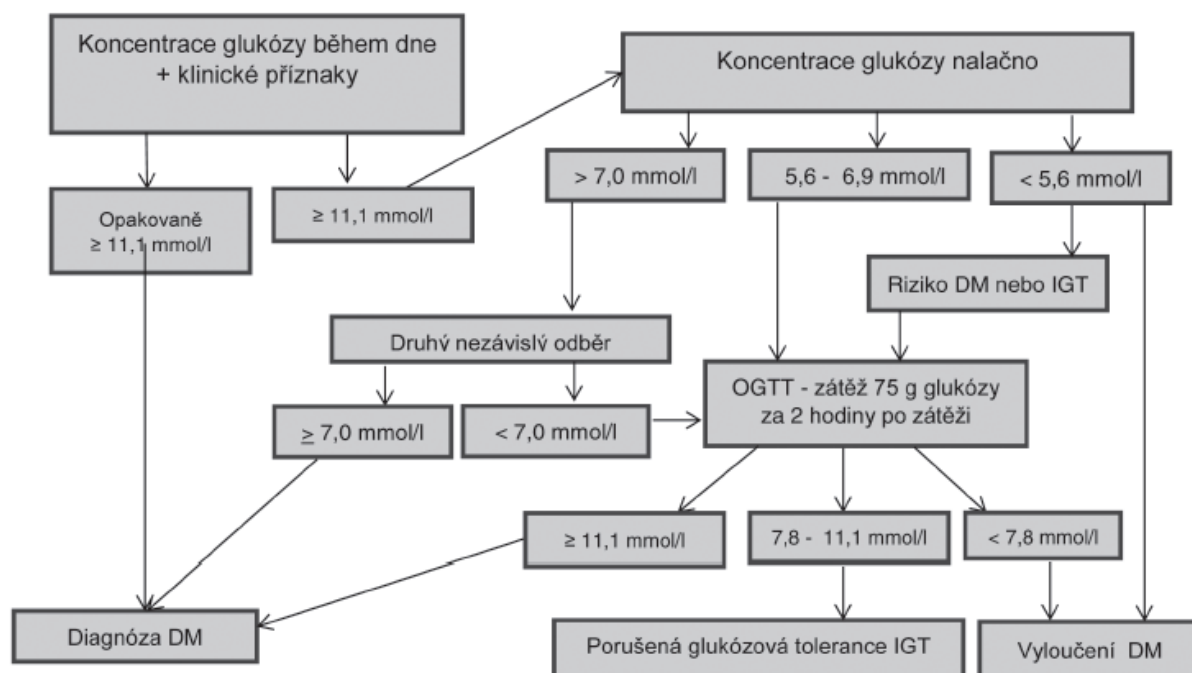
Screening diabetu se provádí u nerizikových jedinců jednou za dva roky jako součást preventivních prohlídek, u osob se zvýšeným rizikem pak jednou ročně. Za rizikové jsou považovány zejména osoby s prediabetem – stav, který předchází diabetu vyznačující se zvýšenou glykemií nad normální rozmezí, diabetem v rodinné anamnéze, kardiovaskulární příhodou v anamnéze, obezitou, arteriální hypertenzí. U jedinců se zjevnými příznaky DM je diagnostika prováděna okamžitě [6].

Diagnostika DM

Diagnóza diabetu je potvrzena, pokud platí alespoň jedna z následujících podmínek:

- je-li náhodná koncentrace glukózy v plasmě $\geq 11,1$ mmol/l s kombinací klinických příznaků;
- je-li koncentrace glukózy v plazmě na lačno $\geq 7,0$ mmol/l;
- je-li koncentrace glukózy v plasmě při orálním glukózovém tolerančním testu $\geq 11,1$ mmol/l.

Jestliže je koncentrace glukózy v plazmě na lačno větší než 7 mmol/l jen u prvního výsledku a jedinec nemá klinické příznaky diabetu, nebo je-li glykémie v rozmezí 5,6 – 6,9 mmol/l, má být proveden orální glukózový toleranční test pro potvrzení či vyloučení diabetu. K definitivnímu potvrzení diagnózy je nutné opakovat měření a potvrdit výsledek v dalších dnech [12].



Obrázek 2: Schéma diagnostiky DM. [12]

Orální glukózový toleranční test (oGTT)

oGTT slouží k posouzení glukózové tolerance při podezření na její poruchu, k diagnóze GDM nebo jako doplňující diagnostický test. Před testem má vyšetřovaná osoba alespoň 8 - 12 hodin hladovět. Samotný zátěžový test spočívá ve vypití 75 g glukózy rozpuštěné v 250 ml vody. Pro zpříjemnění chuti lze přidat citrónovou šťávu či kyselinou citrónovou. Roztok by měl být vypit během 5 minut a poté pacient zachovává klid, nejí, nepije a nekouří. K vyšetření se odebírá žilní krev v čase 0 a po 120 minutách, kdy se stanovuje koncentrace glukózy v plazmě. U těhotných žen je test modifikován přidáním jednoho odběru. Odebírají se 3 vzorky, a to

v čase 0, po 60 a 120 minutách. Hodnocení oGTT je popsáno v tabulce 1 a v tabulce 2 jsou uvedena kritéria týkající se těhotných žen [13].

Tabulka 1: Hodnocení glukózové tolerance při oGTT. [13]

Tolerance	Glykémie na lačno	Glykémie za 2 hodiny po zátěži glukózou
Normální	< 5,6 mmol/l	< 7,8 mmol/l
Porušená glukózová tolerance	5,6- 7,0 mmol/l	7,8-11,1 mmol/l
Diabetes mellitus	> 7,0 mmol/l	> 11,1 mmol/l

Tabulka 2: Hodnocení oGTT u těhotných žen. [13]

Tolerance	Glykémie na lačno	Glykémie za 1 hodinu	Glykémie za 2 hodiny po zátěži glukózou
Normální	< 5,1 mmol/l	< 10mmol/l	< 7,8 mmol/l
Diabetes mellitus	≥ 6,9 mmol/l	≥ 10mmol/l	≥ 8,5 mmol/l

Laboratorní monitorování diabetu

Po stanovení diagnózy a vhodné léčby u nemocného s diabetem mellitem, je nutné laboratorně kontrolovat jeho zdravotní stav, dodržování a úspěšnost nastavené léčby. Ke sledování kompenzace diabetu se využívá jednorázová glykémie, glykemický profil a glykovaný hemoglobin [11].

- Jednorázová glykémie na lačno

Toto vyšetření má jen omezený význam. Poskytuje informaci o aktuální koncentraci glukózy v krvi. Obvykle se vyšetření provádí z kapilární krve (nejčastěji bříška prstu) pomocí diagnostických proužků a glukometrů. Nemocní si dnes již běžně stanovují glykémii na osobních glukometrech a tak mohou provádět selfmonitoring [4].

- Glykemický profil

Je opakované měření glykémie v daných časových intervalech. Velký význam má zejména u diabetiků léčených inzulínem. Glykemický profil popisuje změny hladiny glukózy v krvi za 24 hodin. Měření glykémie jsou obvykle prováděna z kapilární krve buď POCT glukometry přímo u lůžka, nebo odběrem do speciálních kepu kdy je měření prováděno v laboratoři. Nejčastěji je využíván tzv. malý (odběry před hlavními jídly a ve 24 hodin v noci) a velký (odběry před a po hlavních jídlech a ve 2 hodiny v noci) glykemický profil. Podle zjištěných hodnot glykémie z profilu se volí a upravují jednotlivé dávky inzulínu [13].

- Glykovaný hemoglobin

Glykovaná forma hemoglobinu vzniká neenzymovou vazbou glukózy na beta-řetězec hemoglobinu A. Slouží především k posouzení dlouhodobé kompenzace diabetu. Podle doporučení české diabetologické společnosti je možné hodnoty glykovaného hemoglobinu použít pro screening poruch glukózové homeostázy ve vztahu k prediabetu. Hemoglobin je využíván, protože má dlouhý biologický poločas a glukóza proniká do erytrocytů i bez pomoci inzulínu [4]. Pro stanovení glykovaného hemoglobinu je odebírána plná krev do zkumavek

s antikoagulantem, nejčastěji EDTA nebo kapilární krev, která je rovnocenným materiálem. Stanovuje se frakce HbA_{1c}, která udává informaci o stavu glykémie za posledních 8 - 12 týdnů před vyšetřením. Referenční rozmezí HbA_{1c} zdravé populace při střední době přežívání erytrocytů je 20 – 42 mmol/mol, rozmezí u kompenzovaných diabetiků je 43 – 53 mmol/mol. Naměřené hodnoty mohou být ovlivněny například anémií, sníženou koncentrací hemoglobinu a sníženým přežíváním erytrocytů, které falešně snižují výsledky testu [12]. U diabetika 1. typu je vyšetření prováděno čtyřikrát ročně, u diabetika 2. typu dvakrát ročně [13].

Další laboratorní vyšetření u diabetika

Mezi další laboratorní vyšetření diabetiků patří stanovení C-peptidu, mikroalbuminurie a vyšetření autoprotilátek.

- Stanovení c-peptidu

Toto stanovení je prováděno pro posouzení reziduální sekrece endogenního inzulinu u diabetiků 1. typu nebo u hypoglykémie nejasné etiologie. C-peptid je součástí proinzulinu, který spojuje dva peptidické řetězce A a B. Hydrolytickým štěpením vazeb proinzulinu vzniká inzulin a peptidický řetězec – C-peptid, které lze stanovit imunochemickými metodami za pomoci specifických protilátek [4].

- Stanovení koncentrací specifických protilátek

Stanovení koncentrací některých protilátek umožňuje správné zařazení typických i atypických diabetiků do skupiny autoimunitně podmíněných chorob. Vyšetřují se protilátky proti buňkám Langerhansových ostrůvků (ICA), glutamátdekarboxyláze (anti-GAD), tyrosinfosfatáze (anti-IA2).

V klinické praxi je vyšetření protilátek indikováno nemocným s podezřením na diabetes LADA [13].

- Stanovení koncentrace albuminu v moči – tzv. mikroalbuminurie

U mikroalbuminurie se jedná o stanovení velmi nízké koncentrace albuminu v moči, které informuje o rozvoji diabetické nefropatie. Vyšetření je prováděno nejlépe v prvním ranním vzorku moči společně s kreatininem popřípadě ze sbírané moče za 24 hodin v době nočního klidu (norma: 20-199 $\mu\text{g}/\text{min}$). Výsledek je vyjadřován poměrem albumin/ kreatinin a je uváděn v mg albuminu/mmol kreatininu (norma: 2,6-29,9 mg/mmol kreatininu). Vyšetření je prováděno ve 3 vzorcích moči a za pozitivní nález je považována přítomnost mikroalbuminurie alespoň ve 2 vzorcích v průběhu 3-6 měsíců. Indikace u diabetiků je jednou ročně [11].

2.1.4 Léčba

Cílem léčby je umožnit nemocnému plnohodnotný aktivní život, který se co nejvíce blíží normálu. To spočívá v prevenci progresivního úbytku sekrece inzulínu, prevenci a léčbu dlouhodobých cévních komplikací, snížení výskytu nádorových onemocnění, snížení celkové mortality a morbidit související s vaskulárními komplikacemi diabetu [2]. Léčba hyperglykémie je součástí komplexních opatření, která zahrnují i léčbu hypertenze, obezity, dyslipidémie a dalších abnormalit [6].

DM 1. typu

Ihned při zjištění diagnózy tohoto typu diabetu je potřeba zahájit substituční farmakologickou léčbu, která napodobí normální endogenní sekreci inzulínu. Stanovení inzulínového režimu je prováděno vysoce individuálně podle charakteru diabetu, zvyklostem, věku a pracovnímu zařazení pacienta.

Jsou podávány humánní inzuliny nebo analogy inzulínu pomocí aplikátorů. Za nejvýhodnější jsou dnes považována inzulínová pera, která poskytují jednoduchou a téměř bezbolestnou aplikaci inzulínu pod kůži. Počet a velikost dávek je potřeba stanovit individuálně, aby vedly k co nejlepší kompenzaci onemocnění. Alternativním způsobem podávání inzulínu je inzulínová pumpa, která do těla kontinuálně dává přesné množství inzulínu odpovídající potřebám těla. Velký význam má i nefarmakologická léčba a to především fyzická aktivita a příjem potravy. Energetický obsah stravy se také volí individuálně. U neobězních diabetiků je možno využívat tzv. regulovanou dietu s příslušným limitem sacharidů. U diabetiků s nadváhou se doporučuje redukční dieta, která vede k poklesu hmotnosti pacienta [3].

DM 2. typu

Nefarmakologická léčba tvoří základ kompenzace diabetu 2. typu. Zahrnuje individuální stanovení dietních opatření a fyzické aktivity a je závislá na spolupráci a edukaci pacienta. Při volbě farmak se dává přednost bezpečnějším antidiabetikům s nízkým rizikem hypoglykemií (metformin, gliptiny, glifloziny, agonisté GLP-1 receptorů). Lékem první volby při monoterapii je Metformin. Pokud léčba nevede k požadované kompenzaci, je třeba zvolit kombinovanou terapii nebo i inzulín. Alternativní možností je dvojkombinace či trojkombinace PAD (perorální antidiabetika) [6].

2.2 POCT

Point-of-care testing neboli POCT je způsob vyšetření biologického materiálu v místě péče o pacienta. Podle směrnice americké NACB (National Academy of Clinical Biochemistry) je POCT definována jako *„... klinické laboratorní vyšetření konané blízko místa péče o pacienta a typicky prováděné zdravotnickými pracovníky, kteří nemají primární laboratorní vzdělání, nebo prováděné pacienty samotnými (sebekontrola). Termín POCT označuje každé vyšetření uskutečněné mimo laboratoř.“* [14]. Nejčastěji se používá termín point-of-care testing (POCT), ale můžeme se setkat i s jinými názvy jako např. near patient testing, bedside testing, off-side testing či zavedeným termínem dle normy ČSN EN ISO 22870:2006 „vyšetření u pacienta“ (VUP).

Tato zařízení jsou přizpůsobeny osobám, které nejsou primárně vzdělávány a kvalifikovány pro práci v laboratoři. Upraven bývá pracovní postup, reakční princip i celkové technické a designové řešení přístroje tak, aby pracovní postup od odběru až po vlastní používání přístroje byl co nejjednodušší.

Vyšetření v režimu POCT se zavádí tam, kde je požadavek na minimalizaci doby odezvy (TAT- turn around time) např. z důvodu akutní péče v nemocnicích, není-li dostupné dané stanovení v klinické laboratoři a výsledek by nebyl dodán v požadovaném čase, ale také pro zlepšení zdravotní péče. Doba odezvy je interval od vznesení požadavku do obdržení výsledku lékařem. Optimální TAT a rychlost dodaných výsledků může mít zásadní vliv při terapeutickém zásahu v krizových situacích [14].

Výhodami POCT jsou zkrácená doba odezvy, malý objem potřebného vzorku, jednoduchost měření, což vede ke snížení chyb v preanalytické fázi vyšetření, účinnější léčba a zásah do léčby u kritických pacientů

Nevýhody POCT jsou omezené spektrum vyšetření, zajištění analytické správnosti měření a obsluha „nelaboratorním“ personálem a v neposlední řadě také finanční náročnost vyšetření. Většinu těchto problémů však lze ošetřit zavedením postupů SLP i mimo vlastní laboratoř. Jedná se zejména o správnou a pravidelnou edukaci obsluhujícího personálu, zajištění správného a pravidelného provádění interní i externí kontroly kvality [15].

Při posuzování vhodnosti systému je třeba zhodnotit přínos v péči o pacienta, tedy upřesnit účel zavedení, druh biologického materiálu, preanalytickou fázi, druh testů, kritické meze, uvádění výsledků ve zdravotnické dokumentaci, ale také dostupnost programu interní a externí kontroly kvality. Před zavedením jednotlivých systémů POCT je nutné provést verifikaci analytických znaků metody (analytická citlivost, preciznost, měřicí rozsah a další), nebo odkaz na prokazatelná fakta od nezávislých zdrojů (např. SKUP), také srovnání výsledků laboratoře a systému POCT, které zajistí jejich kvalitu. Pro zachování důvěryhodnosti výsledků je důležité provádět průběžnou vnitřní kontrolu kvality s příslušnými doložitelnými záznamy a externí kontrolu kvality, která je povinná a měla by probíhat minimálně dvakrát ročně [14].

POCT stanovení se zavádějí zejména na jednotkách intenzivní péče, urgentním příjmu, kardiologických odděleních, operačních sálech a v ambulancích praktických lékařů. Některé přístroje používané k POCT měření se také používají k selfmonitoringu diabetiků [16].

V režimu POCT je možné stanovit také základní parametry krevního obrazu a koagulace, parametry vnitřního prostředí, elektrolyty, kardiomarkery, CRP, hCG, cholesterol, některé léky a také chemické vyšetření moče [17]. Ve své práci se věnuji nemocničnímu systému POCT pro stanovení glukózy.

2.3 Glukometrie

Stanovení koncentrace glukózy v krvi patří mezi nejběžněji požadovaná vyšetření v klinické biochemii. Glykémie se rutinně stanovuje v laboratoři na biochemických analyzátoch nebo pomocí osobních a profesionálních glukometrů. Nejčastější využití těchto glukometrů je při dlouhodobém sledování diabetu mellitu diabetology či diabetiky. Stejně také zaujímají své místo v ordinacích praktických lékařů, pediatrů a na nemocničních odděleních [18].

2.3.1 Metody stanovení glukózy

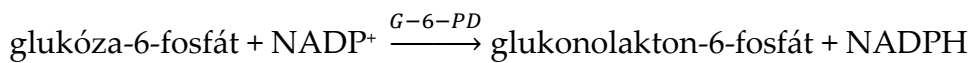
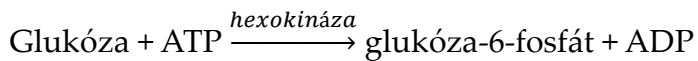
Dříve se ke stanovení glukózy používaly chemické metody, které využívaly oxidoredukční vlastnosti glukózy v alkalickém prostředí. Mezi tyto historické techniky patří oxidace glukózy kyselinou pikrovou, oxidace hexokvanoželezitanem, stanovení přes hydroxymethylfurfural, ale také do nedávna používaná metoda s o-toluidinem [19]. Jednalo se o manuální metody vyžadující poměrně velký objem vzorku, předchozí deproteinaci biologického materiálu, zahřívání reakční směsi a užívání agresivních chemikálií. Z toho důvodu nebylo možné je automatizovat, a proto se již nepoužívají [20].

Enzymové metody

Současné rutinní metody využívají enzymů: glukózadehydrogenáza (GD), dvojice hexokináza (HK) + glukóza-6-fosfátdehydrogenáza (G-6-PD) a dvojice glukózaoxidáza (GOD) + peroxidáza (POD) [20].

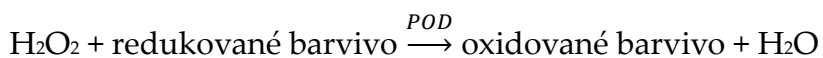
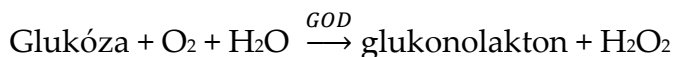
- Metoda s hexokinázou

Rutiní metodou je stanovení glukózy s hexokinázou za vzniku glukóza-6-fosfátu a následné přeměny na glukonolakton-6-fosfát za katalýzy G-6-PD. Vzniklý redukovaný nikotinamidový koenzym zvyšuje absorpenci měřitelnou při 340 nm. Donorem fosfátu je zde adenosintrifosfát (ATP), který se mění na adenosindifosfát (ADP) [21].



- Metoda s glukózaoxidázou

GOD je specifickým enzymem pro glukózu, která katalyzuje oxidační reakci glukózy na glukonolakton a peroxid vodíku. Peroxidáza katalyzuje reakci peroxidu vodíku s toluidinem nebo s častěji používaným 4aminoantipyrinem a fenolem za vzniku barviva, které se měří fotometricky [21].



- Metoda s glukózadehydrogenázou

Glukózadehydrogenázová reakce spočívá v oxidaci glukózy na kyselinu glukonovou za katalýzy GD a vzniku redukovaného nikotinamidového koenzymu, který se měří při 340 nm. GD s pyrrolochinolinchinonovým koenzymem (PQQ-GDH) katalyzuje i oxidaci dalších sacharidů (např. maltózu). Také se používají

enzymy s nikotinamidovým (NAD-GDH) a flavinadenindinukleotidovým (FAD-GDH) koenzymem, které kombinují nezávislost na kyslíku PQQ-GDH se substrátovou specifitou GOD [21].



Biosenzory

Biosenzory jsou přístroje, které převádějí přítomnost určitých látek ve vzorku na signály v podobě elektronických prvků. Tato technologie se velmi často využívá v POCT glukometrii v přenosných glukometrech nebo POCT analyzátořech pro stanovení ABR [19].

2.3.2 Principy detekce

Mezi základní principy detekce signálů při stanovování koncentrace glukózy patří fotometrie, ampérometrie a enzymové elektrody ve spojení s ampérometrií. Fotometrické stanovení se využívá v laboratořích na rutinních analyzátořech. Ampérometrie je v současnosti často využívanou metodou v glukometrech pro detekci enzymové reakce probíhající v testovacím stripu. U POCT analyzátořů acidobazické rovnováhy se obvykle setkáváme s enzymovými elektrodami s amperometrickou detekcí, což je také považováno za biosenzor.

Fotometrie

Absorpční fotometrie patří mezi optické metody. Je měřena intenzita světelného toku procházející látkou – přímá fotometrie. Při chemické reakci dochází k barevné změně reakční směsi – změně absorbance. Velikost změny intenzity zabarvení směsi je přímo úměrná koncentraci stanovované látky což vyplývá z Lambert-Beerova zákona. Lambert-Beerovu zákon je popsán rovnicí:

$$A = \varepsilon \cdot C \cdot l$$

kde A je absorbance, ε je molární absorpční koeficient, C je molární koncentrace roztoku, l je tloušťka vrstvy (kyvety). Ze zákona vyplývá, že hodnota absorbance je závislá na koncentraci, tloušťce kyvety a molárním absorpčním koeficientu [21].

Zařízení, která měří intenzitu zeslabeného viditelného nebo ultrafialového světla se nazývají fotometry a spektrofotometry. Rozdíl mezi nimi spočívá ve schopnosti spektrofotometru měřit světlo při různých vlnových délkách, zatímco fotometr měří jen při jedné vlnové délce. Přístroj je složen ze tří základních částí a těmi jsou: zdroj záření, monochromátor a detektor. Mezi monochromátorem a detektorem je prostor, do kterého se vkládá kyveta se vzorkem [19].

Fotometrické měření je založeno na oxidaci glukózy za přítomnosti specifických enzymů. Glukózaoxidázy a glukózadehydrogenázy s pyrrolochinolinchinonovým koenzymem jsou nejčastěji využívané enzymy pro glukózooxidázovou reakci při které vzniká peroxid vodíku. Tento produkt lze použít k oxidační kopulaci leukobarviva za katalýzy peroxidázou. Vzniklé zbarvení je vhodné k fotometrickému měření. Užívané chromogeny jsou například 4-aminoantipyrin s aromatickým aminem, fenol, indofenol, o-tolidin. Fotometrický princip detekce se používá hlavně v laboratoři, ale také u glukózadehydrogenázových stripů, kdy jsou vzniklé elektrony z reakce přeneseny mediátorem (např. chinonimin/fenylendiamin) na redoxní indikátor (např. kyselina fosfomolybdenová) [22].

Ampérometrie

Ampérometrie patří mezi elektroanalytické metody. Je založena na měření elektrického proudu mezi elektrodami při konstantním napětí – přímá amperometrie. Velikost prošlého proudu je přímo úměrná koncentraci stanovovaného analytu ve vzorku [19].

Dnes je již většina přenosných glukometrů založena na principu elektrochemické detekce pomocí ampérometrie (je měřen elektrický proud), méně často coulometrie (je měřen elektrický náboj). Detekce koncentrace glukózy je založena na oxidaci redukovaného koenzymu, kdy jsou elektrony přenášeny na elektrodu prostřednictvím mediátoru. Mohou být použity mediátory organické (např. chinony), anorganické ($\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-/4-}$) nebo organokovové (např. deriváty ferrocenu). Menší množství vzorku, odstranění rizika znečištění měřící jednotky a dosažení větší přesnosti výsledků jsou výhodou při elektrochemickém stanovení glukózy. Nevýhodou je nižší selektivita mediátorů a tudíž případná interference elektronů z jiných reakcí [22].

Enzymové elektrody

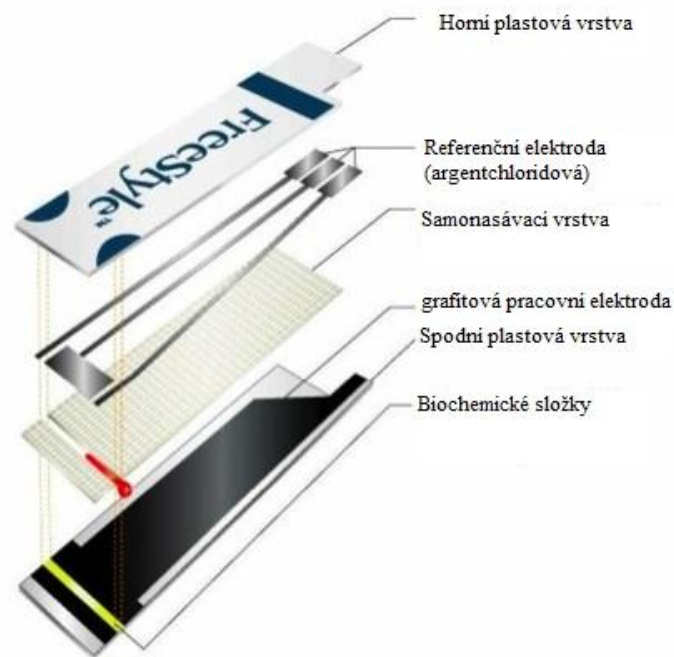
Enzymové elektrody se skládají z indikační membránové elektrody, na které je imobilizována vrstva specifického enzymu. Tato vrstva přeměňuje stanovovanou látku na produkt, který je měřen ampérometricky nebo potenciometricky (měřena změna napětí). Ke stanovení glukózy jsou často používány elektrody, které mají na své membráně fixovanou glukózaoxidázu nebo glukózadehydrogenázu. Tyto enzymy oxidují glukózu vzdušným kyslíkem za vzniku peroxidu vodíku. Pomocí Clarkovy kyslíkové elektrody je měřen úbytek kyslíku, pomocí platinové elektrody je měřen přírůstek peroxidu vodíku amperometricky [19].

Testovací stripy

Přenosné glukometry využívají jednorázové detekční proužky založené na fotometrickém (glukometry první generace) či v současné době běžnějším elektrochemickém principu (glukometry druhé generace) [23].

Moderní strip je tvořen plastovou podložkou mající alespoň dvě elektrody, elektrochemickou komůrkou o malém objemu a chemickými složkami (stabilizovaným enzymem, oxidačně redukčním mediátorem a povrchově aktivními látkami). Komerční stripy mohou mít řadu funkcí jako například integrovaná korekce na hematokrit, automatická detekce naplnění či plnění proužku více kapkami krve během určitého časového úseku [19].

Konstrukce stripů je různá, liší se počtem a typem elektrod. Mohou být použity dvě identické elektrody (biampérometrické měření), elektrodu pracovní a referenční nebo tříelektrodové zapojení s pomocnou elektrodou. Pracovní elektroda se nejčastěji vyrábí sítotiskem z uhlíkového inkoustu nebo vakuovým napařováním zlata a paladia. Nejpoužívanější referenční elektrodou je argentchloridová či inertní vodič (Obrázek 3) [22].



Obrázek 3: Konstrukce testovacího proužku firmy Abbott. [24]

2.3.3 Přenosné glukometry

Přenosné glukometry lze rozdělit, podle potřeby uživatele, na osobní a profesionální glukometry. Osobní glukometry jsou určeny zejména k selfmonitoringu diabetiků. Profesionální systémy pak pro využití v lékařských zařízeních například v nemocnicích, ambulancích a ordinacích [18].

Uživatelé osobních přenosných glukometrů upřednostňují jednoduché intuitivní ovládání, krátkou dobu analýzy, co nejjednodušší údržbu, co nejmenší množství krve (od desetin po několik mikrolitrů) a možnost použití kapilární krve nebo odběr z alternativních míst.

Profesionální POCT glukometry musí splňovat vedle výše popsaných parametrů také další podmínky jako jednoznačnou identifikaci vzorku a obsluhy, možnost připojení k nemocničnímu informačnímu systému (NIS), zajištění validity

a požadované kvality výsledků [19]. Hardwarová výbava přístroje spočívá v zabudované čtečce čárových kódů, koncové stanici pro dobíjení baterie glukometru a oboustrannou komunikaci s LIS/NIS. Softwarová výbava umožňuje identifikaci vzorku a operátora s nastavitelností úrovně přístupových práv, uzamčení přístroje, přidávání komentáře k výsledku měření aj.

Glukometry by neměly být používány u pacientů s výraznou hyperlipidémií, kyslíkovou terapií, poruchami periferního oběhu (hypotenze, šok, dehydratace), novorozenců a dialyzovaných pacientů [22].

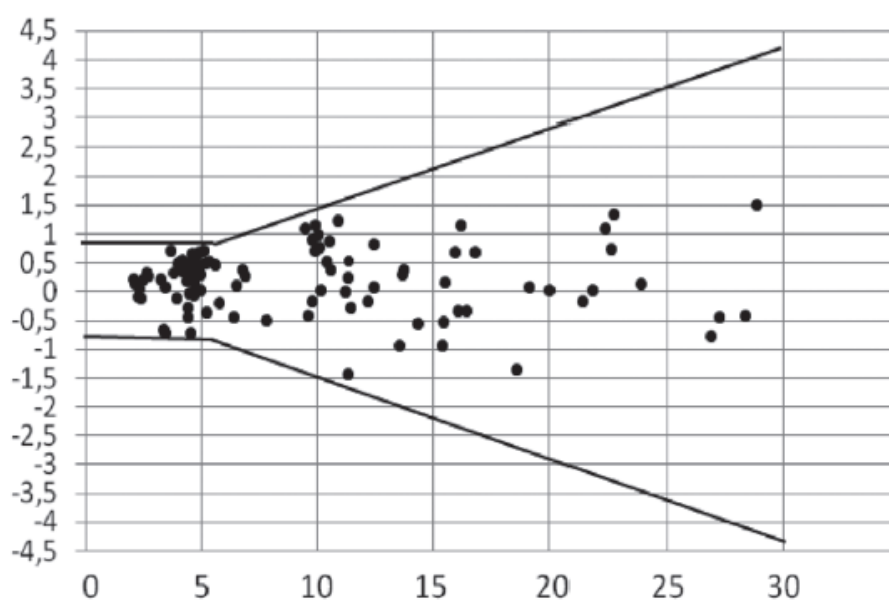
Pro správné zacházení s glukometrem a zároveň zajištění kvality výsledků je třeba řádné edukace zdravotnického personálu zajištěné například povinnými vstupními a následnými školeními a kurzy, ale i pacientů diabetiků používajících glukometr k selfmonitoringu. Součástí edukačních programů jsou audiovizuální pomůcky, praktická školení, workshopy, internetový e-learning a další materiály pro laiky i odborníky [18].

2.3.4 Zajištění kvality výsledků

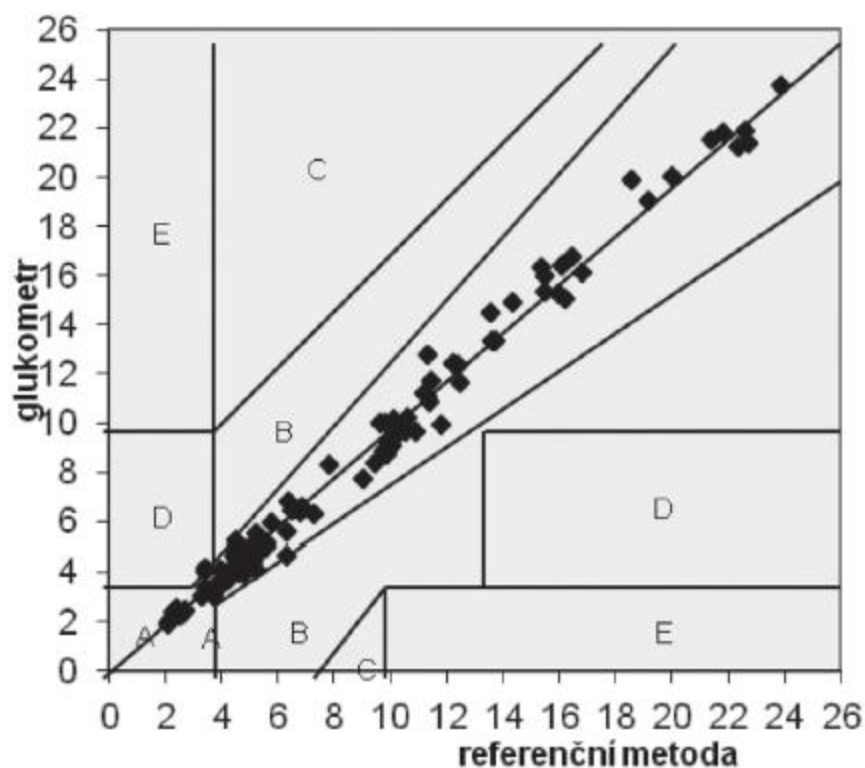
Kvalita a správnost výsledků měření u glukometrů a stejně také u všech systémů POCT je základem vyšetření. Všechny požadavky na testování POCT systémů pro stanovení glykémie jsou zahrnuty v normě ISO 15197:2013. Tato norma shrnuje podmínky vhodnosti pro použití systémů v režimu POCT, jako jsou ukazatelé analytické kvality (preciznost, pravdivost, chyba), interferující látky, bezpečnost výrobku, stabilitu reagentů a celého systému v různých prostředích [25].

Před uvedením glukometru na trh musí být výrobcem stanovena celková chyba měření. Což znamená vyhodnocení rozdílu mezi výsledky na POCT systému

a referenční hexokinázovou metodou [26]. Aby bylo možné použít systém v nemocniční praxi, musí splňovat následující požadavky: Celková chyba u 95 % výsledků pro koncentrace glukózy < 5,55 mmol/l se nesmí lišit o více než $\pm 0,83$ mmol/l a u koncentrací > 5,55 mmol/l se nesmí lišit o více než $\pm 15\%$ (Obrázek 4). Zároveň musí být 99 % výsledků v zónách A a B chybové mřížky (Obrázek 5) [18]. Dalším kritériem je preciznost měření testovaného glukometru s danou hodnotou variačního koeficientu $CV \leq 5\%$ [26]. Pokud POCT analyzátor splní podmínky normy 15197, získá označení CE [27].



Obrázek 4: Odchylka výsledku získaného glukometrem od hodnoty naměřené referenční hodnotou. [18]



Obrázek 5: Rozložení výsledků v chybové mřížce. [18]

Další hodnocení glukometrů je prováděno s ohledem na normu EN ISO 15197 a doporučením NACB „Summary guidelines and recommendation for laboratory analysis in the diagnosis and management of diabetes mellitus“ a doporučení ČSKB JEP a ČDS JEP „Diabetes mellitus – laboratorní diagnostika a sledování stavu pacientů“ z prosince 2015. Testování je realizováno referenční laboratoří pro klinickou biochemii, kde jsou přijímány celé systémy glukometr - měřící proužek a jsou srovnány výsledky měřené glukometrem s hexokinázovou metodou ve venózní krvi. Žadatel dodá dva glukometry a minimálně 400 proužků ze dvou šarží. Je testována mezilehlá preciznost, opakovatelnost a pravdivost výsledků. Tato zkouška slouží k posouzení použitelnosti glukometru v podmínkách českých klinických laboratoří.

V běžném nemocničním provozu musí být dle doporučení ČSKB prováděna pravidelná IKK a EHK. Externí hodnocení kvality v České republice je zajišťováno nezávislým subjektem SEKK s.r.o. Pardubice. Pro stanovení glukózy v režimu POCT v nemocnicích a ambulancích je firmou SEKK nabízen kontrolní cyklus dvakrát ročně. Účastník programu EHK dostává dva vzorky o neznámé koncentraci glukózy. Jeho úkolem je stanovit tuto koncentraci a poslat výsledky měření i s přesným popisem použitého systému/glukometru zpět poskytovateli [18]. Po zpracování dodaných hodnot pošle organizace zajišťující EHK výsledkový list a komplexní statistiku [28].

Osobní glukometry by měly podléhat kontrole minimálně jednou ročně, tato kontrola by měla být prováděna ambulantním lékařem ve spolupráci s laboratoří. Srovnání se provádí nalačno, je proveden odběr materiálu pro klinickou laboratoř a stanovení glykémie personálním glukometrem. Naměřené koncentrace glukózy na glukometru jsou následně porovnány s výsledky z klinických laboratoří. [29].

3 CÍL PRÁCE

Cílem praktické části bakalářské práce je porovnat výsledky měření glukózy na POCT systému s referenční hexokinázovou metodou prováděnou na rutinním biochemickém analyzátoru cobas®8000. Tímto porovnáním ověřit srovnatelnost obou systémů.

4 METODIKA

V praktické části bakalářské práce byly využity vzorky pacientů ošetřovaných na vybraných odděleních Kliniky anesteziologie, resuscitace a intenzivní medicíny Ústřední vojenské nemocnice – Vojenské fakultní nemocnice Praha. Referenční systém pro prováděná měření glykémie byl rutinní biochemický analyzátor cobas® 8000 firmy Roche s využitím reagentie GLUC3 Roche (hexokinázová reakce). Srovnávaný POCT systém je tvořen glukometry síťovými StatStrip Connectivity a nesíťovými StatStrip Xpress Meter firmy Nova Biomedical. Oba typy glukometrů používají totožný strip s technologií MultiWell™.

Statistickou studií byly srovnávány párové vzorky pacientů. Set-point: cílová hodnota základní proměnné, tzv. „referenční vzorek“ pro stanovení glukózy v séru, byl využit odběr indikovaný lékařem. Porovnávanou proměnnou byl zvolen vzorek měřený v plné krvi. Pro měření hodnot glykémie POCT systémem byly využity odběry pro stanovení parametrů ABR (indikované lékařem) nebo přejeté výsledky z POCT systému nemocnice.

4.1 Přístrojové vybavení

4.1.1 Cobas® 8000

Tento modulární analytický systém je určený pro střední až větší laboratoře a je možné ho složit z jednotlivých modulů (Obrázek 6). Sestavu lze přizpůsobit potřebám laboratoře. Analyzátor, na kterém byla provedena měření pro tuto práci se skládá z dvou biochemických modulů c702, c502 a dvou imunochemických modulů e602.

Biochemické moduly c502 a c702 pracují na stejném principu. Modul c702 je velkokapacitní (reagenční cartridge o větším objemu) a c502 je určen pro méně frekventované testy.

Cobas c702 je vysokovýkonný modul, který pracuje na principu fotometrie. S využitím dvou reagenčních kruhů - zdvojeného pipetování reagencií a vzorků lze dosáhnout výkonu až 2000 testů za hodinu. Dva vzorkové a čtyři reagenční pipetory mají detekci hladiny, sraženin, nárazový detektor a svoje mycí stanice.

Kyvety v reakčním kruhu s minimálním objemem reakční směsi 100 μ l jsou uloženy ve vodní lázni a jejich obsah je míchán bezkontaktně prostřednictvím ultrazvuku. Tímto způsobem je minimalizována kontaminace obsahu kyvet. Jako detektor je použit fotometr s diodovým polem s 12 vlnovými délkami, ve kterém je možno používat mono nebo bichromatické měření.

Modul e602 obsahuje dvě měřící kyvety, reagenční kruh, jednorázové špičky s detektorem sraženiny, pěny a hladiny a předmycí stanici. Tento modul využívá elektrochemiluminiscenční technologii pro stanovení více než 80 parametrů. Mezi ně patří kardiální markery, tumormarkery, osteomarkery, parametry štítné žlázy, markery infekčních chorob a fertlilní hormony [33].

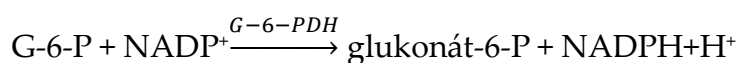
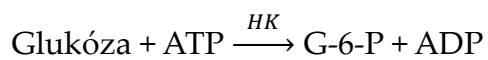


Obrázek 6: Série modulárních analyzátorů cobas 8000. [33]

Stanovení glukózy v séru/plazmě hexokinázovou metodou

Měření bylo prováděno reagensii GLUC3 firmy Roche pracující s principem enzymatické reakce glukózy s hexokinázou. Hexokinázová metoda slouží jako referenční metoda pro stanovení glukózy.

Enzym hexokináza fosforyluje glukózu za pomoci ATP (adenosintrifosfát) na glukóza-6-fosfát (G-6-P) a ADP (adenosindifosfát). Glukóza-6-fosfátdehydrogenáza (G-6-PDH) katalyzuje oxidaci glukóza-6-fosfát v přítomnosti NADP (nikotinamidadenindinukleotidfosfát) na glukonát-6-fosfát a redukovaný koenzym NADPH. Rychlost vzniku NADPH v průběhu reakce je přímo úměrná koncentraci glukózy. Nárůst absorbance při 340 nm je přímo úměrný koncentraci glukózy ve vzorku [34].



4.1.2 POCT systém StatStrip

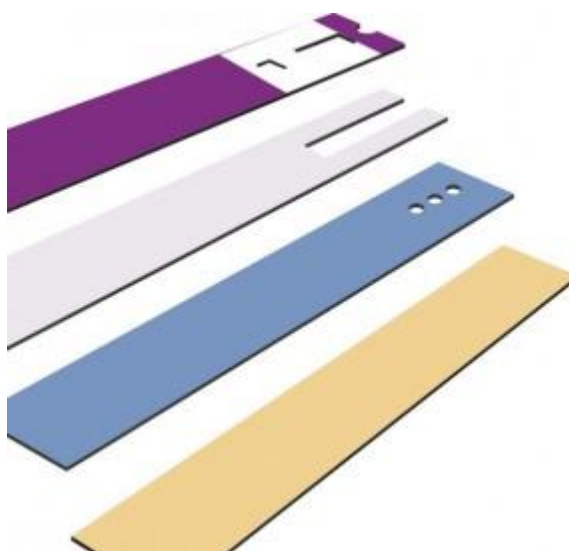
Testovaný POCT systém je tvořen se síťovými glukometry Statstrip Connectivity (Obrázek 7) a nesíťovými glukometry Statstrip Xpress Meter. Síťový glukometr je lehký, relativně malý a přenosný. Jeho součástí je čtečka čárových kódů, nabíjecí baterie, hardware a software, který lze propojit s počítačem pomocí dokovací stanice. Paměť přístroje je schopna uložit 1000 změřených výsledků a 200 výsledků kontrol kvality. Nesíťové přístroje jsou malé, kompaktní a připomínají personální glukometry. Oba přístroje pracují s totožným typem stripu, v rámci ÚVN většinou i se stejnou šarží. Tento strip umožňuje stanovit koncentraci glukózy, ale také zároveň měřit hodnotu hematokritu, která může ovlivnit správnost výsledku. Udávaný povolený rozsah hematokritu pro stanovení správného výsledku glykémie je od 0,20 do 0,65 [30]. Byly publikovány studie uvádějící vynikající přesnost výsledků s referenční metodou při kritických hodnotách hypoglykémie a hyperglykémie v rozmezí 0,5 – 33,3 mmol/l [31].



Obrázek 7: Glukometry StatStrip od firmy Nova Biomedical. [31]

Použitá technologie je založena na čtyřvrstevném testovacím stripu se čtyřmi měrnými mikrokomůrkami (Obrázek 8), která zajišťuje ochranu proti přeplnění nebo nedostatku krve v stripu, urychluje měření a eliminuje vliv některých interferujících látek v plné krvi (kyselina askorbová, kyselina močová, maltóza, galaktóza, xylóza a kyslík). Elektrochemická monitorace objemu vzorku v komůrkách zabezpečuje vydání výsledku jen v případě, že jsou naplněny všechny čtyři měrné komůrky. K poskytnutí výsledku je potřeba minimální množství krve - 1,2 μ l [31].

Mezi akceptovatelné vzorky patří kapilární, arteriální a venózní krev v kombinaci s heparinem sodným, litným či amonným jako antikoagulačním činidlem. Lze analyzovat i neonatologické vzorky [32].



Obrázek 8: Konstrukce diagnostického proužku užívaný firmou Nova Biomedical. [31]

Princip měření je založen na reakci glukózy s glukózaoxidázou ve směsi s dalšími enzymy, které spolu specificky reagují, a tím je zamezeno vlivu ostatních interferujících sacharidů na výslednou hodnotu glykémie. Interferujícími sacharidy mohou být maltóza, galaktóza, xylóza nebo i další látky jako například kyslík.

Koncentrace glukózy je detekována pomocí uvolněných elektronů z oxidační reakce redukováného koenzymu. Elektrony jsou přenášeny mediátorem na elektrody s konstantním potenciálem, kde vzniká elektrický proud. Velikost prošlého proudu je přímo úměrná koncentraci glukózy. Z použité technologie vyplývá, že použitý glukometr se řadí mezi biosenzory [32].

Výrobce glukometru Nova Biomedical neuvádí přesnější informace o principu reakce, konstrukci a mechanismu užívaných stripů z důvodů probíhajícího patentového řízení. Proto je zde uvedena pouze obecná rovnice principu probíhající reakce.

$$\text{Glukóza} + \text{Enzymy (oxidovaná forma)} \longrightarrow \text{Kyselina glukonová} + \text{Enzymy (redukováná forma)}$$
$$\text{Enzymy (red.)} + \text{Hexakvanoželezitan} \longrightarrow \text{Enzymy (ox.)} + \text{Hexakvanoželeznatan}$$
$$\text{Hexakvanoželeznatan} \xrightarrow{e^-} \text{Hexakvanoželezitan}$$

Obrázek 9: Princip enzymové reakce s glukózaoxidázou. [32]

4.2 Odběr vzorků

V praktické části předkládané práce byla měřena koncentrace glukózy v séru získané buď z centrálního vstupu (pacienti hospitalizovaní KARIM ICU) a venepunkcí (pacienti ošetřovaní na EMERY) hexokinázovou metodou a v plné krvi odebrané pro stanovení parametrů ABR (pacienti KARIM ICU) a v kapilární krvi (pacienti EMERY – tyto výsledky byly přežaty z dokumentace). Následující části popisují obecné zásady provádění odběru krve pro biochemická vyšetření.

4.2.1 Odběr žilní krve

Plánovaný odběr krve pro základní biochemické vyšetření je prováděn obvykle ráno po deseti až dvanáctihodinovém lačnění při běžném příjmu tekutin. Den před odběrem v odpoledních či večerních hodinách je vhodné vynechat tučná jídla a alkohol. Ráno v den odběru je vhodné vypít alespoň 250 ml vody nebo neslazeného čaje, vynechat kávu a kouření.

Vlastní odběr krve je prováděn vsedě nebo vleže z loketní žíly. Po zajištění správné polohy paže je dezinfikováno místo vpichu. Krev je nutno odebírat do řádně označených vakuových zkumavek, které zajistí jejich přiměřené naplnění a popřípadě vhodný poměr krve s protisrážlivým činidlem. Ihned po odběru je nutné šetrné promíchání krve opakovaným převrácením zkumavky. Po vyjmutí jehly je třeba místo vpichu krýt např. tampónem a alespoň dvě minuty tisknout jako prevenci vzniku hematomu. Do žádanky je nutno zaznamenat datum i čas odběru a jméno osoby, která odběr prováděla. Označené vzorky jsou následně předány do laboratoře [35].

4.2.2 Odběr z centrálního žilního vstupu pro stanovení parametrů ABR

Odběr provádí kvalifikovaný pracovník na lůžkovém oddělení. Místem odběru je centrální žilní katetr či kanyla. Při těchto odběrech je nutné nechat odtéct krev kontaminovanou případnými infuzními roztoky. Po odčerpání dostatečného množství kontaminované krve je odběr prováděn do originálních stříkaček s balancovaným heparinem. Vzduchové bubliny vzniklé při odběru je nutné ze stříkačky odstranit, stříkačku uzavřít zátkou nebo speciálním uzávěrem a pomalým nakláněním krev promíchat. Nedostatečné promíchání krve nebo vzduchové bubliny ve stříkačce mohou znehodnotit výsledek měření. Odebranou

krev je potřeba co nejrychleji transportovat do laboratoře, nebo provést měření na POCT analyzátoru [35].

4.2.3 Odběr kapilární krve

Kapilární krev je většinou používána pro stanovení parametrů v režimu POCT. Odběr provádí kvalifikovaný zdravotnický pracovník po řádné dezinfekci místa vpichu. Obvyklým místem odběru je dostatečně prokrvené bříško prstu případně ušní lalůček. Vlastní vpich je prováděn speciálním jednorázovým prostředkem s definovanou šířkou a hloubkou vpichu což zajišťuje vznik dostatečné kapky krve, ze které je analýza prováděna. První kapka, která vznikne po vpichu, nemá být použita. Pro vyšetření je použita až druhá kapka krve, která se vytvoří pokud možno zcela spontánně. Není vhodné okolí vpichu jakkoli tisknout - hrozí riziko kontaminace krve tkáňovým mokem [35].

4.2.4 Vzorky použité k měření

V předchozích kapitolách byl popsán standardní postup odběru krve. Pro účely této bakalářské práce bylo použito pro měření části vzorků nestandardního materiálu. Jednalo se o odběr z CŽK u pacientů vyžadující intenzivní péči pro stanovení parametrů ABR. Tento postup byl zvolen s ohledem na minimalizaci zátěže vážně nemocných jedinců nadbytečným a nepříjemným úkonem.

Stanovení glykémie v režimu POCT na EMERY bylo prováděno přímo z odběru kapilární krve zdravotnickým personálem. Na oddělení ICU byla využita heparinizovaná plná krev pro stanovení parametrů ABR ihned po provedení lékařem požadované analýzy. Tato stanovení jsem prováděla sama do 15 minut po odběru přímo na oddělení síťovým glukometrem.

Pro stanovení sérové glykémie byl využit biologický materiál zbývající po lékařem indikovaném vyšetření. V případě, že bylo požadováno vyšetření glykémie, byl výsledek převzat z dokumentace pacienta. V opačném případě bylo stanovení hladiny glukózy provedeno neprodleně po analýzách požadovaných lékařem, do 60 minut po přijetí vzorku do laboratoře.

Odběry pro oba typy stanovení byly prováděny s minimálním časovým odstupem.

4.3 Měření

V následující kapitole je popsán vlastní postup měření, která bylo provedeno na analytickém systému cobas 8000 a síťovém glukometru StatStrip Connectivity.

4.3.1 Rutinní glukometrie v laboratoři

Krev na biochemické vyšetření je po odběru oddělením zaslána do laboratoře. Příprava vzorku byla provedena dle zvyklostí laboratoře v souladu s postupy správné laboratorní praxe: po příjmu vzorků do LIS (načtení transportního kódu) je prováděna centrifugace při 2000g po dobu 10 minut. Následně jsou vzorky předány k přednostnímu provedení požadovaných analýz. V případě, že požadavky z oddělení neobsahovaly stanovení hladiny glukózy, byla v co nejkratší době provedena dodatečná analýza pro potřeby této práce. Bylo odebráno přiměřené množství séra do sekundární zkumavky označené čárovým kódem a tyto vzorky pak byly standardně vloženy na stojánku do analyzátoru. Po analýze byla vytištěna primární dokumentace. U vzorků, které měly v požadavcích stanovení glykémie, byla její hodnota převzata z LIS. Analýzy byly provedeny po splnění požadavků SLP – platná kalibrace, vyhovující výsledky IKK. Všechna

měření sérové glykémie pro potřeby této práce byla provedena do 90 minut po odběru vzorku.

4.3.2 Glukometrie v režimu POCT

Měření probíhalo přímo na oddělení ICU v prostorách určených pro provádění POCT analýz. Po převzetí dále nepotřebných vzorku od sestry bylo provedeno měření hladiny glukózy standardním způsobem na glukometru StatStrip Connectivity (Obrázek 10). Před analýzou bylo zadáno identifikační číslo pověřené osoby pro umožnění analýzy, naskenována šarže použitých stripů a identifikační číslo vzorku pacienta. Vlastní stanovení glykémie spočívalo v zasunutí diagnostického proužku do glukometru a přiložení stripu ke kapce krve. Výsledek měření byl k dispozici do šesti sekund a následně zapsán do protokolu měření [32].

1 From Home screen press Login.

2 Enter or scan Operator ID and press Accept.

3 From Patient Test screen press Accept.

4 Enter or scan Strip lot no. and press Accept.

5 Enter or scan Patient ID and press Accept. Patient ID must be wrist, case number or name and DOB are mandatory.

6 Insert Test Strip into Meter.

7 Wash patient's hand thoroughly and massage finger to stimulate blood flow.

8 Use safety lancet to puncture finger. Squeeze finger to form blood drop.

9 Touch strip to blood drop. Result will appear in 6 seconds.

10 Warning!
The test strip must fill completely upon touching the blood droplet. If the test strip does not fill completely, do not touch the blood droplet a second time. Discard the test strip and repeat the test with a new test strip.

11 To accept result, press Accept. To reject result, press Reject.

12 To review other results, Press Review from Patient Test screen. Follow steps 1 and 2 first.

Obrázek 10: Návod k použití glukometru. [32]

5 VÝSLEDKY

Soubor dat pro statistické vyhodnocení byl získán v Ústřední vojenské nemocnici – Vojenské fakultní nemocnici Praha. Jedná se o párové měření glykémie u pacientů z oddělení ICU a EMERY (klinika KARIM). Každému pacientu na oddělení byla změřena koncentrace glukózy z plné nebo kapilární krve a v tentýž čas byl proveden odběr srážlivé krve pro rutinní vyšetření v klinické laboratoři. Hodnoty glykémie byly následně spárovány a použity pro statické zpracování.

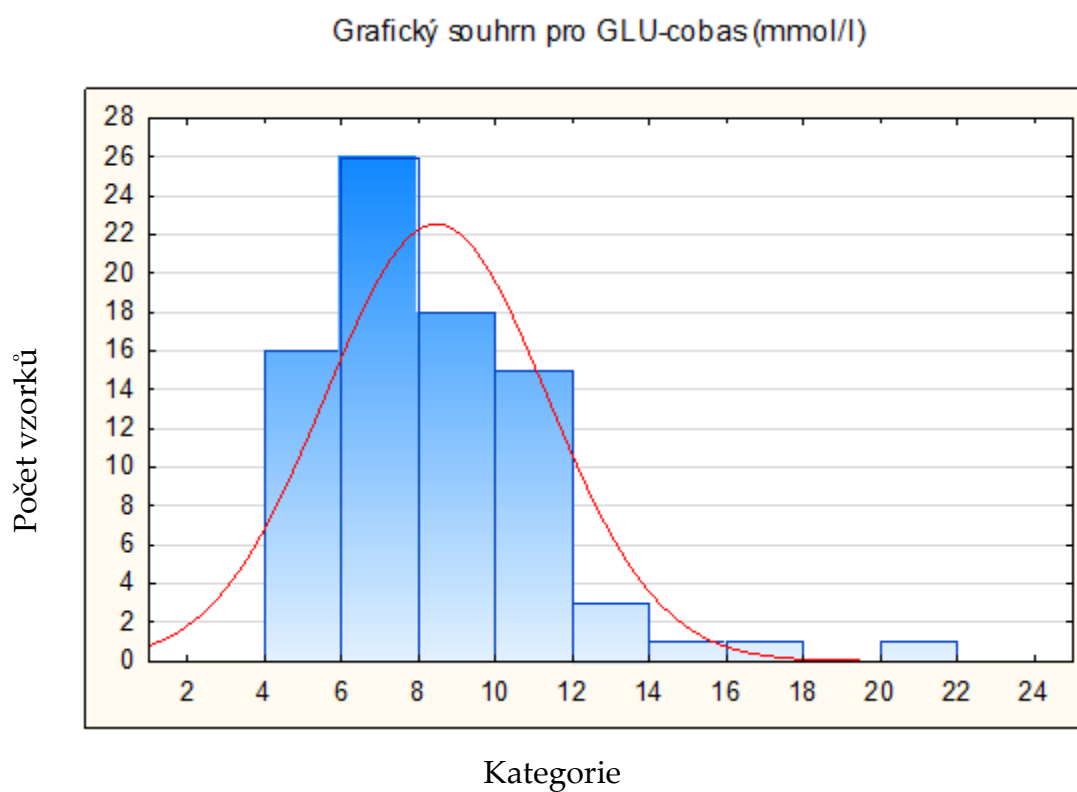
Soubor obsahuje 81 vzorků od 58 mužů a 23 žen různé věkové kategorie. Na oddělení ICU bylo měřeno 61 pacientů vyžadujících intenzivní péči a na EMERY 20 pacientů s různě závažnými diagnózami. Rozdílné diagnózy pacientů nám umožnily získat široké rozmezí hodnot glykémie, které prověřily kvalitu měření analytického systému.

5.1 Statistické zpracování dat

Naměřená data byla zpracována s využitím statistického programu a porovnána. Pro vytvoření grafů a výpočtů byl použit statistický software Statistica 11 firmy StatSoft (verze 11, Dell, USA), který je určen k biostatistickým výpočtům klinických lékařských studií. Normalita rozdělení získaných hodnot byla ověřena s využitím Shapiro-Wilkova testu, který se používá pro výběry menších rozsahů. Dále byla zpracována deskriptivní statistika pro obě skupiny měření a provedeno srovnání s využitím t-testu. Údaje byly následně graficky znázorněny pomocí boxplotu.

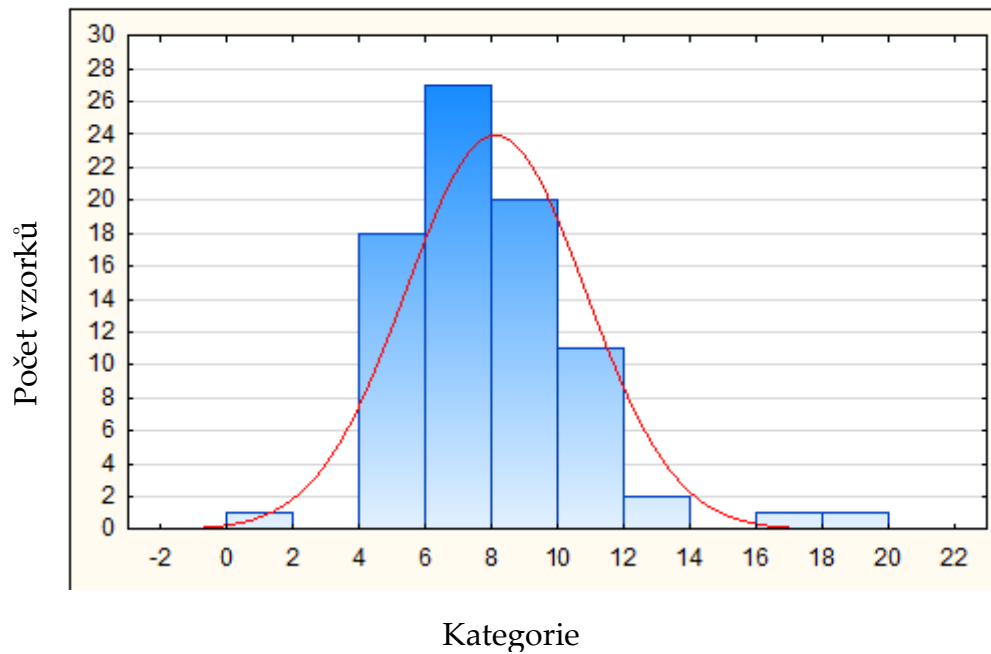
Grafy

Z shapiro-wilkova testu při hladině významnosti 0,05 lze usoudit, že oba soubory hodnot naměřených koncentrací glukózy vykazují normální rozložení dat (Obrázek 11 a 12).



Obrázek 11: Histogram dat pro analyzátor cobas.

Grafický souhrn pro GLU-StatStrip (mmol/l)



Obrázek 12: Histogram dat pro glukometr StatStrip.

Výsledky deskriptivní statistiky pro analytické systémy cobas a glukometr StatStrip jsou shrnuty v tabulce 3. Již z těchto dat je viditelná shoda obou skupin měření.

Tabulka 3: Deskriptivní statistika

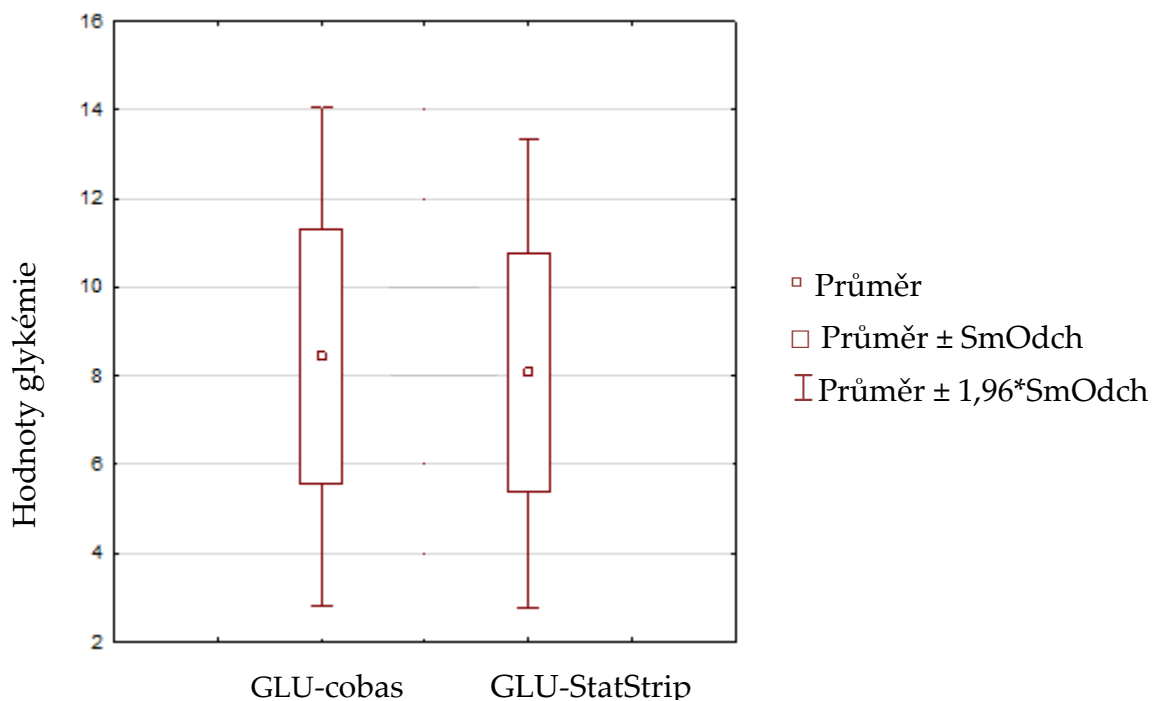
	GLU-cobas	GLU-StatStrip
N platných	81,00	81,00
Průměr	8,43	8,07
Interval spolehlivosti (-95%)	7,80	7,47
Interval spolehlivosti (95%)	9,07	8,66
Medián	7,80	7,70
Minimum	4,09	1,80
Maximum	21,25	19,90
Dolní kvartil	6,29	6,10
Horní kvartil	10,19	9,70
Kvantil (5,00)	5,32	4,90
Kvantil (95,00)	13,10	11,50
Rozptyl	8,22	7,27
Směrodatná odchylka	2,87	2,70
Spolehlivost Sm.odch (-95%)	2,48	2,34
Spolehlivost Sm.odch (+95%)	3,39	3,19
Variační koeficient	34,00	33,43

5.2 Porovnání měření na systémech

Naměřené výsledky vydané POCT systémem StatStrip byly porovnány s výsledky referenčního měření na biochemickém analyzátoru cobas 8000.

Ke srovnání byl použit studentův t-test s hladinou významnosti $p < 0,05$ při dvoustranném intervalu spolehlivosti 95%. Získaná data byla hodnocena pomocí vytvořeného grafu a výsledků t-testu.

Výsledný boxplot (Obrázek 13) porovnává výsledky naměřené oběma analytickými systémy, kterými byly stanoveny hodnoty glykémie u párových vzorků. Na ose x jsou uvedeny oba srovnávané systémy a na ose y hodnoty glykémie v mmol/l. Průměr všech měřených vzorků u analyzátoru cobas 8000 je $8,43 \pm 2,84$ mmol/l a u POCT systému StatStrip $8,07 \pm 2,70$ mmol/l. Je tedy zřejmé, že průměry naměřených hodnot jsou srovnatelné.



Obrázek 13: Krabicový graf porovnávající výsledky analytických systémů.

Tabulka 4: Porovnání analyzátoru cobas 8000 a glukometru StatStrip.

T-test	GLU-cobas (mmol/l) vs. GLU-StatStrip (mmol/l)
Průměr (skup. 1)	8,43
Průměr (skup. 2)	8,07
Hodnota t	0,84
sv	160,00
p	0,40
Poč.plat. (skup. 1)	81,00
Poč.plat. (skup. 2)	81,00
Smodch. (skup. 1)	2,87
Smodch. (skup. 2)	2,70
F-poměr (rozptyly)	1,13
p (Rozptyly)	0,59

Z údajů v tabulce 4 a hodnoty $p = 0,40$ je zřejmé, že rozdíly mezi oběma soubory jsou bez signifikantního rozdílu na hladině významnosti 0,05.

6 DISKUZE

Monitorování koncentrace glukózy tvoří nedílnou součást péče o pacienty s DM v ambulantní i v nemocniční péči. Glykémie je stanovována u pacientů v nemocnicích na lůžkových odděleních, jednotkách intenzivní péče či operačních sálech, a to nejen u diabetiků. U pacientů po operaci či v kritickém stavu by mělo být cílem udržet hodnoty glykémie na normální hladině tzv. Tight Glycemic Control [30]. V nemocnicích je toto zajišťováno pomocí měření prováděných přímo u lůžka pacienta za použití POCT systémů pro glukometrii. Využití POCT výrazně zkracuje TAT, což umožňuje okamžitou reakci zdravotnického personálu při změně stavu pacienta. To přispívá k zlepšení kvality péče o pacienta.

Vlivem rostoucí incidence výskytu Diabetu mellitu se zvyšuje i potřeba stanovovat glykémii v ambulancích lékařů - diabetologů, ale především v domácím prostředí diabetiků tak zvaný self-monitoring. K tomu jsou určeny osobní glukometry, které jsou významné při zajištění dlouhodobé kompenzace diabetu a pro snížení rizika rozvoje diabetických komplikací.

Aby bylo možné využít výše zmíněné výhody, musí POCT systém dosahovat určitého stupně kvality měření glykémie. Nedostatečné zajištění kvality měření a měřících zařízení, může přinášet velké riziko pro zdraví jedinců. Hodnocením kvality měření glukometrů se zabývá celá řada studií, které testují systém glukometr – proužek i srovnatelnost výsledků s referenční metodou.

V našem případě byl systém StatStrip srovnáván s hexokinázovou metodou rutinně využívanou v laboratoři. Normalita dat, umožnila využít t-test k porovnání naměřených hodnot. Statistické zpracování ukázalo značnou shodu výsledků testovaného systému s hexokinázovou metodou. Výsledný závěr práce je

ve shodě se studií „Testování glukometrů a jejich porovnání“ autorů Havelkové, Duškové, Jabora a dalších publikované v bulletinu FONS v roce 2008.

Potvrzení shody glukometrů s referenční metodou je velmi důležité pro zajištění kvality vydávaných výsledků. V klinické praxi je obvykle používána hexokinázová metoda kontrolovaná certifikovanými materiály. Klinické laboratoře rutinně provádějí kalibraci kalibrátory s návazností na referenční metodu (ID-MS), systematické hodnocení výsledků IKK, pravidelně se účastní systému EKK a provádějí verifikaci metody s využitím certifikovaných referenčních materiálů se známou metrologickou návazností.

Správnost měření nemocničních POCT systémů je zajišťována prováděním IKK a povinnou pravidelnou účastí v systému EHK, které je prováděno dvakrát ročně. Také by měla být ověřována každá nová šarže stripů vstupujících do systému POCT glukometrie.

Kvalita měření by měla být pravidelně ověřována i u osobních glukometrů. Je doporučováno provádět minimálně jedenkrát ročně a porovnání naměřené koncentrace glukózy s hodnotou získanou měřením v klinické laboratoři. Což by mělo být zajištěno ošetřujícím lékařem. Kontrolu s laboratoří je vhodné provádět i při změně šarží stripů nebo při podezření na chybné měření personálního glukometru. Srovnání se provádí odběrem na lačno (vyloučení rozdílů mezi kapilární a venózní krví); ve stejném čase je provedeno stanovení glykémie glukometrem a odběr pro stanovení koncentrace glukózy v žilní krvi provedené spolupracující laboratoří. Glukometry využívané v ambulancích lékařů by měly být také zapojeny do EHK, minimálně dvakrát ročně.

Základem přesného a spolehlivého výsledku je nejen funkčnost a kvalita POCT přístrojů, ale i úzká spolupráce laboratoře s klinickými pracovníky. Je nezbytné zajištění správné používání POCT prostředků, pravidelnou kontrolu kvality měření a v neposlední řadě správný odběr biologického materiálu. Toto by mělo být zajištěno správnou a pravidelnou edukací osob obsluhujících zařízení (zdravotnického personálu i diabetiků u self-monitoringu).

I přes dodržení všech výše zmíněných zásad, je třeba vždy mít na paměti omezení využitelnosti POCT systémů v nemocniční péči. V souladu s doporučením „Správné zavádění a používání prostředků POCT“ (ČSKB ČLS JEP, duben 2011) a „DM – laboratorní diagnostika a sledování stavu pacientů (ČSKB ČLS JEP a ČDS ČLS JEP, únor 2012) by mělo být pravidlem ověření všech hodnot glykémie mimo kritické rozmezí (3,0 - 15,0 mmol/l) v biochemické laboratoři. Využití měření glykémie v režimu POCT pro diagnostiku není přípustné.

7 ZÁVĚR

Práce shrnuje základní poznatky o onemocnění Diabetes mellitus, analytické aspekty glukometrie a podává obecný přehled o nejčastěji využívaných technologiích pro stanovení koncentrace glukózy v biologickém materiálu.

Praktická část se zabývala vlastním provedením měření hodnoty glykémie na systému POCT Statstrip (Nova Biomedical Corporation, USA) a porovnáním s výsledky měřenými referenční hexokinázovou metodou na analyzátoru cobas® 8000 (modul c702 – Roche Diagnostics, USA) v rutinním provozu klinické laboratoře.

Cílem práce bylo ověřit srovnatelnost výsledků POCT systému StatStrip s metodou rutinně používanou v laboratoři a následné statické zpracování souboru naměřených párových hodnot glykemií.

Z výsledků této práce vyplývá velmi dobrá shoda systému StatStrip s referenční hexokinázovou metodou GLUC3 prováděnou na analyzátoru cobas® 8000. Byla prokázána statisticky významná shoda dat z obou systémů $p = 0,40$ v intervalu spolehlivosti 95%.

Lze tedy konstatovat, že POCT systém StatStrip pro měření glykémie z kapilární krve je vhodný pro použití v nemocniční péči. Je nutné si ovšem uvědomit meze použitelnosti POCT systému – důležitost správného provedení odběru, důsledné provádění IKK a nezbytná účast v EHK což má být zajištěno úzkou spoluprací klinických a laboratorních pracovníků.

8 SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK

μl	mikrolitr (jednotka objemu)
ABR	acidobazická rovnováha
ADP	adenosindifosfát
ATP	adenosintrifosfát
CRP	C reaktivní protein
DM	diabetes mellitus
EDTA	kyselina ethylendiaminotetraoctová
EHK	externí hodnocení kvality
EMERY	emergency, urgentní příjem
FAD-GDH	glukózadehydrogenáza s flavinadenindinukleotidovým koenzymem
G-6-P	glukóza-6-fosfát
G-6-PDH	glukóza-6-fosfátdehydrogenáza
GD	glukózadehydrogenáza
GDM	gestační diabetes mellitus

GOD	glukózaoxidáza
HbA _{1c}	hemoglobin A _{1c}
hCG	lidský choriový gonadotropin
HK	hexokináza
ICU	intensive care unit, jednotka intenzivní péče
ID-MS	hmotnostní spektrometrie s izotopovým zředováním
IKK	interní kontrola kvality
INDDM	inzulin non-dependentní diabetes mellitus
LADA	latent autoimmune diabetes of adulthood
LIS	laboratorní informační systém
mmol/l	milimol na litr (jednotka objemu)
MODY	maturity onset diabetes of the young
NACB	National academy of clinical biochemistry
NAD-GDH	glukózadehydrogenáza s nikotinamidovým kofaktorem
NADP, NADPH	nikotinamidadeninukleotidfosfát
NIS	nemocniční informační systém

oGTT	orální glukózový toleranční test
PAD	perorální antidiabetika
POCT	point-of-care testing
POD	peroxidáza
PQQ-GDH	glukózadehydrogenáza s pyrrolchinolinchinonovým koenzymem
SEKK	system externí kontroly kvality
TAT	turn around time, doba odezvy
VUP	vyšetření u pacienta

9 SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

1. SVAČINA, Štěpán. Diabetologie. Vyd. 1. Praha: Triton, 2010. Lékařské repetitorium. ISBN 978-80-7387-348-6.
2. PELIKÁNOVÁ, Terezie a Vladimír BARTOŠ. Praktická diabetologie. 5., aktualiz. vyd. Praha: Maxdorf, c2011. Jessenius. ISBN 978-80-7345-244-5.
3. Doporučený postup péče o diabetes mellitus 1. typu. Česká diabetologická společnost, 2011. [cit. 2017-04-18]. Dostupné také z: http://www.diab.cz/dokumenty/standard_dm1_12.pdf
4. RACEK, Jaroslav. Diabetes mellitus. E-klinická biochemie [online]. s. 324-344 [cit. 2017-04-18]. Dostupné z: <https://elius.lfp.cuni.cz/ebio/KlinickaBiochemieCZ.pdf>
5. RACEK, Jaroslav. c2006. Klinická biochemie. 2., přeprac. vyd. Praha: Galén, 329 s. ISBN 8072623249
6. Doporučený postup péče o diabetes mellitus 2. typu. Česká diabetologická společnost, 2016. [cit. 2017-04-18]. Dostupné také z: http://www.diab.cz/dokumenty/doporuceni_DM_2015-2.pdf
7. Doporučený postup péče o diabetes mellitus v těhotenství. Česká diabetologická společnost, 2014. [cit. 2017-04-18]. Dostupné také z: http://www.diab.cz/dokumenty/DP_DM_tehotenstvi_CDS_2014.pdf
8. ADAMÍKOVÁ, Alena. Gestační diabetes - těhotenská cukrovka. Krajská nemocnice T. Bati, [online]. Zlín: 2012 [cit. 2017-03-27]. Dostupné z: <http://www.kntb.cz/gestacni-diabetes---tehotenska-cukrovka>
9. RACEK Jaroslav.: Nová kritéria pro screening gestačního diabetu (GDM). CEVA [online] 20. říjen 2015, poslední aktualizace 20. říjen 2015 [cit. 2017-03-27]. Dostupný z WWW: <http://www.ceva-edu.cz/mod/data/view.php?d=13&rid=381>. ISSN 1803-8999

10. Doporučený postup péče o nemocné s prediabetem. Česká diabetologická společnost a Česká internistická společnost, 2012. [cit. 2017-04-18]. Dostupné také z: http://www.diab.cz/dokumenty/Prediabetes_2012.pdf
11. RACEK, Jaroslav. Diabetes mellitus [online]. Plzeň, 2015 [cit. 2017-04-18]. Dostupné z: <https://connect.lf1.cuni.cz/Default.aspx?folder=7558992>
12. FRIEDECKÝ, B. Diabetes mellitus – laboratorní diagnostika a sledování stavu pacientů. Společné doporučení České diabetologické společnosti a ČSKB ČLS JEP, 2015 [cit. 2017-04-18]. Klin. Biochem. Metab., 24 (45), 2016, No. 1, p. 39–50. Dostupné z: <http://www.cskb.cz/res/file/KBM-pdf/2016/2016-1/KBM-1-2016-doporuceni-DM-39.pdf>
13. ZIMA, Tomáš. Laboratorní diagnostika. 2., dopl. a přeprac. vyd. Praha: Galén, c2007. ISBN 978-80-7262-372-3.
14. CZEDMA, B. FRIEDECKÝ, M. KAJABOVÁ. 2011. Doporučení ČSKB: Správné zavádění a používání prostředků POCT. CZEDMA, 2011(5). [cit. 2017-04-18]. Dostupné z: http://www.cskb.cz/res/file/POCT_dop.pdf
15. FUTRELL, Kim. Laboratory management of POCT. Advance for administrators of the laboratory [online]. 2016, (11), 30-33 [cit. 2017-04-18]. Dostupné z: http://advanceweb.com/SharedResources/EBook/2016/October/AL103116/pubData/source/AL103116_eMag.pdf
16. FRIEDECKÝ, Bedřich. POCT – nejdynamičtější se rozvíjející úsek laboratorní medicíny?. Klin. Biochem. Metab., 17 (38), 2009, No. 3, p. 141–145.
17. ZIMA, Tomáš. ČSKB ČLS JEP a SVL ČLS JEP. Doporučené diagnostické a terapeutické postupy pro všeobecné praktické lékaře: LABORATORNÍ METODY. 2007. [cit. 2017-04-11]. Dostupné také z: <http://www.cskb.cz/cskb.php?pg=doporuceni--biochemicke-metody#2.16>.

18. FRIEDECKÝ, Bedřich. ČSKB ČLS JEP. Doporučení k použití, výběru a kontrole glukometrů. 2014. Klin. Biochem. Metab., 22 (43), 2014, No. 3, p. 155–164. [cit. 2017-04-11]. Dostupné také z: http://www.cskb.cz/res/file/KBM-pdf/2014/2014-3/KBM_3_2014_Dop-glukometry-116.pdf
19. CHROMÝ, Vratislav. 2011. Bioanalytika: analytické metody v klinické chemii a laboratorní medicíně. 2., přeprac. a dopl. vyd. Brno: Masarykova univerzita, Přírodovědecká fakulta, Ústav chemie, 331 s. ISBN 9788090453937
20. SCHNEIDERKA, Petr. 2012a. Glukometrie I. In: Ústav Patologické fyziologie: Univerzita Palackého v Olomouci [online]. [cit. 2017-04-10]. Dostupné z: http://pfyziolfup.upol.cz/castwiki2/wp-content/uploads/2012/04/Glukom_I_Text.pdf.
21. DOLEŽALOVÁ, Věra. Principy biochemických vyšetřovacích metod. 2. opr. vyd. Brno: Institut pro další vzdělávání pracovníků ve zdravotnictví, 1995. ISBN 80-7013-206-X.
22. SCHNEIDERKA, Petr. 2012b. Glukometrie II - POCT. In: Ústav Patologické fyziologie [online]. [cit. 2017-04-10]. Dostupné z: http://pfyziolfup.upol.cz/castwiki2/wp-content/uploads/2012/04/Glukom_II_Text.pdf.
23. BERNARD, Vladan. 2011. Glukometr a jeho příbuzní. In: Masarykova univerzita: Lékařská fakulta [online]. [cit. 2017-04-11]. Dostupné z: http://www.med.muni.cz/biofyz/files/gerontologie/glukometr_prezentace.pdf.
24. Electrochemical Glucometers. c2016. In: Univerzity of Virginia [online]. [cit. 2017-05-11]. Dostupné z: <http://faculty.virginia.edu/analyticalchemistry/Electrochem%20Gluc/Electrochem.html>.

25. FRIEDECKÝ, Bedřich. ČSKB ČLS JEP. Úroveň analytické kvality glukometrů. 2014. Klin. Biochem. Metab., 22 (43), 2014, No. 2, p. 74–80. [cit. 2017-04-11]. Dostupné také z: http://www.cskb.cz/res/file/KBM-pdf/2014/14-2/KBM_2_2014_Friedecky-74.pdf
26. FRIEDECKÝ, Bedřich. ČSKB ČLS JEP. Kvalita, kontrola a validace glukometrů a CGM systémů. Přehled stavu. 2016. Klin. Biochem. Metab., 24 (45), 2016, No. 2, p. 75–81. Dostupné také z: <http://www.cskb.cz/res/file/KBM-pdf/2016/2016-2/KBM-2-2016-Friedecky-75.pdf>
27. SPRINGER, Drahomíra. Seznámení s novým vydáním normy ISO 15197:2013 [online]. ÚLBLD VFN a 1. LF UK Praha [cit. 2017-04-18]. Dostupné z: <http://docplayer.cz/4023056-Seznameni-s-novym-vydanim-normy-iso-15197-2013-drahomira-springer-ulbld-vfn-a-1-lf-uk-praha.html>
28. SPRINGER, Drahomíra. Jak vybrat vhodný glukometr a jak si ověřit jeho správnou funkci? [online]. ÚLBLD VFN a 1. LF UK Praha [cit. 2017-04-18]. Dostupné z: <http://docplayer.cz/8270734-Jak-vybrat-vhodny-glukometr-a-jak-si-overit-jeho-spravnou-funkci-drahomira-springer-referencni-laborator-pri-ulbld-vfn-a-1.html>
29. SPRINGER, Drahomíra. Specifika prostředků pro sebekontrolu glykémie u diabetiků. Ostrava, 2016 [cit. 2017-04-18].
30. HAVELKOVÁ, E. Testování glukometrů a jejich porovnání. FONS. 2008, 18, 36-45. Dostupné také z: <http://www.bulletinfons.cz/12008/kvalita6.pdf>
31. StatStrip glucose. Tecom a.s. [online]. [cit. 2017-03-27]. Dostupné z: <https://www.tecom-as.com/stat-strip-glucose-cz/>
32. SKUP. Nova StatStrip Glucose and β -Ketone Hospital Meter System: A report from an evaluation of glucose measurements organised by SKUP. Švédsko,

2013. Dostupné také z:
http://www.skup.dk/files/5/skup_2013_85_nova_statstrip.pdf
33. Cobas ® 8000 modulární analyzátor. Praha, c2010. Dostupné také z:
http://www.roche-diagnostics.cz/content/dam/diagnostics_czechrepublic/cs_CZ/documents/prодукty/PD/cobas_8000/cobas8000_techicka_data_i.pdf
34. GLUC3: Glukóza HK 3. generace. Praha, c2016. Dostupné také z:
<http://objednavky.roche-diagnostics.cz/objednavky/info/05168791190pc.pdf>
35. POSPÍŠILOVÁ, Lenka. ÚVN-VOJENSKÁ FAKULTNÍ NEMOCNICE PRAHA. *Laboratorní příručka: Klinické laboratoře Oddělení klinické biochemie a Oddělení hematologie a krevní transfuze*. 2016. Dostupné také z:
https://www.uvn.cz/index.php?searchword=laboratorn%C3%AD%20p%C5%99%C3%ADru%C4%8Dka&searchphrase=all&Itemid=5&option=com_search&lang=cs

10 SEZNAM POUŽITÝCH OBRÁZKŮ

Obrázek 1: Schéma vyšetření GDM.....	15
Obrázek 2: Schéma diagnostiky DM.	20
Obrázek 3: Konstrukce testovacího proužku firmy Abbott.	34
Obrázek 4: Odchylka výsledku získaného glukometrem od hodnoty naměřené referenční hodnotou.....	36
Obrázek 5: Rozložení výsledků v chybové mřížce.....	37
Obrázek 6: Série modulárních analyzátorů cobas 8000.	42
Obrázek 7: Glukometr StatStrip od firmy Nova Biomedical.	43
Obrázek 8: Konstrukce diagnostického proužku užívaný firmou Nova Biomedical.	44
Obrázek 9: Princip enzymové reakce s glukózaoxidázou.....	45
Obrázek 10: Návod k použití glukometru.....	50
Obrázek 11: Histogram dat pro analyzátor cobas.	52
Obrázek 12: Histogram dat pro glukometr StatStrip.....	53
Obrázek 13: Krabicový graf porovnávající výsledky analytických systémů.....	55

11 SEZNAMU POUŽITÝCH TABULEK

Tabulka 1: Hodnocení glukózové tolerance při oGTT.	21
Tabulka 2: Hodnocení oGTT u těhotných žen.	21
Tabulka 3: Deskriptivní statistika	54
Tabulka 4: Porovnání analyzátoru cobas 8000 a glukometru StatStrip.....	56