

**JIHOČESKÁ UNIVERZITA V ČESKÝCH BUDĚJOVICÍCH
ZDRAVOTNĚ SOCIÁLNÍ FAKULTA**

DIAGNOSTIKA DIABETU MELLITU U DĚTÍ A MLADISTVÝCH

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

Autor: Turková Aneta

Vedoucí práce: Prof. MUDr. Miloš Velemínský, CSc., dr.h.c.

7. 5. 2009

ABSTRAKT

Diagnosis of diabetes mellitus in children and young adults

Diabetes mellitus is a disease resulting in disordered metabolism of carbohydrates. They include very serious metabolic diseases but still one third of patients remain undiagnosed. Diabetes is one of the most common chronic diseases in children. It can affect children of any age. Diabetes mellitus type 1 occurs more often in children. Diabetes mellitus type 2 was once considered to be only a disease of adults, but today there is an alarming increase of incidence in children and young adults as a result of improper lifestyle and severe obesity.

In the theoretical part of my thesis I deal with the issue of hyperglycaemia and I present laboratory methods used to diagnose diabetes mellitus and long-term or short-term compensation of this disease. In detail I focus on the importance of using own glucose meter for self-monitoring. Objective of the thesis and its implementation are set in the practical part.

The objective of my thesis was to verify the quality of blood glucose meter Optium Omega manufactured by Abbot using routine method of Clinical Chemistry Laboratory in strict accordance with its intended use within POCT. To verify functionality of blood glucose meter Optium Omega I used recommended statistical procedures. I examined repeatability and reproducibility of measurements (values should reach a maximum of 5 %), deviation (values should also reach a maximum of 5 %) and recovery of the method. I examined also comparability of methods (for concentrations > 3.3 mmol/l it should not exceed 15 % and for values $\leq 3,3$ mmol/l it should not exceed 0.8 mmol/l) and the working range of method. In Bland-Altman plot 2, where the difference is expressed as a percentage, there are 4 measurements which exceed the maximum tolerable deviation for values above 3.3 mmol/l. In Bland-Altman plot 1, where the difference is expressed in mmol/l, no measurement exceeds the maximum tolerable deviation for values below 3.3 mmol/l. The reproducibility value for the concentration of glucose less than or equal to 4.2 mmol/l was determined 0.09 mmol/l, for glucose concentrations higher than 4.2 mmol/l it was set 2.4%.

Repeatability values were determined from my measurement for the first sample with glucose concentration below the lower limit of the reference range of 0.08 mmol/l, for the second sample which is inside the reference range of 2.4 mmol/l, the third sample above the upper limit of reference range has repeatability value of 1.9%. Deviation achieved in the first sample was 0.0 %, in the second sample 0.0 %, in the third sample 0.08 %. Recovery rate for the first and second sample was 100 %, for the third sample it was 99.2 %.

Based on my own research, for blood glucose meter Optimum Omega I would recommend a range for reliable measurement in interval 2.8 – 24.0 mmol/l. Using values of repeatability, reproducibility and deviation determined by me, blood glucose meter Optimum Omega meets the requirements for analytical quality as recommended by Laboratory diagnosis and monitoring of diabetes mellitus.

Prohlášení :

Prohlašuji, že jsem bakalářskou práci na téma Diagnostika diabetu mellitu u dětí a mladistvých vypracovala samostatně a použila jen pramenů, které cituji a uvádím v přiložené bibliografii.

Prohlašuji, že v souladu s § 47b zákona č. 111/1998 Sb. v platném znění souhlasím se zveřejněním své bakalářské práce, a to v nezkrácené podobě/v úpravě vzniklé vypuštěním vyznačených částí archivovaných Zdravotně sociální fakultou elektronickou cestou ve veřejně přístupné části databáze STAG provozované Jihočeskou univerzitou v Českých Budějovicích na jejich internetových stránkách.

V Českých Budějovicích 7. 5. 2009

.....
Aneta Turková

Poděkování:

Na tomto místě bych chtěla poděkovat panu Prof. MUDr. Miloši Velemínskému, CSc., dr.h.c. za vedení mé bakalářské práce. Rovněž bych ráda poděkovala paní Ing. Marii Kašparové a panu Ing. Vítu Bendovi z Laboratoře klinické chemie Nemocnice České Budějovice, a.s. za velkorysou pomoc, trpělivost a čas, který mi věnovali na vypracování praktické části. Rovněž mé díky patří rodině za trpělivost a podporu.

OBSAH

	ÚVOD.....	9
1.	SOUČASNÝ STAV.....	11
1.1	Hyperglykémie.....	11
1.1.1	Vznik hyperglykémie.....	11
1.1.2	Klinické příznaky hyperglykémie.....	12
1.2	Laboratorní diagnostika diabetu mellitu.....	12
1.2.1	Měření koncentrace glukózy v plazmě nalačno.....	13
1.2.2	Glukózový toleranční test.....	14
1.3	Stanovení autoprotilátek.....	15
1.3.1	Protilátky proti Langerhansovým ostrůvkům.....	16
1.3.2	Protilátky proti glutamátdekarboxyláze.....	16
1.3.3	Protilátky anti - IA-2.....	16
1.3.4	Protilátky proti inzulínu.....	17
1.3.5	Diagnostika autoprotilátek.....	17
1.4	Dlouhodobá kompenzace diabetu mellitu.....	17
1.4.1	Glykace krevních bílkovin.....	17
1.4.2	Stanovení glykovaných proteinů.....	18
1.4.2.1	Glykovaný protein.....	18
1.4.2.2	Glykovaný hemoglobin.....	19
1.5	Krátkodobá kompenzace diabetu mellitu.....	20
1.5.1	Glykemický profil.....	20
1.5.2	Glykemický index.....	20
1.5.3	Glykosurie.....	21
1.5.4	Glukóza v krvi stanovovaná glukometry.....	21

1.5.4.1	Přístroj Optium Omega.....	23
2.	CÍL PRÁCE A HYPOTÉZY.....	26
2.1	Cíl práce.....	26
2.2	Předpokládaná hypotéza.....	26
3.	METODIKA.....	27
3.1	Principy stanovení glukózy glukometrem.....	27
3.1.1	Měření glukózy glukometrem Optium Omega.....	28
3.2	Princip stanovení glukózy analyzátozem SensoStar G.....	28
3.2.1	Příprava vzorku pro přístroj SensoStar G.....	28
3.3	Porovnávání glukometru v POCT.....	29
3.3.1	Porovnávání POCT – glukometru Optium Omega s rutinní metodou v Laboratoři klinické chemie Nemocnice České Budějovice, a.s.....	30
3.3.1.1	Opakovatelnost a reprodukovatelnost měření.....	30
3.3.1.2	Vychýlení a výtěžnost metody.....	32
3.3.1.3	Porovnatelnost metod a pracovní rozsah	34
4.	VÝSLEDKY.....	36
4.1	Výsledky opakovatelnosti a reprodukovatelnosti měření.....	36
4.2	Výsledky vychýlení a výtěžnosti metody.....	37
4.3	Výsledky porovnatelnosti metod a pracovního rozsahu.....	38
5.	DISKUZE.....	42
6.	ZÁVĚR.....	46

7.	SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY.....	48
8.	KLÍČOVÁ SLOVA.....	51
9.	PŘÍLOHY.....	52
9.1	Seznam příloh.....	52

ÚVOD

„Existuje tisíce nemocí, ale jen jedno zdraví“

Karl Ludwig Börne

Diabetes mellitus, česky cukrovka, zastarale úplavice cukrová je souhrnný název pro skupinu chronických onemocnění, které se projevují poruchou metabolismu sacharidů. Jsou rozlišovány dva základní typy: diabetes mellitus I. typu a diabetes mellitus II. typu, vznikající důsledkem absolutního nebo relativního nedostatku inzulínu. Obě dvě nemoci mají podobné příznaky, ale odlišné příčiny vzniku. U diabetu I. typu jsou do značné míry zničeny buňky slinivky břišní, které produkují hormon inzulín, vlastním imunitním systémem. Proto je řazen mezi autoimunitní choroby, které probíhají bez příznaků po dobu několika měsíců až let. Diabetes II. typu bývá někdy označován jako diabetes mellitus nezávislý na inzulínu. V tomto případě může být příčinou poruchy metabolismu sacharidů, rezistence na inzulín anebo relativní nedostatek inzulínu. Rezistence je způsobena snížením počtu membránových receptorů na inzulín nebo postreceptorovou blokádu. U dětí se objevuje až po 11. roce věku, kdy se pod vlivem hormonálních změn zvyšuje inzulínová rezistence. Většina případů probíhá asymptomaticky. K specifickým typům diabetu se řadí diabetes doprovázející genetická, endokrinní a zánětlivá onemocnění.

Diabetes mellitus patří mezi velmi závažná metabolická onemocnění, přesto však třetina nemocných zůstává nediodagnostikována. Dnes trpí diabetem přes 250 milionů lidí na celém světě a předpokládá se, že do roku 2025 onemocní 380 milionů lidí. Každý rok způsobuje toto onemocnění asi 5 % úmrtí na celém světě.

Diabetes je jedním z nejčastějších chronických onemocnění u dětí. Může postihnout děti jakéhokoliv věku. U dětí a mladých se častěji objevuje diabetes mellitus I. typu. Odhaduje se, že tímto onemocněním je každoročně postiženo 70 000 dětí ve věku do 15 let (tedy téměř 200 dětí denně). Podle odhadů dnes na celém světě žije kolem 440 000 dětí s diabetem prvního typu. Diabetes II. typu byl kdysi považován pouze za nemoc dospělých, dnes však jeho výskyt alarmujícím tempem narůstá u dětí a adolescentů jako důsledek nesprávného životního stylu a silné obezity.

Po delší úvaze a prostudování dostupné odborné literatury zabývající se problematikou diagnostiky diabetu mellitu u dětí a mladistvých jsem vypracovala tuto absolventskou práci. V teoretické části své práce jsem se zaměřila na problematiku hyperglykémie a pokusila se uvést přehled laboratorních diagnostických metod diabetu mellitu u dětí a mladistvých a zároveň zdůraznit podstatu sebesledování pomocí osobního glukometru. V empirické části jsem ověřovala funkčnost osobního glukometru pomocí rutinní metody Laboratoře klinické chemie v přísném souladu s jeho zamýšleným použitím v rámci POCT. Pravidelné měření pomocí osobního glukometru by mělo patřit mezi rutinní činnost diabetika, protože přispívá ke zlepšení kompenzace diabetu mellitu. Přála bych si, aby tato práce ukázala uživatelům glukometrů a ošetřujícím lékařům míru spolehlivosti, přesnosti a správnosti těchto přístrojů při jejich správném používání a pravidelné kontrole.

1. SOUČASNÝ STAV

1.1 *Hyperglykémie*

Definice hyperglykémie je založena na laboratorní hodnotě glykémie, která je vyšší než horní hranice rozpětí zdravé populace. U hyperglykémie je potřeba definovat glykémii lačnou a postprandiální. Současná nová klasifikace vychází z glykémie na lačno. Tento problém je spojen s absolutním či relativním nedostatkem inzulínu. S krátkodobou hyperglykemií se naše tělo dokáže bez problémů vyrovnat, při dlouhodobé hyperglykémii se v těle hromadí velké množství ketolátek, které způsobují ketoacidózu (rozvrat acidobazické rovnováhy v těle) a dochází nejprve k reverzibilní a později až k ireverzibilní glykaci krevních bílkovin, které mohou mít za následek například diabetickou angiopatii. (21,27)

1.1.1 *Vznik hyperglykémie*

Glukóza se do extracelulární tekutiny uvolňuje rozkladem sacharidů z potravy nebo vytvořením v játrech a ledvinách. V játrech vzniká glukóza glykogenolýzou či glukoneogenezí (tvorba z nesacharidových zdrojů). Glukoneogeneze probíhá také v ledvinách. Touto cestou tělo vyprodukuje 100 g glukózy denně, v těžkých či kritických stavech je nově produkováno až 400 g glukózy za den. Největším odběratelem glukózy je mozek (100 – 150g denně).

Do většiny buněk vstupuje glukóza prostřednictvím specifického přenašeče. Řada transportérů ke své funkci nevyžaduje přítomnost inzulínu, pouze transportér glukózy do svalových a tukových buněk je závislý na účinku inzulínu. Svalové a tukové buňky představují téměř polovinu všech buněk těla. Hyperglykémie vzniká při absolutním či relativním nedostatku inzulínu u diabetika, k možným dalším příčinám patří: nadprodukce adrenalinu (feochromocytom, stresové situace) stimulující štěpení glykogenu, nadprodukce glukokortikoidů stimulující glukoneogenezi, onemocnění

pankreatu s destrukcí Langerhansových ostrůvků (pankreatitida), vliv léků a podobně. (4,23)

1.1.2 Klinické příznaky hyperglykémie

Zvýšená hladina cukru v krvi se projevuje žízní a častějším močením, ztrátou chuti k jídlu a úbytkem hmotnosti nebo naopak pocitem velkého hladu, slabostí, bolestmi břicha a hlavy, pocitem pálení v ústech, rychlým pulsem a zarudlou kůží. Dítě může pociťovat ospalost a únavu nebo mít pocit rozostřeného vidění, a mohou se rovněž vyskytnout křeče v dolních končetinách. Tělo močí spolu s vodou ztrácí i potřebné minerální látky, při překročení renálního prahu dochází i ke glykosurii. Dítě v této době podléhá nejrůznějším duševním náladám, může být podrážděné nebo spavé, nedokáže se učit, sedět na jednom místě, jindy si zase nechce hrát s ostatními spolužáky. (20)

1.2 Laboratorní diagnostika diabetu mellitu

Pro dosažení správného hodnocení glykémie musíme vědět, že referenční hodnoty se rozlišují podle typu zpracovaného biologického materiálu. V plné krvi je hodnota glykémie nižší než v plazmě (séru). Ve venózní krvi naměříme glykémii nižší než v krvi kapilární. Odběrem vzorku do zkumavky s antiglykolytickou směsí zabezpečíme stabilitu glukózy. Ideální je odběr do směsi NaF a heparinu a do doby centrifugace uchovávat odebraný materiál v ledu. Během první hodiny je pokles glukózy ve vzorcích s NaF a bez něj zhruba stejný. Bez přítomnosti NaF a bez oddělení od krevních elementů klesá glukóza o 5 – 7 % za hodinu. Po oddělení krevních elementů je sérum či plazma uchovávána při 4 °C a stabilní je alespoň 72 hodin. (9,21)

Pro diagnostiku diabetu je nutné používat plazmu konzervované venózní krve. Diagnostická kritéria, uvedená u jednotlivých laboratorních metod, byla přijata Českou společností klinické biochemie a Českou diabetologickou společností, která vychází z

doporučení Světové zdravotnické organizace (WHO) a Americké diabetologické asociace (ADA). (8,21)

1.2.1 Měření koncentrace glukózy v plazmě nalačno (FPG)

Toto vyšetření slouží k laboratorní diagnostice diabetu mellitu. Žilní krev se odebere po osmi hodinovém lačnění do odběrové nádoby s antiglykolytickou směsí. Do šedesáti minut musí být odděleny krevní elementy od plazmy. Vyloučit diabetes lze při naměřených hodnotách nižších než 5,6 mmol/l, potvrdit ho můžeme opakovaným měřením při hodnotách vyšších či rovno 7,0 mmol/l (nutné jsou dva výsledky nad 7,0 mmol/l ze dvou odběrů). U novorozenců je hodnota glykémie nižší. Uvádí se, že u kojenců do 1 měsíce se referenční hodnoty pohybují mezi 1,7 – 4,2 mmol/l. Každá glykémie pod 1,7 mmol/l u novorozence by měla být léčena. Důležité je věnovat pozornost rizikovým novorozencům v době dvou až tří hodin po porodu, kdy glykémie obvykle dosahuje nejnižších hodnot. U dětí od 1 měsíce do 15 let se hodnoty zvyšují na 3,3 – 5,3 mmol/l, u mladistvých starších 15 let jsou hodnoty stejné jako u dospělých.

(8, 9,16,25)

Tabulka 1 – Referenční hodnoty glykémie

0 – 1 měsíc	1,7 – 4,2 mmol/l
1 měsíc – 15 let	3,3 – 5,3 mmol/l
Dospělí	3,3 – 5,6 mmol/l

Zdroj: Wagner, Friedecký, literatura č. 6, 8

Tabulka 2 – Diagnostická kritéria FPG

Diabetes mellitus vyloučen	< 5,6 mmol/l
Prediabetes	≥ 5,6 mmol/l až < 7,0 mmol/l
Diabetes mellitus potvrzen (nutno potvrdit opakovaným měřením)	≥ 7,0 mmol/l

Zdroj: Friedecký, literatura č. 6

1.2.2 Glukózový toleranční test

Používá se k určení diagnózy diabetu mellitu a ověření zvýšené hodnoty FPG (podle WHO). Podle provedení a hodnocení se dělí na:

Perorální glukózový toleranční test (oGTT) – hodnotí se udržení glykémie organismu po standardní dávce (75 g) glukózy. Pacient tři dny před testem konzumuje stravu bohatou na sacharidy, při vyšetření nesmí pít, jíst a kouřit, musí se vyvarovat těžké fyzické zátěži. Krev se odebere nalačno. V případě, že pacient má hodnotu glykémie nalačno nižší než 7 mmol/l, užije 75 g dávku glukózy ve formě sladkého nápoje a další odběr se provede po dvou hodinách. Hodnocení se provádí podle glykémie dvě hodiny po zátěži. Hodnota vyšší nebo rovno 11,1 mmol/l potvrzuje diabetes mellitus, hodnota nižší než 7,8 mmol/l tuto diagnózu vylučuje. V případě hodnoty glykémie v rozmezí od 7,8 mmol/l do méně než 11,1 mmol/l hovoříme o porušené glukózové toleranci. (8,21)

Intravenózní glukózový toleranční test – uplatňuje se při poruchách absorpce glukózy ve střevě. Chybí zde stimulace sekrece inzulínu pomocí enterohormonů. Glukóza se aplikuje intravenózně v množství 0,33 nebo 0,5 g/kg. Krevní odběr se provádí šestkrát po deseti minutách po aplikaci. Počítá se asimilační koeficient pro glukózu, který udává procentuální pokles glykémie za jednu minutu. Fyziologicky je vyšší než 1,2; pro diabetes se hodnota pohybuje pod 1,0. (21)

Tabulka 3 – Diagnostická kritéria oGTT

Diabetes mellitus vyloučen	< 7,8 mmol/l
Porušená glukózová tolerance	≥ 7,8 mmol/l až < 11,1 mmol/l
Diabetes mellitus potvrzen	≥ 11,1 mmol/l

Zdroj: Friedecký, literatura č. 6

Asimilační koeficient pro glukózu:

$$K = \frac{\ln 2}{T_{1/2}} * 100 = \frac{69,3}{T_{1/2}}$$

$T_{1/2}$ - udává biologický poločas v minutách

(21)

1.3 Stanovení autoprotilátek

Diabetes mellitus I. typu je považován za autoimunitní onemocnění, můžeme tedy prokázat řadu autoprotilátek v séru, které lze detekovat v časných stádiích, jejichž nepřítomnost ale diabetes I. typu nevylučuje. U 5 – 30 % nemocných, u kterých byl původně diagnostikován diabetes mellitus II. typu, jsou přítomny autoprotilátky proti ostrůvkovým buňkám glutamátdekarboxylázy. Tito nemocní nereagují na léčbu perorálními antidiabetiky. Kvantitativním vyhodnocením charakteristických protilátek umožňuje vedle typických diabetiků I. typu odhalit diabetes známý jako latentní autoimunitní diabetes dospělých. (LADA). (15,21)

1.3.1 Protilátky proti Langerhansovým ostrůvkům (ICA)

Tyto protilátky se objevují v krvi diabetiků u diabetu mellitu I. typu měsíce až roky před vlastním projevem onemocnění a jsou tedy výrazem autoimunitního onemocnění. Jsou to protilátky cytoplazmy T - lymfocytů. Ke klinické manifestaci dochází až po zničení 80 – 90 % β - buněk Langerhansových ostrůvků. Jsou detekovatelné nepřímou imunofluorescencí u 70 – 80 % nově diagnostikovaných případů, u 3 – 4 % příbuzných nemocného a u 0,5 % zdravé populace. (8, 12, 21, 26)

1.3.2 Protilátky proti glutamátdekarboxyláze (GAD)

Dekarboxyláza kyseliny glutamové je jeden z hlavních antigenů buněk Langerhansových ostrůvků. Při diabetu mellitu I. typu se vyskytují protilátky proti izoformě 65. Nacházejí se u 20-80 % nově diagnostikovaných pacientů s diabetem I. typu. Objevují se u 5-13 % příbuzných (riziko rozvoje diabetu je 50 % do 5 let u pozitivních příbuzných). Jsou velmi senzitivním, ale málo specifickým markerem (pro zvýšení specifity je třeba stanovit současně i další protilátky, například IA 2). (12)

1.3.3 Protilátky IA 2

Jsou to také protilátky proti antigenu Langerhansových ostrůvků. Vyskytují se u 50 – 80 % osob s nově diagnostikovaným diabetem a u 2 – 5 % jejich příbuzných. Jsou asociované s rychlou progresí tohoto onemocnění (u příbuzných pacientů s diabetem je pravděpodobnost nástupu až 80 %). Zdá se, že protilátky anti-IA2 jsou pro diabetes mellitus více specifické než protilátky GAD a méně často se objevují u jiných autoimunitních onemocnění. (12)

1.3.4 Protilátky proti inzulínu(IAA)

Cirkulující autoprotiilátky proti inzulínu jsou příčinou imunologické rezistence proti inzulínu u pacientů s diabetem. Jsou velmi málo specifické, vyskytují se u více autoimunitních chorob. (12)

1.3.5 Diagnostika autoprotiilátek

Na tkáňových řezech se prokazují protiilátky proti Langerhansovým ostrůvkům pankreatu nepřímým imunofluorescenčním testem. Tento test však nevypovídá o konkrétních terčích autoprotiilátkové reaktivity a proto může být i nedostatečně citlivý. Proto je v současnosti doplněn o vysoce citlivé imunochemické testy, které prokazují specifické protiilátky namířené proti základním ostrůvkovým antigenům (inzulín, GAD, ICA). Stanovení se provádí technikou ELISA. Uvedené autoprotiilátky jsou uvedeny u více než 90 % nově zjištěných případů diabetu mellitu I. typu. Je přítomna nejméně jedna z výše uvedených autoprotiilátek. Doporučuje se stanovit autoprotiilátky i proti dalším terčům, protože diabetes mellitus I. typu je často spojen s dalšími orgánově specifickými autoimunitními imunopatologickými chorob. (15)

Jsou známé i protiilátky proti tyrozinkináze, proinzulínu, karboxypeptidáze H, proti transportéru glukózy aj. Dědičnou dispozici lze nalézt v HLA antigenech. Tato vyšetření se však rutinně neprovád. (21)

1.4 Dlouhodobá kompenzace diabetu mellitu

1.4.1 Glykace krevních bílkovin

Glykace je neenzymový děj, kdy aldehydická skupina cukrů se může vázat na volné aminoskupiny bílkovin. Protože koncentrace bílkovin v krvi je v podstatě stále stejná, závisí rychlost glykace na koncentraci glukózy. Při hyperglykémii vzniká

nejprve Shiffova báze, která po odeznění přechodné hyperglykémie opět zaniká a glukóza se z vazby uvolňuje. Trvá-li hyperglykémie delší dobu, dojde k intramolekulárnímu přesmyku a vznikne ketoamin. Tato reakce je nereverzibilní a molekula sacharidu zůstává navázána po celou dobu existence bílkoviny. Stanovení glykovaného podílu hlavních krevních bílkovin umožňuje sledovat kompenzaci diabetika za delší časové období. (21)

1.4.2 Stanovení glykovaných proteinů

1.4.2.1 Glykovaný protein

Glykovaný protein vzniká neenzymovou reakcí mezi glukózou a plazmatickou bílkovinou, nejčastěji albuminem. Takto změněná bílkovina zůstává v krevní plazmě až do svého odbourání. Principem stanovení je redukce nitrotetrazoliové modři glykovaným proteinem na fialový formazan. Reakční podmínky a časové konstanty jsou voleny tak, aby ostatní redukující látky plazmy co nejméně interferovaly. Biologický poločas albuminu je asi 19 dní, můžeme si tedy podle koncentrace v krevním séru udělat představu o průměrné glykémii za posledních 14 – 21 dní. Výsledek je vyjadřován jako koncentrace fruktosaminu a referenční hodnota je do 285 $\mu\text{mol/l}$. Hodnoty 285 – 320 $\mu\text{mol/l}$ ukazují na dobrou kompenzaci diabetu, hodnoty 321 až 370 $\mu\text{mol/l}$ uspokojivou a hodnoty větší než 370 $\mu\text{mol/l}$ na neuspokojivou kompenzaci diabetu mellitu. (21)

Tabulka 4 – Kompenzační kritéria glykovaného proteinu

Referenční hodnota	$\leq 285 \mu\text{mol/l}$
Dobrá kompenzace diabetu	285 $\mu\text{mol/l}$ – 320 $\mu\text{mol/l}$
Uspokojivá kompenzace diabetu	321 $\mu\text{mol/l}$ – 370 $\mu\text{mol/l}$
Neuspokojivá kompenzace diabetu	$> 370 \mu\text{mol/l}$

Zdroj: Racek, Klinická biochemie, literatura č. 21

1.4.2.2 Glykovaný hemoglobin – moderní metody na principu HPLC

Tato metoda slouží jako nástroj sledování diabetu, v blízké perspektivě také jako další nástroj laboratorní diagnostiky diabetu mellitu. Hemoglobin v erytrocytech podléhá neenzymové glykaci za vzniku tří derivátů HbA_{1a} a HbA_{1b} a HbA_{1c}. Stanovuje se frakce HbA_{1c}, která představuje vlastní stabilní ketoamin. Doporučená metoda ke stanovení glykovaného hemoglobinu je vysokoúčinná kapalinová chromatografie (HPLC), která zajišťuje přesnou separaci a kvantifikaci stabilní frakce HbA_{1c} a automatickou eliminaci labilní frakce HbA_{1c}. Další používanou metodou je imunochemické stanovení HbA_{1c} s využitím specifické monoklonální protilátky. Naměřené hodnoty udávají představu o průměrné glykémii za posledních 120 dnů, s hodnotou vyjádřenou v procentech.

(8, 21,24)

Tabulka 5 – Kompenzační kritéria glykovaného hemoglobinu

Referenční meze	≤ 4,0%
Výborná kompenzace diabetu	< 4,5 %
Uspokojivá kompenzace diabetu	4,5 % – 6,0 %
Neuspokojivá kompenzace diabetu	> 6,0 %

Zdroj: Racek, Klinická biochemie, literatura č. 21

1.5 Krátkodobá kompenzace diabetu mellitu

1.5.1 Glykemický profil

Jde o stanovení glykémie v průběhu dne v daných intervalech nalačno a po jídle. Měření se provádí pětkrát denně (tzv. malý profil) nebo devětkrát denně (velký profil). Slouží k určení terapie, například jak dávkovat inzulín a jaký typ. (19,21)

1.5.2 Glykemický index (GCI)

Glykemickým indexem charakterizujeme kompenzaci nemocného. Odběry krve se provádějí během celého dne v daném čase. Hodnotu indexu vypočteme podle vzorce uvedeného pod tabulkou. Hodnoty GCI do 10,0 vyjadřují dobrou kompenzaci diabetika, nad 20,0 nedostatečnou kompenzaci.

Někdy je také glykemický index chápán jako ukazatel rychlosti nárůstu glykémie a délky jejího přetrvávání po perorálním příjmu potravy obsahující sacharidy. Potraviny s vysokým glykemickým indexem způsobují rychlý nárůst glykémie (ovoce, med, bílé pečivo) a jsou tudíž pro diabetiky nevhodné. Potraviny s nízkým glykemickým indexem (rýže, tmavý chléb) nemají nepříznivé metabolické účinky, proto jsou pro diabetiky vhodnější. (21)

Tabulka 6 – Kompenzační kritéria glykemického indexu

Dobrá kompenzace diabetu	< 10,0
Uspokojivá kompenzace diabetu	10,0 – 20,0
Neuspokojivá kompenzace diabetu	> 20,0

Zdroj: Racek, Klinická biochemie, literatura č. 21

Vzorec glykemického indexu:

$$GCI = M + \frac{Glu_{\max} - Glu_{\min}}{2}$$

M = průměrná hodnota z 9 odběrů

Glu_{max} - nejvyšší glykémie

Glu_{min} - nejnižší glykémie

(21)

1.5.3 Glykosurie

Denní ztráty glukózy močí by měly být co nejmenší. Při překročení renálního prahu glykémie (hodnota 10,0 mmol/l po dobu 15 minut) proniká glukóza do moči. Renální práh je pro každého člověka individuální, u někoho může dojít ke glykosurii při glykémii 2,8 mmol/l, naopak u starších diabetiků s glomerulosklerózou až při hodnotách glykémie okolo 19,0 mmol/l. Zkreslit výsledky může neúplný sběr moči nebo nesprávné uchovávání vzorku. Stanovení glykosurie nepatří mezi základní metody diagnostiky diabetu, spíše slouží jako doplňkové vyšetření. Pro záchyt glukózy v moči lze použít diagnostické proužky (kvalitativní stanovení), pro kvantitativní stanovení pak například fotometrické stanovení glukózy (GOD) v moči s přepočtem na diurézu. (21)

1.5.4 Glukóza v krvi stanovená glukometry

Tato metoda slouží k určení momentální hladiny glukózy v krvi. Napomáhá k sebesledování stavu diabetika nebo v akutních stavech, kdy je očekávána hyperglykémie nebo hypoglykémie. (21)

Selfmonitoring je činnost sloužící k sebesledování zdravotního stavu pacienta. U diabetu mellitu je monitorována hladina glukózy v krvi pomocí glukometrů, dále výskyt glukózy či ketolátek v moči a měření krevního tlaku. V užším smyslu zahrnuje selfmonitoring kontrolu glykémie v pravidelných intervalech, které slouží ke stanovení a úpravě denních dávek inzulínu. Pacient získává okamžité informace o hladině krevního cukru. Selfmonitoring přispívá ke zlepšení kompenzace diabetu mellitu. Každý uživatel glukometru by měl být poučen o cílových hladinách glukózy v krvi vzhledem ke svému věku, vést si záznamy o výši glykémie a na zjištěné výsledky okamžitě reagovat úpravou dávky inzulínu či změnou stravovacích návyků. Měření glykémie glukometrem pomáhá včas odhalit nebezpečně nízké nebo vysoké hodnoty glykémie spojené s bezvědomím a tím zvyšuje bezpečnost pacienta a jeho léčby. Výsledky selfmonitoringu pacient konzultuje se svým lékařem a na základě tohoto sledování může být upravena nebo změněna současná léčba diabetika. (6,22)

Četnost měření glykemií při selfmonitoringu by měla vycházet z :

- typu léčby
- úrovně kompenzace pacienta
- rizik hypoglykémie
- dalších přidružených onemocnění
- nutnosti přizpůsobování léčby
- věku pacienta

Výbor České diabetologické společnosti doporučuje 3 – 4 měření glykémie za den pro pacienty léčené intenzifikovaným inzulínovým režimem tzn. tři a více dávek krátkodobě působícího inzulínu v kombinaci s depotním inzulínem denně. Pro pacienty léčené konvenčním inzulínovým režimem (1 – 2 dávky inzulínu denně) dvě měření za den. Pacienti léčení perorálními antidiabetiky a dietou by si měli kontrolovat hodnoty glykemií minimálně třikrát týdně. (6)

1.5.4.1 Přístroj Optium Omega

S glukometrem Optium Omega od firmy Abbott jsem měřila klinické vzorky pacientů a ověřovala jeho použití v režimu point - of - care testing (POCT), kterým se budu zabývat v metodice této práce. Zde bych ráda vyzdvihla pozitiva glukometru z hlediska snadného používání a rychlosti přístroje při testování.

Sada Optium Omega se skládá ze samotného měřicího přístroje, odběrového pera s vyměnitelnou lancetou, testovacích proužků a dvou kontrolních roztoků. Měřicí přístroj se ovládá pouze dvěma tlačítky, která zajišťují snadnou obsluhu bez zbytečných složitostí a rychlejší a snadnější vyvolání výsledků. Na velkém displeji se objevují dvou centimetrové číslice, které usnadňují čtení výsledků i uživatelům se zhoršeným zrakem. Do paměti je možné uložit až padesát měření, proto si diabetik s sebou nemusí nosit poznámkový blok, kdykoli opustí domov. Malá hmotnost a uživatelsky příjemný design umožňuje větší pohodlí při nošení v kapse a diskrétní měření na veřejnosti. Datum a čas je uveden u každého měření. K měření stačí velmi malý krevní vzorek 0,3 μ l. Výsledek získáme do pěti vteřin. Při měření jsou minimalizovány rušivé složky, například vitamín C a kyselina močová. (3)

Oboustranné testovací proužky jsou velice snadno použitelné pro praváky i leváky. Proužky mají expiraci 24 měsíců, nedochází tudíž ke zbytečnému plýtvání v případě nižší četnosti měření. K uchování testovacích proužků slouží vysoušedla, umístěná na víčku nebo přímo v ampulce. Vysoušedla mohou působit škodlivě v případě požití nebo vdechnutí. Proto je dobré uchovávat testovací proužky mimo dosah dětí. Při vyjímání testovacího proužku z ampulky a jeho vkládání do přístroje se jej můžeme dotýkat čistými, suchými prsty kdekoli. Kód zobrazený na displeji glukometru musí souhlasit s kódem uvedeným na lahvičce testovacích proužků. Testovací proužky jsou určeny pouze k jednomu použití. Nízké nebo vysoké hodnoty glykémie mohou indikovat potencionálně vážný klinický stav, tj. hodnoty nižší než 3,3 mmol/l a hodnoty vyšší než 13,3 mmol/l. Pacient by se měl v tomto případě obrátit na poskytovatele zdravotnické péče a řídit se jeho pokyny. (2,3)

Provádění testu. Nejprve se musí očistit místo zvolené k provedení měření (nejčastěji bříško prstu na ruce). Používá se teplá, mýdlová voda. Bříško prstu se musí opláchnout a důkladně osušit. Teplá voda pomáhá zvýšit proudění krve na místo zvolené k provedení vpichu. Po vložení proužku můžeme přístroj zapnout. Pomocí autolacenty je proveden téměř bezbolestný vpich a získána kapka krve o velikosti špendlíkové hlavičky. Pacient se opatrně dotkne vzorkem krve okraje testovacího proužku, použít lze jeden ze dvou okrajů, ale nikoli oba najednou. Po nasátí krve do proužku se zobrazí pomlčky pohybující se po displeji. Výsledek měření lze snadno odečíst z displeje a je následně uložen do paměti. Výrobce udává, že přístroj Optium Omega zobrazuje výsledky v rozsahu 1,1 mmol/l - 27,8 mmol/l. Bude-li výsledek vyšší než 27,8 mmol/l, na displeji se zobrazí HI (vysoké). Tato zpráva upozorňuje na závažně vysokou hladinu glykémie. V případě, že bude výsledek nižší než 1,1 mmol/l, na displeji přístroje se zobrazí LO (nízké). Tato zpráva upozorňuje na závažně nízkou hodnotu glykémie. V obou případech je nutné přijmout příslušná opatření dle pokynů profesionálního poskytovatele zdravotnické péče. Pro provádění měření lze také použít vzorek čisté venózní krve. Lze použít obvyklé antikoagulanty (šřavelan draselný, heparin, EDTA). Testovací proužky Optium Omega nejsou schváleny k testování novorozenců a nesmí se pro tento účel používat. (2)

Kontrolní roztok FreestyleTM se používá ke kontrole přístroje Optium Omega, testovacích proužků a způsobu měření. Roztok je složen z D – glukózy, konzervačního prostředku, FD&C červeného barviva a činidla upravujícího viskozitu. Trvanlivost je 2 roky, po otevření lahvičky 3 měsíce. Systém funguje správně, jsou – li výsledky testu kontrolního roztoku v příslušném rozsahu pro kontrolní roztok. Tyto hodnoty jsou uvedeny na ampulce s testovacími proužky Optium Omega. Vysoká kontrola má rozsah 14,9 – 22,3 mmol/l. Nízká kontrola má rozsah 2,2 – 3,9 mmol/l. Pokud budou výsledky měření s kontrolním roztokem mimo rozsah vytištění na ampulce s testovacími proužky i po opakovaném měření, nelze systém použít k testování krve. (3)

Přesnost systému Optium Omega v rámci ampulky byla testována porovnáním výsledků glykémie získanými při provádění studie s výsledky získanými analyzátozem glukózy YSI Model 2300. (2)

Tabulka 7 – Přesnost v rámci ampulky

Průměrná koncentrace glukózy [mmol/l]	2,4	10,8	21,1
Směrodatná odchylka [mmol/l]	0,1	0,2	0,41
Koeficient odchylky [%]	4,1	1,8	2,0

Zdroj: Příbalový leták testovacích proužků

2. CÍL PRÁCE A HYPOTÉZY

2.1 Cíl práce

Cílem mé práce bylo ověření (verifikace) funkčnosti glukometru Optium Omega od výrobce Abbot Laboratories, s.r.o. pomocí rutinní metody Laboratoře klinické chemie Nemocnice České Budějovice, a.s. v přísném souladu s jeho zamýšleným použitím v rámci POCT.

2.2 Předpokládaná hypotéza

Rozsah a hloubka verifikace odpovídá potřebě získat dostatek údajů k rozhodnutí, zda je přístroj skutečně vhodný pro zamýšlený účel, tj. splňuje kritéria v plném rozsahu pro jeho použití v POCT (ISO 17025, ISO15189). Potvrzení, že údaje deklarované výrobcem jako je mj. pracovní rozsah, přesnost, správnost, dolní a horní mez stanovitelnosti odpovídají skutečnosti.

3. METODIKA

3.1. Principy stanovení glukózy glukometrem

Starší typy glukometrů (v současné době již nedoporučované) využívají fotometrických metod pro stanovení glukózy v krvi. *Fotometrická metoda* je založena na oxidaci molekuly glukózy enzymem glukózaoxidázou za vzniku kyseliny glukonové a peroxidu vodíku. Sledovaným produktem této chemické reakce je již zmíněný peroxid vodíku, který způsobí oxidaci redukováného chromogenu za přítomnosti peroxidázy. Vzniká barevný produkt, u kterého lze snadno spektrofotometricky změřit absorbanci. Množství vzniklého barevného produktu je přímo úměrné koncentraci glukózy ve vzorku. V současné době doporučované glukometry využívají k měření glykémie *elektrochemickou metodu*. Při té je glukóza oxidována kyslíkem za přítomnosti enzymu glukózaoxidázy a opět vznikne kyselina glukonová a peroxid vodíku. Peroxid vodíku je elektrochemicky redukován na vodu a vzniklý elektrický proud nebo prošlý elektrický náboj je přímo úměrný koncentraci glukózy ve vzorku. Při ampérometrickém stanovení bývá měřenou veličinou elektrický proud. Výsledek je málo citlivý ke změně objemu vzorku, ale může být ovlivněn změnou složení krve. Elektrický náboj je stanoven coulometricky. Výsledek citlivě reaguje na odchylky v objemu vzorku, ale ve své podstatě je málo ovlivněn změnami ve složení krve, pokud nepřihlížíme k možným interferencím například s léčivy. (7,17)

Výše zmíněné starší typy glukometrů na principu reflexní fotometrie jsou bohužel v dnešní době stále používány i přesto, že byla prokázána značná nepřesnost i nesprávnost naměřených výsledků.

Glukometr Optium Omega pracuje na principu coulometrického elektrochemického senzoru. Testovací proužek obsahuje tři elektrody. Pokud se do testovacího proužku nenasaje dostatečné množství krve, nedojde k propojení všech tří elektrod a glukometr nemůže měřit. Pokud je v testovacím proužku dostatek krve nebo se do šedesáti sekund přidá další krev, elektrody se propojí a glukometr je schopen

změřit daný vzorek. Vzorek může být aplikován z kterékoli strany, ale neměl by být aplikován z obou stran zároveň. Vrstvení testovacího proužku je uvedeno v příloze. (3)

3.1.1 Měření glykémie glukometrem Optium Omega

Do přístroje byl na doraz zasunut nový testovací proužek. Stisknutím tlačítka „m“ se přístroj zapnul. Pomocí tlačítka „c“ byl na displeji navolen kód souhlasící s kódem uvedeným na ampulce s testovacími proužky. Po nastavení čísla kódu se na obrazovce objevil symbol kapky krve a testovacího proužku. Právě v této chvíli byl glukometr schopen měřit. Vzorek kapilární krve se přiložil k označené části proužku a nechal dostatečně nasát. Správné nasátí vzorku přístroj signalizuje pomlčkou, pohybující se ve směru hodinových ručiček. Výsledek testu glykémie se pak zobrazil na displeji do několika vteřin. (1)

3.2 Princip stanovení glukózy analyzátozem SensoStar G

Stanovení glukózy na analyzátozu SensoStar G je založeno na principu elektrochemického měření pomocí biosenzoru. Čerpadlem v analyzátozu se do senzoru dopraví buďto systémový roztok, kalibrační materiál, kontrolní materiál nebo vzorek pacienta. Elektrody umístěné uvnitř senzoru jsou odděleny od tekutiny membránami, které obsahují imobilizované enzymy. V přístroji SensoStar G probíhá oxidace glukózy za katalýzy glukózooxidázou a následné ampérometrické detekce vzniklého peroxidu vodíku. Glukózu lze změřit z plné krve (arteriální i venózní), plazmy, séra a mozkomíšního moku. Vzorek může obsahovat blokátory glykolýzy, jako jsou heparin, citrát, fluorid, EDTA. (13,18)

3.2.1 Příprava vzorku pro přístroj SensoStar G

Krev se před vlastní analýzou nejprve 30 sekund stáčí v centrifuze při 10 000 g. Analyzátoz SensoStar G se používá k měření glukózy v plazmě, séru nebo z

hemolyzovaných vzorků plné krve. Před vlastním měřením se vzorek ředí 1 díl vzorku : 50 dílům systémového roztoku (pufru). Přístroj je vybaven karuselem o kapacitě šedesáti vzorků, které jsou umístěny v mikrozkuvkách (kepickách) s propichovatelným víčkem. Vzorek je detekován automaticky pomocí snímače čárového kódu. Kalibrace přístroje je automatická před každou sérií vzorků. (13,18)

3.3 Porovnávání glukometru v POCT

POCT (point-of-care-testing) zahrnuje měření a provádění testů in vitro mimo centrální nebo klinickou laboratoř obecně poblíž nebo v místě péče o pacienta, založené na moderních technologiích dovolujících jednoduché a při tom správné a přesné měření. Zahrnuje používání techniky u lůžka (včetně přenosných analyzátorů), v ambulanci anebo techniky, které vlastní pacient. POCT tvoří nedílnou součást laboratorní diagnostiky a má pevné místo v organizačním uspořádání laboratorní medicíny. (5)

V praktické části mé práce jsem se zaměřila na hodnocení jakosti měření glukometru Optium Omega podle dostupných doporučení, týkajících se správného zavádění a používání POCT a zabezpečování jakosti měření glukometrem v režimu point-of-care-testing. Kritériem jakosti měření je velikost difference mezi výsledky měření glukometru a metodou prováděnou v laboratoři. Hodnota difference pro koncentrace glukózy $> 3,3$ mmol/l by neměla být vyšší než 15 % a pro hodnoty $\leq 3,3$ mmol/l by neměla být vyšší než 0,8 mmol/l. Hodnoty reprodukovatelnosti a vychýlení by měly dosahovat maximálně 5 %. Je vhodné, aby měření pokrývalo koncentrace od dolní hranice měření glukometrem (do 4,0 mmol/l), dále koncentraci od 4,1 – 7,0 mmol/l a také hodnoty od 7,1 mmol/l do horní hranice měření glukometrem za účelem ověření pracovního rozsahu glukometru deklarovaného výrobcem v návodu k obsluze přístroje. (5, 8, 14)

3.3.1 Porovnávání POCT-glukometru Optium Omega s rutinní metodou

v Laboratoři klinické chemie Nemocnice České Budějovice, a.s.

Nedílnou součástí zajištění jakosti metody je validace. Validace je potvrzení objektivními důkazy, že požadavky na specifické zamýšlené použití nebo specifickou aplikaci byly splněny. Rozsah a hloubka validace musí vždy odpovídat potřebě získat dostatek údajů k rozhodnutí, zda metoda je skutečně vhodná pro zamýšlený účel. (ISO 17025, ISO15189) (10)

Při ověřování měření glukometru Optium Omega jsem použila následující statistické postupy:

- opakovatelnost a reprodukovatelnost měření
- vychýlení (bias) a výtěžnost metody
- porovnatelnost a pracovní rozsah metody

K testování mi posloužil biologický materiál (kapilární krev) pacientů Nemocnice České Budějovice, a.s.. Výsledky, získané měřením shodného materiálu pomocí glukooanalyzátoru SensoStar G, jsem použila jako referenční hodnoty.

3.3.1.1 Opakovatelnost a reprodukovatelnost měření

Pro opakovatelnost se používá označení přesnost v sérii. Analýzy jsem prováděla všechny najednou, na témže glukometru za sebou a k měření jsem použila biologický materiál pacientů. Tato analytická vlastnost charakterizuje metodu a dokonalost jejího provedení. Cílem opakovatelnosti je kvantifikace náhodné chyby měření. Změřila jsem tři vzorky o různých koncentracích glukózy (první vzorek pod dolní hranicí referenčního limitu, druhý uvnitř referenčního limitu a třetí nad hodnotou horní hranice referenčního limitu). Vypočte se průměr měření, směrodatná odchylka a variační koeficient. Koncentrace do 4,2 mmol/l se hodnotí pomocí směrodatné odchylky,

koncentrace nad 4,2 mmol/l pomocí variačního koeficientu. Podle dokumentu Laboratorní diagnostika a sledování stavu diabetu mellitu vydaného Českou společností klinické biochemie ČLS JEP a Českou diabetologickou společností ČLS JEP nebyly požadované hodnoty opakovatelnosti a reprodukovatelnosti dosud zveřejněny. Při měření a statistickém hodnocení jsem se řídila pokyny z dokumentu Doporučení Validace a verifikace analytických metod v klinických laboratořích. (8,10,21)

Hodnotu reprodukovatelnosti jsem získala z postupně provedeného stanovení, v mém případě jedenkrát za den po dobu deseti dní na témže glukometru. Reprodukovatelnost jsem měřila sama, k měření jsem používala kontrolní roztoky Optium Omega, tím jsem zajistila stabilitu analytů po celou dobu měření. Stanovením reprodukovatelnosti je charakterizována stabilita metody a jejího provádění během celé doby používání. Koncentrace do 4,2 mmol/l se hodnotí pomocí směrodatné odchylky, koncentrace nad 4,2 mmol/l pomocí variačního koeficientu (10)

Průměr:

Zjistíme jej jako součet naměřených hodnot dělený počtem měření.

$$\bar{X} = \frac{\sum_{i=1}^n X_i}{n}$$

Výběrová směrodatná odchylka:

Vrátí odhad směrodatné odchylky základního souboru určený z náhodného výběru.

$$s = \sqrt{\frac{n \sum x^2 - (\sum x)^2}{n(n-1)}}$$

Variační koeficient:

Vyjadřuje poměr směrodatné odchylky a aritmetického průměru. Udává se zpravidla v %.

$$V = \frac{s}{X} * 100$$

(28)

3.3.1.2 Vychýlení a výtěžnost metody

Vychýlení neboli bias je rozdíl mezi průměrem získaným z velkého počtu měření a referenční hodnotou. Výtěžnost (recovery) je podíl z množství analytu přítomného nebo přidaného v analyzovaném vzorku zkoušeného materiálu nebo přidaného k němu, který je extrahován a podrobován měření. Cílem je odhad systematické chyby měření za účelem posouzení úrovně pravdivosti měření. Systematická chyba odchyluje výsledek vždy jedním směrem (kladné bias – pozitivní systematická chyba, záporné bias – negativní systematická chyba). U konstantní složky systematické chyby se výsledek od skutečné hodnoty liší vždy o stejný násobek. K provedení tohoto odhadu musí být minimalizována náhodná chyba měření, kterou není možné zcela eliminovat. (10,21)

Provedla jsem měření tří vzorků za podmínek opakovatelnosti (v jedné sérii). Koncentrace prvního vzorku se nacházela pod dolní hranicí referenčního limitu, koncentrace druhého uvnitř referenčního limitu a třetí nad horní hranicí referenčního limitu, vše v souladu s doporučením vydaným výborem České společnosti klinické biochemie. (10)

Vychýlení (bias):

Je to rozdíl mezi průměrem získaným z velkého počtu měření a referenční hodnotou.

$$b = X - \mu$$

$$b (\%) = (X - \mu) / \mu * 100$$

X – průměr naměřených vzorků (získané glukometrem Optium Omega)

μ - referenční hodnota (měření získané z analyzátoru SensoStar G)

Výtěžnost:

Vypočteme ji jako poměr naměřené hodnoty X a certifikované hodnoty referenčního materiálu.

$$R \% = (X \text{ vzorek} / \mu) * 100$$

X – průměr naměřených vzorků (získané glukometrem Optium Omega)

μ - referenční hodnota (měření získané z analyzátoru SensoStar G) (10)

3.3.1.3 Porovnatelnost metod a pracovní rozsah

Porovnatelností rozumíme vhodnost produktů, procesů či služeb k současnému užití. To znamená schopnost plnit za specifických podmínek dané požadavky bez vzniku nežádoucích interakcí. (10)

Při pořízení nového analytického systému nebo při zkoušení POCT přístroje je zapotřebí hodnotit vychýlení, typ systematické chyby a korelaci porovnáním validované metody s metodou srovnávací. (10)

Metodu POCT je vhodné srovnávat s rutinní metodou používanou v laboratoři, nový měřicí systém pak s jiným doposud v laboratoři používaným měřicím systémem.

(10)

Použitý osobní glukometr a jeho příslušenství byl v souladu se směrnicí Evropské Unie (In vitro diagnostic medical device) a byl označen CE známkou. Pro splnění tohoto bodu validačního plánu jsem použila 53 vzorků nativních biologických materiálů pacientů. Vybrány byly takové koncentrace vzorků, aby byl pokryt celý pracovní interval metody deklarovaný výrobcem. Měřila jsem jednotlivé vzorky v duplikátech, experiment byl proveden v jediném dni.

Výsledky jsem zanesla do bodového grafu a do Bland – Altmanova diagramu. U bodového grafu jsou na ose x vyneseny výsledky srovnávací metody (SensoStar G) a na ose y výsledky validované (glukometr Optium Omega). V ideálním případě, kdy by se

$$y = x$$

by obě metody poskytly shodné výsledky a všechny body by ležely na přímce půlící úhel mezi osami a procházející počátkem. Ve skutečnosti jsou však častěji body různě rozptýlené kolem přímky, která má odlišný sklon a navíc nemusí procházet počátkem. Vztah mezi výsledky obou metod je popsán obecnou rovnicí regresní přímky:

$$y = ax + b$$

a – směrnice přímky, vyjadřující proporcionální složku systematické chyby

b – je mírou konstantní složky systematické chyby

Korelační koeficient R^2 vyjadřuje míru rozptylu bodů kolem regresní přímky. Maximální hodnota korelačního koeficientu je 1,0 (všechny body leží na přímce dané rovnicí regresní přímky). Čím více jsou body rozptýlené, tím více klesá hodnota korelačního koeficientu. Korelace je měřítkem těsnosti asociace mezi oběma metodami a ne shody hodnot produkovaných oběma metodami. Obvykle platí, že čím větší počet měření, tím vyšší korelační koeficient a naopak. (10,21)

Bland – Altmanův diagram je označován také jako rozdílový graf. Na osu x jsou umístěny průměry obou metod a na osu y difference obou metod v mmol/l. Diferenci lze rovněž vyjádřit i v procentech. Tento graf adekvátněji hodnotí nepodobnost měření mezi oběma metodami. (10,11)

Pracovní rozsah vymezuje interval, v němž lze bezpečně očekávat, že platí výrobcem deklarované a validační experimenty ověřené hodnoty přesnosti a vychýlení. Pracovní rozsah deklarovaný výrobcem je uvedený v příbalovém letáčku testovacích proužků. Přístroj je schopen měření v intervalu od 1,1 – 27,8 mmol/l. Pracovní rozsah glukometru Optium Omega jsem ověřovala pomocí 53 vzorků, měřených glukometrem v duplikátu, ve kterých se vyskytly i extrémně nízké a vysoké hodnoty koncentrace glukózy. (10)

Vycházela jsem opět z dokumentu Doporučení Validace a verifikace analytických metod v klinických laboratořích. (10)

4. VÝSLEDKY

Výsledky jsou uvedeny v podobě tabulek, bodového grafu a rozdílových grafů podle Bland – Altmana.

4.1 Výsledky opakovatelnosti a reprodukovatelnosti měření

Tabulka 8 – Opakovatelnost

	Vzorek 1	Vzorek 2	Vzorek 3
Hodnocení pro intervaly [mmol/l]	$\leq 4,2$	$4,2 < x \leq 7,0$	$> 7,0$
Hodnota* [mmol/l]	3,0	4,6	13,0
Průměr stanovení** [mmol/l]	3,0	4,6	12,9
Směrodatná odchylka [mmol/l]	0,08	0,11	0,24
Variační koef. (CV) [%]	2,7	2,4	1,9

Zdroj: Vlastní výzkum

* - Hodnota vzorku získaná na přístroji SensoStar

** - Průměr stanovení pořízených glukometrem

Tabulka 8 zobrazuje hodnoty opakovatelnosti. V prvním řádku je uveden průměr koncentrací glukózy u tří vybraných vzorků. První vzorek se nachází pod dolní hranicí referenčního limitu a opakovatelnost se hodnotí pomocí směrodatné odchylky. Druhý vzorek je uvnitř referenčního limitu a třetí nad jeho horní hranicí, opakovatelnost se hodnotí pomocí variačních koeficientů.

Tabulka 9 - Reprodukovatelnost

	Nízká kontrola	Vysoká kontrola
Deklarovaná hodnota rozsahu měření [mmol/l]	2,2 – 3,9	14,9 – 22,3
Směrodatná odchylka [mmol/l]	0,09	
Variační koeficient [%]		2,4

Zdroj: vlastní výzkum

Tabulka 9 zobrazuje hodnoty reprodukovatelnosti měření. Pro koncentrace 2,2 – 3,9 mmol/l se hodnotí jako hodnota směrodatné odchylky, pro koncentrace 14,9 – 22,3 mmol/l se hodnotí jako hodnota variačního koeficientu.

4.2 Výsledky vychýlení (*bias*) a výtěžnosti metody

Tabulka 10 - Vychýlení

	Vzorek 1	Vzorek 2	Vzorek 3
Hodnocení pro intervaly [mmol/l]	$\leq 4,2$	$4,2 < x \leq 7,0$	$> 7,0$
Vychýlení [mmol/l]	0,0	0,0	-0,1
Vychýlení [%]	0,0	0,0	-0,8

Zdroj: Vlastní výzkum

Tabulka číslo 10 zobrazuje hodnoty vychýlení v mmol/l i v procentech u tří vzorků v intervalech pod dolní hranicí referenčního limitu, uvnitř i nad horní hranicí referenčního limitu.

Tabulka 11 – Výtěžnost

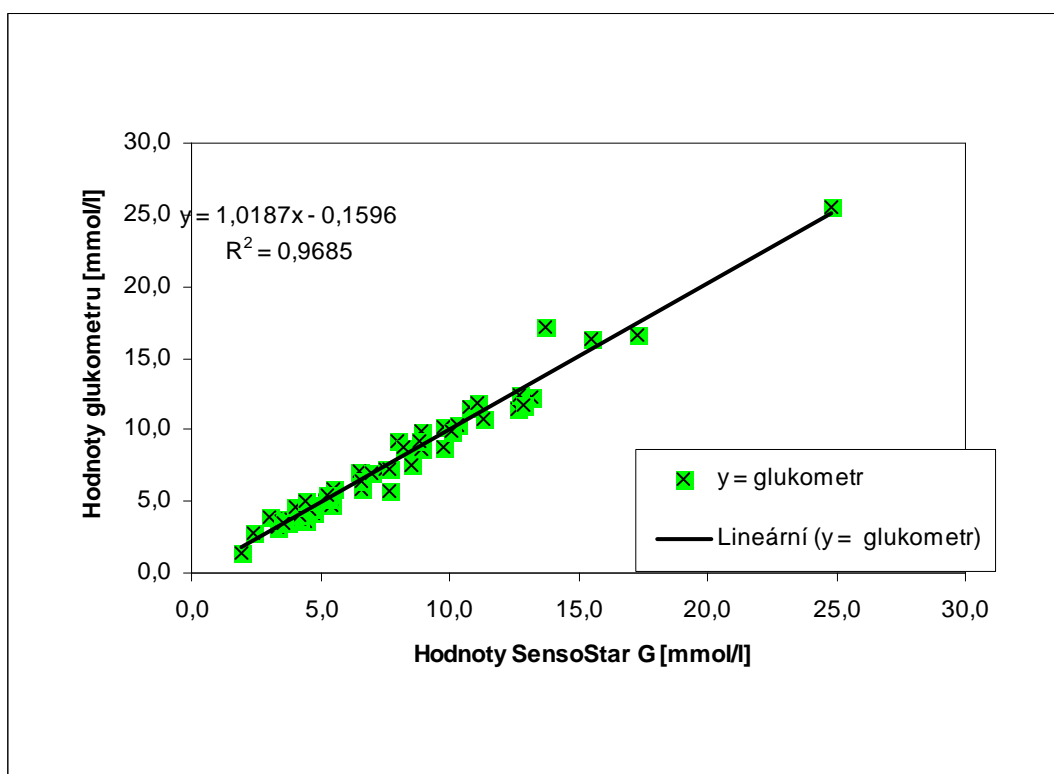
	Vzorek 1	Vzorek 2	Vzorek 3
Hodnocení pro intervaly [mmol/l]	$\leq 4,2$	$4,2 < x \leq 7,0$	$> 7,0$
Výtěžnost [%]	100,0	100,0	99,2

Zdroj: Vlastní výzkum

Tabulka číslo 11 zobrazuje hodnoty výtěžnosti v procentech u tří vzorků v intervalech pod dolní hranicí referenčního limitu, uvnitř i nad horní hranicí referenčního limitu.

4.3 Výsledky porovnatelnosti metod a pracovního rozsahu

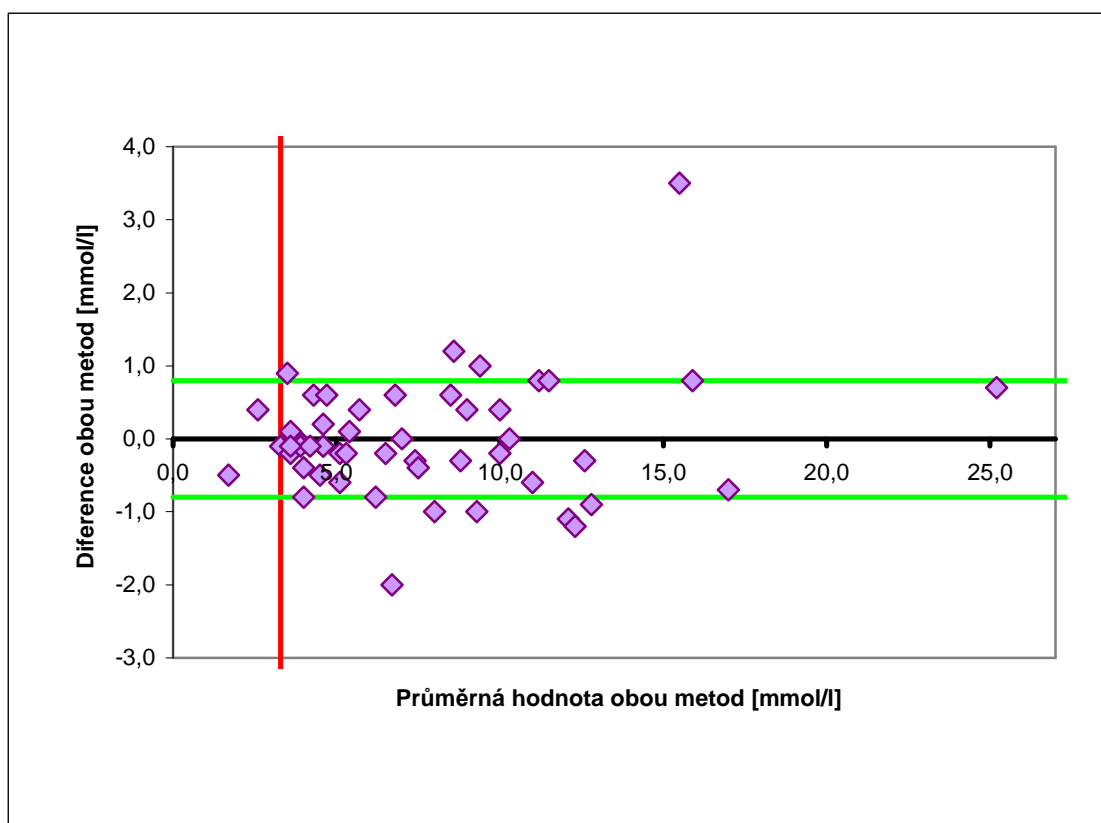
Graf 1 – Porovnatelnost a pracovní rozsah



Zdroj: Vlastní výzkum

Graf 1 je bodový graf, v němž jsou na ose x vyneseny výsledky srovnávací metody (hodnoty z analyzátoru SensoStar G) a na ose y výsledky metody validované (hodnoty glukometru Optium Omega).

Graf 2 – Blandův – Altmanův diagram 1



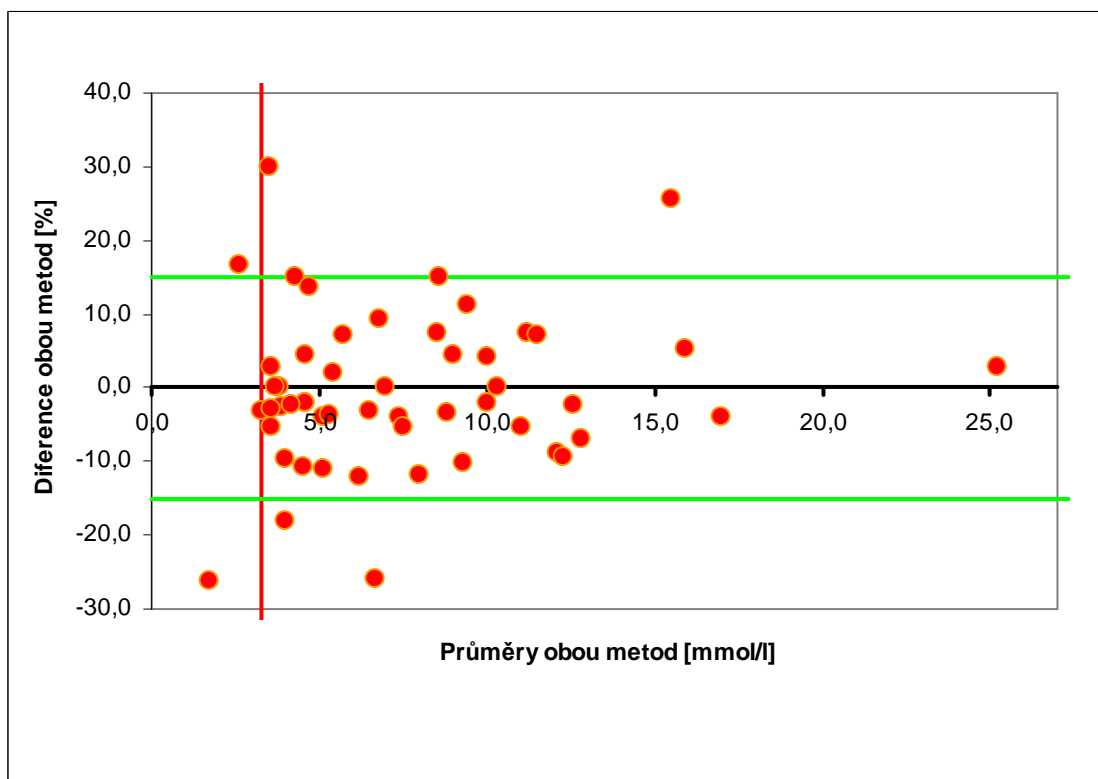
Zdroj: Vlastní výzkum

Červená hranice – hranice glukózy 3,3 mmol/l

Zelená hranice – hranice diference + 0,8 mmol/l a - 0,8 mmol/l

Graf 2 - na ose x jsou umístěny průměry obou metod mmol/l a na ose y diference obou metod také v mmol/l.

Graf 3 – Blandův – Altmanův diagram 2



Zdroj: Vlastní výzkum

Červená hranice – hranice glukózy 3,3 mmol/l

Zelené hranice – hranice difference nad +/-15 %

Graf 3 – na ose x jsou vyneseny průměry obou metod mmol/l a na ose y difference obou metod v procentech.

Porovnání metod u výše zobrazených grafů bylo provedeno změřením 53 vzorků na analyzátoru SensoStar G a zároveň změřených v duplikátu na glukometru Optium Omega.

Tabulka 12 – Pracovní rozsah měření

SensoStar G [mmol/l]	Optium Omega [mmol/l]	
1,9	1,4	1,4
24,8	25,6	25,3
26,9	Nezměřil	Nezměřil

Tabulka 12 zobrazuje extrémní hodnoty naměřené na analyzátoru SensoStar G a jejich hodnoty naměřené na glukometru Optium Omega. U prvního měření je vidět, že glukometr měří přesně, ale s nižší správností než v oblasti referenční meze. U druhého měření je vidět opět stanovení s nižší správností. V třetím případě glukometr při měření udával, že hodnota je mimo pracovní rozmezí glukometru.

5. DISKUZE

V dnešní době jsou na trhu k dispozici desítky různých typů glukometrů produkované a dodávané řadou výrobců. Úroveň shody mezi výsledky dosaženými různými typy glukometrů byla však doposud nízká. V současné době je výrazná snaha zvýšit přesnost a správnost osobních glukometrů s využitím rutinní laboratorní metody, která má v rámci systému řízení kvality návaznost na referenční metodu. Je doporučeno několik možných postupů realizace kontroly kvality. Obecně přístupným postupem je porovnávání výsledků dosažených glukometry s výsledky laboratorní metody v souladu s doporučeními POCT vypracovanými výborem České společnosti klinické biochemie. Periodické kontroly technického stavu glukometru by měly být provedeny jednou ročně pracovníkem autorizovaného servisu, provozní analytická kontrola kvality měření by měla být prováděna předepsaným způsobem a s předepsanou četností jednou za dva měsíce ve spolupráci s laboratoří.

Mezi sledované ukazatele kvality měření glukometru patří velikost difference mezi hodnotou glukózy v kapilární krvi stanovenou glukometrem a laboratorní metodou stanovení glukózy, reprodukovatelnost měření, pracovní rozsah a vychýlení (bias) měření.

Dle dokumentu Laboratorní diagnostika a sledování stavu diabetu mellitu vydaného Českou společností klinické biochemie ČLS JEP a Českou diabetologickou společností ČLS JEP by hodnota difference glukometru od laboratorní metody (chyba měření) pro koncentrace glukózy $> 3,3$ mmol/l neměla být vyšší než 15 % a pro hodnoty $\leq 3,3$ mmol/l by neměla být vyšší než 0,8 mmol/l. Hodnoty reprodukovatelnosti a vychýlení by měly dosahovat maximálně 5 %. Přístroj Optium Omega jsem testovala v souladu doporučeními POCT a dospěla jsem k následujícím výsledkům. Na Bland – Altmanově diagramu 2 (graf č. 3), kde je difference vyjádřena v procentech, jsou 4 měření, které přesahují maximální povolenou odchylku pro hodnoty koncentrace glukózy nad 3,3 mmol/l. Na Bland – Altmanově diagramu 1 (graf č. 2), kde je difference vyjádřena v mmol/l, nepřesahuje žádné měření maximální povolenou odchylku pro hodnoty koncentrace glukózy pod 3,3 mmol/l. Hodnota reprodukovatelnosti pro koncentraci glukózy nižší nebo rovno 4,2 mmol/l, která se

podle doporučení uvádí pomocí výběrové směrodatné odchylky v mmol/l, byla stanovena 0,09 mmol/l, pro koncentraci glukózy vyšší než 4,2 mmol/l kde se hodnota reprodukovatelnosti udává pomocí variačního koeficientu v procentech, byla stanovena 2,4 %.

Hodnoty opakovatelnosti byly stanoveny z mého měření pro první vzorek s koncentrací glukózy pod dolní hranicí referenčních mezí 0,08 mmol/l, pro druhý vzorek, který se nachází uvnitř referenčního rozmezí 2,4 %, třetí vzorek nad horní hranicí referenčních mezí má hodnotu opakovatelnosti 1,9 %.

Vychýlení bylo dosaženo u prvního vzorku 0,0 %, u 2. vzorku 0,0 %, u třetího vzorku 0,8 %.

Glukometr Optium Omega z mnou stanovených hodnot opakovatelnosti, reprodukovatelnost a vychýlení splňuje podmínky analytické kvality uvedené ve zmíněném závazném doporučení (8).

Další neméně důležitou statistickou veličinou je výtěžnost. Pro první vzorek (koncentrace glukózy nižší než 4,2 mmol/l) a pro druhý vzorek (koncentrace glukózy z intervalu od 4,2 mmol/l do 7,0 mmol/l včetně) byla zjištěna hodnota výtěžnosti 100 %. Pro třetí vzorek (koncentrace glukózy z intervalu nad 7,0 mmol/l) byla výtěžnost stanovena 99,2 %. Vzhledem k tomu, že se výtěžnost testovaného osobního glukometru pohybovala v těsné blízkosti 100%, lze ji považovat za výbornou.

Součástí příslušenství glukometru jsou i lahvičky s kontrolními materiály. Tyto kontrolní materiály slouží uživatelům glukometru k průběžné kontrole správnosti měřicího systému glukometru.

V každém balení testovacích proužků je příbalový letáček s deklarovanými parametry analytické kvality příslušné šarže proužků jako je směrodatná odchylka a variační koeficient pro tři různé koncentrace glukózy. Pro vzorek s uvedenou koncentrací glukózy 2,4 mmol/l je uvedená hodnota směrodatné odchylky 0,1 mmol/l a variační koeficient 4,1 %. Pro vzorek s uvedenou koncentrací glukózy 10,8 mmol/l je uvedená směrodatná odchylka 0,2 mmol/l a variační koeficient 1,8 % a pro vzorek s deklarovanou koncentrací glukózy 21,1 mmol/l je směrodatná odchylka 0,41 mmol/l, variační koeficient 2,0 %. Pro srovnání zde uvádím hodnoty pro reprodukovatelnost

získané z mého výzkumu. Směrodatná odchylka pro hodnoty glukózy pod 4,2 mmol/l byla mnou zjištěna 0,09 mmol/l a variační koeficient 3 %. Směrodatná odchylka pro hodnoty glukózy nad 4,2 mmol/l byla zjištěna 0,45 mmol/l a variační koeficient 2,4 %. Analytické parametry směrodatná odchylka a variační koeficient mnou zjištěné vykazují u vzorků s nízkou koncentrací glukózy vysokou míru shody s deklarovanými hodnotami. U vzorků s vyšší koncentrací glukózy nebylo dosaženo tak vysoké míry shody s deklarovanými hodnotami. Mnou zjištěné hodnoty, dle mého názoru reálnější, však plně vyhovují podmínkám analytické kvality uvedené v doporučení Laboratorní diagnostika a sledování stavu diabetu mellitu.

V příbalovém letáčku k testačním stripům postrádám další, dle mého názoru důležité analytické znaky, kterými jsou difference měření, vychýlení (bias) metody, opakovatelnost měření a výtěžnost.

Dále jsem se zaměřila na ověření pracovního měřicího rozmezí udaného výrobcem přístroje Optimum Omega. V návodu k obsluze přístroje je uvedeno pracovní měřicí rozmezí 1,1 – 27,8 mmol/l. V příbalovém letáčku testovacích proužků je však uvedeno pracovní měřicí rozmezí 2,8 – 27,05 mmol/l, které se tedy výrazně liší od pracovního měřicího rozmezí uvedeného v návodu k obsluze přístroje.

Při mém výzkumu jsem zjistila, že nejnižší naměřenou hodnotou s požadovanou přesností a správností pro danou šarži testačních proužků je vzorek s koncentrací glukózy s hodnotou 2,4 mmol/l. Pokud je hodnota koncentrace nižší, glukometr měří přesně, ale méně správně až zhruba do koncentrace glukózy 1,1 mmol/l. Pro nižší koncentrace glukózy se na displeji glukometru zobrazilo, že je měřená koncentrace nízká, tj. LO. Při vysoké koncentraci glukózy 24,8 mmol/l měří glukometr méně správně a méně přesně. Při měření koncentrace glukózy 26,9 mmol/l se na displeji glukometru zobrazilo, že koncentrace glukózy v měřeném vzorku je vysoká, tj. HI. Při měření vzorku s koncentrací glukózy 24,0 mmol/l bylo zjištěno, že přístroj měří již dostatečně přesně a správně.

Pro glukometr Optimum Omega bych na základě vlastního výzkumu doporučila bezpečný pracovní měřicí rozsah v intervalu 2,8 – 24,0 mmol/l.

Hodnoty nižší než je dolní limit kvantifikace 2,8 mmol/l mohou být zatíženy neakceptovatelnou chybou.

S odkazem na výše uvedené ověřené pracovní měřicí rozmezí 2,8 – 24,0 mmol/l splňuje přístroj požadavky na sebesledování hladiny glukózy u diabetiků, kdy lze s dostatečnou přesností a správností odlišit hodnoty glukózy, kdy se hodnota glykémie sledovaného pacienta nachází v referenčním rozmezí, hypoglykémii eventuelně v hyperglykémii, přičemž u extrémních hodnot pacient získá informaci, že hodnota glykémie je nízká (LO) nebo vysoká (HI).

6. ZÁVĚR

Cílem mé práce bylo ověření (verifikace) funkčnosti glukometru Optium Omega pomocí rutinní metody Laboratoře klinické chemie Nemocnice České Budějovice, a.s. v přísném souladu s jeho zamýšleným použitím v rámci POCT. Ověření bylo provedeno podle plánu porovnávání, který zahrnoval zjištění hodnot opakovatelnosti, reprodukovatelnosti měření, vychýlení a výtěžnosti metody, porovnatelnost metod a ověření pracovního rozsahu přístroje. Vše bylo provedeno v souladu s dokumenty (5, 8, 9, 14), které se mimo jiné zabývají také touto problematikou. Z výsledků vyplynulo, že glukometr Optium Omega splnil požadavky uvedené ve zmíněných dokumentech a je tudíž vhodný pro použití v režimu point – of – care testing.

Hypotéza, že rozsah a hloubka verifikace odpovídá potřebě získat dostatek údajů k rozhodnutí, zda je přístroj skutečně vhodný pro zamýšlený účel, tj. splňuje kritéria v plném rozsahu pro jeho použití v POCT, byla potvrzena.

Ráda bych se ještě vrátila k porovnatelnosti metod, která je graficky znázorněna pomocí Bland – Altmanova diagramu. V grafu by mohly být pro úplnost uvedeny horní i dolní meze a meze biasu (vychýlení), aby byly zřetelné odlehlé hodnoty, které by se za jistých podmínek měly vyloučit. Výpočet mezí je však již nad rámec bakalářské práce, proto je zde neuvádím.

Na závěr bych uvedla problémy, související s používáním glukometru v praxi, na které jsem narazila během mého výzkumu. Za nedostatečné považuji statistické hodnocení funkčnosti glukometru, které by mělo být uvedeno od výrobce, chybí zde údaje o celkové chybě měří, vychýlení metody aj. Statistické hodnocení je uvedeno pouze na letáčku testovacích proužků velmi drobným, téměř nečitelným písmem. Tyto údaje by se podle mého názoru měly uvádět ve specifikaci systému Optium Omega, která je součástí návodu k obsluze přístroje a je psaná dostatečně velkým písmem, dobře čitelným pro uživatele přístroje. V již zmíněné specifikaci je uveden pouze rozsah měření glukometru (1,1 – 27,8 mmol/l), ale v letáčku testovacích proužků je uveden rozsah měření glukometru jiný a to 2,8 – 27,5 mmol/l. Podle mých zkušeností

s měřením na tomto glukometru bych navrhovala rozsah měření 2,8 – 24 mmol/l. V těchto hodnotách měřil glukometr správně a přesně. Statistické hodnocení glukometru by mělo být nejdůležitějším kritériem při výběru přístroje. Uživatelé by měly být dostatečně informovány a sami dbát na pravidelnou analytickou kontrolu svého přístroje.

V téměř nečitelném příbalovém letáčku testovacích proužků jsou uvedeny důležité informace pro uživatele, týkající se provedení měření glykémie, skladování a používání proužků a kontrolních roztoků. Tyto údaje by měly být popsány v návodu na obsluhu přístroje podrobněji a čitelněji.

Hodnoty rozsahu měření u vysoké a nízké koncentrace kontrolních roztoků jsem marně hledala na lahvičce s kontrolními roztoky. V návodu k obsluze přístroje nebyla o hodnotách žádná zmínka. Opět na špatně čitelném příbalovém letáčku k testovacím proužkům jsem narazila na odkaz, že hodnoty rozsahu měření kontrolního roztoku jsou uvedeny na ampulce s testovacími proužky. Myslím si, že by tato informace měla být zvýrazněna.

7. SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

- (1) **ABBOT Laboratories, s.r.o.,** *Návod k obsluze přístroje Optium Omega*, součást sady systému Optium Omega, 2007.
- (2) **ABBOT Laboratories, s.r.o.** *Proužky pro testování glykémie Optium Omega*, příbalový leták testovacích proužků, 2007.
- (3) **ABBOT Laboratories, s.r.o.,** *Systém Optium Omega*. prezentace firmy Abbot 2006, [on line]. Platný email: anetaturkova@seznam.cz od kasparo@nemcb.cz. 24.3.2009.
- (4) **ANDĚL, Michal, a kol.** *Diabetes mellitus: současný pohled na patogenezi, klasifikaci a léčbu* [on line]. [cit.2009-01-10].
Dostupné z <<http://www.neurologiepropraxi.cz/pdfs/neu/2007/01/13.pdf>>
- (5) **BERÁNEK M. a kol.** *Doporučení Správné zavádění a používání POCT*, vydáno 17. 9. 2006, [on line]. [cit.2009-04-01].
Dostupné z : <<http://www.cskb.cz/cskb.php?pg=doporuceni--poct-spravne-zavadeni-a-pouzivani>>
- (6) **ČESKÁ DIABETOLOGICKÁ SPOLEČNOST** *Materiální zajištění pro sebekontrolování hladin krevního cukru u nemocných cukrovkou*. [on line]. Stanovisko ze dne 9. 2. 2005 [cit.2009-04-09].
Dostupné z <<http://www.diab.cz/modules/Standardy/prouzky.pdf>>
- (7) **DOHNAL, L., ŠTERN, P.** *Stanovení glukózy glukometrem – mýty a skutečnost*. [on line]. [cit.2009-04-02].
Dostupné z <<http://www.stapro.cz/bullfons/32008/varia2.pdf>>
- (8) **FRIEDECKÝ, Bedřich** *Laboratorní diagnostika a sledování stavu diabetu mellitu*. [on line]. [cit.2009-03-14]. Dostupné z <<http://www.cskb.cz/res/file/dokumenty/laboratorni-diagnostika-a-sledovani-diabetu-mellitu.pdf>>
- (9) **FRIEDECKÝ, Bedřich** *Laboratorní vyšetřování diagnosy a sledování diabetu*. [on line]. [cit.2009-04-24] , 2008. Dostupné z < <http://www.sekk.cz> >

- (10) **FRIEDECKÝ, Bedřich, ŠPRONGL, Luděk, KRATOCHVÍLA, Josef** *Validace a verifikace analytických metod v klinických laboratořích.* [on line]. Datum vydání 16.11.2004 [cit.2009-04-09]. Dostupné z <<http://www.cskb.cz/cskb.php?pg=doporuceni--validace-a-verifikace-metod>>
- (11) **HENDL, Jan** *Statistické přístupy k porovnávání biomedicínkových metod měření.* [on line]. [cit.2009-04-21]. Dostupné z <<http://oic.ftvs.cuni.cz/hendl/blandaltmanclanek1.pdf>>
- (12) **IMUNOLOGICKÉ PRACOVÍŠTĚ Zdravotního ústavu se sídlem v Ústí nad Labem, Autoimunita – orgánově nespecifické autoprotilátky I.** [on line]. [cit.2009-04-21]. Dostupné z <<http://www.imunol-usti.cz/index.php?stranka=autoimunita>>
- (13) **KAJABOVÁ, M.** *Organizace provozu glykemické laboratoře OKB FN Olomouc.* . [on line]. [cit.2009-04-10]. Dostupné z <<http://www.stapro.cz/bullfons/32008/lab01.pdf>>
- (14) **KALLA, Karel, ZIMA Tomáš, ŠKRHA Jan** *Doporučení Zabezpečování jakosti měření glukometry při použití v režimu point-of-care testing.* [on line]. [cit.2009-04-01]. vydáno 12. 9. 2000, Dostupné z <<http://www.cskb.cz/cskb.php?pg=doporuceni--glukometry>>
- (15) **KREJSEK, Jan, KOPECKÝ, Otakar** *Klinická imunologie.* Pardubice: Nukleus HK, 2004, str. 615 – 619, ISBN 80 – 86225 – 50 - X
- (16) **LEBL, Jan, ZAPLETALOVÁ, Jiřina, KOLOUŠKOVÁ, Stanislava** *Dětská endokrinologie.* Praha: Galén, 2004, str. 385 – 386, ISBN 80-7262-250-1
- (17) **LOTHAR, T.** *Clinical laboratory diagnostics,* TH – Books Verlagsgesellschaft mbH, Frankfurt: TH – Books Verlagsgesellschaft mbH, 1998, str.131, ISBN 3-9805215-4-0
- (18) **MANUÁL k přístroji SensoStar G,** Nemocnice České Budějovice, oddělení Laboratoř klinické biochemie, poskytnuto dne 24. 3. 2009

(19) **MASOPUST, J.** *Klinická biochemie – Požadování a hodnocení biochemických vyšetření část I.* Praha: Karolinum, 1998, str. 94, 95. ISBN 80-7184-648-1

(20) **NOVONORDISK** *Hyperglykémie* [on line]. [cit.2009-01-10]. Dostupné z <http://www.diabetesmellitus.cz/WebSite/Content/01_top_menu/02_zivot_diab1/vy_av_as_organismus/hyperglykemie.aspx >

(21) **RACEK, Jaroslav** *Klinická biochemie*. Druhé, přepracované vydání. Praha: Galén, 2006, str. 163 – 168. ISBN 80-7262-324-9

(22) **SELFMONITORING glykémie pro pacienty léčené inzulínem.** [on line]. [cit.2009-03-06]. Dostupné z <http://www.abbottdiabetescare.cz/App_Publisher/UserFiles/Articles/diabetescare/self_monitoring_inzulin.pdf > ,

(23) **ŠPIČKA, Jiří** *Biochemie*. České Budějovice: JIHOČESKÁ UNIVERZITA, 2004, str.56. ISBN 80-7040-683-6

(24) **VAN GARSSE, Kirsten** *Tosoh's G7 Sets the Standards! Variant mode analysis Chromatogram interpretation Guide*, Prezentace od firmy MEDESA,s.r.o., 2006. [on line]. Platný email: anetaturkova@seznam.cz od kasparo@nemcb.cz, 23.4.2009

(25) **WAGNER, Petr** *Laboratorní referenční hodnoty*. Praha: Triton, 2002, str.12 ISBN 80- 7254-265-6

(26) **ZAMRAZIL, Václav, VONDRA, Karel, ŠIMEČKOVÁ, Aranka** *Časná stadia diabetes mellitus*, Praha: MAXDORF s.r.o., 1997, str. 83 – 86, ISBN 80-85800-74-8

(27) **ZIMA, Tomáš** *Laboratorní diagnostika*. Praha: Galén, 2002, str. 118. ISBN: 80 – 7262 – 201 – 3.

(28) **ZVÁROVÁ, Jana** *Základy statistiky pro biomedicínské obory*. [on line]. [cit.2009-04-29]. Dostupné z <<http://new.euromise.org/czech/tajne/ucebnice/html/html/statist.html>>

8. KLÍČOVÁ SLOVA

Diabetes mellitus

Glukometr

Opakovatelnost

Porovnatelnost

Pracovní rozsah

Reprodukovatelnost

Výchýlení

Výtěžnost

9. PŘÍLOHY

9.1 Seznam příloh

Příloha číslo 1 – Vrstvení testovacího proužku

Příloha číslo 2 – Vzorky pokrývající celý interval měření

Příloha číslo 3 – Zdroj dat pro výpočet opakovatelnosti, výtěžnosti a vychýlení

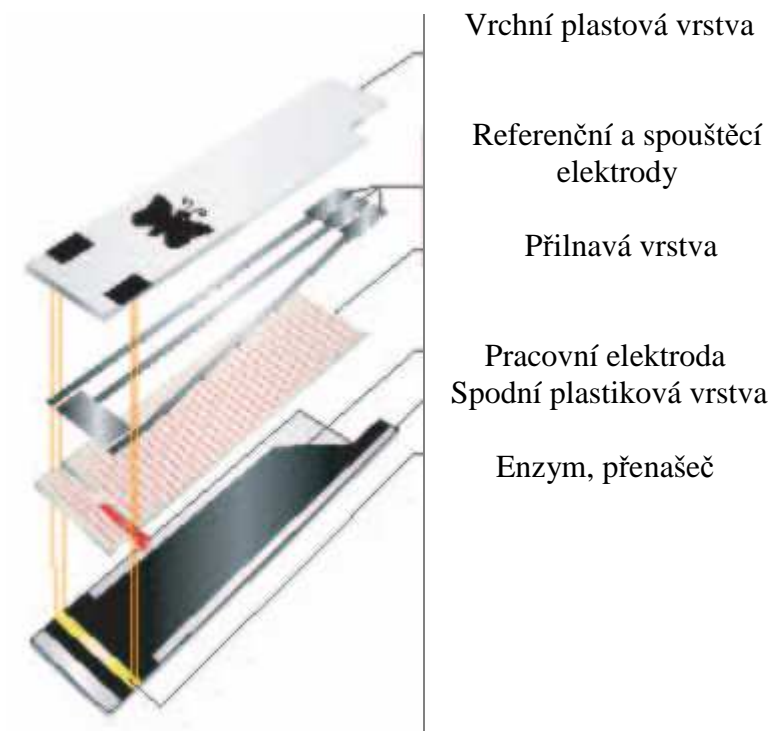
Příloha číslo 4 – Zdroj dat pro porovnatelnost

Příloha číslo 5 – Zdroj dat pro bodový graf

Příloha číslo 6 – Zdroj dat pro Bland – Altmanovy diagramy

Příloha číslo 7 – Zdroj dat pro výpočet reprodukovatelnosti

Příloha číslo 1 – Vrstvení testovacího proužku



Zdroj: Prezentace Systému Optium Omega

Příloha číslo 2 – Vzorke pokrývající celý interval měření

Vzorek 1		Vzorek 2	
SensoStar G [mmol/l]	Glukometr [mmol/l]	SensoStar G [mmol/l]	Glukometr [mmol/l]
3,0	3,1	4,6	4,7
3,0	3,0	4,6	4,7
	2,9		4,6
	3,1		4,4
	3,0		4,7
	2,9		4,7
	2,9		4,7
	2,9		4,7

	3,0		4,7
	3,0		4,6
			4,7
			4,5
			4,4
			4,6
			4,6
			4,7
			4,6
			4,5
			4,5
			4,5

Vzorek 3	
SensoStar G [mmol/l]	Glukometr [mmol/l]
13,1	13,3
13,1	12,8
12,9	12,7
	12,9
	12,7
	12,6
	12,7
	13,0
	12,7
	13,1
	12,8
	12,7
	13,0
	12,6
	12,5
	12,7
	12,7
	13,3
	13,3
	12,9

Zdroj: Vlastní výzkum

Příloha číslo 3 – Zdroj dat pro výpočet opakovatelnosti, výtěžnosti a vychýlení

	Vzorek 1	Vzorek 2	Vzorek 3
Průměrná hodnota SensoStar G [mmol/l]	3,0	4,6	13,0
Glukometr [mmol/l]	3,1	4,7	13,3
	3,0	4,7	12,8
	2,9	4,6	12,7
	3,1	4,4	12,9
	3,0	4,7	12,7
	2,9	4,7	12,6
	2,9	4,7	12,7
	2,9	4,7	13,0
	3,0	4,7	12,7
	3,0	4,6	13,1
		4,7	12,8
		4,5	12,7
		4,4	13,0
		4,6	12,6
		4,6	12,5
		4,7	12,7
		4,6	12,7
		4,5	13,3
		4,5	13,3
		4,5	12,9

Zdroj: Vlastní výzkum

Příloha číslo 4 – Zdroj dat pro porovnatelnost

Vzorky	SensoStar G [mmol/l]	Glukometr [mmol/l]	
1.	4,6	4,2	4,8
2.	5,2	5,0	4,9
3.	6,6	6,1	5,5
4.	5,4	4,8	4,7

5.	4,4	3,2	4,0
6.	3,3	3,1	3,3
7.	4,7	4,4	4,0
8.	9,8	9,8	10,5
9.	6,5	6,5	7,7
10.	8,0	9,2	9,1
11.	4,5	4,6	4,8
12.	3,8	3,8	3,8
13.	5,5	6,2	5,6
14.	13,7	17,4	17,0
15.	8,2	9,0	8,6
16.	9,8	8,3	9,2
17.	8,9	8,8	8,4
18.	10,3	9,9	10,7
19.	12,6	11,6	11,3
20.	6,6	6,3	6,4
21.	8,9	9,8	10,0
22.	13,2	12,3	12,3
23.	17,3	16,5	16,6
24.	12,7	12,7	12,1
25.	5,4	5,1	5,2
26.	7,0	6,7	7,3
27.	8,5	7,7	7,2
28.	7,5	7,2	7,2
29.	3,7	3,7	3,7
30.	3,0	3,8	3,9
31.	5,3	5,4	5,3
32.	3,7	3,4	3,6
33.	2,4	2,7	2,8
34.	4,6	4,5	4,5
35.	3,5	3,8	3,4
36.	3,9	3,7	3,8
37.	4,2	3,7	3,8
38.	4,2	4,1	4,0
39.	3,6	3,5	3,4
40.	8,8	8,6	9,7
41.	7,7	5,6	5,8
42.	10,1	10,1	9,6
43.	15,5	16,3	16,3

44.	10,8	12,4	10,8
45.	7,7	7,3	7,3
46.	11,3	10,8	10,6
47.	11,1	12,0	11,8
48.	4,0	4,4	4,7
49.	12,9	12,1	11,2
50.	4,4	4,8	5,1
51.	1,9	1,4	1,4
52.	24,8	25,6	25,3
53.	26,9	nezměřil	nezměřil

Zdroj: Vlastní výzkum

Příloha číslo 5 – Zdroj dat pro bodový graf

Průměr glukometru [mmol/l]	X = Sensostar [mmol/l]	Y = průměr glukometru [mmol/l]
4,5	4,6	4,5
5,0	5,2	5,0
5,8	6,6	5,8
4,8	5,4	4,8
3,6	4,4	3,6
3,2	3,3	3,2
4,2	4,7	4,2
10,2	9,8	10,2
7,1	6,5	7,1
9,2	8,0	9,2
4,7	4,5	4,7
3,8	3,8	3,8
5,9	5,5	5,9
17,2	13,7	17,2
8,8	8,2	8,8
8,8	9,8	8,8
8,6	8,9	8,6
10,3	10,3	10,3
11,5	12,6	11,5
6,4	6,6	6,4
9,9	8,9	9,9
12,3	13,2	12,3
16,6	17,3	16,6

12,4	12,7	12,4
5,2	5,4	5,2
7,0	7,0	7,0
7,5	8,5	7,5
7,2	7,5	7,2
3,7	3,7	3,7
3,9	3,0	3,9
5,4	5,3	5,4
3,5	3,7	3,5
2,8	2,4	2,8
4,5	4,6	4,5
3,6	3,5	3,6
3,8	3,9	3,8
3,8	4,2	3,8
4,1	4,2	4,1
3,5	3,6	3,5
9,2	8,8	9,2
5,7	7,7	5,7
9,9	10,1	9,9
16,3	15,5	16,3
11,6	10,8	11,6
7,3	7,7	7,3
10,7	11,3	10,7
11,9	11,1	11,9
4,6	4,0	4,6
11,7	12,9	11,7
5,0	4,4	5,0
1,4	1,9	1,4
25,5	24,8	25,5

Zdroj: Vlastní výzkum

Příloha číslo 6 – Zdroj dat pro Bland – Altmanovy diagramy

Průměry obou metod [mmol/l]	Diference obou metod [%]	Průměry obou metod [mmol/l]	Diference obou metod [mmol/l]
4,6	-2,2	4,6	-0,1
5,1	-3,8	5,1	-0,2
6,2	-12,1	6,2	-0,8
5,1	-11,1	5,1	-0,6
4,0	-18,2	4,0	-0,8
3,3	-3,0	3,3	-0,1
4,5	-10,6	4,5	-0,5
10,0	4,1	10,0	0,4
6,8	9,2	6,8	0,6
8,6	15,0	8,6	1,2
4,6	4,4	4,6	0,2
3,8	0,0	3,8	0,0
5,7	7,3	5,7	0,4
15,5	25,5	15,5	3,5
8,5	7,3	8,5	0,6
9,3	-10,2	9,3	-1,0
8,8	-3,4	8,8	-0,3
10,3	0,0	10,3	0,0
12,1	-8,7	12,1	-1,1
6,5	-3,0	6,5	-0,2
9,4	11,2	9,4	1,0
12,8	-6,8	12,8	-0,9
17,0	-4,0	17,0	-0,7
12,6	-2,4	12,6	-0,3
5,3	-3,7	5,3	-0,2

x	y %	y mmol	x	y mmol1	y mmol2	y %1	y %2
3,3	50,0	5,0	0,0	0,8	-0,8	15,0	-15,0
3,3	-50,0	-4,0	35,0	0,8	-0,8	15,0	-15,0

Zdroj: Vlastní výzkum

Příloha číslo 7 – Zdroj dat pro výpočet reprodukovatelnosti

Dny	Pozitivní kontrola [mmol/l]	Negativní kontrola [mmol/l]
1.	18,6	2,9
2.	18,8	3,0
3.	18,9	2,9
4.	17,7	3,1
5.	19,0	2,9
6.	17,8	3,0
7.	18,6	2,8
8.	18,7	3,1
9.	18,8	3,0
10.	18,3	3,0

Zdroj: Vlastní výzkum