

Glükóz és HbA1c módszerek  
bizonyítékokon alapuló alkalmazása  
diabetes mellitus laboratóriumi  
diagnosztikájában és gondozásában.

Ajzner Éva, SzSzBM Kórház, Központi Laboratórium

# Diabetes mellitus definíciója

- metabolikus rendellenesség, melyben a glükóz sérült/csökkent anyagcserében való hasznosítása hiperglikémiához vezet
- A szénhidrát (protein és lipid) anyagcsere zavarainak összessége, melyben a glükóz nem megfelelően hasznosul a szervezetben és hyperglycaemia alakul ki. (*American Diabetes Association 1997*)
- Hátterében az inzulin szekréció defektusa vagy szöveteken való hatástalansága vagy mindkettő állhat.

## A DM gyakori

- Majd 250 millió beteg (IDF 2005)
- A 7. leggyakoribb halálok
- A kezelés költségei magasak
  - U.S. 2002: \$ 98 billion
  - UK: 10% of the National Health Service budget (£ 49 billion)
- A kezelés magában foglalja:
  - Az akut ellátásokat (hypoglycaemia and ketoacidosis)
  - Micro-(retinopathia, neuropathia, nephropathia, and macrovascularis komplikációkat (stroke, coronaria betegségek)

# Classification of Diabetes

- Type 1 diabetes
  - $\beta$ -cell destruction
- Type 2 diabetes
  - Progressive insulin secretory defect
- Other specific types of diabetes
  - Genetic defects in  $\beta$ -cell function, insulin action
  - Diseases of the exocrine pancreas
  - Drug- or chemical-induced
- Gestational diabetes mellitus (GDM)

# Diabetes mellitus diagnosztikus kritériumai

(WHO 1999, \*ADA 2014, \*2011



)

- éhomi szérum glükóz  $\geq 7$  mmol/L.

Az éhomi (az utolsó étkezéstől legalább 8 óra telt el) vércukorszint ismételten eléri, meghaladja a 7 mmol/L-t, az

- OGTT 120. percében  $\geq 11,1$  mmol/L

Az OGTT 120 percében a szérum glükóz ismételten eléri, meghaladja a 11,1 mmol/l-t,

- random szérum glükóz  $\geq 11,1$  mmol/L

A randomszerűen vett vérből a vércukorérték ismételten/tünetek mellett eléri, meghaladja a 11,1 mmol/l-t

- HbA1c  $\geq 6,5\%^*$

A randomszerűen vett vérből a vércukorérték ismételten/tünetek mellett eléri, meghaladja a 11,1 mmol/l-t

# DM és prediabetes diagnosztikai határértékek

Diagnózis	Mintavétel ideje	Kapilláris teljes vér	Vénás plazma
Nem diabetes	Éhomi	< 5,6* (4,6**)	< 6,1* (5,6**)
<b>Diabetes Mellitus</b>	Éhomi 2h OGTT	≥ 6,1 vagy ≥ 11,1	≥ 7,0 vagy ≥ 11,1
<b>Impaired Glucose Tolerance</b>	Éhomi 2h OGTT (75g)	NS ≥ 7,8 - < 11,1	NS ≥ 7,8 - < 11,1
<b>Impaired Fasting Glucose</b>	Éhomi 2h OGTT	≥ 5,6 < 6,1 NS	≥ 6,1*/5,6** < 7,0 ≥ NS

## PREDIABETES

- Rizikó faktor DM, CVD
- Visceral obesity
- Dyslipidaemia
- RR

**HbA1c: 5,7-6,4%**

**\*WHO \*\*ADA 2014**

# Executive Summary: Standards of Medical Care in Diabetes—2014

## Diabetes Care: Glycemic Control

- Two primary techniques available for health providers and patients to assess effectiveness of management plan on glycemic control
  - Patient self-monitoring of **blood glucose** (SMBG), or interstitial glucose
  - **HbA1C**

# ADA Evidence Grading System for Clinical Practice Recommendations

Level of Evidence	Description
A	Clear or supportive evidence from adequately powered well-conducted, generalizable, randomized controlled trials  Compelling nonexperimental evidence
B	Supportive evidence from well-conducted cohort studies or case-control study
C	Supportive evidence from poorly controlled or uncontrolled studies  Conflicting evidence with the weight of evidence supporting the recommendation
E	Expert consensus or clinical experience



# *Laboratory Medicine Practice Guidelines*

## **Guidelines and Recommendations for Laboratory Analysis in the Diagnosis and Management of Diabetes Mellitus**

Edited by David B. Sacks

**Table 3. Matrix for the assignment of grades to guideline recommendations.**

<b>Strength of recommendation (Table 2)</b>	<b>Quality of evidence (Table 1)</b>	<b>Agreement of experts</b>
A: Strongly recommended	High Moderate	Strong–very strong
B: Recommended	Moderate Low Very low	Moderate Strong–very strong Very strong
C: Insufficient information to make recommendation	Very low Low, moderate, high	No agreement or very weak
GPP: Good practice point	Expert consensus on best practice	

**Table 1. Grading the quality of evidence.**

THE QUALITY OF THE BODY OF EVIDENCE IS BASED ON:
<p><b>Level of evidence:</b> This refers to the detailed study methods and the quality of their execution, i.e., the methodological quality of <i>individual</i> studies. The level of evidence can be:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>– <i>High:</i> if the study has an appropriate design for the question being asked and if it is well conducted in representative populations and is free from design-related biases.</li> <li>– <i>Moderate:</i> if the study has an appropriate design for the question being asked but suffers from some design-related biases that might influence the conclusions to a certain extent but would not affect patient-important outcomes or conclusions significantly.</li> <li>– <i>Low:</i> if the study is wrongly designed and conducted and there is a high likelihood that its conclusions are grossly biased and misleading.</li> </ul>
<p><b>Consistency of results across various studies:</b> i.e., when results are heterogeneous across studies, inconsistency of results lowers the strength of evidence.</p>
<p><b>Directness of comparisons:</b> Indirectness applies and lowers quality when, for example:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>– Evidence is indirectly related to the actual question;</li> <li>– The study population differs from that to which the study results would be applied in practice;</li> <li>– The test in the study differs (e.g., in its analytical performance, or a new generation of the same test has emerged) from the one commonly used or recommended in practice;</li> <li>– The outcome of interest for the guideline differs from the one studied in the trial.</li> </ul>
<p><b>Precision-of-effect estimates:</b> If the study is relatively small and includes few patients or events, the confidence interval around the effect estimate is relatively large, and imprecision of results leads to downgrading the quality of evidence.</p>
RATING SCALE FOR THE OVERALL QUALITY OF THE BODY OF EVIDENCE:
<p><b>High:</b> Further research is very unlikely to change our confidence in the estimate of effect. The body of evidence comes from high-level individual studies that are sufficiently powered and provide precise, consistent, and directly applicable results in a relevant population.</p>
<p><b>Moderate:</b> Further research is likely to have an important impact on our confidence in the estimate of effect and may change the estimate and the recommendation. The body of evidence comes from high-/moderate-level individual studies that are sufficient to determine effects, but the strength of the evidence is limited by the number, quality, or consistency of the included studies; by the generalizability of results to routine practice; or indirect nature of the evidence.</p>
<p><b>Low:</b> Further research is very likely to have an important impact on our confidence in the estimate of effect and is likely to change the estimate and the recommendation. The body of evidence is of low level and comes from studies with serious design flaws or with evidence that is indirect.</p>
<p><b>Very low:</b> Any estimate of effect is very uncertain. Recommendation may change when higher-quality evidence becomes available. Evidence is insufficient to assess the effects on health outcomes because of limited number or power of studies, important flaws in their design or conduct, gaps in the chain of evidence, or lack of information.</p>

**Table 2. Grading the strength of recommendations.**

A. THE NACB STRONGLY RECOMMENDS ADOPTION
<p>Strong recommendations for adoption are made when:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>● There is high-quality evidence and strong or very strong agreement of experts that the intervention improves important health outcomes and that benefits substantially outweigh harms; or</li> <li>● There is moderate-quality evidence and strong or very strong agreement of experts that the intervention improves important health outcomes and that benefits substantially outweigh harms.</li> </ul>
<p>Strong recommendations <i>against</i> adoption are made when:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>● There is high-quality evidence and strong or very strong agreement of experts that the intervention is ineffective or that benefits are closely balanced with harms, or that harms clearly outweigh benefits; or</li> <li>● There is moderate-quality evidence and strong or very strong agreement of experts that the intervention is ineffective or that benefits are closely balanced with harms, or that harms outweigh benefits.</li> </ul>
B. THE NACB RECOMMENDS ADOPTION
<p>Recommendations for adoption are made when:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>● There is moderate-quality evidence and level of agreement of experts that the intervention improves important health outcomes and that benefits outweigh harms; or</li> <li>● There is low-quality evidence but strong or very strong agreement and high level of confidence of experts that the intervention improves important health outcomes and that benefits outweigh harms; or</li> <li>● There is very low-quality evidence but very strong agreement and very high level of confidence of experts that the intervention improves important health outcomes and that benefits outweigh harms.</li> </ul>
<p>Recommendations <i>against</i> adoption are made when:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>● There is moderate-quality evidence and level of agreement of experts that the intervention is ineffective or that benefits are closely balanced with harms, or that harms outweigh benefits; or</li> <li>● There is low-quality evidence but strong or very strong agreement and high level of confidence of experts that the intervention is ineffective or that benefits are closely balanced with harms, or that harms outweigh benefits; or</li> <li>● There is very low-quality evidence but very strong agreement and very high level of confidence of experts that the intervention is ineffective or that benefits are closely balanced with harms, or that harms outweigh benefits.</li> </ul>
C. THE NACB CONCLUDES THAT THERE IS INSUFFICIENT INFORMATION TO MAKE A RECOMMENDATION
<p>Grade C is applied in the following circumstances:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>● Evidence is lacking, scarce, or of very low quality, the balance of benefits and harms cannot be determined, and there is no or very low level of agreement of experts for or against adoption of the recommendation.</li> <li>● At any level of evidence—particularly if the evidence is heterogeneous or inconsistent, indirect, or inconclusive—if there is no agreement of experts for or against adoption of the recommendation.</li> </ul>
GPP. THE NACB RECOMMENDS IT AS GOOD PRACTICE POINT
<p>Good practice points (GPPs) are recommendations mostly driven by expert consensus and professional agreement and are based on the information listed below and/or professional experience, or widely accepted standards of best practice. This category applies predominantly to technical (e.g., preanalytical, analytical, postanalytical), organizational, economic, or quality-management aspects of laboratory practice. In these cases, evidence often comes from observational studies, audit reports, case series or case studies, nonsystematic reviews, guidance or technical documents, non-evidence-based guidelines, personal opinions, expert consensus, or position statements. Recommendations are often based on empirical data, usual practice, quality requirements, and standards set by professional or legislative authorities or accreditation bodies, etc.</p>

# Kit kell vizsgálni?

Diagnosztika, szűrés

## *Recommendation*

Outcome studies are needed to determine the effectiveness of screening.

C (moderate)

# ADA recommendations: Testing for Diabetes in Asymptomatic Patients

- Test overweight/obese adults (BMI  $\geq 25$  kg/m<sup>2</sup>) with one or more additional risk factors; in those without risk factors, begin testing at age 45 years **B**
- If tests are normal, repeat testing at least at 3-year intervals is reasonable **E**
- To test for diabetes/prediabetes, the A1C, FPG, or 2-h 75-g OGTT are appropriate **B**
- In those with prediabetes, identify and, if appropriate, treat other CVD risk factors **B**

# ADA Recommendation: Screening for Type 2 Diabetes

- Testing to detect type 2 diabetes and prediabetes should be considered in children and adolescents who are overweight and who have two or more additional risk factors for diabetes **E**

# ADA Recommendations: Detection Gestational DM

- Screen for undiagnosed type 2 diabetes at the first prenatal visit in those with risk factors, using standard diagnostic criteria **B**

- Screen for GDM at 24–28 weeks of gestation in pregnant women not previously known to have diabetes **A**

## *Recommendation*

All pregnant women not previously known to have diabetes should undergo testing for GDM at 24–28 weeks of gestation.  
**A (high)**

- Screen women with GDM for persistent diabetes at 6–12 weeks postpartum, using OGTT, nonpregnancy diagnostic criteria **E**
- Women with a history of GDM should have lifelong screening for the development of diabetes or prediabetes at least every 3 years **B**

# Vércukor (mintatípus, mérés helye) DM diagnózis céljából

Vénás plazma

**Recommendation**

When glucose is used to establish the diagnosis of diabetes, it should be measured in venous plasma.

A (high)

**Recommendation**

When glucose is used for screening of high-risk individuals, it should be measured in venous plasma.

B (moderate)

Központi laborban

**Recommendation**

Plasma glucose should be measured in an accredited laboratory when used for diagnosis of or screening for diabetes.

Good Practice Point (GPP)

Éhomi (8 óra) B(low)

**Recommendation**

Blood for FPG analysis should be drawn in the morning after the individual has fasted overnight (at least 8 h).

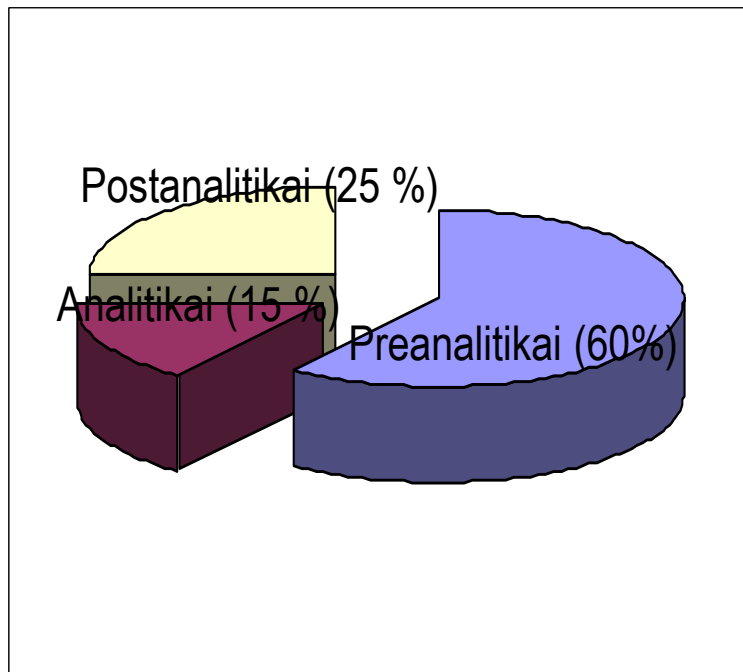
B (low)

# Vércukor meghatározás • - preanalitika

## *Recommendation*

To minimize glycolysis, one should place the sample tube immediately in an ice-water slurry, and the plasma should be separated from the cells within 30 min. If that cannot be achieved, a tube containing a rapidly effective glycolysis inhibitor, such as citrate buffer, should be used for collecting the sample. Tubes with only enolase inhibitors, such as sodium fluoride, should not be relied on to prevent glycolysis.

5 (moderate)



Carrano et al. Clin Chem 2007;53:1338-42

A plazma éhomi glükóz érték diurnális variációt mutat (reggel magasabb mint délután)

Ex vivo (levett mintában) a glükóz értéke csökken elsősorban a vér alakos elemei általi glikolízis következtében.

- Az glikolízis mértéke 5-7%/óra (~ 0,6 mmol/L óránként), befolyásolja a kiindulási vércukor, hőmérséklet, fehérvérsejtszám. Az első négy órát követően 72 óráig stabil marad a vércukor a mintában.
- A glikolízis gátolható Na-fluorid vagy jódacetát EDTA, citrát vagy Litium heparin – hoz adagolt alkalmazásával.
- Bár a fluorid hosszú glükóz stabilitást biztosít, de a mintavételt követő első órában történő vércukor csökkenést (0,17-0,551 mmol/L) nem védi ki.
- A glikolízis minimalizálására heparinos csőben vett mintát azonnal jégbe kell helyezni, majd az alakos elemek elkülönítésére centrifugálni és a plazmát elkülöníteni szükséges. Ha fluorid is van benne akkor 8 órán át 25 C-on stabil vagy 72 órán át 4 fokon. Ez rutin körülmények között nem megvalósítható.



## Az OGTT helyes kivitelezésének kritériumai\*

- A vizsgálatot reggel, éhomyra kell elvégezni, előzetes (8-14 órán át) koplalást követően.
- A terhelést megelőző 3 napon át korlátozás nélküli, de legalább 150 g szénhidrátot tartalmazó étrend tartása szükséges.
- A teszt elvégzése: 75 g vízmentes glukóz 250-300 ml vízben feloldva, 5 perc alatt kell elfogyasztani. (Gyermekek: 1,75 g/testtömeg kg, max: 75 g)
- Vércukor mérés a terheléses vizsgálat 0. és 120. percében
- OGTT reprodukálhatósága (imprecision) 50-66%

\*WHO

# OGTT: Screening for and Diagnosis of Gestational DM “One-step” (IADPSG Consensus)

- Perform a 75-g OGTT, with plasma glucose measurement fasting and at 1 and 2 h, at 24–28 weeks of gestation in women not previously diagnosed with overt diabetes
- Perform OGTT in the morning after an overnight fast of at least 8 h
- GDM diagnosis: when any of the following plasma glucose values are exceeded
  - Fasting:  $\geq 5.1$  mmol/L
  - 1 h:  $\geq 10.0$  mmol/L
  - 2 h:  $\geq 8.5$  mmol/L

## *Recommendation*

Gdm should be diagnosed by a 75-g OGTT according to the IADPSG criteria derived from the HAPO study.

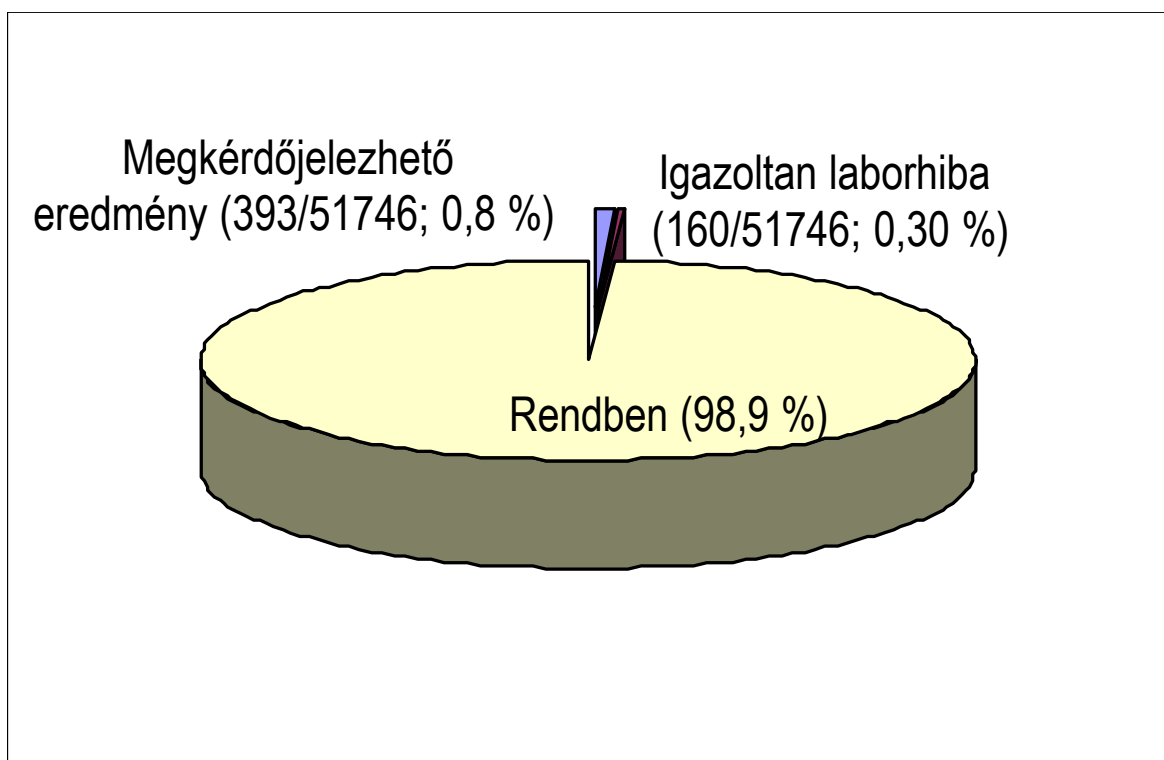
**A (moderate)**

# OGTT: Screening for and Diagnosis of GDM “Two-step” (NIH Consensus)

- Perform 50-g GLT (nonfasting) with plasma glucose measurement at 1 h (Step 1) at 24–28 weeks of gestation in women not previously diagnosed with overt diabetes
- If plasma glucose level measured at 1 h after load is  $\geq 140$  mg/dL\* (7.8 mmol/L), proceed to 100-g OGTT (Step 2) when patient is fasting
- GDM diagnosis: plasma glucose measured 3 h after the test is  $\geq 140$  mg/dL\* (7.8 mmol/L)

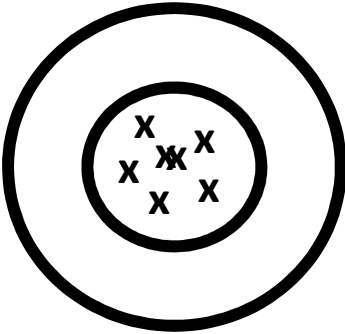
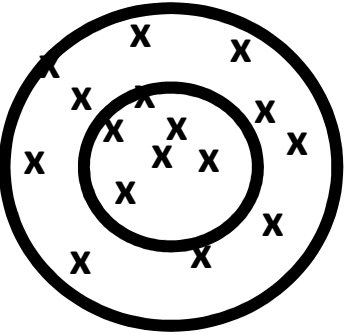
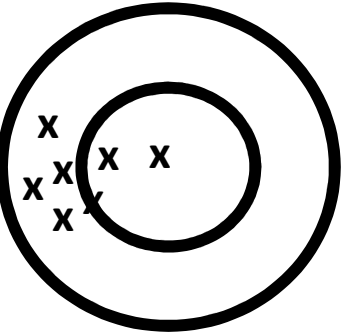
\*ACOG recommends 135 mg/dL in high-risk ethnic minorities with higher prevalence of GDM.

# Vércukor meghatározás analitikai bizonytalansága





összes laborhiba	160
nem megfelelő betegellátást okozott	46
<b>Nem megfelelő betegellátáshoz Vezető hibák döntően analitikai hibák</b>	24 (52%)

# Az analitikai teljesítőképességet a mérési bizonytalansággal jellemezzük

	Ezt szeretnénk	Random hiba	Szisztematikus hiba
Imprecision (repeatability+ reproducibility)	jó	rossz	jó
Valódiság (trueness, bias)	jó	jó	rossz
			

# Elvárt analitikai teljesítőkéesség

	Impr. (%)	Bias / TE anal (%)
	≤2,9	2,2-0 / 6,9
	ADA: ≤ 5	<p>ADA: ≤ 10 (1,67-22,2 mmol/l)</p> <p>ISO 15197: ± 0,83 mmol/L (eredmények 95%) ha vc&lt;4,2 mmol/l ±20% (eredmények 95%) ha vc≥4,2 mmol/l</p>

## *Recommendation*

On the basis of biological variation, glucose measurement should have an analytical imprecision ≤2.9%, A bias ≤2.2%, and a total error ≤6.9%. To avoid misclassification of patients, the goal for glucose analysis should be to minimize total analytical error, and methods should be without measurable bias.

B (low)

## *Recommendation*

Multiple performance goals for portable glucose meters have been proposed. These targets vary widely and are highly controversial. Manufacturers should work to improve the imprecision of current meters, with an intermediate goal of limiting total error for 95% of samples to ≤15% at glucose concentrations ≥5.6 mmol/l (100 mg/dl) and to <0.8 mmol/l (15 mg/dl) at glucose concentrations <5.6 mmol/l (100 mg/dl). Lower total error would be desirable and may prove necessary in tight glucose-control protocols and for avoiding hypoglycemia in all settings.

C (low)

## I.2. A valós teljesítmény különbözősége

	Valós imprecision (%)	TE anal (%)
Minőség-biztosított laboratórium	0,5-1,5	5,47 target vc ~6000 labor 72%-a $\leq 1,1\%$ ; 16%-a $\leq 2,2\%$ ; 12%-a $\leq 3,4\%$
POCT	2,5-8	Vannak eszközök, melyek a régi ( $\pm$ ) ISO 15197 elvárásnak sem felelnek meg. ADA elvárásnak alig felel meg készülék

# Az analitikai teljesítőképesség különbözősége

DM diagnosztikában kritikus pontok	Vénás plazma glükóz (mmol/L)	TE anal: 1,1%		TE anal: 3%		TE anal: 10%		TE anal: 20%		TE anal: 25%	
Nem DM	6,1	6,0	6,2	5,9	6,3	5,5	6,7	4,9	7,3	4,6	7,7
DM éhhomi	7,0	6,9	7,1	6,8	7,2	6,3	7,7	5,6	8,4	5,3	8,8
DM 2h OGTT	11,1	11,0	11,2	10,8	11,4	10,0	12,2	8,9	13,3	8,4	14,0
IGT 2h OGTT alsó	7,8	7,7	7,9	7,6	8,0	7,0	8,6	6,2	9,4	5,9	9,9



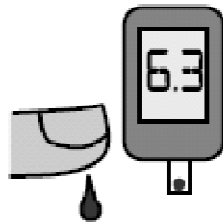
Az analitikai teljesítmények  
különbsége  
és az alkalmazhatóság

■ Központi laboratóriumi  
analizátor:

- DM diagnózisának  
megállapítása

■ Hordozható glukometer:

- Nem ajánlott a diagnózis  
megállapítására
- I-es típusú DM 3x naponta  
SMBG



glucose monitoring

**Recommendation**

There are insufficient published data outcome to support a role for portable meters and skin-prick (finger-stick) blood samples in the diagnosis of diabetes or for population screening.

C (moderate)

**Recommendation**

The imprecision of the results, coupled with the substantial differences among meters, precludes the use of glucose meters from the diagnosis of diabetes and limits their usefulness in screening for diabetes.

A (moderate)

**Recommendation**

SMBG is recommended for all insulin-treated patients with diabetes.

A (high)

**Recommendation**

In patients with type 2 diabetes treated with diet and oral agents, SMBG may help achieve better control, particularly when therapy is initiated or changed. Data are insufficient, however, to claim an associated improvement of health outcomes. The role of SMBG in patients with stable type 2 diabetes controlled by diet alone is not known.

C (high)

# ADA Recommendations: Glucose Monitoring SMBG

SMBG is especially important for patients treated with insulin to monitor for and prevent asymptomatic hypoglycemia and hyperglycemia

- Patients on multiple-dose insulin (MDI) or insulin pump therapy should do SMBG **B**
  - Prior to meals and snacks
  - Occasionally postprandially
  - At bedtime
  - Prior to exercise
  - When they suspect low blood glucose
  - After treating low blood glucose until they are normoglycemic
  - Prior to critical tasks such as driving
- When prescribed as part of a broader educational context, SMBG results may be helpful to guide treatment decisions and/or patient self-management for patients using less frequent insulin injections or noninsulin therapies **E**
- When prescribing SMBG, ensure that patients receive ongoing instruction and regular evaluation of SMBG technique and SMBG results, as well as their ability to use SMBG data to adjust therapy **E**

# ADA Recommendations: Glucose Monitoring CGM

- Continuous glucose monitoring (CGM) with intensive insulin regimens useful tool to lower A1C in selected adults (age  $\geq 25$  years) with type 1 diabetes **A**
- Although evidence for A1C-lowering less strong in children, teens, and younger adults, CGM may be helpful; success correlates with adherence to device use **C**
  - CGM may be a supplemental tool to SMBG in those with hypoglycemia unawareness and/or frequent hypoglycemic episodes **E**

# Vizelet cukor meghatározás

- Vércukor koncentrációról a veseküszöb különbségei (kb 10 mmol/L) miatt nem ad egyértelmű tájékoztatást
- Csak a specifikus glukóz reakción alapuló tesztsíkok használандók (pl GOD)
- Egyszeri vizeletmintából
- Ajánlás (NACB LM): semiquantitatív vizelet cukor meghatározás csak azon DM betegeknél ajánlott, akik nem tudnak otthonukban vércukor önellenőrzést végezni.

## *Recommendation*

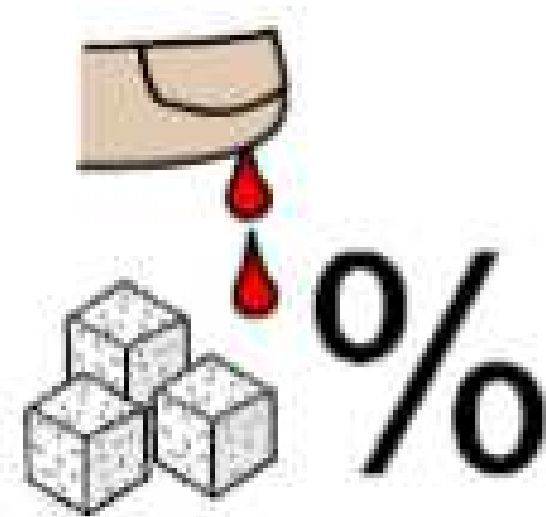
Semiquantitative urine glucose testing is not recommended for routine care of patients with diabetes mellitus.

B (low)



# Diabetes mellitus követésének laboratóriumi markerei

- (Fruktózamin)
- HbA1c



HbA1C%

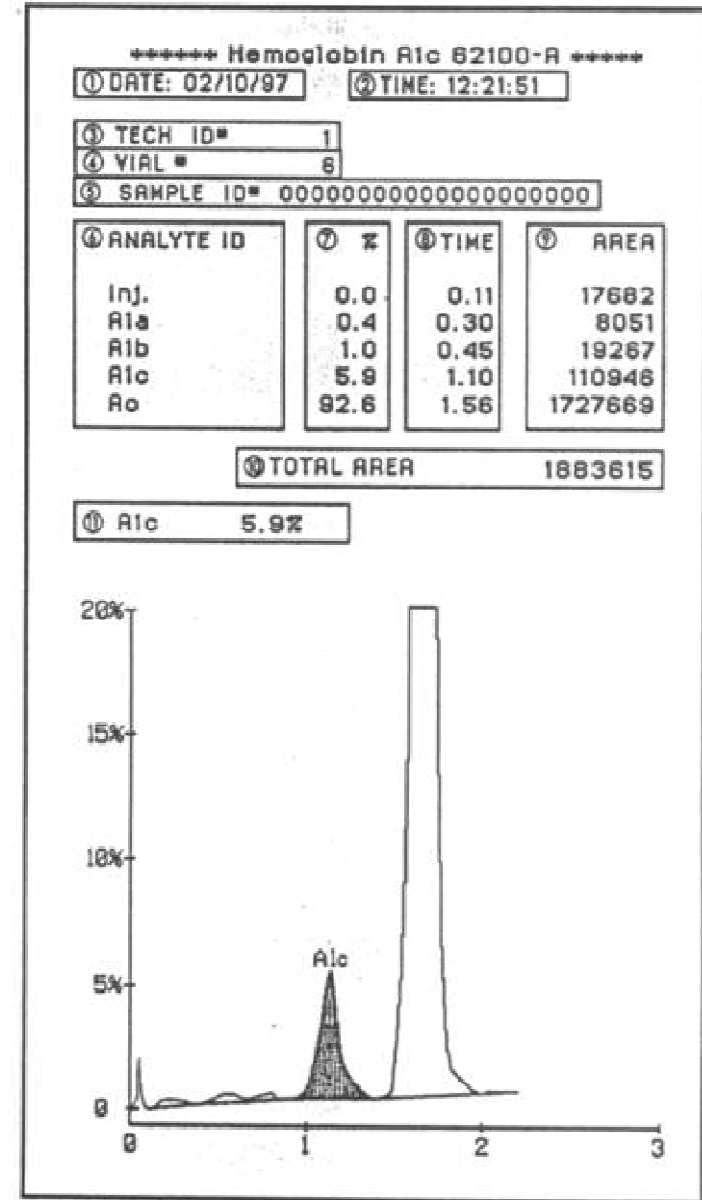
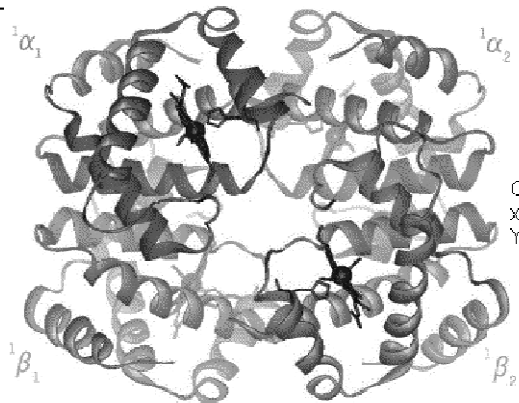
# Fruktózamin

- a plazma fehérjék glükóz általi nem enzimatis, poszttranszlációs glikozilációja során keletkező ketoamin.
- ~ a mérést megelőző 2-3 hét átlagos vércukor koncentrációval
  - Neg interferencia: totál protein vagy albumin szint csökkenéssel járó megbetegedésben: májelégtelenség, nephrosis sy
- meghatározás: kolorimetriás teszttel, jól automatizáltan, olcsón lehetséges
- Alkalmazás:
  - szinte kizárólag a diabeteses terhesek gondozásában, gyorsabban változó glikémiás állapot követésében használatos
  - nincs meggyőző klinikai bizonyítéka annak, hogy a fruktózamin koncentráció összefüggésben volna a diabetes hosszútávú komplikációinak kialakulásával

# HbA<sub>1C</sub>

- glikált haemoglobin, glikohemoglobin:
  - a hemoglobin A és más hemoglobin láncok glukóz-módosulásai
- glikozilált Hb: nem ajánlott elnevezés!!!
- HbA<sub>1</sub>: fast Hb, a HbA glikált módosulásai
  - HbA<sub>1a</sub> HbA<sub>1b</sub> és HbA<sub>1C</sub> (80%) glukóz-általi Hb módosulásokból áll
- HbA<sub>1C</sub>:
  - **HbA1 (α2β2) béta láncok N terminális valin aminocsoportjának glukóz általi módosulása.** Mindazok az összefüggések, melyek a diabeteses beteg átlagos glikémiás státusára, a diabeteses komplikációk kialakulására és a diabetes gondozás minőségére utalnak, a HbA<sub>1C</sub> érték alapján kerültek kialakításra.

HbA:  
adult Hb (α2β2)



# HbA<sub>1C</sub>

- Lassú poszttranszlációs, nem enzimatis reakcióban
- A szintézis mértéke azon vércukor koncentráció függvénye, aminek a hemoglobint tartalmazó eritrociták átlag 120 napos élettartalmuk alatt ki vannak téve (2-3 hónap átlagos vércukorszintjéről tájékoztató teszt)
- jó korrelációt mutat elsősorban a microvasculáris, kevésbé a macrovasculáris komplikációk kialakulásával
- széles körben használt biomarker a glikémia kezelés megfelelőségének megítélésében
- Az ADA ajánlása alapján a diabetes gondozás során követendő terápiás cél a HbA<sub>1C</sub> 7% alatt tartása, a hipoglikémiás epizódok számának emelkedése miatt, sok betegnél nem cél a 6,5% alatti értékek elérésére.



# Mit jelent az IFCC standardizáció?

- IFCC WG-HbA1c (1995) a HbA1c nemzetközi standardizáció megoldására
- Referens mérési módszer kialakítása:
  - tisztított elsődleges kalibrátor ( $\beta$ -N1-deoxifruktosyl-hemoglobin) ez a reagens gyártó cégek számára elsődleges referens anyag (2007-től beszerezhető az IRMM (Institute for Reference Materials and Measurements)-nél.)
  - Új referencia-módszer a HbA1c-tesztek standardizálására alkalmas és nem használható a klinikai laboratóriumokban (HPLC-MS; HPLC-kapillarelefo)
- Referens laboratóriumok világszerte, melyek a referens módszert életben tartják
- Az IFCC módszer és mértékegységek elfogadtatása ADA, EASD, IDF által (2007. május 4-én, Milánóban)
- Valamennyi gyártó HbA1c módszerének IFCC kalibrátor/módszer szerinti konverziója
- A HbA1c eredményeket mindenütt IFCC egységben (mmol/mol) és az IFCC-NGSP egyenlet alapján számított NGSP egységben (%) kell közölni

# Approved IFCC reference method for the measurement of HbA1c in human blood

Clin Chem Lab Med. 2002 Jan;40(1):78-89.

## **Method:**

- haemoglobin is cleaved into peptides by the enzyme endoproteinase Glu-C,
- the glycosylated and non-glycosylated N-terminal hexapeptides of the beta-chain obtained are separated and quantified by
  - HPLC and electrospray ionisation mass spectrometry
  - HPLC and capillary electrophoresis with UV detection.

Both principles give identical results.

## **Expression of HbA1c:**

HbA1c is measured as ratio between the glycosylated and non-glycosylated hexapeptides

## **Calibrators:**

mixtures of highly purified HbA1c and HbA0.



# **A Magyar Laboratóriumi Diagnosztikai Társaság és a Magyar Diabetes Társaság útmutatója laboratóriumi szakemberek számára a HbA1c standardizációval kapcsolatos ismeretekről**

# IFCC szerinti HbA1c eredményközlés



- Az IFCC referens módszerre visszavezethető HbA1c eredmények **mmol HbA1c és mol Hb-A0** (glikálatlan hemoglobin) **hányadosaként**, röviden: **mmol/mol**-ban kerüljenek kiadásra.
- Továbbá a mmol/mol-ban kapott értéket számoljuk vissza **DCCT/NGSP egységre (%)**:  
$$\text{NGSP}\% = [0.0915 * \text{IFCC mmol/mol}] + 2.15$$
- Az így számolt százalékos értéket is közöljük a leleten.

# Összefüggés a régi és az új eredmények között



- Az új IFCC referens módszer és a jelenleg használatban levő DCCT vagy más néven NGSP szerinti %-os értékre kalkulált tesztek eredménye közötti összefüggést az alábbi egyenlet írja le:
- $IFCC\_HbA1c \text{ (mmol/mol)} = [DCCT\_HbA1c \text{ (} \% \text{)} - 2.15] \times 10.929$

DCCT_HbA1c %	Új IFCC HbA1c_mmol/mol
4.0	20
5.0	31
6.0	42
6.5	48
7.0	53
7.5	59
8.0	64
9.0	75
10.0	86

# Használható-e a HbA1C a diabetes mellitus szűrésére vagy a diagnózis felállításához?

- Igény racionalitása:
  - Epidemiológiai vizsgálatok adatai szerint a DM betegek 30-50%-a nem diagnosztizált. 3-ból 1 esetben az éhomi érték normális és csak az OGTT 120 perces értéke kóros Európában. Az OGTT azonban időigényes, kényelmetlen, drága és így viszonylag ritkán használatos.
- Analitikai fejlődés:
  - A HbA1C teszt analitikai teljesítőképessége javult, standardizáció

# HbA1C DM diagnosztikában PRO

- A HbA1C érték jobban tükrözi a glikémiás állapotot, mint egy egyszeri időpontban történt vércukormérés
- A HbA1C meghatározás biológiai variabilitása kisebb:
  - vércukor intraindividuális variabilitása jelentős (15-20%)-a HbA1C meghatározásé csak mintegy 2%
  - A HbA1C meghatározást kevésbé befolyásolják akut állapotok pl stressz, betegség
- Technikai előnyök:
  - A HbA1C: preanalitikai instabilitás kisebb
  - A HbA1C: nem szükséges, hogy a beteg éhezés állapotában legyen, nem kötött a vizsgálat egy adott időponthoz

Minta típus	Analit	Biológiai variabilitás (CV)		Analitikai kívánatos variabilitás(%)		
		Within subject variation	Between subject variation	Imprecision %	Bias %	Total analytical error %
S	Fasting glucose	5,70	6,9	2,9	2,2	6,9
B	HbA1C	3,4	5,1	1,7	1,5	4,3

# HbA1C DM diagnosztikában KONTRA

- HbA1C nemzetközi standardizálása folyamatban van, és jelenleg még nem teljesen befejezett, A HbA1C teszt analitikai teljesítőképessége javult, de vitatható: A HbA1C mérések jobban standardizáltak, mint a vércukor meghatározások
- A HbA1C meghatározás drágább, nem elérhető számos országban
- használhatósági limitációk:
  - A hemoglobin variánsok (hemoglobinopátiák) félrevezető HbA1c értékeket eredményezhetnek (metodika függő)
  - carbamylated Hb in patients with renal failure
  - Rövidült vvt élettartam: félrevezetően alacsonyabb HbA1c
    - hemolitikus anémia
    - krónikus malária
  - Vvt-élettartam meghosszabbodás: félrevezetően magas HbA1c és fruktózamin
    - vashiányos anémia



# HbA1c DM diagnózisra: IGEN



2011

## ADA „position statement” 2010, 2014

- $\geq 6,5\%$  küszöbértékkel, a diabetes mellitus diagnózisának elsődleges, a hagyományos vércukor tesztek mellett alternatívan választható teszt
- A HbA1C teszt  $\geq 6,5\%$ -os diagnosztikus küszöbértékének kiválasztása, az éhomi vércukor és a 120 perces OGTT küszöbértékeihez hasonlóan, a retinopathia prevalenciájának inflexiós pontjához harmonizáltan történt
- diagnosztikus célból végzett meghatározás: National Glycohemoglobin Standardization Program (NGSP) szerint minősített és a Diabetes Control and Complications Trial módszerére visszavezethetően kalibrált teszttel. Beteg közeli módszerrel (POCT) végzett HbA1C meghatározások, nem kellően pontosak a diagnosztikához.

### *Recommendation*

Hb A<sub>1c</sub> may be used for the diagnosis of diabetes, with values  $>6.5\%$  being diagnostic. An NGSP-certified method should be performed in an accredited laboratory. Analogous to its use in the management of diabetes, factors that interfere with or adversely affect the Hb A<sub>1c</sub> assay will preclude its use in diagnosis.

**A (moderate)**

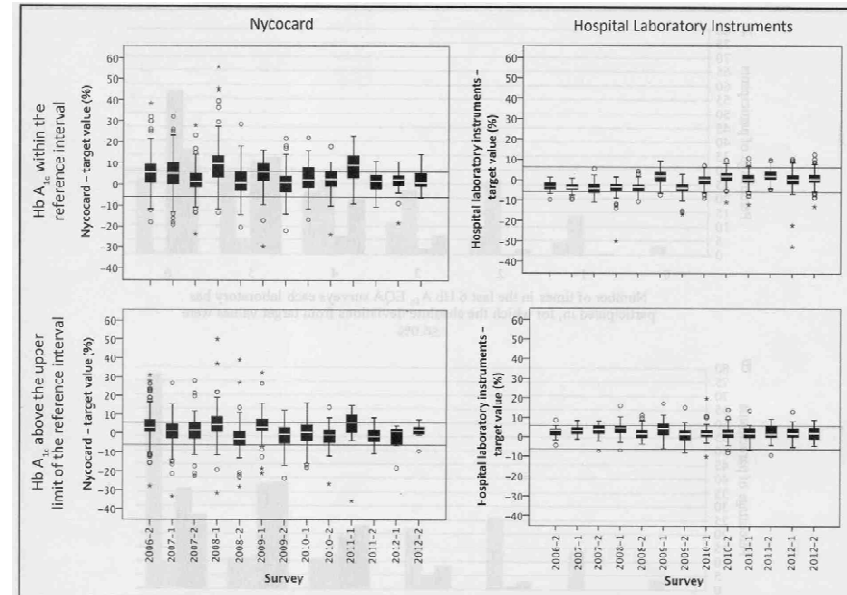
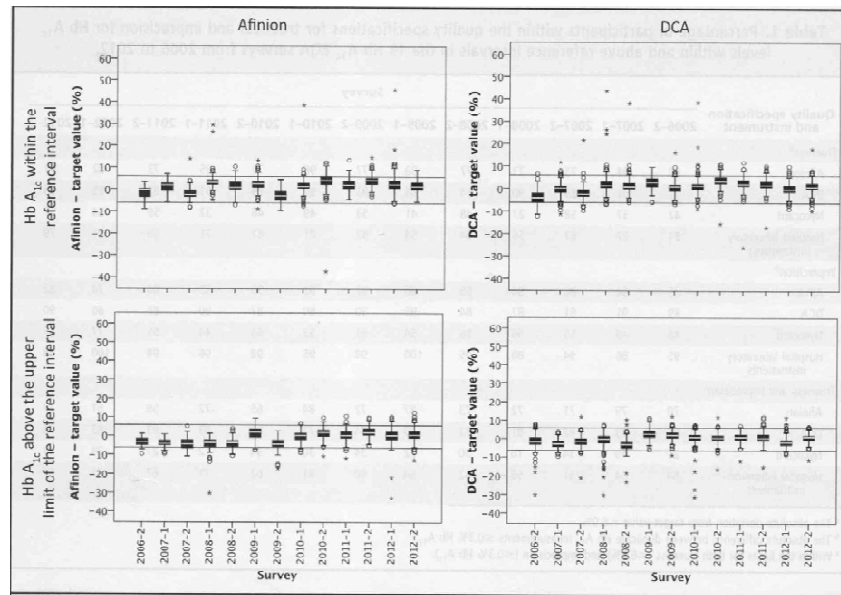
### *Recommendation*

Point-of-care Hb A<sub>1c</sub> assays are not sufficiently accurate to use for the diagnosis of diabetes.

**B (moderate)**

# Point-of-care Hb A1c assays for the diagnosis of diabetes? (NACB-LMPG: imprecision and trueness below 2 and 6%)

- Point-of-care Hb A1c assays are not sufficiently accurate to use for the diagnosis of diabetes. B (moderate= further research is likely to have an important impact on the recommendation) NACB-LMPG, ADA
- WHO allows the use of POC HbA1c assays when this is the only option available or when a stringent quality assurance program is in place



60-90% of approx 1000 labs

Clin Chem 59:12, 2013

# HbA1c for glycaemic control

## *Recommendation*

Hb A<sub>1c</sub> should be measured routinely in all patients with diabetes mellitus to document their degree of glycaemic control.

A (moderate)

## *Recommendation*

Treatment goals should be based on ADA recommendations, which include generally maintaining Hb A<sub>1c</sub> concentrations at <7% and more-stringent goals in selected individual patients if they can be achieved without significant hypoglycemia or other adverse treatment effects. Somewhat higher intervals are recommended for children and adolescents and may be appropriate for patients with a limited life expectancy, extensive comorbid illnesses, a history of severe hypoglycemia, or advanced complications (note that these values are applicable only if the NGSP has certified the assay method as traceable to the DCCT reference).

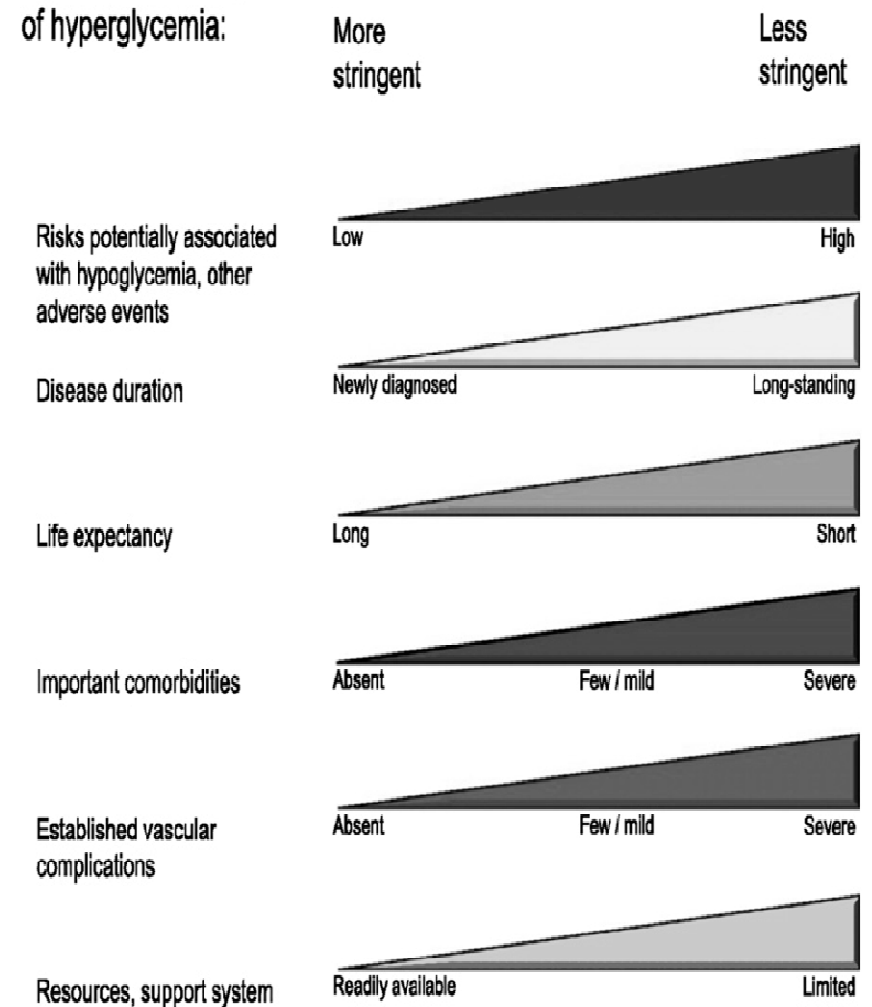
A (high)

# ADA Recommendations: FREQUENCY and POCT A1C testing

- Perform the A1C test at least two times a year in patients meeting treatment goals (and have stable glycemic control) **E**
- Perform the A1C test quarterly in patients whose therapy has changed or who are not meeting glycemic goals **E**
- Use of point-of-care (POC) testing for A1C provides the opportunity for more timely treatment changes **E**

# ADA Recommendations: HbA1c Goals in Adults during glycaemic control

- Lowering A1C to below or around 7% has been shown to reduce microvascular complications and, if implemented soon after the diagnosis of diabetes, is associated with long-term reduction in macrovascular disease. reasonable A1C goal for many nonpregnant adults is <7% **B**
- Providers might reasonably suggest more stringent A1C goals (such as <6.5%) for selected individual patients, if this can be achieved without significant hypoglycemia or other adverse effects of treatment. Appropriate patients might include those with short duration of diabetes, long life expectancy, and no significant CVD **C**
- Less stringent A1C goals (such as <8%) may be appropriate for patients with **B**
  - History of severe hypoglycemia, limited life expectancy, advanced microvascular or macrovascular complications, extensive comorbid conditions
  - Those with longstanding diabetes in whom the general goal is difficult to attain despite DSME, appropriate glucose monitoring, and effective doses of multiple glucose lowering agents including insulin



# Glycemic Recommendations for Nonpregnant Adults with DM

A1C	<7.0%*
Preprandial capillary plasma glucose	3.9–7.2 mmol/L*
Peak postprandial capillary plasma glucose†	<10.0 mmol/L*

\*Goals should be individualized based on these values.

†Postprandial glucose measurements should be made 1–2 h after the beginning of the meal, generally peak levels in patients with diabetes.

## Type 2 Diabetes Prevention and Health Promotion Strategy



Newfoundland & Labrador

