

Handhavande Pt-Glukostolerans Hemocue 201 DM RT

Innehållsförteckning

Handhavande Pt-Glukostolerans Hemocue 201 DM RT	1
1 Patientprov	3
1.1 Patientförberedelse	3
1.2 Utförande	4
1.3 Provtagning	4
1.4 Analys	4
1.5 Svarsrutin	5
1.5.1 Instruktion Elektronisk överföring.....	5
1.6 Felkällor	6
2 Kvalitetskontroll.....	7
2.1 Intern kontroll	7
2.2 Extern kontroll	8
3 Hållbarhet/Förvaring reagens och kontroller	8
3.1 Färdigblandad Glukosbelastningsdryck.....	8
3.2 Egen beredning av Glukoslösning	8
3.3 Hållbarhet Kyvetter.....	8
3.4 Hållbarhet Kontroller	8
4 Underhåll/Inställningar	8
4.1 Rengöring kyvetthållare.....	8
4.2 Rengöring optronikenhet	9
4.3 Rengöring bildskärm/ streckkodsfönster	9
4.4 Byte av batteri.....	9
4.5 Kalibrering Pekskärm	9

4.6	Datum och tid	10
5	Analysfördjupning	10
5.1	Metodprincip.....	11
5.2	Medicinsk bakgrund	11
6	Referenser	12

1 Patientprov

1.1 Patientförberedelse

Patienten ska äta normal kost dagarna före belastningen och vara fastande i 10 timmar. Det är tillåtet att dricka lite vatten. Patienten ska sitta eller ligga under hela belastningen. Patienten får gå upp endast för toalettbesök. Patienten ska vara feberfri och får inte röka/snusa eller kroppsanstränga sig före eller under hela belastningstiden. Belastningen påbörjas mellan kl. 08:00 - 10:00.

Dosering

Patient >43 kg: 75 g glukos. Top Star 75 – Färdigblandad Glukos belastningsdryck à 200 mL innehåller 75 g glukos

Patient <43 kg: 1,75 g/kg kroppsvikt upp till 75 g. Beräkning mängd glukos $A = 1,75g \cdot \text{patientens vikt}$

Top Star 75 – Färdigblandad Glukos belastningsdryck à 200 mL innehåller 75 g glukos.

Beräkning mängd glukoslösning till patient <43 kg sker enligt formeln:

$$\frac{A \cdot 200}{75} = \text{mL av Top Star 75}$$

A = beräknad mängd glukos.

200 = mL färdigblandad Glukosbelastnings dryck (Top Star 75).

75 = g glukos som Top Star 75 innehåller.

Egen beredning Glukoslösning 25-procentig till patienter med citrusallergi

Glukospulver (Glukosanhydricum) 75 g påse

Patient >43 kg

Glukosanhydricum 75 g Sjukhusapoteket

Kranvatten 300 mL

Lös glukosen fullständigt i 300 mL kranvatten genom att lösa 75 g glukos fullständigt i en del av vattnet. Håll lösningen i ett mätglas och späda upp till exakt 300 mL = 25 procentig lösning.

Pulvret tillsätts till kallt vatten under kraftig omrörning. Om pulvret är svårlösligt kan man värma vattnet i mikrougn. Varmt kranvatten är inte livsmedel och ska inte användas. Lösningen är hållbar 1 vecka i kylskåp.

Patient <43 kg

1,75 g glukosanhydricum/kg kroppsvikt upp till 75 g. Beräkning mängd glukos för patienten $A = 1,75g \cdot \text{patientens vikt}$

Lös 75 g glukos fullständigt i en del av vattnet. Häll lösningen i ett mätglas och späd upp till exakt 300 mL = 25 procentig lösning.

Beräkning mängd glukoslösning till patient <43 kg sker enligt formeln:

$$\frac{A \cdot 300}{75} = \text{mL av den 25 \% -iga lösningen}$$

A = beräknad mängd glukos för patienten.

300 = mL vatten som används för den 25-procentiga glukoslösningen.

75 = g glukosanhydricum som används för den 25-procentiga glukoslösningen.

Exempel: Patienten väger 20 kg och ska då ha 35 g glukos, vilket motsvarar 140 mL av den 25-procentiga glukoslösningen.

1.2 Utförande

Fråga om patienten har citrusallergi, använd i så fall egen beredning av lösning.

Provtagning och analys utförs enligt kapitel 1.3-1.4.

Proverna tas kapillärt. 0 minuter och 120 minuter.

Illamående eller kräkning kan observeras hos vissa patienter, särskilt om blandningen dricks för snabbt. Om patienten kräks inom 60 min efter att belastningen har påbörjats bör belastningen avbrytas och utföras igen en annan dag. Om detta inträffar efter 60 min, fortsätt med belastningen.

Om belastningen måste avbrytas, ring patientnära teamet (tel. 22378) för hjälp att svara ut beställningen i BOS.

1. Ta fasteprov kapillärt. Glukosbelastning utförs inte om fasteprov glukos är > 6,9 mmol/L.
2. Därefter får patienten dricka glukoslösningen. Lösningen ska drickas inom 5 minuter. Starta stoppuret då patienten börjar dricka.
3. Efter 120 minuter tas prov för glukos kapillärt.
4. Vid frågeställningen glukosuri tas även urinprover för uringlukosbestämning vid 0, 60 och 120 minuter.

1.3 Provtagning

Kapillärprov:

1. Sätt på instrumentet genom att trycka på den svarta avlånga knappen
2. Torka av de 2- 3 första bloddropparna från fingret med luddfri tork.
3. Fyll kyvetten i ett moment, kyvetten får inte efterfyllas.
4. Torka av kyvettens utsidor med luddfri tork.

1.4 Analys

1. Öppna kyvetthållaren. Tryck på symbolen för patienttest

2. Scanna eller skriv in patient-id. *Se nedanstående information om hur man skannar BOS-etiketter.* Tryck OK.
3. Placera den blodfyllda kyvetten i kyvetthållaren inom 40 sekunder efter att kyvetten är fylld.
4. Stäng försiktigt kyvetthållaren till mätläge.
5. Resultatet presenteras tillsammans med patient-id i fönstret. Tryck OK för att godkänna resultatet.
6. OBS fylld kyvett får inte mätas om igen.
7. Instrumentet stängs automatiskt av efter 15 minuter. Instrumentet sparar 4000 provsvar med patient-id, äldst raderas först.

Utvärdering/beräkning

HemoCue Glucose 201 DM RT multiplicerar det uppmätta helblodsvärdet med en faktor på 1.11, vilket gör att ett plasmaekvivalent glukosresultat visas (1).

Glukostolerans test utförs enligt WHO's rekommendationer Geneve 2006 (13).

1.5 Svarsrutin

P(kB)-Glukos (0 min)mmol/L

P(kB)-Glukos (120 min).....mmol/L

Resultat anges med en decimal.

Svar överförs elektronisk till Beställnings-och svarssystem (BOS) då personnummer eller skickad BOS-beställning skannas i instrumentet.

Reservrutin för enstaka tillfällen är att svar skrivs in som journalanteckning.

1.5.1 Instruktion Elektronisk överföring

- Beställ Glukostolerans i BOS – Fyll i obligatoriska frågor.
- Skriv ut provtagningsunderlag.
- Skicka beställningen i BOS.
- Vid analys av prov 1 (innan glukosdos) skannas provtagningsunderlag som är märkt Glukostolerans[1/2] i glukosinstrumentet.
- Vid analys av prov 2 (120 min efter glukosdos) skannas provtagningsunderlag som är märkt Glukostolerans [2/2] i glukosinstrumentet.
- Svar kommer gå över till BOS när båda analyserna är genomförda och instrumentet ställs i dockningsstationen. Om belastningen måste avbrytas, ring patientnära teamet (tel 22378) för hjälp att svara ut beställningen i BOS.

Mätområde

0,0 mmol/L - 31.0 mmol/L

Vid resultat över 31.0 mmol/L visas ”HHH”.

Rådata

Analys utförs med patientid eller BOS-id och rådata lagras i instrumentet.

Referensintervall

Enligt WHO's Expert Committee on Diabetes mellitus, WHO Geneve 2006 (3).

1. Tabell 1. Glukoskoncentration (mmol/L) i plasma vid peroral glukosbelastning (OGTT)			
	<i>t = 0 minuter</i>	<i>t = 120 minuter</i>	
Referensintervall	Venöst/Kapillärt	Venöst	Kapillärt
Normal glukostolerans	< 6,1	< 7,8	< 8,9
Beslutsgräns			
Förhöjt fasteplasmaglukos	6,1– 6,9	< 7,8	< 8,9
Nedsatt glukostolerans	< 7,0	7,8 – 11,0	8,9 – 12,1
Diabetes mellitus	> 6,9	> 11,0	> 12,1

1.6 Felkällor

Glukosvärdet hos kraftigt lipemiska prover, triglycerider (intralipider) >5,7 mmol/L, grumliga prover, prover som innehåller >7% methemoglobin och höga koncentrationer av xylos (>2,0 mmol/L) och glukosamin (>30 mg/dL) kan ge felaktiga resultat och ska därför tolkas med försiktighet(1).

Faktorn 1,11 som ger ett plamsaekvivalent svar är baserad på förhållandet mellan plasma och helblod vid normal hematokrit. Resultaten ska tolkas med försiktighet i de fall där hematokriten är extrem (1).

Mätkyvetten får inte mätas om (1).

Vid chock eller andra allvarliga, akuta blodtrycksfall kan missvisade resultat ses vid kapillär provtagning. I dessa fall rekommenderas venös eller arteriell provtagning (1).

Nedsatt glukostolerans/sekundärdiabetes kan föreligga även vid:

- En rad endokrina sjukdomar då ökad utsöndring av insulinantagonistiska hormoner föreligger såsom kortisol vid Cushings syndrom, tillväxthormon vid akromegali, somatostatatin och glukagon vid de mycket sällsynta tumörerna somatostatatinom och glukagonom.
- Aldosteronism (Conns syndrom) förklaras insulinbristen av nedsatt kaliumnivå.
- Behandling med vissa läkemedel – Fenytoin och Tiazider - minskar insulinproduktionen.
- Glukokortikoider och anabola steroider - minskad perifer insulinkänslighet.
- Diuretika – kaliumbrist.
- Sjukdom med stark inflammatorisk aktivitet.
- Långvarig fasta.
- Långvarig fysisk aktivitet.

2 Kvalitetskontroll

2.1 Intern kontroll

Kontroller på två nivåer används, Eurotrol GlucoTrol-NG.

Level 1 (låg) 2 x 1,0 mL/fp

Level 2 (normal) 2 x 1,0 mL/fp

Frekvens

Internkontroll analyseras 1 gång/vecka.

Frekvensen finns noterad på lista Interna kontrollresultat.

Skriv öppnings-datum och signatur på flaskan.

Uppmätt kontrollvärde jämförs mot gränsvärdet för 201 RT på respektive flaska.

Analys kontrollprov

1. Låt kontrollen stå i rumstemperatur i 15 minuter.
2. Blanda kontrollen genom att vända den 8-10 gånger.
3. Sätt på instrumentet genom att trycka på den svarta knappen.
4. Skanna kontrollens namn direkt från streckkoden som står på instrumentets "lathund". Kontrollen analyseras som ett patientprov. QC-knapparna används inte.
5. Tryck ut en droppe på ett icke-absorberande underlag.
6. Fyll kyvetten i ett enda moment. Efterfyll inte!
7. Torka kyvettens sidor med en luddfri tork. Vidrör inte kyvettens öppna del. Kontrollera att ingen kontrollvätska sugts ut ur kyvetten under avtorkningen.
8. Kontrollera att det inte finns några luftbubblor i kyvetten och att den är helt fylld. Finns det luftbubblor måste kyvetten kasseras och en ny kyvett fyllas från en ny droppe kontrollvätska. Placera den blodfyllda kyvetten i kyvetthållaren inom 40 sekunder efter att kyvetten är fylld. Stäng försiktigt kyvetthållaren till mätläge.
9. När mätningen är klar visas resultat på skärmen. Mät inte om kyvetten!
10. Uppmätt kontrollvärde jämförs mot gränsvärdet för 201 RT på respektive flaska. Tryck OK för att godkänna resultatet. Notera på loggblad i pärmen.

Arkivering

Kontrollresultat arkiveras i 1 år.

Åtgärder vid kontrollavvikelse

Hamnar kontrollen utanför de angivna gränserna gör följande:

1. Analysera om kontrollen
2. Byt till ny kontrollflaska
3. Byt till ny förpackning med kyvetter/reagensstickor
4. Byt till ny kontrolllott

5. Ring kontaktperson på laboratoriemedicin
6. Anteckna avvikelser/åtgärd på kontrollbladet.

2.2 Extern kontroll

Kvalitetskontroll från Laboratoriemedicin skickas ut 6 gånger/år.

Analysera kontrollen och redovisa resultaten enligt anvisning som medföljer kontrollen.

Resultatet redovisas på Laboratoriemedicins PNA- hemsida inom 2 veckor efter kontrollutskick. Erhålls resultat utanför åsatta gränser kontaktas ansvarig instruktör på Laboratoriemedicin för hjälp med åtgärd.

3 Hållbarhet/Förvaring reagens och kontroller

3.1 Färdigblandad Glukosbelastningsdryck

Top Star 75 – Glukosbelastningsdryck 75g

Länsförsörjningen (TopLabs produkt)

200 mL per flaska med apelsinsmak

1 fp innehåller 24 flaskor färdigblandad dryck (75 g glukoskoncentration)

Ingredienser: vatten, glukos, konserveringsmedel (E-330, E-211) och apelsinsmak. Hållbarhet i rumstemperatur till utgångsdatum på förpackningen.

3.2 Egen beredning av Glukoslösning

Glukosanhydricum 75 g Sjukhusapoteket

Hållbarhet enligt förpackning. Beredd lösning hållbar en vecka i kyl.

3.3 Hållbarhet Kyvetter

Förvaring i rumstemperatur. Hållbara till utgångsdatum på förpackning. En stycksförpackad kyvett ska användas omedelbart efter att dess förpackning är bruten (3).

3.4 Hållbarhet Kontroller

Förvaring oöppnad i kyl till utgångsdatum på förpackning.

Förvaring öppnad i kyl 30 dagar (2).

4 Underhåll/Inställningar

4.1 Rengöring kyvetthållare

- Kyvetthållaren bör rengöras varje dag, eller då den är synligt smutsig.
- Stäng av instrumentet.
- Dra ut kyvetthållaren genom att trycka ner den lilla spärren uppe till höger.
- Dra försiktigt hållaren rakt mot dig tills den lossnar.
- Rengör hållaren med Ytdesinfektion eller mild tvållösning.
- Låt torka hållaren innan den sätts tillbaka i instrumentet.

4.2 Rengöring optronikenhet

- Smutsig optronikenhet anges genom att instrumentet visar en felkod.
- Se användarmanual sid 53 och framåt.
- Stäng av instrumentet.
- Ta bort kyvetthållaren. Se ovan.
- För in en HemoCue Cleaner i kyvetthållarens öppning.
- För spateln från höger till vänster 5-10 gånger.
- Om spateln blir smutsig, upprepa proceduren med en ny spatel.

Vänta 15 minuter innan instrumentet åter tas i bruk. Sätt i kyvetthållaren på nytt.

HemoCue Cleaner Länsförsörjning art.nr 03595601

4.3 Rengöring bildskärm/ streckkodsöfönster

Stäng av instrumentet. Rengör försiktigt skärmen med mjukt papper fuktat med ljummet vatten eller ytdesinfektion.

4.4 Byte av batteri

Batteriet är hållbart i flera år och behöver sällan bytas. Skulle batteriet vara dåligt kontakta instruktör på laboratoriemedicin tfn 2 23 78 för att erhålla nytt batteri.

4.5 Kalibrering Pekskärm

Om bildskärmen inte fungerar eller går trögt vid knapptryckning kan den behöva kalibreras.

- Kontrollera att instrumentet är avstängt. Bildskärmen ska vara tom.
- Tryck på knappen På/Av i mer än 10 sekunder. Ett plustecken visas i den övre vänster hörnet på bildskärmen.
- Tryck försiktigt mitt på plustecknet med ett trubbigt föremål. Fingertoppen kanske inte är tillräckligt exakt. **OBS!** Detta är enda tillfället när något annat än fingertopparna får användas på bildskärmen. Vassa föremål kan skada bildskärmen.
- Det första plustecknet försvinner och två ytterligare plustecken visas efter varandra.
- Två ytterligare plustecken visas för att verifiera kalibreringen av bildskärmen. Totalt fem plustecken.
- Om kalibreringen verifierats startar instrumentet på normalt sätt. Om kalibreringen inte godkänns börjar kalibreringsproceduren om igen. Om kalibreringen misslyckas mer än fem gånger startar instrumentet på normalt sätt, men instrumentet behöver troligen service.

4.6 Datum och tid

- Välj verktygssymbol
- Ange lösenord 0000, tryck OK
- Välj grundinställning
- Välj datum/tid
- Skriv datum, tryck OK
- Skriv rätt tid, tryck OK
- Tryck pil tillbaka

5 Analysfördjupning

Fullständig beteckning

Patient–Glukostolerans: arbiträr egenskap (glukosoralt; lista; procedur).
NPU02196

Plasma (kapillärt Blod)-Glukos; substanskoncentration (0 minuter efter
stimulering) mmol/L, P(kB)-Glukos(0 min) NPU22127

Plasma (kapillärt Blod)-Glukos; substanskoncentration (120 minuter efter
stimulering) mmol/L, P(kB)-Glukos(120 min) NPU22134

Plasma (venöst Blod)-Glukos; substanskoncentration (0 minuter efter stimulering)
mmol/L, P(vB)-Glukos(0 min) NPU21532

Plasma (venöst Blod)-Glukos; substanskoncentration (120 minuter efter
stimulering) mmol/L, P(vB)-Glukos(120 min) NPU21530

Pt-Glukos(adm); mass(oralt adm;subst/kroppsm)= g/kg NPU28800

Kemikalier/Reagens

HemoCue Glucose 201 RT Microcuvettes HemoCue AB
Mikrokyvetten är tillverkad av copolyesterplast. Innehåll:

<75 µg/g kyvett MTT (metyltiazolyldifenyl tetrazolium)

<130 µg/g kyvett saponin

<40 g/g kyvett natriumflourid

<525 µg/g kyvett enzymmix (mutarotas, glukosdehydrogenas, diaforas, NAD,
icke-reaktiva ingredienser)

Top Star 75 – Glukosbelastningsdryck 75g Länsförsörjningen (TopLabs produkt)
200 ml per flaska med apelsinsmak

1 fp innehåller 24 flaskor färdigblandad dryck (75 g glukoskoncentration)

Ingredienser: vatten, glukos, konserveringsmedel (E-330, E-211) och
apelsinsmak.

Egen beredning av glukosbelastningsdryck
Glukosanhydricum 75 g Sjukhusapoteket

Kalibrering

HemoCue Glucose 201 DM RT är fabrikskalibrerad. Kalibreringen är spårbar till ID GC-MS-metoden. Instrumentet kräver ingen ytterligare kalibrering(1).

Utrustning/Tillbehör

Instrumentet får ström via ett uppladdningsbart batteri som laddas via en dockningsstation eller via ett elektriskt uttag med en transformator(1).

HemoCue Glucose 201 DM RT Analyzer HemoCue AB

HemoCue Glucose 201 RT Microcuvettes HemoCue AB

HemoCue DM Docking Station HemoCue AB

HemoCue Cleaner (rengöringsspatel) HemoCue AB

5.1 Metodprincip

Glukostolerans

Under standardiserade yttre förhållanden med avseende på näringstillförsel, fysisk aktivitet och kroppsläge mäts plasmaglukoskoncentrationen på morgonen efter 10 timmars fasta före belastningen. Därefter får patienten dricka färdigblandad Glukosbelastningsdryck innehållande 75 g glukos. (Barn 1,75 g/kg kroppsvikt upp till 75 g). Efter 2 timmar tas prov igen för bestämning av plasmaglukos.

Vid frågeställning glukosuri tas urinprov för U-glukos före samt vid 60 och 120 minuter efter glukostillförsel.

Analys glukos Hemocue

Reaktionen är en modifierad glukosdehydrogenasmetod som sker i två steg, hemolysering och glukosreaktion. Mutarotas överför α -D-glukos till β -D-glukos. Oxidering av β -D-glukos varvid NADH bildas katalyseras av glukosdehydrogenas. En färgad formazanförening bildas av MTT (kromogen, används för att kvantifiera glukos i synligt ljus) i närvaro av NADH med diaforas som katalysator (1). Mätning av transmittans sker och absorbans och glukoskoncentration beräknas (1).

5.2 Medicinsk bakgrund

Glukos är den viktigaste energikällan för kroppens celler. De flesta vävnader använder förutom glukos även fettsyror för sina energibehov. Nervceller och blodkroppar kan inte syntetisera eller lagra glukos och de är delvis beroende av glukos för sin energiförsörjning. Med blodglukos = blodsocker menar man den fria, ej proteinbundna glukosen i blodet. Levern har en central plats i glukosomsättningen genom att den kan både ta upp och frisätta glukos men också syntetisera glukos. Glukos upplagras som glykogen i lever och muskulatur. Glukoskoncentrationen i blodet regleras framför allt av två hormoner - insulin och glukagon som produceras i de Langerhanska öarna i pankreas och har motsatta effekter på blodglukoskoncentrationen. Insulin sänker, glukagon höjer. Dessa hormoners frisättning beror på glukoskoncentrationen i blodet. Andra hormoner som till exempel adrenalin, glukokortikoider, tyreoidhormoner, tillväxthormon påverkar, höjer också blodglukoskoncentrationen. Hyperglykemi förekommer vid insulinbrist (diabetes mellitus) eller vid ökad insöndring av blodsockerhöjande hormon. Hypoglykemi förekommer vid insulinöverdosering, vid

insulinproducerande tumörer (insulinom) samt sekundärt vid hypofys- och binjurebarksinsufficiens. Vid normal blodglukoskoncentration och normalt fungerande njurtubuli förekommer inte glukos i urin. Glukosuri kan förekomma vid blodglukoskoncentration över 10 mmol/L (njurtröskel för glukos) som vid diabetes mellitus eller vid en minskad reabsorptionsförmåga i tubuli (ett delsymtom vid tubulära skador som till exempel myelom, intoxicationer med tunga metaller).

P- eller U-Glukosanalyser används vid misstänkta rubbningar i glukosomsättningen i samband med endokrina sjukdomar och vid kontroll av diabetespatienter.

Undersökningen av glukostolerans används för diagnostik av diabetes.

Belastningen speglar patientens förmåga att normalisera glukosnivån efter intag av glukos. Blodglukosstegringen efter glukostillförsel beror på patientens ventrikeltömning, tarmresorption, fördelning av glukos mellan intra- och extracellulära rummet, insulinfrisättningen, glycogenupplagringen, nybildning av glukos i levern, metabolisering av glukos och eventuell urinutsöndring av glukos.

Miljö- och hälsorisker

Inga kända.

6 Referenser

1. Bruksanvisning, HemoCue®Glucose 201 DM RT
2. Bipacksedel Eurotrol GlucoTrol-NG, 270-1724-R01
3. Bipacksedel HemoCue®Glucose 201 RT Microcuvettes
4. Laurells Klinisk Kemi i praktisk medicin, 8:e upplagan, Lund, studentlitteratur 2003; 318-322.
5. P, Rustad. The Nordic Reference Interval Project 2000: recommended reference intervals for common biochemical properties. *Scand J Clin Lab Invest.* 2004, pp. 271-284.
6. Mailkonversation mellan Inga Zelvyté och Läkaren Fredrik Ingemansson på Neonatal Ryhov 2017.
7. Rafai, Nader. Tietz Textbook of Clinical Chemistry and Molecular Diagnostics. Sixth Edition. P 530.
8. D'Orazio, Paul. Approves IFCC Recommendation on Reporting results for Blood Glucose (Abbreviated). *Clinical Chemistry.* 2005, pp. 1573-1576.
9. The Expert Committee on the Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus. Report of the expert committee on the diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes care* 1997; 20: 1183-97.
10. Theodorsson E, Berggren Söderlund M, redaktörer. Laurells Klinisk kemi i praktisk medicin. Tionde upplagan. Lund: Studentlitteratur; 2018: 374-375.
11. Groop L. Ny diagnostik och klassifikation av diabetes. *Läkartidningen*, volym 95: nr 46; 1998.
12. Theodorsson E. Många fällor vid ”enkel” mätning av glukos i blod och plasma. *Läkartidningen*, volym 95, nr 46, 1998.
13. Definition and diagnosis of diabetes mellitus and intermediate hyperglycemia. Report of a WHO/IDF consultation. 2006

http://www.who.int/diabetes/publications/Definition%20and%20diagnosis%20of%20diabetes_new.pdf