

Associació Catalana de Ciències de Laboratori Clínic
Comitè d'Homologació de Dades i Procediments¹

Direcció General de Salut Pública
Consell Assessor sobre la Diabetis a Catalunya²

Recomanacions sobre la mesura de la concentració de glucosa en el plasma³

Versió 1999

Preparat per:

Teresa Carrera i Font⁴, Rosa Ruiz i Morer⁵, Jaume Miró i Balagué⁶.

0 INTRODUCCIÓ

La glucosa és un monosacàrid amb una massa molar de 180 g/mol, component de tots els disacàrids i la unitat bàsica estructural dels polisacàrids midó i cel·lulosa. La concentració en el plasma està condicionada, d'una banda, per l'aportació exògena, proporcionada pels aliments, i d'altra banda, per la de procedència endògena, derivada de la glicogenòlisi i la gliconeogènesi. La seva sortida del torrent circulatori a causa de la captació efectuada per les cèl·lules, on seguirà un procés de metabolització -la glicòlisi- o s'emmagatzemarà com a glicogen al fetge o, mitjançant la síntesi d'àcids grassos, al teixit adipós.

Tots aquests mecanismes estan fonamentalment sota el control del sistema endocrí mitjançant diverses hormones: la insulina regula els d'eliminació i el glucagó, la somatotropina i el cortisol, entre d'altres, regulen els d'aportació.

En condicions fisiològiques la concentració de glucosa en el plasma es manté dins d'uns marges relativament estrets, situats entre 4,8 i 11,0 mmol/L, aproximadament.

Quan l'equilibri s'altera i dona lloc a una **hiperglucèmia**, és a dir, un *augment de la concentració de glucosa en el plasma* superior al límit de referència fisiològic en dejú, poden originar-se diverses entitats nosològiques. L'American Diabetes Association defineix la diabetis *mellitus* com un grup de malalties metabòliques caracteritzades per hiperglucèmia produïda per defectes en la secreció o acció de la insulina.

D'altra banda, l'equilibri també pot alterar-se donant lloc a una *disminució de la concentració de glucosa en el plasma* inferior al límit de referència fisiològic. En aquesta circumstància, denominada **hipoglucèmia**, poden aparèixer símptomes depenent de la rapidesa de la instauració i de la durada del procés. Quan el pacient presenti símptomes d'hipoglucèmia, cal mesurar immediatament la concentració de glucosa en el plasma.

El Comitè d'Experts en Diabetis de l'Organització Mundial de la Salut (OMS) va fer un document l'any 1980 que permetia efectuar una correcta avaluació de les alteracions de la concentració de glucosa en el plasma i recollia els criteris de classificació i diagnòstic de la diabetis *mellitus*. Aquest document es fonamentava en el publicat l'any anterior pel National Diabetes Data Group d'acord amb altres societats científiques internacionals. Posteriorment l'OMS va revisar el document l'any 1985. L'any 1995 la American Diabetes Association (ADA) va designar un comitè internacional d'experts amb l'objectiu de revisar les publicacions recents sobre la diabetis *mellitus* i decidir si calia efectuar modificacions en aquests criteris de diagnòstic i classificació. L'any 1997 es va publicar un informe que inclou una classificació etiològica (taula 1), uns nous criteris diagnòstics (taula 2) i unes recomanacions per a la detecció dels individus asimptomàtics, així com també els criteris de cribratge i de diagnòstic per a gestants, sense modificació respecte al document anterior. El comitè d'experts de l'OMS ha revisat també les seves anteriors recomanacions i ha publicat recentment un informe que recomana també els nous criteris diagnòstics i la substitució dels termes **diabetis mellitus insulinodepenent** i **diabetis mellitus no insulinodepenent**, i els acrònims corresponents, pels de **diabetis de tipus 1** i **diabetis de tipus 2**. Els criteris per al diagnòstic de la diabetis gestacional de l'OMS són diferents dels de l'ADA; així, l'OMS recomana efectuar la mateixa prova de tolerància a la glucosa a les embarassades que a la població no gestant. A Catalunya el Consell Assessor sobre la Diabetis recomana que se segueixin els criteris diagnòstics per a la detecció de la diabetis gestacional de l'ADA (taula 3).

Atès que els criteris diagnòstics esmentats es basen en uns valors discriminants d'ús universal cal normalitzar la mesura de la concentració de glucosa en el plasma, així com tots els factors que, *in vivo* o *in vitro*, puguin influir en el resultat d'aquesta mesura.

1 OBJECTE

L'objecte d'aquest document és fer unes recomanacions sobre la mesura de la concentració de glucosa en el plasma, considerant la fase premetrològica (preparació del pacient, obtenció i conservació dels espècimens, la fase metrològica (descripció dels mètodes més emprats) i els factors que poden incidir en la interpretació dels resultats.

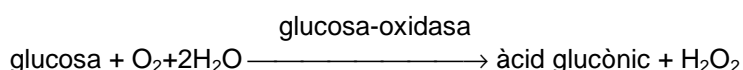
2 MÈTODES DE MESURA

Per conèixer la concentració de glucosa en el plasma s'utilitzen mètodes de mesura aplicats indistintament a mostres de plasma o sèrum, ja que no existeixen diferències significatives entre els resultats obtinguts en els dos sistemes biològics. Per tant, l'elecció d'un sistema o l'altre depèn de les conveniències de cada laboratori. En l'autocontrol del pacient diabètic s'empra habitualment sang capil·lar.

El **mètode definitiu** es basa en l'espectrometria de masses i dilució isotòpica. Té una elevada especificitat metrològica i el seu error sistemàtic, avaluat amb el material de referència SRM 909 del National Institute for Standards and Technology d'Estat Units, és inferior al 1%. Actualment, els **mètodes de referència** més emprats es basen també en aquest principi de mesura.

Els **mètodes habituals al laboratori clínic** es basen en l'ús d'enzims com a reactius, i tenen una alta especificitat metrològica. Els més emprats són els que utilitzen la glucosa-oxidasa (EC 1.1.3.4) o l'hexocinasa (EC 2.7.1.1).

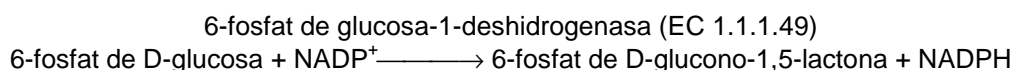
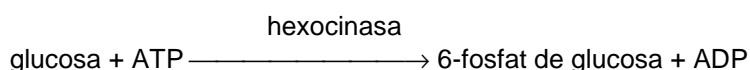
En el mètode de la glucosa-oxidasa s'efectua una primera reacció, molt específica per la β -D-glucosa:



seguida d'una mesura electroquímica de l'oxigen consumit o d'una mesura del H_2O_2 produït. Habitualment, per valorar el H_2O_2 s'utilitza l'enzim peroxidasa (EC1.11.1.7) i el sistema cromogènic fenol i 4-aminofenazona (reacció de Trinder), i es mesura l'absorbància deguda al cromogen acolorit. Malgrat la seva especificitat, aquests mètodes poden tenir interferències analítiques per substàncies reductores que competeixen amb el cromogen per obtenir l'oxigen del H_2O_2 .

La imprecisió interdiària dels procediments automatitzats, basats en aquest mètode, varia de 5,1%, a una concentració de 16,4 mmol/L, fins a 6,3%, a una concentració de 2,9 mmol/L, segons els resultats globals del programa de control de la qualitat de la Sociedad Española de Bioquímica Clínica y Patología Molecular (SEQC) obtinguts l'any 1997 .

El mètode que utilitza l'hexocinasa mesura l'absorbància del NADPH obtingut mitjançant les reaccions:



La imprecisió interdiària del procediment basat en aquest mètode és sensiblement inferior a l'anterior: de 3,9% a la concentració de 16,12 mmol/L fins a 4,7% a una concentració de 2,83 mmol/L, també segons els resultats globals del programa de control de la qualitat de la SEQC obtinguts l'any 1997 .

El mètode de la glucosa-oxidasa és el més emprat actualment i el de l'hexocinasa és el segon més utilitzat. D'altra banda s'observa la virtual desaparició del mètode de l'o-toluidina.

Els **mètodes habituals d'autocontrol** pel pacient diabètic utilitzen reactius en fase sòlida amb suport de tires de plàstic. Els mètodes emprats es fonamenten en la reacció cromogènica de la glucosa-oxidasa i la mesura s'efectua per

comparació visual amb una escala de colors (escala ordinal), mitjançant un espectròmetre de reflectància.

3 RECOMANACIONS

La mesura de la concentració de glucosa en el plasma i la interpretació dels valors obtinguts exigeixen l'acompliment d'una sèrie de requisits establerts per consens que en facilitin la comparabilitat.

3.1 Fase premetrological

3.1.1 Preparació del pacient

Les mesures de la concentració de glucosa en el plasma es poden fer en dejú o bé després de la ingestió de glucosa (proves de tolerància a la glucosa). És molt important definir les condicions en que s'ha de trobar el pacient en el moment de l'obtenció de l'espècimen. Es descriuen les dues condicions prèvies diferents.

I) *Mesura de la concentració de glucosa en el plasma en dejú* El pacient no pot haver ingerit aliments de 8 a 12 h abans de l'extracció, havent mantingut els dies previs els seus hàbits alimentaris.

II) *Proves de tolerància oral a la glucosa*

El pacient no pot haver ingerit aliments de 10 a 12 h abans de l'extracció, havent mantingut una dieta d'almenys 150 g de glúcids durant els 3 dies previs a la prova.

Si es mesura la concentració de glucosa en dejú i el resultat obtingut és ja diagnòstic de diabetis *mellitus* no cal continuar la prova.

Mentre dura la prova el pacient ha d'estar en repòs, sense ingerir substàncies sòlides o líquides ni fumar. Si vomita s'ha de suspendre la prova.

Aquesta prova està contraindicada en individus que pateixen malalties agudes, o bé estan hospitalitzats, en situació d'estrès, o després d'haver practicat una activitat física important.

Per a la prova utilitzada pel cribratge de la diabetis gestacional, anomenada col·loquialment *prova d'O'Sullivan* en referència a qui la va descriure, la gestant no necessita preparació ni dejú previs.

3.1.2 Tipus, quantitat i via d'administració de la glucosa en les proves de tolerància

En la majoria de laboratoris s'evidencien notables desviacions respecte a les recomanacions internacionals pel que fa a la quantitat de glucosa administrada,

la concentració de la solució (una major osmolalitat augmenta la sensació de nàusees, inhibeix el buidament gàstric i disminueix la reproductibilitat de resultats) i el temps d'obtenció dels espècimens, a més d'altres aspectes que també contribueixen a la qualitat dels resultats, com ara la preparació i el mètode de preservació de l'espècimen. La manca de normalització de tots aquests factors premetrològics afecta, no solament a la correcta classificació diagnòstica d'un individu, sinó també a la intercanviabilitat de resultats entre diferents laboratoris.

El tipus de glucosa pot ser monohidratada o anhidra, habitualment s'utilitza un preparat comercial de glucosa monohidratada perquè és una forma cristal·lina estable i és més barata. El fet d'emprar un o altre tipus comporta una diferència en la massa de glucosa que s'ha d'administrar. Així, si s'utilitza glucosa monohidratada la quantitat (massa) prescrita, que es refereix a glucosa anhidra, cal multiplicar-la per 1,1. Aquesta correcció ja l'han d'haver tingut en compte els subministradors dels preparats comercials.

S'administraran les següents quantitats de glucosa anhidra dissolta en 250-300 mL d'aigua:

- adults: 417 mmol (75 g) de glucosa;
- nens: 9,7 mmol (1,75 g) per kg de massa corporal sense ultrapassar els 417 mmol;
- gestants: 277,5 mmol (50 g) en l'anomenada *prova d'O'Sullivan* (cribratge) i 555 mmol (100 g) per a la prova diagnòstica.

El preparat de glucosa s'ha de beure en 5 min, començant a comptar el temps de la prova des que el pacient n'inicia la ingestió.

3.1.3 Obtenció dels espècimens

L'espècimen recomanat és el sèrum o el plasma (la concentració és equivalent). En determinats casos, com el control de la diabetis *mellitus* pel propi pacient, es pot emprar sang obtinguda per punció capil·lar, però per a les proves diagnòstiques es recomana sempre fer una extracció de sang venosa i mesurar la concentració de glucosa en el sèrum o el plasma al laboratori. Les extraccions sanguínies, en les proves de tolerància, es realitzaran com segueix:

- adults: abans i a les 2 h després de la ingestió de glucosa;
- nens: abans i a les 2 h després de la ingestió de glucosa;
- gestants: abans i 1, 2 i 3 h després de la ingestió de glucosa. En el cas particular de la anomenada *prova d'O'Sullivan* l'extracció es farà 1 h després de la ingestió de glucosa, sense que calgui fer cap extracció abans de la ingestió.

3.1.4 Preparació i conservació dels espècimens

La concentració de glucosa en la sang disminueix a causa del consum per part de les cèl·lules com a conseqüència de la glicòlisi. La disminució és d'un 6 a un 13% la primera hora si l'espècimen es conserva a temperatura ambient i d'un 10 a un 30% a les 4 h, podent incrementar-se si hi ha leucocitosi o contaminació bacteriana.

Per realitzar la mesura de la concentració de glucosa en el plasma, després de l'extracció cal centrifugar la sang el més aviat possible. Si això no fos possible, pot minvar-se la pèrdua de glucosa mitjançant l'ús d'additius inhibidors de la glicòlisi, com el fluorur de sodi o la combinació de monoiodoacetat i heparina de sodi que estableixen la glucosa durant 24 h a 22-25°C o 48 h a 2-8°C.

La conservació a 4-8°C de la sang permet mantenir la concentració de glucosa sense alteracions durant unes 3 h, mentre que si es tracta de plasma es pot mantenir fins a 48 h.

3.2 Fase metrològica

Els mètodes enzimàtics automatitzats són els més recomanables, a causa de la seva alta especificitat metrològica. Considerant els estudis existents sobre la variabilitat biològica intraindividual d'aquesta magnitud ($CV_{Bw} = 6,1\%$), la imprecisió interdiària màxima tolerable és del 3,0%.

En base a les mateixes dades de variabilitat biològica intrarindividual, si la imprecisió interdiària fos de l'1,5% la diferència màxima no significativa entre dos valors consecutius seria del 14,7%.

Assolir la màxima exactitud ha de ser l'objectiu prioritari en la mesura de la concentració de glucosa en el plasma, ja que, segons els criteris diagnòstics esmentats a la introducció, exclusivament amb aquesta mesura es pot arribar a fer un diagnòstic. No obstant això, aplicant el criteri de la variabilitat biològica, l'error sistemàtic (relatiu) màxim tolerable és 2,5%, mentre que l'error de mesura (relatiu) màxim tolerable és 7,6%. Altrament, la precisió és fonamental en el correcte seguiment del pacient i la valoració de la resposta al tractament.

3.3 Interpretació dels resultats

Per a una correcta interpretació dels resultats obtinguts en la mesura de la concentració de la glucosa en el plasma, cal tenir en compte determinats factors, que es descriuen als apartats següents.

3.3.1 Factors de variabilitat inherents a l'espècimen

Cal tenir present que la concentració de glucosa és, en general, un 10-15% inferior en la sang que en el plasma a causa del fet que la fracció de volum d'aigua és més gran en el plasma. La concentració de glucosa en la sang arterial és més elevada que en la sang venosa (0,10-0,25 mmol/L en dejú) a causa del consum de glucosa per les cèl·lules de l'organisme; en la sang

capil·lar els valors són intermedis. Això implica que els resultats obtinguts a partir de sang obtinguda per punció capil·lar (autocontrol) haurien de ser inferiors al obtinguts a partir del plasma (laboratori), però a la pràctica no sempre és així degut a que hi ha sistemes per fer l'autocontrol domiciliari que estan calibrats per donar resultats equivalents als del laboratori.

3.3.2 Factors de variabilitat biològica

Cal tenir en compte els factors que poden influir en la concentració de glucosa en el plasma. Està descrit un descens d'aquesta en les dones gestants, quan hi ha una ingestió aguda o crònica d'alcohol o en certes malalties, com són l'hepatitis vírica, l'hipotiroïdisme, la cirrosi hepàtica i les neoplàsies, entre d'altres. Entre els factors que poden produir un augment de la concentració de glucosa cal esmentar l'edat (aquest augment és aproximadament de 0,3 mmol/L per dècada a partir dels 50 anys) i certes malalties com l'hipertiroïdisme, la hiperfunció corticosuprarenal i la insuficiència renal, entre d'altres. L'administració de determinats fàrmacs (taula 5) pot influir també sobre la concentració de glucosa en el plasma.

3.3.3 Criteris d'interpretació

La interpretació del valor de la concentració de glucosa en el plasma s'efectua mitjançant valors consensuats, tal com s'ha exposat a l'apartat 1. Els nous criteris diagnòstics publicats per la American Diabetes Association i l'OMS impliquen una modificació important del valor discriminant per a la concentració de glucosa en el plasma en dejú: abans era de 7,8 mmol/L i ara és de 7,0 mmol/L. Els pacients amb resultats de concentració de glucosa en el plasma, en dejú, entre 6,1 i 7,0 mmol/L, o amb valors després d'una sobrecàrrega oral entre 7,8 i 11,0 mmol/L no es poden considerar fisiològics, però tampoc diabètics, i se'ls inclou en uns grups anomenats respectivament **glucosa alterada en dejú** i **intolerància a la glucosa**.

4. BIBLIOGRAFIA

1. National Diabetes Data Group. Classification and diagnosis of diabetes mellitus and other categories of glucose intolerance. *Diabetis* 1979; 28: 1039-1057.
2. World Health Organization. Diabetes mellitus: Report of a WHO Study Group. Tech Rep Ser:727. Ginebra: WHO;1985.
3. American Diabetes Association. Report of the expert committee on the diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetis Care* 1997;20:1183-97.
4. Alberti KGMM, Zimmet PZ. Definition, diagnosis and classification of diabetes mellitus and its complications. Provisional Report of a WHO consultation. *Diabet Med* 1998;15:539-53.

5. White WE, Welch MJ, Sun T, Sniegowski LT, Schaffer R, Hertz HS, et al. The accurate determination of serum glucose by isotope dilution mass spectrometry - two methods. *Biomed Mass Spectrom* 1982;9:395-405.
6. Pelletier O, Arratoon C. Precision of glucose measurements in control sera by isotope dilution / mass spectrometry: proposed definitive method compared with a reference method. *Clin Chem* 1987;33:1397-402.
7. Stöckl D, Reinauer H. Candidate reference method for determining target values for cholesterol, creatinine, uric acid and glucose in external quality assessment and internal accuracy control. I. Method Setup. *Clin Chem* 1993;39:993 -1000.
8. Comisión de Control de la Calidad de la SEQC. Programa de Evaluación Externa de la Calidad de Bioquímica (suero) de la Sociedad Española de Bioquímica Clínica y Patología Molecular (1997). *Quím Clín* 1998;17:301-2.
9. Burtis CA, Ashwood ER, dirs. *Tietz textbook of clinical chemistry*. Philadelphia: Saunders; 1998.
10. Wiener K. Whole blood glucose: What are we actually measuring?. *Ann Clin Biochem* 1995;32:1-8.
11. Corcoy R, Ordóñez J, Castell C, Tarin G, Treserras R. Prueba oral de tolerancia a la glucosa y medida de la concentración de glucosa: se realizan correctamente? *Quím Clín* 1994;13:68-72.
12. Young DS. *Effects of drugs on clinical laboratory tests*. Washington: AACC Press;1990.
13. Fernandez Castañer M. Nuevos criterios de diagnóstico y clasificación de la diabetes mellitus. *Endocrinología* 1998;45:107-10.

Taula 1: Classificació de l'hiperglucèmia

Nous criteris de classificació etiològica de la diabetis *mellitus*

I. Diabetis de tipus 1

- A. Autoimmune
- B. Idiopàtica

II. Diabetis de tipus 2

III. Altres tipus específics

- A. Defectes genètics de funció de les cèl.lules β
- B. Defectes genètics en l'acció de la insulina
- C. Malalties del pàncreas exocrí
- D. Endocrinopaties
- E. Inducció per fàrmacs (glucocorticoides, interferon)

- F. Infeccions (rubèola congènita, citomegalovirus)
 - G. Formes inusuals de diabetis d'etiologia autoimmune
 - H. Altres síndromes genètiques associades a la diabetis *mellitus*
- IV. Diabetis gestacional

Taula 2: Nous criteris diagnòstics en els adults i els nens

Es defineixen tres vies per al diagnòstic de la diabetis *mellitus*, i s'estableix que en absència d'una elevació important de la concentració de glucosa en el plasma i de símptomes clàdnics evidents, cal confirmar el diagnòstic repetint la mesura un altre dia. Els criteris són:

1. Símptomes de diabetis *mellitus* i concentració de glucosa en el plasma (en qualsevol moment, sense estar en dejú o superior a 11,1 mmol/L.
2. Concentració de glucosa en el plasma en dejú (un mínim de 8 h) igual o superior a 7,0 mmol/L.
3. Concentració de glucosa en el plasma a les 2 h de la seva ingestió (prova de tolerància) igual o superior a 11,1 mmol/L.

Taula 3: Criteris diagnòstics en la gestant (American Diabetes Association)

- Prova d'O'Sullivan de cribratge de la diabetis gestacional: es considerarà resultat patològic, que obligarà a fer un estudi de tolerància a la glucosa, quan el valor de la concentració de glucosa sigui igual o superior a 7,8 mmol/L en el plasma o 6,7 mmol/L en la sang venosa o capil.lar després d'1 h de la ingestió de 50 g de glucosa.
- Prova oral de tolerància a la glucosa per al diagnòstic de la diabetis gestacional: es considerarà diabetis gestacional quan dos o més valors de concentració de glucosa en el plasma siguin iguals o superiors als següents:

abans de la ingesta \geq 5,8 mmol/L

1h després de la ingesta \geq 10,6 mmol/L

2h després de la ingesta \geq 9,2 mmol/L

3h després de la ingesta \geq 8,1 mmol/L

Taula 4: Substàncies químiques que poden produir un increment de la concentració de glucosa en el plasma

- Diürètics i antihipertensius:

- clortalidona
- clonidina
- diazòxid

- furosemida
- tiazides

- Substàncies hormonals:
 - corticotropina
 - dextrotiroxina
 - glucagó
 - glucocorticoides
 - anticonceptius orals
 - somatotropina
 - hormones tiroïdals

- Substàncies psicoactives:
 - clorprotixè
 - haloperidol
 - carbonat de liti
 - fenotiazines

- Substàncies neurològicament actives:
 - epinefrina
 - isoproterenol
 - levodopa
 - fenitoïna

- Altres:
 - L-asparaginasa
 - isoniazida
 - àcid nicotínic

¹ Membres del Comitè durant la preparació d'aquest document: J. Badia i Valls, M.À. Bosch i Ferrer, I. Calvet i Convelles, T. Carrera i Font, J. Colomines i Puig (president), D. Dot i Bach, M.D. Fernández i Delclós, X. Fuentes i Arderiu (coordinador), M. Fuesté i Ventosa, J.I. Hornos i Vila, J. Miró i Balagué, J. Nicolau i Costa, G. Trujillo i Isern, M.À. Vernetta i Porta, J.L. Vives i Corrons.

² Membres del Consell durant la preparació d'aquest document: C. Castell i Abat, G. Lloveras i Vallés (president), J. M. Pou i Torello, W. Ricart i Engel (vicepresident), J. Viadé i Júlia.

³ Citació recomanada per a aquest document: Associació Catalana de Ciències de Laboratori Clínic, Consell Assessor sobre la Diabetes a Catalunya. Recomanacions sobre la mesura de la concentració de glucosa en el plasma. *In vitro veritas* 2000; 1, art. 2: www.acclc.cat

⁴ Laboratori Clínic Bon Pastor, DAP Sant Andreu, Barcelona.

⁵ Balagué Center, Barcelona.

⁶ Laboratori Clínic, Hospital de Viladecans, Viladecans.