

Recomendación aprobada por la IFCC para el informe de resultados de glucosa en sangre¹

Federación Internacional de Química Clínica y Laboratorio Clínico,
División Científica
Grupo de Trabajo en Electrodo Selectivos y Pruebas en el Lugar
de Atención (IFCC-SD-WG-SEPOCT)

► Paul D'Orazio¹, Robert W. Burnett², Niels Fogh-Andersen^{3,*}, Ellis Jacobs⁴, Katsuhiko Kuwa⁵, Wolf R. Külpmann⁶, Lasse Larsson⁷, Andrzej Lewenstam⁸, Anton H.J. Maas⁹, Gerhard Mager¹⁰, Jerzy W. Naskalski¹¹ and Anthony O. Okorodudu¹²

-
1. Instrumentation Laboratory, Lexington, MA, USA
 2. Hartford Hospital, Hartford, CT, USA
 3. Herlev Hospital, Herlev, Denmark
 4. Wadsworth Center, Albany, NY, USA
 5. University of Tsukuba, Tsukuba, Japan
 6. Medizinische Hochschule Hannover, Hannover, Germany
 7. University of Linköping, Linköping, Sweden
 8. Åbo Akademi University, Åbo Turku, Finland
 9. Eurotrol bv, Ede, The Netherlands
 10. Fresenius, Bad Homburg, Germany
 11. Jagiellonian University, Krakow, Poland
 12. Department of Pathology, University of Texas Medical Branch, Galveston, TX, USA

Esta traducción fue autorizada por la IFCC. Sin embargo, la IFCC no acepta ninguna responsabilidad por la exactitud de la misma. El documento definitivo continúa siendo el original en inglés.

Acta Bioquímica Clínica Latinoamericana

Incorporada al Chemical Abstract Service.

Código bibliográfico: ABCLDL.

ISSN 0325-2957

ISSN 1851-6114 en línea

Resumen

En la práctica clínica corriente, los valores de glucosa en plasma y en sangre se utilizan de manera intercambiable con el consecuente riesgo de una interpretación clínica incorrecta. En sangre humana, la glucosa se distribuye, del mismo modo que el agua, entre los eritrocitos y el plasma. La molalidad de la glucosa (cantidad de glucosa por unidad de masa de agua) es la misma en toda la muestra, pero la concentración es mayor en plasma, debido a que la concentración de agua y, por consiguiente de glucosa, es mayor en plasma que en los eritrocitos. Los diferentes dispositivos para la medición de glucosa pueden detectar e informar fundamentalmente distintas cantidades. Las diferentes concentraciones de agua en el calibrador, plasma y fluidos eritrocitarios pueden dar cuenta de algunas de las diferencias. Los resultados de las mediciones de glucosa dependen del tipo de muestra y de si el método requiere que la misma se diluya o del uso de biosensores en las muestras no diluidas. Si los resultados se mezclan o se utilizan indiscriminadamente, las diferencias pueden exceder el error máximo permitido para las determinaciones de glucosa en el diagnóstico y monitoreo de diabetes mellitus, lo cual complicaría el tratamiento del paciente. El objetivo de la Federación Internacional de Química Clínica y Laboratorio Clínico, División Científica, Grupo de Trabajo sobre Electrodo Selectivos y Pruebas en el lugar de atención (IFCC-SD-WG-SEPOCT) es alcanzar un consenso global en el informe de los resultados. El documento recomienda que se informe la concentración de glucosa en plasma (en la unidad mmol/L) independientemente del tipo de muestra o de la técnica de medición. Se usa un factor constante de 1,11 para convertir la concentración en sangre a la concentración equivalente en plasma. La conversión posibilitará que se obtengan resultados armonizados, con lo cual se facilitaría la clasificación y el cuidado de los pacientes y se arribaría a menos diagnósticos incorrectos.

Clin Chem Lab Med 2006;44:1486–90.

Palabras clave: actividad * biosensores glucosa-oxidasa * hematocrito * plasma vs. sangre * estandarización * concentración de agua

La Federación Internacional de Química Clínica y Laboratorio Clínico (IFCC) ha autorizado a Acta Bioquímica Clínica Latinoamericana a traducir al español los documentos aprobados por los distintos Comités de la División Científica de la entidad. Esto significa una distinción para nuestra publicación pero al mismo tiempo el compromiso de transformarla en una sección permanente.

Contenidos

1. Introducción
2. Actividad y molalidad de la glucosa
3. Concentración activa de glucosa en plasma normal
4. Concentración de glucosa
5. Plasma *versus* sangre y suero
6. Conversión de la concentración de glucosa en sangre a su equivalente en plasma.
7. Referencias bibliográficas

1. Introducción

La Organización Mundial de la Salud (OMS) y la Asociación Americana de Diabetes (ADA) definen al diagnóstico de diabetes mellitus por medio de al menos dos mediciones de concentración de glucosa plasmática en ayunas $\geq 7,0$ mmol/L.

Como alternativa, resulta suficiente para hacer un diagnóstico definitivo de diabetes mellitus encontrar una concentración aleatoria de glucosa en plasma venoso $\geq 11,1$ mmol/L en presencia de síntomas, o un resultado de la prueba de tolerancia oral a la glucosa a las dos horas $\geq 11,1$ mmol/L (1) (2). Las nuevas clasificaciones de "glucemia en ayunas alterada" tienen intervalos más estrechos [6,1–6,9 mmol/L (OMS) o de 5,6–6,9 mmol/L (ADA)] para la concentración de glucosa en plasma venoso que el intervalo previo para glucosa en ayunas (5,6–7,7 mmol/L), para la clasificación de normoglucemia y diabetes (3). Los límites diagnósticos más estrechos aumentan la necesidad de obtener resultados confiables para clasificar a los individuos de manera correcta.

Actualmente, varios tipos de instrumentos detectan e informan fundamentalmente distintas cantidades de glucosa.

Los biosensores para glucosa están "leyendo directamente" cuando miden la glucosa de manera directa, es decir, sin diluir la muestra previamente. La nueva generación de sensores de lectura directa de glucosa responde a la molalidad de la glucosa, que es idéntica en sangre y en plasma, mientras que la concentración de glucosa en los dos sistemas es distinta. Los métodos que requieren una alta dilución de la muestra producen resultados equivalentes a la concentración cuando se los calibra contra estándares acuosos, debido a que las concentraciones de agua de la muestra y del calibrador son casi idénticas luego de la dilución.

La intención original de la IFCC-SD WGSE fue la de brindar una recomendación para los biosensores de lectura directa en analizadores de gases/electrolitos/meta-bolitos en sangre.

Sin embargo, una recomendación aislada no tendría sentido y no permitiría alcanzar la meta de obtener resultados armonizados, lo cual requiere de un consenso sobre el modo de informar los resultados para todos los analizadores. Se encuentran disponibles instrumentos de bajo costo con biosensores de lectura directa, los que se utilizan para el auto control o la realización de pruebas de glucosa en el lugar de atención (4–6). Se espera que el laboratorio de química clínica realice determinaciones de glucosa con sensores de lectura directa, al mismo tiempo que con otros instrumentos de rutina que miden las concentraciones de la sustancia en muestras diluidas.

En la práctica clínica actual, la glucosa en plasma y en sangre se utilizan de manera intercambiable (7), con el consiguiente riesgo de malas interpretaciones. A menudo se confunden los dos sistemas en la literatura clínica, a pesar de una diferencia promedio del 11% en la concentración de glucosa (plasma>sangre). La ADA estipula límites de decisión clínica para la concentración de glucosa en plasma venoso, pero la OMS también estipula la concentración de glucosa en sangre (1–3).

Con el uso de múltiples métodos que dan resultados para diferentes magnitudes, existe un serio riesgo de que se realicen malas interpretaciones clínicas. Se recomienda un factor constante de 1,11 para la conversión entre la concentración de glucosa en sangre y su equivalente en plasma, y solamente informar la concentración de glucosa en plasma para evitar juicios erróneos.

El resultado convertido iguala a la concentración de la glucosa en plasma cuando el hematocrito y las concentraciones de agua son normales. La recomendación incluye dispositivos para la medida en el lugar de atención y métodos en el lugar de atención que miden la concentración de glucosa en sangre. La conversión no elimina las influencias pre-analíticas actuales o los efectos en el hematocrito que son específicos de ciertos métodos y que están resumidos en otros lugares (4). Sin embargo, gracias a la conversión se lograrán resultados armonizados que facilitarán la clasificación y el cuidado de los pacientes y que permitirán menos errores de apreciación terapéutica.

La concentración de glucosa depende del sitio de toma de muestra, especialmente cuando el paciente no está en ayunas. Por consiguiente, el sitio de toma de muestra debe especificarse y esta información debe acompañar al resultado. Cuando se realice la prueba de tolerancia a la glucosa, se han de preferir las muestras de sangre venosa. El factor de conversión es solamente válido para aquellas muestras que se obtengan en el mismo lugar (ej., sangre venosa). No se aplica al cálculo de concentraciones de glucosa en plasma venoso a partir de concentraciones de glucosa en sangre arterial o capilar.

2. Actividad y molalidad de la glucosa

Los biosensores responden a la actividad del analito en cuestión. Se supone que la actividad de la glucosa es igual a la molalidad con un coeficiente de actividad molal igual a 1. La actividad (a , sin dimensión) está relacionada con el potencial químico ($\mu = \mu_0 + RT \ln a$ en unidades de kJ/mol).

La molalidad (m , en unidades de mmol/kg H₂O) es la cantidad por unidad de masa de agua. La relación entre m y la concentración c (en unidades de mmol/L) es $m = c / \rho_{\text{H}_2\text{O}}$, donde $\rho_{\text{H}_2\text{O}}$ es la concentración en masa de agua (en unidades de kg/L). La calibración de los biosensores de lectura directa de glucosa con calibradores de glucosa acuosa sin considerar la concentración de agua, arroja resultados de "molalidad relativa" que resultan numéricamente mayores que la concentración, pero levemente menores que la molalidad verdadera.

Al multiplicar los resultados por la proporción de concentraciones de agua en la muestra y en el calibrador, se convierte a la "molalidad relativa" a concentración. La concentración de masa de agua (kg/L) es de 0,71 en promedio en el citoplasma de eritrocitos "normales", de 0,84 en sangre entera/hemolizada, de 0,93 en plasma, y de 0,99 en los calibradores acuosos. Como "normal" se define aquí a un hematocrito de 0,43, y a concentraciones de proteínas y lípidos en plasma dentro del intervalo de referencia, el efecto de la variación dentro del intervalo de referencia es insignificante.

La actividad es fisiológicamente relevante para determinar las tasas de reacción enzimática, la dirección de los procesos químicos, el transporte y la unión con los receptores. La glucosa atraviesa la membrana del eritrocito rápidamente por medio del transporte pasivo, facilitado por el transportador de glucosa del eritrocito, que cataliza el movimiento unidireccional de la D-glucosa a favor de su gradiente de concentración. Por lo tanto, la molalidad de la glucosa es idéntica en los eritrocitos y en el plasma. Los resultados obtenidos por medio de la lectura directa de la glucosa hecha por un biosensor que responda a la molalidad son idénticos en sangre y en el plasma separado. Una nueva cantidad con un nuevo intervalo de referencia para glucosa basado en la molalidad agregarían riesgos de mala interpretación clínica, de confusión con respecto al tipo de muestra y de la metodología analítica, y no serían aceptables en la práctica clínica. Los biosensores de lectura directa de glucosa que detectan su molalidad se encuentran disponibles en los analizadores combinados de gases/electrolitos/metabolitos en sangre, que venden los más importantes fabricantes de estos sistemas. Varios dispositivos en el lugar de atención también utilizan biosensores para lectura directa de glucosa. Algunos instrumentos para determinación de gases/electrolitos/metabolitos en sangre que tienen biosensores para lectura directa de glucosa se calibran con calibra-

dores acuosos para obtener resultados acordes con la "molalidad relativa" de la glucosa en la muestra. La relación que se predijo de los resultados que informan esos instrumentos a aquellos investigadores en muestras diluidas es de 1,18 (0,99/0,84) para sangre entera normal y 1,06 (0,99/0,93) para plasma normal, de acuerdo con los resultados de la literatura (8) (9). Los resultados no convertidos pueden ser confusos si están relacionados con intervalos de referencia establecidos y límites de decisión clínica y el uso de estos instrumentos sin conversión puede dar lugar a confusión con las concentraciones de glucosa determinadas convencionalmente.

3. Concentración activa de glucosa en plasma normal

A los resultados convertidos basados en mediciones de la actividad de glucosa y en la concentración promedio de agua en plasma normal se los llama la "concentración activa de glucosa en plasma normal" para distinguirla de la concentración de sustancia de glucosa en el plasma real. Se recomienda convertir e informar los resultados de todos los sistemas e instrumentos que utilizan biosensores de glucosa de lectura directa como concentración activa de glucosa en plasma normal (10) utilizando la unidad mmol/L. Esta recomendación es compatible con la de la ADA (2). Otro motivo por el cual se debe elegir plasma en vez de sangre como sistema de referencia es su independencia del hematocrito. La ventaja de los biosensores de glucosa de lectura directa que responden a la actividad y a la molalidad no se perderá. Los resultados convertidos para los biosensores de glucosa de lectura directa son proporcionales a la actividad y la molalidad de la glucosa (contrariamente a la menor concentración de sustancia fisiológica de la glucosa), debido a la relación de factor constante. La relación entre las concentraciones activa y convencional de glucosa en una muestra de plasma dada es igual a la relación de la concentración de agua entre el plasma real y el promedio (con una media de 1,00 y DE de 0,01, si la concentración de agua es normal). En la práctica, a las dos se las puede considerar idénticas. Los subgrupos como los recién nacidos o las mujeres embarazadas pueden tener concentraciones de agua en plasma levemente más altas que las concentraciones promedio. Una concentración de agua en plasma real más baja que la promedio que se debe a, por ejemplo, hiperlipidemia, dará por resultado una más baja concentración de sustancia usada convencionalmente, aunque no tiene ningún impacto en la concentración activa de glucosa. La concentración activa de glucosa no se ve afectada por los cambios en la concentración de agua,

pero la concentración usada convencionalmente cambiará en proporción a la concentración de agua.

Por la misma razón, el material de control con una concentración de glucosa asignada debe tener una concentración de agua normal de 0,93 kg/L para que esté validado para evaluación de la calidad de los biosensores de glucosa de lectura directa. De no ser así, se debe tener en cuenta la concentración de agua.

4. Concentración de glucosa

La mayoría de los métodos fotométricos actuales para medir glucosa utilizan la conversión enzimática con NADH o NADPH como coenzimas y mediciones de absorbancia a 340 nm o cercanas. La absorptividad molal permite calcular la concentración directa de la glucosa luego de una reacción completa.

La concentración también puede determinarse por mediciones cinéticas, comparando la muestra contra un estándar. Una medición cinética evita la sustracción del blanco a costas de introducir un pequeño error sistemático positivo. Luego de diluirla 50 veces, la concentración de masa de los solutos es de ~4,0 g/L en el caso de la sangre, y menor en el caso de plasma. La velocidad de reacción enzimática depende de la actividad del sustrato (o molalidad). La concentración de agua levemente menor en una muestra diluida comparada con un calibrador diluido proporciona una velocidad de reacción enzimática relativamente (levemente) mayor en la muestra diluida. Los métodos que incluyen precipitación de proteínas pueden tener también un error sistemático positivo, dependiendo del grado de dilución y de concentración de la proteína. La precipitación crea un sistema no homogéneo. La fase acuosa tiene una concentración más alta de glucosa que la proteína precipitada o que la solución que contenía precipitantes antes del centrifugado. A pesar de estos temas teóricos (menores), los analizadores de química clínica miden la concentración de glucosa (cantidad de glucosa por volumen de muestra) con suficiente veracidad y precisión.

Los biosensores que requieren dilución proporcionan resultados que guardan mucha semejanza con la concentración. Estos dispositivos informan la concentración basada en la concentración de glucosa del calibrador.

La dilución disminuye la concentración de todos los componentes excepto la del solvente, el cual se acerca a la concentración del solvente en el diluyente. Luego de la dilución a, por ejemplo, una proporción de 1:25, la concentración de agua de la muestra diluida y del calibrador acuoso difieren en menos del 1% en el momento de la medición. Como consecuencia, se obtiene un pequeño sesgo positivo de menos del 1% en la concentración informada, dependiendo de la concentración original de los solutos.

5. Plasma *versus* sangre y suero

Sobre la base de una concentración (cantidad de glucosa por litro de muestra), la concentración de glucosa en plasma es mayor que la concentración de glucosa en los eritrocitos debido a que la concentración de agua es más alta en plasma que en los eritrocitos. A diferencia de los biosensores de glucosa de lectura directa, los métodos que utilizan muestras diluidas producen resultados que dependen de la concentración de agua de la muestra. Por lo tanto, los métodos que requieren dilución de la muestra producen diferentes resultados para sangre (o sangre hemolizada) y el correspondiente plasma.

Consideremos, por ejemplo, una muestra de sangre con un hematocrito (Hct) de 0,43. La concentración de agua de los eritrocitos es de ~0,71 kg/L. La concentración de agua del plasma es ~0,93 kg/L. La concentración de agua (kg H₂O/L) de la muestra de sangre debe ser intermedia a estos extremos $(0,43) \times (0,71) + (1-0,43) \times (0,93) = 0,84$. La proporción entre el agua y, por lo tanto, la concentración de glucosa entre el plasma y la sangre es de $0,93/0,84$, ó 1,11. Esta proporción depende del hematocrito. Un descenso en el Hct daría lugar a un incremento en la concentración de glucosa en sangre entera y viceversa. Cuando se sabe que el hematocrito es anormal, la concentración de glucosa en sangre puede ser "ajustada al hematocrito" para llevarla a un hematocrito normal de 0,43 al multiplicarla por $0,84 / (0,93 - 0,22 \times \text{Hct})$. Desafortunadamente, algunos métodos pueden estar sujetos a alguna interferencia adicional de eritrocitos o hemoglobina.

Las concentraciones de glucosa en plasma y en sangre no son intercambiables debido a la diferencia en las concentraciones de glucosa entre plasma y sangre (en contraste con la práctica corriente en muchas instituciones). Se aplican diferentes intervalos de referencia y límites de decisión clínica. Aquí, la recomendación es informar solamente la concentración de glucosa en plasma, independientemente del material investigado. La glucosa y el agua se distribuyen libremente entre los eritrocitos y el plasma, por lo cual la molalidad –no la concentración– de glucosa es idéntica en eritrocitos y en plasma. Por consiguiente, para una concentración dada de glucosa en plasma, la concentración de glucosa en sangre depende del hematocrito porque los eritrocitos tienen una concentración menor de agua que el plasma. La concentración de glucosa en plasma es independiente del hematocrito. La actividad de la glucosa y su concentración son prácticamente proporcionales en plasma donde la concentración de agua varía relativamente poco, pero no en sangre, donde el hematocrito puede variar considerablemente y confundir la relación. Por lo tanto, la concentración de glucosa en plasma (más que la concentración en sangre) refleja más acertadamente la actividad de la glucosa. Para la mayo-

ría de los propósitos, la concentración de glucosa en plasma es fisiológicamente más relevante para medir e informar que la concentración en sangre.

No se recomienda el uso de suero ya que la concentración de glucosa disminuye durante su preparación. Del mismo modo, la concentración de glucosa en sangre capilar no debería utilizarse como sustituta de la concentración en plasma venoso (11).

El tipo de muestra utilizada para la medición de glucosa no siempre ha recibido la atención que se merece. Por ejemplo, la ADA recomienda un CV máximo permitido de 10% en las concentraciones de glucosa de 1,7–22 mmol/L y un error sistemático máximo de 15% a partir del valor del método de referencia (12) (13). Dicho de otro modo, la ADA no acepta más que 5% de error analítico para la determinación de glucosa (13). La diferencia sistemática del 11% entre sangre normal y plasma ya excede el error máximo permitido recomendado. El hecho de confundir o no poder distinguir correctamente el tipo de muestra puede originar interpretaciones erróneas del resultado y que se realice un diagnóstico equivocado. De acuerdo con un editorial (14) de Rainey and Jatlow, dar informes sobre valores de glucosa en sangre es anacrónico y se lo puede comparar con informar sobre potasio en sangre en vez de sus concentraciones en plasma. Los fabricantes y los bioquímicos clínicos siempre deberían informar la concentración de glucosa en plasma para evitar este riesgo, independientemente del tipo de muestra y del método de medición.

Conversión de la concentración de glucosa en sangre a su equivalente en plasma

El presente documento de la IFCC recomienda el uso de un factor constante de 1,11 para convertir la concentración de glucosa (Figura 1), basándose en las concentraciones de agua en sangre normal y en plasma normal. Esta relación tiene fundamentos experimentales (8) (9). La conversión basada en los hemato-

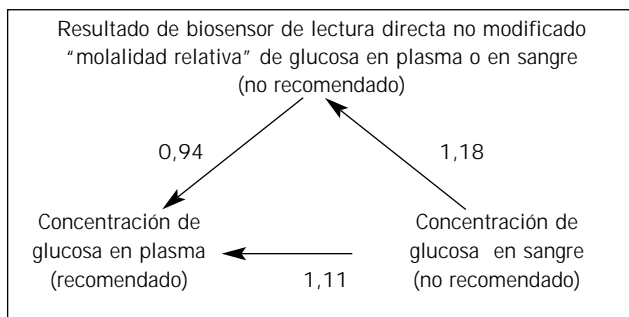


Figura 1. Factores de conversión para diferentes cantidades de glucosa.

critos medidos puede introducir un error adicional (9), además de ser menos conveniente y de requerir información adicional. Las concentraciones de glucosa convertidas (sangre→plasma) tendrán la misma dependencia del hematocrito que las concentraciones de glucosa en sangre entera informadas actualmente. Con esta conversión, todos los resultados pueden armonizarse e informarse como concentración de glucosa en plasma. El laboratorio, sin embargo, debe preservar la información sobre qué tipo de muestra y procedimiento de medición se han utilizado.

7. Referencias bibliográficas

1. World Health Organization. Definition, diagnosis and classification of diabetes mellitus and its complications: report of a WHO consultation. Part 1: diagnosis and classification of diabetes mellitus. Geneva: World Health Organization, 1999.
2. American Diabetes Association. Standards of medical care in diabetes. *Diabetes Care* 2005; 28 (Suppl 1): S4–36.
3. Diabetes mellitus. Report of a WHO Study Group, World Health Organization Expert Committee. Technical Report Series 727. Geneva: WHO, 1985.
4. Chance JF, Li DJ, Jones KA, Dyer KL, Nichols JH. Technical evaluation of five glucose meters with data management capabilities. *Am J Clin Pathol* 1999; 111: 547–56.
5. Johnson RN, Baker JR. Accuracy of devices used for self-monitoring of blood glucose. *Ann Clin Biochem* 1998; 35: 68–74.
6. Kost GJ et al. Multicenter study of oxygen-insensitive handheld glucose point-of-care testing in critical care/hospital/ambulatory patients in the United States and Canada. *Crit Care Med* 1998; 26: 581–9.
7. Burrin JM, Alberti KG. What is blood glucose: can it be measured? *Diabet Med* 1990; 7: 199–206.
8. Fogh-Andersen N, Wimberley PD, Thode J, Siggaard-Andersen O. Direct reading glucose electrodes detect the molality of glucose in plasma and whole blood. *Clin Chim Acta* 1990; 189: 33–8.
9. Fogh-Andersen N, D'Orazio P. Proposal for standardizing direct-reading biosensors for blood glucose. *Clin Chem* 1998; 44: 655–9.
10. Siggaard-Andersen O, Durst RA, Maas AHJ. Physicochemical quantities and units in clinical chemistry with special emphasis on activities and activity coefficients. IUPAC/IFCC recommendation. *J Clin Chem Clin Biochem* 1987; 25: 369–91; *Ann Biol Clin* 1987; 45: 89–109.
11. Stahl M, Brandslund I, Jørgensen LG, Hyltoft Petersen P, Borch-Johnsen K, de Fine Olivarius N. Can capillary whole blood glucose and venous plasma glucose measurements be used interchangeably in diagnosis of diabetes mellitus? *Scand J Clin Lab Invest* 2002; 62: 159–66.
12. American Diabetes Association. Consensus statement – self monitoring of blood glucose. *Diabetes Care* 1990; 13 (Suppl 1): 41–6.
13. American Diabetes Association. Self-monitoring of blood glucose. *Diabetes Care* 1994; 17: 81–6.
14. Rainey PM, Jatlow P. Monitoring blood glucose meters we-ditorialx. *Am J Clin Pathol* 1995; 103: 125–6.

