



Organización Mundial de la Salud



**Diagnóstico y
Monitorización de la
Diabetes Mellitus
desde el Laboratorio**



Organización Mundial de la Salud

**Diagnóstico y
Monitorización de la
Diabetes Mellitus
desde el Laboratorio**

Hans Reinauer

Philip D. Home

Ariyur S. Kanagasabapathy

Claus-Chr. Heuck

© Organización Mundial de la Salud
Título original:
“Laboratory Diagnosis and Monitoring
of Diabetes Mellitus”
© 2003 World Health Organization.

El Director General de la Organización Mundial
de la Salud ha concedido los derechos de reproducción
a Momento Médico Iberoamericana s.l.

© 2005 Momento Médico Iberoamericana
para la traducción española

05MS0911-09/05

Momento Médico Iberoamericana, s.l.
Plaza de Castilla 3, pl.20 E-2
28046 Madrid. España
Telf. 91/3146416 - Fax 91/3145274
E-mail: info@momentomedicoib.com
Impreso en España por Momento Médico

Los nombres utilizados en la presentación de esta
publicación no implican la expresión de ninguna opinión
por parte de la Organización Mundial de la Salud sobre
la situación legal de ningún país, territorio, ciudad
o área o de sus autoridades, o sobre la delimitación de sus
límites o fronteras.

La mención de compañías específicas o de fabricantes de
algunos productos no implica que estén respaldados o
recomendados por la Organización Mundial de la Salud
con preferencia a otros de naturaleza similar que no
se mencionen. Los errores y omisiones excluidos y los
nombres de productos registrados se distinguen por la
letra inicial en mayúscula.

La Organización Mundial de la Salud no garantiza que la
información contenida en esta publicación sea completa
y correcta y no será responsable de los daños incurridos
como consecuencia de su uso.

Edición realizada con la colaboración de Lácer

Índice

ABREVIATURAS	5
GLOSARIO	7
INTRODUCCIÓN	11
CLASIFICACIÓN DE LA DIABETES MELLITUS	12
▶ <i>Diabetes Tipo 1</i>	13
▶ <i>Diabetes Tipo 2</i>	14
▶ <i>Diabetes Mellitus Gestacional (DMG)</i>	16
PREVALENCIA DE LA DIABETES	17
DESPISTAJE DE LA DIABETES	18
▶ <i>Métodos de despistaje desde la perspectiva técnica del laboratorio</i>	20
Despistaje descentralizado	20
Despistaje centralizado	21
PAPEL DEL LABORATORIO MÉDICO EN LA DIABETES MELLITUS	22

CUANTIFICACIÓN DE GLUCOSA	24
Glucosa en sangre	24
Obtención y estabilidad de la glucosa en sangre	26
Métodos de cuantificación de glucosa en sangre	27
▶ <i>Glucosa en orina</i>	29
▶ <i>Control de calidad de la cuantificación de glucosa</i>	31
▶ <i>Automonitorización de la glucosa en sangre</i>	31
PRUEBA ORAL DE TOLERANCIA A LA GLUCOSA (TTOG)	35
PROTEÍNAS GLICADAS	40
▶ <i>Hemoglobina glicada</i>	40
Análisis de la HbA _{1c}	42
Estandarización de la HbA _{1c}	43
▶ <i>Determinación de la fructosamina</i>	50
EXCRECIÓN URINARIA DE ALBÚMINA	51
BIBLIOGRAFÍA	57

Abreviaturas

Cociente AC	=	cociente albúmina/creatinina
IMC	=	Índice de Masa Corporal
CEN	=	Comité Europeo para la Normalización
CV	=	coeficiente de variación
DCCT	=	Estudio sobre el control y complicaciones de la diabetes
EDTA	=	ácido etilenediaminotetraacético
GSA	=	glucosa plasmática en ayunas
FPLC	=	cromatografía líquida de alta presión rápida
GADA	=	autoanticuerpos descarboxilasa del ácido glutámico
DMG	=	diabetes mellitus gestacional
GFR	=	tasa de filtración glomerular
HPLC	=	cromatografía líquida de alta presión
IA-2, IA-2 β	=	autoanticuerpos fosfatasa de la proteína tirosina
ICA	=	autoanticuerpos frente a las células de los islotes
AGA	=	alteración de la glucemia en ayunas
ATG	=	alteración de la tolerancia a la glucosa
ISO	=	Organización Internacional para la Estandarización

Diagnóstico y Monitorización de la **Diabetes Mellitus** desde el **Laboratorio**

DALA	= diabetes autoinmune latente en los adultos
MODY	= diabetes juvenil de inicio en el adulto
TTOG	= prueba de tolerancia oral a la glucosa
POCT	= estudios en la cabecera del enfermo (= estudio cerca del paciente, estudio en la cama del enfermo)
RIA	= radioinmunoensayo
SMBG	= automonitorización de glucosa en sangre
UAE	= excreción urinaria de albúmina
OMS	= Organización Mundial de la Salud

Glosario

Anticuerpos IA-2A: Autoanticuerpos frente a la fosfatasa proteína tirosina que se expresa en los gránulos secretores de los islotes y en tejidos neuroendocrinos. Los resultados de los anticuerpos IA-2A se dan en forma de índice. Un índice $>1,1$ se considera anormal.

Anticuerpos descarboxilasa del ácido glutámico (GAD₆₅): Autoanticuerpos dirigidos frente a una proteína de membrana de las células β de los islotes que es una descarboxilasa glutamato. Los GADA se determinan mediante RIA y los resultados se dan en unidades, con un valor umbral de 1,9 unidades/ml.

Anticuerpos frente a las células de los islotes (ICA): anticuerpos dirigidos contra distintas proteínas situadas dentro y sobre las cadenas β de los islotes. Los ICA se determinan mediante inmunofluorescencia. Los resultados se dan en unidades JDF. El valor umbral es >10 unidades JDF.

Autoanticuerpos: Anticuerpos dirigidos contra las proteínas, células o tejidos propios del paciente. En la diabetes tipo 1 los anticuerpos se dirigen contra:

- ▶ Componentes de las células β de los islotes pancreáticos (islotes de Langerhans)
- ▶ inespecíficos, denominados ICA
- ▶ descarboxilasa del ácido glutámico (GAD₆₅)
- ▶ fosfatasa fosfotirosina (IA-2, IA-2 β)
- ▶ autoanticuerpos circulantes frente a proteínas insulina/proinsulina (IAA)

Despistaje: El proceso de identificar aquellos sujetos que tienen un riesgo suficientemente alto de padecer un trastorno específico para garantizar una investigación más minuciosa o una acción directa. El despistaje se ofrece sistemáticamente a una población de personas que no buscan atención médica debido a los síntomas de la enfermedad para la que se ofrece el despistaje y se inicia normalmente a petición de las autoridades médicas y no por la solicitud de un paciente para ayudar a explicar una molestia en especial.

El objetivo del despistaje es beneficiar a los sujetos que se someten al mismo:

- ▶ despistaje selectivo o dirigido, realizado en un subgrupo de sujetos que ya han sido identificados como de riesgo relativamente alto en relación con la edad, el peso corporal, el origen étnico, etc.
- ▶ despistaje oportunista, realizado por el personal sanitario en el momento en el que se ve a los candidatos por razones distintas a las del trastorno en cuestión.

Nota: el ‘despistaje selectivo o dirigido’ y el ‘despistaje oportunista’ no son mutuamente excluyentes.

Especificidad diagnóstica: Capacidad de una prueba de dar un resultado negativo en sujetos que no tienen la enfermedad o afección para la cual se aplica la prueba. Se mide como la relación de pruebas negativas del número total de pruebas en sujetos que no tienen la enfermedad o afección (expresada como porcentaje). Es el porcentaje de resultados verdaderos negativos.

Exactitud de la medición (exactitud analítica): Proximidad del acuerdo entre el resultado de una medición y el valor verdadero de un analito

Fructosamina: Nombre genérico de las proteínas plasmáticas cetoamina resultantes de la glucosilación de proteínas, principalmente de albúmina e inmunoglobulinas.

Hemoglobina A_{1c} (HbA_{1c}): Fracción principal de la hemoglobina glicada A compuesta por glucosa unida covalentemente al extremo amino de las cadenas β de la hemoglobina (valina).

Incertidumbre (de la medición): Parámetro asociado al resultado de la medición que caracteriza la dispersión de valores que podrían razonablemente atribuirse al parámetro que se mide. El parámetro puede ser, por ejemplo, una desviación estándar (o un múltiplo de ella), o la mitad del ancho del intervalo que tiene un nivel de confianza declarado.

Precisión (de la medición): Proximidad del acuerdo entre resultados independientes de una prueba obtenidos en condiciones estipuladas. La precisión depende sólo de la distribución de los errores aleatorios y no se relacionan con el valor verdadero o el valor especificado. La medición de la precisión se expresa habitualmente en términos de imprecisión y se calcula como la desviación estándar o el coeficiente de variación de los resultados de una prueba. La precisión más baja se refleja por una desviación estándar mayor.

Sensibilidad diagnóstica: La capacidad de una prueba de obtener un resultado positivo en sujetos que tienen la enfermedad o afección en particular para la cual se aplica la prueba; se mide como la relación entre las pruebas positivas y el número total de pruebas en sujetos que tienen la enfermedad (expresada como porcentaje). Es el porcentaje de resultados verdaderos positivos.

Trazabilidad: Propiedad del resultado de una medición o del valor de un patrón por el cual se puede relacionar con una referencia constatada, habitualmente un patrón nacional internacional a través de una cadena no rota de comparaciones, teniendo todos ellos incertidumbres confirmadas.

Introducción

El término diabetes mellitus se refiere a un grupo de enfermedades que se caracterizan por la elevación de la concentración de glucosa en sangre (hiperglucemia) como consecuencia de defectos de la secreción de insulina, de la acción de la insulina o de ambos. La diabetes mellitus no es una entidad patogénica, sino un grupo de defectos metabólicos etimológicamente diferenciados. Los síntomas habituales de la diabetes son letargo, por la hiperglucemia importante, poliuria, polidipsia, pérdida de peso, visión borrosa y susceptibilidad a ciertas infecciones. La hiperglucemia grave provoca un síndrome hiperosmolar y déficit de insulina o incluso cetoacidosis potencialmente mortal. La hiperglucemia crónica provoca daños a largo plazo, disfunción y fracaso de varias células, tejidos y órganos. Las complicaciones de la diabetes son:

- ▶ Macroangiopatía: cardiopatía isquémica (CI), ictus, vasculopatía periférica (VP)
- ▶ Microangiopatía: retinopatía, nefropatía
- ▶ Neuropatía: neuropatía periférica, neuropatía autónoma
- ▶ Cataratas
- ▶ Pie diabético
- ▶ Cardiopatía diabética

Clasificación de la diabetes mellitus

El Comité de Expertos en Diabetes de la OMS ha establecido varios sistemas de clasificación para la diabetes mellitus (1980, 1985).

El sistema de clasificación actual de la OMS se ha establecido en colaboración con el Grupo Nacional de Datos sobre Diabetes (EE.UU.), basado principalmente en la etiología de la diabetes mellitus (Tabla 1).

TABLA 1
Clasificación de la diabetes mellitus

Diabetes mellitus tipo 1
De mecanismo inmunitario
Idiopática
Diabetes mellitus tipo 2
Otros tipos específicos de diabetes
Defectos genéticos de la función de las células β de los islotes
Defectos genéticos de la acción de la insulina
Enfermedades del páncreas exocrino
Endocrinopatías
Diabetes inducida por fármacos o productos químicos
Infecciones
Formas infrecuentes de diabetes
Otros síndromes genéticos
Diabetes mellitus gestacional

Antiguamente se usaban los términos DMID (diabetes mellitus insulino dependiente) y DMNID (diabetes mellitus no insulino dependiente), que ahora se han abandonado.

Actualmente se usan los términos diabetes "Tipo 1" y "Tipo 2". La forma más prevalente es la diabetes tipo 2.

Diabetes tipo 1

(Diabetes insulino dependiente, diabetes juvenil). La diabetes tipo 1 se caracteriza por la destrucción autoinmune de las células β de los islotes mediada por células.

Marcadores:

- ▶ anticuerpos frente a las células de los islotes (ICA)
- ▶ autoanticuerpos frente a la insulina (IAA)
- ▶ autoanticuerpos frente a la descarboxilasa del ácido glutámico (GAD_{65})
- ▶ autoanticuerpos frente a las fosfatasa tirosina IA-2 y IA-2 β

Asociación al HLA: genes DQA y DQB: los alelos HLA-DR/DQ pueden ser protectores.

Los factores ambientales no están bien definidos. Se proponen factores infecciosos víricos y nutricionales.

Edad: Inicio predominante en la infancia y adolescencia, pero puede aparecer a cualquier edad.

Diabetes idiopática en sujetos africanos o asiáticos. Esta forma de diabetes tiene un carácter hereditario potente, con insulinopenia permanente, propen-

sión a la cetoacidosis y sin anticuerpos frente a las células β .

Resultados del laboratorio:

- ▶ Hiperglucemia
- ▶ Cetonuria
- ▶ Concentraciones séricas de insulina y péptido C bajas o indetectables
- ▶ Autoanticuerpos frente a componentes de las células β de los islotes

Diabetes tipo 2

(Diabetes de inicio en la edad adulta, diabetes no insulino dependiente).

La diabetes tipo 2 se debe a la insensibilidad a la insulina combinada con un fracaso de la secreción de esta hormona para superar esta insensibilidad mediante la hipersecreción, con lo que se produce un déficit relativo de la misma. La predisposición genética es importante. La diabetes tipo 2 es más frecuente en sujetos con historia familiar de la enfermedad, en sujetos con hipertensión o dislipidemia y en algunos grupos étnicos. El riesgo de desarrollar diabetes tipo 2 aumenta con:

- ▶ La historia familiar de diabetes (en particular, padres o hermanos con diabetes)
- ▶ Obesidad ($\geq 20\%$ sobre el peso ideal o un IMC $\geq 25,0$ kg/m²)
- ▶ Pertenencia a determinados grupos étnicos
- ▶ Edad ≥ 45 años
- ▶ AGA o ATG identificadas con anterioridad
- ▶ Hipertensión ($\geq 140/90$ mmHg en los adultos)

- ▶ Concentración de colesterol HDL $\leq 1,0$ mmol/l ($\leq 0,38$ g/l), una concentración de triglicéridos $\geq 2,3$ mmol/l ($\geq 2,0$ g/l) o ambas
- ▶ Disminución de la actividad física
- ▶ Historia de diabetes mellitus gestacional (DMG) o parto con feto $>4,5$ kg

La MODY es una forma de diabetes de inicio en la juventud que no es insulino-dependiente, con una historia familiar dominante y asociada a genes anormales del factor nuclear hepático (HNF) o glucocinasa. Las características propias de la diabetes de tipo 1 y tipo 2 se comparan en la Tabla 2.

Características	Diabetes tipo 1	Diabetes tipo 2
Edad típica de inicio (años)	<35	>35
Predisposición genética	Baja	Alta
Anticuerpos frente a las células β	Sí (90% – 95%)	No
Hábito corporal	Normal/atrofiado	Obeso
Insulina/péptido C en plasma	Bajos/ausentes	Altos
Principal característica metabólica	Déficit de insulina	Síndrome metabólico con insensibilidad a la insulina
Tratamiento con insulina	Responde	Necesita dosis altas
Fármacos secretagogos de insulina	No responde	Responde

TABLA 2
Características generales de las diabetes de tipo 1 y tipo 2

Resultados del laboratorio:

- ▶ Hiperglucemia
- ▶ Hiperlipidemia
- ▶ Concentraciones séricas altas de insulina/péptido C
- ▶ Secreción deficiente de insulina
- ▶ Resistencia a la insulina

Diabetes mellitus gestacional (DMG)

Definición: Cualquier grado de intolerancia clínica a la glucosa que se inicia o reconoce por primera vez durante el embarazo.

La DMG complica el embarazo: los siguientes problemas pueden aparecer como consecuencia de la DMG: alteración de la duración del embarazo, insuficiencia placentaria, hipertensión/preeclampsia, peso alto del recién nacido al nacer.

Tratamiento: tratamiento nutricional; insulina (no se aconseja usar fármacos hipoglucemiantes).

Diagnóstico de la DMG: Concentración de glucosa plasmática en ayunas $>7,0$ mmol/l ($>1,26$ g/l) o glucosa plasmática ocasional $>11,1$ mmol/l ($>2,00$ g/l), confirmada el día siguiente.

Procedimiento de laboratorio para el diagnóstico de la DMG:

- | | |
|----------------------|---|
| Método de un paso: | TTOG (75 g de glucosa) |
| Método de dos pasos: | 1. Primera TTOG con carga de 50 g de glucosa; valor umbral después de 1 hora de la glucosa plasmática $\geq 7,8$ mmol/l ($>1,40$ g/l). |

2. Segunda TTOG con carga de 75 g de glucosa y evaluación como la TTOG estándar.

Seis semanas después del embarazo o más tarde es necesario volver a estudiar la presencia de diabetes mellitus o ATG.

Prevalencia de la diabetes

Se estima que la prevalencia de la diabetes en los países occidentales varía entre el 6,0% y el 7,6%. En algunos países en desarrollo la prevalencia es mayor del 6% (Oriente Medio o Pacífico Occidental). La media de la prevalencia porcentual varía en los distintos grupos étnicos (indios americanos, hispanos y otros). Se ha predicho que entre 1995 y 2025 habrá un incremento del 35% de la prevalencia mundial de la diabetes. El número creciente de diabéticos afectará principalmente a los países en desarrollo, con más de 300 millones de personas con diabetes en todo el mundo en 2025. Actualmente, hasta el 50% de los pacientes no están diagnosticados.

Como la intervención terapéutica reduce las complicaciones de la enfermedad, es necesario detectar la diabetes al inicio de su evolución.

El riesgo de desarrollar diabetes tipo 2 aumenta con la edad, la obesidad y la falta de actividad física.

Despistaje de la diabetes

El despistaje de la diabetes es un problema analítico, organizativo y financiero. Estos dos últimos son los factores limitantes más importantes. Se han propuesto varios métodos de despistaje y se han evaluado a nivel comunitario. Cuando sea posible, el despistaje comunitario deberá producirse en el marco del sistema sanitario local de forma que los sujetos que tengan resultados positivos accedan a los protocolos de seguimiento y tratamientos pertinentes.

El método de despistaje dependerá de la prevalencia subyacente de la diabetes, de la estructura del sistema sanitario local y de la situación económica del país. El objetivo del despistaje consiste en identificar a los sujetos asintomáticos con probabilidades de ser diabéticos. En el despistaje pueden aplicarse dos métodos:

1. Detectar todas las personas que tienen diabetes en una población.
2. Detectar la diabetes entre las personas que tienen más probabilidades de estar afectadas (despistaje selectivo u oportunista).

En un reciente estudio danés los autores afirmaron que no se disponía de estudios clínicos aleatorizados y controlados para elegir entre el despistaje oportunista y el sistemático.

Estos autores defienden los modelos económicos que dan preferencia al despistaje oportunista frente al sistemático, mientras que en otros países, cuya

prevalencia de la diabetes es mayor, puede ser más rentable este último.

Despistaje oportunista: Detección de personas con diabetes que acuden a los servicios sanitarios por otras razones, mediante un estudio físico y analítico.

Despistaje selectivo: Se distribuye un cuestionario verbal o escrito entre la población, cuyo uso permitirá identificar los sujetos que tienen un riesgo alto de tener diabetes y que deberán ser enviados a un médico para evaluar el diagnóstico.

Se debe plantear un despistaje selectivo en sujetos:

- ▶ con síntomas típicos de diabetes
- ▶ que tienen familiares de primer grado con diabetes
- ▶ que pertenecen a un grupo de riesgo étnico alto
- ▶ que tienen sobrepeso ($\text{IMC} \geq 25,0 \text{ kg/m}^2$)
- ▶ que dan a luz un feto $>4,5 \text{ kg}$ o que han tenido DMG
- ▶ que tienen hipertensión ($\geq 140/90 \text{ mmHg}$)
- ▶ con concentraciones séricas altas de triglicéridos y colesterol
- ▶ con ATG o AGA detectado previamente

Despistaje sistemático: La identificación de nuevas personas con diabetes se producirá mediante estudios de seguimiento efectuados periódicamente (p. ej., cada 3 años) porque la incidencia de casos nuevos es baja. Con este método se plantean problemas como especificidad y motivación. Para el despistaje sistemático de la diabetes se debe seguir la recomendación de la Sociedad Norteamericana de Diabetes,

según la cual el despistaje deberá comenzar a los 45 años de edad y repetirse a intervalos de 3 años.

Las medidas analíticas básicas del despistaje son:

1. Glucosa en sangre capilar en ayunas
2. Glucosuria
3. HbA_{1c}
4. TTOG

El mejor indicador y más frecuente para estimar la prevalencia e incidencia de la diabetes es la glucosa en sangre en ayunas (GSA). Si la concentración de la GSA $>7,0$ mmol/l ($>1,26$ g/l) hay que repetir el estudio. Para el despistaje centralizado se recomienda el análisis de hemoglobina glicada (HbA_{1c}) en una gota de sangre, aunque este método es más caro que la determinación de la GSA.

Métodos de despistaje desde la perspectiva técnica del laboratorio

Despistaje descentralizado

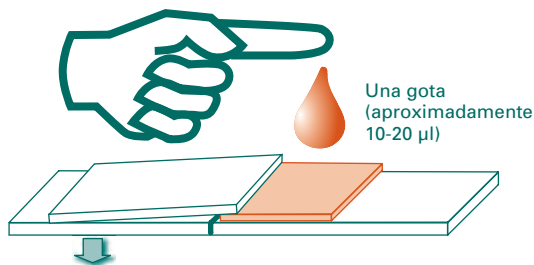
En el despistaje descentralizado la glucosa en sangre en ayunas es el analito apropiado, seguido por la repetición de la GSA o por la glucosa en orina. La comparabilidad de los análisis de glucosa debe verificarse mediante un control de calidad externo e interno. También puede usarse la determinación de HbA_{1c} en el despistaje descentralizado, aunque los resultados varían cuando se usan distintos métodos cromatográficos. No se recomienda usar el TTOG como primer paso del despistaje, sino como prueba de confirmación.

Transporte para sangre para determinación de HbA_{1c}

Etiquetar el sobre de transporte



Pinchar el dedo, obtener sangre capilar



Secar la muestra (aproximadamente 30 minutos)



Cerrar el sobre y enviarlo al laboratorio

FIGURA 1
Dispositivo de obtención de la muestra para el análisis centralizado de la HbA_{1c}

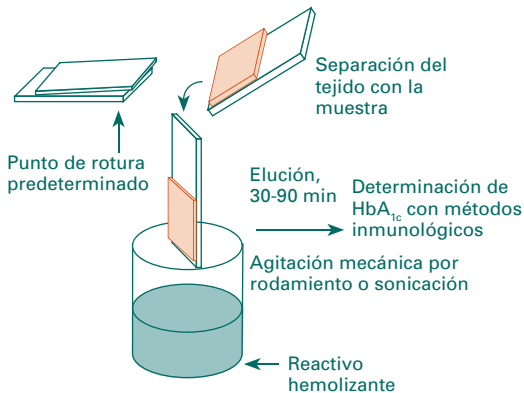
(continúa)

Despistaje centralizado

Depende de la facilidad de obtención de la muestra, de su estabilidad y del transporte. Estas condiciones se cumplen mediante la obtención de sangre capilar, la conservación de la muestra en sangre seca con un papel de filtro y análisis de la HbA_{1c} mediante un procedimiento inmunológico en un laboratorio central (Figura 1).

FIGURA 1
(continuación)

Transporte para sangre para determinación de HbA_{1c}



Los métodos cromatográficos no son tan adecuados para medir la HbA_{1c} en las muestras de sangre seca, ya que parte de la misma puede haberse degradado durante el transporte, aunque conserva su antigenicidad.

Papel del laboratorio médico en la diabetes mellitus

El laboratorio tiene un papel esencial en el diagnóstico y tratamiento de la diabetes mellitus.

Los indicadores de laboratorio para el diagnóstico y tratamiento de la diabetes se exponen en la Tabla 3:

Glucosa (sangre, orina)	Excreción urinaria de albúmina
Cetonas (orina)	Creatinina
TTOG	Urea
HbA _{1c}	Proteinuria
Fructosamina	Perfil lipídico en plasma

TABLA 3
Indicadores analíticos habituales para el control del tratamiento de la diabetes

Los laboratorios más avanzados pueden usar indicadores más sofisticados que se mencionan en la Tabla 4 para el estudio clínico.

ICA
GADA
IA-2A
IAA
Insulina
Péptido C
Carga con glucosa i.v.
Pinza (pinza euglucémica-hiperinsulinémica)

TABLA 4
Técnicas avanzadas para evaluar y controlar la diabetes y el metabolismo de la glucosa

Cuantificación de glucosa

El indicador más sencillo del nivel de corrección del metabolismo de los hidratos de carbono de un paciente es la concentración de glucosa en sangre. No obstante, la glucosa se metaboliza rápidamente en el cuerpo. Por tanto, la concentración de glucosa refleja la situación inmediata del metabolismo de los hidratos de carbono y no permite evaluar de forma retrospectiva o prospectiva el metabolismo de la glucosa. La glucosa se mide en varias muestras, como:

- ▶ sangre total (sangre capilar o venosa)
- ▶ hemolizado
- ▶ plasma
- ▶ suero
- ▶ sangre desproteinizada
- ▶ orina
- ▶ LCR

Glucosa en sangre

El reflejo anatomopatológico de la glucosa en sangre es la concentración plasmática de glucosa, que es la glucosa a la que están expuestos los órganos y sistemas. Algunos métodos de medición detectan directamente la glucosa plasmática (mediante un electrodo) y no se basan en la aplicación de un volumen exacto de plasma. El plasma también puede prepararse a partir de sangre total mediante centrifugación, pero los eritrocitos continuarán metabolizando glucosa, con lo que disminuyen las concentraciones mensurables a menos que se inhiba la glucólisis. Un fluoruro tarda tiempo en difundir hacia el interior de los eritrocitos y continuará una pequeña glucólisis a me-

nos que la muestra fluorada se enfríe en agua de hielo desde el momento de la punción venosa, aunque el tamaño de este efecto (ver más adelante) no sea importante y, en general, se considere relevante únicamente en estudios de investigación. Este problema afectará en particular a la medición de glucosa sérica, ya que las muestras se suelen dejar a temperatura ambiente para favorecer la formación del coágulo. En ocasiones se usa otro método alternativo, hemólisis inmediata con inhibición de la glucólisis.

La concentración de glucosa en sangre total también depende de la concentración de proteínas (principalmente hemoglobina, 8%-18%) en la muestra. Por tal motivo, las concentraciones en sangre total son un 12% a un 15% menores que en plasma, pero en una cuantía variable, y la glucosa plasmática es la medición preferida. La muestra de sangre por punción en el dedo que se usa para la prueba inmediata en tiras reactivas o sensores de electrodos depende de la concentración de glucosa en la fracción de plasma, pero el fabricante puede calibrar estos sistemas frente a patrones de plasma o de sangre total.

La concentración de glucosa plasmática que es importante para los órganos periféricos es la concentración arterial, que será la medición de preferencia (o mejor, la de glucosa arterializada) en algunos estudios de investigación. La concentración de glucosa en sangre capilar será una buena aproximación a este valor, siempre que la perfusión tisular sea buena. La sangre venosa tendrá concentraciones de glucosa más bajas que la sangre arterial (y, por tanto, que la sangre capilar), pero el efecto no es importante, excepto cuando la eliminación

de glucosa desde la sangre sea importante (después de una comida, por efecto de la insulina, o durante el ejercicio) y la muestra se toma en un territorio proximal al lecho muscular (p. ej., en la fosa antecubital).

Los sistemas de análisis se calibran frente a glucosa en sangre total o en suero.

En el estado posprandial o durante una carga de glucosa (TTOG) las concentraciones de glucosa en sangre capilar son aproximadamente 1,0 mmol/l (aproximadamente 0,20 g/l) mayores que en la sangre venosa total. En sangre total la glucólisis disminuye la concentración de glucosa en un 5%–7% por hora a temperatura ambiente. Una vez separada la glucosa sérica de los eritrocitos se mantiene estable a temperatura ambiente hasta 8 horas o hasta 72 horas a 4°C.

Cuando se obtiene la sangre y se transporta para un análisis de glucosa es importante inhibir la degradación enzimática de glucosa en sangre. La glucólisis en sangre total se inhibe mediante fluoruro sódico (6 g/l de sangre) o maleinimida (0,1 g/l de sangre). Como anticoagulante se usa EDTA (1,2-2 g/l de sangre). La glucosa del líquido cefalorraquídeo (LCR) debe analizarse en cuanto sea posible.

Obtención y estabilidad de la glucosa en sangre

Obtención:

1. Sangre capilar
2. Sangre venosa
3. Plasma
4. Sangre desproteinizada
5. Hemolizado (digitonina, maleinimida)

Estabilidad de la muestra	Sangre venosa:	a 20°C: disminuye 10%-15%/hora a 4°C: disminuye el 20% en 24 horas
	Estabilizante:	NaF (6 g/l) + maleinimida (0,1 g/l de sangre) EDTA (1,2-2 g/l) o EDTA + maleinimida
	Plasma/suero:	a 20°C: descenso del 15% en 24 horas Suero desproteinizado: estable en días o semanas
	Interferencias:	Anticoagulantes, fármacos, glutatión, ácido ascórbico, α -metildopa
	Influencias anteriores al análisis:	Postura, ejercicio, ingestión de alimentos, tabaquismo, transporte o conservación de la muestra

Métodos de cuantificación de glucosa en sangre

Existen varios métodos para la cuantificación de glucosa:

Métodos químicos:

- ▶ ortotoluidina
- ▶ neocuproína
- ▶ ferricianuro

Métodos enzimáticos

- ▶ hexocinasa-G6PDH
- ▶ glucosa deshidrogenasa
- ▶ glucosa oxidasa-peroxidasa (ABTS)
- ▶ glucosa oxidasa (GOD) con otras reacciones indicadoras

El coste de los reactivos es bajo en los métodos químicos de oxidación-reducción (neocuproína o ferricianuro) y en el método de o-toluidina. Aunque son menos específicos, estos métodos son aún útiles y válidos. El análisis enzimático de la glucosa es más específico, aunque los métodos enzimáticos también son más caros.

El método enzimático de referencia para la determinación de glucosa es el método hexocinasa/G6PDH.

El método de glucosa deshidrogenasa tiene un rendimiento analítico comparable. Los métodos de oxidasa son ligeramente peores porque las sustancias reductoras pueden interferir con el paso de peroxidasa.

No obstante, los métodos de GOD son más utilizados por su comodidad y economía.

Los intervalos de referencia de los tres métodos enzimáticos de determinación de glucosa en sangre de adultos en ayunas son:

	Suero/plasma	Sangre total
Hexocinasa/ G6PDH:	4,4–5,5 mmol/l (0,80–1,00 g/l)	3,6–5,3 mmol/l (0,65–0,95 g/l)
Glucocinasa:	4,4–5,5 mmol/l (0,80–1,00 g/l)	3,6–5,3 mmol/l (0,65–0,95 g/l)
GOD/POD:	5,0–6,1 mmol/l (0,90–1,10 g/l)	2,9–5,5 mmol/l (0,70–1,00 g/l)
LCR:	2,2–3,9 mmol/l (0,40–0,70 g/l)	
Orina:	≤0,83 mmol/l (≤0,15 g/l)	

La concentración de glucosa en el líquido cefalorraquídeo es aproximadamente el 60% del valor en plasma y puede ser mucho menor cuando el LCR se contamina con bacterias u otras células.

Glucosa en orina

Las fracciones de orina deben analizarse inmediatamente o conservarse con un pH <5 para inhibir el metabolismo bacteriano de la glucosa o almacenarse a 4 °C antes del análisis. Se pueden utilizar tiras de papel para el análisis, debidamente preparadas por los fabricantes.

- Ventajas:** Rápido
Barato
No invasivo
Prueba cualitativa o semicuantitativa
- Instrumental:** **1. Tiras de papel para análisis cualitativo:**
Diabur, Diastix, Glucostix, otras
Enzimas: Glucosa oxidasa/Peroxidasa
Límite de detección: 5,5 mmol/l (1,0 g/l)
Problemas: Resultados falsos positivos por agentes oxidantes (H_2O_2 , HOCl)
Resultados falsos negativos por sustancias reductoras (como el ácido ascórbico)
- 2. Pruebas semicuantitativas:**
Evaluación visual: mediante cartas de color cerradas: Clinistix, Multistix
- 3. Pruebas cuantitativas:**
Se recomiendan métodos de hexocinasa y glucosa deshidrogenasa por la interferencia de otras sustancias. El método de la o-toluidina es aceptable y barato.
Valor de referencia normal: no detectable
- Problemas:** 1. Refleja mal las concentraciones cambiantes de hiperglucemia
2. El umbral renal varía en cada sujeto

3. Falta de sensibilidad y especificidad de los procedimientos cualitativos y semicuantitativos.

Control de calidad de la cuantificación de glucosa

La fiabilidad del método usado debe evaluarse analizando:

- ▶ veracidad
- ▶ exactitud
- ▶ precisión

La incertidumbre de la cuantificación de glucosa es aproximadamente del 5% durante la medición seriada. Para evaluar la exactitud y la veracidad en una serie se deben usar materiales de control certificados apropiados. Debe indicarse la desviación máxima permisible, que será menor del 15%. La precisión de la medición en cada serie y entre varias series debe determinarse cuantitativamente. La imprecisión permisible máxima en una serie no debe ser mayor del 5%. Para estudiar la interferencia en la cuantificación de glucosa se usarán sueros ictéricos, turbios o hemolizados.

Automonitorización de glucosa en sangre

La automonitorización de glucosa en sangre por los diabéticos ha mejorado el control de esta enfermedad. En el estudio DCCT (*Diabetes Control and Complications Trial*) se demostraron claramente los bene-

ficios de mantener unas concentraciones de glucosa normal o casi normal en sangre. Hay varios medidores de glucosa en sangre en el mercado, basados en distintos principios de la medición (fotometría y potenciometría) (Tabla 5). Resulta casi imposible describir las características principales, la fiabilidad analítica de distintos intervalos de concentración de todos ellos, pero las autoridades sanitarias y las organizaciones de estandarización (ISO, CEN) han definido los requisitos esenciales de estos instrumentos que usan los pacientes y también otras personas sin formación.

Las ventajas y limitaciones de estos medidores de glucosa en sangre para la automonitorización son los siguientes:

Ventajas:

1. Precisión alta (CV 3,0 – 7,1%)
2. No se necesitan pipetas
3. Sangre capilar
4. Precio bajo del instrumento
5. Fácil de usar
6. Reduce los problemas por daltonismo e iluminación

Limitaciones de los medidores de glucosa en sangre:

1. Intervalo de medición analítica limitado
2. Inexactitud de la medición
3. Escasa compatibilidad con muestras de control
4. Efectos de la matriz
5. La temperatura puede alterar los resultados
6. Costes mayores de los consumibles

TABLA 5
Monitores de glucosa en sangre

Glucómetro	Fabricante	Principio	Calibrado por	Obtención de la muestra	Tiempo de la prueba, s	Tamaño de la muestra, μ l	Intervalo de la prueba, g/l
Accu-Check Sensor	Roche Diagnostics	Sensor	Sangre	Inmersión	12	11	0,1-6,0
Accu-Check Comfort	Roche Diagnostics	Fotometría	Sangre	Gota	12	11	0,1-6,0
Accu-Check Compact	Roche Diagnostics	Fotometría	Sangre	Gota	40	15	0,1-6,0
Glucómetro Elite XL	Bayer	Sensor	Plasma	Inmersión	30	2	0,4-5,0
Glucómetro Dex 2	Bayer	Sensor	Plasma	Inmersión	30	3-4	0,4-5,0
One Touch Sure Step	LifeScan	Fotometría	Plasma	Gota	15-30	10-30	0,2-5,0
One Touch Profile	LifeScan	Fotometría	Sangre	Gota	45	10	0,2-6,0

(continúa)

Diagnóstico y Monitorización
de la **Diabetes Mellitus** desde el **Laboratorio**

TABLA 5
(continua-
ción)

Glucómetro	Fabricante	Principio	Calibrado por	Obtención de la muestra	Tiempo de la prueba, s	Tamaño de la muestra, µl	Intervalo de la prueba, g/l
One Touch Ultra	LifeScan	Sensor	Plasma	Inmersión	5	1	0,2-6,0
Precision PCx	Abbott/Medisense	Sensor	Plasma	Inmersión	20	2-3	0,2-6,0
Precision Xtra	Abbott/Medisense	Sensor	Plasma	Inmersión	20	3,5	0,2-5,0
B-Glucose Analyser	HemoCue	Fotometría	Sangre	Inmersión	40-240	5	0-4,0
GlucoMen Glyco	Menarini	Sensor	Sangre	Inmersión	30	3-5	0,2-6,0
Omnitest Sensor	Braun	Sensor	Plasma	Inmersión	15	5	0,2-6,0
Freestyle	TheraSense	Sensor	Plasma	Inmersión	15	0,3	0,2-5,0
Supreme II	Hypoguard Medisys	Fotometría	Plasma	Gota sin froitis	60	3	0,38-4,5

Recomendaciones para la monitorización de la glucosa en diabetes:

- 1) Los sujetos con diabetes deben mantener unas concentraciones de glucosa en sangre tan cerca de lo normal como sea posible sin dar problemas. Las personas con diabetes tipo 1 (y otros que usen tratamiento con insulina) sólo pueden conseguir este objetivo mediante la automonitorización de glucosa en sangre.
- 2) El uso de soluciones de calibración y control por los pacientes garantizará la exactitud de los resultados.
- 3) el usuario debería saber si el instrumento está calibrado frente a sangre total o glucosa plasmática.
- 4) Hay que enseñar el uso y mantenimiento de los instrumentos y de cómo interpretar los datos.
- 5) Los profesionales sanitarios deben evaluar el rendimiento del glucómetro del paciente y la capacidad de éste de usar los datos a intervalos regulares con mediciones comparativas de glucosa en sangre usando un método de una fiabilidad mayor.
- 6) Cuando se usen tiras impregnadas con enzimas para la medición de glucosa es imperativo almacenar éstas bien cerradas en un envase con tapa a rosca hasta cada uso, para aumentar al máximo el período de validez.

Prueba oral de tolerancia a la glucosa (TTOG)

La TTOG es una prueba de provocación que permite estudiar la eficiencia del cuerpo para metabolizar la glucosa. Aporta información sobre el estado de

diabetes latente y distingue a los sujetos metabólicamente sanos de otras personas con alteración de la tolerancia a la glucosa o con diabetes. La TTOG es más sensible que la GSA para el diagnóstico de diabetes, aunque el diagnóstico final no deberá basarse en una medición aislada de glucosa $\geq 11,1$ mmol/l ($\geq 2,00$ g/l) 2h después de la carga, sino que se confirmará en los días sucesivos (GSA, estimación casual de glucosa o ambas). La TTOG es más sensible para el diagnóstico de la diabetes que la glucosa plasmática en ayunas pero no se usa para la monitorización cotidiana del control de la glucosa en sangre, que se realiza mediante la HbA_{1c}, y la medición repetida de la glucosa. La TTOG se usa principalmente para el diagnóstico de la ATG y en estudios poblacionales con fines epidemiológicos, pero no se recomienda ni es necesaria para el uso diagnóstico habitual.

Preparación del paciente:

- ▶ Tres días con dieta rica en hidratos de carbono y actividad sin restricciones
- ▶ Sin medicamentos en el día de la prueba
- ▶ 12 horas de ayuno
- ▶ No fumar
- ▶ Carga de glucosa: *Adultos* 75 g en 300 – 400 ml de agua
Niños 1,75 g/Kg hasta 75 g de glucosa

Hay soluciones comerciales que contienen glucosa y oligosacáridos.

Obtención de la muestra para glucosa plasmática:

- ▶ 10 min antes de la carga de glucosa
- ▶ 120 min después de la carga de glucosa

En caso de hiperglucemia puede medirse también la glucosa en orina.

Evaluación:

	Glucosa plasmática en ayunas	Glucosa a 120 min
AGA	6,1-6,9 mmol/l (1,10-1,25 g/l)	
ATG	≤7,0 mmol/l (≤1,26 g/l)	y 7,8-11,0 mmol/l (1,40-1,99 g/l)
Diabetes	≥7,0 mmol/l (≥1,26 g/l)	o ≥11,1 mmol/l (≥2,00 g/l)

Estos valores se refieren al método de medición preferido de glucosa plasmática; se aplican valores distintos a sangre total o a glucosa en sangre capilar.

Comentarios:

La TTOG se afecta por el estrés metabólico debido a varias afecciones clínicas y tratamientos farmacológicos, como:

- ▶ Cirugía mayor
- ▶ Infarto de miocardio, ictus, infecciones, etc.
- ▶ Malabsorción
- ▶ Fármacos (esteroides, tiazidas, fenitoína, estrógenos, tiroxina)
- ▶ Estrés, náuseas
- ▶ Cafeína, tabaquismo

Diagnóstico y Monitorización
de la **Diabetes Mellitus** desde el **Laboratorio**

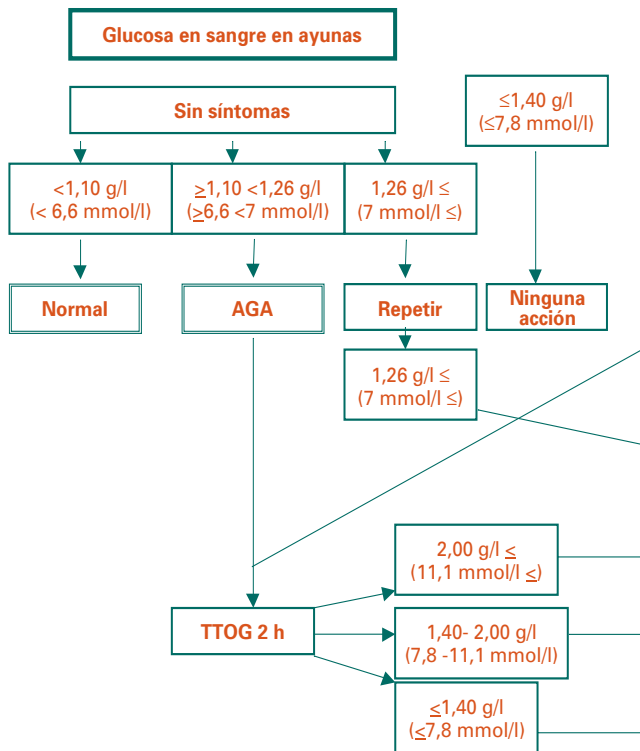
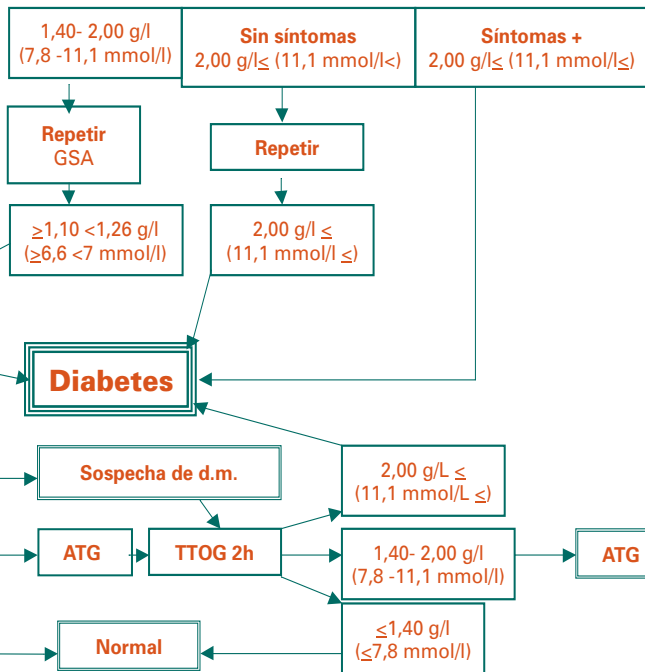


FIGURA 2
Estrategia diagnóstica en la diabetes

Glucosa en sangre al azar



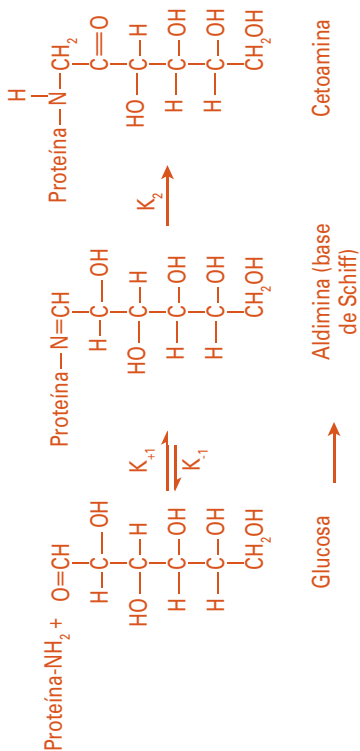
Proteínas glicadas

Las proteínas reaccionan espontáneamente en sangre con la glucosa para formar derivados glicados. Esta reacción se produce lentamente en condiciones fisiológicas y sin la participación de enzimas. El alcance de la glicación de proteínas está controlado por la concentración de glucosa en sangre y por el número de grupos amino reactivos presentes en la proteína que están accesibles para que reaccione la glucosa. Todas las proteínas con lugares reactivos pueden estar glicadas y la concentración de las proteínas glicadas que pueden medirse en sangre es un marcador de la fluctuación de las concentraciones de glucosa en sangre durante un cierto período. Desde el punto de vista del diagnóstico clínico tienen interés las proteínas glicadas que tienen una vida más prolongada en sangre, ya que reflejan la exposición de estas proteínas a la glucosa durante períodos más prolongados.

Hemoglobina glicada

La vida de la hemoglobina *in vivo* alcanza una media de 90 a 120 días, tiempo durante el cual se forma hemoglobina glicada A y el compuesto cetoamina a partir de la combinación de hemoglobina A y glucosa. Se han aislado varias subfracciones de hemoglobina glicadas. De ellas, la fracción HbA_{1c} de la hemoglobina glicada A tiene el máximo interés al actuar como indicador retrospectivo de la concentración media de glucosa en las 8-10 semanas anteriores.

La reacción de la glucosilación no enzimática de proteínas es la siguiente:



Análisis de la HbA_{1c}

Hay varios métodos comerciales que permiten medir la HbA_{1c} (Tabla 7). La mayoría de las pruebas comerciales separan la HbA_{1c} de la hemoglobina no glicada mediante cromatografía. La HbA_{1c} también puede medirse directamente en sangre mediante técnicas inmunoquímicas sin haberse separado de la hemoglobina no glicada. Si bien es cierto que no hay interferencias bioquímicas en los métodos de afinidad e inmunoquímicos debidas a las variantes de la hemoglobina, sí puede haber una interferencia biológica en ciertas situaciones en las que el ciclo metabólico de la hemoglobina (eritrocitos) en sangre es alto.

Muestra: Se usa sangre total para el análisis.

- ▶ Sangre + EDTA 100 µl
- ▶ Sangre heparinizada 100 µl
- ▶ Sangre capilar una gota en un papel de filtro especial

La muestra debe analizarse en cuanto sea posible. En los hemolizados pueden formarse contaminantes de hemoglobina con glutatión. Las muestras fuertemente hiperlipémicas pueden dar resultados erróneos con todos los métodos, excepto en algunos inmunológicos.

Indicación:

La determinación de HbA_{1c} se usa como estimación retrospectiva de la concentración media de glucosa en sangre en un período de 8 a 10 semanas. Por tanto, la HbA_{1c} es una medición a largo plazo del metabolismo de la glucosa. Se recomienda medir la HbA_{1c}

como un indicador esencial de la monitorización del control de glucosa en sangre.

Estandarización de HbA_{1c}

Se ha descrito que la comparabilidad de los métodos de medición de la hemoglobina glicada es mala la mayor parte de las veces, porque los métodos se desarrollaron por primera vez a finales de los años 1970. No obstante, la necesidad de desarrollar estudios multicéntricos sobre el control de glucosa en sangre y las complicaciones de la enfermedad, y en particular el estudio DCCT (*Diabetes Control and Complications Trial*) provocaron la creación de un sistema de armonización de métodos de laboratorio y de fabricantes con respecto a un patrón referenciado a un método único de separación en columna en el laboratorio. En algunos países los resultados de HbA_{1c} se informan ahora como “estandarizados según el DCCT”.

No obstante, el método de columna de referencia incluye interferencias inespecíficas del orden del 2,0% con otras fracciones de hemoglobina. Por tanto, los valores determinados no están anclados a un analito específico. Después de aplicar un esfuerzo considerable, se ha desarrollado un método de espectrometría de masas como método de referencia bajo los auspicios de la Federación Internacional de Química Clínica (IFCC).

Se basa en la medición del hexapéptido β -terminal de la hemoglobina A con o sin unión covalente de glucosa.

Los fabricantes están recibiendo instrucciones para que sus sistemas den los resultados en relación con este método de referencia y ahora se distribuye un material de referencia certificado para medir la HbA_{1c} .

Las principales ventajas de la armonización son que:

- ▶ los médicos pueden dar los resultados individuales en referencia a las tasas de complicaciones descritas en los estudios de diabetes tipo 1 y tipo 2 y, por tanto, determinar el riesgo individual de cada paciente;
- ▶ los médicos pueden compartir los resultados entre ellos y con otros profesionales sin tener que ajustar los datos según intervalos de referencia diferentes y los estudios clínicos pueden compararse directamente para extraer conclusiones tanto experimentales como normativas;
- ▶ se pueden establecer los patrones de control de la diabetes en las directrices clínicas.

Los profesionales dedicados tanto a la clínica como a la investigación están reclamando continuamente que los resultados dados en relación con los sistemas de referencia sean comparables entre sí.

Por tanto, se recomienda encarecidamente aplicar la armonización y la estandarización mencionadas, cosa que se está haciendo ya. Cuando no sea posible, se darán los intervalos de referencia distintos que use cada método.

Para monitorizar el control de la glucosa en sangre se recomienda medir la HbA_{1c} a intervalos regulares, cuatro veces al año.

Procedimiento	Principio	Análito	Muestra (sangre)	Tiempo de análisis	Comentario
Columna de cromatografía (macrocolumna)	Cromatografía por intercambio de iones	HbA _{1a'} HbA _{1b'} HbA _{1c}	100 µl	8-18 h	Se determina parte de aldimina, interferencia por HbF, HbS, HbC y contaminantes de acetaldehído
Microcolumna	Cromatografía por intercambio de iones	HbA ₁	100 µl	20 min	Interferencia por variantes de Hb, sensible a pH y temperatura
HPLC	Cromatografía por intercambio de iones	HbA _{1a'} HbA _{1b'} HbA _{1c}	10-400 µl	3-8 min	Interferencia por variantes de Hb, sensible a pH y temperatura
FPLC	Cromatografía por intercambio de iones	HbA _{1a'} HbA _{1b'} HbA _{1c'} aldimina	20-100 µl	5 min	Mejor separación de HbA _{1c} y aldimina

(continúa)

TABLA 6
Procedimientos analíticos para determinación de hemoglobina glicada

Diagnóstico y Monitorización
de la **Diabetes Mellitus** desde el **Laboratorio**

TABLA 6
(continua-
ción)

Procedimiento	Principio	Análito	Muestra (sangre)	Tiempo de análisis	Comentario
Ácido tiobarbitúrico	Escisión hidrolítica y determinación colorimétrica de cetoexosas	HbA _{1c}	2-4 ml	8 h	Sólo detecta la forma cetoamina, la adimina se elimina; también reacciona con ácido siálico
Electroforesis	Electroendo-smosis	HbA _{1c}	20 µl	35 min	Interferencia por aldimina
Isoelectroenfoque	Gradiente de pH 5-6,5	HbA _{1c} ^{cr} aldimina	10 µl	1 h	Detección de hemoglobinas anormales
Cromatografía de afinidad	Columna de fenilboronato	Glucosamoglobina total	150 µl	Hasta 20 muestras en 1 h	No interfieren HbF, HbS, HbC ni modificaciones posttranscripcionales
Métodos inmunológicos	Anticuerpos específicos (monoclonales, policlonales) en EIA o inmunoturbidimetría	HbA _{1c} ^{cr} HbA _{2c}	10-50 µl	Hasta 250 muestras en 1 h	No interfieren las variantes de Hb; se detectan HbA ₂ glicada y HbS _{1c} , pero no HbF _{1c}

Método	Marca comercial	Indicador	Intervalo de referencia (%)
Cromatografía de afinidad	Ghb Imx	tHb, HbA _{1c}	tHb 4,8-7,8 HbA _{1c} 4,4-6,4
Cromatografía de afinidad	Glyc-Affin	tHb	tHb 4,0-8,0
Cromatografía de afinidad	BM HbA ₁	HbA ₁	HbA ₁ 5,0-8,0
Cromatografía de afinidad	Glyc-Hb	tHb	tHb 5,0-8,0
Cromatografía de afinidad (microcolumnas)	HbA ₁ mini column test	HbA ₁	HbA ₁ 3,4-6,1
Electroforesis en gel de agarosa	DIATRAC	HbA _{1c}	HbA _{1c} 3,3-5,6
Inmunoturbidimetría, anticuerpo policlonal	TinaQuant HbA _{1c}	HbA _{1c}	HbA _{1c} 4,3-5,8* HbA _{1c} 3,6-5,3*

(continúa)

TABLA 7
Intervalos de referencia de las glucohemoglobinas

TABLA 7
(continua-
ción)

Método	Marca comercial	Indicador	Intervalo de referencia (%)
EIA, anticuerpo monoclonal	DAKO HbA _{1c}	HbA _{1c}	HbA _{1c} 2,8-4,9* HbA _{1c} 4,5-5,9*
Inmunoturbidimetría, anticuerpo monoclonal	DCA 2000	HbA _{1c}	HbA _{1c} 4,2-6,3
Inmunoturbidimetría, anticuerpo monoclonal	Unimate	HbA _{1c}	HbA _{1c} 4,5-5,7
Cromatografía por intercambio iónico (microcolumnas)*	HbA _{1c} microcolumn test	HbA _{1c}	HbA _{1c} 4,2-5,9
Cromatografía por intercambio iónico con HPLC	DIAMAT	HbA _{1r} , HbA _{1c}	HbA ₁ 5,1-7,3 HbA _{1c} 4,3-6,1
Cromatografía por intercambio iónico con HPLC	HS-8	HbA _{1r} , HbA _{1c}	HbA ₁ 5,0-7,8 HbA _{1c} 4,4-5,7
Cromatografía por intercambio iónico con HPLC	L-9100	HbA _{1r} , HbA _{1c}	HbA ₁ 4,5-6,0 HbA _{1c} 3,4-4,7

*Valores según los folletos del envase o los patrones, * existe otra estandarización diferente.*
tHb: glucohemoglobina total

La relación entre la concentración media de glucosa y HbA_{1c} en sangre o plasma se muestra en la Tabla 8.

HbA _{1c} (%)	glucosa (mmol/l)	
	plasma	sangre
4,0	3,6	2,6
5,0	5,6	4,5
6,0	7,6	6,3
7,0	9,6	8,2
8,0	11,5	10,0
9,0	13,5	11,8
10,0	15,5	13,7
11,0	17,5	15,6
12,0	19,5	17,4

Según Nathan y cols., 1984 (sangre); Rohlfing y cols., 2002 (plasma)

TABLA 8
Relación entre HbA_{1c} (estandarizado según el DCCT o equivalente) y concentración media de glucosa en plasma o sangre total en perfiles de automonitorización de 7 puntos

Los valores medios de glucosa preprandial automonitoreada serán 0,7-1,0 mmol/l más bajos que los obtenidos en el perfil de 7 puntos.

Pueden surgir problemas analíticos especiales en presencia de hemoglobinas anormales. Con algunos métodos se pueden medir valores irrealmente altos de HbA_{1c} (>18,0%), mientras que los trastornos hematológicos y la insuficiencia renal pueden dar concentraciones falsamente bajas. Se han descrito elevacio-

nes falsas en caso de hipertrigliceridemia, hiperbilirrubinemia, abuso de alcohol y tratamiento con aspirina.

Determinación de fructosamina

La albúmina es el principal componente de las proteínas plasmáticas. Como también contiene grupos amino libres se produce una reacción no enzimática con la glucosa en plasma, por lo que la albúmina glicada puede actuar también como marcador para monitorizar la glucosa en sangre. La albúmina glicada se utiliza como medición retrospectiva de la concentración media de glucosa en sangre en un período de 1 a 3 semanas.

En condiciones alcalinas (pH: 10,35) las proteínas glicadas (cetoamina) reducen el nitroazul de tetrazolio (NBT) a formazán. En la determinación de fructosamina se mide fotométricamente la absorción de formazán a 530 nm y se compara con los patrones adecuados para determinar la concentración de proteínas glicadas en plasma, con la contribución principal de la albúmina. El principio de la reacción es la siguiente:



NBT = nitroazul de tetrazolio

La absorbancia de formazán se mide a 530 nm después de 10 y 15 min. El cambio de la absorbancia es

proporcional a la concentración de cetoaminas en plasma. Se necesita preincubar para eliminar sustancias reductoras de reacción rápida que pueden interferir.

Para la estandarización de la determinación de fructosamina se pueden usar los siguientes calibradores:

- ▶ Polilisina glicada
- ▶ Proteínas séricas glicadas

Intervalo de referencia: 205- 285 $\mu\text{mol/l}$

Las siguientes sustancias interfieren con el método fotométrico de medición:

- ▶ Ácido ascórbico
- ▶ Ácido úrico
- ▶ Bilirrubina
- ▶ Metildopa

La interpretación de esta medición dependerá de la velocidad del metabolismo de la albúmina glicada que se altera en varias afecciones médicas, principalmente las que implican disfunción hepática y renal.

Excreción urinaria de albúmina

Los pacientes diabéticos tienen un riesgo elevado de desarrollar insuficiencia renal años después del inicio de la diabetes. La diabetes es la causa más frecuente de insuficiencia renal.

En un tercio de los pacientes con diabetes tipo 1 la nefropatía diabética provoca una nefropatía terminal que requiere diálisis.

La insuficiencia renal es menos frecuente en la diabetes tipo 2 debido a la muerte precoz por enfermedad vascular pero, como este tipo de diabetes es más prevalente, la mitad de los casos de nefropatía diabética se presentan en estos pacientes.

Los primeros signos de nefropatía diabética no se pueden detectar mediante las pruebas de despistaje habituales de proteinuria, por lo que se deben usar métodos más sensibles para detectar la excreción anormal de albúmina.

La etapa precoz de albuminuria se define clínicamente como una tasa de excreción de albúmina de 30-300 mg/24 horas (20-200 $\mu\text{g}/\text{min}$), aunque la excreción renal normal verdadera de albúmina es menor de esta cifra.

La pequeña cantidad de albúmina segregada en orina al comienzo de la nefropatía diabética indujo la aplicación errónea del término “microalbuminuria”, que aún es muy utilizado pero que debería evitarse.

El aumento de la excreción renal de albúmina es un factor de riesgo cardiovascular en personas con diabetes tipo 2 (y también en la población no diabética), en las que debe considerarse un factor predictivo de aumento de riesgo tanto macro como microvascular.

En la Tabla 9 se muestra una clasificación de la albuminuria:

Tasa de excreción de albúmina	µg/min	mg/24 h	mg/l	mg/mmol de creatinina	mg/g de creatinina
normal	<11	<15	<15	<1,5	<12
clínicamente anormal	20–200	30–300	30-300	>3,5	>24
nefropatía clínica	>200	>300	>300		

La frecuencia del estudio de la excreción de albúmina en personas con diabetes es de 1-2 veces por año en el despistaje. La monitorización de una tasa de excreción anormal de albúmina conocida debe ser más frecuente. Aún no disponemos de una automonitorización a un coste razonable.

Para el análisis rutinario de albuminuria en diabetes se propone el siguiente procedimiento:

Comenzar: En diabetes tipo 1: después de 5 años de enfermedad
En diabetes tipo 2: al diagnosticar la enfermedad

Las pruebas de despistaje de uso habitual son la relación de albúmina:creatinina en una muestra esporádica o la concentración de albúmina en una muestra esporádica de orina.

Ambas se realizan en orina de la primera micción de la mañana para evitar los efectos de la actividad y de la postura.

Pueden obtenerse resultados falsos positivos en caso de infección de vías urinarias. Si los resultados en

TABLA 9
Clasificación de la tasa de excreción renal anormal de albúmina

la muestra esporádica indican una anomalía se recomienda confirmar el resultado con 2-3 muestras de orina de toda la noche o de orina de 24 horas. La excreción urinaria de albúmina varía considerablemente, incluso en la misma persona en días consecutivos.

Los sistemas de análisis cuantitativos y semicuantitativos se usan para determinar tasas bajas de excreción anormal de albúmina. Para la medición cuantitativa se aplican los siguientes principios:

- ▶ Radioinmunoensayo
- ▶ Inmunoensayo unido a enzimas
- ▶ Método inmunturbidimétrico
- ▶ Método nefelométrico

Para la medición semicuantitativa se utilizan los siguientes:

- ▶ Inmunoensayo con oro
- ▶ Aglutinación con látex
- ▶ Método de transferencia en mancha con plata
- ▶ Método de nigrosina

Las pruebas semicuantitativas tienen sensibilidad para detectar 20 mg/l de albúmina en orina aunque el método semicuantitativo de nigrosina es una prueba barata para el despistaje con un valor umbral de 50 mg/l de albúmina.

Bibliografía

1. AMERICAN DIABETES ASSOCIATION: Clinical Practice Recommendations. *Diabetes Care*, 2002, 25 Suppl. 1, 1-47.
2. THE DIABETES CONTROL AND COMPLICATION TRIAL RESEARCH GROUP.
 - i. *N. Engl. J. Med.*, 1998, 329: 977-986.
 - ii. *Diabetes*, 1995, 44:968-983.
 - iii. *Diabetes*, 1996, 45:1289-1298.
 - iv. *JAMA*, 1996, 276:1409-1415.
3. UK PROSPECTIVE DIABETES STUDY GROUP: Intensive blood glucose control with sulphonylureas or insulin compared with conventional treatment and risk of complications in patients with type 2 diabetes. *BMJ*, 1998, 317:703-713.
4. DEUTSCHE EVIDENZ-BASIERTE DIABETES-LEITLINIEN. *Diabetes und Stoffwechsel*, 1999, 8:1-79.
5. KUTTER D, ET AL. A simple and inexpensive screening test for low protein levels in urine. *Clin. Chim. Acta*, 1997, 258: 231-239.
6. MATSUDA K, ET AL. Semiquantitative analysis of urinary low protein levels using silver dot blot assay. *J. Clin. Lab. Anal*, 2001, 15:171-174.
7. NIEDERAU CM, REINAUER H. *GLYCOPROTEINS*. In L. THOMAS (ED.). *Clinical Laboratory Diagnostics*. Th-Books, Frankfurt/M, Germany. 1998.

8. KOLACZYNSKI JW, GOLDSTEIN BJ. *Glycated haemoglobin and serum proteins as tools for monitoring*. In: Alberti KGMM, Zimmet P, DeFronzo RA (ed.). *International Textbook of Diabetes Mellitus*, 2nd ed. Chichester: John Wiley, 1997.
9. BILOUS RW, MARSHLL SM. *Clinical aspects of nephropathy*. In: Alberti KGMM, Zimmet P, DeFronzo RA (ed). *International Textbook of Diabetes Mellitus*, 2nd ed. Chichester: John Wiley, 1997.
10. KING H, AUBERT RE, HERMAN WH (1998). Global burden of diabetes, 1995-2025. *Diabetes Care* 1998, 21:1414-31.
11. WILD S, ET AL. *Global burden of diabetes mellitus in the year 2000*. Global Burden of Disease, World Health Organization, Geneva, 2000.
12. ROHLFING CL, et al. Use of GHb (HbA1c) in Screening for Undiagnosed Diabetes in the U.S. Population. *Diabetes Care*, 2000, 23:187-191.

Han contribuido en esta obra:

Dr. Claus Chr. Heuck

Organización Mundial de la Salud, Ginebra, Suiza

Profesor Philip D. Home

Universidad de Newcastle upon Tyne, Newcastle upon Tyne, Reino Unido

Profesor A.S. Kanagasabapathy

Consultor del Comité Nacional de Acreditación para el Estudio y la Calibración (NABL), Gobierno de la India, Hyderabad, India

Profesor Hans Reinauer

Instituto para la Estandarización y Documentación del Laboratorio Médico, Centro Colaborador de la OMS

