TRABAJO ORIGINAL

Evaluación preliminar de la fructosamina en gestantes no diabéticas de Córdoba. Necesidad de definir intervalos de referencia propios

Preliminary evaluation of fructosamine in non-diabetic pregnant women in Córdoba. Need to define specific reference intervals

Julián Barsesa[1], Juan Mladin[2], Ana Carolina Percello[1]

RESUMEN

Introducción: el control glucémico es fundamental en todas las embarazadas ya que se han observado asociaciones entre los niveles de glucosa materna y los resultados adversos en el embarazo. La fructosamina (FA) es una alternativa para el monitoreo de la glucosa a corto plazo.

Objetivos: conocer los niveles de FA durante el segundo y tercer trimestre de gestación (2T y 3T) en embarazadas no diabéticas de nuestra población para establecer en el futuro, con un número mayor de pacientes, un límite superior de la normalidad (LSN) y considerar la importancia de corregir los valores de FA por la albúmina sérica (fructosamina corregida con albúmina, FAc).

Materiales y métodos: se incluyeron 89 pacientes embarazadas mayores de 17 años no diabéticas que se dividieron en dos grupos según el trimestre del embarazo: grupo 2T y grupo 3T. A todas se les realizó la prueba de tolerancia oral a la glucosa (PTOG) y se midieron glucemia, FA y albúmina con un autoanalizador Architect c4000 de Abbott. Para el análisis de los datos se utilizaron los programas Excel e Infostat como *software* estadístico. Se consideró estadísticamente significativo un valor de p<0,05.

Resultados: no se encontraron diferencias estadísticamente significativas para FA y FAc entre el 2T y 3T del embarazo. Los valores obtenidos como LSN (p 97,5) para FA en los grupos 2T y 3T fueron 230 umol/L y 236 umol/L, respectivamente. Para la FAc, los LSN fueron 219 umol/L y 205 umol/L para los grupos 2T y 3T, respectivamente. Considerando el 2T y 3T juntos, los LSN encontrados fueron 235 umol/L y 205 umol/L para FA y FAc, respectivamente.

Conclusiones: no se encontraron diferencias estadísticamente significativas en los resultados de FA ni de FAc entre el 2T y el 3T de embarazadas no diabéticas. Establecer un LSN para la FA durante la gestación podría optimizar el control glucémico y metabólico, mejorando el cumplimiento de los objetivos terapéuticos y disminuyendo así el riesgo de complicaciones obstétricas y neonatales en las pacientes con diabetes mellitus gestacional.

Palabras clave: diabetes mellitus gestacional; fructosamina; embarazo; albúmina.

Revista de la Sociedad Argentina de Diabetes 2025; Vol. 59 (15-20)

ABSTRACT

Introduction: *glycemic control is essential in all pregnant women since associations have been observed between maternal glucose levels and adverse pregnancy outcomes. Fructosamine (FA) is an alternative for short-term glucose monitoring.*

Objectives: *to determine FA levels during the second and third trimester of pregnancy (2T and 3T) in non-diabetic pregnant women in our population in order to establish, in the future, with a larger number of patients, an upper limit of normal (ULN) and to consider the importance of correcting FA values for serum albumin (FAc).*

Materials and methods: *89 non-diabetic pregnant patients over 17 years of age were included and divided into two groups according to the trimester of pregnancy: Group 2T and Group 3T. All of them underwent an oral glucose tolerance test (OGTT) and blood glucose, FA and albumin were measured with an Abbott Architect c4000 autoanalyzer. Data analysis was performed using Excel and Infostat as statistical software. A p value of <0.05 was considered statistically significant.*

Results: *no statistically significant differences were found for AF and AFc between the 2T and 3T of pregnancy. The values obtained as LSN (p 97.5) for AF in the 2T and 3T groups were 230 umol/L and 236 umol/L, respectively. For AFc, the LSN were 219 umol/L and 205 umol/L for the 2T and 3T groups, respectively. Considering the 2T and 3T together, the LSN found are 235 umol/L and 205 umol/L for AF and AFc, respectively.*

Conclusions: *no statistically significant differences were found in the results of AF or AFc between the 2T and 3T of non-diabetic pregnant women. Establishing a LSN for AF during pregnancy could optimize glycemic and metabolic control, improving compliance with therapeutic goals and thus decreasing the risk of obstetric and neonatal complications in patients with GDM.*

Key words: *gestational diabetes mellitus; fructosamine; pregnancy; albumin.*

Revista de la Sociedad Argentina de Diabetes 2025; Vol. 59 (15-20)

[1] Bioquímico/a, Laboratorio de Química Clínica, Hospital Misericordia Nuevo Siglo, Córdoba, Argentina
[2] Bioquímico especialista en Química Clínica, Hospital Misericordia Nuevo Siglo, Córdoba, Argentina

Contacto del autor: Julián Barsesa
E-mail: julibarsesa@gmail.com
Fecha de trabajo recibido: 20/4/24
Fecha de trabajo aceptado: 8/2/25

Conflictos de interés: los autores declaran que no existe conflicto de interés.

INTRODUCCIÓN

En los últimos años el aumento de la prevalencia del sobrepeso y de la obesidad se acompaña de frecuentes casos de diabetes mellitus (DM) no diagnosticada y, en consecuencia, se observan mujeres que se embarazan sin conocer su situación clínica o sin saber que padecen DM[1]. Diversos estudios demuestran que el riesgo de complicaciones obstétricas y neonatales se correlaciona de forma directa con la elevación de la glucemia, producto de la insulinorresistencia causada por la elevación de las hormonas placentarias en las semanas 24, 28 y 33 del embarazo[1-4]. Es por ello que el control glucémico es particularmente fundamental en todas las embarazadas ya que se han observado asociaciones entre los niveles elevados de glucosa materna y resultados adversos en el embarazo[5-7].

La diabetes mellitus gestacional (DMG) es la disminución de la tolerancia a la glucosa que se manifiesta durante el embarazo. Es el trastorno metabólico más común, con una prevalencia en América Latina que oscila entre el 10 y el 30%[1], y en nuestro país afecta casi al 10% de las mujeres embarazadas[8]. El diagnóstico se establece con un valor de glucemia en ayunas mayor o igual a 100 mg/dL (valor repetido en dos determinaciones en el curso de la misma semana) y/o glucemia a las 2 horas (h) luego de la prueba de tolerancia oral a la glucosa (PTOG) mayor o igual a 140 mg/dL[1].

Las guías de práctica clínica recomiendan que el seguimiento del control metabólico de las pacientes con DMG se realice con la medición de la glucosa sérica[1]. Las metodologías implementadas en los laboratorios bioquímicos son la hexoquinasa y la glucosa oxidasa. Las mismas están sujetas a estrictos controles y cumplen con las especificaciones de calidad establecidas, lo que sustenta dicha recomendación[9,10]. Sin embargo, por razones de practicidad, se les indica a las pacientes realizar un automonitoreo diario con dispositivos mínimamente invasivos que miden la glucosa capilar, pero que no siempre están sometidos a un riguroso control de calidad[11,12]. Existen otros marcadores de monitoreo glucémico como la hemoglobina A1c (HbA1c) y la fructosamina (FA). Durante el embarazo, la HbA1c no siempre resulta de utilidad porque además de reflejar las variaciones glucémicas a largo plazo, tiene algunas limitaciones dentro del contexto gestacional[13,14].

La FA designa a todas las proteínas séricas glicadas. Una de las ventajas que presenta en comparación con la HbA1c es que no se ve afectada por condiciones que modifican la concentración de glóbulos rojos como las hemoglobinopatías o la anemia hemolítica; además posee una vida media más corta (15-21 días que corresponde a la albúmina), y su medición es rápida, precisa y menos costosa[15].

Ya que la FA refleja principalmente la glicación de la albúmina (proteína que circula en mayor concentración) es importante tener en cuenta que puede ser una variable que modifique su concentración. Como la albúmina sérica disminuye en los últimos meses del embarazo debido a una dilución fisiológica y al estado inflamatorio propio de la gestación, algunos estudios demuestran que sería conveniente corregir los niveles de FA en función de la albúmina circulante (fructosamina corregida con albúmina, FAc)[16].

En la actualidad, la mayoría de los laboratorios de análisis clínicos que determinan la FA utiliza en sus informes los intervalos de referencia (IR) o límite superior de la normalidad (LSN) sugeridos por los fabricantes de los reactivos que, en la mayoría de los casos, no están actualizados metodológicamente y han sido establecidos con una población de varones y mujeres no embarazadas (LSN: 285 umol/L)[17].

En nuestra búsqueda bibliográfica, no encontramos publicaciones recientes que establezcan los IR o el LSN para la FA en embarazadas no diabéticas con los métodos automatizados que se utilizan en la actualidad. En un trabajo publicado en 1997 se proponen diferentes puntos de corte para el LSN en cada trimestre de la gestación[18].

OBJETIVOS

El objetivo de nuestro trabajo fue comparar los niveles de FA y FAc entre el segundo y tercer trimestre de gestación (2T y 3T) en embarazadas no diabéticas que concurrieron a dos hospitales públicos de la Ciudad de Córdoba utilizando ensayos actuales.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se realizó un estudio analítico, observacional, de corte transversal. El protocolo fue aprobado por el Comité Institucional de Ética de la Investigación del Niño y el Adulto (Polo Hospitalario de Córdoba, Argentina).

Se seleccionaron 89 pacientes embarazadas que cumplían con los siguientes criterios de inclusión: edad mayor de 17 años, glucemia en ayunas menor o igual a 100 mg/dL y glucemia pos PTOG menor de 140 mg/dL. Como criterios de exclusión se consideraron condiciones clínicas como la co-

lestasis intrahepática gestacional, la preeclampsia y procesos inflamatorios o infecciosos como infección del tracto urinario, lupus eritematoso sistémico, hepatitis, entre otros, que pudieran afectar significativamente los niveles de proteínas séricas, especialmente la albúmina.

Entre octubre de 2021 y octubre de 2023 las pacientes concurrieron por consultorio externo a los Servicios de Laboratorio del Hospital Misericordia Nuevo Siglo y del Hospital Materno Neonatal de Córdoba (Argentina), y firmaron un consentimiento informado para autorizar su participación en el protocolo de este trabajo.

Se dividieron en dos grupos según el trimestre de gestación: grupo 2T (n=37) y grupo 3T (n=52). A todas se les midió la FA y la albúmina en las muestras de sangre tomadas el día que concurrieron a realizarse la PTOG.

Las muestras de suero se obtuvieron por punción venosa con ayuno de 8 h utilizando tubos vacutainer marca BD con gel separador. Las mediciones de glucemia se realizaron inmediatamente. Para la cuantificación de la FA y de la albúmina se separaron alícuotas de suero que se conservaron a -20ºC hasta el momento de su procesamiento. Los datos de las pacientes y los resultados obtenidos se ingresaron de manera anónima en una planilla Excel.

Las determinaciones de glucemia, albúmina y FA se realizaron en un autoanalizador Architect c4000 de Abbott. Para la medición de la glucemia se utilizó el método enzimático hexocinasa/G-6-PDH con lectura de absorbancia a una longitud de onda de 340 nm. Para la albúmina sérica se empleó el método colorimétrico verde de bromocresol con lectura de absorbancia a una longitud de onda de 604 nm y para la FA se utilizó el método colorimétrico de Nitroazul de Tetrazolio con lectura de absorbancia a una longitud de onda de 548 nm. El coeficiente de variación (CV%) intraensayo para la FA fue de 0,6% y el CV% interensayo fue de 1,3%.

Para la corrección de fructosamina con albúmina (FAc) se utilizó la siguiente fórmula[19]:

$$FAc = \text{Concentración de fructosamina [µmol/L]} \times 3 \text{ concentración de albúmina [g/L]}$$

El análisis estadístico de las variables cuantitativas se realizó analizando la distribución de las mismas mediante pruebas de Shapiro Wilks y prueba de bondad de ajuste de Kolmogorov. Se utilizaron como medidas descriptivas media, desvío estándar (DE) y valores mínimo y máximo, así como los valores de los percentilos (p) 2,5 y 97,5. Para la comparación entre grupos, se utilizó test T. P-valor <0,05 se consideró estadísticamente significativo. Se utilizaron los programas Excel e Infostat como *software* estadístico para la carga y el análisis de los datos.

RESULTADOS

Cuando se compararon los resultados de la FA y de la FAc en ambos grupos de embarazadas, no se observaron diferencias significativas entre ambos trimestres de gestación (Tabla 1).

En el análisis de las medias y desviaciones estándar para FA y FAc en ambos grupos, no se encontraron diferencias significativas (Gráfico 1).

En el Gráfico 2 se detalla la distribución de los valores de FA en ambos grupos de pacientes. En el histograma del grupo 2T se puede observar una ligera distribución sesgada hacia la derecha, mientras que en el histograma del grupo 3T el comportamiento de los datos es más homogéneo.

En la Tabla 2 se muestran los p2,5 y p97,5 de FA y FAc para el 2T y 3T. Los LSN (correspondientes al p97,5) hallados en nuestro grupo de pacientes para FA fueron 230 umol/L y 236 umol/L para el 2T y 3T, respectivamente. Para FAc, los LSN fueron 219 umol/L y 205 umol/L para el 2T y 3T, respectivamente.

Después de observar que no hubo diferencia estadísticamente significativa entre los valores medidos de FA y FAc al comparar el grupo 2T y 3T, se realizó un análisis de distribución de frecuencias de ambas determinaciones independientemente del trimestre de gestación (Gráfico 3). En este análisis se encontró una distribución más homogénea para los valores de FA y FAc en el total de los datos (n=89). En la Tabla 3 se muestran los p2,5 y p97,5 de FA y FAc para el grupo 2T más 3T (n=89).

Variables	Grupo 2T (n=37)	Grupo 3T (n=52)	p valor
Glucemia basal (mg/dL)	83,76±7,95 (69-99)	82,12±7,78 (64-99)	0,3485
Glucemia pos PTOG (mg/dL)	107,08±15,41 (73-136)	104,94±18,38 (50-137)	0,6085
Albúmina (g/dL)	3,45±0,26 (2,93-4,06)	3,44±0,26 (3-4,02)	0,894
FA (umol/L)	204,7±14,35 (172-230)	208,27±16,24 (178-245)	0,4313
FAc (umol/L)	178,49±13,23 (155-219)	108,02±13,73 (151-206)	0,1461

PTOG: prueba de tolerancia oral a la glucosa; FA: fructosamina; FAc: fructosamina corregida con albúmina; 2T: segundo trimestre. 3T: tercer trimestre.

Tabla 1: Resultados de laboratorio en ambos grupos de pacientes (segundo y tercer trimestre).

Variables	Grupo 2T (n= 37)	Grupo 3T (n= 52)	p valor
FA (umol/L)	(172-230)	(179-236)	0,4313
FAc (umol/L)	(155-219)	(154-205)	0,1461

FA: fructosamina; FAc: fructosamina corregida con albúmina; 2T: segundo trimestre. 3T: tercer trimestre. (p2,5-p97,5).

Tabla 2: Percentil 2,5 y 97,5 para los resultados obtenidos de fructosamina y fructosamina corregida con albúmina en ambos grupos de pacientes.

Variables	Grupo 2T+3T (n=89)
FA (umol/L)	(178-235)
FAc (umol/L)	(155-205)

FA: fructosamina; FAc: fructosamina corregida con albúmina; 2T: segundo trimestre. 3T: tercer trimestre

Tabla 3: Percentilos 2,5 y 97,5 de fructosamina y fructosamina corregida con albúmina para el grupo total de pacientes (n=89).

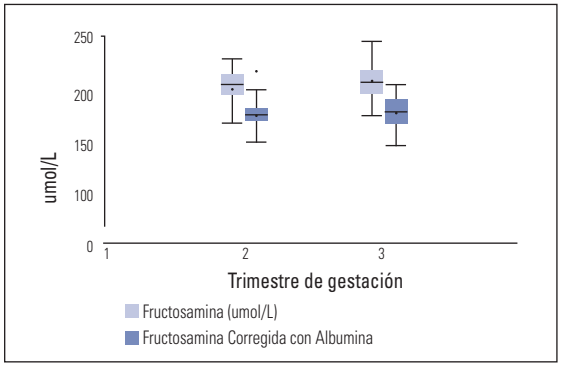
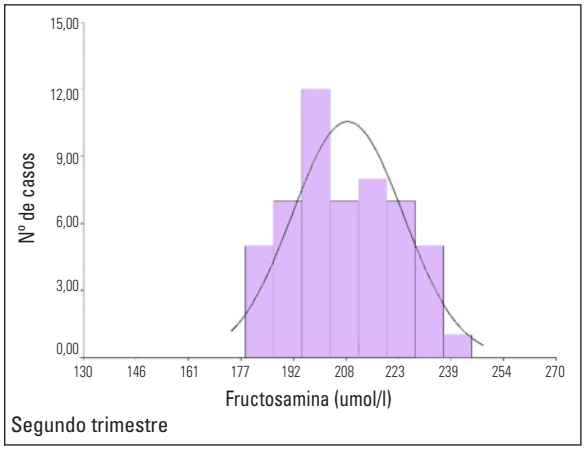


Diagrama de caja y bigotes (o box-plot) de distribución de FA y FAc en 2T y 3T.

Gráfico 1: Valores de media y desvío estándar (DE) para fructosamina y fructosamina corregida con albúmina en ambos grupos de pacientes.



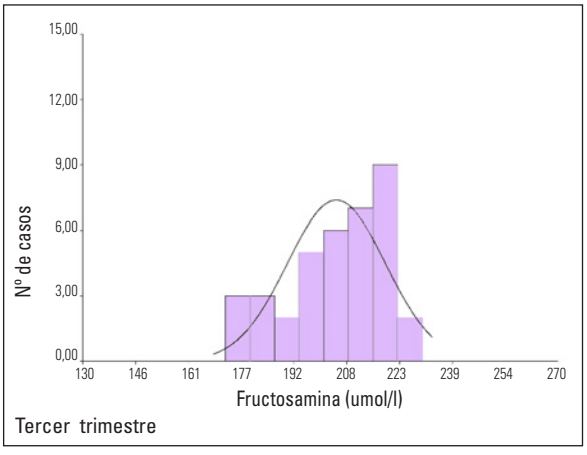


Gráfico 2: Histograma de frecuencias de fructosamina.

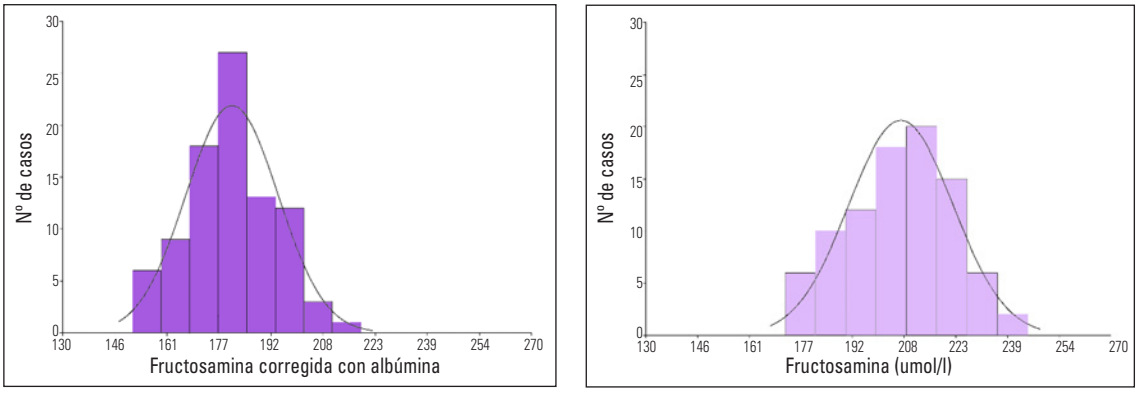


Gráfico 3: Histograma de frecuencias de fructosamina y fructosamina corregida con albúmina en el grupo total de datos (n=89).

DISCUSIÓN

En la actualidad existe suficiente evidencia que relaciona de manera directa la elevación de la glucemia con las complicaciones obstétricas que afectan tanto a la embarazada como al feto. De allí la importancia de controlar los niveles de glucemia en las embarazadas[1-4].

En el seguimiento de las pacientes con DMG, disponer de un parámetro de laboratorio como la FA, que refleje el valor promedio de glucemia de la paciente, es una alternativa valiosa para correlacionar con los registros diarios de glucosa capilar y los análisis periódicos de glucosa sérica realizada en un laboratorio bioquímico. Esta combinación permitiría contar con un perfil más completo del control metabólico, facilitando ajustes más precisos en el tratamiento y mejorando la gestión de la DM durante el transcurso del embarazo[20].

Los valores óptimos de glucemia preprandial deben encontrarse entre 70 y 95 mg/dL, mientras que las glucemias posprandiales a una hora deben ser inferiores a 140 mg/dL[21]. Sin embargo, actualmente no existe suficiente evidencia ni estudios publicados que investiguen los niveles de FA en embarazadas no diabéticas[22]. Por lo tanto, sería importante conocer los valores de FA en este grupo de mujeres con el fin de establecer un LSN.

Debido a que en el presente trabajo no se hallaron diferencias estadísticamente significativas de FA entre los grupos 2T y 3T, se podría unificar el valor de corte o LSN en dichos trimestres para usar como objetivo del tratamiento en embarazadas con DMG.

Considerando que la FA está representada principalmente por la albúmina glicada y que esta proteína presenta variaciones a lo largo del embarazo, se ha recomendado ajustar el valor obtenido con la concentración de albúmina o proteínas circulantes[16,23]. Los resultados obtenidos para FAc en el 2T y 3T tampoco tuvieron diferencia estadísticamente significativa. Sería importante estudiar a futuro la influencia de valores extremos en la concentración sérica de albúmina para interpretar el resultado de la FA.

En el trabajo de Rebolledo et al., se determinaron como LSN para FA en embarazadas no diabéticas 231 umol/L y 221 umo/L para el 2T y 3T respectivamente. Dichos autores demostraron que estos valores eran significativamente más bajos que los encontrados en una población de adultos normales (271 umol/L). Por lo tanto, concluyeron que es necesario definir rangos de normalidad independientes para la FA durante el embarazo[18].

En el presente trabajo no se estudiaron los niveles de FA durante el primer trimestre del embarazo ya que las pacientes fueron incluidas a partir del momento en que concurrieron a realizarse la PTOG (semana 24 de la gestación). Como la probabilidad de la disminución de la sensibilidad a la insulina causada por las hormonas hiperglucemiantes es mayor durante el segundo y tercer trimestre de gestación, la FA adquiere mayor implicancia clínica en el control del monitoreo glucémico durante estos dos últimos trimestres del embarazo[3,24].

Una limitación de este trabajo fue no haber alcanzado el número mínimo de pacientes estudiadas (120) para poder establecer un IR o LSN como lo indica la guía EP28A-3C del *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI)[25]. No obstante, los resultados preliminares encontrados confirman la necesidad de establecer un IR o LSN específicos para la FA medida con ensayos automatizados actuales en embarazadas no diabéticas.

Establecer un LSN para la FA durante la gestación podría optimizar el control glucémico y metabólico, mejorando el cumplimiento de los objetivos terapéuticos y disminuyendo así el riesgo de complicaciones obstétricas y neonatales en las pacientes con DMG.

BIBLIOGRAFÍA

1. Salzberg S, Alvariñas J, López G, Gorbán de Lapertosa S, Linari M A, Falcón E, et al. Guías de diagnóstico y tratamiento de diabetes gestacional. ALAD 2016;6:155-158.
2. Masuyama H, Hiramatsu Y. Potential role of estradiol and progesterone in insulin resistance through constitutive androstane receptor. J Mol Endocrinol 2011;47(2):229-39.
3. Al-Noaemi MC, Shalayel MHF. Pathophysiology of gestational diabetes mellitus. The past, the present and the future. Gestation Diabetes 2012;25.
4. Ngala RA, Fondjo LA, Gmagna P, Ghartey FN, Awe MA. Placental peptides metabolism and maternal factors as predictors of risk of gestational diabetes in pregnant women. A case-control study. PLoS ONE 2017;12(7).
5. Mao Z, Wu R, Yu H, Zhang Y, Dong W, Zou L, et al. Associations of maternal fructosamine before delivery in gestational diabetes mellitus pregnancies with neonatal glucometabolic disorders. J Diabetes Res 2022; 2022:1-6.
6. Metzger BE, Lowe LP, Dyer AR, Trimble ER, et al. Hyperglycemia and adverse pregnancy outcomes. N Engl J Med 2008;358:1991-2002.
7. Gerszi D, Orosz G, Török M, Szalay B, Karvaly G, Orosz L, et al. Risk estimation of gestational diabetes mellitus in the first trimester. J Clin Endocrinol Metab 2023;108 (11): e1214-e1215.
8. Gorban de Lapertosa S, Sucani S, Salzberg S, Alvariñas J, Faingold C, Jawerbaum A, Rovira G; DPSG-SAD Group. Prevalence of gestational diabetes mellitus in Argentina according to the Latin American Diabetes Association (ALAD) and International Association of Diabetes and Pregnancy Study Groups (IADPSG) diagnostic criteria and the associated maternal-neonatal complications. Health Care Women Int. 2021;42(4-6): 636-656.doi:10.1080/07399332.2020.1800012.
9. Programa de Evaluación Externa de Calidad (PEEC) de la Fundación Bioquímica Argentina (FBA). Disponible en: https://www.fba.org.ar/programas-de-la-fba/peec/.
10. Programa Internacional Buenos Aires de Control de Calidad Externo en Análisis Clínicos. ProgBA. Disponible en: https://www.cemic.edu.ar/progba/
11. Villena Gonzales W, Mobashsher AT, Abbosh A. The Progress of glucose monitoring. A review of invasive to minimally and non-invasive techniques, devices and sensors. Sensors (Basel) 2019 Feb 15;19(4):800. doi: 10.3390/s19040800.
12. Saí S, Urat-Metro O. Evaluación de la linealidad y el efecto de interferencia en los dispositivos de medición de la glucemia en sangre y POCT que muestran valores altos drásticos, valores bajos o mensajes de error. Revista de Ciencia y Tecnología de la diabetes 2019;13:734-743.
13. Kaiafa G, Veneti S, Policronopoulos G, et al.¿Es la HbA1c un biomarcador ideal de diabetes bien controlada? Postgrado. Medicina J 2021;97:380-383.
14. Mendes N,Tavares-Ribeiro R, Serrano F. Más allá de la glucemia plasmática y la HbA1c autocontroladas: el papel de los marcadores glucémicos no tradicionales en la diabetes mellitus gestacional. J Obs Gynaecol 2018;38:762-769.
15. Bernier E, Lachance A, Plante AS, Lemieux P, Mourabit-Amari K, Weisnagel SJ, et al. Trimester-specific serum fructosamine in association with abdominal adiposity, insulin resistance, and inflammation in healthy pregnant individuals. Nutrients 2022;14(19):3999.
16. Rodríguez-Segade S, Rodríguez J, Camiña F. La fructosamina corregida mejora tanto la correlación con la HbA1c como el rendimiento diagnóstico. Clin Biochem 2017; 50:110-115.
17. Kruse-Jarres JD, Jarausch J, Lehmann P, et al. A new colorimetric method for the determination of fructosamine. J Lab Med 1989;13(7-8):245-253.
18. Rebolledo OR, Actis Dato SM, Gagliardino JJ. Niveles de fructosamina en embarazadas con distinta edad de gestación y niños de primera y segunda infancia. Rev Soc Arg Diab 1997;31(4):131-9.
19. Lin MJ, Hoke C, Ettinger B, Coyne RV. Evaluación del rendimiento técnico del ensayo de fructosamina sérica BM/Hitachi 747-200. Clin Chem 1996:42:244-248.
20. Gounden V, Ngu M, Anastasopoulou C, Jialal I. Fructosamine. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2024 Jan.
21. American Diabetes Association Professional Practice Committee; 15. Management of diabetes in pregnancy. Standards of Care in Diabetes 2025. Diabetes Care 1 2025; 48 (Supp1):S306-S320.
22. American Diabetes Association Professional Practice Committee; 6. Glycemic goals and hypoglycemia. Standards of Care in Diabetes 2025. Diabetes Care 1 2025;48 (Supp1):S128-S145.
23. Hartland AJ, Smith JM, Dunne, F. La corrección de la concentración sérica de fructosamina en función de la concentración total de proteína o albúmina no es adecuada durante el embarazo asiático. Clin Chim 2000;292:175-180.
24. Ngala RA, Fondjo LA, Gmagna P, Ghartey FN, Awe MA. Placental peptides metabolism and maternal factors as predictors of risk of gestational diabetes in pregnant women. A case-control study. PLoS ONE 2017;12(7).
25. CLSI. Defining, establishing and verifying reference intervals in the clinical laboratory: approved guideline-third edition, 2008;28:1-76.