

Es necesario estandarizar las determinaciones de lípidos y apolipoproteínas en el laboratorio clínico

Sociedad Española de Bioquímica Clínica y Patología Molecular.
Comité Científico.

Comisión de Lípidos y lipoproteínas^a

Documento E, Fase 3, Versión 3.

Preparado por J. Ortolá

Las complicaciones clínicas de la arteriosclerosis, fundamentalmente la cardiopatía isquémica y los accidentes vasculares cerebrales, son la primera causa de muerte en la población española (1,2), al igual que en otras poblaciones de cultura occidental (3). A consecuencia de ello, en los últimos años se han publicado, en el ámbito nacional e internacional, varias estrategias preventivas para disminuir la incidencia de estas enfermedades, en especial de la cardiopatía isquémica (1,2,4-6). En España, la Sociedad Española de Arteriosclerosis (1) publicó las «Recomendaciones para la prevención de la arteriosclerosis en España», y el Ministerio de Sanidad y Consumo patrocinó con sociedades científicas y profesionales, entre las que se encontraba representada la SEQC, el documento «Consenso para el control de Colesterolemia en España» (2)

Uno de los objetivos fundamentales de estas estrategias es identificar a las personas con mayor riesgo de desarrollar cardiopatía isquémica y aplicarles el tratamiento corrector (dietético o dietético-farmacológico) para disminuir dicho riesgo. La valoración del riesgo de un individuo se realiza mediante la interpretación de las concentraciones en suero o en plasma de algunos constituyentes lipídicos y la consideración de los otros factores de riesgo, tales como: la hipertensión, los antecedentes patológicos individuales o familiares, el tabaquismo, el sexo masculino, etc.

Las magnitudes bioquímicas consideradas en estas estrategias (1,2,4-6) para la valoración del riesgo de un individuo son las concentraciones en suero o en plasma de: colesterol; colesterol de las lipoproteínas de alta densidad (colesterol de HDL); colesterol de las lipoproteínas de baja densidad (colesterol de LDL), eventualmente estimada según la fórmula de Friedewald (7,8), y triglicérido. Para la interpretación de estas magnitudes bioquímicas se recomienda unánimemente utilizar unos valores discriminantes «universales», derivados de estudios epidemiológicos e independientes de los intervalos de referencia de la población supuestamente sana. *No deben utilizarse los intervalos de referencia convencionales, ya que no se está clasificando en sujeto sano o enfermo, sino que se intenta clasificar a los su-*

jetos en función del riesgo a desarrollar en un futuro la enfermedad (9, 10). Por ello, en las diferentes estrategias (1,2,4-6) se establece unánimemente como deseable que la concentración plasmática de colesterol sea inferior a 5,17 mmol/L, asociándose con un riesgo bajo; mientras que se considera con un riesgo elevado si el individuo presenta una concentración plasmática de colesterol superior a 6,46 mmol/L (1,2,4,5), o a 6,16 mmol/L (6), y los que exceden a 7,76 mmol/L se les considera susceptibles de ser atendidos en centros especializados.

El Consenso del Ministerio de Sanidad y Consumo (2) sólo establece valores discriminantes explícitos para la concentración de colesterol, a diferencia de las restantes estrategias en las que se considera como factor de riesgo que la concentración de colesterol de HDL sea inferior a 0,91 mmol/L (1,4-6), o que la de colesterol de LDL sea superior a 3,46 mmol/L (1,4,5) o a 3,36 mmol/L (6), o que la de triglicérido sea superior a 2,26 mmol/L (1,4,5).

En poblaciones con una elevada incidencia de cardiopatía isquémica, como es el caso de la española, si se utilizan los límites de referencia de la población supuestamente sana en lugar de los valores discriminantes propuestos para la interpretación de la concentración plasmática de colesterol, se considerarían como sujetos «normales» a una proporción elevada de individuos con riesgo. Posiblemente, un 50% de la población española presenta una concentración en suero de colesterol superior a la máxima deseable, 5,17 mmol/L (10).

En todas las estrategias publicadas (1,2,4-6), las determinaciones bioquímicas son un punto básico para la estimación del riesgo individual; por lo tanto, la calidad de estas determinaciones y las prestaciones del laboratorio clínico son una premisa necesaria para el desarrollo y eficacia de estos programas. Por ello, diferentes autores coinciden en la necesidad que los laboratorios clínicos adopten unas normas que equiparen su calidad analítica y sus condiciones preanalíticas con las de aquellos que han generado los valores que se adoptan como discriminantes (11-17); este proceso recibe el nombre de estandarización (18). La estandarización conllevaría la intercambiabilidad o conmutabilidad de resultados; de este modo, los resultados de un paciente podrían ser interpretados conjuntamente, pese a proceder de diferentes laboratorios. Quizás, en último término se tienda a una certificación o acreditación particular de cada laboratorio.

^aJA Aguilar, M Arranz, F Blanco, P Chacon, M Esteban, F Fabiani, A Giner, JA Gómez (presidente) J Ortolá, M Palacios, J Puzo, JC Vella.

Variabilidad de las magnitudes bioquímicas

El resultado de la determinación de una magnitud bioquímica de un individuo está influido por la variabilidad analítica, atribuible al procedimiento de medida, y por la variabilidad preanalítica, atribuible a un conjunto heterogéneo de factores, que comprende tanto la variabilidad debida a la naturaleza del ser vivo, como la introducida en los procesos de obtención y manipulación del espécimen del paciente. La variación total, expresada por la variancia o por el coeficiente de variación al cuadrado, resulta ser la suma de todas las variaciones analíticas y preanalíticas (17,19,20).

Variabilidad analítica

Por variabilidad analítica se entiende la variabilidad introducida por los factores que intervienen en el procedimiento de medida, propiamente dicho (17,20). Los factores más importantes son: el método de determinación, las técnicas, calibradores y reactivos empleados en el procedimiento analítico, el operador, el analizador, el instrumento de medida, etc. La variabilidad analítica se caracteriza fundamentalmente por la imprecisión y la inexactitud.

Inexactitud

La inexactitud es la diferencia numérica entre el valor medio de los resultados de una serie de determinaciones repetidas y el valor verdadero (21,22). La inexactitud es una variación sistemática que confiere un «sesgo» a los resultados. En la práctica habitual, la repercusión de la inexactitud en la interpretación de una magnitud bioquímica se obvia al utilizarse los intervalos de referencia particulares de cada laboratorio. Pero esta corrección no es aplicable a estas magnitudes bioquímicas, dado que para interpretarlas se recomienda utilizar unos valores discriminantes independientes de la población y obtenidos con unas condiciones analíticas óptimas, por lo que la inexactitud puede suponer clasificar erróneamente a los individuos. Así, según el «sesgo» de los resultados de un laboratorio se puede alarmar innecesariamente a un individuo o por el contrario, no se le aplicarán las medidas correctoras que precisa. La inexactitud observada en los laboratorios clínicos se atribuye fundamentalmente a las desviaciones sistemáticas entre los métodos o entre los sistemas analíticos, y a la utilización de calibradores con valores asignados inexactos (14-16) (véase figura 1). Para la cuantificación y control de la inexactitud se requiere generalmente un programa de control de la calidad externo, para conocer el valor verdadero o una aproximación a éste.

En el ámbito internacional se han diseñado unos programas de trabajo coordinados a unos laboratorios de referencia para reducir la inexactitud entre los laboratorios al determinar estas magnitudes lipídicas, habiéndose aplicado en mayor medida a la concentración de colesterol (23-26). Los laboratorios de referencia establecen el valor exacto de una magnitud bioquímica al utilizar métodos definitivos o de referencia y con unas condiciones de trabajo estandarizadas. De un modo simplista, se puede resumir que estos programas actúan a dos niveles (18):

a) Los laboratorios de referencia valoran por métodos definitivos o de referencia los materiales de referencia certificados que suministran a las empresas fabricantes de calibradores y reactivos; éstas asignan, con dichos materiales de referencia certificados y mediante condiciones estandarizadas, los valores exactos a los calibradores que suministrarán a los laboratorios clínicos. Cuando esta cadena de proce-

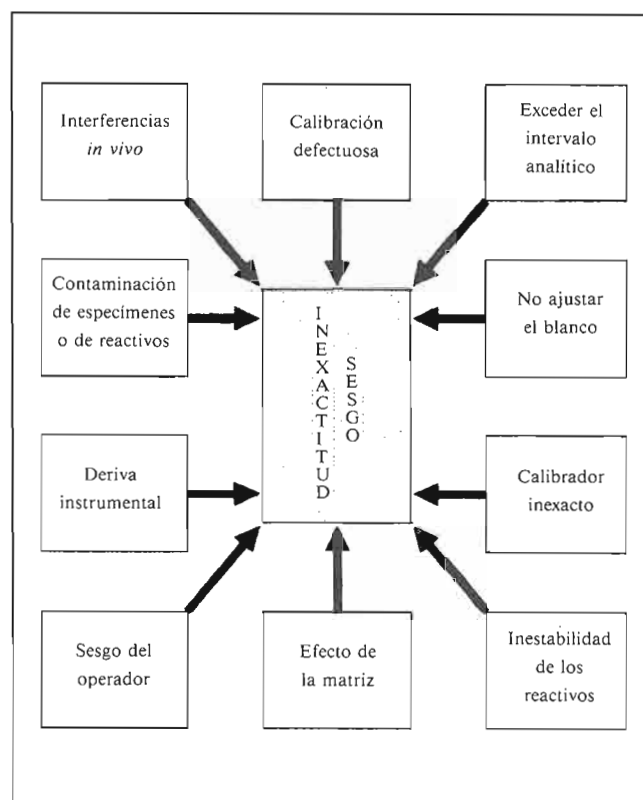


Figura 1. Principales factores que aumentan la inexactitud

dos se cumple, se dice que los resultados de un determinado laboratorio clínico tienen «trazabilidad» respecto al programa o laboratorio de referencia.

b) El uso adecuado de estos calibradores certificados debe conferir exactitud a las determinaciones realizadas por estos laboratorios clínicos. No obstante, mediante un programa de control de la calidad externo específico se realiza un seguimiento, detectándose las posibles desviaciones en la inexactitud que puede presentar un laboratorio en particular, o en general: un método analítico, un sistema analítico, etcétera.

Pese a no existir un programa de referencia específico en España, dado el carácter multinacional de la mayoría de empresas fabricantes de calibradores y reactivos, los laboratorios clínicos españoles se deben haber beneficiado indirectamente de estos programas concertados.

Imprecisión

La imprecisión es la desviación estándar (s) o el coeficiente de variación (CV) de los resultados en un grupo de mediciones repetidas (21,22). La imprecisión se manifiesta en la falta de reproductibilidad de los resultados, supone una incertidumbre en la evaluación del riesgo de un individuo y dificulta la evidencia de un cambio durante el seguimiento del paciente tratado. La imprecisión de los laboratorios se reduce por la utilización de determinados métodos y de procedimientos automatizados (14-16) (véase figura 2). La cuantificación y control de la imprecisión se realiza mediante el control de la calidad interno.

Variabilidad preanalítica

La variabilidad preanalítica comprende tanto la que es consecuencia de la propia naturaleza del ser vivo, como la debida a los procesos de obtención del espécimen y sus poste-

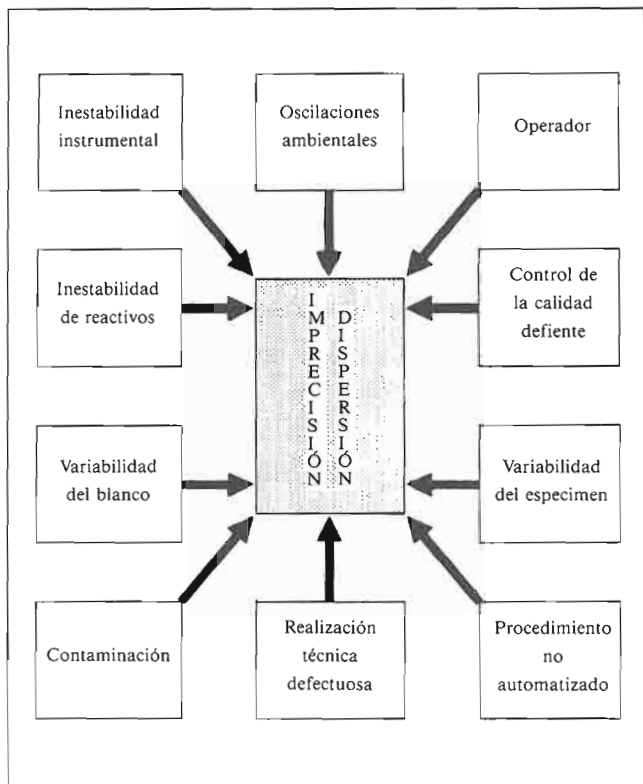


Figura 2. Principales factores que aumenta la imprecisión

riores manipulaciones (17-20). Los factores determinantes de la variabilidad preanalítica se pueden clasificar arbitrariamente del siguiente modo:

- a) La variabilidad biológica intraindividual.
- b) La variabilidad biológica interindividual.
- c) La variabilidad introducida durante la toma del espécimen.
- d) La variabilidad introducida durante la manipulación del espécimen.

a) Por *variabilidad biológica intraindividual* se entienden las variaciones de cualquier magnitud bioquímica en un individuo debidas a las homeostasis, que se manifiesta como tendencias a corto plazo, cambios clínicos o sucesos transitorios (19,27). Se suele caracterizar por el coeficiente de variación biológico intraindividual medio o mediana (CV_{BW}). Si la variabilidad preanalítica es despreciable, la variabilidad total (CV_T) asociada al resultado de una magnitud bioquímica de un individuo se expresa por la siguiente fórmula (17,19,20):

$$CV_T = \sqrt{CV_{BW}^2 + CV_A^2}$$

donde: CV_{BW} es el coeficiente de variación biológico intraindividual medio o mediana; CV_A es el coeficiente de variación analítico interserial.

La influencia de la variabilidad biológica intraindividual y la variabilidad total se reducen al determinar la magnitud bioquímica en diferentes especímenes obtenidos del individuo durante un período de tiempo determinado. Por ello se recomienda realizar la valoración inicial del riesgo de un individuo con el valor medio obtenido al determinar la concentración de colesterol en al menos 2 especímenes del paciente (9,12,17,20,28,29).

La variabilidad biológica intraindividual y la analítica también tienen su repercusión en la diferencia entre dos resultados de un paciente. Lógicamente, cuanto mayores son

la variabilidad analítica o la biológica, mayor es la diferencia mínima a considerar como significativa (d), que se calcula según la fórmula (19, 27):

$$d_{\min} \geq 2,77 (CV)^T = 2,77 \sqrt{CV_{BW}^2 + CV_A^2} (P < 0,05)$$

b) Por *variabilidad biológica interindividual* se entienden las variaciones observables entre los diferentes individuos. Es una consecuencia de los factores genéticos y de los factores ligados al sexo, a la raza, a la edad, a los hábitos de comportamiento (dietéticos, de actividad física, etc.), a las interacciones ambientales y a los diferentes estados fisiológicos (17,19). Para estandarizar estos factores se recomienda que el individuo no modifique sus hábitos de comportamiento en los días previos a la extracción (30).

El estado de enfermedad o el de convalecencia, el embarazo, etc. también pueden influir en las concentraciones plasmáticas de lípidos y apolipoproteínas (17). Para reducir dicha influencia se recomienda que la evaluación del riesgo individual se haga preferiblemente en sujetos «sanos» o después de transcurrir un tiempo desde la curación o la recuperación (30).

c) La *variabilidad introducida durante la obtención del espécimen* y d) *en la manipulación de éste*. Éstas se reducen en gran medida mediante la adopción y observación de normas uniformes al respecto. Para reducir su variabilidad se recomienda realizar la toma del espécimen después de haber ayunado el paciente. El ayuno previo es indispensable cuando se determine la concentración de triglicérido o la de colesterol de HDL, LDL o VLDL (30). Eventualmente, y sólo si se determina exclusivamente la concentración de colesterol puede obviarse el ayuno previo del paciente. Las determinaciones preferiblemente deben realizarse en el mismo día que se obtiene el espécimen (30).

La variabilidad preanalítica de estas magnitudes bioquímicas es generalmente superior a la analítica, pero se reduce adoptando condiciones uniformes en la preparación del paciente, en la obtención y manipulación del espécimen y determinando la magnitud en más de un espécimen del paciente. El Consenso español (2) recomienda «que el diagnóstico de la elevación del colesterol se base en dos determinaciones en ayunas (12-14 horas), separadas por un intervalo de 1 a 3 semanas». También la Comisión de Lípidos y lipoproteínas de la SEQC (30) ha publicado un documento específico sobre las normas de preparación de los pacientes a explorar y de obtención y conservación de los especímenes.

Colesterol

La estandarización de la determinación de la concentración de colesterol es la más desarrollada. En EE.UU. se lleva a cabo desde 1985 dentro del National Cholesterol Education Program (NCEP) y se encuentra ya en fases muy avanzadas (23,26). En el Consenso español (2) se contemplan unos objetivos de calidad analítica explícitos para la concentración de colesterol, y así: «se recomienda que la imprecisión y la inexactitud sean como máximo del 5%. Posteriormente, y a través de un programa de estandarización y control de la calidad externo adecuado, deberá conseguirse una imprecisión e inexactitud máxima del 3%». En el NCEP de los EE.UU. se establece ya desde 1990 el objetivo del 3% (11-17).

En el NCEP (13, 17) se identificó que el objetivo de imprecisión era más fácil de alcanzar que el de la inexactitud. Las imprecisiones mayores se observan en los procedimientos analíticos no automatizados. La inexactitud entre labo-

Tabla I

	$CV_{T,1}$	ϑ_1	$CV_{T,2}$	ϑ_2	$CV_{T,3}$	ϑ_3
$CV_A = 3\%$	7,2%	12%	5,1%	3%	4,2%	1%
$CV_A = 5\%$	8,3%	18%	5,9%	6%	4,8%	2%
$CV_A = 10\%$	12,0%	35%	8,5%	19%	6,9%	11%

$CV_{T,1}$, $CV_{T,2}$, $CV_{T,3}$ y ϑ_1 , ϑ_2 , ϑ_3 son, respectivamente, los coeficientes de variación totales y la frecuencia de ser mal clasificado el «individuo tipo», obtenidos al realizar la determinación de 1, 2 y 3 especímenes tomados del individuo. CV_A es el coeficiente de variación analítico interserial.

ratorios se atribuyó a las desviaciones sistemáticas entre los diferentes métodos de determinación empleados y, en mayor medida, a la utilización de calibradores con valores asignados inexactos. La utilización de calibradores certificados y con un valor asignado respecto al método definitivo han reducido la inexactitud.

En los laboratorios españoles, la imprecisión global del XI Programa de Control de la Calidad Interlaboratorios de la SEQC (31) correspondiente a 1990, fue de 5,2% que es ligeramente superior a la de programas equivalentes de otros países (31,32). De aquella imprecisión global se puede inferir que aproximadamente un 30% de los resultados de los 150 laboratorios españoles considerados en dicho programa excedían en más del 5% al valor de todos los laboratorios.

La mediana de la imprecisión de los laboratorios participantes en el XII Programa de Control de la Calidad Interlaboratorios de la SEQC (33) fue de 3,4%, presentando el 80% y el 43% de los 150 laboratorios considerados, una imprecisión menor o igual al 5% y al 3%, respectivamente; resultados similares se obtenían en los programas de control de la calidad interlaboratorios de las comunidades autónomas de Cataluña y Madrid (33). Esta mediana de la imprecisión es ligeramente superior a la de otros programas nacionales e internacionales (13,15,34-37), que oscila entre 2,7 y 2,9%. En cuanto a la inexactitud, en los tres programas españoles consultados no es posible inferir resultados de la inexactitud respecto a un valor verdadero determinado por un método definitivo o de referencia.

La variabilidad biológica intraindividual de la concentración en suero de colesterol es superior a la imprecisión con que usualmente se determina esta magnitud (14,15,17,20,37-39). El coeficiente de variación biológico intraindividual medio anual de la concentración sérica de colesterol, promedio de los tres estudios realizados en poblaciones españolas, es de 6,6% (37-39), similar a los observados en otros estudios (17,20,40).

En la tabla I se representan los coeficientes de variación medios totales que se obtienen, aplicando la fórmula anteriormente descrita, según los diferentes coeficientes de variación analítica con que fuese determinada la concentración de colesterol, asumiendo la variación biológica media antes expresada y considerando el valor de la determinación de un espécimen o el valor medio de la determinación de dos o tres especímenes tomados del paciente, como está re-

comendado para la evaluación inicial del riesgo individual (9,12,17,20,28,29). En la misma tabla se recoge la correspondiente frecuencia media con que sería mal clasificado un «individuo tipo» con una concentración de colesterol verdadera de 5,81 mmol/L, que equidista de los valores discriminantes 5,16 y 6,46 mmol/L.

En los resultados de la tabla I se observa que se produce una reducción notable de la propiedad de clasificar inadecuadamente al «individuo tipo» si la imprecisión es del orden de las recomendadas y si la inferencia del riesgo asociado a la concentración de colesterol se realiza con el valor medio de varios especímenes del paciente. Cuando la imprecisión es superior a la máxima recomendada, la incertidumbre asociada es elevada y pudiera llegar a ser necesario realizar la determinación de cada espécimen por duplicado. Muchos autores (11-17,20,28,40) han recomendado aspirar a imprecisiones del orden del 3% o inferiores, cuando se dispongan de métodos enzimáticos y de analizadores automáticos para la determinación de colesterol, o tomar más de dos especímenes del paciente. Ha de tenerse en cuenta que con un coeficiente de variación total del 6%, que corresponde a una imprecisión analítica del 5% y tomando dos especímenes del paciente, en un individuo con una concentración verdadera de colesterol de 5,81 mmol/L, con un 95% de probabilidades, el valor medio de las dos determinaciones estaría comprendido entre 5,1 y 6,5 mmol/L. Si las mismas condiciones anteriormente expuestas se aplican a un individuo con una concentración verdadera de colesterol de 6 mmol/L la situación es más desfavorable, y con un 95% de probabilidades, el valor medio de sus dos especímenes estaría comprendido entre 5,3 y 6,7 mmol/L y en el 10% de las ocasiones sería mal clasificado. Evidentemente, la probabilidad de ser mal clasificado aumenta significativamente si la inexactitud es apreciable.

Además de la repercusión de la variabilidad analítica en la clasificación de los individuos, ésta también influirá en el seguimiento de los individuos, dificultando la evidencia significativa de un cambio. En la tabla II se exponen los valores de la diferencia mínima entre dos resultados a considerar como significativa ($P < 0,05$) para un coeficiente de variación biológica intraindividual medio del 6,6% y según el coeficiente de variación analítico con que se realicen las determinaciones. En la tabla II hay que resaltar que al realizar las determinaciones con una imprecisión del 8% se necesita una diferencia mayor en casi un 50% que si la impre-

Tabla II

	$CV_A = 10\%$	$CV_A = 8\%$	$CV_A = 5\%$	$CV_A = 3\%$
d_{min}	33%	29%	23%	20%

d_{min} es la diferencia mínima media entre los resultados de dos determinaciones de la concentración de colesterol para poder considerar que se ha producido un cambio significativo ($P < 0,05$). CV_A es el coeficiente de variación analítico interserial.

cisión es del 3%. Dado que el descenso de la concentración de colesterol consecuente al tratamiento es lento, las determinaciones en el seguimiento del tratamiento habrán de estar separadas suficientemente en el tiempo (entre 3 y 6 meses) para poder evidenciar significativamente un cambio. Estas observaciones se distorsionan en gran medida, si los dos resultados provienen de dos laboratorios con una inexactitud relativa apreciable entre ambos.

Colesterol de HDL

La determinación de la concentración sérica o plasmática del colesterol de HDL comporta dos procesos: la separación de las lipoproteínas de alta densidad y la determinación posterior en esta fracción aislada de la concentración de colesterol. La existencia de dos procesos sucesivos introduce mayor variabilidad, aumentando la imprecisión, máxime al no ser automatizable el proceso de separación (ultracentrifugado o precipitación) y ser menores las concentraciones de colesterol medidas.

Todos los estudios que se han realizado sobre la calidad analítica de la determinación de colesterol de HDL, coinciden en calificarla de inaceptable (14,16,17,41,42). Dado que la variabilidad biológica intraindividual de la concentración de colesterol de HDL es ligeramente superior a la de colesterol, siendo el coeficiente de variación biológico intraindividual medio anual, promedio de los dos estudios realizados en poblaciones españolas, de 8,5% (38,39); y que la imprecisión analítica usualmente es superior a la del colesterol (14,16,17,41,42), en consecuencia la variación total es mayor. Por ello, son frecuentes coeficientes de variación total del orden del 10% que corresponde a una imprecisión aproximada del 5%, por lo que un individuo con una concentración verdadera de colesterol de HDL de 1,25 mmol/L, con un 95% de probabilidad, el valor obtenido al serle determinada esta magnitud estaría comprendido entre 1 y 1,5 mmol/L. Obviamente, la repercusión de los tratamientos correctores queda frecuentemente enmascarada por la variabilidad total y por tanto no es aconsejable la utilización de la concentración del colesterol de HDL para adoptar modificaciones terapéuticas en el seguimiento del paciente (14,41,42). Respecto a la inexactitud, se han descrito diferencias sistemáticas importantes entre los diversos métodos de precipitación, que son los procedimientos de separación más empleados, atribuibles a su inespecificidad y al hecho de actuar por mecanismos de reacción diferentes (14,16,17,42). También se han descrito interacciones entre los iones Mn(II) utilizados en algunos reactivos precipitantes, y que quedan en el sobrenadante, con las soluciones amortiguadoras empleadas en algunos reactivos para la determinación de colesterol (43). Por otra parte, en los especímenes hiperlipídicos se puede dar una precipitación incompleta de las lipoproteínas de baja y muy baja densidad con la consiguiente sobrevaloración de la concentración del colesterol de HDL. Este fenómeno es más frecuente en determinados métodos (43).

El control de la calidad de esta magnitud bioquímica es más complejo, ya que se ha de evaluar tanto el proceso de separación de las HDL, como el proceso posterior de determinación de colesterol. Por ello sería deseable utilizar dos tipos de materiales de control: a) controles en los que se realice la separación de las lipoproteínas de alta densidad (HDL) y la posterior determinación del colesterol y b) controles de la determinación de colesterol, con una concentración de colesterol próxima al valor discriminante de 0,91 mmol/L. Generalmente, ello supone utilizar unos ma-

teriales de control específicos, especialmente para el proceso de precipitación, pues los materiales de control convencionales carecen frecuentemente de lipoproteínas de alta densidad.

No existen recomendaciones determinantes para disminuir la imprecisión e inexactitud de la determinación de esta magnitud. Posiblemente, si se aumenta la relación entre el volumen de espécimen, tomado del sobrenadante de la precipitación, y el de reactivo empleado en la determinación final de colesterol se reduciría la imprecisión. Por otro lado, si para la determinación de colesterol se usaran calibradores con concentraciones de orden de 1 mmol/L, y a ser posible certificados, se reduciría la inexactitud. Respecto a la estandarización preanalítica destaca la alteración que se produce durante el almacenamiento, siendo preferible la determinación el mismo día de la obtención del espécimen (17,30).

Triglicérido

La determinación de la concentración presenta grandes problemas desde el punto de vista analítico que hacen difícil la estandarización y la transferibilidad de los resultados. También presenta una gran variabilidad biológica intraindividual; el coeficiente de variación biológico intraindividual medio anual de la concentración sérica de triglicérido, promedio de los tres estudios realizados en poblaciones españolas, es de 21% (37-39), similar a los observados en otros estudios (17,20,40). Esta elevada variabilidad biológica se atribuye fundamentalmente a la influencia de la ingesta de grasas en los días previos; por ello, unánimemente se recomienda que la obtención del espécimen se realice después de ayunar más de 12 horas el paciente (17,30), de no ser así la variabilidad biológica es aún superior. No se han definido explícitamente unos objetivos analíticos para la determinación de triglicérido, aunque se considera como deseable que la imprecisión y la inexactitud sean inferiores al 5% (16). No obstante, dada su gran variabilidad biológica, la repercusión de la variabilidad analítica en la variabilidad total es menor que la observada en el colesterol.

En los laboratorios españoles, la imprecisión global del XI Programa de Control de la Calidad Interlaboratorios de la SEQC (31) correspondiente a 1990, fue del 9,3% equiparable a la de los programas equivalentes de otros países (31). De aquella imprecisión global se puede inferir que más del 30% de los resultados de los laboratorios considerados en dicho programa excedían en más del 9% al valor medio de todos los laboratorios.

La imprecisión mediana de los laboratorios participantes en el XII Programa de Control de la Calidad Interlaboratorios de la SEQC (33), correspondiente a 1991, fue del 5,4%, presentando sólo el 47% y el 26% de los 156 laboratorios considerados, una imprecisión menor o igual al 5% y al 3%, respectivamente; resultados similares se obtienen en los programas de control de la calidad de las comunidades autónomas de Cataluña y Madrid (33). Esta imprecisión mediana es superior a la de un programa internacional (34,35), donde la imprecisión mediana de 1990 es del 4,4%. En cuanto a la inexactitud, en los tres programas españoles consultados no es posible inferir resultados respecto a un valor verdadero determinado por un método definitivo.

Todos los autores consultados (13-17,26,29) destacan importantes diferencias sistémicas entre los métodos de determinación de la concentración de triglicérido que se atribuyen a diferencias entre los métodos enzimáticos y los que

no lo son y a la gran diversidad de métodos analíticos empleados. Un factor controvertido es la corrección de la determinación de la concentración de triglicérido según la concentración de glicerol no esterificado del espécimen, dado que éste interfiere en la determinación de triglicérido. La interferencia es debida a que en los métodos de determinación de triglicérido se hidroliza previamente el triglicérido, obteniéndose ácidos grasos y glicerol que posteriormente reaccionará con el reactivo cromógeno, siendo el incremento de absorbancia proporcional al glicerol. Consecuentemente se obtienen resultados mayores si no se resta el glicerol no esterificado que hay en el espécimen del paciente. No obstante, hay un conjunto de factores que le restan importancia: los valores discriminantes establecidos, lo han sido con métodos en que no se ha descontado el glicerol no esterificado y excepto en determinados pacientes la proporción de glicerol no esterificado es pequeña y poco variable (16,17,44). Además, no existen procedimientos de determinación adaptados a los analizadores automáticos más utilizados que obvian la interferencia del glicerol no esterificado.

La utilización de calibradores en los que se haya valorado su concentración de sustancia, (mmol/L), reduce la inexactitud; dado que al ser el triglicérido una molécula compleja y con una composición variable de ácidos grasos, la expresión de los resultados en concentración de masa (g/L) está influida por la naturaleza de dichos ácidos grasos.

Colesterol de LDL

El colesterol de las lipoproteínas de baja densidad se ha considerado como la fracción de colesterol más aterógena, y ha crecido el interés por la determinación de su concentración en suero o plasma. No obstante su aplicación es difícil, tanto por la dificultad de la aplicación rutinaria de la ultracentrifugación, como por el hecho que los métodos de separación por precipitación no estén totalmente evaluados ni estandarizados. Se ha comprobado que eventualmente se puede estimar su concentración mediante la fórmula de Friedewald (7,8), siempre y cuando la concentración de triglicérido no sea superior a 2,3 mmol/L (9,16).

Lógicamente, la inexactitud e imprecisión de las determinaciones de la concentración de colesterol, de colesterol de HDL y de triglicérido se transmiten al resultado obtenido en la fórmula de Friedewald. Es indispensable para el cálculo de la concentración del colesterol de LDL realizar la toma del espécimen después de ayunar el paciente, pues en aquella fórmula se considera la concentración de triglicérido (9,16,30).

Apolipoproteínas

La determinación de la concentración de las diferentes apolipoproteínas no están incluidas dentro de las estrategias para la reducción de la cardiopatía isquémica, a causa de su deficiente estandarización; siendo la inexactitud relativa entre los diferentes métodos inmunológicos empleados para su determinación muy elevada (14,17,45-49). Esta inexactitud se atribuye a un gran número de factores, entre los que destacan las diferentes características de los anticuerpos empleados (origen, afinidad, etc.), las diferentes técnicas empleadas para su determinación y a la utilización de calibradores con valores asignados inexactos (45-48). Se han iniciado programas internacionales tendentes a la estandarización de la determinación de la concentración de las apolipoproteínas A-I y B y sólo recientemente se disponen de materiales de

referencia de estas apolipoproteínas (48,50). Todo ello ha contribuido a que no se hayan definido los valores discriminantes unificados que permitan clasificar a los individuos en función del riesgo a presentar las manifestaciones clínicas de la arteriosclerosis.

La determinación automatizada de las apolipoproteínas A-I y la B, con una presumible menor imprecisión que las determinaciones de colesterol de HDL y LDL, y su elevado valor semiológico auguran un futuro de desarrollo. Pero hasta que no se produzca una estandarización de los procedimientos de determinación de estas magnitudes, fundamentalmente reduciendo su inexactitud relativa, y se definan unos valores discriminantes, su determinación no es recomendable para identificar a los pacientes con riesgo (49).

Conclusiones

La calidad analítica de la determinación de los lípidos y las apolipoproteínas ha de mejorar; igualmente, se han de adoptar medidas preventivas para reducir y controlar la variabilidad preanalítica, que generalmente, en todas estas magnitudes, es superior a la analítica. Si esta estandarización no se realiza, se comprometerá el desarrollo del programa de identificación y seguimiento de los pacientes con riesgo elevado de presentar cardiopatía isquémica, que son una proporción importante de la población española. La estandarización, en último término, habrá de garantizar la conmutabilidad de resultados entre los diferentes laboratorios, con sus consiguientes ventajas de utilidad, ahorro y homogeneidad.

Este esfuerzo no es posible sin una acción coordinada, que en otros países ya se está llevando a cabo. Se precisa tanto la difusión entre los bioquímicos clínicos de esta nueva estrategia de interpretación de los resultados y de la necesidad evidente de estandarizar; como la infraestructura institucional para el desarrollo de laboratorio/s de referencia y un programa externo de control de la calidad.

Correspondencia:
Comisión de Lípidos y lipoproteínas
Sociedad Española de Bioquímica Clínica y Patología Molecular.
C/Llançà 53, bajos 3a. 08015 Barcelona.

Bibliografía

1. Carmena R, Ros E, Gómez-Gerique JA et al. Recomendaciones para la prevención de la arteriosclerosis en España. Documento Oficial de la Sociedad Española de Arteriosclerosis. Clin Invest Arteriosclerosis 1989; 1: 1-9.
2. Ministerio de Sanidad y Consumo. Consenso para el control de la colesterolemia en España. Quím Clín 1990; 9: 113-120.
3. Natio HK. New guidelines and recommendations on the detection, evaluation, and treatment of patients with undesirable cholesterol levels. Am J Clin Pathol 1988; 90: 358-361.
4. European Atherosclerosis Society. Strategies for the prevention of coronary heart disease: a policy statement of the European Atherosclerosis Society. Eur Heart J 1987; 8: 77-88.
5. European Atherosclerosis Society. The recognition and management of hiperlipidaemia in adults: A policy statement of the European Atherosclerosis Society. Eur Heart J 1988; 9: 571-600.
6. National Cholesterol Education Program. Report of the National Cholesterol Education Program. Expert Panel on detection, evaluation, and treatment of high blood Cholesterol in adults. Arch Intern Med 1988; 148: 36-69.
7. Friedewald WT, Levy RI, Fredrickson DS. Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma, without use of the preparation ultracentrifuge. Clin Chem 1972; 18: 499-502.
8. Warnick GR, Knopp RH, Fitzpatrick V, Branson L. Estimating low-density lipoprotein cholesterol by the Friedewald equation is adequate for classifying patients on the basis of national recommended cutpoints. Clin Chem 1990; 36: 15-19.

9. Sociedad Española de Química Clínica. Estrategia para el diagnóstico de las disciplinas. *Quim Clin* 1993; 12: 251-256.
10. Castiñeiras MJ, Ortola J, Fiol C. Colesterol sérico: no debe usarse el límite superior de referencia para la interpretación de resultados. *Quim Clin* 1990; 9: 70-71.
11. Bowers GN. Accuracy and blood cholesterol measurements. *Clin Chem* 1988; 34: 192.
12. Naito KH. The Cholesterol Challenge: From Laboratory to clinician. *Clin Chem* 1988; 34: 444-449.
13. National Cholesterol Education Program. Current status of blood measurements in the United States: A report from the Laboratory Standardization Panel of the National Cholesterol education Program. *Clin Chem* 1988; 34: 193-201.
14. Naito KH. Reliability of lipid lipoprotein, and apolipoprotein measurements. *Clin Chem* 1988; 34 (Supl B): B84-B94.
15. Naito KH. The need for accurate total cholesterol measurement: recommended analytical goals, current state of reliability, and guidelines for better determinations. *Clin Lab Med* 1989; 9: 37-60.
16. Warnick GR. Laboratory measurement of lipid and lipoprotein risk factor. *Scand J Clin Lab Invest* 1990; 50 (Supl 198): 9-19.
17. Cooper GR, Myers GL, Smith SJ, Sampson EJ. Standardization of Lipid, Lipoprotein and Apolipoprotein Measurements. *Clin Chem* 1988; 34 (Supl B): B95-105.
18. Dybkaer R. General metrological requirements of clinical lipid measurements. *Scand J Clin Lab Invest* 1990; 50 (Supl 198): 20-25.
19. Fraser CG. Interpretation de datos bioquímico-clínicos. la ed. Barcelona: Ediciones Mayo SA, 1989.
20. Petersen H, Larsen ML, Hörder M, Blaabjerg O. Influence of analytical quality and preanalytical variations on measurements of cholesterol in screening programmes. *Scand J Clin Lab Invest* 1990; 50 (Supl 198): 66-72.
21. International Federation of Clinical Chemistry. Approved recommendation (1978) on quality control in clinical chemistry. Part 1. General principles and terminology. *Clin Chim Acta* 1979; 98: 129-143.
22. Sociedad Española de Química Clínica. Barcelona: Sociedad Española de Química Española, 1979.
23. Cooper GR, Myers GL. Reference system for cholesterol measurements. *Scand J Clin Lab Invest* 1990; 50 (Supl 198): 27-31.
24. Grafnetter D. International quality assurance schemes for cholesterol. *Scand J Clin Lab Invest* 1990; 50 (Supl 198): 32-42.
25. Vanderlinde RE, Bowers GN, Scjafffer R, Edwards GC. The national reference system for cholesterol. *Clin Lab Med* 1989; 9: 89-104.
26. Myers GL, Cooper GR, Winn CL, Smith SJ. The Centers for Disease Control-National Heart, lung, and Blood Institute Lipid Standardization program: An Approach to Accurate and precise Lipid Measurements. *Clin Lab Med* 1989; 9: 105-136.
27. Sociedad Española de Química Clínica. Interpretación de un cambio entre dos valores consecutivos de una magnitud bioquímica. *Quim Clin* 1989; 8: 357-361.
28. Dujovne CA, Harris WS. Variabilities in serum lipid measurements. Do they impede proper diagnosis and treatment of dyslipidemia? *Arch Intern Med* 1990; 150: 1538-1585.
29. Bookstein L, Gidding SS, Donovan M, Smith FA. Day-to-day variability of serum cholesterol, triglyceride, and high-density lipoprotein cholesterol levels. Impact of the assessment of risk according to the National Cholesterol Education Program Guidelines. *Arch Intern Med* 1990; 150: 1653-1657.
30. Sociedad Española de Química Clínica. Protocolo para la obtención de especímenes en las determinaciones de lípidos y lipoproteínas. *Quim Clin* 1989; 8: 349-351.
31. Sociedad Española de Química Clínica. Evaluación del XI Programa de Control de Calidad Interlaboratorios de la SEQC. *Quim Clin* 1991; 40: 133-198.
32. Broughton PMG, Bullock DG, Cramb R. Improving the quality of plasma cholesterol measurements in primary care. *Scand J Clin Lab Invest* 1990; 50 (Supl 198): 43-48.
33. Sociedad Española de Química Clínica. Evaluación del XII Programa de Control de Calidad Interlaboratorios de la SEQC (1991). *Quim Clin* 1992; 11: 335-398.
34. Stevens JF. Achievable standards of laboratory performance. *ACB News Sheet* 1990; 324: 12-16.
35. Stevens JF. Achievable standards of laboratory performance. *ACB News Sheet* 1991; 335: 12-15.
36. Grafnetter D. International quality assurance schemes for cholesterol. *Scand J Clin Lab Invest* 1990; 50 (Supl 198): 32-42.
37. Juan LL. Variabilidad biológica intraindividual de les magnituds bioquímiques. Aplicacions clíniques. Tesis doctoral. Facultat de Farmacia. Universitat de Barcelona. Barcelona 1989. España.
38. Roca-Cusachs A, Gómez-Gerique JA, Bou F, Homs R. Variación estacional de lípidos y presión arterial. *Med Clin* 1991; 97: 721-725.
39. Ortola J, Castiñeiras MJ, Fuentes-Arderiu X. Biological variation data to the selection of serum lipid ratios as risk markers of coronary heart disease. *Clin Chem* 1992; 38: 56-59.
40. Durrington PN. Biological variation in serum lipid concentrations. *Scand J Clin Lab Invest* 1990; 50 (Supl 198): 86-91.
41. Grundy S, Goodan DS, Rifkind BM, Cleeman JI. Grundy SM, Goodman DS, Rifkind BM, Cleeman JI. The place of HDL in cholesterol management. A perspective from National Education Program. *Arch Intern Med* 1989; 149: 505-510.
42. Bachorik PS. Measurement of Total Cholesterol, HDL-Cholesterol, and LDL-Cholesterol. *Clin Lab Med* 1989; 9: 61-72.
43. Sociedad Española de Química Clínica. Métodos recomendados para la determinación del colesterol de las lipoproteínas de alta densidad. *Quim Clin* (pendiente de publicación).
44. Stein EA, Steiner PM. Triglyceride measure and its relationship to heart disease. *Clin Lab Med* 1989; 9: 169-186.
45. Marcovina SM, Albers JJ. Apolipoprotein assays: standardization and quality control. *Scand J Clin Lab Invest* 1990; 50 (Supl 198): 58-65.
46. Albers J, Brunzell JD, Knop RH. Apoprotein measurements and their clinical application. *Clin Lab Med* 1989; 9: 137-152.
47. Bachorik PS, Kwiterovich PO. Apolipoprotein measurement in clinical biochemistry and their utility vis-a-vis conventional assays. *Clin Chem Acta* 1988; 178: 1-34.
48. Marcovina SM, Albers JJ. Standardization of the immunochemical determination of apolipoproteins A I and B: report on the International Federation of Clinical Chemistry meeting on standardization of apolipoprotein A I and B measurements (basis for future consensus). Vienna, Austria, April 18-19, 1989. *Clin Chem* 1989; 3: 2009-2015.
49. Stein EA. Lipid risk factors and atherosclerosis: What do we measure? *Scand J Clin Lab Invest* 1990; 50 (Supl 198): 3-8.
50. Federación Internacional de Química Clínica. Proyecto de estandarización de las determinaciones de las apolipoproteínas A-I y II. Evaluación y selección de candidatos a materiales de referencia. *Quim Clin* 1993; 12: 58-64.