

*Objetivos analíticos de calidad en la determinación de diversos constituyentes en orina

M. Simón^a, M. Maciá^b, C. Ribera^c, V. Alvarez^d, A. Hernández^e, J. Minchinela^f, C. Víctor Jiménez^g, C. Perich^h, C. Ricósⁱ (coordinador)

Resumen

La determinación de diversos constituyentes en orina es una práctica habitual en el laboratorio clínico y, sin embargo, hasta el momento presente no se conocen los objetivos analíticos de calidad, es decir los máximos tolerables de error. El propósito de este trabajo es estimar dichos valores mediante el estudio de la variación biológica intraindividual. En nuestra opinión, conocer estos valores es de máxima utilidad, por cuanto pueden derivarse de ellos pautas de actuación que garanticen la obtención de resultados fiables.

Introducción

La variación biológica ha sido ampliamente estudiada en especímenes séricos (1-15), sin embargo no existe mucha bibliografía concerniente a los especímenes urinarios (16-22). La utilidad de los datos sobre variación biológica en orina sería la misma descrita para el suero:

Summary

Although urinary testing is a common practice in the clinical laboratory, its quality goals are still quite unknown. Our aim in this paper is to determine the intraindividual biological variation of several urine constituents, so as to derive the appropriate quality goals that might lead to the obtention of trustworthy results.

estimar los objetivos de calidad, definir la utilidad de los valores de referencia, determinar las diferencias críticas entre especímenes seriados de un paciente, aconsejar el número de especímenes necesarios para definir el nivel homeostático de un individuo, facilitar la comparación entre las pruebas de laboratorio disponibles y asesorar su utilidad clínica (18,23). Pero además, en orina, los datos sobre variación biológica pueden utilizarse para otros fines, como por ejemplo decidir que tipo de espécimen da la información clínica más útil y cual es la mejor manera de expresar los resultados (relación respecto a la concentración de creatinino, cantidad de sustancia excretada, etc...) (23).

La concentración de los constituyentes urinarios está más influida que la sérica por factores externos e internos como la ingesta y los sistemas de regulación metabólicos, por lo que parecen necesarios estudios sobre poblaciones más amplias que las utilizadas para los constituyentes del suero. Sin embargo, los trabajos publicados sobre constituyentes urinarios están hechos con

^aHospital Comarcal Vilafranca del Penedés, ^bHospital de Viladecans, ^cHospital de Figueres, ^dCAP Cornellá, ^eCAP Rda. Torrasa, ^fCAP Badalona, ^gCAP Sta. Coloma de Gramanet, ^hCAP Bon Pastor, ⁱHospital General Vall d'Hebron.

Recibido 8-7-91
Aceptado 16-1-92

*Este trabajo ha sido realizado gracias a una beca del FISS

pocos voluntarios, quizá debido a las dificultades en la recogida de los especímenes.

La variación preanalítica en orina puede ser mayor que en suero debido a la dilución del espécimen, y a la variación analítica habría que añadir otras variables como la carencia de calibradores con matriz idéntica. Por ello, se hace necesario utilizar un material de control específico para los métodos analíticos en orina, aún cuando estos sean los mismos que se utilizan para las determinaciones en suero, puesto que usando únicamente materiales de control séricos, aquellas variaciones pasarían desapercibidas.

En consecuencia, se deben cuantificar los objetivos analíticos de calidad (o máximos tolerables de error) para las determinaciones de constituyentes en orina, puesto que aunque un laboratorio alcance la calidad deseable en las determinaciones de constituyentes en suero, no es lícito suponer que mantiene el nivel tolerable para la determinaciones en orina. El propósito de este trabajo es establecer los objetivos de calidad para las determinaciones de diversos constituyentes en orina, basados en los valores de la variación biológica intraindividual, para los nueve constituyentes en orina analizados con mayor frecuencia en un laboratorio clínico (α -amilasa pancreática, calcio(II), creatinino, fosfato (no esterificado), ion potasio, proteína, ion sodio, urato, urea), obtenidos en un grupo de 53 voluntarios presuntamente sanos.

Material y método

Población estudiada

Se seleccionaron 53 individuos presuntamente sanos (14 hombres y 39 mujeres) de edades comprendidas entre 24 y 45 años, que se comprometieron a mantener sus hábitos de vida, con las menores variaciones posibles a lo largo del estudio (comidas extraordinarias, ejercicio físico inusual, fármacos, etc...)

Especímenes

Durante 10 semanas se recogieron especímenes de orina de 24 horas de cada uno de los 53 voluntarios. Cada uno de ellos recogió el mismo día de la semana la orina de 24 horas en un frasco de 2 litros (lavado con agua destilada y sin conservante), guardando el frasco a 4 °C hasta su entrega al laboratorio.

Una vez obtenidos los especímenes, se prepararon alícuotas de 750 μ l para determinar los 9 constituyentes urinarios seleccionados (tabla I). Las alícuotas destinadas a la determinación de urato se conservaron con 50 μ l de NaOH 1 mol/L y las destinadas a la determinación de calcio(II) y fosfato (no esterificado), con 50 μ l de HCl 2mol/L. Estas alícuotas se congelaron a -20 °C hasta el momento de su análisis.

Procedimiento analítico

El estudio se realizó entre varios laboratorios determinando cada cual uno ó más constituyentes, utilizando el mismo analizador, método analítico, idéntico lote de reactivos y llevado a cabo por la misma persona para todos los especímenes (tabla I).

El sistema de control interno fue común, utilizando un liofilizado de orina humana comercial como material de control (Lyphochek Urine I, lote 40701 Bio-Rad) y la regla operativa 1:2s (rechazo de la serie analítica cuando un valor del material de control excede el intervalo comprendido entre el valor medio y dos desviaciones estándar en ambos sentidos).

Las 10 alícuotas de cada paciente fueron analizadas en una misma serie analítica.

Cálculos

La imprecisión intraserial se cuantificó determinando

Tabla I
Estudio multicéntrico

Laboratorio	Constituyente	Método	Instrumento
A	Ion potasio	Fotometría de llama	IL-943
A	Ion sodio	Fotometría de llama	IL-943
B	Proteínas	Azul Coomasie	Espectrómetro
C	Creatinino	Picrato alcalino	Beckman 42
C	Urea	Ureasa / Glutamato deshidrogenasa	Hitachi 704
D	α -amilasa pancreática	PNP heptaósido	Hitachi 704
E	Urato	Uricasa / Peroxidasa	Hitachi 717
F	Calcio(II)	Cresoltaleina complexona	Hitachi 704
F	Fosfato (no esterificado)	Reducción fosfomolibdato	Hitachi 705

A = CAP Bon Pastor, B = CAP Cornellá, C = CAP Ronda Torrasa, D = Hosp. Gral. Vall d'Hebron, E = Hosp. Viladecans, F = Hosp. Comarcal Vilafranca del Penedés.

El análisis de los datos se efectuó en el CAP Sta. Coloma de Gramanet, mediante un ANOVA.

duplicados de orinas recientes durante todo el estudio.

Los resultados se expresaron como concentración de sustancia.

Se realizó la prueba de Cochran (23,24,25) para destacar valores extremos de un mismo sujeto, y la de Reed para rechazar individuos extremos (23,26,27).

Se calculó la variación intraindividual, mediante el análisis de la variancia (ANOVA). Se expresó la variancia intraindividual total (s_{i+a}^2), mediante la media ponderada de las variancias de los 53 individuos.

Se calculó la variancia analítica intraserial (s_a^2), mediante el promedio de las diferencias entre duplicados de orinas recientes.

La diferencia entre la variancia promedio total de los 53 voluntarios y la analítica es la variancia biológica intraindividual (s_i^2).

$$s_i^2 = s_{i+a}^2 - s_a^2$$

Resultados

Los constituyentes estudiados, la concentración media obtenida en los 53 voluntarios y las variancias intraindividual total, analítica e intraindividual biológica obtenidas en especímenes de orina de 24 horas se muestran en la tabla II.

Discusión

La concentración media de cada magnitud bioquímica obtenida para cada uno de los voluntarios, está incluida en el intervalo de referencia en los 9 constituyentes estudiados.

La variación analítica representa sólo el 2,5% (α -amilasa pancreática) y menos del 0,5% en los demás constituyentes, sobre la variación biológica intraindividual, indicando la fiabilidad de los datos aportados en este trabajo (16,17).

Tabla III
Coeficientes de variación biológica intraindividual (CV, %)

Constituyente	Tipo de magnitud	
	c	n
α -amilasa pancreática	96,3	112,2
Calcio(II)	30,0	27,5
Creatinino	24,1	15,0
Fosfato (no esterificado)	26,7	20,6
Ion potasio	27,2	24,9
Proteína	39,2	39,9
Ion sodio	24,6	28,7
Urato	27,5	20,3
Urea	23,1	17,8

c: concentración de sustancia

n: cantidad de sustancia

La mayoría de los coeficientes de variación biológicos intraindividual cuando se calculan para el tipo de magnitud concentración de sustancia, son ligeramente superiores que para el tipo de magnitud cantidad de sustancia excretada (flujo), (tabla III). Por tanto, los objetivos analíticos de calidad se derivarán de los datos de cantidad de sustancia excretada.

Si una de las premisas que nos incitó a realizar este estudio fue la idea de que el número de individuos necesarios para estimar la variación biológica de constituyentes urinarios debía ser elevado, la comparación de nuestros resultados con los obtenidos por otros autores demuestra el desacierto de esta premisa (tabla IV). Los valores estimados por los diversos autores son muy similares, la única excepción la constituiría el valor de variación biológica encontrado por Howey et al. (17) para el creatinino (7,8%), que según nuestra opinión se debe al corto período de tiempo estudiado (5 días).

En consecuencia, y como ya se había observado para

Tabla II
Datos de variación biológica intraindividual

Constituyente		\bar{x}	s_{i+a}^2	s_a^2	s_i^2
α -amilasa pancreática	(μ kat/L)	0,36	7,167	0,079	7,088
Calcio(II)	(mmol/L)	3,39	1,039	0,004	1,035
Creatinino	(mmol/L)	8,44	4,19	0,009	4,18
Fosfato (no esterificado)	(mmol/L)	19,66	27,67	0,133	27,54
Ion potasio	(mmol/L)	45,61	154,15	0,092	154,06
Proteína	(g/L)	0,055	$4,9 \times 10^{-4}$	$1,2 \times 10^{-5}$	$4,9 \times 10^{-4}$
Ion sodio	(mmol/L)	117,2	833,5	1,01	832,5
Urato	(mmol/L)	2,55	0,49	$2,4 \times 10^{-4}$	0,49
Urea	(mmol/L)	289,5	4497,5	25,93	4471,6

s_{i+a}^2 = variancia biológica intraindividual + analítica

s_a^2 = variancia analítica

s_i^2 = variancia biológica intraindividual

Tabla IV
Coefficientes de variación biológica intraindividual* (CV,%)
comparados con los obtenidos en otros trabajos

Constituyente	Estudio	Gowans (18)	Shepard (16)
Calcio(II)	27,5	26,2	25,5
Creatininio	15,0	13,0	15,5
Fosfato (no esterificado)	20,6	20,0	16,5
Ion potasio	24,9	23,3	26,0
Proteína	39,9	—	35,7
Ion sodio	28,7	27,5	28,7
Urato	20,3	—	15,5
Urea	17,8	18,0	15,0
Nº individuos	53	15	10
Duración	10 semanas	40 semanas	20 semanas
Frecuencia	semanal	mensual	mensual

*Expresados como cantidad de sustancia excretada

los constituyentes bioquímicos del suero (23), la variación biológica intraindividual es una constante, independiente de hábitos de vida, localización geográfica, métodos analíticos para su estimación, período de tiempo evaluado, frecuencia de recogida de especímenes, etc.

Por tanto, y según se acepta universalmente (28,29), la mitad de la variación biológica intraindividual es la cifra

que delimita los objetivos analíticos de calidad. En el caso de las determinaciones de diversos constituyentes en orina, nosotros proponemos los valores mostrados en la tabla V que se obtienen promediando los datos de los diversos autores.

Los laboratorios participantes en este estudio alcanzan en su práctica diaria los objetivos de calidad, según se

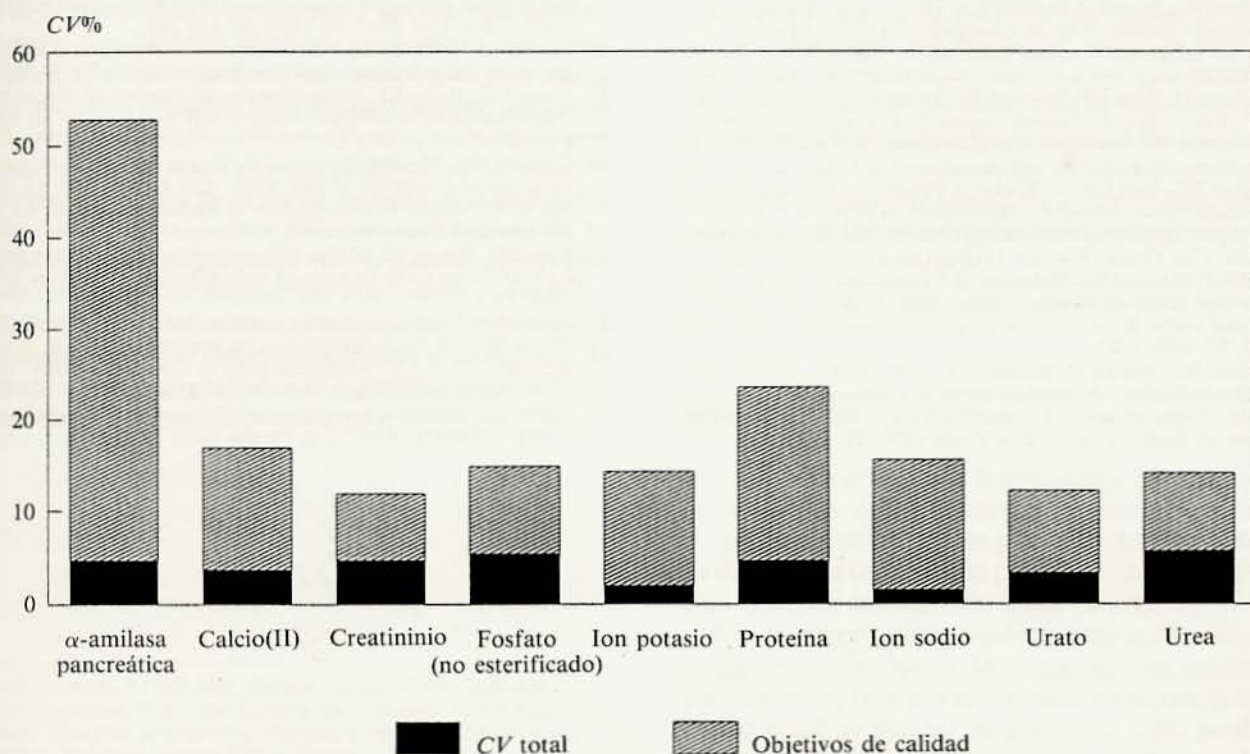


Figura 1. Aceptabilidad en la determinación de constituyentes urinarios

Tabla V
Objetivos analíticos de calidad para las
determinaciones de los constituyentes
estudiados en orina*

Constituyente	CV, %
Calcio(II)	13,2
Creatinino	7,2
Fosfato (no esterificado)	9,5
α -amilasa pancreática	48,1
Ion potasio	12,3
Proteína	18,9
Ion sodio	14,1
Urato	8,9
Urea	8,4

*Obtenidos por promedio de los datos publicados por diversos autores

representa en la figura 1, demostrando como en especímenes urinarios los objetivos de calidad pueden conseguirse sobradamente con los métodos de rutina y para todos los constituyentes aquí estudiados.

Bibliografía

- Statland BE, Winkel P, Bokelund H. Factors contributing to intra-individual variation of serum constituents: 1 within-day variation of serum constituents in healthy people. *Clin Chem* 1973; 19: 1374-1379.
- Statland BE, Winkel P, Bokelund H. Factors contributing to intra-individual variation of serum constituents: 2) effects of exercise and diet on variation of serum constituents. *Clin Chem* 1983; 19: 1380-1383.
- Bokelund H, Winkel P, Statland BE. Factors contributing to intra-individual variation of serum constituents: 3) use of randomized duplicate serum specimens to evaluate sources of analytical error. *Clin Chem* 1974; 20: 1507-1512.
- Statland BE, Bokelund H, Winkel P. Factors contributing to intra-individual variation of serum constituents: 4) effects of posture and tourniquet application on variation of serum constituents in healthy people. *Clin Chem* 1974; 20: 1513-1519.
- Winkel P, Statland BE, Bokelund H. Factors contributing to intra-individual variation of serum constituents: 5) short-term, day-to-day and within-hour variation of serum constituents. *Clin Chem* 1974; 20: 1520-1527.
- Statland BE, Winkel P, Killingsworth LM. Factors contributing to intra-individual variation of serum constituents: 6) physiological day-to-day variation in concentrations of 10 specific proteins in sera of healthy subjects. *Clin Chem* 1976; 22: 1635-1638.
- Costongs GMPJ, Janson PCW, Bas BM, Hermans J, Van Wersch JWJ, Brombacher PJ. Short-term and long-term intra-individual variations and critical differences of chemical laboratory parameters. *J Clin Chem Clin Biochem* 1985; 23: 7-16.
- Browning MCK, Ford RP, Callaghan SJ, Fraser CG. Intra- and interindividual variation of five analytes used in assessing thyroid function: implications for necessary standardization. *Clin Chem* 1986; 32: 962-966.
- Hölzel WGE. Intra-individual variation of some analytes in serum of patients with chronic renal failure. *Clin Chem* 1987; 33: 670-673.
- Hölzel WGE. Intra-individual variation of analytes in serum from patients with chronic liver diseases. *Clin Chem* 1987; 33: 1133-1136.
- Hölzel WGE. Intra-individual variation of some analytes in serum from patients with insulin-dependent diabetes mellitus. *Clin Chem* 1987; 33: 57-61.
- Fraser CG. The application of theoretical goals based on biological variation data in proficiency testing *Arch Pathol Lab Med* 1988; 112: 404-415.
- Ricós C, Codina R. La variabilidad biológica intraindividual como objetivo de calidad analítica. *Rev Diag Biol* 1989; 38: 34-36.
- Fraser CG. Biological variability of 26 clinical chemistry analytes in elderly people. *Clin Chem* 1989; 35: 783-786.
- Ricós C, Arbós MA. Objetivos de calidad para las determinaciones de hormonas. *Endocrinología* 1990; 37: 230-233.
- Shepard MSD, Penberthy LA, Fraser CG. Short- and long-term biological variation in analytes in urine of apparently healthy people. *Clin Chem* 1981; 27: 569-573.
- Howey JEA, Browning MCK, Fraser CG. Selecting the optimum specimen for assessing slight albuminuria and strategy for clinical investigation: novel uses of data on biological variation. *Clin Chem* 1987; 33: 2034-2038.
- Gowans EMS, Fraser CG. Biological variation in analyte concentrations in urine of apparently healthy men and women. *Clin Chem* 1987; 33: 847-850.
- Gowans EMS, Fraser CG. Biological variation of serum and urine creatinine and creatinine clearance: ramifications for interpretation of results and patient care. *Ann Clin Biochem* 1988; 25: 259-263.
- Howey JEA, Browning MCK, Fraser CG. Biologic variation of urinary albumin: consequences for analysis, specimen collection, interpretation of results and screening programs. *Am J Kid Dis* 1989; 1: 35-37.
- Cummings ST, Fraser CG. Total amylase and pancreatic isoamylase in serum and urine: considerations from data on biological variation. *Ann Clin Biochem* 1989; 26: 335-340.
- Fox JG and O'Reilly DSJ. Total amylase and pancreatic isoamylase in serum and urine. *Ann Clin Biochem* 1990; 27: 94-96.
- Fraser CG, Harris EK. Generation and application of data on biological variation in clinical chemistry. *Cri Rev Cli Lab Sci* 1989; 27: 409-437.
- Cochran WS. The distribution of the largest of a set of estimated variances as a fraction of their total. *Ann Eugen* 1941; 11: 47.
- Dixon W, Massey F. Introduction to statistical analysis, 4th ed, McGraw-Hill, New York 1983; 585.
- Reed AH, Henry RJ, Mason WB. Influence of statistical method used on the resulting estimate of normal range. *Clin Chem* 1971; 17: 275.
- Dixon WJ. Processing data for outliers. *Biometrics* 1953; 9: 74.
- Proceedings of the Subcommittee on Analytical Goals in clinical chemistry. W.A.S.P. Analytical goals in clinical chemistry: their relationship to medical care. *Am J Clin Pathol* 1979; 71: 624-630.
- Harris EK. Statistical principles underlying analytic goalsetting in clinical chemistry. *Am J Clin Pathol* 1979; 72: 374-82.