COMUNICACIONES BREVES

DIFERENCIAS EN LA DEFINICIÓN DE HIPERFOSFATEMIA SEGÚN EL REACTIVO UTILIZADO Y SU IMPLICANCIA EN LA PRÁCTICA DIARIA

DIFFERENCES IN THE DEFINITION OF HYPERPHOSPHATEMIA ACCORDING TO THE REACTIVE USED AND ITS IMPLICATION DAILY PRACTICE

Esteban Siga[1], María Susana Cottini[2]

1) Diálisis Madariaga, Buenos Aires, Argentina
2) Instituto Bioquímico Privado, Buenos Aires, Argentina

Rev Nefrol Dial Traspl. 2020; 40 (01): 81-5

INTRODUCCIÓN

En la insuficiencia renal crónica (IRC) estadio 5D, la asociación independiente de hiperfosfatemia con mortalidad ha sido demostrada ampliamente. La reciente actualización de las Guías KDIGO[1] recomienda que el tratamiento debe enfocarse en disminuir la hiperfosfatemia hacia los valores de referencia del método (Val Ref.), pero no recomiendan un valor objetivo ni tampoco un determinado rango de valores (apartado 4.1.2). Además, sugieren que el diagnóstico debería realizarse tomando en cuenta la tendencia longitudinal de varias mediciones seriadas (apartado 4.1.1). La necesidad de mediciones seriadas se debe a la considerable variabilidad biológica del fósforo[2] y a las múltiples variables preanalíticas y analíticas que inciden en su cuantificación. Las variables preanalíticas, sesión de la semana cuando se realiza la extracción,[3] obtención de la muestra directamente de la aguja de fístula o por venopuntura, tubo utilizado, determinación realizada en suero o plasma, tiempo hasta su centrifugación, etc., pueden ser controladas mediante normas de procedimiento claras y precisas. Con respecto a las variables analíticas, aparato, método y reactivo utilizados, un reciente trabajo multicéntrico,[4] realizado en el interior de la provincia de Buenos Aires, describió que todos los centros empleaban el método fosfomolibdato UV en autoanalizador. Sin embargo, cuatro centros utilizaban un reactivo con Val Ref. de 2.5 a 4.5 mg.dL y en los tres restantes se utilizaba un reactivo con Val Ref. de 2.5 a 5.6 mg.dl. Nuestro trabajo[4] demostró las diferencias en la definición de hiperfosfatemia según el reactivo utilizado, pero debido a su diseño multicéntrico se utilizaron distintos aparatos y no podemos excluir diferencias en las variables preanalíticas. El objetivo de esta comunicación corta es evaluar si al mantener las variables preanalíticas rigurosamente controladas y al utilizar el mismo aparato, persisten las diferencias con dos reactivos de uso común en nuestro país.

MÉTODOS

Protocolo 1. En las muestras de sangre extraídas para la rutina mensual se determinó fosfatemia con dos reactivos distintos. Las cuarenta muestras fueron seleccionadas aleatoriamente a razón de diez por turno. Para la determinación se utilizó el método del molibdato de amonio UV y el autoanalizador Wienner CM 250^{MR}. Un reactivo fue provisto por el Laboratorio Wienner^{MR} (Rosario, Argentina), reactivo 1: Val Ref. 2.5–5.6 mg.dl; el otro por BioSystems^{MR} (Barcelona, España), reactivo 2: Val Ref. 2.5–4.5 mg.dl. Para cada reactivo se

utilizó una curva de calibración específica y los estándares provistos por el fabricante. Se presenta la mediana y el rango intercuartil (RI) de la muestra y las diferencias se analizaron con el test no paramétrico de Wilcoxon.

Protocolo 2. Diseñado para minimizar la influencia de las variables preanalíticas, este protocolo se realizó en 73 pacientes en ayunas (49 hombres), mayores de 18 años y con más de 90 días de hemodiálisis. Antes de comenzar la sesión de mitad de semana, se obtuvo sangre directamente de la aguja de fístula arterial utilizando tubos Vacutainer[MR] que contenían acelerador de la coagulación y gel separador. Las muestras se homogeneizaron mediante suave inversión manual repetida tres veces. Luego de 30 minutos en reposo, las muestras se centrifugaron en el mismo centro de diálisis, a 3500 rpm por 15 minutos, y con una alícuota del suero sobrenadante se determinó fosfatemia en el laboratorio local con los reactivos 1 y 2.

Los resultados se presentan como media +/- 95% intervalo de confianza (IC) y se analizaron con el test de Student para dos colas. La concordancia entre los reactivos se evaluó según Bland y Altman.[5] Se estableció a priori que un sesgo mayor de 0.75 mg.dl sería considerado significativo. Para una excelente descripción del método de Bland y Altman sugerimos el trabajo del grupo de Veron.[6]

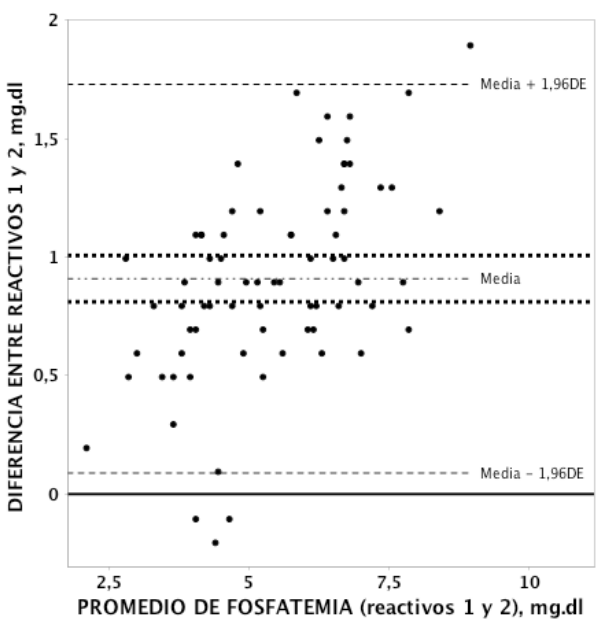
RESULTADOS

Protocolo 1. La mediana obtenida con el reactivo 1:5.3 mg.dl, (RI 4.9–6.5) fue significativamente menor (P=0.000) que la obtenida con el reactivo 2: 6.0 mg.dl, (RI 5.3-6.8).

Protocolo 2. La fosfatemia promedio con el reactivo 1 fue 4.95 +/- 0.37 mg.dl. Este valor fue significativamente menor (P=0.000) que el obtenido con el reactivo 2: 5.86 +/- 0.32 mg.dl. El porcentaje de los valores superiores al Val Ref. observado con el reactivo 1: 39.7% fue significativamente menor al observado con el reactivo 2: 76.7% (P<0.000). En el gráfico de Bland y Altman **(Figura 1)** se observa que el sesgo, o sea la diferencia promedio entre los reactivos 1 y 2, fue de 0.90 +/- 0.1 mg.dl. Según lo establecido *a priori*, esta diferencia es clínicamente significativa. Otra indicación de la no concordancia se aprecia en la línea que pasa por el cero del eje vertical. **(Figura 1)**

Como podemos observar, dicha línea no está contenida en el intervalo de confianza del 95% de la diferencia promedio. En realidad, la línea del cero se encuentra por fuera de los límites de concordancia (promedio +/- 1.96 desvíos standard). Tomados en conjunto, estos resultados sugieren fuertemente que los métodos no son intercambiables.[7] Las implicancias en la práctica clínica diaria pueden observarse en la **Figura 2**. En el área sombreada se observan los pacientes donde la decisión terapéutica sería la misma. En contraste, en el área clara se demuestra que en 25 de 73 muestras (34%), o sea, en uno de cada tres pacientes, la decisión terapéutica sería distinta si se utilizara el reactivo 1 (normofosfatemia) o el reactivo 2 (hiperfosfatemia).

Figura 1. Concordancia entre los reactivos 1 y 2



En 73 muestras de suero prediálisis se determinó fosfatemia con dos reactivos distintos en el mismo autoanalizador. El gráfico Bland y Altman[5] muestra la diferencia entre los reactivos 1 (de Laboratorios Wiener) y 2 (de Laboratorios

Biosystem) en relación al promedio de ambas mediciones. El sesgo, diferencia entre el cero (línea continua gruesa) y la diferencia promedio (línea punteada fina: 0.90 +/- 0.1 mg.dl). Además, se observa que la línea del cero se ubica por fuera de los límites de concordancia (media +/- 1.96 desvíos standard). Las líneas punteadas gruesas indican los intervalos de confianza del 95% de la diferencia promedio. La distribución de las diferencias se ajustan a la normalidad (Shapiro Test: P=0.327). Para descartar un error sistemático, la diferencia se transformó en porcentaje[7] y el error proporcional se descartó mediante la regresión de Pasing y Bablock[9] (resultados no mostrados, disponibles a demanda).

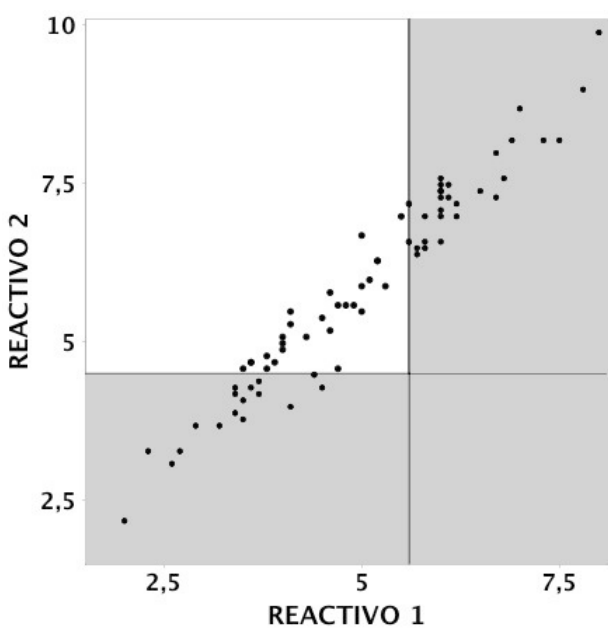
DISCUSIÓN

Mantener el fósforo dentro de los valores de referencia es un objetivo terapéutico primordial en hemodiálisis. Su concentración sérica está sujeta, al menos, a tres grandes fuentes de variación: las variables postanalíticas, que incluyen la variabilidad biológica propia de cada individuo,[2] las variables preanalíticas descriptas en la introducción y las variables analíticas, es decir, las propias del método empleado.

En este trabajo nos enfocamos en una sola variable analítica: el reactivo. En el *protocolo 1*, las determinaciones se realizaron dentro de la rutina mensual de nuestro servicio. Con el reactivo 1 la mediana se situó dentro del rango de los valores de referencia, es decir, dentro de la normalidad. Por el contrario, con el reactivo 2 la mediana fue de 1.5 mg.dl superior al rango de referencia, es decir, franca hiperfosfatemia. En el *protocolo* 2, las variables preanalíticas fueron rigurosamente controladas y en la muestra solo se determinó fosfatemia. Nuevamente se observaron diferencias significativas y se demostró la falta de concordancia entre ambos reactivos. Como lo demuestra la **Figura 2**, estas diferencias observadas en uno de cada tres pacientes pueden ser relevantes para la práctica clínica diaria. Con el reactivo 1 serían considerados dentro del rango normal y no recibirían tratamiento. Por el contrario, con el reactivo 2 estos mismos pacientes serían objeto de tratamiento. Otro aspecto relevante es el análisis y la comparación de los datos propios con los estudios de cohorte internacionales. En el único estudio latinoamericano hasta el presente,[8] donde se incluyeron pacientes de seis países, se estableció un rango de referencia de 5 a 5.5 mg/dl. Sin embargo, no se menciona el método utilizado ni tampoco se especifican las variables preanalíticas. Las diferencias que se reportan en nuestro estudio, además de lo publicado anteriormente,[4] sugieren fuertemente la necesidad de especificar las variables metodológicas en el futuro.

Nuestro trabajo presenta la limitación de carecer de un método de referencia *gold standard.* Esto impide extraer conclusiones sobre la sensibilidad y especificidad de los reactivos usados en este trabajo, por lo tanto, no podemos sugerir el uso de uno u otro. Respecto al número de la muestra, supera ampliamente el requerido en este tipo de estudios.[9]

Figura 2. Diferencias en la conducta terapéutica según el reactivo 1



La fosfatemia de 73 muestras de suero fue medida en el mismo autoanalizador, utilizando dos reactivos diferentes. En la **Figura 2** se

grafican los resultados obtenidos con el reactivo 2 (Laboratorios Biosystem) versus el reactivo 1 (Laboratorios Wiener). A la derecha de la línea entera vertical se muestran los resultados superiores al valor de referencia del reactivo 1, mientras que los valores superiores al valor de referencia del reactivo 2 se observan por encima de la línea horizontal. En el área sombreada se ubican los resultados coincidentes, en tanto que en el área clara se observa la fosfatemia de 25 pacientes, es decir el 34%, donde la conducta terapéutica sería distinta si se utilizara el reactivo 2: hiperfosfatemia, o el reactivo 1: normofosfatemia. Valores expresados en mg.dl

CONCLUSIÓN

El conocimiento de las diferencias metodológicas debería estar siempre presente al momento de tomar decisiones. Además, de los ya acreditados sesgos en la medición de creatinina[10] y de PTH[11], recientemente se reportaron diferencias importantes en la determinación de albumina[12] y $Hgb_{1AC.}$[13] Nuestros resultados suman a esta lista la fosfatemia y sugieren la necesidad de estandarizar o, al menos, armonizar los distintos reactivos utilizados en nuestro país. De esta forma, podrían compararse resultados a nivel nacional e internacional y, aún más importante, las decisiones terapéuticas tendrían mayor respaldo y confiabilidad.

Conflicto de intereses: Los autores declaran no poseer ningún interés comercial o asociativo que presente un conflicto de intereses con el trabajo presentado.

Financiación: La presente investigación no ha recibido ayudas específicas provenientes de agencias del sector público, sector comercial o entidades sin ánimo de lucro.

BIBLIOGRAFÍA

1) Ketteler M, Block GA, Evenepoel P, Fukagawa M, Herzog CA, McCann L, *et al*. Executive summary of the 2017 KDIGO Chronic Kidney Disease-Mineral and Bone Disorder (CKD-MBD) Guideline Update: what's changed and why it matters. *Kidney Int*. 2017;92(1):26-36.
2) Houillier P, Coste J, Froissart M. How many measurements to make a decision? *Clin J Am Soc Nephrol*. 2010;5(7):1161-2.
3) Fernández-Martín JL, Dusso A, Martínez-Camblor P, Dionisi MP, Floege J, Ketteler M, *et al*. Serum phosphate optimal timing and range associated with patients survival in haemodialysis: the COSMOS study. *Nephrol Dial Transplant*. 2019;34(4):673-81.
4) Siga E, Galarza M, Galarza MJ, de Palma H, Perli C, Cusumano C, *et al*. ¿Podemos hablar hoy de un valor de fósforo como indicador de la calidad del tratamiento dialítico? *Rev Nefrol Dial Traspl*. 2018;38(3):179-86.
5) Bland JM, Altman DG. Statistical methods for assessing agreement between two methods of clinical measurement. *Lancet*. 1986;1(8476):307-10.
6) Cercado AG, Álvarez Conde GB, Guadalupe Vargas ME, Pazmiño Gómez BJ, Veron D, Vera Lorenti FE, *et al*. Hemoglobina A1c, diabetes mellitus, nefropatía diabética y enfermedad renal crónica. *Rev Nefrol Dial Traspl*. 2017;37(4):225-42.
7) Giavarina D. Understanding Bland Altman analysis. *Biochem Med (Zagreb)*. 2015;25(2):141-51.
8) Naves-Díaz M, Passlick-Deetjen J, Guinsburg A, Marelli C, Fernández-Martín JL, Rodríguez-Puyol D, *et al*. Calcium, phosphorus, PTH and death rates in a large sample of dialysis patients from Latin America. The CORES Study. *Nephrol Dial Transplant*. 2011;26(6):1938-47.
9) Bablok W, Passing H. Application of statistical procedures in analytical instrument testing. *J Automat Chem*. 1985;7(2):74-9.
10) Myers GL, Miller WG, Coresh J, Fleming J, Greenberg N, Greene T, *et al*. Recommendations for improving serum creatinine measurement: a report from the Laboratory Working Group of the National Kidney Disease Education Program. *Clin Chem*. 2006;52(1):5-18.
11) Souberbielle JC, Boutten A, Carlier MC, Chevenne D, Coumaros G, Lawson-Body E, *et al*. Inter-method variability in PTH measurement: implication for the care of CKD patients. *Kidney Int*. 2006;70(2):345-50.
12) van de Logt AE, Rijpma SR, Vink CH, Prudon-Rosmulder E, Wetzels JF, van Berkel M. The bias

between different albumin assays may affect clinical decision-making. *Kidney Int*. 2019;95(6):1514-7.

13) Gomez Pazmiño BJ, Vera Lorenti FE, Guadalupe Vargas ME, Álvarez Condo GM, Veron D, Cervado AG, *et al*. 210-LB: Evaluation of two commercially available glycated hemoglobin methods. *Diabetes*. 2019;68(Suppl 1). DOI: 10.2337/db19-210-LB.

Recibido en su forma original: 19 de agosto de 2019
Aceptación final: 21 de octubre de 2019
Dr. Esteban Siga
Diálisis Madariaga, Buenos Aires, Argentina
e-mail: siga@telpin.com.ar