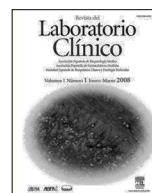




## Revista del Laboratorio Clínico

Rev Lab Clin. 2008;1(1):8-12

www.elsevier.es/LabClin



### Originales

## Estudio de la estabilidad de insulina, testosterona y péptido C en suero y de paratirina en suero y plasma

Cristian Morales Indiano, María Luisa Granada Ybern, Carme Biosca Adzet, Emma Ventura Orriols, Richard Thomson Luque y August Corominas Vilardell

Laboratorio de Bioquímica Clínica. Hospital Universitari Germans Trias i Pujol. Badalona. Barcelona. España.

### RESUMEN

#### Historia del artículo:

Recibido el 22 de Junio de 2007.

Aceptado el 11 de febrero de 2008.

#### Palabras clave:

Fase preanalítica.

Estabilidad.

Hormonas.

Muestra.

Temperatura.

**Introducción.** Las variables previas al procesamiento de la muestra (variables preanalíticas) pueden afectar a la estabilidad de las magnitudes bioquímicas que se determinan de forma sistemática en el laboratorio.

**Objetivo.** Evaluar la estabilidad de la insulina, la testosterona, el péptido C y la paratirina (PTH) en suero, y la PTH en plasma.

**Material y método.** Se obtuvieron muestras de 10 voluntarios sanos. Se estudió la estabilidad según 2 modelos propuestos por la SEQC. En el modelo 1 la variable es el tiempo transcurrido desde la obtención y la centrifugación de la muestra hasta su determinación, a 4 °C en tubo primario hasta una semana; en el modelo 2 la variable es el tiempo desde la extracción hasta su centrifugación y análisis a temperatura ambiente. Las determinaciones hormonales se realizaron por inmunoanálisis electroquimioluminiscente (Modular Analytics E 170, Roche Diagnostics).

**Resultados.** Modelo 1. El péptido C, la testosterona y la PTH en plasma se mantuvieron estables durante todo el estudio. La insulina fue estable hasta las 48 h y la estabilidad de la PTH en suero fue de 24 h.

Modelo 2. Todas las magnitudes estudiadas fueron estables después de permanecer hasta 6 h a temperatura ambiente sin centrifugar.

**Conclusiones.** La estabilidad en idénticas condiciones preanalíticas fue muy diferente en algunas magnitudes hormonales.

© 2008 AEBM, AEFA y SEQC. Todos los derechos reservados.

### ABSTRACT

#### Key words:

Pre-analytical phase.

Stability.

Hormones.

Specimen.

Temperature.

## Stability of insulin, testosterone, C-peptide in serum, and parathormone in serum and plasma

**Introduction.** The preanalytical variables to the processing of sample (variable preanalytical) can affect the stability of the biochemical magnitudes determined in the laboratory.

**Objective.** To evaluate the stability of insulin, testosterone, C-peptide and parathormone (PTH) in serum and plasma.

**Material and method.** Samples from 10 healthy voluntaries were obtained. The stability was studied according to 2 different protocols recommended by SEQC. In model 1, the variable is the time elapsed from collection and centrifugation of the specimen to its determination, preserved at 4 °C in its primary tube for a week; in model 2, the variable is the time from extraction until the centrifugation and analysis maintained at room temperature. Hormonal determinations were made by electrochemiluminescence immunoanalysis (Modular Analytics E 170, ROCHE Diagnostics).

**Results.** Model 1. C-peptide, testosterone and PTH plasma remained stable throughout study. Insulin was stable 48 hours and the stability of PTH in serum was only 24 hours. Model 2. All the measurements studied were stable without centrifuging after remaining up to 6 hours to room temperature.

**Conclusions.** In identical preanalytical conditions, the stability was very different in some hormonal measurements.

© 2008 AEBM, AEFA y SEQC. All rights reserved.

#### Correspondencia:

Dr. C. Morales Indiano.

Laboratorio de Bioquímica Clínica.

Hospital Germans Trias i Pujol.

Ctra. del Canyet, s/n. 08916 Badalona.

Barcelona. España.

Correo electrónico: cmindiano@telefonica.net

## Introducción

La estabilidad de una magnitud bioquímica se puede definir como el período en que la magnitud mantiene su valor dentro de unos límites establecidos, conservando la muestra en la que se realiza la medición en unas condiciones especificadas<sup>1</sup>. La estabilidad de una muestra está influida por múltiples variables previas al procesamiento (variables preanalíticas) y durante el procesamiento (variables analíticas). Las variables preanalíticas son un componente importante de la calidad en los laboratorios, ya que las muestras no se procesan inmediatamente después de su extracción y las variaciones en su conservación (transporte y almacenamiento) pueden alterar sus componentes e influir en los resultados obtenidos<sup>2,3</sup>. Entre las variables preanalíticas que pueden afectar a la conservación de la muestra destacan el tipo de contenedor (presencia de aditivos, separador, tapón), la temperatura de almacenamiento, la agitación durante el transporte, así como la centrifugación y la separación de las células sanguíneas, entre otros. Uno de los objetivos del laboratorio clínico es conocer la estabilidad de los diferentes parámetros en las condiciones habituales de trabajo y procesar las muestras dentro de este período, con el fin de garantizar la validez del resultado analítico y, en consecuencia, su interpretación clínica. Sin embargo, la realización de estudios de estabilidad en el propio laboratorio es un procedimiento laborioso y con un coste económico elevado. Por otro lado, no es fácil disponer de datos sobre la estabilidad de las diferentes magnitudes bioquímicas ya que, aunque se dispone de numerosos trabajos publicados, hay tantas posibles variaciones de las distintas variables preanalíticas que es muy improbable que coincidan con nuestras condiciones de trabajo. Además, no existe acuerdo en la literatura científica respecto a los criterios que se deben utilizar para establecer el límite de estabilidad de las muestras. Algunos autores utilizan criterios exclusivamente estadísticos, metrológicos, biológicos o una combinación de ellos, lo que se traduce en límites de tolerancia más amplios o más estrechos en función del criterio utilizado y dificulta la interpretación de los resultados. Por este motivo, la Sociedad Española de Bioquímica Clínica y Patología Molecular (SEQC) elaboró una guía<sup>4</sup> para evaluar la estabilidad de las magnitudes en la muestra biológica humana que permite estimar de manera protocolizada algunos factores preanalíticos. Además, formuló un criterio basado en criterios biológicos<sup>5</sup> y metrológicos para definir el límite de variación que implica una pérdida de la estabilidad de las magnitudes biológicas en las muestras del laboratorio clínico<sup>6</sup>.

Siguiendo el modelo propuesto por la SEQC, se ha realizado un estudio en el que se evalúa el efecto del tiempo transcurrido desde la extracción hasta la obtención del resultado, con o sin centrifugación previa de la muestra, en la estabilidad de 4 magnitudes hormonales.

El objetivo de este estudio fue evaluar la estabilidad en suero de insulina, testosterona, péptido C y paratirina (PTH), y de PTH en plasma siguiendo los protocolos de la SEQC que más se ajustaban a nuestras condiciones de trabajo.

Como objetivo secundario se compararon los resultados obtenidos de PTH en suero y en plasma para averiguar si había diferencias estadísticamente significativas respecto a la muestra analizada.

## Material y método

### Sujetos

Las muestras de sangre se obtuvieron de 10 voluntarios sanos (5 mujeres y 5 varones). La extracción de las muestras se llevó a cabo entre las 8.30 y las 9.30. Para este estudio no fue necesario estar en ayunas. Todos los sujetos fueron informados de la finalidad del estudio y dieron su consentimiento por escrito.

### Protocolo de trabajo

Se realizó el estudio siguiendo 2 modelos propuestos por la SEQC<sup>4</sup>; en uno de ellos la variable es el tiempo transcurrido desde la obtención y la centrifugación de la muestra hasta su análisis (modelo 1), mientras que en el otro la variable es el tiempo transcurrido desde la extracción de la muestra hasta su centrifugación y análisis (modelo 2).

A cada sujeto se extrajeron las siguientes muestras:

- 1 tubo de plástico de gel de sílice de 8,5 ml Vacutainer® SST II Advance Ref: 367953 (Q<sub>1</sub>) para la determinación de insulina, péptido C, testosterona y PTH en suero.
- 2 tubos de 3,5 ml gel de sílice Vacutainer® SST II Advance Ref: 367957 (M<sub>2</sub> y M<sub>3</sub>) para la determinación de insulina, péptido C, testosterona y PTH en suero.
- 3 tubos de plástico de 3 ml con EDTAK3 BD Vacutainer® Ref: 368857 sin gel separador para la determinación de PTH en plasma (Q<sub>1p</sub>, M<sub>2p</sub>, M<sub>3p</sub>).

Durante el estudio se determinaron las concentraciones de las magnitudes estudiadas en función de la variable tiempo.

*Tiempo*: intervalo que transcurre desde la extracción de la muestra hasta la obtención del resultado, con o sin centrifugación previa:

- T<sub>1</sub>: 90-120 min (es tratado como tiempo de referencia).
- T<sub>2</sub>: 210-240 min.
- T<sub>3</sub>: 330-360 min.
- T<sub>4</sub>: 450-480 min.
- T<sub>5</sub>: 24 h.
- T<sub>6</sub>: 48 h.
- T<sub>7</sub>: a la semana.

### Descripción del protocolo

*Modelo 1. Estudia el efecto del tiempo una vez centrifugada la muestra hasta su procesamiento.* En este protocolo las muestras Q<sub>1</sub> y Q<sub>1p</sub> se centrifugan y analizan en el tiempo T<sub>1</sub> (tiempo de referencia) y se considera la muestra de referencia para los estudios de suero (Q<sub>1</sub>) o de plasma (Q<sub>1p</sub>). Posteriormente, las muestras Q<sub>1</sub> y Q<sub>1p</sub> se analizaron de manera sucesiva en los tiempos T<sub>2</sub>, T<sub>3</sub>, T<sub>4</sub>, T<sub>5</sub>, T<sub>6</sub> y T<sub>7</sub>.

Después de cada determinación la muestra se conservó tapada en tubo primario a una temperatura controlada y registrada de entre +4 y +8 °C.

*Modelo 2. Estudia el efecto del tiempo transcurrido hasta la centrifugación de la muestra en la estabilidad de los parámetros (sin centrifugación previa).* En este protocolo también se utilizan las muestras Q<sub>1</sub> y Q<sub>1p</sub> como muestras de referencia en el tiempo T<sub>1</sub>. Las muestras M<sub>2</sub> y M<sub>2p</sub> se centrifugaron y analizaron en el tiempo T<sub>2</sub> y, por último, las muestras M<sub>3</sub> y M<sub>3p</sub> se centrifugaron y analizaron en el tiempo T<sub>3</sub>.

La conservación de las muestras en este modelo se realizó en tubo primario, tapado y a una temperatura controlada y registrada de entre +21 y +25 °C.

### Método

Las concentraciones de insulina, péptido C, testosterona y PTH se determinaron por inmunoanálisis de electroquimioluminiscencia, mediante el analizador Modular Analytics E 170 (Roche Diagnostics, GmbH, Mannheim, Alemania). La imprecisión entre análisis para insulina, testosterona, péptido C y PTH fue: < 4,2, < 7,5, < 6,6 y < 4,8%, respectivamente. El límite de detección fue de 0,2 µl/U/ml, < 0,01 ng/ml, 1,2 pg/ml y 2 ng/dl, para insulina, péptido C, PTH y testosterona, respectivamente.

Todas las determinaciones se realizaron por duplicado.

## Cálculos

El análisis de los resultados se realizó a partir de la media obtenida de los duplicados y se compararon con los resultados medios obtenidos en las muestras de referencia  $Q_1$  y  $Q_{1p}$ .

Siguiendo el criterio propuesto por la Comisión de Calidad Analítica de la SEQC, se considera que 2 resultados obtenidos son significativamente diferentes cuando la diferencia numérica entre ambos es mayor que la variación combinada (biológica intraindividual y analítica). La variación biológica intraindividual se considera nula, ya que la extracción de la muestra se realiza en un único tiempo. La variación analítica, por su parte, permanece constante durante todo el estudio (los métodos para determinar las distintas magnitudes permanecen invariables durante el análisis; se cumplen las especificaciones establecidas para los métodos utilizados). De esta manera se asegura que la única fuente de variabilidad en la estabilidad sea las condiciones preanalíticas. La estabilidad se obtiene a partir de la expresión:

$$EST = 1,65 \times CV_A,$$

donde 1,65 es el valor que asegura una confianza estadística del 95% y un riesgo  $\alpha = 0,05$ , en una prueba unilateral, y  $CV_A$  corresponde al coeficiente de variación analítico. En este estudio el  $CV_A$  corresponde a los coeficientes de variación (CV%) obtenidos en los últimos 6 meses en nuestro laboratorio para cada magnitud estudiada<sup>6,7</sup>.

Para cada magnitud ( $C_x$ ) y cada tiempo se calculó el porcentaje de cambio observado ( $CV_O$ ) respecto a la muestra de referencia ( $C_q$ ) como se explica a continuación. Se consideró que se sobrepasaba el límite de estabilidad cuando  $CV_O > EST$ . En esos casos, la estabilidad de la magnitud se estableció en el tiempo inmediatamente anterior. En los casos en que no se sobrepasó el límite de estabilidad en ninguno de los tiempos estudiados, la estabilidad de la magnitud se estableció en el último tiempo estudiado.

## Estadística

Se utilizó la prueba de Kolmogorov-Smirnov para comprobar el ajuste a la normalidad. Para la comparación de medias entre suero y plasma se utilizó la prueba de la t de Student para datos apareados. Se consideró significativa una  $p < 0,05$ .

## Resultados

### Efecto del tiempo. Modelo 1

El péptido C y la testosterona se mantuvieron estables a lo largo de todo el estudio, mientras que la insulina fue estable hasta las 48 h. La estabilidad de la PTH varió en función de tipo de muestra utilizado. La PTH en plasma fue estable durante todo el estudio (una semana) mientras que en suero la estabilidad fue solamente de 24 h.

En la tabla 1 se muestra la media de las diferencias y el porcentaje de cambio respecto a la muestra de referencia ( $CV_O$ ) de todos los tiempos estudiados, además del límite de estabilidad obtenido para cada magnitud. Los resultados con asteriscos muestran un  $CV_O$  superior al límite de estabilidad.

### Efecto de la centrifugación. Modelo 2

Para evaluar el efecto del tiempo en las muestras no centrifugadas hasta el momento de su procesamiento, se compararon los resultados obtenidos en  $M_2$  y  $M_3$  respecto a la muestra de referencia  $Q_1$  para cada magnitud estudiada (tabla 2).

Los resultados obtenidos en el modelo 2 indican que todos los parámetros estudiados fueron estables después de permanecer hasta 6 h a temperatura ambiente sin centrifugar.

**Tabla 1**

Porcentaje de cambio obtenido en el modelo 1 para cada tiempo estudiado respecto a la muestra de referencia y comparación con el límite de estabilidad obtenido

	Medias de las diferencias ( $CV_x - CV_q$ )	$CV_O$ calculado (%)	EST ( $CV_A \times 1,65$ )
<b>Insulina</b>			
<i>Media <math>T_{basal}</math> (<math>\mu U/ml</math>) – media <math>T_x</math> (<math>\mu U/ml</math>)</i>			
$T_1$ (21,67) – $T_2$ (21,02)	0,65	3,00	6,93
$T_1$ (21,67) – $T_3$ (20,87)	0,80	3,71	6,93
$T_1$ (21,67) – $T_4$ (20,61)	1,06	4,88	6,93
$T_1$ (21,67) – $T_5$ (20,48)	1,187	5,48	6,93
$T_1$ (21,67) – $T_6$ (20,19)	1,148	6,81	6,93
$T_1$ (21,67) – $T_7$ (19,99)	1,675	7,73*	6,93
<b>Péptido C</b>			
<i>Media <math>T_{basal}</math> (ng/ml) – media <math>T_x</math> (ng/ml)</i>			
$T_1$ (3,58) – $T_2$ (3,61)	-0,03	-0,95	10,89
$T_1$ (3,58) – $T_3$ (3,64)	-0,07	-1,84	10,89
$T_1$ (3,58) – $T_4$ (3,68)	-0,10	-5,70	10,89
$T_1$ (3,58) – $T_5$ (3,78)	-0,20	-2,49	10,89
$T_1$ (3,58) – $T_6$ (3,66)	-0,09	-0,69	10,89
$T_1$ (3,58) – $T_7$ (3,60)	-0,02	-0,89	10,89
<b>Testosterona</b>			
<i>Media <math>T_{basal}</math> (ng/dl) – media <math>T_x</math> (ng/dl)</i>			
$T_1$ (247,19) – $T_2$ (237,15)	10,04	4,06	12,37
$T_1$ (247,19) – $T_3$ (238,00)	9,19	3,72	12,37
$T_1$ (247,19) – $T_4$ (238,64)	8,55	3,46	12,37
$T_1$ (247,19) – $T_5$ (240,55)	6,63	2,68	12,37
$T_1$ (247,19) – $T_6$ (244,91)	2,28	0,92	12,37
$T_1$ (247,19) – $T_7$ (253,53)	-6,33	-2,56	12,37
<b>Paratirina suero</b>			
<i>Media <math>T_{basal}</math> (pg/ml) – media <math>T_x</math> (pg/ml)</i>			
$T_1$ (33,05) – $T_2$ (34,82)	-1,77	-5,34	7,92
$T_1$ (33,05) – $T_3$ (33,53)	-0,47	1,43	7,92
$T_1$ (33,05) – $T_4$ (33,53)	0,00	0,00	7,92
$T_1$ (33,05) – $T_5$ (31,95)	1,10	3,34	7,92
$T_1$ (33,05) – $T_6$ (33,14)	2,91	8,81*	7,92
$T_1$ (33,05) – $T_7$ (25,27)	7,78	23,55*	7,92
<b>Paratirina plasma</b>			
<i>Media <math>T_{basal}</math> (pg/ml) – media <math>T_x</math> (pg/ml)</i>			
$T_1$ (36,62) – $T_2$ (39,47)	-2,86	-7,79	7,92
$T_1$ (36,62) – $T_3$ (39,39)	-2,79	-7,62	7,92
$T_1$ (36,62) – $T_4$ (39,20)	-2,55	-6,95	7,92
$T_1$ (36,62) – $T_5$ (39,03)	-2,40	-6,55	7,92
$T_1$ (36,62) – $T_6$ (37,51)	-0,85	-2,14	7,92
$T_1$ (36,62) – $T_7$ (35,76)	0,88	2,42	7,92

$CV_A$ : coeficiente de variación analítico de cada magnitud estudiada obtenido por nuestro laboratorio durante los últimos 6 meses;  $CV_O$ : porcentaje de cambio observado respecto a la muestra de referencia;  $CV_q$ : concentración media de la muestra de referencia para un tiempo determinado;  $CV_x$ : concentración media de la muestra para un tiempo determinado; EST: límite de estabilidad analítica para cada magnitud (se calcula a partir de la fórmula:  $CV_A \times 1,65$ ).

\*El porcentaje de cambio obtenido para la muestra en un tiempo determinado supera el límite de estabilidad propuesto para nuestro laboratorio.

### Efecto de la muestra analizado

En la tabla 3 se muestran las concentraciones de PTH obtenidas en plasma y suero para todos los tiempos estudiados, y se expresan como la media aritmética y la desviación estándar. Las concentraciones medias en plasma fueron más elevadas que en suero (fig. 1), pero las diferencias fueron estadísticamente significativas únicamente en el tiempo  $T_7$  ( $p = 0,004$ ).

## Discusión

En los últimos años la determinación de magnitudes hormonales ha experimentado grandes cambios en la metodología utilizada. Los primeros inmunoanálisis marcados con isótopos radiactivos (radioinmunoanálisis, análisis inmunoradiométricos) han sido progresiva-

**Tabla 2**

Porcentaje de cambio obtenido en el modelo 2 para cada tiempo estudiado respecto a la muestra de referencia y comparación con el límite de estabilidad obtenido

	Medias de las diferencias ( $CV_x - CV_q$ )	CV <sub>o</sub> calculado (%)	EST ( $CV_A \times 1,65$ )
<b>Insulina</b>			
Media $T_{basal}$ ( $\mu U/ml$ ) – media $T_x$ ( $\mu U/ml$ )			
$Q_1$ (21,67) – $M_2$ (21,05)	0,61	2,84	6,93
$Q_1$ (21,67) – $M_3$ (21,54)	0,13	0,59	6,93
<b>Péptido C</b>			
Media $T_{basal}$ (ng/ml) – media $T_x$ (ng/ml)			
$Q_1$ (3,58) – $M_2$ (3,60)	-0,02	0,68	10,89
$Q_1$ (3,58) – $M_3$ (3,59)	-0,01	-0,44	10,89
<b>Testosterona</b>			
Media $T_{basal}$ (ng/dl) – media $T_x$ (ng/dl)			
$Q_1$ (247,19) – $M_2$ (238,28)	8,90	3,60	12,37
$Q_1$ (247,19) – $M_3$ (242,59)	4,60	1,86	12,37
<b>Paratirina suero</b>			
Media $T_{basal}$ (pg/ml) – media $T_x$ (pg/ml)			
$Q_1$ (33,05) – $M_2$ (33,61)	-0,56	-1,68	7,92
$Q_1$ (33,05) – $M_3$ (32,28)	0,77	2,34	7,92
<b>Paratirina plasma</b>			
Media $T_{basal}$ (pg/ml) – media $T_x$ (pg/ml)			
$Q_{1p}$ (36,62) – $M_2$ (39,49)	-2,87	-7,81	7,92
$Q_{1p}$ (36,62) – $M_3$ (38,93)	-2,29	-6,27	7,92

EST: límite de estabilidad analítica para cada magnitud (se calcula a partir de la fórmula  $CV_A \times 1,65$ );  $CV_A$ : coeficiente de variación analítica de cada magnitud estudiada obtenido por nuestro laboratorio durante los últimos 6 meses;  $CV_o$ : porcentaje de cambio observado respecto a la muestra de referencia;  $CV_q$ : concentración media de la muestra de referencia para un tiempo determinado;  $CV_x$ : concentración media de la muestra para un tiempo determinado.

mente reemplazados por otros con señal no isotópica que han permitido su automatización (enzimoinmunoanálisis, fluoroinmunoanálisis, análisis quimioluminiscentes, etc.). Esto se ha traducido en grandes mejoras en los resultados, fundamentalmente en la disminución de la imprecisión analítica y en el acortamiento de los tiempos de respuesta. Por otro lado, la incorporación de robots automatizados ha supuesto cambios en el abordaje preanalítico de las muestras destinadas a determinaciones hormonales, que han pasado de seguir un proceso en el que extracción (generalmente en tubos sin aditivos), centrifugación, separación del suero o plasma y congelación se realizaban en el menor tiempo posible a seguir el mismo proceso que otras muestras automatizadas, que incluye obtención, conservación y análisis de la muestra en el mismo tubo primario. Muchos de los trabajos publicados sobre la estabilidad de magnitudes hormonales están realizados en alícuotas de suero o plasma, centrifugadas y separadas inmediatamente<sup>8,9</sup>. Así, es necesario conocer la estabilidad en las condiciones de trabajo actual.

En este estudio las concentraciones de péptido C, testosterona y PTH en plasma en muestras conservadas en el tubo primario, a 4 °C

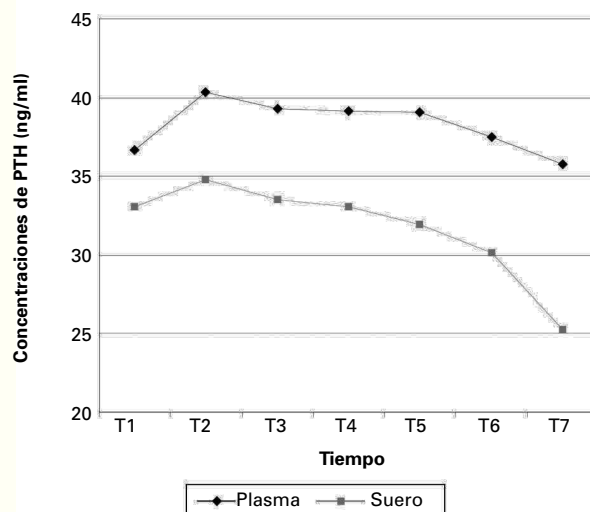
**Tabla 3**

Comparación de medias para los valores de PTH entre los dos tipos de muestra analizados (suero o plasma)

	PTH plasma (ng/ml)	PTH suero (ng/ml)	p
T <sub>1</sub>	36,6 ± 10,3	33,0 ± 8,3	0,405
T <sub>2</sub>	40,3 ± 11,8	34,8 ± 8,5	0,248
T <sub>3</sub>	39,3 ± 11,3	33,5 ± 8,0	0,208
T <sub>4</sub>	39,2 ± 10,8	33,0 ± 7,4	0,157
T <sub>5</sub>	39,0 ± 11,0	31,9 ± 7,4	0,110
T <sub>6</sub>	37,5 ± 10,1	30,1 ± 6,7	0,073
T <sub>7</sub>	35,7 ± 8,7	25,3 ± 5,2	0,004*

PTH: paratirina.

\*p < 0,01 de significación estadística.



**Fig. 1.** Evolución de las concentraciones medias de paratirina (PTH) en suero y plasma durante el estudio.

de temperatura permanecieron estables durante todo el estudio, es decir, 1 semana. En las mismas condiciones, la estabilidad de la PTH y de la insulina en suero fue de 24 y 48 h, respectivamente. Por el contrario, todos los parámetros estudiados fueron estables después de permanecer 6 h a temperatura ambiente sin centrifugar.

Los resultados obtenidos respecto a la estabilidad del péptido C a 4 °C coinciden con los obtenidos por Evans et al<sup>8</sup> y Ellis et al<sup>10</sup>. Consideran que el péptido C es una magnitud cuya concentración en suero varía poco, y permanece estable más de 120 h a 4 °C. Por el contrario, para otros autores<sup>11</sup> la estabilidad del péptido C en muestras refrigeradas es inferior a 24 h. En nuestro estudio las muestras de suero fueron adecuadas para la determinación de péptido C después de permanecer 6 h a temperatura ambiente, sin separar, de acuerdo con lo publicado por Zhang et al<sup>12</sup>, aunque en su estudio, que abarca un período más prolongado, las muestras no fueron adecuadas para el análisis pasado este período.

Respecto a la testosterona, en nuestro estudio los procedimientos preanalíticos estudiados (tiempo de análisis, centrifugación previa y temperatura de conservación) no produjeron cambios significativos en sus concentraciones séricas. Otros trabajos publicados coinciden en que las concentraciones de testosterona en suero siguen siendo estables tras permanecer durante 24 h a 4 °C<sup>13</sup> o a temperatura ambiente<sup>11,12,14</sup>, aunque para Guder<sup>11</sup> la estabilidad es inferior a 3 días conservando la muestra a una temperatura entre 4 y 8 °C. Nuestros resultados coinciden con los de Wickings et al<sup>15</sup> respecto a que las concentraciones de testosterona no se afectan de manera significativa tras permanecer durante varias horas sin separar a temperatura ambiente.

La estabilidad de la insulina se mantuvo hasta 48 h desde la extracción de la muestra conservada a 4 °C. Este hecho indica que sería necesario realizar la determinación de insulina en suero antes de 2 días tras la obtención de la muestra. Guder<sup>11</sup> reduce este tiempo en 1 día, mientras que Evans et al<sup>8</sup> consideran que la insulina es estable más de 120 h a una temperatura de 4 °C. Ellis et al<sup>10</sup> obtienen una disminución significativa en los valores de insulina a las 16,8 h antes de centrifugar la muestra y a una temperatura de conservación de 4 °C.

En relación con la PTH, la estabilidad que muestra la PTH en suero es inferior que en plasma. Mientras que en plasma permanece invariable durante todo el estudio, en suero tan sólo se puede garantizar su estabilidad durante 24 h conservada a 4 °C. Evans et al<sup>8</sup> indican que la PTH en plasma se mantiene estable más de 120 h a 4 °C, pero su estabilidad en suero a la misma temperatura de conservación se encuentra reducida a 55 h. Es sabido que la PTH muestra una mayor estabilidad

en plasma que en suero, y por ello se recomienda que la determinación de PTH se realice en plasma, en especial cuando la extracción de la muestra se lleva a cabo en lugares alejados<sup>16-18</sup>.

Sin embargo, hay que tener en cuenta que las concentraciones de PTH varían en función del tipo de muestra utilizado. En nuestro estudio observamos que las concentraciones de PTH en plasma eran más elevadas que en suero para todos los tiempos estudiados, en concordancia con otros estudios publicados<sup>17,19</sup>. Sin embargo, cabe destacar que la diferencia entre las medias tan sólo fue significativa en el último tiempo estudiado, al cabo de 1 semana. Este hecho puede estar relacionado con la mayor estabilidad que la PTH muestra en plasma.

Tras evaluar los resultados obtenidos en el estudio, podemos garantizar que la insulina, el péptido C, la testosterona y la PTH en suero y plasma permanecen estables sin haber centrifugado la muestra. El protocolo seguido en nuestro trabajo únicamente evaluó el efecto de la centrifugación previa hasta 6 h tras la extracción de la muestra y a una temperatura de conservación entre 21 y 25 °C. Sería necesario llevar a cabo más estudios para evaluar el tiempo máximo que pueden permanecer las muestras sin centrifugar sin que varíe de manera apreciable la concentración de las magnitudes biológicas, y si en ello puede influir la temperatura de conservación (temperatura ambiente, 4-8 °C).

Es necesario concluir que los resultados obtenidos en este estudio únicamente pueden aplicarse a nuestro laboratorio, ya que dependen del método analítico utilizado y de las condiciones de trabajo, aunque sí pueden servir de guía para los laboratorios que utilicen el mismo analizador y el mismo método analítico. Sería necesario para cada laboratorio calcular el CV<sub>A</sub> de las magnitudes biológicas que se determinan, para poder definir su límite de estabilidad y de esta manera garantizar una adecuada interpretación.

La evaluación de la estabilidad analítica para las magnitudes biológicas en el laboratorio clínico es un proceso laborioso y con un elevado coste económico. Nuestro estudio tan sólo se realizó en muestras procedentes de 10 voluntarios sanos, en lugar de los 30 que propone el protocolo de la SEQC<sup>4</sup>, por ello es necesario llevar a cabo futuros estudios con un mayor número de sujetos sanos y también en población con diversas enfermedades<sup>20</sup> para poder definir la estabilidad de las distintas magnitudes en las diversas situaciones clínicas en las que se trabaja en el laboratorio clínico.

## Agradecimientos

Queremos agradecer a la Sociedad Española de Bioquímica Clínica y Patología Molecular (SEQC) el apoyo recibido y la financiación que ha hecho posible la realización del trabajo.

Queremos agradecer a la empresa Roche, S.A. la donación de una parte de los reactivos.

## Bibliografía

1. Cruz Carlos LM, Monge Azemar N, Valero Politi J, Fuentes Arderiu X. Estabilidad de las magnitudes bioquímicas. *Quim Clin.* 2002;21:52-61.
2. Narayanan S. The preanalytical phase. An important component of laboratory medicine. *Am J Clin Pathol.* 2000;113:429-52.
3. Lippi G, Guidi GC. Preanalytic indicators of laboratory performances and quality improvement of laboratory testing. *Clin Lab.* 2006;52:457-62.
4. Comité de Garantía de la Calidad y Acreditación de los Laboratorios de la SEQC. Comisión de la Calidad Analítica. Protocolo para el estudio de la estabilidad de las magnitudes biológicas. *Quim Clin.* 2006;25:86-9.
5. Ricós C, Álvarez V, Cava F, García-Lario JV, Hernández A, Jiménez CV, et al. Current databases on biological variation: pros, cons and progress. *Scand J Clin Lab Invest.* 1999;59:491-500.
6. Alsina MJ, González-Oller C; Comisión de garantía de Calidad y Acreditación de los laboratorios. Definición del límite de estabilidad de las magnitudes en las muestras biológicas. *Quim Clin.* 2006;25:81-5.
7. Comité de Garantía de la Calidad y acreditación de los laboratorios de la SEQC. Comisión de la Calidad Analítica. Aplicabilidad de los datos de variación biológica. 1. Especificaciones de la calidad analítica. *Quim Clin.* 2001;20:450-6.
8. Evans MJ, Livesey JH, Jane ME, Yandle TG. Effect of anticoagulants and storage temperatures on stability of plasma and serum hormones. *Clin Biochem.* 2001;34:107-12.
9. Bolelli G, Muti P, Micheli A, Sciajno R, Franceschetti F, Krogh V, et al. Validity for epidemiological studies of long-term cryoconservation of steroid and protein hormones in serum and plasma. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 1995;4:509-13.
10. Ellis JM, Livesey JH, Evans MJ. Hormone stability in human whole blood. *Clin Biochem.* 2003;36:109-12.
11. Guder W. Recommendations of the Working group on Preanalytical of the German Society for Clinical Chemistry and the German Society of Laboratory Medicine. The quality of diagnostics samples; 2001.
12. Zhang DJ, Elswick RK, Miller WG, Bailey JL. Effect of serum-clot contact time on clinical chemistry laboratory results. *Clin Chem.* 1998;44:1325-33.
13. Key T, Oakes S, Davey G, Moore J, Edmond LM, Mcloone UJ, et al. Stability of vitamins A, C and E, carotenoids, lipids, and testosterone in whole blood stored at 4 degrees C for 6 and 24 hours before separation of serum and plasma. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 1996;5:811-4.
14. Hankinson SE, London SJ, Chute CG, Barbieri RL, Jones L, Kaplan LA, et al. Effect of transport conditions on the stability of biochemical markers in blood. *Clin Chem.* 1989 ;35:2313-6.
15. Wickings EJ, Nieschlag E. Stability of testosterone and androstenedione in blood and plasma samples. *Clin Chim Acta.* 1976;71:439-43.
16. Glendenning P, Laffer, Webber H. Parathyroid hormone is more stable in EDTA than in serum. *Clin Chem.* 2002;48:766-7.
17. English E, McFarlane I, Taylor KP, Halsall DJ. The effect of potassium EDTA on the stability of parathyroid hormone in whole blood. *Ann Clin Biochem.* 2007;44:297-9.
18. Hermse D, Franzson L, Hoffmann JP, Isaksson A, Kaufman JM, Leary E, et al. Multicenter evaluation of a new immunoassay for intact PTH measurement on the Elecsys System 2010 and 1010. *Clin Lab.* 2002;48:131-41.
19. Omar H, Chamberlin A, Walker V, Wood PJ. Immulite 2000 parathyroid hormone assay: stability of parathyroid hormone in EDTA blood kept at room temperature for 48 h. *Ann Clin Biochem.* 2001;38:561-3.
20. Biosca C, Ricós C, Lauzurica R, Galimany R, Hyltoft Petersen P. Reference change value concept combining two delta values to predict crises in renal posttransplantation. *Clin Chem.* 2001;47:2146-8.