



# Revista del Laboratorio Clínico

Rev Lab Clin. 2008;1(1):17-23

www.elsevier.es/LabClin



## Originales

# Variación biológica en patologías: revisión de datos y consecuencias clínicas

M. Vicenta Doménech<sup>a,b</sup>, Amparo Hernández<sup>a,c</sup>, Carmen Ricós<sup>a,d</sup>, Joana Minchinela<sup>a,e</sup>, José Vicente García-Lario<sup>a,f</sup>, Carmen Perich<sup>a,g</sup>, Virtudes Álvarez<sup>a,c</sup>, Fernando Cava<sup>a,h</sup>, Carmen Biosca<sup>a,i</sup>, Margarita Simón<sup>a,j</sup> y Carlos Víctor Jiménez<sup>a,e</sup>

<sup>a</sup>Comisión de Calidad Analítica de la Sociedad Española de Bioquímica Clínica y Patología Molecular. <sup>b</sup>Laboratori Clínic Manso. Barcelona. España. <sup>c</sup>Laboratori Clínic de L'Hospitalet de Llobregat. Barcelona. España. <sup>d</sup>Laboratori Clínic. Hospital Universitari Vall d'Hebron. Barcelona. España. <sup>e</sup>Laboratori Clínic Barcelonès Nord i Vallès Oriental. Badalona. Barcelona. España. <sup>f</sup>Servicio de Análisis Clínicos. Hospital de Motril. Granada. España. <sup>g</sup>Laboratori Clínic Bon Pastor. Barcelona. España. <sup>h</sup>Laboratorio. Fundación Hospital Alcorcón. Madrid. España. <sup>i</sup>Laboratori Clínic. Hospital Germans Trias i Pujol. Badalona. Barcelona. España. <sup>j</sup>Consorci Laboratori Intercomarcal. Vilafraça del Penedès. Barcelona. España.

## Historia del artículo:

Recibido el 7 de junio de 2007.

Aceptado el 11 de febrero de 2008.

## Palabras clave:

Variación biológica.

Valor de referencia de un cambio.

Revisión de datos.

## RESUMEN

**Introducción.** La variación biológica (VB) es la fluctuación fisiológica de los constituyentes de los fluidos humanos alrededor del punto homeostático, considerada de forma individual (CV<sub>i</sub>) o entre diferentes individuos. Los datos derivados de su estudio se usan como propuesta del valor de referencia de un cambio (VRC) entre resultados seriados de un mismo individuo. El VRC estimado a partir de individuos sanos se ha utilizado en el control de la evolución clínica de los pacientes con el fin de discriminar si se produce un cambio significativo en una serie de resultados analíticos.

**Objetivo.** El objetivo del presente trabajo es revisar los datos de VB en situaciones patológicas para aplicarla al uso de la práctica clínica, especialmente en el seguimiento de pacientes.

**Material y método.** El material usado en este estudio se recogió a partir de artículos referenciados en los buscadores electrónicos, libros y tesis doctorales. Se ha recopilado y ordenado alfabéticamente un total de 66 magnitudes biológicas en 34 situaciones patológicas.

**Resultados y conclusiones.** Para la mayoría de las magnitudes estudiadas, los valores de CV<sub>i</sub> en estados patológicos son similares a los encontrados en individuos sanos. Sin embargo, para las magnitudes consideradas como marcadores específicos de órgano, los valores de CV<sub>i</sub> son muy diferentes (superiores o inferiores) a los obtenidos en personas sanas. Esto implica que los valores VRC procedentes de personas sanas pueden no ser adecuados para el seguimiento de los pacientes. Hay un riesgo de que se produzcan falsos positivos (o negativos) sobre cambios del estado de salud, con sus correspondientes implicaciones clínicas.

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

## ABSTRACT

### Biological variation in disease: data review and clinical consequences

**Introduction.** Biological variation (BV) refers to the natural fluctuation of a physiological constituent around the homeostatic set point within a person (CV<sub>i</sub>), as well as the natural variation between persons. The data derived from the components of BV are used to propose the reference change value (RCV) for monitoring patients.

**Objective.** The aim of this review is to show the state of the art for biological variation data in non-healthy situations in order to have an indication of whether the data derived in specific pathological situations might be useful for clinical applications.

**Material and method.** The information used in this study was retrieved from published articles referenced in electronic search systems, books and a doctoral thesis. The analytes studied were listed in alphabetical order.

**Results and conclusions.** For the majority of quantities studied, CV<sub>i</sub> values are of the same order in disease and health; thus the use of RCV derived from healthy subjects for monitoring patients would be reasonable. However, for a small number of quantities considered to be disease specific markers, the CV<sub>i</sub> differed from those in health. This could mean that RCV derived from healthy CV<sub>i</sub> may not be appropriate for monitoring patients in certain diseases. Hence, disease specific RCV may be clinically useful.

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

## Key words:

Biological variation.

Reference change value.

Data review.

Los autores de este trabajo, acogiéndose a la WAME Publications Ethics Policies for Medical Journals de Viena, consideran muy importante su difusión a los profesionales de habla española, debido a la repercusión práctica del tema. Para ello cuentan con el permiso del comité de publicación de la revista en lengua inglesa donde se publicó anteriormente: Ann Clin Biochem. 2007;44:343-52.

## Correspondencia:

Dra. M.V. Doménech Clar.

CAP Manso (Laboratori).

Manso, 19. 08015 Barcelona. España.

Correo electrónico: mdomenech.pbcn@ics.scs.es

## Introducción

La variación biológica (VB) es la fluctuación fisiológica de un constituyente en un fluido biológico, considerada de forma individual o entre diferentes individuos. Existen 2 componentes en la VB: la variación en un individuo alrededor del punto homeostático (variación individual) y las diferencias en los puntos homeostáticos en un grupo de individuos (variación interindividual), que en términos matemáticos se expresan como coeficientes de variación:  $CV_I$  y  $CV_G$ , respectivamente.

El método para estimar los componentes de la VB ha sido descrito exhaustivamente por Fraser y Harris<sup>1</sup> y Fraser<sup>2</sup>. Esencialmente, se basa en el análisis de varias muestras seriadas procedentes de varios individuos, obtenidas siguiendo un protocolo establecido. Las condiciones más importantes de este protocolo se exponen a continuación:

- Los individuos deben estar en condiciones estables. En personas sanas se trata simplemente de seguir con su estilo de vida. En estados patológicos, la enfermedad no debe estar en fase aguda, ya que esto podría implicar fuertes cambios en períodos cortos. Además, se ha de tener en cuenta que en los estados patológicos el punto de homeostasis se puede alterar por pautas medicamentosas, cambios fisiológicos e impacto de posibles disfunciones de otros órganos; por tanto, se debe estudiar la variación biológica en períodos de estabilidad dentro del estado patológico.

- La fase preanalítica ha de estar muy bien estandarizada, tanto en la preparación del paciente como en el procedimiento de obtención de las muestras y almacenamiento y manipulación de éstas hasta su análisis en el laboratorio.

- La variabilidad del proceso analítico debe minimizarse y estar perfectamente medida.

- El estudio estadístico de los datos obtenidos debe ponderar todas las causas de variabilidad, por lo que ha de utilizarse la prueba de análisis de la varianza (ANOVA)<sup>1,2</sup>.

Los datos derivados de los componentes de la VB se usan, entre otros, para los siguientes fines:

- Descripción de las especificaciones de la calidad analítica como base para la toma de decisiones médicas<sup>3</sup>.

- Determinar el número de muestras que se requieren para la estimación del punto homeostático<sup>4</sup>.

- Establecer la utilidad del intervalo de referencia poblacional<sup>5</sup>.

- Calcular el valor de referencia de un cambio (VRC) entre resultados seriados de un paciente<sup>6-8</sup>.

El VRC estimado a partir de individuos sanos se ha utilizado en el control de la evolución clínica de pacientes, con el fin de discriminar si existe un cambio significativo en una serie de resultados analíticos<sup>2</sup>, es decir, si la diferencia entre los resultados obtenidos en 2 análisis consecutivos realizados en un tiempo determinado se debe a cambios en el estado de salud del paciente o a la variabilidad analítica y/o biológica. Si la diferencia, expresada en porcentaje, es mayor que el VRC, se puede pensar que el estado de salud del paciente ha variado desde que se realizó la anterior analítica. Sin embargo, teniendo en cuenta que la enfermedad puede implicar alteración del punto de equilibrio homeostático, el uso del VRC obtenido de personas sanas puede no ser apropiado para controlar a pacientes cuya enfermedad esté en fase evolutiva. Se han publicado varios trabajos en esta línea, por ejemplo, en pacientes trasplantados renales para detectar rechazos o crisis<sup>9</sup>, así como en la enfermedad hepática crónica para detectar carcinoma hepatocelular<sup>10</sup>. Estos estudios (los primeros que han aplicado datos derivados de la VB para controlar a pacientes) han demostrado que el laboratorio puede detectar cambios relevantes en la situación analítica del paciente utilizando el VRC antes de que estos cambios se manifiesten clínicamente.

Muchos autores han publicado trabajos sobre los componentes de la variación biológica. Hace algunos años, este mismo grupo de trabajo recogió en una base de datos los componentes de variación biológica para un número considerable de magnitudes en sujetos sanos, que se ha ido actualizando y está disponible en diversas publicaciones e internet<sup>11,14</sup>.

El objetivo del presente trabajo es revisar los datos de VB en situaciones patológicas y organizar la información obtenida de una forma asequible para su uso en la práctica clínica, especialmente en el seguimiento de pacientes. Mostramos el componente individual de la variación biológica ( $CV_I$ ) para un amplio abanico de situaciones patológicas y un gran número de magnitudes biológicas comúnmente determinadas en los laboratorios clínicos asistenciales. Se comparan los resultados obtenidos en pacientes con los de personas sanas, para conocer si los datos derivados de situaciones patológicas concretas pueden ser de utilidad para aplicaciones clínicas.

## Material y método

El material usado en este estudio se recogió, junto con los datos para individuos sanos, a partir de artículos cuyo objetivo era determinar componentes de VB. También se recogieron libros y tesis doctorales facilitados por sus autores al grupo autor de este trabajo. El presente trabajo recoge solamente los artículos que hacen referencia a pacientes.

Cada artículo fue revisado por 2 autores para valorar de forma independiente su inclusión o rechazo. Los criterios de rechazo se exponen a continuación:

- Artículos que no estaban específicamente diseñados para estimar los componentes de VB.

- Cálculo de componentes de VB con modelos matemáticos poco robustos y no basados en análisis de varianza.

Para cada magnitud recopilada, cada situación patológica y cada artículo revisado se registraron los siguientes datos:

- Componentes de la VB, sobre todo  $CV_I$ .
- Sistema biológico estudiado.
- Número de sujetos estudiados en cada trabajo (N).
- Período de tiempo de estudio, expresado en días (D).
- Número de muestras obtenidas en cada sujeto (M).
- Situación patológica.
- Media y unidades de expresión de resultados.

Para facilitar el estudio de esta información, se utilizó el siguiente método:

- Ordenar alfabéticamente las magnitudes biológicas recopiladas en cada estado patológico.

- Para cada magnitud, ordenar los valores de  $CV_I$  de menor a mayor.

- Comparar los  $CV_I$  encontrados con los de sujetos sanos.

- Cuando se encontraban diferencias, se revisaba cada magnitud para detectar posibles asociaciones entre el  $CV_I$  y alguna otra variable, como situación patológica (fase aguda o crónica), amplitud del intervalo entre muestreos y número de sujetos estudiados.

Tomando los datos de fosfatasa alcalina como ejemplo del procedimiento seguido, observamos que esta magnitud se estudió en 3 situaciones patológicas diferentes. En 2 de ellas, los valores de  $CV_I$  eran similares a los encontrados en sujetos sanos, mientras que en una tercera situación este valor se duplicaba.

En una inspección de los datos se observó lo siguiente:

- El número de sujetos estudiado era similar en las 2 situaciones patológicas con  $CV_I$  parecido al de sujetos sanos y en el grupo de sanos.

– La amplitud del intervalo de estudio era similar en sujetos sanos y en las 3 situaciones patológicas, aunque el CV<sub>I</sub> fuese diferente en una de ellas.

– En todas las situaciones patológicas, los sujetos estaban en fase crónica, por lo que se consideró que las diferencias observadas eran reales y no influían otros factores.

## Resultados

La base de datos contiene 66 magnitudes, descritas en 34 situaciones patológicas, obtenidas de 45 artículos publicados en 15 revistas distintas. Los autores realizan estudios en individuos de distinta procedencia. La mayoría de las muestras analizadas corresponden a suero y en menor número a orina y sudor.

Respecto al número de artículos revisados, se observa que 39 magnitudes se encuentran publicadas en un único artículo y 27 aparecen en más de uno; el sodio y el potasio son las magnitudes más estudiadas, con 8 artículos cada una.

Los resultados obtenidos se presentan en la tabla 1.

En la misma tabla se muestra el CV<sub>I</sub> para sujetos sanos, procedente de nuestra base de datos<sup>11</sup> que se actualiza cada 2 años<sup>13,14</sup>.

## Discusión

Los datos derivados de la VB en individuos sanos se han utilizado para la toma de decisiones clínicas en estados patológicos. Sin embargo, debe verificarse la conveniencia de esta práctica, puesto que

**Tabla 1**

Recopilación de datos de variación biológica en enfermedades

Magnitud biológica	Sistema	CV <sub>I</sub> (%) sanos (mediana)	CV <sub>I</sub> (%) pacientes	N	D	M	Situación patológica	Ref.	Media	Unidades
Alfafetoproteína	S	12	12	30	180	3	Neoplasia de colon	10	2,86	µg/l
Alfafetoproteína	S		35	40	180	3-10	Hepatopatía sin cirrosis	10	4,07	µg/l
Alfafetoproteína	S		38	85	180	3-10	Carcinoma hepatocelular	10	3,97	µg/l
Alfafetoproteína	S		40	45	180	3-8	Cirrosis	10	3,83	µg/l
Alanina aminopeptidasa	S	4,1	4,3	20	28	7	Hepatopatía crónica	29	1,39	µKat/l
ALT	S	24	11	20	28	7	Hepatopatía crónica	29	2,04	µKat/l
ALT	S		13	27	56	8	Diabetes tipo 1	27	0,52	µKat/l
ALT	S		25	9	2	11	Enfermedad renal	23	0,21	µKat/l
Albúmina	S	3,1	2,8	16	56	8	Diabetes tipo 1	27	44	g/l
Albúmina	S		2,9	8	21	8	Insuficiencia renal crónica	28	41	g/l
Albúmina	S		3,3	20	28	7	Hepatopatía crónica	29	39	g/l
Albúmina	S		4,3	9	2	11	Enfermedad renal	23	39,1	g/l
Albúmina	S		6,7	20	4	19	Infarto agudo de miocardio	22	37,12	g/l
Albúmina, primera micción	U	36	42	47	21	3	Diabetes tipo 1	39	350	mg/l
Albúmina, primera micción	U		61	16	21-28	10	Diabetes	33	14	mg/l
Albúmina/creatinina, cociente	U	NA	39	16	21-28	10	Diabetes	33	1,25	mg/mmol
ALP	S	6,4	6,4	8	84	8	Insuficiencia renal crónica	28	3,21	µKat/l
ALP	S		6,6	20	28	7	Hepatopatía crónica	29	7,5	µKat/l
ALP	S		12,4	15	72	5	Enfermedad de Paget	17	9,8	µKat/l
ALP isoforma ósea	S	6,2	4,9	15	72	5	Enfermedad de Paget	17	136	µg/l
Aminoterminal pro-BNP	P	NA	8,6	37	1	6	Cardiopatía crónica estable	20	570	ng/l
Aminoterminal pro-BNP	P		20	37	5	5	Cardiopatía crónica estable	20	570	ng/l
Aminoterminal pro-BNP	P		35	37	42	15	Cardiopatía crónica estable	20	570	ng/l
Amilasa	S	12	8,2	17	21	8	Insuficiencia renal crónica	28	110	U/l
Amilasa	S		8,4	20	28	7	Hepatopatía crónica	29	8,7	U/l
Amilasa	S		11,1	27	56	8	Diabetes tipo 1	27	4,58	U/l
Amilasa (total) primera orina mañana	U	NA	35	47	21	3	Diabetes tipo 1	39	4,58	µKat/l
Amilasa (pancreática), primera micción	U	NA	38	47	21	3	Diabetes tipo 1	39	2,9	µKat/l
Amilasa	Saliva	NA	51	47	21	3	Diabetes tipo 1	39	1,6	µKat/l
Apo A-1	S	6,5	7,1	143	70	3	Alteración metabolismo lipídico	36	1,5	g/l
Apo B	S	6,9	6,4	143	70	3	Alteración metabolismo lipídico	36	1,71	g/l
AST	S	12	10,6	20	28	7	Hepatopatía crónica	29	1,76	µKat/l
AST	S		12,3	37	56	8	Diabetes tipo 1	27	0,48	µKat/l
Bicarbonato	S	4,8	7,9	20	4	19,5	Infarto agudo de miocardio	22	19,5	mmol/l
(BNP) péptido natriurético tipo α	P	NA	8,2	37	1	6	Cardiopatía crónica estable	20	135	ng/l
(BNP) péptido natriurético tipo α	P		24	37	5	5	Cardiopatía crónica estable	20	135	ng/l
(BNP) péptido natriurético tipo β	P		40	37	42	15	Cardiopatía crónica estable	20	135	ng/l
CA 125	S	29	21,8	12	120	4	Carcinoma pulmonar de células no pequeñas	43	NA	NA
CA 125	S		36	24	1.095	5	Carcinoma pulmonar extirpado (células no pequeñas)	36	10,6	U/l
CA 125	S		46,2	41	1.095	7	Neoplasia de ovario extirpada	35	8,8	U/l
CA 15.3	S	6,2	7	50	30	3	Carcinoma de mama extirpado radicalmente	24	16	U/ml
CA 15.3	S		11,2	33	2.010	11	Carcinoma de mama extirpado	32	NA	NA
CA 15.3	S		16,7	170	90	NA	Cáncer de mama	25	16,2	U/ml

Magnitud biológica	Sistema	CV <sub>1</sub> (%) sanos (mediana)	CV <sub>1</sub> (%) pacientes	N	D	M	Situación patológica	Ref.	Media	Unidades
CA 19.9	S	16	24,5	41	1.095	7	Neoplasia de ovario extirpado	35	8,8	U/l
CA 19.9	S		24,5	24	1.095	7	Carcinoma pulmonar extirpado (células no pequeñas)	35	13,2	U/l
Calcio	S	1,9	1,3	8	84	8	Insuficiencia renal crónica	28	2,34	mmol/l
Calcio	S		1,6	14	56	8	Hipertensión	30	2,34	mmol/l
Calcio	S		2,8	9	84	11	Insuficiencia renal crónica	28	2,23	mmol/l
Calcio	S		4,8	20	4	19,5	Infarto agudo de miocardio	22	2,25	mmol/l
Calcio	S		6,7	9	2	11	Insuficiencia renal	23	2,4	mmol/l
Calcio/creatinina 2 h	U	NA	33	46	2	2	Metabolopatía ósea (pacientes ingresados)	45	0,31	mmol/mmol
Calcio/creatinina 2 h	U		39	20	30-90	2	Osteoporosis (pacientes no ingresados)	45	0,48	mmol/mmol
Calcio/creatinina 2 h	U		41	20	2	2	Osteoporosis (pacientes ingresados)	45	0,31	mmol/mmol
Calcio/creatinina 2 h	U		44	46	30-90	2	Metabolopatía ósea (pacientes no ingresados)	45	0,39	mmol/mmol
CEA	S	13	9,8	92	30	3	Cáncer de mama extirpado radicalmente	24	NA	NA
CEA	S		10,6	12	120	4	Carcinoma de pulmón (células no pequeñas)	43	NA	NA
CEA	S		12,4	31	900	3-7	Neoplasia de colon	21	1,8	µg/l
CEA	S		16,2	420	90	> 3	Cáncer de mama extirpado radicalmente	24	NA	NA
CEA	S		19,1	32	901	4-7	Cáncer de mama sin sintomatología	21	1,4	µg/l
CEA	S		23,6	24	1.095	5	Carcinoma de pulmón de células no pequeñas extirpado	35	1,77	mg/l
CEA	S		26,9	170	90	NA	Cáncer de mama operado	25	1,6	µg/l
CEA	S		27	33	2.010	11	Cáncer de mama	32	NA	NA
CEA	S		44,9	33	1.095	7	Neoplasia colorrectal extirpada	35	1,99	mg/l
cHDL	S	7,1	7,1	128	70	3	Alteración del metabolismo lipídico	36	1,36	mmol/l
cHDL	S		7,7	27	56	8	Diabetes tipo 1	27	1,53	mmol/l
cHDL	S		8,7	14	56	8	Hipertensión	30	1,07	mmol/l
cHDL	S		9,5	17	21	8	Insuficiencia renal crónica	28	1	mmol/l
cLDL	S	8,3	6,6	35	28	4	Hipercolesterolemia leve	41	4,3	mmol/l
cLDL	S		7,8	128	70	3	Alteración del metabolismo lipídico	36	4,12	mmol/l
cLDL	S		9,5	85	365	4	Enfermedad coronaria	37	NA	NA
Cloro	S	1,2	1,1	14	56	8	Hipertensión	30	105	mmol/l
Cloro	S		1,1	9	2	11	Insuficiencia renal	23	104	mmol/l
Cloro	S		1,8	41	90	8	Postrasplantado renal	18	108,6	mmol/l
Cloro	S		1,8	8	21	8	Insuficiencia renal crónica	28	110	mmol/l
Cloro	S		1,9	27	56	8	Diabetes tipo 1	27	100	mmol/l
Cloro	S		2,2	20	4	20	Infarto agudo de miocardio	22	102,7	mmol/l
Cloro	S		3,2	10	28	7	Hepatopatía crónica	29	103	mmol/l
Cloruro sódico	Sudor	15	7,3	20	35	5	Fibrosis quística	44	120	mmol/l
Colesterol	S	6,0	4,7	35	28	4	Hipercolesterolemia leve	41	6	mmol/l
Colesterol	S		5	128	70	3	Alteración metabolismo lipídico	35	6,1	mmol/l
Colesterol	S		5,2	20	28	7	Hepatopatía crónica	29	5	mmol/l
Colesterol	S		7	14	56	8	Hipertensión	30	6	mmol/l
Colesterol	S		7,2	27	56	8	Diabetes tipo 1	27	5,6	mmol/l
Colinesterasa	S	7,0	7,1	20	28	7	Hepatopatía crónica	29	103	µKat/l
Creatinina	S	23	43	9	2	11	Insuficiencia renal	23	75,2	U/l
Creatinina	S	4,3	5,3	17	21	8	Insuficiencia renal crónica	28	483	µmol/l
Creatinina	S		5,9	27	56	8	Diabetes tipo 1	27	73	µmol/l
Creatinina	S		6,4	9	2	11	Insuficiencia renal	23	190,4	µmol/l
Creatinina	S		6,5	11	56	8	Diabetes tipo 1	27	63,6	µmol/l
Creatinina	S		11,5	41	90	8	Postrasplantado renal	18	148	µmol/l
Creatinina	S		13	54	540	9	Insuficiencia renal crónica (niños)	40	52,4	µmol/l
Creatinina	S		13,4	20	4	19,5	Infarto agudo de miocardio	22	84,7	µmol/l
Creatinina, primera micción	U	NA	34	47	21	3	Diabetes tipo 1	39	10,1	mmol/l
CTX	S	9,6	12,4	15	365	5	Paget	17	5.976	pmol/l
CTX/creatinina 2 h	U	NA	24	15	365	5	Paget	17	484	µg/mmol
Cyfra 21,1	S	22	21,8	12	120	4	Carcinoma de pulmón (células no pequeñas)	43	NA	NA
Cistatina-C	S	NA	12	54	540	9	Insuficiencia renal crónica (niños)	40	2,81	mg/l
δ-aminolevulínico/creatinina	U	20	20	15	70	10	Porfiria aguda intermitente	16	6,9	µmol/mmol
δ-aminolevulínico/creatinina	U		20	15	720	15	Porfiria aguda intermitente	16	6,7	µmol/mmol
Fosfobilinógeno/creatinina	U	15	18	15	70	10	Porfiria aguda intermitente (1.ª orina mañana)	16	5	µmol/mmol
Fosfobilinógeno/creatinina	U		25	15	720	15	Porfiria aguda intermitente (primera micción)	16	5	µmol/mmol
GGT	S	14	4,7	20	28	7	Hepatopatía crónica	29	6,8	µKat/l
GGT	S		9,9	27	56	8	Diabetes tipo 1	27	0,37	µKat/l
Glucosa	S	5,7	27,4	9	2	11	Insuficiencia renal	23	5,1	mmol/l
Hemoglobina	B	2,8	2,3	14	56	8	Hipertensión	30	9,8	mmol/l
Hemoglobina	B		2,9	27	56	8	Diabetes tipo 1	27	10,1	mmol/l

Magnitud biológica	Sistema	CV <sub>i</sub> (%) sanos (mediana)	CV <sub>i</sub> (%) pacientes	N	D	M	Situación patológica	Ref.	Media	Unidades
Hemoglobina	B		4,2	20	28	7	Hepatopatía crónica	29	8,9	mmol/l
Hemoglobina A <sub>1c</sub>	B	1,9	4,3	47720-1260		4-7	Diabetes tipo 2	42	6,5	%
Lipoproteína (a)	S	8,5	26,2	12	360	4	Diabetes tipo 1	26	20-30	mg/dl
Lipoproteína (a)	S		23,3	24	360	4	Diabetes tipo 1	26	> 40	mg/dl
Lipoproteína (a)	S		42,3	13	360	4	Diabetes tipo 1	26	10-20	mg/dl
Lipoproteína (a)	S		42,3	21	360	4	Diabetes tipo 1	26	< 10	mg/dl
LT <sub>3</sub> (triyodotironina libre)	S	7,9	8,7	12	0,33	5	Hipotiroidismo primario	19	NA	NA
LT <sub>4</sub> (tiroxina libre)	S	7,6	5,7	12	0,33	5	Hipotiroidismo primario	19	NA	NA
MCA	S	10,1	14,9	33	2.010	11	Cáncer de mama resecado	32	NA	NA
N-acetil-glucosaminidasa, primera micción	U	NA	58	47	21	3	Diabetes tipo 1	39	48	nKat/l
NTx/creatinina 2 h	U	17	15,8	15	365	5	Paget	17	248	nmol
Potasio	S	4,8	4,5	14	56	8	Hipertensión	30	4,36	mmol/l
Potasio	S		4,8	16	56	8	Diabetes tipo 1	27	4,65	mmol/l
Potasio	S		5,1	17	21	8	Insuficiencia renal crónica	28	4,98	mmol/l
Potasio	S		7	11	56	8	Diabetes tipo 1	27	4,81	mmol/l
Potasio	S		7,1	41	90	8	Postransplantado renal	18	4,46	mmol/l
Potasio	S		7,7	20	28	7	Hepatopatía crónica	29	4,5	mmol/l
Potasio	S		12,4	20	4	19,5	Infarto agudo de miocardio	22	3,68	mmol/l
Potasio	S		13,3	9	2	11	Insuficiencia renal	23	4,5	mmol/l
Procolágeno (tipo I, N-terminal)	S	6,8	10	15	72	5	Paget	17	176	µg/l
PAP	S	NA	34	15	4	8	Cáncer de próstata	38	6,7	U/l
PAP	S		34	15	4	8	Cáncer de próstata	38	0,8	U/l
PAP	S		34	15	4	8	Cáncer de próstata	38	0,3	U/l
PSA (total)	S	18,1	14	5	4	8	Cáncer de próstata	38	40,3	µg/l
PSA (total)	S		14	5	4	8	Cáncer de próstata	38	10,8	µg/l
PSA (total)	S		14	5	4	8	Cáncer de próstata	38	3,2	µg/l
PSA (total)	S		20	890	90-960	2-10	Cáncer de próstata	15	0,1-20	µg/l
Proteína (total)	S	2,7	3,3	17	21	8	Insuficiencia renal crónica	28	74	g/l
Proteína (total)	S		4,1	27	56	8	Diabetes tipo 1	27	73	g/l
Proteína (total)	S		4,2	20	28	7	Hepatopatía crónica	29	78	g/l
SCC	S	39	39	24	1.095	5	Neoplasia pulmonar de células no pequeñas	35	1,01	mg/l
Sodio	S	0,7	0,6	14	56	8	Hipertensión	30	143	mmol/l
Sodio	S		0,7	17	21	8	Insuficiencia renal crónica	28	142	mmol/l
Sodio	S		0,8	27	56	8	Diabetes tipo 1	27	140	mmol/l
Sodio	S		0,8	9	2	11	Insuficiencia renal	23	142	mmol/l
Sodio	S		0,9	20	28	7	Hepatopatía crónica	29	140	mmol/l
Sodio	S		1	8	21	11	Insuficiencia renal crónica	28	143,4	mmol/l
Sodio	S		1,1	41	90	8	Postransplante renal	18	141	mmol/l
Sodio	S		1,5	20	4	19,5	Infarto agudo de miocardio	22	139,8	mmol/l
Tirotropina (TSH)	S	19,3	20,2	12	0,33	5	Hipotiroidismo primario	19	NA	NA
Tiroxina (T <sub>4</sub> )	S	4,9	4,9	12	0,33	5	Hipotiroidismo primario	19	NA	NA
Tiroxina (T <sub>4</sub> )	S		7,3	13	56	8	Embarazo	31	108	mmol/l
TPA	S	29	29	24	1.095	5	Neoplasia pulmonar de células no pequeñas	35	61	U/l
TPS	S	36	36	24	1.095	5	Neoplasia pulmonar de células no pequeñas	35	47	U/l
Triglicéridos	S	20,9	7,7	11	56	8	Diabetes tipo 1	27	2,4	mmol/l
Triglicéridos	S		15,4	17	21	8	Insuficiencia renal crónica	28	3,59	mmol/l
Triglicéridos	S		17,8	128	70	3	Alteración metabolismo lipídico	35	1,46	mmol/l
Triglicéridos	S		19,6	35	28	4	Hipercolesterolemia leve	41	1,41	mmol/l
Triglicéridos	S		20	16	56	8	Diabetes tipo 1	27	1,88	mmol/l
Triglicéridos	S		21,8	14	56	8	Hipertensión	30	2,88	mmol/l
Triyodotironina (T <sub>3</sub> )	S	8,7	8,4	13	56	8	Embarazo	31	2,96	mmol/l
Triyodotironina (T <sub>3</sub> )	S		8,7	12	0,33	5	Hipotiroidismo primario	19	NA	NA
Urato	S	8,6	10,1	17	21	8	Insuficiencia renal crónica	28	477	µmol/l
Urato	S		10,3	27	56	8	Diabetes tipo 1	27	276	µmol/l
Urato	S		13,2	41	90	8	Postransplantado renal	18	415	µmol/l
Urea	S	12,3	6,5	9	2	11	Insuficiencia renal	23	13,2	mmol/l
Urea	S		11,7	17	21	8	Insuficiencia renal crónica	28	21	mmol/l
Urea	S		13	16	56	8	Diabetes tipo 1	27	5,9	mmol/l
Urea	S		15,3	41	90	8	Postransplante renal	18	NA	NA
Urea	S		15,6	11	56	8	Diabetes tipo 1	27	5,26	mmol/l
Urea	S		18,3	20	4	20	Infarto agudo de miocardio	22	5,31	mmol/l

ALT: alanina aminotransferasa; ALP: fosfatasa alcalina; Apo A-1: apolipoproteína A-1; Apo B: apolipoproteína B; AST: aspartato aminotransferasa; B: sangre total; BNP: péptido natriurético cerebral; CEA: antígeno carcinoembrionario; cHDL: colesterol unido a lipoproteínas de alta densidad; cLDL: colesterol unido a lipoproteínas de baja densidad; CTx: C-telopéptido del colágeno tipo I; CV<sub>i</sub>: variación biológica intraindividual; D: período (días); GGT: gammaglutamil transferasa; M: número de muestras obtenido de cada sujeto; MCA: antígeno mucinoso asociado a carcinoma; N: número de sujetos estudiado; NA: no disponible; NTx: N-telopéptido del colágeno tipo I; P: plasma; PAP: fosfatasa ácida prostática; PSA: antígeno prostático específico; Ref.: referencia bibliográfica; S: suero; SCC: antígeno de carcinoma de células escamosas; U: orina.

hasta ahora no había información que clarificase si la variación biológica era similar en individuos sanos o enfermos.

Los resultados de este estudio demuestran que los valores de  $CV_I$  encontrados en pacientes son similares a los hallados en individuos sanos.

No se pudo realizar estudios estadísticos debido al pequeño número de medidas disponibles para cada magnitud, la heterogeneidad de los diseños y los métodos usados por los distintos autores, así como que en ocasiones las situaciones patológicas no estaban perfectamente definidas.

La distribución de los valores de  $CV_I$  en magnitudes no consideradas como marcadores específicos de órgano era similar a la encontrada en personas sanas. Así, por ejemplo, el sodio en suero, una de las magnitudes descritas en un mayor número de artículos, presentó valores de  $CV_I$  comprendidos entre el 0,6 y el 1,5%, con una mediana del 0,8% (la distribución en individuos sanos es del 0,3 al 2%, con una mediana del 0,7%). Estos resultados podrían no tener repercusiones en sus aplicaciones clínicas, lo que implicaría que en muchas situaciones patológicas en estado crónico estable se podrían utilizar VRC procedentes de individuos sanos, como se ha mencionado anteriormente<sup>2</sup>.

No obstante, la inspección visual de los resultados permite resaltar una observación importante. En ciertas enfermedades, las magnitudes consideradas como marcadores específicos de órgano muestran valores de  $CV_I$  más elevados, que en otras situaciones patológicas (tabla 1):

- Alfetoproteína: el  $CV_I$  es más alto en enfermedades hepáticas que en sujetos sanos, y es similar al de éstos en otras situaciones patológicas (neoplasia de colon).
- Antígeno carcinoembrionario: los valores de  $CV_I$  son más altos en pacientes con cáncer colorrectal que en otras enfermedades.
- CA 125: el  $CV_I$  en cáncer de ovario es superior al encontrado en personas sanas, y esta magnitud es el marcador con mayor especificidad para dicha enfermedad.
- CA 15.3: el  $CV_I$  en cáncer de mama es más alto que en personas sanas, y esta magnitud es el marcador con mayor especificidad para dicha neoplasia.
- Creatinina: el  $CV_I$  es más alto en pacientes renales tras el trasplante que en individuos sanos.
- Fosfatasa alcalina: el  $CV_I$  es más alto en la enfermedad de Paget, mientras que en la insuficiencia renal crónica y en enfermedades hepáticas crónicas los valores de  $CV_I$  son casi idénticos que los encontrados en individuos sanos.
- Hemoglobina glucosilada, lipoproteína(a) y albúmina en orina: el  $CV_I$  es más elevado en pacientes con diabetes mellitus tipo 1.

Una de las aplicaciones de los datos derivados de VB en la práctica diaria es la detección de cambios significativos en la monitorización de los pacientes utilizando el VRC. Si el VRC se calcula con los datos de personas sanas, se podrían producir avisos de falsos positivos, puesto que el componente  $CV_I$  de la fórmula de cálculo puede ser inferior en personas sanas que en pacientes. Los falsos positivos podrían repercutir en la toma de decisiones médicas incorrectas, como el aumento de la dosis de tratamiento, con el consecuente riesgo de toxicidad, y realización de pruebas invasivas, o afectación psicológica del paciente por una notificación falsamente positiva.

Tomemos como ejemplo el caso de la glucohemoglobina para un laboratorio con un  $CV_A$  de 1,0. Según puede observarse en la tabla 1, el  $CV_I$  es de 1,9 en personas sanas y de 4,3 en pacientes con diabetes mellitus tipo 2. Aplicando la fórmula del VRC<sup>9,10</sup> se observa lo siguiente:

$$VRC = 2^{1/2} \times Z_p \times (CV_A^2 + CV_I^2)^{1/2},$$

siendo  $Z_p = 1,96$  (desviación estándar para una riesgo de error del 5% en pruebas bidireccionales).

Si aplicamos el  $CV_I$  del grupo de personas sanas:

$$VRC = 2^{1/2} \times 1,96 \times (1,0^2 + 1,9^2)^{1/2} = 5,95\%$$

y si aplicamos el  $CV_I$  del grupo de pacientes con diabetes mellitus tipo 2:

$$VRC = 2^{1/2} \times 1,96 \times (1,0^2 + 4,3^2)^{1/2} = 12,24\%$$

Supongamos el caso de un paciente con diabetes mellitus tipo 2, cuyo valor de glucohemoglobina pasa del 6,5 al 7,2%, es decir, que presenta un aumento del 10,8%.

Aplicando el VRC calculado para personas sanas, se consideraría que el cambio es significativo (con una probabilidad del 95%) y se modificaría el tratamiento. Si embargo, aplicando el VRC calculado para el grupo con diabetes mellitus tipo 2, el cambio no se consideraría significativo y no se realizaría ninguna acción.

Sin embargo, para las enzimas hepáticas alanina aminotransferasa, aspartato aminotransferasa, gammaglutamil transferasa, típicos marcadores de la función hepática, se observan valores de  $CV_I$  más bajos en la enfermedad hepática crónica que en personas sanas, lo que resulta algo sorprendente. Estos resultados requerirían una posterior confirmación, puesto que proceden de un único estudio; pero si resultan ciertos, el valor VRC obtenido de datos de personas sanas produciría falsos negativos en el seguimiento de estos pacientes. Las posibles repercusiones de avisos falsamente negativos podrían ser la supresión o la reducción del tratamiento y el retraso de las visitas clínicas de seguimiento, con el consiguiente menoscabo de la adecuada atención al paciente. La detección temprana es muy importante para proporcionar el tratamiento adecuado, antes de que el estado del paciente sea más desfavorable.

En nuestra opinión, el cálculo de los valores VRC podría ser de gran utilidad para situaciones patológicas bien definidas, con magnitudes biológicas clave para el seguimiento de los pacientes y protocolos clínicos de monitorización claramente establecidos. Esto ya fue descrito en los trabajos de Biosca et al<sup>9</sup> en trasplante renal y Trapé et al<sup>10</sup> en estudios de carcinoma hepatocelular, que han identificado cambios biológicos en el estado de los pacientes antes de cualquier manifestación clínica. Asimismo, un artículo reciente de Sólétermos et al<sup>15</sup> (Grupo Europeo de Marcadores Tumorales) constituye una excelente guía para interpretar resultados seriados de PSA total en pacientes con cáncer de próstata basándose en los datos derivados de la VB.

## Conclusiones

En esta revisión se aportan los datos de VB individual para un número magnitudes y de enfermedades disponibles en las publicaciones actuales. Para la mayoría de las magnitudes estudiadas los valores de  $CV_I$  en estados patológicos son similares a la distribución en individuos sanos, es decir, el uso de VRC en individuos sanos podría aplicarse al seguimiento de pacientes. Sin embargo, para las magnitudes consideradas como marcadores específicos de órgano los valores de  $CV_I$  en determinadas enfermedades son diferentes (superiores o inferiores) a los obtenidos en personas sanas, con una importante repercusión práctica.

Esto implica que los VRC procedentes de personas sanas pueden no ser adecuados para el seguimiento de pacientes con determinadas afecciones. Hay un riesgo de producir avisos falsamente positivos (o negativos) de cambios del estado de salud, con sus correspondientes implicaciones clínicas.

Este trabajo pone de manifiesto la complejidad del cálculo de los VRC en situaciones patológicas y, al mismo tiempo, indica cuándo puede ser de gran utilidad.

En conclusión, a la luz de este trabajo, se considera recomendable proseguir estudios centrados en determinadas enfermedades bien acotadas.



## Agradecimientos

Los autores agradecen al profesor Callum G. Fraser sus comentarios a este trabajo y a Montse Horno y Maite Masó su dedicación y excelente labor técnica en las tareas de rutina de Laboratoris Clínics Hospital Vall d'Hebron.

## Bibliografía

- Fraser CG, Harris EK. Generation and application of data on biological variation in clinical chemistry. *Crit Rev Clin Lab Sci*. 1989;27:409-37.
- Fraser CG. Biological variation: from principles to practice. AACC Press; 2001.
- Kenny D, Fraser CG, Hyltoft Petersen P, Kallner A. Consensus Agreement. En: Hyltoft Petersen P, Fraser CG, Kallner A, Kenny D, editores. Strategies to set global analytical quality specifications in laboratory medicine. *Scand J Clin Lab Invest*. 1999;59:585.
- Fraser CG. Are "scientific statements" the scientific truth? [citado 5 Nov 2006]. Disponible en: <http://www.westgard.com/guest23/htm>
- Fraser CG. Inherent biological variation and reference values. *Clin Chem Lab Med*. 2004;42:758-64.
- Ricós C, Cava F, García-Lario JV, Hernández A, Iglesias N, Jiménez CV, et al. The reference change value: a proposal to interpret laboratory reports in serial testing based on biological variation. *Scand J Clin Lab Invest*. 2004;64:175-84.
- Iglesias N, Hyltoft Petersen P, Jensen E, Ricós C, Joergensen P. Reference change values and power functions. *Clin Chem Lab Med*. 2004;42:415-22.
- Biosca C, Ricós C, Lauzurica R, Galimany R. Reference change value concept combining two delta values to predict crises in renal posttransplantation. *Clin Chem*. 2001;47:2146-8.
- Biosca C, Ricós C, Lauzurica R, Hyltoft Petersen P. Biological variation at long-term renal post-transplantation. *Clin Chim Acta*. 2006;368:188-91.
- Trapé J, Botargues JM, Porta F, Ricós C, Badal JM, Salinas R, et al. Reference change value for  $\alpha$ -fetoprotein and its application in early detection of hepatocellular carcinoma in patients with hepatic disease. *Clin Chem*. 2003;49:1209-11.
- 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.
- Sociedad Española de Bioquímica Clínica y Patología Molecular. Comité de Garantía de la Calidad y Acreditación de Laboratorios. Especificaciones de la calidad analítica en laboratorios con distintos niveles de recursos. *Quim Clin*. 2000;19:219-36.
- Ricós C, Álvarez V, Cava F, García-Lario JV, Hernández A, Jiménez CV, et al. Biological variation database and quality specifications for imprecision, bias and total error. The 2006 update [citado 5 Nov 2006]. Disponible en: <http://www.westgard.com/guest32/htm>
- Sociedad Española de Bioquímica Clínica y Patología Molecular. Comité de Garantía de la Calidad y Acreditación de Laboratorios. Base de datos de variación biológica, con las especificaciones de la calidad analítica (deseable, mínima y óptima). Actualización del año 2006 [citado 5 Nov 2006]. Disponible en: <http://www.seqc.es/bd/vb.htm>
- Sölétormos G, Semjonow A, Sibley PE, Lamerz R, Petersen PH, Albrecht W, et al. Biological variation of total prostate-specific antigen: a survey of published estimates and consequences for clinical practice. *Clin Chem*. 2005;51:1342-51.
- Aarsand AK, Hyltoft Petersen P, Sandberg S. Estimation and application of biological variation of urinary  $\gamma$ -aminolevulinic acid and porphobilinogen in healthy individuals and in patients with acute intermittent porphyria. *Clin Chem*. 2006;52:650-6.
- Álvarez L, Ricós C, Peris P, Guañabens N, Monegal A, Pons F, et al. Components of biological variation of biochemical markers of bone turnover in Paget's bone disease. *Bone*. 2000;26:571-6.
- Biosca C, Ricós C, Jiménez CV, Lauzurica R, Galimany R. Are equally spaced specimens collection necessary to assess biological variation? Evidence from renal transplant recipients. *Clin Chim Acta*. 2000;301:79-85.
- Browning MCK, Bennet WM, Kirkcaldy AJ, Jung RT. Intra-individual variation of thyroxine, triiodothyronine and thyrotropin in treated hypothyroid patients: implications for monitoring replacement therapy. *Clin Chem*. 1988;34:696-9.
- Bruins S, Fokkema MR, Römer JWP, DeJongste MJL, Van der Dijs FP, Van den Ouweland JM, et al. High intraindividual variation of  $\beta$ -type natriuretic peptide (BNP) and amino-terminal proBNP in patients with stable chronic heart failure. *Clin Chem*. 2004;50:2052-8.
- Escríche C, Molina R, Filella X, Ballesta AM. In: Molina R, Ballesta AM, editors. Biology and clinical usefulness of tumor markers. Vol. I. The biological variability of tumor markers in the monitorization of patients with breast and colon cancer with no evidence of the disease. Barcelona, 1999.
- Fraser CG, Hearne CR. Components of variance of some plasma constituents in patients with myocardial infarction. *Ann Clin Biochem*. 1982;19:431-4.
- Fraser CG, Williams P. Short-term biological variation of plasma analytes in renal disease. *Clin Chem*. 1983;29:508-10.
- Gion M, Cappelli G, Mione R, Vignati G, Fortunato A, Saracchini S, et al. Variability of tumor markers in the follow-up of patients radically resected for breast cancer. *Tumor Biol*. 1993;14:325-33.
- Gion M, Cappelli G, Mione R, Pistorello M, Meo S, Vignati G, et al. Evaluation of critical differences of CEA and CA 15.3 levels in serial samples from patients operated for breast cancer. *Int J Biol Markers*. 1994;9:135-9.
- Hernández C, Francisco G, Chacón P, Mesa J, Simó R. Biological variation of Lipoprotein(a) in a diabetic population. Analysis of the causes and clinical implications. *Clin Chem Lab Med*. 2003;41:1075-80.
- Hölzel WGE. Intra-individual variation of some analytes in serum of patients with insulin-dependent diabetes mellitus. *Clin Chem*. 1987;33:57-61.
- Hölzel WGE. Intra-individual variation of some analytes in serum of patients with chronic renal failure. *Clin Chem*. 1987;33:670-3.
- Hölzel WGE. Intra-individual variation of analytes in serum from patients with chronic liver diseases. *Clin Chem*. 1987;33:1133-6.
- Hölzel WGE. Influence of hypertension and antihypertensive drugs on the biological intra-individual variation of electrolytes and lipids in serum. *Clin Chem*. 1988;34:1485-8.
- Hölzel WG, Deschner W. Intra-individual variation of serum thyroxine and triiodothyronine in pregnancy. *Clin Chem*. 1988;34:2063-5.
- Hölzel WG, Beer R, Deschner W, Griesmacher A, Muller MM. Individual reference ranges of CA 15-3, MCA and CEA in recurrence of breast cancer. *Scand J Clin Lab Invest Suppl*. 1995;221:93-101.
- Howey JE, Browning MC, Fraser CG. Selecting the optimum specimen for assessing slight albuminuria, and a strategy for clinical investigation: novel uses of data on biological variation. *Clin Chem*. 1987;33:2034-8.
- Jorde R, Sundsfjordt J. Intra-individual variability and longitudinal changes in glycaemic control in patients with type 1 diabetes mellitus. *Diabetic Med*. 2000;17:451-6.
- Mora Brugués J. Variabilitat intraindividual dels marcadors tumorals [tesis doctoral]. Barcelona: Universitat de Barcelona; 1993.
- Kafonek SD, Derby CA, Bachorik PS. Biological variability of lipoproteins and apolipoproteins in patients referred to a lipid clinic. *Clin Chem*. 1992;38:864-72.
- Muusse RG. Intra-individual-variability and retest-reliability of lipoproteins in serum of coronary artery disease patients. *Ann Clin Biochem*. 1987;24 Suppl:136.
- Panteghini M, Pagani F, Bonora R. Pre-analytical and biological variability of prostatic acid phosphatase and prostate-specific antigen in serum from patients with prostatic pathology. *Eur J Clin Chem Biochem*. 1992;30:135-9.
- Pascual T, González-Revaldería J, De Paula M, Miravalles E. Biological variability of urinary constituents in patients with Type I- Diabetes Mellitus. *Quim Clin*. 1998;17:368-71.
- Sambasivan AS, Lepage N, Filler G. Cystatin C intrapatient variability in children with chronic kidney disease is less than in serum creatinine. *Clin Chem*. 2005;51:2215-6.
- Schectman G, Patsches M, Sasse EA. Variability in cholesterol measurements: comparison of calculated and direct LDL cholesterol determinations. *Clin Chem*. 1996;42:732-7.
- Trapé J, Aliart M, Brunet M, Dern E, Abadal E, Queraltó JM. Reference change value for HbA1c in patients with Type 2 Diabetes Mellitus. *Clin Chem Lab Med*. 2000;38:1283-7.
- Trapé J, López L, Pérez de Olaguer J, Buxó J. Application of reference change value for Cyfra 21-1, CEA and CA 125 in the follow-up of patients with NSCLC treated with chemotherapy. *Clin Chem Lab Med*. 2003;41 Suppl:S521.
- Van der Merwe D, Ubbink JB, Delpont R, Becker P, Dhath GS, Hayward Vermaak WJ. Biological variation in sweat sodium chloride conductivity. *Ann Clin Biochem*. 2002;39:39-43.
- Vasikaran SD, McCloskey EV, Kahn S, Kanis JA. Intra-individual variation in fasting urinary calcium- and hydroxyproline-creatinine ratios measured in metabolic bone clinic patients as both outpatients and inpatients. *Ann Clin Biochem*. 1994;31:272-6.