



ORIGINAL

Valores de referencia en plasma de osmolalidad, electrolitos, calcio, magnesio y urea en una población del centro de España



José Luis Martín Calderón^{a,*}, Julia Varona Pérez^a, Fernando Bustos Guadaño^a, Pilar de La Fuente Mateo^a y Fernando Solano Ramos^b

^a Servicio de Análisis Clínicos, Hospital General Nuestra Señora del Prado, Talavera de la Reina, Toledo, España

^b Servicio de Hematología, Hospital General Nuestra Señora del Prado, Talavera de la Reina, Toledo, España

Recibido el 10 de febrero de 2014; aceptado el 3 de abril de 2014

Disponible en Internet el 20 de mayo de 2014

PALABRAS CLAVE

Valores referencia;
Sodio;
Potasio;
Calcio;
Magnesio;
Osmolalidad;
Urea

Resumen

Introducción: El establecimiento de los valores de referencia es una tarea esencial de los laboratorios clínicos, ya que pueden variar según los instrumentos empleados y la población considerada. En el presente trabajo pretendemos definir el intervalo de referencia en nuestra población para las siguientes magnitudes biológicas en plasma: osmolalidad, sodio, potasio, calcio, urea, y magnesio con el analizador Unicell DXC 800.

Material y métodos: Se seleccionó una muestra de referencia formada por 146 individuos sanos entre los donantes que acudieron a nuestro banco de sangre y se les extrajo sangre en un tubo de heparina litio que fue centrifugado a 1.700 g durante 5 minutos para la obtención de plasma. En el plasma resultante se analizaron urea, sodio, potasio, calcio y magnesio con el analizador Unicell DXC 800 (Beckman Coulter®), midiéndose la osmolalidad con el osmómetro 3300 (Advanced Instruments®). Se aplicó el método no paramétrico del CLSI C28-A3 para la obtención de los valores de referencia.

Resultados: Se obtuvieron los siguientes intervalos de referencia: urea (13,67-48 mg/dL), sodio: 136,7-145 mmol/L, potasio: (3,37-4,6 mmol/L), osmolalidad: (290-305,42 mosm/kg), calcio (8-9,3 mg/dL) y magnesio (1,9-2,2 mg/dL). Estos intervalos fueron diferentes a los propuestos por el fabricante, lo que refuerza la necesidad de producir valores de referencia propios.

© 2014 AEEM, AEFA y SEQC. Publicado por Elsevier España, S.L. Todos los derechos reservados.

* Autor para correspondencia.

Correo electrónico: jlmartinc@sescam.jccm.es (J.L. Martín Calderón).

KEYWORDS

Reference Values;
Magnesium;
Osmolality;
Electrolytes;
Urea

Reference values in plasma for osmolality, electrolytes, calcium, magnesium and urea, in a spanish population

Abstract

Introduction: The establishing of reference values is an essential task of clinical laboratories. In this work the reference intervals for the following parameters in plasma were determined: osmolality, sodium, potassium, calcium, magnesium and urea, using a Unicell DXC 800 analyzer (Beckman Coulter®).

Material and methods: A sample of 146 healthy individuals was selected from health blood donors of our institution. Plasma was obtained by centrifugation of lithium heparin tubes at 1700g for five minutes. Sodium, potassium, calcium, magnesium and urea were measured on a Unicell DXC 800 analyzer (Beckman Coulter®), whereas osmolality was measured with an osmometer (Advanced Instruments® 3300). The CLSI C28 A-3 non-parametric method was used to determine the reference intervals.

Results: The reference intervals obtained were: osmolality: (290-305.42 mosm/kg), sodium: (136.7-145 mmol/L), potassium: (3.37-4.6 mmol/L), calcium (8-9.3 mg/dL), magnesium (1.9-2.2 mg/dL) and urea (13.67-48 mg/dL). These values are different from those claimed by the manufacturer, which reinforces the need for determining individual reference values in each laboratory.

© 2014 AEBM, AEFA y SEQC. Published by Elsevier España, S.L. All rights reserved.

Introducción

Para cualquier magnitud bioquímica los valores observados en individuos distintos suelen ser diferentes, e incluso en el mismo individuo cambian en diferentes periodos de tiempo, fenómeno que se conoce como variabilidad y se cuantifica mediante la desviación típica, o el coeficiente de variación. Esta variabilidad puede deberse a causas biológicas, metro-lógicas o premetro-lógicas¹. La variabilidad biológica es, con independencia de la variabilidad metro-lógica, la responsable de que se observen valores diferentes de un analito en un mismo individuo (variabilidad biológica intraindividual) y entre los individuos de una población (variabilidad biológica interindividual).

Para poder interpretar un valor de una magnitud bioquímica en un individuo enfermo es necesario conocer los valores de la misma magnitud en una muestra representativa de la población sana a la que pertenece el individuo. Así surge el concepto de valores de referencia como los valores que describen la variación de las magnitudes biológicas en individuos que reúnen unas características concretas, que se denominan individuos de referencia². Según la *International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine* (IFCC) debe desecharse por incorrecto el término «valores normales». El concepto de valor de referencia fue propuesto por Grasbeck y Saris en 1969³. Años más tarde, un comité de expertos (EPTRV) designado por la IFCC y por el Consejo Internacional de Normalización en Hematología (ICSH) desarrolló la teoría y procedimientos actuales^{4,5}. Los trabajos de este comité fueron la base para la elaboración de la guía del *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI) publicada en 1995 y actualizada en 2000. En 2008 una comisión mixta de la IFCC y CLSI publicó un documento común, el C28-A3⁶ que es el que debe tenerse en cuenta en la actualidad para la adopción, transferencia y validación de valores de referencia. Por otro lado en la Guía ISO 15189⁷ establece

como requisito de calidad de los laboratorios la documentación de los criterios y fuentes a partir de las cuales se establecen sus valores de referencia.

Cada laboratorio clínico debería establecer sus propios valores de referencia para sus equipos instrumentales, condiciones de medida y población a la que dé servicio⁸. Es necesario producir valores de referencia cuando se comienza a medir una nueva magnitud biológica o un nuevo procedimiento de medida en el laboratorio, o para verificar o validar los procedimientos ya introducidos en la población que se atiende. A pesar de ellos pocos laboratorios realizan esta tarea, siendo práctica habitual adoptar los valores de referencia que aparecen en los *Insert* de reactivos o en la bibliografía. Ello es debido a que la producción de valores de referencia no es una tarea fácil, siendo necesario reunir un número importante de individuos que reúnan unas condiciones determinadas⁸.

El proceso más crítico de la producción de valores de referencia es sin duda la selección de la población de referencia, debido a lo difícil de definir un individuo de referencia⁶ que debe cumplir unos criterios de salud que no son universales. El individuo de referencia es una persona que pertenece a la población atendida por el laboratorio seleccionado en función de unos criterios como edad o sexo¹. Según la guía CLSI 28-A3⁶ el individuo de referencia es una persona que pertenece a la comunidad atendida por el laboratorio, seleccionado en función de criterios como edad, sexo o hábitos tóxicos o dietéticos. La citada guía recomienda la selección directa de los individuos con las características definidas a priori (tabla 1), utilizando criterios de exclusión (tabla 2). De no ser posible la selección según los criterios que recoge la guía CLSI 28-A3⁶ algunos autores consideran lícito utilizar muestras de individuos teóricamente sanos que acuden al hospital como donantes de sangre o para una revisión de salud laboral⁹⁻¹¹. Incluso hay autores que proponen⁸ la producción de valores de

Tabla 1 Encuesta de salud de la muestra de donantes

¿En general Vd. diría que su salud es buena?	(S) (N)
¿Realiza alguna actividad física regularmente?	(S) (N)
¿Con qué frecuencia?	(horas/semana)
Tipo de actividad	(moderada) (fuerte)
¿En su puesto de trabajo está expuesto a sustancias tóxicas o volátiles?	(S) (N)
¿Ha padecido alguna enfermedad recientemente?	(S) (N)
Si la ha padecido diga cuál	
¿Está tomando algún medicamento?	(S) (N)
¿Es fumador? Si lo es indique los cigarrillos/día	(S) (N)
¿Sigue alguna dieta especial?	(S) (N). Describala
¿Toma bebidas alcohólicas?	(S) (N). Indique cuales y con qué frecuencia.

referencia estudiando retrospectivamente los resultados de pacientes disponibles en la base de datos del laboratorio, aunque este procedimiento no está avalado por el CLSI 28-A3^{6,8}.

En nuestro estudio pretendemos definir los intervalos de referencia para algunas de las magnitudes bioquímicas más frecuentemente analizadas en nuestro laboratorio, como son urea, sodio, potasio, calcio, magnesio y osmolalidad. Para ello seleccionamos una muestra estadísticamente significativa de la población de referencia formada por 146 individuos entre los donantes sanos que acuden al banco de sangre de nuestro centro y que cumplían con los criterios necesarios para ser considerados como población de referencia.

Material y métodos

La muestra de referencia se seleccionó entre la población de donantes sanos que acudieron al banco de sangre de nuestro centro. La selección de la muestra se realizó mediante la cumplimentación de una encuesta de salud (tabla 1) basada en las recomendaciones del documento CLSI 28-A3⁶. Se excluyeron aquellos individuos que cumplían alguno de los criterios fijados por los autores¹²⁻¹⁴ que se consignan en la tabla 2. Se reunieron en total 146 individuos de referencia, a los que se extrajo sangre en tubos

de heparina de litio, aplicándose el torniquete un tiempo inferior a 2 minutos para evitar la hemólisis¹³ obteniéndose el plasma por centrifugación a 1.700 rpm durante 5 minutos sin que transcurriesen más de 20 minutos desde la extracción hasta la centrifugación. La presencia de hemólisis, lipemia o ictericia se definió como criterio de rechazo de las muestras.

Los plasmas fueron analizados inmediatamente tras su obtención sin que mediasen ciclos de congelación. Los análisis bioquímicos se llevaron a cabo en varias series analíticas. Para la determinación de urea, sodio, potasio, calcio y magnesio se utilizó el analizador Unicell DXC 800 (BECKMAN-COULTER®). El sodio, potasio y calcio se midieron por potenciometría indirecta con electrodos selectivos, mientras que la urea se determinó por un método conductimétrico acoplado a la formación de ión amonio mediante la ureasa presente en el reactivo. El magnesio se midió mediante formación de complejo capaz de absorber la luz, mediante reacción con calagmite. La osmolalidad plasmática se determinó mediante descenso del punto de congelación de la muestra respecto al agua pura (crioscopía) con un microosmómetro 3300 (Advanced Instruments®). Las características operativas de los métodos empleados se recogen en la tabla 3.

Se analizó la presencia de valores atípicos o aberrantes para cada una de las series, correspondientes a cada magnitud biológica, mediante la prueba de Tukey¹⁵. Cuando se detectó la presencia de valores atípicos fueron eliminados para realizar los posteriores análisis estadísticos. Se aplicó el test de Kolmogorov-Smirnov⁸ para demostrar la existencia o no de una distribución normal. Para la construcción de los intervalos de referencia se usó el método no paramétrico basado en percentiles descrito en el documento CLSI C28-A3 calculando los intervalos de confianza que incluyen el 95% de las observaciones⁶. En todos estos análisis estadísticos se utilizó el paquete de software MedCalc 11.3.

Además se procedió a la partición de los datos en subclases por sexo y en 3 grupos de edad (entre 19-34 años, entre 35-49 años y entre 50-62 años). Para demostrar si estaba justificada la elaboración de intervalos de referencia en cada subclase se empleó el método de Harris y Boyd¹⁶, según el cual se deben elaborar intervalos de referencia por separado si el cociente de desviaciones típicas de cada subclase es superior a 1,5 ($s_1/s_2 > 1,5$).

Tabla 2 Criterios de exclusión

Enfermedad reciente
Hospitalización reciente
Cirugía reciente
Hipertensión
Enfermedades genéticas
Embarazo
Lactancia
Consumo de alcohol (> 100 g etanol/semana) o drogas de abuso
Uso crónico de fármacos
Tabaquismo
Obesidad
Actividad física intensa
Dietas especiales

Tabla 3 Características analíticas de los métodos estudiados

Método	Imprecisión total (CV%)	Límite de detección	Linealidad	Interferencias endógenas	Anticoagulantes que interfieren
Osmolalidad	2	50 mosm/kg	50-900 mosm/kg	NIS	EDTA Oxalato Citrato
Na	1,5	100 mM	100-200 mM	Lipidemia	Oxalato Fluoruro Citrato
K	3	1 mM	1-15 mM	Hemólisis Lipidemia	EDTA
Ca	3	2 mg/dL	2-20 mg/dL	Lipidemia	EDTA Citrato
Mg	3,8	0,1 mg/dL	0,1-7 mg/dL	Hemólisis Lipidemia	EDTA Oxalato Fluoruro
Urea	4,5	1 mg/dL	1-322 mg/dL	NIS	Citrato Fluoruro Oxalato

Características operativas de los métodos estudiados según la validación realizada en nuestro laboratorio siguiendo los protocolos de la Sociedad Española de Bioquímica Clínica y Patología Molecular para el estudio de la linealidad y de la imprecisión.

Resultados

La muestra que hemos seleccionado como representativa de la población de referencia está comprendida por 146 individuos, de los cuales 96 son varones (65,75%) y 50 mujeres (34,25%), con edades comprendidas entre los 19-62 años (media 41, mediana 42, desviación estándar 12).

No se obtuvo ninguna muestra hemolizada, lipémica ni icterica, por lo que fueron analizados los 146 plasmas. Según el test de Tukey¹⁵ para los valores aberrantes no se hallaron valores atípicos para urea, sodio, potasio, mientras que para la osmolalidad, calcio y magnesio se hallaron 4 valores atípicos. Estos valores se excluyeron para los posteriores análisis estadísticos.

La aplicación del test de Kolmogorov-Smirnov permitió demostrar que se cumple normalidad para la distribución de valores de urea, potasio, osmolalidad, y calcio, mientras que se rechaza la hipótesis de normalidad para el sodio y magnesio. En la [tabla 4](#) aparecen los estadísticos descriptivos obtenidos para cada una de las magnitudes biológicas, así como el resultado obtenido para el test de normalidad.

En la [tabla 5](#) se recogen los intervalos de referencia definidos usando el método no paramétrico de los percentiles del CLSI C28-A3⁶.

La aplicación del método de Harris y Boyd⁹ no justificó la obtención separada de intervalos de referencia por sexos, siendo el cociente de las desviaciones típicas obtenidas para cada una de las subclases inferior en todos los casos a 1,5 (urea: $8,38/7,84 = 1,069$; sodio: $1,98/1,9 = 1,05$; potasio: $1,98/1,90 = 1,042$; calcio: $0,33/0,31 = 1,06$; magnesio: $0,11/0,10 = 1,1$; osmolalidad: $4,03/3,81 = 1,05$). Análogo resultado se obtuvo al dividir el grupo en 3 rangos de edad, por lo que los valores de referencia para cada grupo de edad no son distintos desde el punto de vista de la significación estadística.

Discusión y conclusiones

Los valores de referencia de una determinada magnitud biológica no son universales. Cada laboratorio debería establecerlos con los individuos de la población que atiende, al menos cuando se introduce una nueva magnitud o cuando se cambia el procedimiento de medida². Sin embargo en la práctica no es muy habitual la obtención de valores de referencia propios debido a la dificultad de definir los criterios de inclusión de los individuos y a que se requiere gran número de ellos, por lo que se suele consultar la bibliografía o la información suministrada por los fabricantes de reactivos⁸.

En la mayoría de los *Insert* producidos por los fabricantes de reactivos se subraya la necesidad de establecer valores de referencia en cada laboratorio, lo que es especialmente importante cuando se introduce una nueva magnitud bioquímica en el laboratorio o se realiza un cambio en la tecnología analítica¹⁷. Cuando se trata de magnitudes bioquímicas de uso ampliamente extendido puede ser lícito un diseño mucho más sencillo, que consiste en validar el intervalo de referencia del fabricante, analizando 20 muestras de sujetos supuestamente sanos^{8,17}, de modo que se acepta el intervalo propuesto si no hay más de 3 valores que queden fuera del citado intervalo. En caso de que haya 3 o más valores que salgan del intervalo el estudio se ampliaría a otros 20 sujetos, aplicándose el mismo criterio de aceptación. En caso de rechazo de esta segunda serie debería recurrirse a la elaboración de intervalo de referencia propio según los criterios del documento CLSI C28-A3⁶.

Algunos autores han propuesto, para dar mayor facilidad a la producción de valores de referencia el muestreo a posteriori, es decir el uso de la base de datos del laboratorio, estudiando retrospectivamente los resultados de sujetos aparentemente normales^{2,8}, este procedimiento no está validado por la IFCC ni el CLSI. En nuestro caso, a pesar de tratarse de magnitudes bioquímicas

Tabla 4 Descripción de la muestra de referencia

Magnitud	Rango de valores	Media (Sd)	Mediana	Gaussianidad
Urea (mg/dL)	10-52	28,87 (8,17)	28	Sí (p = 0,175)
Sodio (mmol/L)	136-146	140,53 (1,95)	141	No (p < 0,05)
Potasio (mmol/L)	3,3-4,8	4,01 (0,29)	4	Sí (p = 0,21)
Calcio (mg/dL)	8-9,5	8,81 (0,32)	8,8	Sí (p = 0,097)
Magnesio (mg/dL)	1,9-2,2	2,05 (0,1)	2,1	No (p < 0,01)
Osmolalidad (mosm/kg)	288-307	297,41 (3,96)	297	Sí (p = 0,52)

En esta tabla se recogen los estadísticos descriptivos para la muestra de referencia en donde Sd indica desviación estándar. En la columna de la derecha aparece si se cumple o no la normalidad de la distribución según el test de Kolmogorov-Smirnov indicando el valor del estadístico p o probabilidad de rechazo de la gaussianidad.

Tabla 5 Valores de referencia obtenidos

Magnitud	Límite bajo (IC 90%)	Límite alto (IC 90%)
Urea (mg/dL)	13,67 (10-18)	48 (44-52)
Sodio (mmol/L)	136,67 (136-138)	145 (144-146)
Potasio (mmol/L)	3,37 (3,3-3,5)	4,6 (4,50-4,80)
Calcio (mg/dL)	8 (8-8,20)	9,3 (9,30-9,50)
Magnesio (mg/dL)	1,9 (1,90-1,90)	2,2 (2,20-2,20)
Osmolalidad (mosm/kg)	290 (288-291)	305,42 (304-307)

Valores de referencia obtenidos con el método no paramétrico propuesto en el CLSI C28-A3. Entre paréntesis se indican los intervalos de confianza calculados con una precisión del 90%.

convencionales con valores de referencia muy establecidos hemos optado por seleccionar los individuos de referencia entre aquellos que acuden como donantes de sangre de nuestro centro mediante una encuesta de salud ([tabla 1](#)) haciendo el cribado mediante los criterios de exclusión establecidos en la [tabla 2](#).

El tamaño de muestra de referencia que se considera como aceptable para la producción de valores de referencia es de 120 individuos^{2,6,8}, condición que se cumple sobradamente en nuestra muestra (146 individuos) incluso con la eliminación de valores aberrantes, ya que solo hay 4 valores atípicos.

En la [tabla 6](#) se muestran los valores de referencia usados hasta ahora en nuestro laboratorio para las magnitudes estudiadas, que están tomados de la información suministrada por los fabricantes para el mismo tipo de espécimen (plasma heparina de litio). Comparando los intervalos

obtenidos por nuestro grupo con los ofrecidos por el fabricante mediante la aproximación propuesta por Horn y Pesce⁸, que consiste en comparar los ratios de las amplitudes de los intervalos para el mismo analito, calculando el promedio de los logaritmos decimales de este cociente y de su inverso, obtenemos valores muy próximos a la unidad excepto para la urea y el magnesio. Esto indica que en las demás magnitudes serían asumibles los intervalos propuestos por el fabricante de reactivos.

Nuestro trabajo nos permite concluir la conveniencia obtener valores de referencia propios de la población atendida por el laboratorio, siendo aceptable verificar los ofrecidos por el fabricante mediante el procedimiento abreviado expuesto anteriormente.

Conflicto de intereses

Los autores declaran no tener ningún conflicto de intereses.

Bibliografía

1. Fuentes X. Variabilidad y valores de referencia. En: Fuentes Arderiu X, Queraltó Compañó JM, editores. *Bioquímica Clínica: aspectos semiológicos*. Barcelona: Ediciones Mayo; 1992. p. 1-12.
2. Solberg HE. Establishment and use of reference values. En: Burtis C, Ashwood E, Bruns D, editores. *Tietz Textbook of Clinical Chemistry*. St. Louis Missouri: Elsevier Saunders; 2006. p. 992-3.
3. Grasbeck R, Saris NE. Establishment and use of normal values. *Scand J Clin Lab Invest*. 1969;26 Suppl 110:62-3.
4. Solberg HE. Approved recommendation (1986) on the theory of reference values Part 1: The concept of reference values. *Clin Chim Acta*. 1987;167:111-8.

Tabla 6 Valores de referencia propuestos por los fabricantes

Magnitud	Límite bajo	Límite alto
Urea (mg/dL)	12	44
Sodio (mmol/L)	136	145
Potasio (mmol/L)	3,5	5,1
Calcio (mg/dL)	8,9	10,3
Magnesio (mg/dL)	1,8	2,5
Osmolalidad (mosm/kg)	275	295

Tabla VI: se recogen los límites de referencia propuestos por los fabricantes de reactivos, Beckman-Coulter® en especímenes de plasma heparina de litio, en el caso de urea, electrolitos, calcio y magnesio y Advanced Instruments® en el caso de la osmolalidad.

5. PetitClerc C, Solber HE. Approved recommendation (1987) on the theory of reference values Part 2. Selection of individuals for the production of reference values. *J Clin Chem Clin Biochem.* 1987;25:639–44.
6. CLSI. Defining, Establishing, and Verifying Reference Intervals in the Clinical Laboratory: Approved Guideline-Third Edition. En: CLSI document CA28-A3. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2008.
7. International Organization for Standardization. Medical laboratories-particular requirements for quality and competence. ISO 15189. Geneva: ISO; 2007.
8. Horn PS, Pesce AJ. Reference intervals: An update. *Clinica Chimica Acta.* 2003;334:5–23.
9. Lo YC, Armbruster A. Reference intervals of common clinical chemistry analytes for adults in Hong Kong. *eJIFCC* [revista electrónica]. Vol 23 (1). [consultado 17 Mar 2014]. Disponible en: [http://www.ifcc.org/ifcc-communications-publications-division-\(cpd\)/ifcc-publications/ejifcc-\(journal\)/](http://www.ifcc.org/ifcc-communications-publications-division-(cpd)/ifcc-publications/ejifcc-(journal)/)
10. Van den Bosch G, van den Bossche JV, Wagner C, de Schouwer P, van De Vyvere M, Neels H. Determination of iron metabolism-related reference values in a healthy adult population. *Clin Chem.* 2001;47:1465–7.
11. Erlandsen EJ, Randers E. Reference interval for serum C-reactive protein in healthy blood donors using the Dade Behring N Latex CRP mono assay. *Scand J Clin Lab Invest.* 2000;60:37–43.
12. Grossi E, Colombo R, Cavuto S, Franzini C. The Realab project: a new method for the formulation of reference intervals based on current data. *Clin Chem.* 2005;51:1232–40.
13. Queraltó JM, Antoja F, Cortés M, Doménech MV, Fuentes X, Llangostera MJ, et al. Variaciones analíticas y extra-analíticas en la producción de los valores de referencia. *Química Clínica.* 1984;3:43–50.
14. Queraltó JM, Antoja F, Cortés M, Doménech MV, Fuentes X, Llangostera MJ, et al. Producción y utilización de valores de referencia. *Química Clínica.* 1987;6:49–68.
15. Tukey JW. *Exploratory data analysis.* Reading MA: Addison-Wesley; 1977. p. 688.
16. Harris E, Boyd J. On dividing reference data into subgroups to produce separate reference ranges. *Clin Chem.* 1990;36:265–70.
17. Cerlotti F. Prerequisites for use of common reference intervals. *Clin Biochem Rev.* 2007;28:115–21.