

El biosensor de urea: un método útil para la prescripción de la dosis de hemodiálisis

J. Almirall, M. Jurkiewicz*, M. García, S. Solé*, A. Liesa, J. Padilla, E. Yuste, S. Alegret* y E. Martínez-Fábregas*

Unitat de Nefrologia, Consorci Hospitalari Parc Taulí, Sabadell. * Departamento de Química, Grupo Sensores y Biosensores, Universidad Autónoma de Barcelona.

RESUMEN

La adecuación de la dosis de hemodiálisis sigue siendo un tema de gran interés tanto por sus repercusiones clínicas como económicas. En el presente estudio evaluamos la utilidad clínica y fiabilidad analítica de un biosensor de urea para el cálculo de la dosis de diálisis.

Se ha utilizado un biosensor desarrollado íntegramente en la Universidad Autónoma de Barcelona (Departamento de Química, Grupo Biosensores). Está basado en un sistema de análisis por inyección de flujo que incorpora un reactor, en el que se ha inmovilizado la enzima ureasa, y un detector potenciométrico selectivo a ion amonio. Conectado a la salida del dializador realiza de forma automática determinaciones de la concentración de urea, permitiendo calcular la cantidad eliminada a lo largo de la sesión de hemodiálisis. Estos resultados se han correlacionado con los métodos clásicos de transferencia de urea (recolección en bañera de todo el dializado).

Tras validar el método analítico, se han estudiado 27 sesiones de HD en 16 pacientes.

Los resultados muestran una excelente correlación entre la transferencia de urea determinada con el biosensor: $36,3 \pm 3,5$ gramos respecto a la obtenida con la recolección total del líquido de diálisis y determinación en el laboratorio del hospital: $37,2 \pm 3,5$ gramos ($R = 0,94$).

Concluimos que este modelo de biosensor es un instrumento de gran precisión que permite de forma cómoda y en tiempo real constatar el correcto funcionamiento de la sesión de hemodiálisis, suministrando información sobre la urea total eliminada.

Palabras clave: **Biosensor de urea. Hemodiálisis. Diálisis adecuada.**

Recibido: 20-III-96.
En versión definitiva: 20-VIII-96.
Aceptado: 20-VIII-96.

Correspondencia: Dr. Jaume Almirall.
Unitat de Nefrologia.
Consorci Hospitalari Parc Taulí, AC 196.
08208 Sabadell.

THE ON-LINE UREA SENSOR: A USEFUL METHOD FOR HEMODIALYSIS PRESCRIPTION

SUMMARY

The optimal dose of dialysis to be delivered is a subject of great interest because of its clinical and economical consequences. In this article we evaluate the clinical utility, accuracy and reliability of a new on-line urea monitor. This device has been completely developed in the department of Chemistry of the Autonomous University of Barcelona. Once connected in the effluent dialysate, it automatically displays the cumulative urea removal during the dialysis session.

The results were correlated with the classical methods of urea kinetic modeling. After the analytical method was validated, we studied 27 hemodialysis sessions performed in 16 patients.

The results show a close correlation between the urea transfer obtained with the on-line monitor: $36.3 \pm 3,5$ g and the results obtained with the effluent collection analysed in the hospital lab: 37.2 ± 3.5 g ($R = 0.94$).

We conclude that this on-line urea monitor is accurate and reliable and confirm the convenience and ease of use which facilitate the tailoring of dialysis therapy to patient need.

Key words: **Urea monitor. Dialysis adequacy. Hemodialysis.**

INTRODUCCION

La adecuación de la dosis de hemodiálisis (HD) sigue siendo un tema de gran interés tanto por sus repercusiones clínicas como económicas. La concentración de la urea (U) plasmática ha constituido clásicamente la forma más sencilla y económica de determinar el «grado de toxicidad urémica»

Fueron Sargent y Gotch¹ los primeros en utilizar modelos matemáticos con la finalidad de medir la dosis óptima de HD. Desde entonces el tema de la dosis de HD ha sido motivo de un importante y extenso campo de investigación clínica. Destacan por su importancia los resultados del National Cooperative Dialysis Study², en que por primera vez se demostró la relación existente entre la dosis de HD y la morbilidad de los pacientes. Nuevamente Gotch y Sargent³, reanalizando los resultados de NCDs, formularon los índices de diálisis adecuada por medio del Kt/V (K: aclaramiento de U del dializador en el ml/minuto; t: duración de la diálisis en minutos; V: volumen de distribución de la urea), popularizado como el «modelo cinético de la urea».

En este estudio se constató que los pacientes con valores de Kt/V > 0,9, siempre y cuando mantuvieran una ingesta proteica > 0,8 g/kg/día, tenían un mejor pronóstico. En estos términos, un Kt/V < 0,9 comportaba una mayor morbimortalidad. En este modelo se consideraba que la generación de U ven-

dría determinada por el catabolismo proteico (PCR), que en condiciones estables equivaldría a la ingesta proteica; que su distribución en el organismo equivaldría al agua corporal total y que su eliminación vendría determinada exclusivamente por la función renal residual del paciente y por la dosis de HD administrada.

Más recientemente se ha demostrado en un estudio poblacional sobre más de 13.000 pacientes en HD⁴ la importancia de la dosis de diálisis (determinada mediante el porcentaje de disminución de la U) y del estado nutricional (estimado a partir de la determinación de albúmina) sobre la mortalidad.

Las fórmulas empleadas para estos cálculos son muy complejas y no exentas de errores⁵. Las aproximaciones clásicas al Kt/V simplificado⁶⁻¹⁰ a partir de las variaciones en la concentración de U plasmática están sujetas a importantes imprecisiones y errores, especialmente cuando empleamos diálisis de alta eficacia¹¹⁻¹³.

En un reciente estudio, Sherman y cols.¹⁴ concluyen que el porcentaje de disminución de la U es un método inaceptable de monitorización de la dosis de HD.

Además estas determinaciones se realizan a intervalos prolongados de tiempo, asumiendo una estabilidad, no siempre cierta, de los parámetros dialíticos.

La cuantificación de la U eliminada mediante la recolección en bañera del líquido de diálisis cons-

tituye uno de los medios más precisos para calcular la dosis de HD; sin embargo, es un método engorroso. La disponibilidad de un biosensor (BS) que monitoriza esta eliminación a lo largo de la sesión de HD ofrece diversas ventajas.

En el presente trabajo evaluamos la utilidad clínica y fiabilidad analítica de un BS desarrollado en el Departamento de Química (Grupo Biosensores) de la Universidad Autónoma de Barcelona.

PACIENTES Y METODOS

Tecnología

Se ha utilizado un prototipo de BS experimental desarrollado íntegramente en el Grupo de Sensores y Biosensores del Departamento de Química de la Universidad Autónoma de Barcelona. Está constituido por un reactor de ureasa y un sensor potenciométrico selectivo a ion amonio que, conectado en T a la salida del dializador, permite realizar automáticamente determinaciones seriadas (cada 4 minutos) de U (fig. 1).

El analizador realiza de forma automatizada todo el proceso de toma de muestras, transporte y determinación analítica. Esta información es transmitida a un ordenador personal que, mediante un programa informático, procesa los datos y nos muestra sobre un gráfico y en tiempo real los gramos de U eliminados hasta el momento.

Para confirmar el correcto funcionamiento del sistema analítico se realizaron dos tipos de experiencias:

a) Se tomaron muestras del líquido de diálisis cada 15 minutos (total, 13 muestras) que se repartieron en 4 alícuotas, destinando una para determinación de U por medio del BS, otra fue analizada en el laboratorio del hospital (método espectofotométrico ureasa-GIDH), otra en el laboratorio de la Universidad Autónoma (método espectofotométrico, kit SIGMA) y la última conservada en una muestroteca.

b) Se obtuvieron muestras del líquido de diálisis de todas las experiencias efectuadas para la determinación simultánea de U mediante el BS y el laboratorio del hospital.

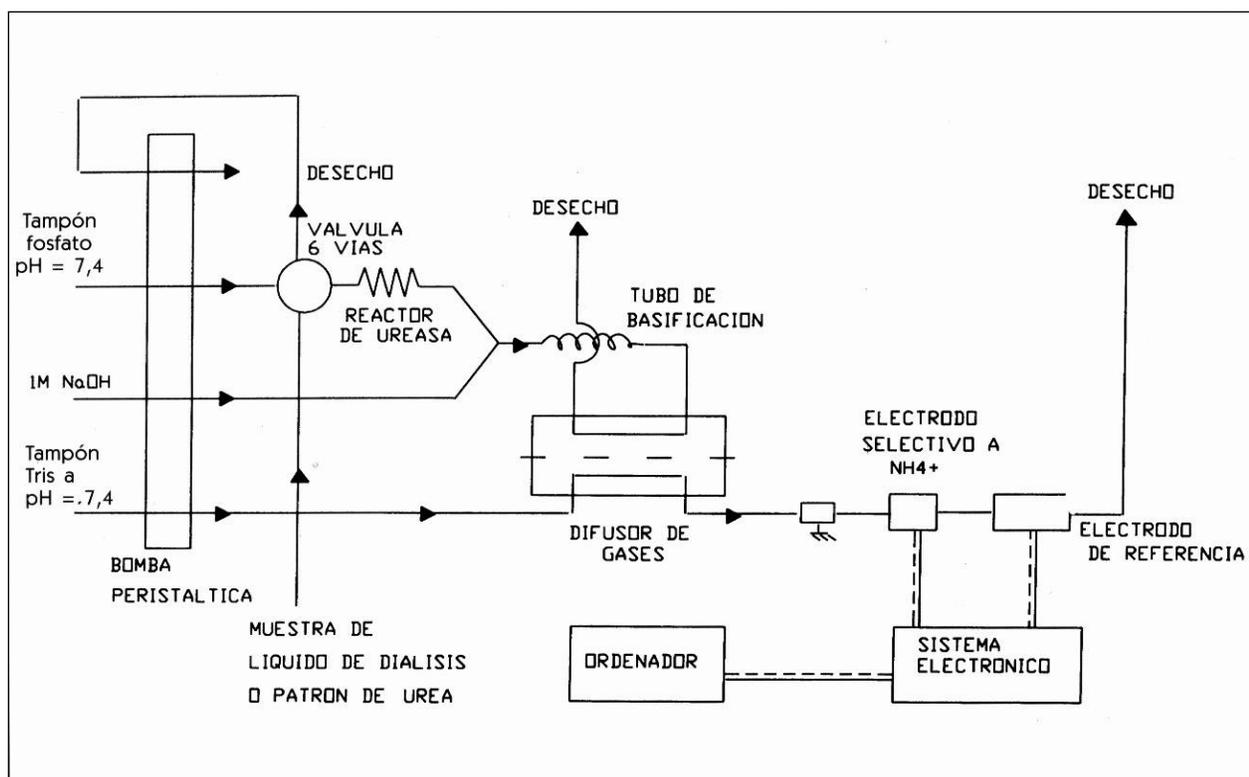


Fig. 1.—Esquema de los elementos integrantes del biosensor.

El cálculo de la transferencia de U (eliminación total de U a lo largo de toda la sesión de HD) mediante el BS se realizó a partir de las determinaciones de U efectuadas cada 4 minutos y ajustando los valores a una función exponencial en función del tiempo (fig. 2). La integral de esta función corresponde a los gramos de U eliminados según la siguiente fórmula:

$$\text{Gr U} = \text{Integral (U mg/dl} \times \text{minuto)} \times \text{caudal dl/minuto} \times 0,001.$$

El valor obtenido con esta integral se correlacionó con el método clásico del cálculo de la transferencia de U mediante la recolección en bañera de todo el líquido de diálisis según la siguiente fórmula:

$$\text{Gr U} = (\text{U mg/dl} \times \text{volumen líquido diálisis (dl)}) / 1.000$$

Pacientes

Se han evaluado 27 sesiones de HD en 16 pacientes, 10 hombres y 6 mujeres, con edades comprendidas entre los 23 y 82 años. Los pacientes realizaron la sesión de HD en régimen habitual con una duración entre 3 y 4 horas. Se utilizó un monitor de diálisis que funcionara con flujo continuo a 500 cc

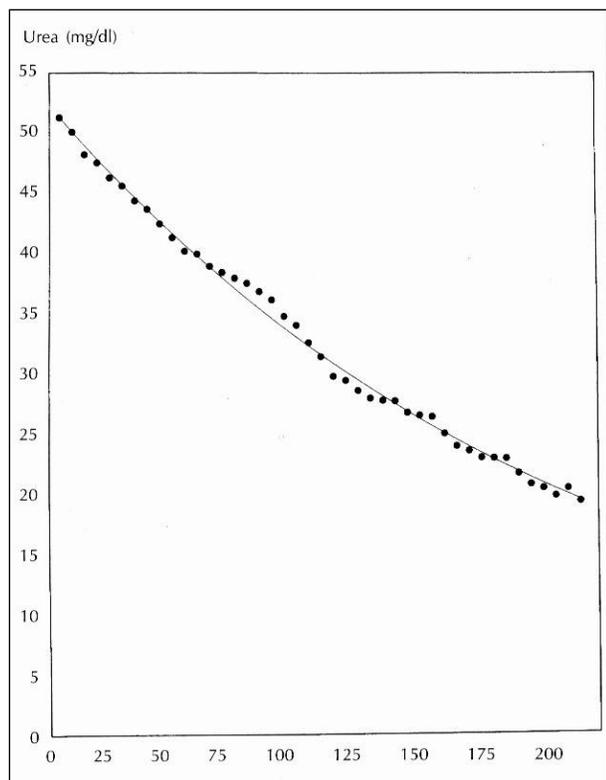


Fig. 2.—Eliminación de la urea a lo largo de una sesión de HD.

por minuto (dicho flujo se confirmó mediante la utilización de un caudalímetro). El capilar era de acetato de celulosa de una superficie entre 1,1 y 1,7 m². El líquido de diálisis utilizado fue de acetato en 6 pacientes y bicarbonato en 10 pacientes.

De las 27 sesiones de HD evaluadas se completó totalmente el estudio en 24 ocasiones. Los motivos por los que se perdieron 3 experiencias fueron los siguientes: una fuga de sangre del dializador, una caída tensión de la red eléctrica, un bloqueo del sistema informático del BS. Asimismo, una muestra destinada a ser procesada mediante el BS sufrió una mala manipulación, por lo que en la figura 4 se representan 23 puntos.

Estudio estadístico

Los resultados vienen expresados como la media \pm intervalo de confianza. En la comparación de resultados se ha utilizado la t de Student, estableciéndose como significativa una $p < 0,05$. Asimismo se han calculado los coeficientes de correlación y se han estimado los coeficientes de las rectas de regresión, aportando información sobre la ordenada, pendiente y coeficiente de regresión.

RESULTADOS

— Validación del sistema analítico: En la figura 3A se representan los valores de U obtenidos con el BS respecto a los valores obtenidos en el laboratorio del hospital. En la figura 3B, los mismos resultados en comparación con los obtenidos en el laboratorio de la Universidad Autónoma. Observamos un alto grado de correlación con una R de 0,9975 y 0,9948, respectivamente (p NS).

El cálculo de los gramos de U eliminados mediante la recolección en bañera del líquido de diálisis y determinación con el laboratorio del hospital fue de $37,2 \pm 3,5$, sin diferencias respecto a los resultados obtenidos mediante el BS: $34,6 \pm 4$. En la figura 4 se representa gráficamente esta correlación con una R: 0,93.

— Validación del cálculo de la transferencia de U mediante la obtención de la integral de la exponencial obtenida con el BS: En la figura 5 viene representada la recta de correlación entre los gramos de U calculados a partir de la integral de la exponencial del BS respecto a los obtenidos con el método clásico (recolección en bañera y determinación en el laboratorio del hospital). Obtenemos unos valores de $36,3 \pm 3,5$ vs $37,2 \pm 3,5$ gramos, respectivamente (p NS), con una R = 0,94.

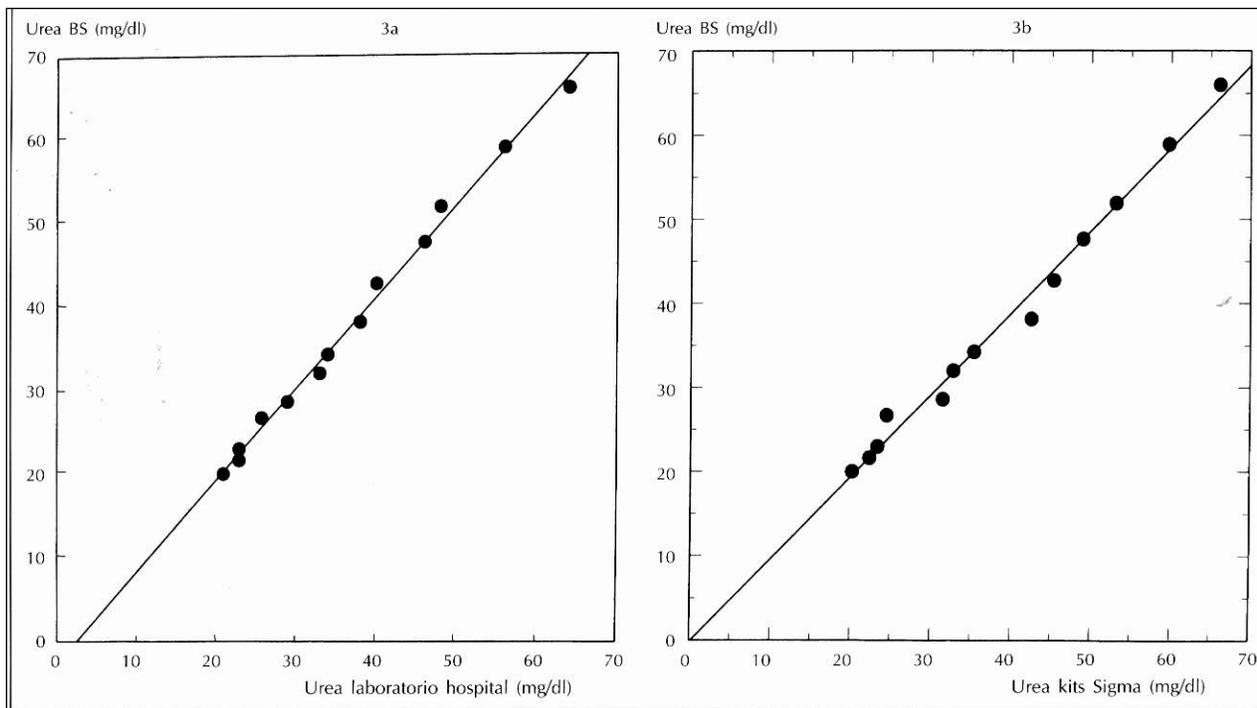


Fig. 3a.—Correlación en las determinaciones de urea mediante el biosensor y el laboratorio del hospital. $r = 0,9975$; pendiente: $1,10 \pm 0,06$; ordenada: $-3,11 \pm 2,49$; t de Student calculada: $1,59 < t$ tabla 2,18 (p NS).
 3b.—Correlación en las determinaciones de urea mediante el biosensor y el laboratorio de la Universidad. $r = 0,9948$; pendiente: $0,98 \pm 0,05$; ordenada: $-0,20 \pm 1,50$; t de Student calculada: $2,10 < t$ tabla 2,18 (p NS).

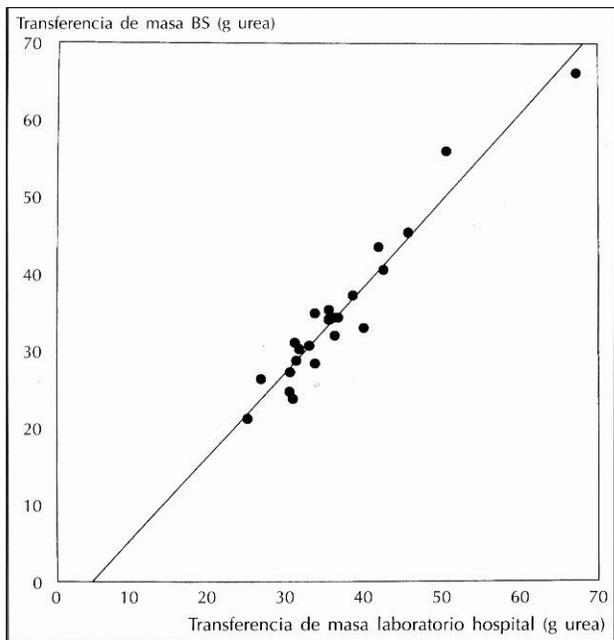


Fig. 4.—Correlación entre el cálculo de la eliminación total de urea según el biosensor y el laboratorio del hospital a partir de la recolección en bañera de todo el efluente del dializado. $r = 0,9655$; pendiente: $1,10 \pm 0,14$; ordenada: $-4,90 \pm 5,00$; t de Student calculada: $2,04 < t$ tabla 2,07 (p NS).

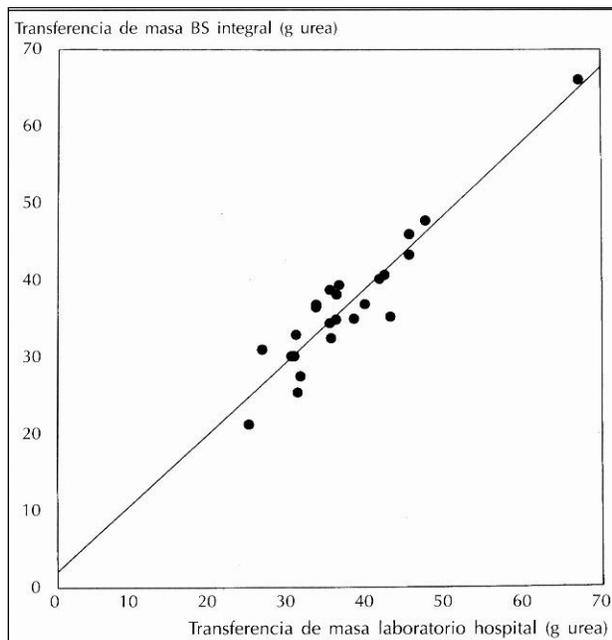


Fig. 5.—Correlación entre la eliminación total de urea calculada a partir de la integral de la curva obtenida con el biosensor y la obtenida mediante el laboratorio del hospital: $r = 0,9380$; pendiente: $0,94 \pm 0,10$; ordenada: $2,10 \pm 5,80$; t de Student calculada: $0,38 < t$ tabla 2,07 (p NS).

DISCUSION

Conseguir la dosis de HD adecuada para cada paciente sigue siendo un tema de gran interés tanto por sus repercusiones clínicas como económicas. Por estos motivos, en los últimos años se han realizado esfuerzos intentando rentabilizar al máximo el tratamiento dialítico, aumentando en lo posible la eficacia depuradora y disminuyendo los tiempos en HD. Estas reducciones en la dosis de diálisis deben mantenerse dentro de unos límites que no comporten un aumento de la morbilidad de estos pacientes. Estos límites fueron establecidos por Gotch y Sargent³ a partir de los resultados del National Cooperative Dialysis Study², en los que por primera vez se estableció la relación existente entre la dosis de HD y morbilidad. Las fórmulas empleadas para estos cálculos son complejas, haciéndolas poco prácticas para la prescripción habitual.

Para ello se han desarrollado diversas fórmulas simplificadas⁶⁻¹⁰ que, si bien facilitan la dosificación, están sujetas a importantes imprecisiones y errores. Estos errores son especialmente notables cuando utilizamos sistemas de diálisis de alta eficacia¹¹⁻¹³ debido en general a problemas de recirculación sanguínea por fístulas arteriovenosas insuficientes o por el fenómeno del «rebote» de la U.

La determinación directa de la U eliminada durante la sesión de HD es uno de los métodos más precisos para cuantificar la dosis de HD; sin embargo, recolectar todo el efluente del líquido de diálisis en una bañera (unos 120 litros por sesión aproximadamente) tiene importantes inconvenientes.

Recientemente se están desarrollando diversos instrumentos de cuantificación automática de la cantidad de U eliminada^{5, 15-20}. En el presente estudio hemos utilizado un sistema BS desarrollado íntegramente en el Grupo de Sensores y Biosensores del Departamento de Química de la Universidad Autónoma de Barcelona.

Dicho sistema viene utilizándose desde el año 1989 para el control de ion amonio en aguas fluviales de la cuenca del río Llobregat^{21, 22}.

Los resultados de esta experiencia demuestran que este modelo de BS es también un sistema preciso y útil en la cuantificación de la U eliminada durante la sesión de HD. Ello lo convierte en una buena herramienta en la prescripción de la dosis de HD, ya que puede adaptarse fácilmente a cualquier tipo de riñón artificial, exigiendo únicamente que se trate de dializadores de flujo continuo.

Además de su exactitud analítica, el gran número de determinaciones (aproximadamente 60 determinaciones por sesión de diálisis) aumenta la fiabilidad de los datos. Como otras ventajas destacamos

que no precisa extracciones hemáticas, que las determinaciones se realizan con independencia del laboratorio central y en tiempo real, permitiendo una prescripción individualizada.

Es de esperar que en los próximos años asistamos a la progresiva incorporación de estas tecnologías a los monitores de diálisis con la finalidad de optimizar el tratamiento, haciendo las diálisis más cómodas y seguras.

Bibliografía

1. Sargent JA y Gotch FA: The study of uremia by manipulation of blood concentrations using combinations of hollow fiber devices. *ASAIO Trans* 20: 395-401, 1974.
2. Lowrie EG, Laird NM, Parker TF y Sargent JA: Effect of the hemodialysis prescription on patient morbidity: Report from the National Cooperative Dialysis Study. *N Engl J Med* 305: 1176-1181, 1981.
3. Gotch F y Sargent JA: A mechanistic analysis of the National Cooperative Dialysis study (NCDS). *Kidney Int* 28: 526-534, 1985.
4. Owen WG, Lew NL, Liu Y, Lowrie EG y Lazarus JM: The urea reduction ratio and serum albumin concentration as predictors of mortality in patients undergoing hemodialysis. *N Engl J Med* 329: 1001-6, 1993.
5. Keshaviah P y Star RA: A new approach to dialysis quantification: an adequacy index based on solute removal. *Sem Dial* 7: 85-90, 1994.
6. Jndal KK, Manuel A y Goldstein MB: Percent reduction in blood urea concentration during hemodialysis (PRU). A simple and accurate method to estimate Kt/V urea. *ASAIO Trans* 33: 286-288, 1987.
7. Barth RH: Direct calculation of Kt/V: a simplified approach to monitoring of hemodialysis. *Nephron* 50: 155-191, 1988.
8. Daugirdas JF: The post-pre-dialysis plasma urea nitrogen ratio to estimate Kt/V and nPCR: matemtical modeling. *Int J Artif Org* 12: 412-419, 1989.
9. Basile C, Casino F y López T: Percent reduction in blood urea concentration during dialysis estimates Kt/V in a simple and accurate way. *Am J Kidney Dis* 15: 40-45, 1990.
10. Daugirdas JF: Linear estimates of variable-volume, single-pool Kt/V: an analysis of error. *Am J Kidney Dis* 22: 267-270, 1993.
11. Pedrini LA, Zereik S y Rasmy S: Causes, kinetics and clinical implications of post-hemodialysis urea rebound. *Kidney Int* 34: 817-824, 1988.
12. Daugirdas JF y Schneditz D: Postdialysis urea rebound: measurement, prediction and effects of regional blood flow. *Dial Transplant* 23: 166-173, 1994.
13. Spiegel DM, Baker PL, Badcock S, Contiguglia R y Klein M: Hemodialysis urea rebound: The effect of increasing dialysis efficiency. *Am J Kidney Dis* 25: 26-29, 1995.
14. Sherman RA, Cody RP, Rogers ME y Solanchick JC: Accuracy of the urea reduction ratio predicting dialysis delivery. *Kidney Int* 47: 319-321, 1995.
15. Lindsay R, Heidenheim P, Abu Nadar P y McCarty G: On-line urea kinetic modelling: preliminary results. *Nephrol Dial Transplant* 8: 995 (abstract), 1993.
16. Canaud B, Bosch J, Tam VO, Garred L, Keshaviah P y Mion C: Routine and precise dialysis quantification made possible with in-line dialysate urea sensing monitor. XXXI Congress of European Dialysis and Transplant Association. Viena, abstract, 231, 1994.

17. Tallón S, Hernández G, Alvarez-Lara MA, Espinosa Pérez R, Martín-Malo A y Aljama P: Monitorización continua de la urea: una nueva alternativa de la prescripción de diálisis. *Nefrología* 14: 678-686, 1994.
18. Jacobs P, Suls J, Sansen W y Hombrouckx R: A disposable urea sensor for continuous monitoring of hemodialysis efficiency. *ASAIOJ* 39: 353-358, 1993.
19. Alvarez-Lara MA y Martín-Malo A: Monitorización continua de la dosis de diálisis. *Nefrología* 14: 646-650, 1994.
20. De Francisco ALM, Escallada R, Cobo M, Torrijos J, Rodrigo E y Arias M: Dosis adecuada de diálisis. Aportaciones del control continuo de urea en el ultrafiltrado. *Nefrología* 15: 565-571, 1995.
21. Alegret S, Alonso J, Bartolí J y Martínez-Fábregas E: Flow injection system for on-line potentiometric monitoring of ammonia in freshwater streams. *Analyst* 114: 1443-47, 1989.
22. Salvatella N, Soler J, Pujadas M, Martínez-Fábregas E y Alegret S: Analizador continuo de amoníaco en aguas fluviales. *Tecnología del Agua* 94: 25-30, 1992.