
COMPARACIÓN DE MÉTODOS SEMICUANTITATIVOS Y CUALITATIVOS PARA LA DETERMINACIÓN DE VALORES DE PROTEÍNAS EN ORINA

COMPARISON OF SEMIQUANTITATIVE AND QUALITATIVE METHODS FOR THE
DETERMINATION OF PROTEIN VALUES IN URINE

RIVERO A. Yaritza Mariel, MENDIETA O. Mabel Guadalupe, ECHALAR R. Jhean Carla

*Universidad San Frncisco Xavier de Chuquisaca, Facultad de Ciencias Químico Farmacéuticas y Bioquímicas,
Carrera de Bioquímica.
Jheancarlaer@gmail.com
Sucre, Bolivia*

Recibido en 19 de abril de 2019
Aceptado en 20 de mayo de 2019



Resumen

El análisis de orina es de vital importancia para el diagnóstico y seguimiento terapéutico en pacientes renales y desde la introducción de las tiras reactivas múltiples, el examen de orina se ha convertido en un procedimiento sensible y más rápido. El objetivo de la investigación fue la comparación de los métodos Método Cuantitativo - Colorimétrico del Rojo de Pirogalol y el método Semicuantitativo de Tiras Reactivas para determinar valores de proteínas en orina en pacientes del Instituto Gastroenterológico Boliviano Japonés de la ciudad de Sucre. La población de estudio estuvo constituida por un total de 100 pacientes de ambos géneros (56 mujeres y 44 hombres). Se encontr que entre Germanie, Multistix y Biotech no existen diferencias estadísticamente significativas en cuanto a método cuantitativo colorimétrico rojo de pirogalol, en cambio con Mission, Teco y Dialab si existen diferencias estadísticamente significativas. También se obtuvo diferencias en la sensibilidad, especificidad, valor predictivo positivo, valor predictivo negativo y el t-Test, destacándose la marca de tira reactiva Germanie con 80,28 % de sensibilidad, 100 % de especificidad, 100 % valor predictivo positivo y 67,44 % valor predictivo negativo, seguida de Multistix y Biotech.

Palabras clave: Tiras reactivas, Patologías renales, diagnóstico, sensibilidad, especificidad

Abstract

The analysis of urine is of vital importance for the diagnosis and therapeutic monitoring in renal patients and since the introduction of multiple test strips, the urine test has become a sensitive and faster procedure. The objective of the investigation was the comparison of the methods Quantitative - Colorimetric of the Pirogalol Red and the semi-quantitative method of Reactive Strips to determine protein values in urine in patients of the Bolivian Japanese Gastroenterological Institute of the city of Sucre. The study population consisted of a total of 100 patients of both genders (56 women and 44 men). It was found that between Germanie, Multistix and Biotech there are no statistically significant differences in terms of red pyrogallol colorimetric quantitative method, instead with Mission, Teco and Dialab if there are statistically significant differences. Differences in sensitivity, specificity, positive predictive value, negative predictive value and t-Test were also obtained, highlighting the Germanie strip test with 80.28% sensitivity, 100% specificity, 100% positive predictive value and 67.44% negative predictive value, followed by Multistix and Biotech.

Keywords: Reactive strips, renal pathologies, diagnosis, sensitivity, specificity

Introducción

El mundo transita por una verdadera epidemia de las llamadas "enfermedades crónicas no comunicables": diabetes mellitus, hipertensión arterial, enfermedad cardiovascular, enfermedad renal crónica. La Organización Mundial de la Salud (OMS) estima que estas son responsables del 60% de las muertes a nivel mundial. Diversos estudios señalan que los países menos desarrollados soportan la mayor carga de este grupo de enfermedades por dos aspectos, el primero la falta de recursos humanos y económicos y segundo por hallarse en una transición epidemiológica.

Los Riñones y el Sistema Genitourinario.- La orina es filtrada por el glomérulo y recogida en un espacio confinado por la cápsula de Bowman. Desde aquí transportada a través del túbulo contorneado proximal, el asa de Henle y el túbulo contorneado distal, hacia los túbulos colectores, los cuales, por medio de la pirámide medular, desembocan en los cálices renales. La orina es filtrada principalmente gracias a la presión hidrostática sanguínea.

Son también factores importantes en la formación de la orina: 1) la presión osmótica, que es dependiente en gran parte de las proteínas plasmáticas de la sangre; 2) la presión de la propia orina ya excretada, a nivel del sistema colector. El glomérulo actúa, pues, como un filtro o criba que separa determinados corpúsculos y no deja pasar proteínas. La filtración glomerular supone aproximadamente 190 litros diarios de líquido, sin embargo, al pasar el filtrado del glomérulo a la capsula de Bowman y a los túbulos, la reabsorción, secreción y excreción alteran la constitución del producto final y solamente un 1 por 100 del filtrado total será excretado como orina en la pelvis renal.

La orina es recogida en la pelvis renal y progresa, a ondas peristálticas, a través de la unión uretro-pélvica y del uréter.

En condiciones normales, la orina pasa a través del orificio uretral solamente en dirección, es decir, hacia la vejiga. Si la presión vesical aumenta, el tejido mucoso de la pared interna del uréter es presionado contra la pared posterior del mismo, previniendo así el retorno de la orina, o reflejo besico uretral.

La vejiga es un órgano musculoso hueco, redondeado, que normalmente puede distenderse para albergar un contenido de unos 500 ml. Sin embargo, en ciertas condiciones, la vejiga puede distenderse más allá de su normal capacidad. En el hombre, la cara posterior de la vejiga se sitúa cerca del recto. En la mujer, la porción superior de la vagina y el útero se interponen entre la vejiga y el recto. La cara superior de la vejiga está cubierta por peritoneo.¹

Insuficiencia Renal.- Se define como Insuficiencia Renal (IR) a la pérdida de función de los riñones independientes de cual sea la causa.

Las personas con insuficiencia renal se someten a diálisis un proceso de limpiar artificialmente la sangre, o reciben un riñón sano de un donante en un trasplante renal.

Evolución de la Insuficiencia Renal.- La Insuficiencia Renal toma años en desarrollarse. En algunas personas, la filtración de los riñones funciona mejor de lo normal durante los primeros años de padecer diabetes.

Con el paso de los años, en personas que padecen enfermedad renal, pequeñas cantidades de albumina (una proteína de la sangre) empiezan a pasar a la orina.

Esta primera etapa de la Insuficiencia Renal Crónica se conoce como micro-albuminuria. A medida que la enfermedad progresa, pasa más albumina a la orina. Esta etapa se puede denominar micro-albuminuria o proteinuria. El cuerpo retiene algunos materiales de desecho cuando la filtración se deteriora. Mientras progresa el daño renal, frecuentemente aumenta la presión arterial.

La enfermedad renal crónica es un grave problema de salud pública a nivel mundial, la prevalencia e incidencia de la Insuficiencia Renal Crónica Terminal (IRCT) está aumentando en todo el mundo de forma acelerada, fenómeno que también está siendo registrado en Bolivia, puesto que presenta una elevada morbi - mortalidad, como consecuencia de la enfermedad cardiovascular asociada a la pérdida de la función renal. El costo que significa mantener a un paciente en terapia de sustitución renal como es la diálisis es extremadamente elevado.

El Programa Nacional de Salud Renal, dependiente del Ministerio de Salud y Deportes, fue creado mediante la Resolución Ministerial N° 0001 de 6 de enero 2005, con el único objetivo de controlar estratégicamente las enfermedades renales a nivel nacional, y hoy junto a las distintas instituciones y sociedades médico científicas relacionadas a la materia, se encuentran preocupados por la población de pacientes con enfermedad renal crónica por diversos factores, primero porque produce gran mortalidad a cualquier edad, sexo y raza, (siendo 20 veces mayor en pacientes jóvenes), el hecho de tener IRCT aumenta el riesgo de morir de un infarto. Se sabe desde hace años que el hecho de tener una creatinina elevada aumenta la tasa acumulativa por infarto a nivel poblacional.²

Es por esta circunstancia el Programa de Salud Renal trabaja en base a tres estructuras importantes: el Programa de Prevención y Control de Enfermedades Renales, el Programa de Diálisis y el Programa de Trasplante, dentro de las tres estructuras el análisis de orina es de vital importancia para el diagnóstico de muchos procesos patológicos a nivel del riñón, vías urinarias y otros órganos. Desde la introducción de las tiras reactivas múltiples, el examen de orina se ha convertido en un procedimiento sensible y más rápido; actualmente es posible analizar hasta diez pruebas diferentes en menos de 120 segundos. Por otra parte, los equipos de lectura automatizada de tiras reactivas, para uroanálisis, diseñados para medir la intensidad de las reacciones y eliminar las variaciones dadas por el observador, proporcionan resultados más confiables por la incorporación de circuitos específicos para la lectura de la reacción química de cada elemento.

La presencia de concentraciones elevadas de proteína en orina, de modo persistente, es un signo de problema o lesión renal y constituye, junto con la estimación del filtrado glomerular, la base sobre la que se sustenta el diagnóstico de la enfermedad renal crónica (ERC). Su presencia identifica a un grupo de pacientes con un riesgo superior de progresión de la enfermedad renal y con mayor morbilidad cardiovascular.

El análisis de orina es un procedimiento que se realiza en el laboratorio de manera rápida y sencilla, la facilidad en la lectura de las tiras ha permitido inclusive su uso a nivel del consultorio, sin embargo, de acuerdo a la tira reactiva empleada pueden observarse variaciones, las cuales podrían tener repercusiones clínicas y terapéuticas

importantes. Así mismo, aunque no se cuestiona la utilidad del análisis de orina mediante tiras reactivas, hay que considerar la posibilidad de falsos positivos o falsos negativos. Se observan variaciones en la lectura cuando se procesan muestras duplicadas con tiras reactivas de marcas diferentes, lo que motivó el determinar la comparación de los métodos para determinación de valores de proteínas en orina para la evaluación de la Sensibilidad y Especificidad del método Semicuantitativo de Tiras Reactivas de orina frente al método Cuantitativo Colorimétrico Rojo de Pirogalol

Método

La población de estudio estuvo constituida por un total de 100 pacientes del Instituto Gastroenterológico Boliviano Japonés Sucre, de ambos géneros (56 mujeres y 44 hombres) de los cuales se recopilieron datos de los valores de proteínas en el examen general de orina.

Los procedimientos para el análisis de orina abarcaron tres fases:

Fase pre analítica:

1.- Indicaciones al Paciente:

- ✓ Realizarse un previo aseo de los genitales externos con una solución antiséptica suave.
- ✓ El recipiente para recolectar la muestra fue entregado al paciente (limpio, estéril y desechable); el mismo debió ser previamente rotulado.
- ✓ Eliminar el primer chorro de orina y recolectar el chorro medio en el recipiente proporcionado por el laboratorio.
- ✓ Inmediatamente llevar al laboratorio acompañado de la solicitud médica debidamente llenada en el lapso de 1 hora.

2.- Recepción y Rechazo de la Muestra: Para la recepción de muestras se aplica lo descrito en el procedimiento de "Recepción de muestras para exámenes de laboratorio" donde se describen las actividades propias de esta etapa. El laboratorio realiza exámenes de rutina en horario hábil, luego de este periodo, las muestras recepcionadas son procesadas de acuerdo al listado de exámenes.

3.- Criterios de rechazo de muestras: Fueron.

- Muestras sin rotular.
- Envase incorrecto con respecto a los exámenes solicitados.
- Volumen de orina insuficiente.
- Transporte inadecuado de la muestra o demora en su envío.
- Muestra derramada o con rotura del envase.

Si la muestra cumplía con los requisitos de calidad, los exámenes fueron realizados en el transcurso de la jornada.

Fase Analítica:

1.- Análisis Químico

Semicuantitativo: Se realizó con las seis tiras reactivas de orina pre seleccionadas.

Para realizar el examen químico de las orinas, utilizamos tiras reactivas, para trabajar con ellas tenemos que tener en cuenta los siguientes encisos:

Almacenamiento:

Se almaceno a temperatura inferior a 30°C. No exponer el producto a la luz directa del sol. Proteger contra la humedad.

La protección contra la humedad, luz y calor del medio ambiente es esencial para mantener la reactividad de las tiras. La decoloración u oscurecimiento de las áreas puede indicar deterioro.

Procedimiento:

Quitar la tapa del frasco, sacar una tira y colocar nuevamente la tapa. Sumergir completamente las áreas reactivas de la tira a la muestra y retirar inmediatamente para evitar que se disuelvan los reactivos.

Al momento de sacar la tira deslizar el borde de la tira contra el canto del recipiente para eliminar el exceso de orina. Mantener la tira en una posición horizontal para prevenir posibles mezclas de los reactivos y/o contaminar las manos con orina.

Comparar las áreas reactivas con la correspondiente escala de color de la carta adherida al frasco en los tiempos especificados. Mantener la tira cerca de los bloques de color y comparar cuidadosamente.

Cuantitativo: Se realizó mediante el método cuantitativo colorimétrico rojo de pirogalol.

La muestra de orina se centrifugo a 3500 r.p.m. durante cinco minutos, al cabo del tiempo se trabajó con el sobrenadante.

Procedimiento:

Llevar a temperatura ambiente los reactivos y las muestras antes de iniciar el ensayo. Tomar tres tubos de ensayo y proceder como sigue:

	Blanco	Prueba	Estándar
Muestra	-	50 ul	-
Agua desionizada	50 ul	-	-
Estándar (nº2)	-	-	50 ul
Reactivo de Color (nº1)	1 ml	1 ml	1 ml

Mezclar y poner en baño de agua (37 °C) por 5 minutos y leer las absorbancias de la prueba y del estándar en 600 nm (580 a 620 nm), elevando el aparato a cero con el blanco. La absorbancia es estable 30 minutos.

Calculo de los resultados:**Proteínas en orina al azar:**

$$\text{Proteína (mg/dl)} = \frac{\text{Absorbancia de la Prueba}}{\text{Absorbancia rdel Estandar}} \times 50$$

Valores de referencia:

Orina al azar: 15 a 45 mg/dL

Se realizó la medición de las pruebas de las tiras reactivas donde se anotó en la primera hilera las marcas respectivas de cada tira reactiva (Ver Anexo N° 2), la segunda hilera significa que salió negativo para proteínas en orina, 15 significa la cantidad de mg/dl al igual que 30, 100, 300, 2000 en función a esto se anotó el resultado numérico que cuyos valores se obtuvieron por las diferentes marcas de tiras reactivas; mientras que en la tercera hilera se anotó el valor numérico que se obtuvo de acuerdo al método cuantitativo colorimétrico del Rojo de Pirogalol que los valores son entre 1 – 174 mg/dl.

Fase Post Analítica:

Evaluar resultados mediante métodos estadísticos.

Análisis estadístico El recuento de la información fue realizado de forma manual para su posterior tabulación o conteo mediante el paquete estadístico EXCEL y fórmulas de Sensibilidad, Especificidad, Valor Predictivo Positivo y Valor Predictivo Negativo, para la comparación de ambos métodos, así mismo se concluyó el estudio realizando una comparación y ver si existían diferencias estadísticas en los datos semicuantitativos, se utilizó el programa SigmaPlot y la prueba de t-Test comprobando la normalidad de datos con el Test de Shapiro-Wilk.

Resultados

Tabla 1. Tiras reactivas para orina utilizadas con mayor frecuencia por laboratorios.

MARCA DE TIRA REACTIVA	FRECUENCIA	
	Frecuencia Absoluta N°	Frecuencia Relativa %
Mission	27	37%
Germanie	11	16%
Multistix	9	13%
Teco Diagnostics	9	13%
Dialab	6	8%
Biotech	4	6%
Invernes	3	4%
Nerf	2	3%
Total	70	100%

La tabla 1 describe la preferencia de marcas de tiras reactivas utilizadas por los laboratorios de Sucre Bolivia

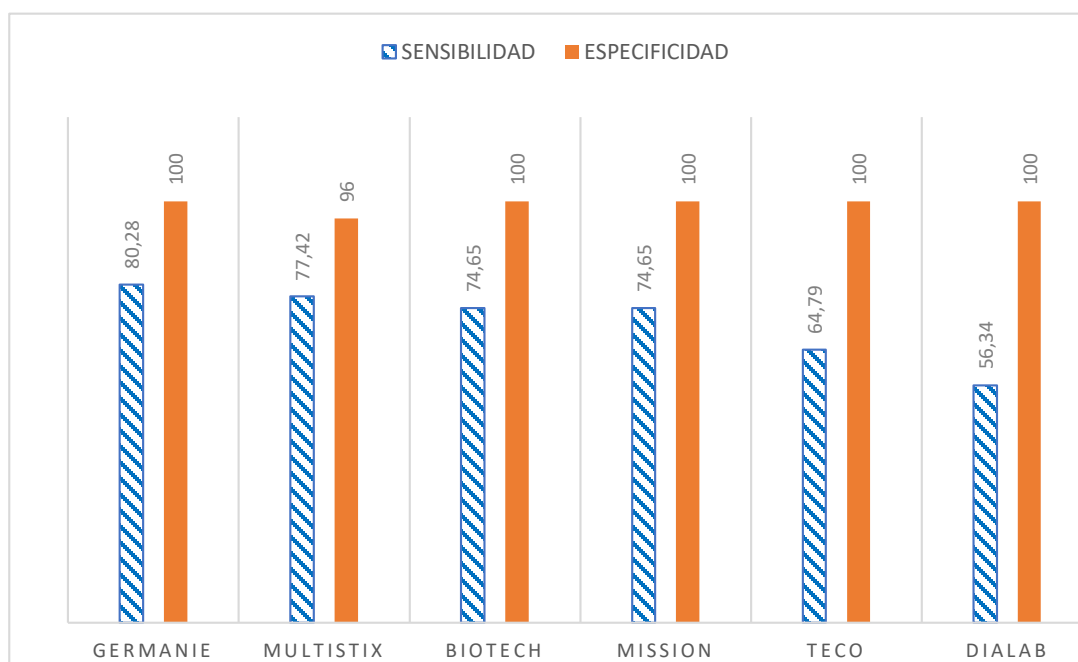


Gráfico 1. Comparación de la sensibilidad y especificidad de tiras reactivas de orina.

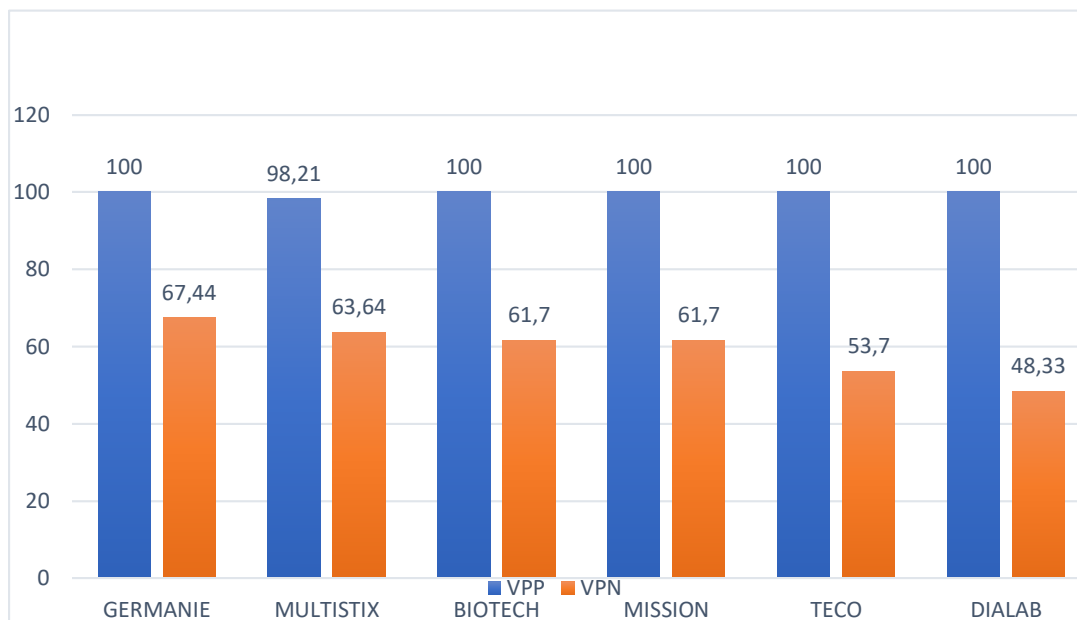


Gráfico 2. Comparación de valor predictivo positivo y negativo de tiras reactivas de orina.

Tabla 2. Resumen comparativo

	SENSIBILIDAD	ESPECIFICIDAD	VPP	VPN	t-Test p=0,05
GERMANIE	80,28	100	100	67,44	0,061
MULTISTIX	77,42	96	98,21	63,64	0,08
BIOTECH	74,65	100	100	61,7	0,059
MISSION	74,65	100	100	61,7	0,029*
TECO	64,79	100	100	53,7	0,009*
DIALAB	56,34	100	100	48,33	< 0,001*

La tabla 2 muestra que entre Germanie, Multistix y Biotech no existen diferencias estadísticamente significativas en cuanto a método cuantitativo colorimétrico rojo de pirogalol, en cambio con Mission, Teco y Dialab si existen diferencias estadísticamente significativas. También figura 1 y 2 muestran diferencias en la sensibilidad, especificidad, **Discusión**

valor predictivo positivo, valor predictivo negativo y el t-Test, destacándose la marca de tira reactiva Germanie con 80,28 % de sensibilidad, 100 % de especificidad, 100 % valor predictivo positivo y 67,44 % valor predictivo negativo, seguida de Multistix y Biotech

Los resultados muestran la utilidad de las tiras reactivas, sin embargo, el hecho de observar una correlación moderada sobre todo en proteínas, es de particular importancia ya que la proteinuria es un marcador temprano de enfermedad renal grave en hipertensos, diabéticos y se ha asociado con incremento en el riesgo de enfermedad cardiovascular.

Se ha realizado una encuesta aplicada a los laboratorios de la ciudad de Sucre para identificar las seis marcas más empleadas de tiras reactivas de orina donde Mission, Germanie, Multistix, Teco Diagnostics, Dialab y Biotech fueron las más utilizadas. Un 49% de los laboratorios de la ciudad de Sucre afirman que para la elección de una determinada marca de tira reactiva de orina fue escogida por su sensibilidad donde la marca de tira reactiva Mission obtuvo un 37 % de acuerdo a la encuesta.

Aunque dijeron que la marca de tira reactiva Mission y Germanie fueron los más seleccionados por su sensibilidad, pero resulta que de acuerdo a los resultados obtenidos del análisis de sensibilidad y especificidad de las diferentes marcas de tiras reactivas frente a la comparación del método cuantitativo colorimétrico rojo de pirogalol, la marca de tira reactiva Germanie es más sensible con el 80,38% y con una especificidad del 100% respecto al programa estadístico utilizado t-Test.

Los métodos más usados para la confirmación de proteínas en orina de acuerdo a los laboratorios de la ciudad de Sucre tienen como fundamento el Rojo de Pirogalol, donde el método Colorímetro Winner es el más accesible en cuanto a costo.

Para la comparación del presente estudio se utilizó el método Colorimétrico Reactivo de Sensiprot por la accesibilidad del Laboratorio I.G.B.J.

Por lo tanto, los datos obtenidos en este trabajo sugieren la necesidad de implementar métodos laboratoriales en la determinación de proteinuria en el examen general de orina que permitan incrementar la detección de proteinuria en los pacientes y disminuir los falsos positivos o falsos negativos, se determinó la prueba de Sensibilidad y Especificidad, dos parámetros muy importantes para dar relevancia al estudio realizado ya que la validación de métodos requiere mínimamente estos parámetros en donde tiene que existir un grado de concordancia del resultado obtenido donde se pudo recolectar los resultados de Sensibilidad de la marca de Tira Reactiva Germanie que es más sensible con el 80,38% y con una especificidad del 100%, seguida de Multistix, Biotech, Mission, Teco Diagnostics y Dialab respecto al programa estadístico utilizado t-Test.

Conclusiones

Se efectuó la comparación de características esenciales de ambos métodos, teniendo como resultado valores de sensibilidad y especificidad del método semicuantitativo de tiras reactivas usando formulas respectivas para cada una, así conocer la variación que existe entre diferentes marcas respecto a los valores obtenidos para proteínas. En donde la marca de tira reactiva Germanie resulto ser de mayor sensibilidad y especificidad para la determinación de proteínas en orina.

La marca más empleada de tira reactiva de orina cuyo resultado se aproxime más al resultado obtenido por el Método Cuantitativo Colorimétrico Rojo de Pirogalol es Germanie.

Se identificó que en la incidencia de pacientes que asistieron al laboratorio del Instituto Gastroenterológico Boliviano Japonés durante el estudio en los meses de abril a septiembre del año 2018, fueron 100 pacientes externos

que presenta un 56% al sexo femenino y 44% son de sexo masculino.

Según la comparación de los métodos para determinación de valores de proteínas en orina: método cuantitativo colorimétrico rojo de pirogalol y el método semicuantitativo de tiras reactivas de orina para realizar la

constatación de los valores mediante el programa estadístico t-Test se ha podido encontrar que entre Germanie, Multistix y Biotech no existen estadísticamente diferencias significativas en cuanto a método cuantitativo colorimétrico rojo de pirogalol, en cambio con Mission, Teco y Dialab si existen estadísticamente diferencias significativas.

Bibliografía

1. Tica, 1^o ed UMRPSFXCH, Sucre – Bolivia, Editorial Tupac Katari, agosto 2005.
2. Baynes Jhon W. PhD. Marek H. Domicsak. Bioquímica Medica, Madrid España 2^o ed. 2006 Editorial Elsevier España S.A.
3. Martínez Maldonado, Rodicio JL, Tratado de Nefrología, 2^o Ed, Barcelona, Ediciones Nova, 1993.
4. Levison Samuel&Robert P. Diagnóstico clínico de laboratorio. 5^o ed. España. Ed. El Ateneo.
5. Moore, K.L. Anatomía con Orientación Clínica, 3^o Ed. Buenos Aires Ed. Medica Panamericana-Sans Tache-Williams et Wilkins. 1993.
6. Rouviere, H. Y Delmas, A. Anatomía Humana. Descriptiva, Topográfica y Funcional. 10^o Ed. Barcelona. Masson. 1999.
7. Todd-Sanford y Davinson. El laboratorio en el diagnostico clinico. 20^o ed. Madrid España. Marbán Libros, SL. 2005.
8. Pareja V, Sosa R, Rodríguez G. Calidad total en uroanálisis. XXII Congreso Nacional de Química Clínica. México, 1999.
9. Red Safci. (Marco Internet). Marco jurídico del sistema nacional de salud. Bolivia. (acceso el 10 de febrero de 2018).
10. Gutiérrez C, Escalera E. (Internet) Pruebas alternativas en examen general de orina. Publicado en junio 5 de 2005 (acceso el 11 de febrero de 2018).
11. Fundación Wikimedia, (Internet) Inc. modificada por última vez el 16 oct 2014 a las 18:34. (acceso el 20 de febrero de 2018)
12. D'Achiardi Rey R., Vargas J.G., Echeverri J.E., Moreno M., Quiroz G. (Internet) Volumen 19No. 2 - Julio - diciembre de 2011 (acceso el 16 de febrero de 2018)
13. Valerie A Luyckx, MarcelloTonelli& John W Stanifer, (Internet) Boletín de la Organización Mundial de la Salud Recopilación de artículos Volumen 96: 2018 Volumen 96, Número 6, junio 2018, 369-440, La carga global de la insuficiencia renal y los objetivos de desarrollo sostenible.
14. OMS: una de cada 10 personas sufre algún grado de enfermedad renal crónica. (Internet) miércoles 12 de marzo de 2014. (acceso el 18 de marzo de 2018).
15. Ministerio de Salud y Protección Social. (Internet). Día mundial de la hipertensión arterial Colombia – mayo 17 de 2017. (Acceso el 25 de marzo de 2018). Disponible en:

16. National Kidney Foundation. New York. La diabetes y la insuficiencia renal crónica (Falla crónica del riñón). (Internet). (acceso el 2 de abril de 2018).
17. OMS:(Internet) Preguntas y respuestas sobre la hipertensión. Septiembre de 2015. (acceso el 10 de abril de 2018).
18. A Toda Historia – Bolivia. (Internet) 5 de diciembre De 2011. (Acceso El 5 de febrero de 2018).
19. Ministerio De Salud De Bolivia. (Internet) La Paz – martes 20 De marzo De 2018. (Acceso El 15 De mayo De 2018).
20. Ministerio De Salud De Bolivia. (Internet) La Paz – martes 20 De marzo De 2018. (Acceso El 15 De mayo De 2018).
21. Ministerio De Salud De Bolivia. (Internet) La Paz – miércoles 14 De marzo De 2018. Salud Realizará Pruebas Gratuitas Para Detectar Enfermedades Renales En Bolivia. (Acceso El 20 De mayo De 2018).
22. Luis Alberto Guevara López, (viernes 11 marzo 2016) Sedes: Insuficiencia Renal Terminal Aumenta En 50%. *Correo del sur*.
23. Pacodiez. Org (Internet). España: Nefrologiapredialisis (citado 20 de mayo de 2018).
24. J.M. Gonzales de Buitrago. Técnicas y Métodos de laboratorio clínico. 2º ed. España.
25. Torres Zamudio, Cesar, scielloorg (Internet) Lima-Peru. Insuficiencia renal crónica Rev.Med.Hered v.14 n.1 Lima ene 2003. (citado 21 de junio de 2018).