

CALCIO-MAGNESIO-FOSFORO-ACIDO URICO

OBJETIVOS

- Conocer las condiciones preanalíticas, analíticas y post analíticas para las determinaciones de calcio, magnesio y fósforo en suero y orina.
- Determinación de ácido úrico, condiciones preanalíticas, analíticas y postanalíticas.

DOSAJE DE CALCIO EN SUERO Y ORINA

ETAPA PREANALITICA

Condiciones a cumplir para el estudio de calcio:

- La muestra debe obtenerse por punción venosa, o capilar sin estasis venoso, el paciente debe concurrir al laboratorio en ayunas, por la mañana (dado que la calcemia presenta ritmo circadiano y varía debido a la ingesta reciente, salvo que exista una situación clínica de urgencia)
- En lactantes se sugiere ayuno de 3 horas.
- Es necesario que el paciente realice un reposo de 15 min, antes de la toma de muestra y no estar recibiendo medicamentos que interfieran en el dosaje.
- Se puede utilizar suero (separado dentro de las 2 horas), o plasma heparinizado, no utilizar EDTA, ni CITRATO, ni OXALATO (forman complejos con el calcio)
- Para dosar calciuria se realiza con dieta sin calcio, restringida o manteniendo la ingesta habitual, en cada caso se modifican los valores de referencia.
- Para determinar calcio en orina, utilizar un frasco lavado con agua destilada, homogeneizar muy bien una alícuota y acidificar con HCl concentrado.
(150 ml de orina + 1 ml con HCl conc.)

Dejar reposar 15 min antes de tomar la muestra. Diluir 1/5 a 1/10 con agua destilada. Dosar junto con las muestras de suero y multiplicar por la inversa de la dilución.

ETAPA ANALITICA

Método de referencia para dosaje de calcio y otros métodos:

El método de referencia para la determinación de calcio, mas comúnmente utilizado es el de **Absorción Atómica**. Si bien, no es el definitivo sirve de referencia para la comparación de los nuevos métodos.

La precisión de la absorción *atómica*, en el intervalo de las concentraciones fisiológicas es del orden del 2-3%. La *absorción atómica* no exhibe interferencias por compuestos comunes tales como la hemoglobina, bilirrubina o lipemia.

La única interferencia son los compuestos queladores del calcio.

Los métodos de *absorción atómica* son muy sensibles, ya que se requiere para el análisis una muestra de 10 a 20 µl. El análisis ha sido totalmente automatizado mediante el uso de automatizadores *Technicon*. Estos procedimientos exhiben eleva precisión y permiten el análisis de muestras en gran escala.

Los métodos de *o-cresolftaleína* han sido adaptados a una amplia variedad de analizadores automáticos con el resultado de una eleva precisión.

Un problema significativo de esta técnica es el requerimiento de un buen control de Tº durante el análisis ya que la absorción molar del cromógeno es termodependiente.

Los métodos de *o-cfx* exhiben una ligera parcialidad comparada con los de *absorción atómica* (10 a 15ng/l)

La precisión del método de *o-cfx* varía con el tipo de instrumento automatizado que se emplea, pero oscila entre el 2-7 %

El método clínicamente preferido es el de *absorción atómica* debido al pequeño tamaño de muestra que utiliza, la precisión y el grado de exactitud. Las mayores desventajas de éste método son los elevados requerimientos de mantenimiento y de cuidado del equipo utilizado para el análisis.

MÉTODO COLORIMÉTRICO PARA LA DETERMINACIÓN DE CALCIO EN SUERO, PLASMA HEPARINIZADO Y ORINA

El calcio reacciona con la o-cresolftaleín complexona (o-CPC) a pH alcalino, dando un complejo de color magenta que se mide fotolorimétricamente a 570 nm.

La o-cfx tiene una alta afinidad por los iones calcio, de manera que puede captar todo el calcio de una muestra de suero, orina o plasma, formando en medio alcalino, un complejo color magenta a violeta que se mide fotolorimétricamente a 570 nm

La cantidad de complejo formado, y con ello la intensidad del color desarrollado en la mezcla de reacción, es proporcional a la cantidad de Calcio en la muestra.

MATERIAL DE TRABAJO

Todo el material, tubos, conos, pipetas, dispensadores de volumen, deben ser lavados con HCl 5 % (50ml HCl + 950 ml de agua dest.) durante 10 horas y enjuagado con agua bidestilada 5 veces.

Esto es necesario por la alta sensibilidad de la reacción utilizada y de los bajos niveles de calcio en la muestra.

REACTIVOS PROVISTOS

Reactivo A: solución de o-cresolftaleín complexona y 8-hidroxiquinolina.

Reactivo B: solución de aminometil propanol (AMP).

Standard: solución de calcio 10 mg/dl.

Concentraciones finales

o-Cresolftaleín complexona 0,08 mmol/l

8-Hidroxiquinolina 4 mmol/l

AMP 3,5 mol/l

Reactivos Provistos: listos para usar.

Standard: cada vez que se use, transferir una cantidad en exceso a un tubo limpio y pipetear de allí el volumen necesario, descartando el sobrenadante.

Reactivo único (premezclado): según el número de muestras a ensayar, mezclar partes iguales de Reactivo A y Reactivo B.

PROCEDIMIENTO MANUAL

- Trabajar a temperatura ambiente.
- Respetar las proporciones de volúmenes de reactivo y muestra del fabricante.
- Pipetear o dispensar el volumen de reactivo sobre tubos de vidrio lavados con agua bidestilada (todo el material debe estar bien lavado) mezclar y dejar reposar por 5 minutos. Ajustar a cero de Abs con agua destilada y leer la absorbancia a 570nm.
- Con micropipeta automática dispensar el mismo volumen para calibrador controles y muestras.

I- TECNICA CON REACTIVOS SEPARADOS

En tres tubos marcados B (Blanco), S (Standard) y D (Desconocido) colocar:

	B	S	D
Agua destilada	50 ul		
Standard		50 ul	
Muestra			50 ul
Reactivo A	1,0 ml	1,0 ml	1,0 ml
Reactivo B	1,0 ml	1,0 ml	1,0 ml

Mezclar, incubar 5 minutos a temperatura ambiente (15- 25 °C) y leer la absorbancia en espectrofotómetro a 570 nm o en fotolorímetro con filtro rojo (560-590 nm).

Microtécnica

Seguir el procedimiento indicado en la Técnica I) pero usando 25 ul de Muestra, 0,5 ml de Reactivo A y 0,5 ml de Reactivo B.

II- TECNICA CON REACTIVO UNICO (PREMEZCLADO)

En tres tubos marcados B (Blanco), S (Standard) y D (Desconocido) colocar:

	B	S	D
Agua destilada	50 ul		
Standard		50 ul	
Muestra			50 ul
Reactivo único	2,0 ml	2,0 ml	2,0 ml

Mezclar, incubar 5 minutos a temperatura ambiente (15- 25 °C) y leer la absorbancia en espectrofotómetro a 570 nm o en fotocolorímetro con filtro rojo (560-590 nm).

Microtécnica

Seguir el procedimiento indicado en la Técnica II) pero usando 25 ul de Muestra y 1 ml de Reactivo único.

En caso de muestras lipémicas o hemolizadas es necesario procesar un Blanco de Muestra de la siguiente manera: mezclar 50 ul de muestra con 2 ml de agua destilada.

Medir la absorbancia llevando el aparato a cero con agua destilada. Restar esta absorbancia de la obtenida inicialmente y utilizar esta diferencia para los cálculos.

ESTABILIDAD DE LA MEZCLA DE REACCION FINAL

El color de reacción final es estable 20 minutos, por lo que la absorbancia debe ser leída dentro de este lapso.

Rendimiento analítico del método

Trazabilidad e inexactitud: comparado con el método de absorción atómica, presenta un coeficiente de correlación de 0,85 y una inexactitud positiva de 1 mg%.

Precisión: la desviación estándar y el CV hallados varían ampliamente de un laboratorio a otro.

Cada laboratorio debe determinar mensualmente su nivel de precisión intraensayo (duplicados) e interensayo (interdiaria) procesando controles internos.

Por ejemplo Wiener lab informa un grado de reproducibilidad al nivel 9 %: DS = 0,08 mg% y CV= 0,9 %. Si bien la precisión interensayo es siempre mayor, el Cv óptimo = 1,5 %, un valor mayor al 4% requiere revisar todo el procedimiento, material y reactivos utilizados hasta bajar el CV, para poder seguir informando los valores hallados, con un nivel aceptable de confiabilidad.

Exactitud: cada laboratorio debe determinar su grado de inexactitud con estudios de recuperación y un control de calidad externo. Por ejemplo Wiener lab informa una recuperación entre 96 y 101 %.

Linealidad: la reacción es lineal hasta 11 mg%.

CALCULO DE LOS RESULTADOS

Calcio sérico (mg/dl) = $D \times f$

$$f = \frac{10 \text{ mg/dl}}{S}$$

$$\text{Calcio urinario (mg/24 hs)} = \frac{D}{S} \times \text{conc. S} \times 10 \times V$$

10 = factor de conversión de mg/dl a mg/l

V = volumen de la diuresis en litros/24 hs

VALORES DE REFERENCIA

CALCEMIA

Neonatos: RN pretérmino = 7 – 10.5 mg/dl

RN a término = 8 – 10 mg/dl

Lactantes, Niños y Embarazadas: 8 – 10 mg/dl

Adultos: 8.5 – 10.5 mg/dl

CORRECCION POR HIPOALBUMINEMIA

Como se mide el calcio total, y la mitad está unido a proteínas, principalmente la albúmina, los pacientes con hipoalbuminemia muestran bajos valores de Calcio total, pero su nivel de Calcio sérico no está afectado y por ende no tiene afección ni síntomas por hipocalcemia.

Se puede dosar albúmina del paciente y luego corregir los valores del calcio total medidos con la siguiente fórmula:

$$\text{Calcio (corregido)} = \text{Calcio (medido)} + \frac{(4 \text{ g\%} - \text{Albúmina g\%})}{4 \text{ g\%}}$$

CALCIURIA

Orina de 24 horas, con dieta sin calcio los tres días previos:

ADULTOS: <40 mg/24hs

NIÑOS: <4mg/Kg/día

Con ingesta de 1000 mg de calcio /1,73 m² de superficie corporal y 5 g de Na Cl (para mejor manejo renal de calcio)

MUJERES: hasta 220 mg/24 horas

HOMBRES: hasta 300 mg/24 horas

Índice Calcio/creatinina:

ADULTOS: hasta 0.11

NIÑOS: hasta 0.18

ALTERACIONES DEL CALCIO

HIPOCALCEMIA

Calcio < 8.5 mg/%, las causas pueden ser por reducción de Ca iónico o por deficiencia de la PTH.

- Hipoparatiroidismo
- Hipomagnesemia
- Pancreatitis aguda
- Síndrome de Di George
- Hiperfosfatemia
- Hipoalbuminemia
- Pseudo hipoparatiroidismo
- Déficit de vitamina D
- Transfusión masiva de sangre
- Tratamiento con diuréticos
- Hipomagnesemia
- Alcoholismo crónico

HIPERCALCEMIA

- Hiperparatiroidismo primario
- Producción neoplásica de PTH
- Sarcoidosis
- Hipofosfatemia
- Inmovilización
- Depleción del volumen extracelular
- Toxicidad por Vitamina D
- Tirotoxicosis
- Tiazidas (diuréticos)

DOSAJE DE MAGNESIO EN SUERO Y ORINA

El Mg es el catión más abundante del LEC y el segundo en el LIC.

La distribución del magnesio es:

HUESO	67%
LIC	31%
LEC	1,1%

En suero se encuentra unido a proteínas en un 2 %.

Forma quelatos débiles con enzimas, con proteínas, ácidos nucleicos, fosfolípidos.

Cataliza procesos enzimáticos vinculados con la transferencia, almacenamiento y utilización de la energía.

Participa en el metabolismo energético a través de la activación del ATP, en la transferencia de fosfatos de alta energía y es el ión activador de muchas enzimas involucradas en el metabolismo de lípidos, carbohidratos y proteínas.

Es un mediador en mecanismos de conducción y transporte a través de membranas.

Es esencial en la preservación de estructuras macromoleculares de ADN y ARN y ribosomas, y en la formación del hueso y mantenimiento de la presión osmótica.

Método de referencia para la determinación de magnesio y otros métodos:

El método de referencia es el de **Absorción Atómica** debido a la elevada precisión y exactitud.

Los análisis con espectrofotómetro directo adaptados a técnicas automatizadas, son bastantes exactos y precisos.

El método que utiliza la reacción coloreada del *azul de metileno*, exhibe generalmente una correlación mas estrecha con el método de *absorción atómica*, siendo su precisión para concentraciones de magnesio de aproximadamente 7 a 10 % (C.V.) dentro del intervalo normal.

El método de *Calmagite* ha sido adaptado a muchos autoanalizadores, incluyendo el analizador dicromático Abbott ABA y los analizadores centrífugos rápidos.

Los reactivos de la reacción de *Calmagite* son más estables separadamente.

En el práctico se utiliza el *método colorimétrico directo para la determinación cuantitativa de magnesio en líquidos biológicos*, utilizando el reactivo color que es una solución de xylidyl blue para acomplejar al Mg + el complejante EGTA.

METODO COLORIMETRICO PARA LA DETERMINACION CUANTITATIVA DE Mg

FUNDAMENTO

El magnesio en medio alcalino, reacciona con el xylidyl blue, formando un complejo de color púrpura cuya intensidad es proporcional a la concentración de magnesio presente en la muestra.

La incorporación del complejante EGTA al reactivo, elimina la interferencia de los iones calcio.

MUESTRA

♦ Suero, plasma heparinizado.

♦ Orina (acidificada con unas gotas de HCl concentrado, hasta alcanzar un pH entre 3 y 4. Luego diluir (1 parte de orina + 4 partes de agua dest.) multiplicar el resultado por 5.

Los anticoagulantes tales como EDTA, CITRATO u OXALATO interfieren formando complejos con el magnesio. Las muestras hemolizadas no deben usarse debido a la gran concentración de magnesio en los glóbulos rojos.

Bilirrubina > 20 mg/dl, Ca > 15 mg/dl y Hb >3.5 g/l interfieren. Lipemia ligera o moderada no interfiere.

El magnesio en suero o plasma es estable 10 días a 2-8°C. Utilizar heparina como anticoagulante y más de 1 mes congelada (-20 °C) sin agregado de conservadores.

PROCEDIMIENTO

En tres tubos marcados B (Blanco), C (Calibrador o Standard) y D (Desconocido), colocar:

	BLANCO	STANDARD	MUESTRA
STANDARD		10 µl	
MUESTRA			10 µl
REACTIVO	1 ml	1 ml	1 ml

Mezclar e incubar 5 minutos a t° amb. (15 – 25 C°)

Leer en espectrofotómetro a 510 nm o en fotocolorímetro con filtro verde a 490 – 530 nm, llevando a 0 el aparato con el blanco.

Estabilidad del color de la reacción: 1 hora

CALCULO DE RESULTADOS

Magnesio sérico (mg/dl)= Dxf

$$f = \frac{\text{Valor del estándar (mg/dl)}}{S}$$

Magnesio urinario (mg/24 hs) = Resultado del Mg x factor de dilución x 10 x Diuresis (litros)

10= factor de conversión de dl a litro

VALORES DE REFERENCIA:

Suero o plasma: 1.7 – 2.5 mg/dl (0.7 – 1.05 mmol/l)

Orina: 60 – 210 mg/24hs (2,5 – 6.5 mmol/24 hs)

ALTERACIONES DEL MAGNESIO

HIPOMAGNESEMIA

1)- Alteraciones gastrointestinales:	2)- Pérdida urinaria excesiva:
<ul style="list-style-type: none"> • Síndrome de malabsorción • Síndrome del intestino corto • Fístulas intestinales • Sonda naso gástrica prolongada • Hiperalimentación parenteral • Diarrea prolongada • Desnutrición, pancreatitis. 	<ul style="list-style-type: none"> • Alteraciones congénitas • Diuréticos • Cetoacidosis diabética • Hiperaldosteronismo • Estados hipercalcémicos • Hipertiroidismo • Alcoholismo

HIPERMAGNESEMIA

- Exceso crónico en IRC (hay incorporación de Mg a tejidos blandos)
- Dosis de Mg a pacientes con una función renal alterada
- Hipotiroidismo
- Deficiencia de mineralocorticoides

DOSAJE DE FOSFORO EN SUERO Y ORINA

El fosfato es un anión fundamentalmente intracelular, se encuentra: en Hueso en un 85 %, tejidos blandos 14 %.

En plasma se encuentra en un 0.3 % (12 mg/dl), distribuidos de la siguiente manera:

8.5 mg/dl (orgánico)

3.5 mg/dl (inorgánico): • Unido a proteínas (10-13%)

• Libre o formando complejos (87-90%)

En lactantes y niños la concentración de fósforo es mayor que en los adultos, posiblemente por mayores niveles de STH (aumenta la absorción renal y reabsorción intestinal), y menores niveles de hormonas gonadales hacia el final de la adolescencia.

En las mujeres hay un lento aumento después de la menopausia, debido a la disminución de estrógenos. En el hombre en cambio se produce un aumento de la concentración de fósforo.

Métodos de referencia para la determinación de fósforo y otros métodos:

Los métodos mas empleados para la determinación del fosfato inorgánico son reacciones del fosfato con molibdato para dar un complejo de fosfomolibdato. La medición directa UV del complejo incoloro con absorción a 340 nm se ha adoptado en la mayoría de los medidores automáticos.

Un analizador con buena fotometría a 340nm puede llevar a cabo un análisis exacto y sensible de fosfato, empleando el método de fosfomolibdato no reducido que es muy sencillo y rápido, por ello más preciso y adaptable a urgencias.

Existen 2 factores que complican lo que parece ser una adaptación simple y directa de esta reacción a cualquier sistema automático:

- Los standards acuosos reaccionan en forma considerable, mas lenta que los standards de base proteica y pueden no llegar al punto final, al mismo tiempo que los sueros desconocidos. Se puede añadir albúmina a los standars para acelerar la reacción, pero hay probabilidad de que estén contaminados con fosfatos.
- La influencia inusual del PH.

En el método que utiliza analizador centrífugo, se requiere de un blanco de suero debido a la presencia de un gran número de compuestos y drogas a 340 nm. El blanco debe contener también el agente tensioactivo Tween 80 para eliminar turbidez del suero y ácido sulfúrico para corregir el efecto del PH sobre la absorción de numerosos compuestos en el ultravioleta.

Otra posibilidad es reducir el complejo de fosfomolibdato mediante un agente ácido aminonaftolsulfónico, ácido ascórbico, sulfato de metil-p-aminofenol, sulfato ferroso para producir azul de molibdeno, que puede medirse a 600-700 nm. La formación del complejo fsofomolibdeno es dependiente del pH y la tasa de formación viene influenciada por la concentración proteínica (es la técnica que se usa en el práctico)

Se ha descrito un método enzimático en el que el fósforo es llevado por distintas reacciones enzimáticas, catalizadas por la glucógeno-fosforilasa, la fosfoglucomutasa y la glucosa-6-fosfato-deshidrogenasa (G6PD). El NADPH producido puede ser medido fluorométricamente o por espectrofotometría. La reacción sucede con un pH neutro, lo que nos permite medir el fósforo inorgánico en presencia de fosfato orgánico inestable.

Se prefiere el suero para medir el fósforo porque muchos de los anticoagulantes, a excepción de la heparina, interfieren con los resultados.

MÉTODO UV PARA LA DETERMINACIÓN DE FÓSFORO INORGÁNICO (PI) EN SUERO, PLASMA U ORINA

FUNDAMENTO DEL METODO

El fósforo inorgánico (Pi) reacciona en medio ácido con el molibdato para dar un complejo fosfomolibdico que se mide espectrofotométricamente a 340 nm.

MUESTRA

Suero, plasma u orina

Obtener suero de la manera usual o plasma con EDTA o citrato.

También puede realizarse la determinación en orina. En este caso, recoger orina de 24 horas en un recipiente que contenga 2 ml de ácido clorhídrico concentrado. Homogeneizar y medir la diuresis. Tomar una alícuota, centrifugar o filtrar y efectuar una dilución 1:10 en agua destilada (1 ml de orina + 9 ml de agua destilada).

Sustancias interferentes:

- No se observan interferencias por bilirrubina hasta 58 mg/l.

- La hemólisis o lipemia son causa de resultados erróneos. Se recomienda procesar un blanco de muestras para evitar estas interferencias.

PROCEDIMIENTO

En tres cubetas marcadas B (Blanco), S (Standard) y D (Desconocido), agregar:

	B	S	D
STANDARD		10 ul	
MUESTRA			10 ul
REACTIVO	1 ml	1 ml	1 ml

Incubar 10 minutos a temperatura ambiente. Luego leer en espectrofotómetro a 340 nm (Hg 334 ó 366 nm), llevando el aparato a cero con el blanco.

La reacción final es estable 20 minutos, por lo que la absorbancia debe ser leída en ese lapso.

CALCULO DE LOS RESULTADOS

Suero o plasma:

Fósforo inorgánico (Pi) (mg/dl) = D x f

$$f = \frac{4 \text{ (mg/dl)}}{S}$$

Orina

$$\text{Pi (g/24 horas)} = \frac{D}{S} \times 0,040 \times 10 \times V = \frac{D}{S} \times 0,4 \times V$$

0,040 g/l = 4 mg/dl = concentración del Standard

10 = factor de dilución

V = volumen de la diuresis expresado en litros/24 horas

VALORES DE REFERENCIA

Suero: ADULTOS = 2.5 – 4.5 mg/dl

NIÑOS = 4.0 – 6.5 mg/dl

Orina = 0.34 – 1.00 g/24 hs

ALTERACIONES DEL FOSFORO

HIPOFOSFATEMIA

- Mala distribución de fosfato
- Fosfaturia
- Mala absorción intestinal de fósforo
- Hiperparatiroidismo. Deficiencia de vit D

HIPERFOSFATEMIA

- Hipoparatiroidismo
- Hipervitaminosis D
- Trastornos renales

DOSAJE DE ACIDO URICO

El ácido úrico es producto del metabolismo de las purinas, ácidos nucleicos y nucleoproteínas, valores elevados indican patologías que afectan dichos metabolismos, algunas de origen genético. La concentración del ácido úrico, habitualmente varía de un individuo a otro de acuerdo a diversos factores tales como la edad, sexo, dieta, origen étnico, constitución genética, embarazo, etc.

Concentraciones elevadas de ácido úrico en suero u orina pueden ser atribuibles a una sobreproducción de urato (síntesis incrementada de purinas), a una disminución en el reciclaje o a una eliminación defectuosa de urato.

Las concentraciones sanguíneas de ácido úrico se encuentran muy cercanas al umbral de solubilidad, es por esto que un aumento ligero de la concentración puede hacer que el ácido úrico se precipite. La forma ácida (ácido úrico) es menos soluble que la forma básica (urato). La hiperuricemia puede llevar a la precipitación de ácido úrico en las articulaciones, en aproximadamente el 10 % de estas personas puede desencadenarse, además, un proceso inflamatorio conocido como gota.

La hiperuricemia se asocia generalmente con la gota, disminución de la función renal, deshidratación, alteraciones mieloproliferativas, inanición, hipertensión inducida por el embarazo, síndrome de Lesch-Nyhan, leucemia, psoriasis, sarcoidosis, uso prolongado de diuréticos y otros fármacos.

El diagnóstico clínico no debe realizarse teniendo en cuenta el resultado de un único ensayo, sino que debe integrar los datos clínicos y de laboratorio.

MUESTRA

Suero, plasma u orina

a) Recolección: se debe obtener suero o plasma de la manera usual. Separar el coágulo lo antes posible, dentro de las dos horas posteriores a la recolección. Si la muestra es orina, utilizar preferentemente fresca.

b) Aditivos: en caso de que la muestra a emplear sea plasma, se recomienda únicamente el uso de heparina como anticoagulante para su obtención.

c) Sustancias interferentes conocidas: Medicamentos: las sustancias fuertemente reductoras, tales como el ácido ascórbico (vitamina C), la Buscapina (butil bromuro de hioscina), etc. en dosis elevadas interfieren. Por tal razón debe suspenderse la medicación, siempre que sea posible, 24 horas antes de la toma de muestra.

- No se observan interferencias por bilirrubina hasta 10 mg/dl (100 mg/l), triglicéridos hasta 490 mg/dl (4,9 g/l), hemoglobina hasta 180 mg/dl y heparina hasta 100 U/ml

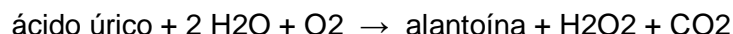
d) Estabilidad e instrucciones de almacenamiento: las muestras deben ser preferentemente frescas. En caso de no procesarlas en el momento, las muestras de suero o plasma, pueden conservarse 3 días a 20-25°C, 7 días a 2-10°C o 6 meses a -20 °C sin agregado de conservantes. Las muestras de orina pueden conservarse 4 días a 20-25 °C a pH >8. No refrigerar ni congelar.

FUNDAMENTOS DEL MÉTODO

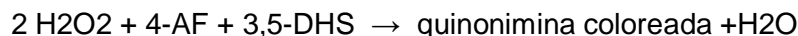
El ácido úrico de la muestra, es oxidado a la alantoína por acción de la uricasa. El peróxido de hidrógeno producido, en presencia de peroxidasa, 4- aminofenazona (4-AF) y ácido hidroxidicloro-benzenosulfónico (HDBS), forma quinoniminas con un pico de absorción a 505 nm. La intensidad de color es proporcional a la concentración de ácido úrico de la muestra.

El esquema de reacción es el siguiente:

UOD



POD



La cantidad de ácido úrico se determina midiendo la absorbancia de este pigmento.

UOD: uricasa

POD: peroxidasa

4-AF: 4-aminofenazona

3,5-DHS: sal sódica de 3,5-diclorohidroxibenceno sulfónico

PROCEDIMIENTO

En tres tubos o cubetas espectrofotométricas marcadas B (Blanco), S (Standard) y D (Desconocido), colocar:

	B	S	D
STANDARD		50 ul	
MUESTRA			50 ul
REACTIVO	2,5 ml	2,5 ml	2,5 ml

Mezclar suavemente e incubar 15 minutos en baño de agua a 37°C o 30 minutos a temperatura ambiente (18-25°C). Retirar, enfriar y leer en espectrofotómetro a 505 nm o en fotocolorímetro con filtro verde (490-530 nm), llevando el aparato a cero con el Blanco.

El color de reacción final es estable 45 minutos, por lo que la absorbancia debe ser leída dentro de ese lapso.

CALCULO DE RESULTADOS:

Suero o plasma:

Acido Úrico (mg/dl) = D x f

$$f = \frac{10 \text{ (mg/dl)}}{S}$$

VALORES DE REFERENCIA

SUERO

En adultos normales, con ingesta normal de proteínas, se observan los siguientes rangos de valores:

Hombres: 2,5-6,0 mg/dl

Mujeres: 2,0-5,0 mg/dl

ORINA

250 a 750 mg/24 horas

Se recomienda que cada laboratorio establezca sus propios intervalos o valores de referencia, teniendo en cuenta la edad, sexo, hábitos alimenticios y demás factores.

BIBLIOGRAFIA

- Líquidos y electrolitos. Kokko, Juha P., Tannen, Richard L. Editorial Soares, Ilson José. 1998. Argentina.
- Química Clínica: Teoría, Análisis Correlación: Kaplan, Laurence, Pesce Amadeo. Editorial Soares, Ilson José. 1992. Argentina.
- Líquidos y electrolitos. Stroot Lee Schaper. Editorial Eunsa. 1977. España.
- MANUAL PRÁCTICO DE OSTEOPOROSIS Y ENFERMEDADES DEL METABOLISMO MINERAL. Metabolismo del calcio, del fósforo y del magnesio. Gómez Alonso, C; Rodríguez García, M; Cannata, J. Editorial Médica Panamericana, Madrid 2003.
- Recomendaciones para la medida de calcio ionizado. Sociedad Española de Bioquímica Clínica y Patología Molecular. Comité Científico. Comisión de Magnitudes Biológicas relacionadas con la Urgencia Médica1 Documento J. Fase 3. Versión 2. Documentos de la SEQC 2010.
- <http://www.wiener-lab.com.ar>