

“Manual de procedimientos en urianálisis”

AUTORAS:

Lic. Bioquímica Ana Luisa Piñón Pérez.

Supervisora del Dpto química Clínica.

Prof. Instructor.

Lic. Bioquímica Elisa Luis Ramírez.

J.Dpto Lab Clínico. Prof. Auxiliar.

**LAB. CLINICO. HOSPITAL FAUSTINO PEREZ
HERNANDEZ**

Este manual esta dirigido a los laboratorios clínicos de los centros asistenciales, (Hospitales y Policlínicos) donde se proceda el análisis clínico de las muestras de orina. Esperamos que la consulta del mismo sea de utilidad para el laboratorista.

Debemos aclarar que la mayoría de estos exámenes ya se realizan de manera automatizada en equipos de urianálisis mediante métodos que se basan en la química seca, pero consideramos aun para aquellos laboratorios que no tengan automatizado el análisis de muestras de orina este manual puede resultar útil.

Agradecimientos: Agradecemos la colaboración en especial del Dr. Especialista en primer grado de Laboratorio Clínico José Ramón Pacheco Albelu y a todos los profesionales que de una forma u otra han dado su aporte a la realización de este folleto.

Indice

Acápites.....pág.

1	Modo de recolección y conservación de las muestras de orina	4
2	Examen parcial de Orina	6
3	Cituria	11
4	Conteo de Addis	14
5	Proteinuria de 24h	19
	Método colorimétrico (Azul de comasie)	
	Método turbidimétrico (ácido sulfosalicílico al 3%)	
6	Microalbuminuria-Látex	24
7	Proteína de Bence – Jones	25
8	Glucosuria	27
9	Acido vanil mandélico urinario	29
10	Pigmentos biliares urinarios	30
11	Cuerpos cetónicos en orina	32
12	Urobilina y urobilinógeno	33
13	Hemoglobinuria	35
14	Calcio en orina de 24h	36
15	Uratos en orina de 24h	38
16	Fósforo en orina de 24h	39
17	Urea en orina de 24h	41
18	Creatinina urinaria	42
19	Amilasuria	44
20	Depuración o aclaramiento plasmático de creatinina	46
21	Ionograma urinario (sodio y potasio en orina)	48
22	Bibliografía	50

1. MODO DE RECOLECCIÓN Y CONSERVACIÓN DE LAS MUESTRAS DE ORINA.

La recolección de una muestra de orina depende absolutamente de la investigación a realizar, pero existen principios generales que se deben cumplir:

- Las muestras deben obtenerse por micción espontánea o mediante sonda vesical.
- Puede tratarse de la recolección de una muestra aislada, se prefiere la primera micción de la mañana, o de toda la orina emitida en un periodo de tiempo que puede oscilar entre 2 y 24 horas.

En el segundo caso la recogida exacta de toda la orina es importante para garantizar la calidad de los resultados por tanto la información verbal y por escrito al paciente sobre las instrucciones para la correcta recolección de la muestra es imprescindible, clara y detallada, en los pacientes ingresados la recogida será responsabilidad de la enfermera.

Los frascos empleados deben estar limpios con tapa segura que impidan derrames y rotulados, con los datos del paciente y el nombre de la prueba. Existen estudios que requieren la adición de un preservante, este debe estar contenido en el frasco antes de entregarlo al paciente y el mismo debe ser informado del objetivo que cumple esta sustancia. En la actualidad se trata de evitar el uso de los mismo y lo que se aconseja es conservarla en la nevera en una temperatura entre 4 y 10 °C.

En algunos casos hay que mantener el pH ácido o básico durante el tiempo que dura la recolección para estabilizar el componente que se pretende determinar por lo cual se añaden al frasco unas gotas de un ácido o una base, diluidos.

Exámenes que se realizan en muestras de micción espontánea (más de 5 ml):

Examen parcial de orina, cituria, microalbuminuria, proteína de bence jones, ácido vanil mandélico, pigmentos biliares, cuerpos cetónicos, urobilina y urobilinógeno, hemoglobinuria, amilasuria.

Exámenes que se realizan en muestras de 2 horas de recolección:

Conteo de Addis de 2 horas.

La muestra debe estar constituida por la orina de las dos primeras horas del día preferentemente de reposo.

Método de recolección: A las 6 am orinar para vaciar la vejiga. Marcar la hora y recoger toda la orina de las 2 horas siguientes en una vasija ancha y verterlo con cuidado en el frasco.

Exámenes que se realizan en muestras de 8 horas de recolección:

Conteo de Addis de 8 horas.

La muestra debe estar constituida por la orina de las 8 últimas horas del reposo nocturno.

Método de recolección:

A las 10 pm orinar para vaciar vejiga, marcar la hora y recoger toda la orina de la madrugada hasta las 6 am inclusive, en una vasija ancha y verterlo con cuidado en el frasco.

En caso de que los frascos no contengan preservantes, guardar la orina en refrigeración durante el proceso de recolección.

Exámenes que se realizan en muestras de 24 horas de recolección:

Proteinuria de 24 horas, glucosuria, calcio, ácido úrico, fósforo, urea, creatinina, amilasuria, depuración o aclaramiento plasmático de creatinina, ionograma urinario.

Indicación: A la seis de la mañana vaciar la vejiga y recolectar toda la orina en un frasco de boca ancha hasta la orina incluida a las seis de la mañana del siguiente día, durante todo este proceso la muestra debe permanecer en refrigeración en caso de no tener preservantes.

Existen exámenes que tienen especificidades respecto al tipo de conservante a usar, lo cual se desarrolla en el acápite correspondiente al examen en cuestión.

*Además se le debe indicar al paciente que no debe estar bajo prescripción médica de drogas u medicamentos que interfieran en estos exámenes como son diuréticos, anticonceptivos orales.

2. EXAMEN PARCIAL DE ORINA.

FASE PREANALITICA.

INTRODUCCION.

Dado el gran número de investigaciones que se pueden realizar en una muestra de orina se ha generalizado el concepto de exámen parcial de orina, el mismo comprende los exámenes físico, químico y microscópico.

Objetivo: Describir el procedimiento para la realización del examen parcial de orina.

Exámen físico.	Exámen químico.	Exámen Microscópico del sedimento	
1. Color	1. Proteínas	Sedimento organizado	Sedimento no organizado
2. Olor.	2. Glucosa	1. Leucocitos	Cristales ácido úrico, oxalato de calcio, fosfato amónico magnesiano, otros.
3. Aspecto	3. Cuerpos cetónicos	2. Hematíes	Sales Uratos amorfos, Fosfatos amorfos. Otros.
4. Reacción	4. Pigmentos biliares.	3. Células epiteliales.	Otros elementos
5. Densidad	5. Sales biliares.	4. Piocitos	Bacterias, Espermatozoides. Fibras. Pelos. Parásitos Glóbulos de grasa.
6. Espuma	6. Urobilinógeno.	5. Cilindros (Hialinos, granulosos, hemáticos)	
	7. Otros.	6. Otros	

Reactivos químicos:

Comprende todos los reactivos necesarios para la realización del examen químico de la muestra.

Aparatos, utensilios y medios de medición.

Abarca toda la cristalería necesaria, utensilios, y equipos para el desarrollo exitoso del examen parcial de orina.

Muestra: Muestra de micción espontánea, (como mínimo 15 ml).

FASE ANALITICA.

1. Mezclar bien la orina antes de analizar.

2. Pasar la muestra a una probeta graduada y observar:

a) **Color:** Varía de ambarino al amarillo pálido, según su contenido en pigmentos, especialmente el urocromo, y en menor proporción la uroeritrina y la hemato porfirina. La intensidad del color es inversamente proporcional al volumen eliminado y la densidad de la orina.

Coloraciones normales: Incolora, de color amarillo claro, amarillo oscuro o ámbar intenso.

Coloraciones patológicas: Rojo o rojo pardusco, rojo pardusco o pardo negro, amarillo verdoso o caoba oscuro, latescente, pardo al negro al oxidarse.

Cloraciones medicamentosas: Azul - verdoso, rosado o rojo en orinas alcalinas, rojo, rosado, amarillo ámbar, pardusco que vira al rojo al alcalinizarse.

b) **Olor:** El **olor normal** de la orina es un débil olor aromático, pero con el tiempo adquiere un olor amoniacal desagradable debido a la descomposición. El olor de las orinas ácidas y concentradas es más fuerte (después de la ingestión de carne, ejercicios violentos, etc).

Olores patológicos: Pútrido, Amoniacal, dulzón o a frutas, hidrógeno sulfurado, fecal.

c) **Aspecto:** Las orinas normales tienen aspecto transparente, pero con el tiempo se enturbia ligeramente (nubécula) al enfriarse la orina. Esta nubécula quedará flotando o se depositará en el fondo de acuerdo a la densidad de la orina.

El enturbiamiento de las orinas puede deberse a la presencia de fosfatos, uratos, sangre, pus y bacterias. Las células epiteliales, cilindros renales y albúmina no modifican la transparencia de la orina.

Se debe determinar la causa de la turbidez dado el caso de la siguiente manera:

1. Colocar 5ml de orina en tubo de ensayo y calentarla ligeramente. Si el enturbiamiento desaparece es probable que sea por la presencia de uratos.
2. Si no desaparece por el calor agregar unas gotas de ácido acético, si desaparece después de esto la turbidez se deba a la presencia de fosfatos o carbonatos.
3. Si la muestra no se aclara, buscar en el exámen microscópico del sedimento la presencia de hematíes o pus, en caso negativo es probable que deba a la presencia de bacterias.

Informe del aspecto de la orina: Transparente, ligera turbia, turbia y muy turbia.

3. Determinar:

a) **Determinar el ph urinario**: Las orinas normales son ligeramente ácidas al papel tornasol. Este constituye un método cualitativo.

Si se utiliza el papel tornasol azul y rojo las orinas pueden ser:

- Acidas: Si el papel azul se torna rojo y el rojo permanece inalterado.
- Alcalina: El papel rojo se trona azul y el azul se mantiene inalterado.
- Neutra: Ninguno de los dos papeles cambia de color.
- Anfótera: El papel azul se torna rojo y el rojo se torna azul, pero ambos débilmente.

El ph de la orina también puede medirse a través de un equipo llamado Peachímetro, para el manejo del mismo se debe seguir las instrucciones del manual del usuario. Este método es cuantitativo.

Informe de la reacción: Si utiliza un método cualitativo, informar: ácida, alcalina, neutra o anfótera.

Si se utiliza un método cuantitativo informar el ph que indica el equipo. Ej ph= 6,5.

b) **Densidad de la orina**: la densidad de la orina oscila entre 1,010 y 1,030 en relación con los elementos en solución y con el poder de concentración y dilución del riñón.

Se utiliza el densímetro o urodensímetro para determinar la densidad de la orina, el cual tiene una graduación de 1,000 a 1,060.

Procedimiento para determinar la densidad.

1. Colocar la orina en una probeta adecuada sin que forma espuma. En caso de formarse puede eliminarse con un pedazo de papel de filtro.
2. Introducir el urodensímetro imprimiéndole un movimiento rotatorio y cuidando que no toque las paredes ni el fondo de la probeta, realizar la lectura en la parte inferior del menisco.

3. La mayoría de los urodensímetros vienen graduados a 15 grados celcius, en caso de que la orina tenga otra temperatura se debe hacer la corrección correspondiente que será aproximadamente de 0,001 por cada tres grados de diferencia en relación directa.

Como nuestra temperatura ambiente promedio oscila entre 25 y 27 grados celcius daría una diferencia de 10 - 12 grados respectivamente, eso haría corregir la densidad en 0,003 unidades por encima con respecto a la densidad observada en la muestra de orina.

4. En algunos casos de orinas patológicas será útil conocer la densidad neta ya que hay elementos que aumentan la densidad como la glucosa en que un gramo aumenta la densidad en 0,00041, y la albúmina, en que 1 g la aumenta en 0,003.

Ejemplo: Densidad de la orina: 1,020.

Concentración de glucosa: 20 g/l.

Densidad neta de la orina: $1,002 - (20 \times 0,0041) = 1,0020 - 0,008 = 1,012$.

Procedimiento para determinar la densidad de orinas insuficientes.

1. Depositar el volumen disponible de la muestra en una probeta graduada de 25ml. Anotar el volumen.
2. Completar con agua destilada hasta el volumen necesario para que flote el urodensímetro, (generalmente hasta la marca de 25ml). Anotar el volumen final de esta dilución.
3. Medir la densidad de la orina diluida y anotar la fracción decimal observada.
4. Efectuar el cálculo.

$Dm = \text{volumen final} / \text{volumen de la muestra} \times \text{fracción decimal} + 1,000$.

Alteraciones de la densidad en orinas patológicas.

Baja: En nefritis crónica (cuando está en la fase de poliuria descompensada), diabetes insípida por efectos de la hormona antidiurética, trastornos funcionales nerviosos, etc.

Alta: Restricción de líquidos, nefrosis, deshidratación, diabetes mellitus, posoperatorio, procesos febriles, etc.

4. Exámen microscópico.

Procedimiento.

1. Centrifugar la orina, decantar hacia una probeta para realizar el examen químico y dejar 1ml del sedimento urinario.

2. Tomar una gota del sedimento urinario y montar entre porta y cubreobjetos par la observación microscópica.
3. Contar los elementos organizados por campo (leucos, hematíes y cilindros), en caso de que contenga como se procede con el examen de cituria e informar en elementos / ml.
4. Observar si hay presencia de elementos no organizados, y otros que puedan aparecer en las muestras de orina.

5. Exámen químico.

En la orina decantada ya centrifugada se realiza el examen químico: Para la realización del exámen químico el técnico deberá remitirse a la página en que se describe el procedimiento técnico correspondiente al exámen que se debe realizar. **Se debe enfatizar en que los exámenes realizados son cualitativos, no cuantitativos, por ejemplo si el examen de proteínas arroja trazas o contiene, recomendar la realización de una proteinuria en 24h, o bien si el benetict es patológico recomendar la determinación de glucosa en 24h.**

FASE POSTANALITICA

Informe de los resultados.

Parcial de orina.

Examen físico.

Color:

Olor:

Aspecto:

Ph:

Densidad:

Espuma (Si se observa su presencia).

Examen microscópico del sedimento.

Se informa en cantidad de elementos organizados contados por campo.

Se escribe si se observan elementos no organizados u otros.

Examen químico.

Se informa cualitativamente los exámenes que se realizaron.

Fuentes de Error

1. No homogenizar bien las muestras de orina
2. Nivel de adiestramiento del técnico
3. Limpieza de la cristalería.
4. Errores en el manejo de la muestra la muestra

5. Errores en los cálculos.
6. Orinas turbias por la presencia de abundantes sales

3. CITURIA.

FASE PREANALITICA

INTRODUCCIÓN

En lesiones renales se eleva el número de células excretadas con la orina por encima de los valores de referencias. En esta prueba se cuantifican el número de células que contiene la orina y de proteínas en caso de presentar. Es de gran interés para el diagnóstico de las enfermedades renales, glomérulo nefritis y pielonefritis, etc.

Objetivos: Observar y cuantificar la presencia de proteínas y elementos organizados en una muestra de orina espontánea.

Fundamento del método:

Esta prueba se basa en la cuantificación, tanto de los elementos que componen el sedimento urinario (eritrocitos, leucocitos y cilindros) mediante un análisis microscópico, como de las proteínas excretadas por métodos turbidimétricos y se valora en orina de micción espontánea; el incremento de estos valores varía de acuerdo al tipo y la extensión de la lesión renal correspondiente

Reactivos químicos:

Ácido sulfosalicílico 0.786 mol/L (20 %)

Aparatos, utensilios y medios de medición

- Tubos para ensayo de 13 x 100 o 15 x 125 ml.
- Gradillas para los tubos de ensayos.
- Pipeta graduada de 5 ml.
- Microscopio con lente objetivo 10x y 40x.
- Cámara de Newbauer.
- Pipeta Pasteur.
- Cubreobjetos.

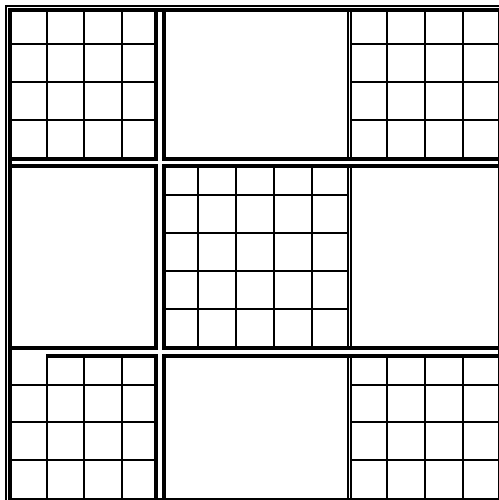
Muestra: Debe estar constituida por el chorro intermedio de la orina emitida inmediatamente después de levantarse. En los análisis de urgencias puede utilizarse la orina emitida en cualquier momento del día o de la noche.

El procedimiento consta de dos partes:

- La determinación de proteína o albúmina.
- El examen microscópico en el sedimento urinario.

MARCHA ANALÍTICA

- 1- Mezclar la muestra de orina suavemente para homogeneizarla.
- 2- Colocar una gota de orina en la cámara de Neubauer.
- 3- Proceder al conteo de leucocitos, hematíes y cilindros de la siguiente forma:
- 4- Los leucocitos y hematíes se cuentan en 16 pequeños cuadrados o en un área de 1 mm^2 como se muestra en el gráfico y los cilindros en los 4 grandes cuadrados de las esquinas o en un área total de 4 mm^2 .



5- Cálculo:

Para los hematíes y leucocitos se multiplica la cantidad de elementos por $\times 10\,000$ y los cilindros $\times 2500$.

Informándose en ambos casos en elementos $\times \text{ml}$.

Ejemplo por regla de tres para hematíes y cilindros.

Se contaron 5 hematíes y 2 cilindros

0.0001ml----- 5 hematíes

1ml----- X hematíes

$$X = 1 \times 5 / 0.0001 = 5 / 0.0001 = 50\,000 \text{ hematíes por ml}$$

Simplificando

n = hematíes y leucocitos contados por ml de orina

$$N = n \times 10000$$

Calculo por regla de tres para los cilindros

0.0004 ml. ----- 2 cilindros

1 ml. ----- x cilindros

$$X = 2 \times 1 / 0.0004 = 5000 \text{ cilindros por ml.}$$

Simplificando

n = cilindros contados por ml de orina.

$$N = n \times 2500$$

6- Se realizará determinación cualitativa de proteína: Se centrifuga la muestra de orina recogida a 1500 rpm x 5 – 10 min. Se toman del sobrenadante 4 ml de orina y se colocan en un tubo evitando que se redisuelva el precipitado que se forme dado sea el caso, se adicionan de 2-3 gotas de sulfosalicílico al 20% ó 0,786mol/l y se compara con el resto de la orina centrifugada la presencia de turbidez en un fondo oscuro. De contener albúmina la muestra de orina aparecerá una turbidez en el tubo en el cual se ha añadido el ácido sulfosalicílico al 20% y se informará:

Proteínas:

Informe de acuerdo a la turbiedad:

- NO CONTIENE : Si se mantiene transparente
- LIGERAS TRAZAS: Si aparece una ligera opalescencia.
- TRAZAS: Si la turbiedad es mayor.
- CONTIENE: Cuando se forma un precipitado blanco.(Proteinuria de más de 1 g/L)
- Si esta prueba arroja que es dosificable (trazas o contiene) se debe proceder a dosificar la cantidad de albúmina según el procedimiento descrito para la cuantificación de proteínas en orina y se informa en g/l.

Nota: Si en la observación microscópica se observan otros elementos de manera ostensible o llamativa, deben consignarse en el informe por la contaminación que pueda tener la orina con cristales, células epiteliales, levaduras u otros, ya que los mismos pueden orientar en el manejo del paciente.

FASE POSTANALITICA

Informe de los resultados.

Ejemplo: Si contamos en cámara 2 leucocitos, 3 hematíes y 1 cilindro y además la el test cualitativo albúmina fue negativa.

CITURIA	{	Proteínas: No contiene.
		Leucocitos: 20 000 / ml.
		Hematíes: 30 000 / ml.
		Cilindros: 2500 / ml.

VALORES DE REFERENCIA.

La orina de pacientes sanos no debe contener proteínas.

HEMATÍES---hasta 10 000 / ml.

LEUCOCITOS-hasta 10 000 / ml.

CILINDROS = 0 / ml.

COMENTARIO:

Esta prueba representa el más sencillo proceder urinario cuantitativo realizado como estudio sistemático en pacientes hospitalizados y chequeos de salud. Así como en individuos donde se sospecha patología genito – urinaria que acuden al Cuerpo de Guardia.

Fuentes de Error:

1. No homogenizar bien las muestras de orina.
2. Nivel de adiestramiento del técnico..
3. Limpieza de la cristalería.
4. Errores en los cálculos.
5. Orinas turbias por la presencia de abundantes sales.

4. CONTEO DE ADDIS. (Para 2h y 8h).

FASE PREANALITICA.

INTRODUCCIÓN.

En esta prueba se realiza una cuantificación minutada del número de células y de proteínas que pueda contener la orina recolectada. Es de gran interés para el diagnóstico de las enfermedades renales ya que nos permite una valoración completa del funcionamiento renal.

Se hace imprescindible hacer una indicación correcta de la recolección de la muestra para que la prueba tenga validez diagnóstica.

Objetivos: Cuantificación minutada, de los elementos que componen el sedimento urinario (eritrocitos, leucocitos y cilindros), y de las proteínas excretadas, así como la determinación del pH y densidad urinaria.

Fundamento del método:

Esta prueba se basa en la cuantificación minutada, tanto de los elementos que componen el sedimento urinario (eritrocitos, leucocitos y cilindros) mediante un análisis microscópico, como de las proteínas excretadas por métodos turbidimétricos y se valora en orinas recogidas en 2 horas, o en 8 horas; el incremento de estos valores varía de acuerdo al tipo y la extensión de la lesión renal correspondiente.

Reactivos químicos: Para la proteinuria cualitativa:

Ácido sulfosalicílico 0.786 mol/L (al 20 %)

Cuantificación de las proteínas urinarias:

Ácido sulfosalicílico 0.118 mol/L (al 3 %)

Reactivos de azul de Comasie. .

Aparatos, utensilios y medios de medición

- Tubos plásticos de 10 mL graduados de centrífuga.
- Tubos para ensayo de 13 x 100 ó 15 x 125 mm.
- Gradilla para los tubos de ensayos.
- Pipetas graduadas de 5 ml, 10 ml, 25ml.
- Probeta graduada de 1000 ml, 2000, ml.
- Pipeta automática de 50 y 500µL.
- Cámara de Neubauer.
- Cubre objeto.
- Urodensímetro.
- Papel indicador de pH o peachímetro.
- Microscopio con lente de objetivo 40 X y poca luz.
- Foto colorímetro o espectrofotómetro para leer a una longitud de onda entre 560 y 620 nm (preferiblemente de 580 nm).
- Cubeta de 1 ml de volumen y 1 cm de paso de luz.

Muestras: Pueden ser orinas de 2h y 8h según la indicación médica

FASE ANALÍTICA

MARCHA ANALÍTICA

- 1) Homogenizar bien la orina antes de analizar.
- 2) Medir volumen total de la orina recolectada en un utensilio adecuado.
- 3) Medir el pH de la muestra introduciendo una porción del papel indicador de pH y comparar con la escala de colores, informar el resultado según la escala, en caso de tener

disponible un peachímetro medir entonces el pH de la orina con este equipo de mayor precisión.

4) Colocar un volumen adecuado de orina en una probeta de 25 ml, introducir el urodensímetro imprimiéndole un movimiento rotatorio y cuidando que no toque las paredes ni el fondo de la probeta, realizar la lectura en la parte inferior del menisco.

La mayoría de los urodensímetros vienen graduados a 15 grados celcius, en caso de que la orina tenga otra temperatura se debe hacer la corrección correspondiente que será aproximadamente de 0,001 por cada tres grados de diferencia en relación directa.

5) Colocar 10 ml de la orina en tubo de centrifuga graduado y centrifugar a 1500 rpm durante 10 min. Separar un sobrenadante de 9 ml sobrenadante con una pipeta de 10 ml, o decantar y dejar para el análisis del sedimento 1 ml.

6) Colocar 4 o 5 ml de la orina sobrenadante en tubo de ensayo, y adicionar 3 gotas de ácido sulfosalicílico al 20 % para detectar presencia de proteínas al igual que en la cituria. Si la orina presenta proteínas dosificables (trazas o contiene) se cuantifica esta según el método cuantitativo de determinación de proteínas por turbidimetría y se informa en mg/min.

7) Para la observación microscópica del sedimento urinario se debe homogenizar el ml de sedimento agitando suavemente para evitar la ruptura de los elementos formes, con un gotero montar en la cámara de newbauer para proceder al conteo de los mismos.

9) Los leucocitos y hematíes se cuentan en 16 pequeños cuadrados o en un área de 1 mm² y los cilindros en los 4 grandes cuadrados de las esquinas o en un área total de 4 mm².

Se realizan los cálculos siguientes:

Para los leucocitos y hematíes.

$N = \text{Elementos contados} \times \text{volumen} / \text{minuto} \times 1000.$

Para los cilindros:

$N = \text{Elementos contados} \times \text{volumen} / \text{minuto} \times 250.$

El volumen /minuto o la diuresis minuto: Se calcula dividiendo la cantidad total de orina recolectada expresada en ml entre los minutos existentes en el tiempo en que fue tomada la orina (2h, 8h)

2h: 120 min, 8h: 480 min.

Ejemplo por regla de tres.

Se contaron 3 hematíes y 1cilindrio.

0.0001ml ----- 3 hematíes.

1 ml ----- x hematíes.

$X = 1 \times 3 / 0.0001 = 3 / 0.0001 = 30\ 000$ hematíes.

Pero en realidad estos son los hematíes de 10 ml de orina centrifugada, es decir que en 10 ml de orina centrifugada hay 30 000 hematíes.

Ahora debemos hallar la cantidad de elementos eliminados en 1 ml.

10 ml ----- 30 000 hematíes.

1 ml ----- x hematíes.

$$X = 1 \times 30000 / 10 = 3000 \text{ hematíes/ml.}$$

Si la diuresis minuto es de 1 ml/min tendremos: (Si el conteo de Addis es de 8h y el paciente orinó 480 ml tendremos que la diuresis/minuto correspondiente = 480ml/ 480 min que es igual a 1ml/min.

Entonces multiplicamos los elementos eliminados en 1ml por la diuresis.

$$X = 3000 \text{ hematíes/ml} \times 1 \text{ ml/min.}$$

$$X = 3000 \text{ hematíes} \times \text{min.}$$

Simplificando

n es igual a hematíes o leucocitos contados en 1 mm² tendremos:

$$N = n \times 1000 \times D_{\text{min}} \text{ (diuresis minuto)}$$

Calculo por regla de tres para los cilindros.

0.0004ml ----- 1 cilindros.

1 ml ----- X cilindros.

$$X = 1 \times 1 / 0.0004 = 1 / 0.0004 = 2500 \text{ cilindros.}$$

Pero en realidad estos son los cilindros de 10 ml de orina centrifugada, es decir que en 10 ml de orina centrifugada hay 2500 cilindros.

Ahora debemos hallar la cantidad de elementos eliminados en 1 ml

10 ml----- 25 00 cilindros.

1 ml ----- X cilindros

$$X = 1 \times 2500 / 10 = 250 \text{ cilindros/ml.}$$

Posteriormente se multiplica la cantidad de cilindros en 1 ml por la diuresis minuto y si la diuresis es de 1ml/min, tendremos:

$$X = 250 \text{ cilindros/ml} \times 1 \text{ ml/min.}$$

$$X = 250 \text{ cilindros/min.}$$

Simplificando.

n es igual a cilindros contados en 4 mm^2 , tendremos :

$$N = n \times 250 \times D_{\text{min.}}$$

Calculo para la determinación de proteínas: En caso de que la prueba cualitativa arroje resultados dosificables (trazas o contiene) para proteínas se procederá a realizar la determinación de proteínas segun el método selecionado y el resultado obtenido en g/l de proteínas en la orina se debe multiplicar por la diuresis minuto y luego se informa en mg/min.

Simplificando:

Si en la muestra hay 0,5 g/l.

Sería: $0,5 \text{ g/l} \times D_{\text{min.}}$

Si la muestra contiene proteínas se deberá realizar una dilución de la misma y después multiplcar por factor de la dilución.

FASE POST ANALÍTICA.

INFORME DE LOS RESULTADOS,

Los resultados se informan.

Parámetros	Resultados
Volumen	----- mL.

Ph:

Densidad:

DM: ml/min.

Elementos por minutos.

Leucocitos: e / min.

Hematíes: e / min.

Cilindros: e / min.

Proteínas: mg/ min.

VALORES DE REFERENCIAS

Para proteínas: Nunca superior a: $0,15 \text{ mg / min.}$

LEUCOCITOS > 0 - 1000/ min.

HEMATÍES > 0 - 1000/min.

CILINDROS > 0 - 250/min.

Fuentes de error:

1. Mal montaje de la cámara.
2. No mezclar la orina antes de montar la cámara.
3. Desecación de la cámara.
4. Inadecuada recolección y conservación de la muestra.

5. No medir correctamente el volumen de la muestra.
6. Error en los cálculos.
7. Mal manejo de equipos.
8. Orinas turbias por la presencia de abundantes sales.

COMENTARIO.

Esta prueba resulta de mucha utilidad para el diagnóstico y evolución de los afectados de glomérulo nefritis (se detecta hematuria) y de píelo nefritis (se detecta leucocituria)

5. PROTEINURIA 24H.

A- MÉTODO DE AZUL DE COOMASIE

FASE PREANALITICA

INTRODUCCION: La presencia de proteínas en la orina ocurre cuando se ha establecido un daño en la función renal, y la detección temprana de proteínas puede revertir el mismo.

Objetivo: Cuantificación de proteínas en muestras de orina.

Fundamento: La cuantificación de proteínas se realiza a través del método colorimétrico por la unión de las mismas al reactivo de azul de comasie, debido a su afinidad con dicho colorante. La concentración de las proteínas es directamente proporcional a la intensidad del color desarrollado por el complejo proteína- colorante, según estipula la ley de LAMBERT-BEER al medirse a 580 nm.

Preparación del reactivo azul de comasie:

En un matraz aforado de 1000 ml disolver 40 mg de azul de comasie Serva G en 40 ml de metanol; añadirle 100 mL de ácido fosfórico al 85 % y aproximadamente 800 mL de agua destilada; añadir 30 mg de duodecil sulfato de sodio y enrazar. Guardar en frasco de polietileno. protegido de la luz y a temperatura ambiente Rotular reactivo de proteína.

Aparatos, utensilios y medios de medición

- Tubos plásticos de 10 mL graduados de centrífuga.
- Tubos para ensayo de 13 x 100 ó 15 x 125 mm
- Gradilla para los tubos de ensayos.
- Pipetas graduadas de 10 ml.
- Probeta graduada de 2000 ml .
- Pipeta automática de 50µl.
- Pipeta automática de 1000µl.
- Foto colorímetro o espectrofotómetro para leer a una longitud de onda entre 560 y 620 nm (preferiblemente de 580 nm).
- Cubeta de 1 ml de volumen y 1 cm de paso de luz.

Muestra: Orina de 24h debidamente recogida y almacenada.

Se le debe indicar correctamente como recolectar la orina de 24 h al paciente para que esta prueba tenga validez diagnóstica.

FASE ANALITICA

MARCHA ANALÍTICA

1. Se mide volumen urinario con probeta graduada, tras la homogenización de la muestra de orina total.
2. Se separa un volumen de aproximadamente 10 a 15 ml de orina en un tubo de ensayo.
3. Esta orina debe ser centrifugada a 1500 rpm durante 10min, tomándose de 3,5 a 5 ml de la orina centrifugada para la realización de proteínas cualitativa con sulfosalicílico al 20% como se describe en la determinación de cituria.
4. Si se detecta presencia de proteínas del orden de trazas ó contiene se desarrolla el método de azul de comasie que se describe a continuación,

TECNICA:

Tubos	Blanco	Patrón	Muestra
Reactivo azul de comassie	1 ml	1 ml	1 ml
Agua destilada	50 µl		
Muestra		50 µl	50 µl

Homogeneizar la mezcla, esperar 5 minutos a temperatura ambiente y realizar la lectura de muestra y estándar contra blanco reactivo a **580 nm**.

5. El cálculo se realizará así:

$$\text{Conc. Muestra} = \text{D.O muestra} \times \text{Conc. Patrón} / \text{D.O patrón}$$

5. El cálculo obtenido **se multiplica por la cantidad de orina expresada en litros recolectada en 24 horas (Volumen total)**.

6. $\text{Conc. Final de la muestra} = \text{D.O muestra} \times \text{Conc. Patrón} / \text{D.O patrón} \times VT$

Nota: La concentración del patrón debe ser expresada en g/l para informar los resultados en g/24h

FASE POSTANALITICA

INFORME DE LOS RESULTADOS:

Proteinuria en 24h.

Prueba cualitativa.

Informe de acuerdo a la turbidez:

- NO CONTIENE: Si se mantiene transparente.
- LIGERAS TRAZAS: Si aparece una ligera opalescencia.
- TRAZAS: Si la turbiedad es mayor.
- CONTIENE: Cuando se forma un precipitado blanco.(Proteinuria de más de 1 g/L) .

Dosificación: g/24h.

VALORES DE REFERENCIA PROTEÍNA DE 24 HORAS

0,05 – 0,15 g. / 24 horas.

Fuentes de Error.

1. No homogenizar bien las muestras de orina.
2. Nivel de adiestramiento del técnico.
3. Limpieza de la cristalería.
4. Mala conservación o recolección de la muestra.
5. Errores en los cálculos.
6. Error en la medición del volumen total.
7. Mala calibración y manejo de equipo.
8. Orinas turbias por la presencia de abundantes sales.

B- MÉTODO TURBIDIMETRICO DE KINGSBURY, CLARK, WILLIAMS Y POST.

FASE PREANALITICA

INTRODUCCION

La presencia de proteínas en la orina ocurre cuando se ha establecido un daño en la función renal, y la detección temprana de proteínas puede revertir el mismo.

Objetivo: Cuantificación de proteínas en muestras de orina.

Fundamento: Se basa en la cuantificación de proteínas mediante un método turbidimétrico provocado por el enturbiamiento del medio producido por la acción precipitante del ácido sulfosalicílico sobre las proteínas, comparándolo con patrones de concentración conocidas.

Reactivo necesario:

Acido sulfosalicílico al 20% (0,786 mol/l)

Acido sulfosalicílico al 3% (0,118 mol/l)

Aparatos, utensilios y medios de medición

- Tubos plásticos de 10 ml graduados de centrífuga.
- Tubos para ensayo de 13 x 100 ó 15 x 125 mm.
- Gradilla para los tubos de ensayos.
- Pipetas graduadas de 5 ml o 10 ml.
- Pipeta automática de 500µL.
- Pipeta automática de 1000µL.
- Foto colorímetro o espectrofotómetro para leer a una longitud de onda entre 560 y 620 nm (preferiblemente de 580 nm).
- Cubeta de 1 ml de volumen y 1 cm de paso de luz.

Muestra: Orina de 24 h debidamente recogida y almacenada.

Indicación: A la seis de la mañana vaciar la vejiga y recolectar toda la orina en un frasco de boca ancha hasta la orina incluida a las seis de la mañana del siguiente día, durante todo este proceso la muestra debe permanecer en refrigeración en caso de no tener preservantes.

FASE ANALITICA

MARCHA ANALÍTICA

1. Se mide volumen urinario con probeta graduada, tras la homogenización de la muestra de orina total.
2. Se separa un volumen de aproximadamente 10 a 15 ml de orina en un tubo de ensayo.
3. Esta orina debe ser centrifugada a 1500 rpm durante 10min, tomándose de 3,5 a 5 ml de la orina centrifugada para la realización de proteínas cualitativa con sulfosalicílico al 20% como se describe en la determinación de cituria.
4. Si se detecta presencia de proteínas del orden de trazas ó contiene se desarrolla el método de turbidimétrico que se describe a continuación,

TECNICA:

Tubos	Blanco	Patrón	Muestra
Reactivo acido sulfosalicílico al 3%	2 ml	2 ml	2 ml
Agua destilada	500 µl		
Muestra			500 µl
Patrón		500 µl	

Mezclar y dejar reposar por 5 minutos a temperatura ambiente, después leer la muestra y patrón a 620nm

5. El cálculo se realizará así:

Calibración con un punto. Preparar un patrón de 0,5 g/l a partir del calibrador ELICAL 2 haciendo una dilución 1/100.

$\text{Conc. Muestra} = \text{D.O muestra} \times \text{Conc. Patrón} / \text{D.O patrón}.$

7. La concentración obtenida de la muestra se multiplica por los litros de orina recolectada en 24 horas (VT).

$\text{Conc. Final Muestra} = \text{D.O muestra} \times \text{Conc. Patrón} / \text{D.O patrón} \times \text{VT}$

Nota: La concentración del patrón debe ser expresada en g/l para informar los resultados en g/24h.

Se puede realizar el cálculo a través de una curva de calibración, en este caso se debe realizar antes la curva de calibración preparando 5 puntos de patrones de concentración conocida a partir del ELICAL2.

Ejemplo a partir del calibrador ELICAL 2: 52 g/l de proteínas totales. Se debe realizar una dilución 1: 10 para obtener una concentración de 5,2 g/l y a partir de esta se preparan diluciones por regla de tres aplicando la ley fundamental de la volumetría para obtener los puntos restantes de la curva: 0,6 g/l; 1,2g/l; 2,4 g/l, 4,8 g/l.

Tubos	Blanco	Punto 1 (0,6 g/l)	Punto 2 (1,2 g/l)	Punto 3 (2,4 g/l)	Punto 4 (4,8 g/l)	Punto 5 (5,2g/l)
Reactivo acido sulfosalicílico al 3%	2 ml	2 ml	2 ml	2 ml	2 ml	2 ml
Agua destilada	500 µl					
diluciones		500 µl	500 µl	500 µl	500 µl	500 µl

Homogeneizar la mezcla, esperar 5 minutos a temperatura ambiente y realizar la lectura de muestra y estándar contra blanco reactivo a **620 nm**.

Trazar la curva de calibración ploteando las absorbancias de todos los puntos en el eje de las Y contra las concentraciones respectivas en el eje de las X en un papel milimetrado. Para realizar el cálculo se puede extrapolar en el gráfico la absorbancia de la muestra problema y hallar la concentración correspondiente.

En los fotocolorímetros ERMA, o equipos automatizados como HITACHI esta curva se realiza automáticamente, solamente se debe preparar la metodología de trabajo para que el mismo la realice dándole la concentración de todos los puntos de la curva preparados anteriormente. De esta manera el equipo realiza el cálculo de la concentración de la muestra problema automáticamente multiplicando la absorbancia de la misma por un factor calculado.

8. El cálculo obtenido se multiplica por los litros de orina recolectada en 24 horas.

FASE POST ANALITICA

INFORME DE LOS RESULTADOS

Proteinuria en 24 h

Prueba cualitativa

Informe de acuerdo a la turbiedad:

- NO CONTIENE : Si se mantiene transparente
- LIGERAS TRAZAS: Si aparece una ligera opalescencia.
- TRAZAS: Si la turbiedad es mayor.
- CONTIENE: Cuando se forma un precipitado blanco.(Proteinuria de más de 1 g/L).

Dosificación: g/24h.

VALORES DE REFERENCIA PROTEÍNA DE 24 HORAS

0,05 – 0,15 g / 24 horas.

Fuentes de Error:

1. No homogenizar bien las muestras de orina.

2. Nivel de adiestramiento del técnico.
3. Limpieza de la cristalería.
4. Mala conservación y recolección de la muestra.
5. Errores en los cálculos.
6. Error en la medición del volumen total.
7. Mala calibración y manejo de equipo.

6. MICROALBUMINURIA – LATEX.

FASE PRE-ANALITICA

INTRODUCCION: La importancia clínica de una microalbuminuria está dada en casos como control de embarazo diabéticos, embarazos de riesgo, demostración precoz de una proteinuria tubular, diagnóstico precoz de una nefropatía diabética, etc.

Objetivo: Cuantificación de proteínas en muestras de orina

Fundamento: El método se basa en una reacción immunoquímica de aglutinación donde las partículas de látex sensibilizadas con anticuerpos anti-albúmina humana reacciona con la albúmina presente en la muestra de orina en forma sensible y específico, produciendo una aglutinación visible macroscópicamente.

Reactivo necesario:

Kit comercial para la determinación de microalbuminuria- látex

Aparatos, utensilios y medios de medición

- Tubos plásticos de 10 ml graduados de centrífuga
- Tubos para ensayo de 13 x 100 ó 15 x 125 mm
- Gradilla para los tubos de ensayos.
- Pipetas graduadas de 5 ml o 10 ml.
- Pipeta automática de 20 µL.
- Pipeta automática de 500 µL.

Muestra: se recomienda muestras frescas de las primeras horas de la mañana. La muestra se debe centrifugar a 1500 rpm durante 5 minutos o filtrar la misma.

FASE ANALITICA

Seguir el procedimiento analítico del kit comercial.

FASE POS-ANALITICA

INTERPRETACION DE LOS RESULTADOS

Negativo: No aparece una aglutinación visible hasta el tiempo indicado en la técnica.

Positivo: Aparece una aglutinación visible en el tiempo indicado en la técnica. Esto indica un contenido de albúmina en la muestra superior a 0.02g/l, se debe proceder a realizar las diluciones propuestas e informar la concentración que corresponde a última dilución donde se observa la aglutinación

INTERVALO DE REFERENCIA

Normal: Menor que 0.02g/l

Microalbuminuria: 0.02 g/l – 0.2 g/l

Macroalbuminuria: mayor que 0.2 g/l

Bibliografía: Remitirse al insert del reactivo diagnosticador propuesta por el fabricante.

7. PROTEINA DE BENGE –JONES (P. B. J.)

MÉTODO DE BRADSHOW.

FASE ANALITICA

INTRODUCCION

La proteína de Bence - Jones es una para proteína que realmente esta constituida por restos de cadenas de inmunoglobulinas. Su presencia se caracteriza por la formación de un precipitado cuando la orina es calentada entre 50-60 grados Celsius, desapareciendo parcial o totalmente cuando la temperatura se acerca al punto de ebullición y reapareciendo al enfriarse. Esta proteína está muy influenciada por la acidez y la concentración de sales pero su característica más importante es su termo labilidad.

Está asociada generalmente con le mieloma múltiple, en ocasiones puede encontrarse en hiperparatiroidismo, tumores óseos, leucemias o empiema. Se acompaña generalmente con gammaglobulinemia.

Objetivo: Determinar cualitativamente la presencia de la proteína de Bence – Jones en las muestras de orina.

Fundamento: Se basa en la acción producida por el HCL concentrado y la elevación de la temperatura ante la presencia de la proteína de Bence – Jones en las muestras de orina.

Reactivo necesario:

Acido acético al 33%.

Acido clorhídrico concentrado.

Aparatos, utensilios y medios de medición

- Tubos de cristal de 10 ml graduados de centrífuga.
- Tubos para ensayo de 13 x 100 ó 15 x 125 mm.
- Gradilla para los tubos de ensayos.

- Pipetas graduadas de 5 ml o 10 ml Gotero.
- Termómetro.
- Embudo.
- Papel de filtro.
- Pinza para tubos de ensayo.

Muestra: Orina de micción espontánea de más de 5 ml.

FASE ANALITICA

MARCHA ANALÍTICA

1. Se trata la orina con 8 gotas de ácido acético al 33% para bajar el pH a 4,8 = 5.0.
2. Se centrifuga 5 min A 1500 rpm. hasta que la orina quede clara.
3. Se diluye 1:2 con agua destilada.
4. En un tubo de ensayo añadir 2 ml HCL concentrado y verter cuidadosamente la orina diluida. De modo que quede formando una capa sobre el ácido.
5. Si hubiese presencia de PBJ esta formará un anillo en interface entre la orina y el ácido. La ausencia del anillo excluye la presencia de esta proteína ó péptido.
6. Si la reacción fuese positiva confirmar con el calentamiento, teniendo en cuenta las temperaturas señaladas y su comportamiento frente a la ebullición.

Procedimiento frente a la ebullición.

Colocar la orina en un tubo de ensayo con un termómetro en su interior y calentarla poco a poco.

Observar a cortos intervalos. La opacidad empieza a manifestarse a los 40 grados Celsius y la precipitación ocurre a los 60 grados Celsius.

Acidificar ligeramente la orinas con ácido acético al 33% y elevar la temperatura hasta el punto de ebullición. Entonces el precipitado disminuye o desaparece.

Dejar enfriar. Si hubiera PBJ, el precipitado reaparecerá.

Si la orina contiene albúmina, filtrar a temperatura de ebullición o cerca de ella y aplicar después del filtrado los procedimientos descritos anteriormente.

FASE POSTANALITICA

INFORME DE LOS RESULTADOS.

Se informa: Positiva o Negativa.

NOTA.

Este péptido aparece o no en las gammopatías monoclonales (fundamentalmente en el mieloma IgG).

Fuentes de Error:

- 1-No homogenizar bien las muestras de orina.
- 2- Nivel de adiestramiento del técnico
- 3- Limpieza de la cristalería.

8. GLUCOSURIA DE 24 HORAS

Método de glucosa oxidasa.

FASE PREANALITICA.

INTRODUCCION.

La glucosa es un monosacárido que no debe estar presente las muestras orina, esto ocurre cuando se traspasa su umbral renal y es frecuente en los pacientes diabéticos o con trastornos en el metabolismo de los carbohidratos.

Objetivo: Cuantificar la presencia de glucosa en las muestras de orina de 24h.

Fundamento: Se basa en la determinación de glucosa mediante un método enzimático colorimétrico donde enzima glucosa oxidasa desdobla la glucosa a peróxido de hidrógeno y este reacciona con un cromógeno produciendo color, el cual es medido espectrofotométricamente.

Reactivo necesario:

Rapiglucotest (Kit de reactivo para la determinación de glucosa en fluidos biológicos).

Reactivo de Benedict.

Aparatos, utensilios y medios de medición

- Tubos plásticos de 10 ml graduados de centrífuga.
- Tubo para ensayo de 13 x 100 ó 15 x 125 mm.
- Gradilla para los tubos de ensayos.
- Pipetas graduadas de 10 ml.
- Probeta graduada de 2000 ml.
- Pipeta automática de 20µL.
- Pipeta automática de 1000µL.
- Foto colorímetro o espectrofotómetro para leer a una longitud de onda entre 500 y 550 nm (preferiblemente de 505 nm).
- Cubeta de 1 ml de volumen y 1 cm de paso de luz.

Muestra: Orina de 24h debidamente almacenada y preservada.

FASE ANALITICA.

MARCHA ANALÍTICA.

1. Medir volumen en litros de la orina homogenizada previamente.
2. Centrifugar 10 ml de orina por 5 min a 1500rpm.

3. Realizar prueba de Benedict a la orina centrifugada para determinar la presencia de azúcares en la orina de la forma siguiente:
 - a. Añadir a un tubo de ensayo 2.5 ml de reactivo de Benedict.
 - b. Añadir 4 gotas de orina
 - c. Colocar el tubo con la mezcla anterior en baño de ebullición hasta 2 min.
 - d. Si la orina no contiene ó contiene cantidades insignificantes de glucosa permanece el Benedict azul o aparece una coloración verde azul respectivamente.
 - e. Si hay permanencia de glucosa toma coloración amarilla naranja o ladrillo en orden creciente.
4. Si el Benedict desarrolla presencia de azúcares se debe llevar la muestra previamente diluida al departamento de bioquímica (dilución de orina 1:20 (100 µl de orina centrifugada + 1900 µl de suero fisiológico (0.9 %)
5. De no realizarse la determinación de glucosa en el departamento de bioquímica se debe proceder como describe el insert del Kit para la determinación de glucosa.
6. Cálculo:
Resultado en mmol/l de glucosa en la orina x volumen de orina en litros x dilución (20)

FASE POST ANALITICA.

INFORME DE LOS RESULTADOS.

Examen cualitativo:

Ensayo con el reactivo de Benedict:

- Azul.
- Verde.
- Amarillo- naranja.
- Rojo ladrillo.

Exámen cuantitativo: mmol /24 horas

VALORES DE REFERENCIA:

No deben detectarse niveles de glucosa en orina de 24 horas.

Fuentes de Error

1. No homogenizar bien las muestras de orina.
2. Nivel de adiestramiento del técnico.
3. Limpieza de la cristalería.
4. Mala conservación y recolección de la muestra.
5. Errores en los cálculos.
6. Error en la medición del volumen total.

7. Mala calibración y manejo de equipo.

9. ACIDO VANILILMANDÉLICO URINARIO. (AVM)

FASE ANALITICA

INTRODUCCION.

El AVM (3- metoxi,-4- hidroximandílico), es el metabolito de la epinefrina y norepinefrina y se encuentra en la orina en cantidades de 10 a 100 veces más que sus precursores. Su excreción está muy elevada en el feocromocitoma, neuroblastoma, retinoblastoma, tumores carcinoides, ganglioneuromas, tumores de cuerpo carotídeos y estados de stress.

Su determinación o detección se utiliza como medida de secreción endógena de catecolamina y su excreción diaria es de 10 a 40 umoles normalmente.

En pacientes con tumores mencionados se produce hipertensión arterial por causa endocrina (aumento de producción de catecolamina. Esta prueba es para descartar esa causa de hipertensión.

Objetivo: Determinación cualitativa de ácido vanilmandélico en muestras de orina.

Fundamento: Se basa en la determinación cualitativa mediante un método colorimétrico.

Reactivos necesarios

Solución de p-nitro anilina.

- 1) 0.1g de p- nitro anilina.
2ml de HCL concentrado.
agua destilada CSP. 100 ml.

- 2) Sol de nitrito de sodio al 2%.

- 3) Sol de carbonato de potasio al 10%.

Preparación del reactivo de trabajo: Mezclar reactivos 1 y 2 en proporción 1:1(v/v) y añadir 2 ml de reactivo 3. La mezcla se prepara 2 minutos antes de ser empleada.

Aparatos, utensilios y medios de medición

- Tubos plásticos de 10 ml graduados de centrífuga.
- Tubos para ensayo de 13 x 100 ó 15 x 125 mm.
- Gradilla para los tubos de ensayos.
- Pipeta graduada de 5 ml o 10 ml.

Muestra: Orina de micción espontánea. Es importante que el paciente se abstenga de ingerir 72 horas antes la prueba los siguientes alimentos:

Chocolate, té, café, vainilla, plátano, piña, aguacate y canela y los siguientes medicamentos: Acido Nalidíxico, oxitetraciclina, aspirina, mefenesina, penicilina, metocarbamol.

Todos estos productos pueden dar falsos positivos.

Los frascos para colectar dicha orina deben utilizar como preservio HCL 0.5 N.

FASE ANALITICA.

MARCHA ANALÍTICA:

1. En un tubo de ensayo añadir orina homogenizada: 1ml.
2. Añadir 1ml del reactivo de trabajo.
3. Mezclar y dejar en reposo 5 minutos.

FASE POSTANALITICA.

Informe de los resultados:

Positivo: Si aparece color rojo vino.

Negativo: Si aparece color carmelita.

Fuentes de Error:

1. No homogenizar bien las muestras de orina.
2. Nivel de adiestramiento del técnico.
3. Limpieza de la cristalería.
4. Mala preparación del paciente.
5. Mala conservación de la muestra.

Nota: Estas fuentes de error son válidas para casi todas las determinaciones químicas de orina.

10.PIGMENTOS BILIARES URINARIOS: Método de Smith (reacción de lugol).

FASE PREANALITICA

INTRODUCCION

Los pigmentos biliares proceden en su mayor parte de la desintegración de la hemoglobina al destruirse los hematíes, pero también se ha demostrado que una parte de esos pigmentos proceden de otras fuentes como la mioglobina, el citocromo, la catalasa y las porfirinas, estas últimas no utilizadas en la formación de hemoglobina.

Se denomina coluria a la presencia de pigmentos biliares (especialmente: bilirrubina) en la orina. No aparece en la orina hasta que la cifra de esta en sangre no alcance valores de 2 mg por 100 ml.

Puede observarse coluria en: Ictero hepatocelular o hepático: Infeccioso, viral, tóxico o cirrótico. Ictero obstructivo: Si la obstrucción es completa, la coluria resulta muy intensa. Ictero hemolítico: Cuando lleva largo tiempo instalado y existe cierto grado de insuficiencia hepática. Habitualmente no hay coluria.

Objetivo: Determinar cualitativamente pigmentos biliares en muestras de orina.

Fundamento: Se basa en la reacción colorimétrica del yodo al reaccionar con la bilirrubina en las muestras de orina y convierte a esta en biliverdina y bilicianina.

Reactivo necesario:

Reactivo de lugol.

Aparatos, utensilios y medios de medición.

- Tubos plásticos de 10 ml graduados de centrífuga.
- Tubo para ensayo de 13 x 100 ó 15 x 125 mm.
- Gradilla para los tubos de ensayos.
- Pipetas graduadas de 5 ml.
- Pipeta automática de 500 µl.
- Centrífuga.

Muestra: Orina de micción espontánea (más de 5 ml).

FASE ANALITICA.

Procedimiento:

1. Centrifugar la orina por 5 minutos a 1500rpm.
2. En un tubo para ensayo colocar 2 ml de orina centrifugada.
3. Añadir suavemente 500ul ml de solución de Lugol por las paredes del tubo para evitar que se mezclen.
4. Si la orina contiene bilirrubina (PBU) se formara un anillo verde en la interface de ambos líquidos.

FASE POSTANALITICA

Informe de los resultados:

Negativo: Si no aparece el anillo o disco verde.

Positivo: Si aparece el anillo o disco verde, se informará por cruces (de una a cuatro cruces) según el grosor del anillo.

Fuentes de Error:

1. No homogenizar bien las muestras de orina.
2. Nivel de adiestramiento del técnico.
3. Limpieza de la cristalería.
4. No centrifugar la orina antes de proceder.
5. Uso de reactivos caducados.

11. CUERPOS CETONICOS EN ORINA. Método de Imbert.

FASE PREANALITICA

INTRODUCCION: En condiciones normales se pueden encontrar en la orina pequeñas cantidades de acetona, ácido acetil acético y betahidroxibutirato no revelable por las reacciones ordinarias empleadas en el laboratorio. Estos compuestos proceden del metabolismo graso y se consideran patológicos cuando las cifras son mayores de 20 a 25 mg diarios.

Objetivo: Determinar cualitativamente cuerpos cetónicos en muestras de orina.

Fundamento: En presencia de nitroprusiato, la acetona da lugar a un compuesto coloreado (color violeta) llamado ferropentacianuro.

Reactivo necesario:

-Reactivo de Imbert.

-Amoniaco.

Aparatos, utensilios y medios de medición.

- Tubos plásticos de 10 ml graduados de centrífuga.
- Tubo para ensayo de 13 x 100 ó 15 x 125 mm.
- Gradilla para los tubos de ensayos.
- Pipetas graduadas de 5 ml.
- Gotero.
- Centrífuga.

Muestra: Orina de micción espontánea, más de 5 ml.

FASE ANALITICA

Procedimiento:

- 1- Centrifugar la orina 5 min a 1500 rpm.
- 2- Colocar en un tubo de ensayo 5 ml de orina centrifugada o filtrada.
- 3- Añadir 5 gotas de reactivo de Imbert.
- 4- Mezclar.
- 5- Añadir por las paredes del tubo evitando que se mezclen 1 a 2 ml de amoniaco.
- 6- La lectura se realiza en la superficie de ambos líquidos.

Positiva: Si aparece un anillo de color violeta entre ambos líquidos cuya intensidad varía aproximadamente a la cantidad de acetona que contenga la orina.

Negativa: No aparece el anillo.

En los casos positivos se calienta la muestra y si el anillo desaparece se trata de acetona, ya que esta es volátil, pero si persiste se trata de la presencia de alguno de los medicamentos que dan falsos positivos como: ácido acetil salicílico (aspirina).

FASE POSTANALITICA

Informe de los resultados:

Se informará el resultado:

Positiva: Si aparece un anillo de color violeta. De acuerdo con la intensidad del anillo se informa en ligero positivo, positivo, o intenso positivo, algunos lo informan con cruces.

Negativa: No aparece el anillo.

Fuentes de Error

1. No homogenizar bien las muestras de orina.
2. Nivel de adiestramiento del técnico.
3. Limpieza de la cristalería.
4. No centrifugar la muestra antes de proceder.
5. Uso de reactivos caducados.
6. Dejar caer el amoníaco a chorro y no por las paredes del tubo.

12. UROBILINA Y UROBILINÓGENO. Método con reactivo de Ehrlich.

FASE PREANALÍTICA

INTRODUCCION: La bilirrubina vertida por la bilis en el intestino delgado es atacada por las bacterias intestinales y transformada en urobilinógeno y estercobilinógeno. Ambos en contacto con el aire se transforman en urobilina y estercobilina por oxidación. Parte del urobilinógeno formado en el intestino por la acción de la flora microbiana es reabsorbido y regresa al hígado (circulación entero-hepática), y de nuevo es transportada por la bilis. Solo una mínima fracción del urobilinógeno es excretado por la orina. La cantidad de urobilina que aparece en la orina dependerá de la intensidad de la formación intestinal y de la capacidad del hígado para excretar el pigmento por la bilis. Si ésta se encuentra disminuida, el urobilinógeno se deriva hacia el riñón y se elimina por la orina.

Por lo que la urobilina aparece cuando existe un metabolismo exagerado de la hemoglobina-bilirrubina (hemólisis excesiva) o cuando la captación y eliminación de la urobilina esta comprometida por una insuficiencia hepática.

La urobilina se elimina bajo la forma de cromógeno: urobilinógeno. Transcurrido unas horas de su eliminación y por la acción de la luz, el urobilinógeno se transforma en urobilina. Desde el punto de vista práctico no existen diferencias fisiológicas entre estas sustancias por lo cual el método es aplicables para ambas.

Objetivo: Determinar cualitativamente urobilina y urobilinógeno en muestras de orina.

Fundamento: Se basa en la reacción colorimétrica del urobilinógeno en presencia de paradimetilaminobenzaldehído que origina un color rojo brillante.

Reactivo necesario:

Reactivo de Ehrlich.

Solución de cloruro de calcio al 10%.

Aparatos, utensilios y medios de medición.

- Tubos plásticos de 10 ml graduados de centrífuga.
- Tubo para ensayo de 13 x 100 ó 15 x 125 mm.
- Gradilla para los tubos de ensayos.
- Pipetas graduadas de 5 ml.
- Gotero.
- Centrífuga.

Muestra: Orina de micción espontánea más de 5 ml de la misma.

FASE ANALITICA

Procedimiento:

- Si la muestra contiene pigmentos biliares, mezclar cuatro partes de orina con una parte de solución de cloruro de calcio al 10% y filtrar.
- En un tubo para ensayo 2 ml de orina filtrada o centrifugada a 1500 rpm durante 5 min.
- Añadir 3 o 4 gotas de reactivo de Ehrlich.
- Dejar reposar de 3 a 5 min.
- Si la muestra contiene gran cantidad de urobilinógeno, aparecerá un color cereza, si la cantidad es normal el color será ligeramente rosado. Si no aparecen dichos colores debe dejarse la reacción en reposo más tiempo y calentarse. Si tampoco aparece el color rosado o cereza la muestra no contiene urobilinógeno.
- Esta prueba puede hacerse semi-cuantitativa realizando diluciones seriadas de la muestra de orina filtrada y realizando el proceder. Se informa como positiva a la última dilución.

FASE POSANALITICA.

Informe de los resultados:

Positiva: Si hay presencia del color característico.

Negativa: Ausencia del color característico.

Fuentes de Error.

1. No homogenizar bien las muestras de orina.
2. Nivel de adiestramiento del técnico.
3. Limpieza de la cristalería.
4. No centrifugar la orina antes de proceder.

13. HEMOGLOBINURIA.

FASE PREANALITICA

INTRODUCCION: La sangre puede presentarse en la orina bajo la forma de glóbulos intactos (hematíes) o como hemoglobina (hemoglobinuria). La hematuria puede investigarse por el exámen microscópico o por ensayos químicos. La hemoglobina no acompañada por hematíes aparece en distintas enfermedades y se evidencia por métodos colorimétricos.

La hemoglobina puede presentarse en la orina en:

- Hemólisis intensa en gran número de estados tóxicos.
- Después de quemaduras graves.
- En la malaria y reacciones postransfusionales
- En hemoglobinurias paroxísticas nocturnas.
- En procesos malignos.

Objetivo: Determinar cuantitativamente la presencia de hemoglobina en muestras de orina.

Prueba de bencidina para la investigación de hemoglobina.

Fundamento: La identificación química de la hemoglobina en la orina se fundamenta en la reacción entre el hierro de la hemoglobina liberada y el reactivo empleado, que produce un color azul de acuerdo a la cantidad de hemoglobina.

Reactivos necesarios:

- Solución saturada de Bencidina en ácido acético glacial.
- Agua oxigenada al 3%.

Aparatos, utensilios y medios de medición.

- Tubos plásticos de 10 ml graduados de centrífuga.
- Tubo para ensayo de 13 x 100 ó 15 x 125 mm.
- Gradilla para los tubos de ensayos.
- Pipetas graduadas de 1ml, 5 ml.

Muestra: Orina de micción espontánea, más de 5 ml de la misma.

FASE ANALITICA

Procedimiento:

1. Colocar en un tubo de ensayo 3 ml de orina.
2. Añadir 3 ml de bencidina en ácido acético glacial.
3. Mezclar y agregar 1ml de agua oxigenada al 3%.
4. Mezclar bien.
5. Lectura.

Nota: Si se usa el sedimento, se le incorporan 2 ml de agua destilada y se sigue el mismo procedimiento. Es indispensable que el peróxido de hidrógeno (agua oxigenada) sea

activo, lo que se verifica añadiendo unas gotas de ácido sulfúrico concentrado a unos 3 ml de agua oxigenada, si es activa todavía, tomará un color azul.

FASE POSTANALITICA

Informe de los resultados:

Positiva: aparece un color verde o azul.

Negativa: No cambia de color.

Fuentes de Error:

1. No homogenizar bien las muestras de orina.
2. Nivel de adiestramiento del técnico.
3. Limpieza de la cristalería (con restos de sangre).

14. CALCIO EN ORINA DE 24 HORAS.

MÉTODO COLORIMETRICO O- CRESOLFTALEINA COMPLEXONA SIN DESPROTEINIZACIÓN.

FASE PREANALITICA

INTRODUCCION: El 99% del calcio se encuentra en los huesos en forma de hidroxilapatito y solo un porcentaje menor se halla en los espacios extra e intracelular fuera de los huesos. El calcio del espacio intracelular se encuentra en equilibrio dinámico con el calcio óseo de recambio rápido, los iones cálcicos influyen en la contracción del corazón y de la musculatura esquelética y son imprescindibles para el funcionamiento del sistema nervioso, además juegan un papel importante en la coagulación de la sangre y en la mineralización ósea. El metabolismo del calcio se regula por la parathormona, el calcitriol y la calcitonina.

Los síntomas característicos de una hipocalcemia son: la tetania latente o manifiesta y la osteomalacia; la hipocalcemia se debe a la ausencia o la hipofunción de la paratiroides o a un déficit de la síntesis de vitamina D. La hipercalcemia se debe a una movilización de calcio del sistema esquelético (osteoporosis) o a una alta resorción intestinal. En la mayoría de los casos se trata o bien de un hiperparatiroidismo primario, o bien de metástasis óseas de los carcinomas de mama, próstata o tiroides, así como del carcinoma bronquial.

Objetivo: Cuantificar la presencia de calcio en muestras de orina de 24h.

Fundamento: Se basa en un método colorimétrico en el cual el calcio forma un complejo color violeta con la o- cresolftaleína complexona en medio alcalino que se mide espectrofotométricamente.

Reactivo necesario:

- Reactivo diagnóstico comercial para la determinación de calcio en fluidos biológicos.

Aparatos, utensilios y medios de medición

- Tubos plásticos de 10 ml graduados de centrífuga

- Tubo para ensayo de 13 x 100 ó 15 x 125 mm.
- Gradilla para los tubos de ensayos.
- Pipetas graduadas de 5 ml , 10 ml.
- Probeta graduada de 2000 ml.
- Centrífuga.
- Fotocolorímetro.

Muestra: Orina de 24h. Para disolver las sales de calcio, añadir 10ml de ácido clorhídrico (6 mol/l) a cada frasco antes de recoger la orina o acidificar la orina (pH menor que 2) después de recogida. Las muestras que contiene precipitadas deben centrifugarse antes de realizar al test.

FASE ANALITICA

Cálculos.

1. Medir volumen total de la orina de 24 horas con previa homogenización de la misma.
2. Centrifugar o filtrar 10ml de la muestra de orina a 1500 rpm durante 5min.
3. Llevar la muestra al departamento de bioquímica para procesarla en el equipo Hitachi u otro fotocolorímetro disponible y apto para su uso y seguir según el procedimiento técnico para la determinación de calcio en sangre. .
4. Cálculo:
Se multiplica la concentración en mmol/l de la muestra por el volumen total de la muestra expresado en litros.

FASE POSTANALITICA

Informe de los resultados: mmol/24h.

VALORES DE REFERENCIAS

ADULTOS: 2,5 – 8,0 mmol/24 h.

Fuentes de Error:

1. No homogenizar bien las muestras de orina.
2. Nivel de adiestramiento del técnico.
3. Limpieza de la cristalería (con restos de sangre).
4. Mala conservación de la muestra.
5. No medir correctamente el volumen total.
6. Error en los cálculos.

15. URATOS EN ORINA DE 24 HORAS

MÉTODO ENZIMÁTICO COLORIMETRICO TRINDER. AUTOMATIZADO

FASE PRE ANALITICA

INTRODUCCION: El ácido úrico es el producto final del catabolismo de los nucleótidos purínicos (adenosina y guanosina) endógeno y exógeno (de origen alimenticio). Esta transformación ocurre fundamentalmente en el hígado. Aproximadamente el 75 % del ácido úrico se elimina por los riñones, el resto se libera en el tracto gastrointestinal donde es degradado por la enzimas bacterianas. El ácido úrico es muy poco soluble en agua, en la orina pueden aparecer cristales de uratos cuando la concentración es anormalmente alta. Este fenómeno puede ocurrir también en plasma, los cristales se depositan fundamentalmente en las articulaciones provocando inflamaciones dolorosas

Entre las causas de aumento de ácido úrico en el suero pueden ser mencionadas: aumento en la síntesis de purinas, desórdenes metabólicos (Ej. Síndrome de Lesch-Nyhan), problemas nutricionales, aumento de recambio de ácidos nucleicos especialmente en el caso de una proliferación de células tumorales, leucemia, soriasis, drogas citotóxicas, fallo renal...Etc.

Objetivo: Cuantificar la presencia de ácido úrico en muestras de orina de 24h.

Fundamento: Método enzimático colorimétrico con la formación de un compuesto coloreado que se mide en una longitud de onda determinada.

Reactivo necesario:

- Reactivo diagnóstico comercial para la determinación de uratos en fluidos biológicos.
- NaOH 12,5 M.

Aparatos, utensilios y medios de medición.

- Tubos plásticos de 10 ml graduados de centrífuga.
- Tubo para ensayo de 13 x 100 ó 15 x 125 mm.
- Gradilla para los tubos de ensayos.
- Pipetas graduadas de 5 ml, 10 ml.
- Probeta graduada de 2000 ml.
- Centrífuga.
- Fotocolorímetro.
- Pipeta automática variable de 1000 µl.

Muestra: Orina de 24h.

Si se recibe una orina sin preservar, añadir 0,1 ml de NaOH 12,5 M a 10 ml de orina bien mezclada. Mezclar bien. Puede ser necesario calentar a 60 grados Celsius para disolver los precipitados.

FASE ANALITICA

1. Medir volumen en litros de orina de 24 horas previa homogenización.
2. Centrifugar a 1550 rpm por 5min o filtrar la orina.

3. Realizar una dilución (1: 10): 100µl de orina centrifugada + 900 µl de agua destilada.
4. Llevar la muestra diluida al departamento de bioquímica para procesarla en el equipo Hitachi u otro fotolorímetro disponible y apto para su uso y seguir según el procedimiento técnico para la determinación de ácido úrico en sangre.
5. Cálculo:
Se multiplica la concentración en mmol/l de la muestra por el factor de dilución (10) y por el volumen total de la muestra expresado en litros.
 $\text{mmol/l} \times 10 \times V_t$

FASE POSTANALITICA

Informe de los resultados: µmol/24h.

VALORES DE REFERENCIA.

1500 – 4500 µmol / 24 horas.

Fuentes de Error:

1. No homogenizar bien las muestras de orina.
2. Nivel de adiestramiento del técnico.
3. Limpieza de la cristalería (con restos de sangre).
4. Mala conservación y recolección de la muestra.
5. No medir bien el volumen total.
6. No realizar correctamente la dilución.
7. Error en los cálculos.
8. No centrifugar la muestra antes del proceder analítico.

16. FÓSFORO EN ORINA DE 24 HORAS.

METODO DE FISKE - SUBAROV AUTOMATIZADO.

FASE PRE ANALITICA

INTRODUCCION: El 88% del fósforo en el organismo se encuentra en los huesos como fosfato de calcio en forma del apatito, el resto participa en el metabolismo intermediario de los carbohidratos y está contenido en las sustancias fisiológicamente importantes como los fosfolípidos, ácidos nucleicos y el ATP. En la sangre el fósforo está presente como fosfato inorgánico y ácido fosfórico inorgánico. La pequeña proporción de fósforo orgánico extracelular existente se halla casi exclusivamente en forma de fosfolípidos. El fósforo y el calcio se encuentran en la sangre en la relación de 6 a 10. El aumento en la concentración de fósforo provoca un aumento en la del calcio, mecanismo influido por una interacción entre la parathormona y la vitamina D.

El hipoparatiroidismo, la intoxicación con vitamina D y la insuficiencia hepática con escasa filtración glomerular de fósforo provocan hiperfosfatemia.

Objetivo: Cuantificar la presencia de fósforo en muestras de orina de 24h.

Fundamento: Es un método colorimétrico que se fundamenta en la reacción del fosfato con el molibdato de amonio para formar el fosfomolibdato de amonio sin reducción.

Reactivo necesario:

- Reactivo diagnóstico comercial para la determinación de fósforo en fluidos biológicos.

Aparatos, utensilios y medios de medición

- Tubos plásticos de 10 ml graduados de centrífuga.
- Tubo para ensayo de 13 x 100 ó 15 x 125 mm.
- Gradilla para los tubos de ensayos.
- Pipetas graduadas de 5 ml, 10 ml.
- Probeta graduada 2000 ml.
- Fotocolorímetro.
- Centrífuga.
- Pipetea automática variable de 1000 µl.

Muestra: Orina de 24h preferiblemente refrigerada.

FASE ANALITICA

1. Medir volumen en litros de orina de 24 previa homogenización.
2. Centrifugación a 1500 rpm por 5 min ó filtrar la orina.
3. Realizar una dilución de la orina (1:10), 100µl de la muestra centrifugada + 900µl de agua destilada.
4. Llevar la muestra diluida al departamento de bioquímica para procesarla en el equipo Hitachi u otro fotocolorímetro disponible y apto para su uso y seguir según el procedimiento técnico para la determinación de fósforo en sangre.
5. Cálculos:

Resultado del en mmol/l x 10 (factor de dilución) x volumen total de orina en litros.

FASE POSTANALITICA

Informe de los resultados: mmol/24h

VALORES DE REFERENCIA:

29 - 42 mmol / 24 horas.

Fuentes de Error:

1. No homogenizar bien las muestras de orina.
2. Nivel de adiestramiento del técnico.
3. Limpieza de la cristalería (con restos de sangre).
4. Mala conservación y recolección de la muestra.
5. No medir bien el volumen total.
6. No realizar correctamente la dilución.

7. Error en los cálculos.
8. No centrifugar la muestra antes del proceder analítico.

17. UREA EN ORINA DE 24 HORAS.

METODO ENZIMÁTICO COLORIMÉTRICO AUTOMATIZADO.

FASE PRE ANALITICA

INTRODUCCION: Urea es el principal producto metabólico del catabolismo de las proteínas. Se sintetiza a partir del amoníaco exclusivamente en el hígado. Más del 90% de la urea es excretada a través de riñón y un pequeño porcentaje se excreta a través el tracto gastrointestinal o la piel. La concentración sanguínea de urea puede incrementarse debido a numerosos factores:

- **prerenales** (el aumento catabolismo de proteína como en hemorragia gastrointestinal, estado de shock, hepatopatías crónicas)
- **renales/ posrenales** (enfermedades renales agudas o crónicas, obstrucción posrenal de flujo urinario).
- La urea también puede incrementarse en dietas altas en proteína, estado de deshidratación, inanición, hambruna. La determinación de la tasa de urea junto con la determinación de la creatinina sirve para destacar trastornos prerenales (donde la creatinina es normal) y renal o posrenales (donde está elevada).

Objetivo: Cuantificar la presencia de urea en muestras de orina de 24h..

Fundamento: Método enzimático colorimétrico con la formación de un compuesto coloreado que se mide en una longitud de onda determinada.

Reactivo necesario:

- Reactivo diagnóstico para la determinación de urea en fluidos biológicos.

Aparatos, utensilios y medios de medición.

- Tubos plásticos de 10 ml graduados de centrífuga.
- Tubo para ensayo de 13 x 100 ó 15 x 125 mm.
- Gradilla para los tubos de ensayos.
- Pipetas graduadas de 5 ml, 10 ml.
- Probeta graduada de 2000 ml.
- Fotocolorímetro u espectrofotómetro.
- Centrífuga.
- Pipeta automática variable de 1000 µl.

Muestra: Orina de 24h.

FASE ANALITICA

1. Medir volumen de orina de 24 previa homogenización.

2. Centrifugar 10ml de orina a 1500 rpm por 5 min ó filtrar la orina.
3. Realizar una dilución de la orina (1: 20) con agua destilada: 100 µl de orina + 1900 µl de agua destilada.
4. Llevar la muestra diluida al departamento de bioquímica para procesarla en el equipo Hitachi u otro fotolorímetro disponible y apto para su uso y seguir según el procedimiento técnico para la determinación de urea en sangre.
5. Cálculos:
Resultado en mmol/l x 20 (factor de dilución) x volumen total de orina en litros.

FASE POSTANALITICA

Informe de los resultados: mmol/24h

VALORES DE REFERENCIA.

430 - 710 mmol / 24 horas.

Fuentes de Error

1. No homogenizar bien las muestras de orina.
2. Nivel de adiestramiento del técnico.
3. Limpieza de la cristalería (con restos de sangre).
4. Mala conservación y recolección de la muestra.
5. No medir bien el volumen total.
6. No realizar correctamente la dilución.
7. Error en los cálculos.
8. No centrifugar la muestra antes del proceder analítico.

18. CREATININA URINARIA

(METODO DE JAFFE CINÉTICO). Método cinético o punto final con filtrado libre de proteínas.

FASE PRE ANALITICA

INTRODUCCION: En el metabolismo muscular, la creatinina se sintetiza de forma endógena a partir de la creatina y el fosfato de creatina. Si la función renal es normal, la creatinina se excreta por filtración glomerular. La determinación de creatinina se realiza para diagnosticar y evaluar la insuficiencia renal crónica y aguda así como para control la diálisis renal. La concentración de creatinina en orina puede emplearse como valores de referencia de excreción de ciertos anabolitos (albúmina, alfa amilasa).

Objetivo: Cuantificar la presencia de creatinina en muestras de orina de 24h.

Fundamento: Se basa en la determinación colorimétrica de la creatinina por la reacción con el ácido pícrico en medio alcalino (reacción de jaffé), obteniéndose un complejo de color amarillo que es proporcional a la concentración de creatinina en la muestra.

Reactivo necesario:

- Reactivo diagnóstico comercial para la determinación de creatinina en fluidos biológicos.
- Reactivos desproteinizadores (Tungstato de sodio y ácido sulfúrico).

Aparatos, utensilios y medios de medición.

- Tubos plásticos de 10 ml graduados de centrífuga.
- Tubo para ensayo de 13 x 100 ó 15 x 125 mm.
- Gradilla para los tubos de ensayos.
- Papel de filtro.
- Embudos.
- Cronómetro.
- Pipetas graduadas de 5 ml, 10 ml.
- Probeta graduada de 2000 ml.
- Fotocolorímetro.
- Centrífuga.
- Pipetas automáticas de 20 y 1000 μ l

Muestra: Orina de 24h.

FASE ANALITICA

1. Medir volumen de orina de 24 previa homogenización.
2. Centrifugar 10ml de orina a 1500 rpm por 5 min ó filtrar la orina.
3. Diluir la muestra homogenizada de orina (1:100) de la siguiente forma. 50 μ l de orina + 1900 μ l de agua destilada
4. Llevar la muestra diluida al departamento de bioquímica para procesarla en el equipo Hitachi u otro fotocolorímetro disponible y apto para su uso y seguir según el procedimiento técnico para la determinación de creatinina en sangre ya sea por la técnica cinética o punto final con desproteinización.
5. Cálculos:
6. Resultado del Hitachi x 100 (factor de dilución) x volumen total de orina en litros.

FASE POSTANALITICA

Informe de los resultados: mmol/24h.

VALORES DE REFERENCIA.**Orina (24 h)**

Hombres: 9 -21 mmol/24 h

Mujeres: 7 -14 mmol/24 h

Se adjuntan los valores em orina espontánea en caso de interes médico.

La primera orina de la mañana.

Hombres: 3450 – 22900 $\mu\text{mol/l}$.

Mujeres: 2470 – 19200 $\mu\text{mol/l}$.

Fuentes de Error:

1. No homogenizar bien las muestras de orina
2. Nivel de adiestramiento del técnico
3. Limpieza de la cristalería (con restos de sangre).
4. Mala conservación y recolección de la muestra.
5. No medir bien el volumen total.
6. No realizar correctamente la dilución.
7. Error en los cálculos.

19. AMILASURIA. METODO ENZIMÁTICO COLORIMÉTRICO AUTOMATIZADO.

FASE PRE ANALITICA

INTRODUCCION:

La cuantificación de amilasa es una urgencia de laboratorio. La amilasa es una enzima del páncreas y las glándulas salivales que convierte el almidón de los alimentos en glucosa y que está presente en la orina en cantidades mínimas. Cuando hay una infiltración severa de algunos de estos órganos pasan cantidades mayores de esta enzima a la sangre y es eliminada por tanto mayor cantidad en la orina.

Niveles elevados de amilasa pueden encontrarse en:

- Las pancreatitis agudas. En este caso los valores de amilasa en orina se elevan antes que en sangre y se mantienen elevados por dos días después de la crisis.
- Parotiditis.
- Úlcera péptica penetrante en páncreas.

Objetivo: Cuantificar amilasa en muestras de orina de 24h y micción espontánea.

Fundamento: Las pruebas de laboratorio se basan en la medición de la actividad enzimática sobre un sustrato de almidón que constituye el reactivo con el cual se enfrenta la enzima presente en la muestra, el almidón es degradado a glucosa y esa degradación es proporcional a la actividad de la amilasa.

Reactivo necesario:

- Reactivo diagnóstico para la determinación de amilasa en fluidos biológicos.

Aparatos, utensilios y medios de medición

- Tubos plásticos de 10 ml graduados de centrífuga.
- Tubo para ensayo de 13 x 100 ó 15 x 125 mm.

- Gradilla para los tubos de ensayos.
- Pipetas graduadas de 5 ml, 10 ml.
- Probeta graduada de 2000 ml.
- Centrífuga.
- Fotocolorímetro.

Muestra: Orina de micción espontánea o muestras de orina de 24h. La prueba se puede realizar en una micción aislada, pero los resultados son más confiables si se emplea en orina de 2h. Por lo general se realiza conjuntamente con la cuantificación de amilasa sanguínea con el objetivo de comparar los resultados.

En este examen en particular la orina de 24 h no debe tener conservantes, ya que la alfa amilasa es inestable en la orina ácida. Realizar el test de inmediato o alcalinizar las muestras para su almacenamiento a pH 7.0. Las muestras conteniendo precipitado deben centrifugarse antes de efectuar el test.

FASE ANALITICA

1. Medir volumen de orina de 24 previa homogenización.
2. Centrifugar 10ml de orina a 1500 rpm por 5 min ó filtrar la orina. No pipetear con la boca, evitar el contacto de reactivo con la piel porque la saliva y el sudor contiene alfa amilasa.
3. Llevar la muestra al departamento de bioquímica para procesarla en el equipo Hitachi o fotocolorímetro.
4. Cálculos:

Resultado en mmol/l x Volumen de la muestra expresado en litros

* (si la actividad de la alfa amilasa es muy elevada se hace necesario diluir la muestra para su proceder e incluir el factor de dilución (FD) para realizar los cálculos).

Resultado en mmol/l x Volumen de la muestra expresado en litros. FD.

FASE POSTANALITICA

Informe de los resultados:

Amilasa en orina de 24h: U/24h.

Amilasa en muestras de micción espontánea: U/l.

VALORES DE REFERENCIA:

Orina de 24h: Menor o igual que 410 U/24h.

Orina espontánea: menor que 460 U/l.

Fuentes de Error

1. No homogenizar bien las muestras de orina
2. Nivel de adiestramiento del técnico
3. Limpieza de la cristalería (con restos de sangre).

4. Mala conservación de la muestra.
5. No realizar correctamente la dilución.
6. Error en los cálculos.
7. Mal manejo y calibración del equipo.
8. Reactivos vencidos.

20. DEPURACIÓN O ACLARAMIENTO DE CREATININA.

FASE PREANALITICA

INTRODUCCION

La creatinina se forma por la deshidratación de la creatina, en el transcurso del metabolismo energético muscular, a un ritmo constante y depende de la masa muscular del individuo, por lo que la producción de creatinina endógena se mantiene constante mientras la masa muscular se mantenga de la igual forma. La totalidad de la creatinina producida es filtrada por el glomérulo y se elimina disuelta en la orina, por lo que constituye un índice muy seguro de la capacidad de filtración glomerular.

Este exámen constituye la prueba de función renal glomerular y su disminución representa una pérdida de la función de filtración del riñón (glomérulos renales).

El término aclaramiento plasmático (filtración glomerular) indica la capacidad de los riñones para eliminar diversas sustancias del plasma. Ej. Si el plasma que atraviesa los riñones contiene 0,1 g de una sustancia por 100 ml y 0,1g de esa sustancia pasa a la orina cada minuto, los 100 ml de plasma quedarán limpios, desprovistos o aclarados de esa sustancia por minuto.

Objetivo: Describir el procedimiento para la determinación del aclaramiento plasmático teniendo en cuenta la relación entre las concentraciones de creatinina en sangre y orina del paciente, así como su superficie corporal para expresar el aclaramiento absoluto.

Fundamento: Se basa en el método JAFFE- CINETICO descrito para la determinación de creatinina y se procede a calcular el aclaramiento plasmático teniendo en cuenta la superficie corporal del paciente.

Muestra: Sangre venosa del paciente y orina de 24 h.

Se requiere además de otros datos imprescindibles como: Peso en kg, talla en metros, sexo, edad y raza del paciente.

Fórmula del aclaramiento de Creatinina.

$$\text{FG absoluto} = \frac{\text{Creat. Orina} \times \text{V/ min.}}{\text{Creat. Suero}} \quad (\text{Se expresa en ml / min}).$$

$$\text{FG corregido} = \frac{\text{Creat. Orina} \times \text{V/ min}}{\text{Creat. Suero}} \times \frac{1.73}{\text{S.C.}} \quad (\text{Se expresa en ml / min/ m}^2)$$

$$S.C = \frac{\text{Talla}^{0.725} (\text{cms}) \times \text{Peso}^{0.425} (\text{Kg.}) \times 71.84}{10\,000}$$

Creat. Orina: Resultado de la concentración creatinina en orina (umol/L) x Factor de dilución (100) x Volumen total de la orina en litros.

Creat. Suero: Resultado de la concentración de creatinina en suero (umol/l)

S.C: Superficie corporal (m²). La superficie corporal del paciente (SC) se calcula mediante un normograma

Fórmula de Cockcroft y Gault.

Filtrado glomerular absoluto.

$$FG = \frac{(140 - \text{edad en años}) \times \text{Peso (Kg.)} \times FS}{0.818 \times \text{Creatinina en suero}} \quad (\text{Se expresa en ml / min}).$$

FS Si Femenino = 0.85 Si masculino = 1

Filtrado glomerular corregido

$$FG = FG \times 1.73 / SC \quad (\text{Se expresa en ml / min/ m}^2)$$

En nuestro medio la determinación de creatinina (tanto sérica como urinaria) se realiza en el departamento de bioquímica en el analizador químico o fotolorímetro utilizando el método automatizado de JAFFE CINÉTICO.

FASE ANALÍTICA

MARCHA ANALÍTICA

1-Homogenizar la orina recolectada en 24 horas

2-Medir volumen total de la orina

3-Diluir la muestra homogenizada de orina de la siguiente forma. 20 ul de orina + 1980 ul de agua destilada (1:100)

4-Enviar al departamento de química dicha dilución de la orina perfectamente identificada para la determinación de creatinina. Resultado en umol /l

5- La muestra de sangre se enviará directamente al departamento de química para la determinación de creatinina. Resultado en umol/l

6-CÁLCULOS

a) Se calcula V/min (volumen minutado) de forma similar al conteo de addis.

VM= Cantidad de orina / 1440 min de 24 horas

b) Creatinina en orina: Resultado de la concentración creatinina en orina (umol/L) x Factor de dilución (100) x Volumen total de la orina en litros.

c) Creatinina sérica: Resultado se informará en umol//

$$d) \text{ UPC} = \frac{\text{CO}}{\text{CS}}$$

UPC: Cociente creatinina en orina / creatinina en suero. No se informa en unidades.

CO: Resultado de la concentración creatinina en orina (umol/L) x Factor de dilución (100) x Volumen total de la orina en litros.

CS: Resultado de la concentración de creatinina en suero (umol/l).

FASE POSTANALITICA

VALORES DE REFERENCIA

VM = 0.95 -3 ml /minutos

CREATININA EN ORINA

Orina (24 h)

Hombres: 9 -21 mmol/24 h ó 9000 – 21 000 µmol/l.

Mujeres: 7 -14 mmol/24 h ó 7000 – 14 000 µmol/l.

CREATININA SÉRICA = 44 – 126 µ mol/l

FGC = 60 - 152 ml/min/ m²

Fuentes de Error:

1. No homogenizar bien las muestras de orina
2. Nivel de adiestramiento del técnico
3. Limpieza de la cristalería (con restos de sangre).
4. Mala conservación y recolección de la muestra.
5. No realizar correctamente la dilución.
6. Error en los cálculos.
7. Mal manejo y calibración del equipo.
8. Reactivos vencidos.

21. IONOGRAMA URINARIO (NA Y K EN ORINA DE 24 HORAS)

FASE PREANALITICA.

INTRODUCCION: El sodio es el principal catión del líquido extracelular y el factor determinante de la osmolalidad plasmática: los cambios de la concentración plasmática de sodio se acompañan de cambios más o menos rápidos e importantes en la cantidad de agua que pasa hacia el interior o el exterior de las células, lo que da lugar a las alteraciones del volumen extracelular.

El potasio es el principal catión intracelular y su metabolismo mantiene estrecha relación con la función de la célula. La principal función del potasio en el organismo es la regulación de la

excitabilidad de algunas células, y son los trastornos de los tejidos excitables los que pueden causar problemas médicos serios.

Objetivos: Cuantificar sodio y potasio en muestras de orina de 24h.

Fundamento: Se basa en el principio de la potenciometría que consiste en la diferencia de potencial entre dos electrodos sumergidos en una solución bajo condiciones de corriente cero.

Equipo necesario: Gasómetro, centrífuga.

Instrumentos necesarios: Cristalería para medir el volumen de la muestra de medición.

Muestra: Se realiza en muestra de orina de 24h.

FASE ANALITICA

1. Medir el volumen urinario de 24 horas previa homogenización de la muestra.
2. Llevar un tubo de ensayo con 15 ml de orina, centrifugada al departamento de gasometría.
3. Deseche el resto de la orina.
4. En la sección de gasometría se hará la dilución pertinente para cada ión (K y Na). Se realizará en equipo de ión selectivo basado en el principio de la potenciometría.

Cálculo

En caso de realizarse en orina de 24h el resultado se multiplica por el volumen de orina y por la dilución si fue necesaria. Expresión de los resultados en mmol/24h.

FASE POSANLITICA

INFORME DE LOS RESULTADOS

Las concentraciones para orina de 24h se expresan en: mmol/24h, en orinas espontáneas se expresan en mmol/l.

|

VALORES DE REFERENCIA:

Para orinas de 24h:

Na: 75 a 200 mmol/24h.

k: 40 a 80 mmol/24h.

22. BIBLIOGRAFÍA:

1. Widmann F.K, Clinical Chemistry Principles and Technics. Harper and Row, New York. 1974: 116.
2. Henry R. J, Cannon DC, Winkelman JW. Química Clínica. Bases y Técnicas. 2ª edición. Nueva York, NY: Harper y Row, 1974: 723.
3. Henry R. J, Cannon DC, Winkelman JW. Química Clínica. Bases y Técnicas. 2ª edición. Nueva York, NY: Harper y Row, 1974: 516.
4. Tietz NW (ed.). Fundamental of Clinical Chemistry. Philadelphia, PA: W B Saunders Company: 1976; 901.
5. Davinsohn I. Y Henry J.B, Diagnostico Clínico por el Laboratorio (1982).
6. Hamburger, J. Crosnier, J. Nefrología pág. 103 –105 Editorial. Edición Revolucionaria. 1982 Cuba.
7. Gradwoll. Método y Diagnóstico del Laboratorio Clínico. Ed. Científico Técnica 1983. Capitulo 22 p. 435.
8. Bawer. Análisis clínicos. Métodos e interpretación (1984).
9. Colina J.A y coautores. Laboratorio. T-I. Ed. Pueblo y Educación, 1989; 223 -243.
10. Steinberg WM, Goldstein SS, Davies ND et al. Diagnostic assays in acute pancreatitis (Review). Ann Intern Med 1985; 102: 576 – 580.
11. Widman F. L. Interpretación Clínica de las pruebas de laboratorio Capitulo 17 Pág. 522 Editorial. Edición Revolucionaria 1986. Cuba.
12. Bauer. Análisis Clínico. Método e Investigación. Nefrología Pág. 19-110. Editorial Reverte 1986.
13. Tietz NW, ed. Clinical Guide to laboratory Tests, 3^e edition. Philadelphia, PA: WB Saunders Company 1995: 186 – 188.
14. Tietz NW, ed. Clinical Guide to laboratory Tests, 3^e edition. Philadelphia, PA: WB Saunders Company 1995: 268-273.
15. Tietz NW, ed. Clinical Guide to laboratory Tests, 3^e edition. Philadelphia, PA: WB Saunders Company 1995: 486 -487.
16. Tietz NW, ed. Clinical Guide to laboratory Tests, 3^e edition. Philadelphia, PA: WB Saunders Company 1995: 268-273.
17. Tietz NW, ed. Clinical Guide to laboratory Tests, 3^e edition. Philadelphia, PA: WB Saunders Company 1995: 46 – 51.
18. Mazzachi BC, Peake MJ, Ehrhardt V. Reference Range and Method Comparison Studies for Enzymatic and Jaffé Creatinine Assays in Plasma and Serum and Early Morning Urine. Clin Lab 2000; 46: 53 – 55.

19. Junge W, Wilke B, Halabi A, Klein G. Creatinine Excretion and Creatinine Clearance: Determination of Reference Intervals using an Specific Enzymatic and Modified Method. Clin Chem Lab Med 2001; 39 Special supplement pp S1- S448, May 2001. PO- T044.
20. Junge W, Wortman W, Wilke B et al. Development and Evaluation of Assays for the Determination of Total and Pancreatic Amylase at 37 °C according to the principle recommended by the IFCC. Clinical Biochemistry 2001; 607 – 615.
21. Colectivo de autores. Selección de Temas para Técnicos Básicos de Laboratorio Clínico. Ed. Ciencias Médicas. 2002: 35; 59-68.
22. Filler G, Priem F, Lepange N, Sinha P, Vollmer I, Clark H, et al. β – Trace Protein, Cystatin C, β_2 - Microglobulin, and Creatinine Compared for Detecting Impaired Glomerular Filtration Rates in Children. Clin Chem 2002; 48: 729 – 36.
23. Suardíaz J. H, Cruz C. L, Colina J. A. Laboratorio Clínico. Ed. Ciencias Médicas. 2004, 377-385.