



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

Facultad de Estudios Superiores  
"ZARAGOZA"

Valores de referencia de  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Cl}^-$  y  $\text{CO}_2$   
en suero por electrodos ion-selectivos con  
el Analizador Nova 4 y su comparación  
con los métodos de referencia para  
 $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$  y  $\text{Cl}^-$ .

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:

QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO

P R E S E N T A :

*Julieta Josefina Gutiérrez Ochoa*

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

MEXICO, D. F.

1993



## **UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso**

### **DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

## INDICE

|                                                             |    |
|-------------------------------------------------------------|----|
| Resumen .....                                               | 2  |
| Introducción .....                                          | 4  |
| I. Marco teórico .....                                      | 5  |
| A. Teoría de los valores de referencia .....                | 5  |
| B. Evaluación de métodos .....                              | 8  |
| C. Potenciometría con electrodos ion-selectivos (EIS) ..... | 10 |
| D. Espectroscopia de emisión atómica (EEA) .....            | 21 |
| E. Coulometría .....                                        | 22 |
| II. Fundamentación de la elección del tema .....            | 25 |
| III. Planteamiento del problema .....                       | 26 |
| IV. Objetivos .....                                         | 27 |
| V. Hipótesis .....                                          | 28 |
| VI. Material y métodos .....                                | 29 |
| A. Material Biológico .....                                 | 29 |
| B. Material de vidrio .....                                 | 30 |
| C. Equipo .....                                             | 30 |
| D. Reactivos .....                                          | 31 |
| E. Métodos .....                                            | 32 |
| F. Análisis estadístico .....                               | 36 |
| VII. Resultados .....                                       | 38 |
| VIII. Discusión .....                                       | 53 |
| IX. Conclusiones .....                                      | 55 |
| X. Anexos .....                                             | 56 |
| XI. Bibliografía .....                                      | 59 |

## RESUMEN

Los electrolitos, principalmente  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$   $\text{Cl}^-$  y  $\text{CO}_2$  juegan un papel muy importante en el equilibrio hídrico, además de desempeñar otras funciones. Para obtener los valores de referencia de  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$   $\text{Cl}^-$  y  $\text{CO}_2$ , en el Instituto Nacional de la Nutrición "Salvador Zubirán", se obtuvieron 273 muestras de sangre de sujetos donadores de sangre, aparentemente sanos (151 hombres y 122 mujeres) con edades de 18 a 72 años previo interrogatorio, toma de tensión arterial (TA), medición de hematocrito (criterios de inclusión), peso y talla.

En los sueros se midieron  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$   $\text{Cl}^-$  y  $\text{CO}_2$  por potenciometría electrodo ion-selectivo (EIS) directa,  $\text{Na}^+$  y  $\text{K}^+$  por espectrofotometría de emisión atómica (EEA), y  $\text{Cl}^-$  por coulometría (COUL); también se determinaron proteínas totales por refractometría y creatinina por el método de Jaffé (criterios de exclusión). Se evaluó la linealidad, exactitud y precisión de EIS y se compararon los métodos EIS y EEA para  $\text{Na}^+$  y  $\text{K}^+$ ; y EIS y Coul para  $\text{Cl}^-$ .

Los intervalos de referencia obtenidos por EIS fueron: para  $\text{Na}^+$  144.3 - 152.5,  $\text{K}^+$  3.46 - 4.76,  $\text{Cl}^-$  104.1 - 113.4 y  $\text{CO}_2$  25 - 34 todos en mmol/L. EIS presentó en promedio valores 3.7 % más altos para  $\text{Na}^+$  y  $\text{K}^+$ ; y 2.9 % más altos para  $\text{Cl}^-$  que EEA y Coul respectivamente.

La precisión intra e interensayo medida en suero con 3 diferentes concentraciones durante el estudio, fueron:  $\text{Na}^+ \leq 0.81$  %,  $\text{K}^+ \leq 1.31$  %,  $\text{Cl}^- \leq 2.32$  % y  $\text{CO}_2 \leq 4.4$  %; la exactitud (% E con respecto al valor asignado) medida con un suero control comercial fue: para  $\text{Na}^+ = 0.38$  %,  $\text{K}^+ = 2.8$  %,  $\text{Cl}^- = 0.68$  % y  $\text{CO}_2 = 0.77$  %.

La linealidad se evaluó con 3 estándares acuosas, sueros diluidos y con mezclas de sueros. Las mediciones fueron lineales:  $r \geq 0.99$  para los cuatro analitos en la matriz acuosa y sérica en el intervalo de concentraciones estudiadas.

La determinación de  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$   $\text{Cl}^-$  y  $\text{CO}_2$  séricos en sujetos sanos por EIS son significativamente mayores que por EEA y Coul. La diferencia es menor a la corrección propuesta por varios autores para el contenido de proteínas, pero mayor a la corrección de 2% para  $\text{Na}^+$  y  $\text{K}^+$  y menor que 4.5 % para  $\text{Cl}^-$  propuesta por el fabricante.

El método EIS presentó exactitud, precisión y linealidad.

Se puede concluir que se debe informar a los médicos los intervalos de referencia del método utilizado en el laboratorio y con el cual se van a manejar las muestras de sus pacientes.

## INTRODUCCION

Los líquidos corporales tienen una composición química específica y se encuentran distribuidos en compartimentos anatómicos separados con volúmenes relativamente fijos (líquido intra y extracelular, intersticial, etc.).

Para compensar un desequilibrio hidroelectrolítico, hay que considerar la historia clínica, los cambios de peso corporal, el estado clínico y las determinaciones en plasma de cada uno de los electrolitos, la osmolalidad, las proteínas y el pH, así como valorar la función renal. El efecto fisiológico de los iones en los líquidos corporales es una función directa de su actividad en el volumen de agua en el que están disueltos. Consecuentemente, en enfermedades que alteran la fracción de volumen de agua en el plasma los mecanismos de compensación consistirán en mantener constante la actividad de los iones.

Por lo anteriormente expresado, es de suma importancia la determinación de electrolitos en varios fluidos del cuerpo, especialmente en plasma o suero y los que principalmente se determinan son  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Cl}^-$  y  $\text{CO}_2$ .

Comunmente en los laboratorios clínicos la determinación de  $\text{Na}^+$  y  $\text{K}^+$  se hace por espectrofotometría de emisión atómica de llama (EEA) y de  $\text{Cl}^-$  por coulometría (Coul), los cuales miden las concentraciones de iones en el volumen total del espécimen. Recientemente se han introducido como métodos de rutina sistemas de medición directa por potenciometría electrodo ion selectivo (EIS), los cuales miden la actividad iónica en la fracción de volumen de agua en el plasma por lo que la medición no se ve afectada por condiciones que alteren el contenido normal de agua (93%) en el plasma.

## I. MARCO TEORICO

### A. TEORIA DE LOS VALORES DE REFERENCIA

Los valores de referencia son valores obtenidos para cantidades medidas en los fluidos biológicos o tejidos de individuos que pertenecen a una población seleccionada bajo condiciones especiales y particulares con el fin de obtener intervalos de referencia relevantes en una situación clínica determinada.

Los componentes del cuerpo humano están sujetos a la variación causada por procesos fisiológicos, diferencias genéticas, enfermedades y factores ambientales, por ello la Federación Internacional de Química Clínica (FIQC) propone que cada laboratorio clínico debe establecer los intervalos de referencia para cada variable analítica que determina en su población.

El intervalo de referencia se establece para tener una base de comparación para interpretar los resultados de laboratorio con el fin de estudiar cambios fisiológicos, detectar una enfermedad, hacer un diagnóstico diferencial o para observar la respuesta a algún tratamiento.

De acuerdo a lo expresado, la FIQC propone las siguientes definiciones con el objeto de estandarizar los parámetros a emplear en el estudio de los valores de referencia:

a. Individuo de Referencia. Es un individuo seleccionado para comparación utilizando un criterio definido.

b. Población de referencia. Una población de referencia es el conjunto de todos los posibles individuos de referencia. Usualmente tiene un número desconocido de miembros y por lo tanto es una entidad hipotética.

c. Muestra de referencia. Es un subconjunto de la población de referencia.

d. Valor de referencia. Es el valor obtenido por observación o medición de una variable analítica de un individuo de la muestra de referencia.

e. Distribución de referencia. Es la distribución estadística de los valores de referencia.

f. Límite de referencia. Se deriva de la distribución de referencia y se usa para propósitos descriptivos.

g. Intervalo de referencia. Es el intervalo entre los límites de referencia incluyéndolos.

Estos conceptos están íntimamente relacionados (Figura 1).

Para establecer valores de referencia se requiere definir a los individuos y las variables a controlar por lo que se deben contemplar los siguientes factores:

a. Criterios de inclusión y exclusión, que definan a la población de referencia.

b. Criterios de división, usados para caracterizar los subconjuntos de la población de referencia con respecto a sexo, edad, grupos étnicos, etc.

c. Condiciones fisiológicas y ambientales bajo las cuales la población de referencia se estudia y, se recolectan las muestras.

d. Recolección de las muestras, se define el procedimiento de obtención de la muestra, incluyendo el manejo y almacenamiento.

e. Método analítico, el que se utiliza para la obtención de los valores de referencia, incluyendo sus límites de detección, precisión y exactitud.

f. Método estadístico con el cual se estiman los intervalos (1).

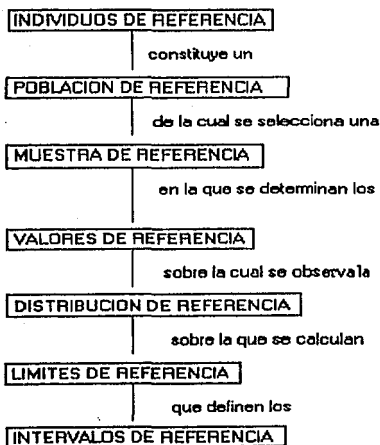


Figura 1. Relación entre los conceptos de los valores de referencia.

## B. EVALUACION DE METODOS

Los nuevos métodos analíticos se desarrollan para mejorar la exactitud y precisión de los ya existentes, para automatizarlos para reducir el costo de reactivos y mano de obra o para determinar una nueva variable analítica, por lo que se requieren experimentos para evaluar los errores analíticos inherentes al método y relacionarlos con los requerimientos médicos, y para ello es necesario definir los siguientes conceptos:

a. Linealidad. La linealidad de un método analítico es su habilidad para asegurar que los resultados analíticos los cuales pueden ser obtenidos directamente o por medio de una transformación matemáticamente bien definida, son proporcionales a la concentración de la sustancia dentro de un rango determinado (2).

b. Rango. El rango de un método analítico es el intervalo entre los niveles superior e inferior de la concentración de la sustancia (incluyendo estos niveles), el cual se ha demostrado que es preciso, exacto y lineal utilizando el método descrito.

c. Exactitud. La exactitud de un método analítico es la concordancia entre el valor obtenido experimentalmente y el valor "verdadero". Comúnmente se identifica como error analítico sistemático, se divide en error constante y proporcional, se ilustra en la Figura 2 (3).

d. Precisión. La precisión de un método analítico es el grado de concordancia entre los resultados analíticos individuales cuando el procedimiento se aplica repetidamente a diferentes muestras. La precisión es una medida del grado de reproducibilidad y/o repetibilidad del método analítico bajo las condiciones normales de operación, y significa error aleatorio (Figura 2). El error aleatorio tiene diferentes componentes de variación dentro de ensayo ( $\sigma^2_{\text{intra}}$ ), la variación interensayo ( $\sigma^2_{\text{inter}}$ ), los cuales se pueden combinar para estimar la variación total de un método:

$$\sigma^2_{\text{Total}} = \sigma^2_{\text{intra}} + \sigma^2_{\text{inter}}$$

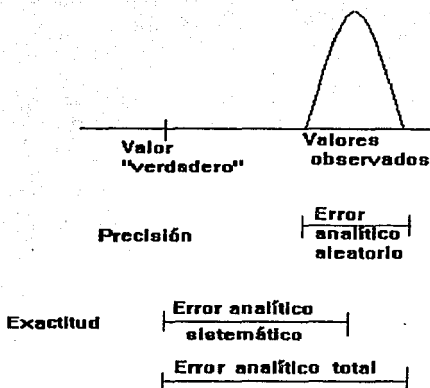


Figura 2. Definiciones de precisión y exactitud en términos de errores analítico, sistemático y total.

Los métodos de referencia son los que han sido comparados con los métodos definitivos, dando valores analíticos dentro del 1 a 2 % del verdadero valor definido en varios laboratorios experimentados. Un método definitivo es el método científicamente más exacto para medir una sustancia química particular. El método de referencia para  $\text{Na}^+$  y  $\text{K}^+$  es la espectrofotometría de emisión atómica (EEA) y para el  $\text{Cl}^-$  es la coulometría (COUL).

## C. POTENCIOMETRIA ION-SELECTIVA (EIS).

### 1. Historia

La potenciometría con electrodos de ion-selectivo data del año de 1905 con el trabajo de Cremer acerca de la determinación del pH con un electrodo de vidrio. En 1924 Hughes menciona el hecho de que otros iones, no solo  $H^+$  podrian detectarse por electrodos de vidrio.

El primer intento para determinar sodio con electrodos fue realizado en 1957 por Eisenmann y colaboradores (4) enriqueciendo con hidróxido de aluminio el vidrio del electrodo. Hoy en día en los laboratorios clínicos se siguen utilizando casi sin cambios para la determinación de sodio en fluidos biológicos.

En 1967 Ross (5) agregó un intercambiador de iones calcio al electrodo indicador, con lo cual se hizo posible la determinación específica de calcio. Este electrodo, utilizando un nuevo sistema redox ( $I^-/I_2$ ), abrió nuevas perspectivas en las técnicas de medición de pH y en la determinación de iones. Este sistema redox trabaja con un electrodo de platino con el que se eliminan las interferencias dependientes de la temperatura de la solución y se reduce el tiempo de operación.

En los años 70s los trabajos del grupo de Simon (6-8) concernientes a transportadores específicos de cationes fueron de gran importancia. En estos transportadores los componentes de la membrana son formadores de complejos eléctricamente neutros. Este grupo demostró que ciertos iones (ionóforos) permiten transferencia selectiva de iones específicos desde la muestra a una membrana sintética (por ejemplo polivinilcloruro), y abre la posibilidad de hacer transportadores sintéticos para facilitar determinaciones altamente específicas de cationes mono y bivalentes.

## 2. Tipos de potenciometría (P) con electrodos ion-selectivos.

Existen dos tipos de potenciometría clasificados con base en tratamiento de la muestra anterior al análisis:

- P. Directa, la determinación se lleva a cabo sin tratamiento previo de la muestra.
- P. Indirecta, la muestra se diluye antes del análisis.

## 3. Modo de operación.

### a. Fundamento.

Los sistemas de potenciometría ion-selectiva se basan en la medición del voltaje como una fuerza electromotriz (FEM) entre un electrodo ion-selectivo (EIS) y un electrodo de referencia (ER) de acuerdo con la siguiente fórmula:

$$FEM = E_{EIS} - E_{ER}$$

Existen dos tipos de electrodos de referencia; el electrodo de calomel (saturado con una solución de KCl) y el electrodo de Ag/AgCl. El electrodo de referencia se encuentra en una solución de composición bien definida llamada solución interna de llenado (9), (Figura 3).

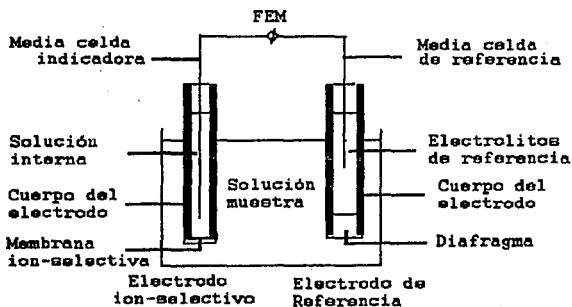


Figura 3. Esquema general de electrodos ion-selectivos.

Los electrodos ion-selectivos, también llamados electrodos de membrana son sensores electroquímicos cuyo mecanismo para determinar el potencial incluye procesos de intercambio iónico, lo cual se lleva a cabo a través de la membrana, que lo aísla de la muestra y permite la atracción selectiva solo de los iones que se quieren determinar (10).

Cuando se alcanza el equilibrio, se establece una diferencia de potencial o potencial de membrana, que depende de las actividades de los iones en ambos lados de la membrana y fue descrito por Nernst a través de su ecuación:

$$E_m = RT/nF \ln a_o/a_i$$

donde  $E_m$ : potencial de membrana  
 $a$ : actividad del ion  
 $T$ : temperatura en grados kelvin  
 $F$ : constante de Faraday  
 $n$ : carga del ion

Como el electrodo de referencia contiene una solución de sales de composición constante, el potencial eléctrico depende sólo de la solución fuera de la membrana:

$$E_m = E_o + RT/nF \ln a_o$$

donde  $E_o$  es una constante que incluye a  $a_i$ , la actividad del ion en la solución interna de llenado del electrodo de referencia. Convirtiendo la ecuación:

$$E_m = E_o + 2.303 RT/nF \log a_o$$

Estableciendo que  $S = 2.303RT/nF$

$$E_m = E_o + S \log a_o$$

dónde  $S$  es la pendiente del electrodo. Bajo condiciones ideales a 37°C,  $S$  es teóricamente igual a aproximadamente 30.8 mV para un ion divalente y 61.5 mV para un ion

monovalente, esto es la pendiente obtenida al trazar una grafica de potencial E contra logaritmo de la actividad.

b. Potencial de unión del liquido.

La unión entre la muestra y el puente electrolítico del electrodo de referencia contribuye adicionalmente a la FEM, este es el llamado potencial de unión del liquido y se genera de las diferentes difusiones de los cationes en una dirección y los aniones en la otra. No hay manera en la que pueda eliminarse completamente pero puede minimizarse por el uso de un puente salino con una solución concentrada de, por ejemplo, KCl, iones que tienen movilidad similar (11). Por lo que la ecuación que describe el sistema de medición se transforma en:

$$FEM = E_{EIS} - E_{ER} - E_j$$

c. Actividad contra concentración.

EIS mide las actividades de los iones, esto es, la concentración iónica libre termodinámicamente efectiva, y no concentraciones. Esto es importante pues las actividades de los iones determinan las velocidades de las reacciones y los equilibrios químicos que dan los efectos fisiológicos en los fluidos biológicos. La relación entre la actividad  $a_M$  de una especie y su concentración molar  $[M]$ , está dada por la expresión:

$$a_M = f_M \cdot [M]$$

donde  $f_M$  es una magnitud sin dimensión, denominada *coeficiente de actividad* Este coeficiente y en consecuencia la actividad de M varia con la fuerza iónica de la solución.

La *fuerza iónica*  $\mu$  se define por la ecuación de Debye y Huckel como

$$\mu = \frac{1}{2} (m_1 Z_1^2 + m_2 Z_2^2 + m_3 Z_3^2 + \dots)$$

donde  $m_1, m_2, m_3, \dots$  representan las concentraciones molares de los diferentes iones en la solución y,  $Z_1, Z_2, Z_3, \dots$  son sus cargos correspondientes.

A diluciones infinitas la distribución de los iones en una solución electrolítica puede considerarse totalmente al azar (los iones están muy lejos para ejercer cualquier atracción) y el correspondiente  $f_M$  es la unidad. A altas concentraciones el coeficiente de actividad se reduce debido a las fuerzas de atracción entre los iones y su atmósfera iónica, (12).

Debido a que el  $f_M$  está influido por la fuerza iónica y este a su vez por las concentraciones y valencias de todos los iones en la muestra deben tomarse en cuenta para realizar una correcta determinación de iones por EIS, por esto se utilizan soluciones calibradoras acuosas con fuerza iónica adaptada para ajustar las actividades medidas a las correspondientes concentraciones (9).

#### 4. Clasificación de los electrodos ion-selectivos.

Con base en tipo de membrana, los electrodos ion selectivos se pueden clasificar (9,12) en:

a.- Electrodos de membrana de vidrio. El mejor conocido es el electrodo de pH. El intercambio de iones se lleva a cabo en la capa de vidrio hidratado. Generalmente están hechos de silicato o alúmino-silicato. Comúnmente utilizado para pH y sodio.

b.- Electrodos de fase sólida. Están contruidos de un material sintético irrompible e insensible a reactivos inorgánicos y a la mayoría de los orgánicos. Este material tiene forma de un solo cristal, o el material activo puede incorporarse a una matriz inerte. Se utilizan para determinar sodio y fluoruro.

c.- Electrodos de membrana líquida. El cuerpo de este electrodo está construido de un material sintético inerte (por ejemplo Fluorocarbono) e incluye un espacio interno con un líquido que actúa como un clásico intercambiador de iones o un formador de complejos. El puente de contacto entre la solución acuosa electrolítica interna y la muestra lo forma una angosta ventana con una membrana porosa empopada en el intercambiador iónico.

d.- Electrodo transportadores. Se basan en el uso de transportadores de iones (ionóforos) y están provistos de una membrana de una matriz inerte de polímeros. La membrana consiste en 30% de polivinilcloruro, 60-69% de suavizantes y 1-3% de ionóforos (%W/W). El transportador forma complejos electricamente neutros con ciertos iones.

e.- Electrodo sensibles a gas. En un sentido estricto no son electrodos ion-selectivos debido a que reaccionan a la presión parcial o concentración de gases. El cuerpo sintético del electrodo incluye en su interior un electrodo que responde a gases disueltos en soluciones acuosas. Se utiliza para determinar iones amonio ( $\text{NH}_4^+$ ) y bicarbonato ( $\text{HCO}_3^-$ ).

f.- Electrodo con enzimas inmovilizadas. A la membrana se le une una enzima específica la cual origina la conversión química del sustrato analizado. En esta reacción los iones libres que se forman se detectan por un electrodo ion-selectivo. La concentración de los iones formados es proporcional a la del sustrato.

#### 5.- Efecto de las macromoléculas séricas sobre la determinación de electrolitos por métodos directos e indirectos.

El volumen que ocupan cada uno de los componentes en 100 mL de suero sanguíneo normal es el siguiente: agua 93.1, proteínas 5.4 mL, lípidos 0.6 mL y otras moléculas (sales solubles, azúcares, etc) 0.9 mL (13). El contenido de estos componentes en adultos sanos permanece relativamente constante, sin embargo, pueden variar substancialmente en estados de enfermedad (Figura 4).

Los métodos de potenciometría directa dan resultados sobre la base del volumen de agua, por lo que el desplazamiento del volumen provocado cuando se alteran la concentración de alguna de las macromoléculas (principalmente proteínas y lípidos) en suero no afectan su resultado, el cual se expresa en mmol/L de agua en el suero.

Los métodos indirectos (incluyendo EEA para  $\text{Na}^+$  y  $\text{K}^+$ ) dan resultados sobre el volumen total de la muestra, es decir, en mmol/L de suero (14).

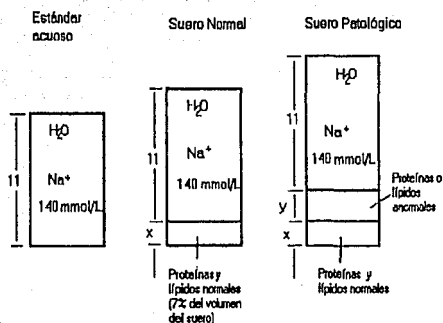
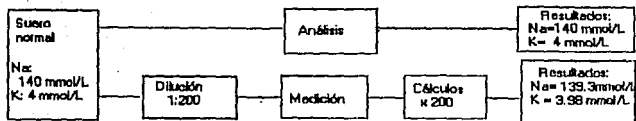


Figura 4. Influencia de las proteínas y lípidos sobre la concentración molar de sodio en suero.

Es importante considerar el efecto de las macromoléculas sobre la concentración molar de los iones, como puede observarse en la Figura 5, para una muestra normal de suero el error es pequeño pero para una muestra con lípidos o proteínas alterados puede ser considerable.

### Potenciometría Directa



### Fluorimetría

Dilución del agua del plasma 1:201

Concentración en el agua del plasma diluida

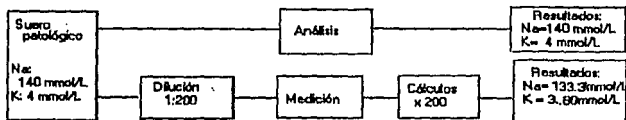
$$Na = \frac{140}{201} = 0.6965 \text{ mmol/L}$$

$$K = \frac{4}{201} = 0.0199 \text{ mmol/L}$$

$$Na: (0.6965 \text{ mmol/L}) (200) = 139.3 \text{ mmol/L}$$

$$K: (0.0199 \text{ mmol/L}) (200) = 3.98 \text{ mmol/L}$$

### Potenciometría Directa



### Fluorimetría

Dilución del agua del plasma 1:210

Concentración en el agua del plasma diluida

$$Na = \frac{140}{210} = 0.6667 \text{ mmol/L}$$

$$K = \frac{4}{210} = 0.0190 \text{ mmol/L}$$

$$Na: (0.6667 \text{ mmol/L}) (200) = 133.3 \text{ mmol/L}$$

$$K: (0.0190 \text{ mmol/L}) (200) = 3.80 \text{ mmol/L}$$

Figura 5. Efecto de la dilución de sueros con concentraciones de proteínas normales y anormales sobre los métodos directo e indirecto.

### 6. Equipo.

Uno de los aparatos empleados para la determinación de iones es el Analizador de Electrolitos Nova 4, que determina 4 analitos:  $Na^+$ ,  $K^+$ ,  $Cl^-$  y  $CO_2$  en sangre, suero, plasma y orina.

Para la determinación de sodio utiliza un electrodo de vidrio, para el potasio y el cloruro utiliza un electrodo de membrana de vidrio con un intercambiador de iones. Para

determinar  $\text{CO}_2$  total ( $\text{TCO}_2$ ) se uso un electrodo de pH con una membrana permeable tipo Severinghaus (15).

El aparato utiliza como electrodo de referencia un electrodo de calomel (saturado con KCl) porque el  $\text{K}^+$  y el  $\text{Cl}^-$  son equitransferentes. El KCl tiene relativa alta concentración la cual minimiza efectivamente cualquier cambio en el Ej de muestra a muestra.

a. Funcionamiento.

El equipo tiene varios modos de operación para analizar sangre total, suero y orina. Otro es el llamado "Offset", con el cual los resultados se dividen por un factor predeterminado para dar resultados similares a los obtenidos por EEA para sodio y potasio y por coulometria para cloruro en suero. El factor para EEA es 1.02 y para coulometria es 1.04 (15).

También se pueden obtener parámetros estadísticos como la media, desviación estándar y coeficiente de variación de por lo menos seis muestras consecutivas y puede calcular el dato del anión restante.

La calibración se lleva a cabo con dos estándares internos de diferentes concentraciones A y B. En el modo de operación sangre, suero o plasma la muestra se aspira por el capilar y pasa directamente a través de los electrodos, entonces el sistema se activa y automáticamente toma una alícuota del estándar A. El microprocesador compara el potencial generado por la muestra con el del estándar y, da el resultado en términos de concentración en mmol/L (16).

En el modo orina, el ciclo es similar, excepto que la muestra se diluye con acetato de magnesio  $\{(\text{CH}_3\text{COO})_2\text{Mg } 52 \text{ mmol/L}\}$ . La dilución final es una parte de orina por 1.5 partes de diluyente. En este modo el aparato compara la muestra con el estándar B.

La pendiente de los electrodos se establece por análisis de los estándares A y B.

$$S = \frac{E_{\text{estándar A}} - E_{\text{estándar B}}}{\log A/B}$$

donde A: actividad del estándar A

B: actividad del estándar B

El potencial de la muestra  $E_x$  se compara con el de la solución estándar  $E_{\text{est}}$ , en el cual la actividad del ion de interés es conocida. La fuerza iónica de la sangre completa, plasma y suero tiende a permanecer relativamente constante en el rango fisiológico. Como resultado puede asumirse que el coeficiente de actividad del  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$  y  $\text{Cl}^-$  también permanece constante. Los estándares internos están formulados para tener la misma fuerza iónica que el suero. Por lo tanto, puede decirse que el coeficiente de actividad de un ion es el mismo en el estándar que en la muestra. Entonces, la diferencia de potencial entre las dos soluciones depende sólo del cociente de concentraciones del ion de interés en la muestra y en el estándar. Como la concentración del estándar es constante la diferencia de potenciales depende sólo de la concentración de la muestra.

El electrodo de  $\text{CO}_2$  tiene dos componentes básicos: una membrana permeable a  $\text{CO}_2$  gas y un electrodo de pH. Primero se acidifica la muestra para convertir todo el  $\text{HCO}_3^-$  (libre y unido a proteínas) en  $\text{CO}_2$ .

El  $\text{CO}_2$  liberado se difunde a través de la membrana y se disuelve en la solución interna de llenado, lo que origina un cambio de pH, el cual se mide con el electrodo de pH. La magnitud del cambio de pH es una función de  $\text{CO}_2$  total en la muestra. El pH es una medida de la acidez, es decir, la actividad del ion  $\text{H}^+$  (15).

b. Especificaciones del aparato.

Analitos determinados  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Cl}^-$  y  $\text{CO}_2$

Rangos y parámetros de medición.

|                              |          |      |
|------------------------------|----------|------|
| $\text{Na}^+$ y $\text{K}^+$ | 1 - 300  | mM/L |
| $\text{Cl}^-$                | 20 - 300 | mM/L |
| $\text{CO}_2$                | 4 - 40   | mM/L |

Tiempo de análisis

66 segundos

Volumen de muestra

Suero, plasma y sangre 450 ml  
Orina

100 ml

Reproducibilidad

Suero

$\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Cl}^-$ - $\text{TCO}_2$

Precisión intraensayo

< 0.7 % ± 0.8 %

Precisión interensayo

< 1.5 % ± 1.6 %

## D. ESPECTROFOTOMETRÍA DE EMISIÓN ATÓMICA

### 1. Fundamento.

La EEA también llamada floumetría se basa en un fenómeno físico representado por la siguiente ecuación  $A^* \longrightarrow A + h\nu$ , donde  $A^*$  representa un átomo excitado,  $A$  un átomo en su estado basal de energía electrónica y  $h\nu$  un fotón.

Los átomos son excitados por la acción del calor y de las reacciones químicas que se producen en la flama, la reacción da lugar a la aparición de una señal óptica en el sentido de izquierda a derecha de la ecuación (17).

### 2. Instrumentación.

Se requieren los siguientes componentes: reguladores de presión, rotámetros para el combustible y los gases oxidantes; sistema de quemador y nebulizador; sistema óptico y detector fotosensible; amplificador y sistema de lecturas con sus respectivos fuentes de energía (18).

Los reguladores de presión y rotámetros mantienen un ambiente térmico constante en la flama regulando las presiones y flujos de los gases. Para determinar  $Na^+$  y  $K^+$  se utiliza una mezcla propano-aire que da una temperatura de 1925 °C.

El componente mas importante en cualquier equipo de EEA es el sistema nebulizador y el quemador. Este sistema transforma a la sustancia problema de la solución en vapor atómico y excita a los átomos neutros para que emitan su radiación característica (589 nm para  $Na^+$  y 766 nm para  $K^+$ ).

La función del sistema óptico consiste en seleccionar una cierta línea en el espectro de emisión y aislarla de las demás líneas, comunmente se emplean filtros de interferencia. En los instrumentos de doble haz la señal de emisión se divide en dos haces y se cuenta con una trayectoria para la luz emitida de la flama por el elemento patrón interno (Litio) que se adiciona en cantidades fijas, tanto a las muestras como a los patrones. Los filtros de interferencia apropiados aislan las líneas de emisión de la sustancia problema y del patrón interno, y cada línea aislada se enfoca hacia un detector independiente.

## E. COULOMETRIA

### 1.- Generalidades.

Los métodos coulométricos de análisis miden la cantidad de electricidad, esto es el número de coulombs que se requieren para llevar a cabo una reacción química. Las reacciones pueden verificarse directamente por oxidación o reducción en el electrodo apropiado (análisis coulométrico primario), o indirectamente mediante una reacción cuantitativa en la solución, con un reactante primario producido en uno de los electrodos (análisis coulométrico secundario). Un requisito fundamental de todos los métodos coulombimétricos es que las especies determinadas actúen entre sí con una eficiencia de 100 % en la corriente.

Existen dos técnicas generales, el método de potencial controlado y coulometría a corriente constante. La primera consiste en mantener el potencial del electrodo de trabajo a un valor constante de modo que tenga lugar la oxidación o la reducción cuantitativa del analito, sin la participación de otras especies menos reactivas existentes en la muestra o el disolvente. En este caso la corriente es inicialmente alta, pero disminuye rápidamente y se aproxima a cero a medida que el analito se agota en la solución. La cantidad de electricidad necesaria se mide mediante un coulombímetro químico o por integración de la curva de intensidad en función del tiempo.

La segunda técnica hace uso de una corriente constante que pasa hasta que un indicador señala el término de la reacción. La cantidad de electricidad necesaria para alcanzar el punto final se calcula entonces por la magnitud de la corriente y el tiempo de su paso. Continuamente se denomina *titulación coulométrica* (18).

## 2.- Titulaciones coulométricas para la determinación de cloruro.

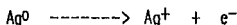
Se han desarrollado diferentes métodos de titulación coulométrica en los que se utilizan iones plata formados anódicamente para la determinación de haluros, tal como el cloruro. Se utiliza una celda con un electrodo generador construido con un trozo grueso de alambre de plata. Los puntos finales se detectan potenciométricamente o por medio de indicadores químicos.

En esta técnica la cantidad de  $\text{Cl}^-$  desconocida se determina por evaluación de su capacidad combinadora con una cantidad de electricidad. Estas reacciones deben ser rápidas, esencialmente completas y libres de reacciones secundarias(17).

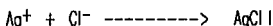
## 3.- Equipo.

En la Figura 6 se muestran los principales componentes de un titulador coulométrico típico. Este instrumento comprende una fuente de corriente constante, y un interruptor que inicia el paso de la corriente. En la copa de reacción se localizan un par de electrodos detectores de plata: un electrodo cátodo de platino y un ánodo de cloruro de plata.

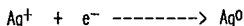
El par de electrodos de plata detectan la presencia de iones plata ( $\text{Ag}^+$ ) en la solución. En el ánodo se lleva a cabo la siguiente reacción:



Cuando se inyecta una muestra que contiene cloruro a la copa de reacción, los electrodos detectores de plata detectan una diferencia de potencial la cual causa la generación en el ánodo de iones plata, los que se combinan con el cloruro de la muestra por la siguiente reacción:



En el punto final un circuito disminuye la velocidad de generación de iones plata. Cuando todo el cloruro se ha consumido, el pequeño exceso de iones plata permanece y se lleva a cabo la siguiente reacción en el cátodo:



Esta reacción suspende totalmente la generación de  $\text{Ag}^+$  completando el ciclo de medición (19).

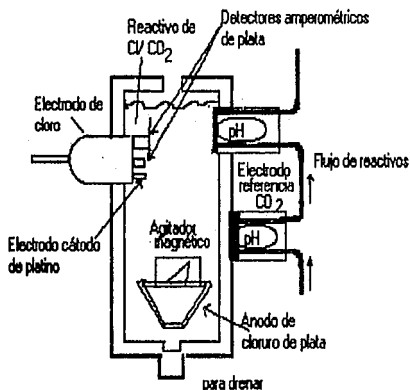


Figura 6. Copa de reacción del Analizador de Cl /  $\text{CO}_2$ .

#### a. Especificaciones del equipo.

Tiempo de Análisis: Cloruro 30 segundos  
 $\text{CO}_2$  25 segundos

Precisión:

|             |               |                               |
|-------------|---------------|-------------------------------|
| Interensayo | Cloruro       | $\pm 2.0$ mmol/L a 100 mmol/L |
|             | $\text{CO}_2$ | $\pm 1.0$ mmol/L a 30 mmol/L  |

Volumen de muestra: 10 ml

## II. FUNDAMENTACION DE LA ELECCION DEL TEMA

La mayoría de los pacientes que ingresan al Instituto Nacional de la Nutrición "Salvador Zubirán" ya sea hospitalizados o de consulta externa presentan enfermedades que involucran desequilibrios del agua y del metabolismo ácido-base por lo que para su diagnóstico, tratamiento y monitoreo es necesario la determinación de electrolitos séricos.

El Departamento de Nefrología y Metabolismo Mineral se encarga de la determinación de rutina de  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Cl}^-$  y  $\text{CO}_2$  en suero de los pacientes del Instituto. Actualmente se cuenta con un analizador de electrolitos, Nova 4 que determina los cuatro análisis simultáneamente utilizando electrodos ion-selectivos. Algunas ventajas que esto representa son que el aparato puede estar siempre listo para utilizarse, no se requiere preparación de la muestra (excepto separar el suero), su manejo es muy sencillo y los reactivos son muy estables (9). En la literatura (20) se reportan algunas dificultades técnicas como tiempo de respuesta bajo y requiere frecuente calibración.

A pesar de estas dificultades la potenciometría ion-selectiva es cada vez más utilizada en los laboratorios clínicos de todo el mundo. El método se basa en la determinación de la actividad de los iones (e indirectamente su concentración) midiendo la fuerza electromotriz que se forma entre un electrodo de referencia y un electrodo indicador sumergido en la muestra. El electrodo indicador es el llamado electrodo ion-selectivo. Con la adquisición de un método analítico de reciente introducción es necesario verificar experimentalmente su rendimiento analítico definiendo el intervalo de utilización (linealidad), precisión (intraensayo, interensayo y total) y exactitud del método.

La Federación Internacional de Química Clínica propone en la "teoría de los valores de referencia" la obtención de un intervalo de referencia cuyos objetivos son diferenciar personas sanas de no sanos, determinar la causa específica de la enfermedad, el seguimiento de pacientes para observar su evolución y el monitoreo de medicamentos luego de haberse identificado la enfermedad.

### III. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

En México generalmente se utilizan los intervalos de referencia informados en la literatura obtenidos con poblaciones de otros países, lo cual representa un error ya que la población Mexicana está sujeta a factores fisiológicos, ambientales, socioeconómicos y genéticos diferentes (1).

Por otro lado se han reportado diferencias en la determinación de  $\text{Na}^+$  y  $\text{K}^+$  por electrodos ion-selectivos y EEA y, de  $\text{Cl}^-$  por electrodos ion-selectivo y titulación coulométrica (13, 19, 22).

Por lo tanto se requiere establecer los intervalos de referencia de  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Cl}^-$  y  $\text{CO}_2$  en la población Mexicana con el método analítico recientemente establecido, evaluar si los resultados obtenidos con éste son lo suficientemente precisos y exactos y, establecer las diferencias con el método de referencia para que los resultados que se reporten a los médicos sean adecuados para el diagnóstico, seguimiento y tratamiento de los pacientes.

#### IV. OBJETIVOS

A. Evaluar la linealidad, precisión y exactitud del Analizador de Electrolitos Nova 4 .

B. Obtener valores de referencia e intervalos de referencia de  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Cl}^-$  y  $\text{CO}_2$  séricos por electrodos ion-selectivos en una población Mexicana aparentemente sana.

C. Comparar los resultados de  $\text{Na}^+$  y  $\text{K}^+$  obtenidos por electrodos ion-selectivos con los obtenidos por Espectrofotometría de emisión atómica.

D. Comparar los resultados de  $\text{Cl}^-$  obtenidos por electrodos ion-selectivos con los obtenidos por Titulación coulométrica,

## V. HIPOTESIS

Los resultados obtenidos en la determinación de  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$  y  $\text{Cl}^-$  en suero por electrodos ion-selectivos por el método directo (sin dilución de la muestra) serán ligeramente mayores (del 2 - 3 y hasta el 7 %) que los obtenidos por los métodos de referencia EEA y Coul (13, 19, 22).

## VI. MATERIAL Y METODOS

### A. Material Biológico.

#### 1.- Población de estudio.

Se recolectaron 273 muestras de sangre de personas mexicanas (122 Mujeres y 151 hombres) de 18 a 72 años de edad que acudieron a donar sangre al INNSZ entre Mayo y Agosto de 1992. Las personas estuvieron clínicamente sanas de acuerdo con los cuestionarios que se les aplicaron (Anexo 1) y con los criterios de inclusión y exclusión:

##### a. Criterios de Inclusión.

- No padecer enfermedades crónicas, infecto-contagiosas, hereditarias o sistémicas.
- No estar bajo tratamiento médico.
- Tener hematocrito de Mujeres  $\geq 42$ ; Hombres  $\geq 47$ .
- Tener Tensión arterial de: Diastólica  $< 85$  mmHg; Sistólica  $< 140$  mmHg.

##### b. Criterios de Exclusión.

- Tengan creatinina sérica de mujeres  $< 1.0$  mg/dl hombres  $< 1.2$  mg/dl
- Tengan proteínas séricas fuera del rango 6.6 - 8.3 mg/dl.

La toma de muestra se llevó a cabo entre las 8:00 y las 10:30 hrs, en ayunas. Se tomaron 10 mL de sangre a cada persona, la cual se incubó por 15 minutos a 37°C, luego se centrifugó 5 min a 3500 rpm. Posteriormente se separó el suero.

## 2. Suero control comercial.

Moni-trol ES Level I. Baxler.

| Análito | Concentración |     | mmol/L<br>Coul |
|---------|---------------|-----|----------------|
|         | EIS           | EEA |                |
| Na+     | 151           | 145 | -              |
| K+      | 7.2           | 6.9 | -              |
| Cl-     | 115           | -   | 106            |
| CO2     | 29            | -   | -              |

## 3. Mezclas de sueros.

Se utilizaron 3 mezclas de sueros, a dos de los cuales se les agregaron cantidades conocidas de los analitos (excepto CO<sub>2</sub>) y el otro se diluyó para tener niveles de concentraciones bajas, medias y altas dentro del rango de concentración fisiológica. Se conservaron en alícuotas de 1.5 mL congeladas a - 70 °C.

## B. Material de vidrio.

Tubos para centrífugo Pyrex de 12 mL, tubos de ensayo 10 x 75 mm.

## C. Equipo.

- Analizador de Electrolitos Nova 4, Nova Biomedical.
- Flamómetro IL 343, Instrumentation Laboratory, Inc.
- Analizador de Cl<sup>-</sup>/CO<sub>2</sub>, Beckman.
- Analizador 2 de Creatinina, Beckman.
- Refractómetro Modelo 310-S.

#### D. Reactivos.

##### 1. Equipo de reactivos Nova Biomedical.

###### a. Paquete de líquidos, incluye:

1) Dos estándares internos A y B, cuyas concentraciones son:

| Análito                       | <u>Estándares internos mmol/l</u> |    |
|-------------------------------|-----------------------------------|----|
|                               | A                                 | B  |
| Na <sup>+</sup>               | 130                               | 60 |
| K <sup>+</sup>                | 4                                 | 20 |
| Cl <sup>-</sup>               | 116                               | 71 |
| HCO <sub>3</sub> <sup>-</sup> | 20                                | 10 |

2) Solución de referencia (KCl 2M).

3) Solución diluyente [Mg(Ac)<sub>2</sub> 52 mM/L].

###### b. Estándares externos.

Concentración en mmol/L.

| Estándar    | Na <sup>+</sup> | K <sup>+</sup> | Cl <sup>-</sup> | CO <sub>2</sub> |
|-------------|-----------------|----------------|-----------------|-----------------|
| 1           | 115             | 2              | 108             | 10,5            |
| 2           | 130             | 4              | 116             | 20,0            |
| 3(urina)100 | 100             | 100            | -               | -               |
| 1           | 150             | 6              | 131             | 28,0            |

c. Solución interna para el electrodo de cloro.

d. Solución acondicionadora del electrodo de Na<sup>+</sup>/pH.

e.- Solución limpiadora.

2.- Reactivos para EEA.

- a. Patrón interno de litio (3000 mEq/L) para flammómetro.
- b. Patrón de referencia de  $\text{Na}^+$  (140 mEq/L) y  $\text{K}^+$  (5 mEq/L).

3.-Equipo de reactivos  $\text{Cl}^-/\text{CO}_2$  por Coul (Beckman).

- a. Reactivo de  $\text{Cl}^-/\text{CO}_2$  ( $\text{H}_2\text{SO}_4$  0.12 M también contiene reactivos que mejoran la precipitación y reducen la formación de espuma).
- b. Reactivo alcalino ( $\text{KHCO}_3$  0.008 M; y  $\text{KCl}$  0.05 M también contiene agentes antiespumantes y surfactantes).
- c. Patrón de referencia  $\text{Cl}^-/\text{CO}_2$  100/30 mmol/ L.

4.- Equipo de reactivos para creatinina (Beckman).

- a. Amortiguador alcalino (Hidróxido de sodio amortiguado con borato de sodio y fosfato de sodio 0.188 M).
- b. Ácido picrico 0.05 M.
- c. Patrón de referencia de creatinina acuoso 5 mg/dl (creatinina en  $\text{HCl}$  0.1 N, 5 mg/dl).

E. METODOS

1. Determinación de  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Cl}^-$  y  $\text{CO}_2$  por EIS.

- 1.-Drenar el aparato, oprimiendo al mismo tiempo las teclas "Shift" y "Drain".
- 2.-Pasar solución acondicionadora de la misma manera que las muestras (oprimir la tecla "ANALYZE", esperar a que salga el capilar que absorbe la muestra, colocar la muestra en el capilar y presionar de nuevo "ANALYZE". Esperar 10 minutos.
- 3.-Calibrar dos veces, oprimiendo la tecla "CALIBRATE".
- 4.-Analizar los estándares externos sin el factor de corrección "offset".

5.-Anotar los valores de pendientes y tiempos de flujo y calibración en la bitácora.

6.-Colocar el factor de corrección "offset", presionando el boton "Offset".

El aparato queda listo para utilizarse.

## 2. Determinación de $\text{Na}^+$ y $\text{K}^+$ por FFA.

1.-Abrir la válvula de aire.

2.-Abrir la válvula del tanque de gas.

3.-Oprimir el botón de encendido "POWER". Verificar que la flama haya encendido.

4.-Verificar que haya patrón interno de litio.

5.-Encender el dilutor. Aspirar agua deionizada por el capilar del dilutor.

6.- Ajustar el indicador de litio.

7.-Ajustar a ceros la lectura de  $\text{Na}^+$  y  $\text{K}^+$ , con el botón especial para esto.

8.- Aspirar el estándar  $\text{Na/K}$  140/5 mmol/L. Calibrar las lecturas de sodio y potasio a 140 y 5 mmol/L respectivamente.

9.-Determinar  $\text{Na}^+$  y  $\text{K}^+$  en las muestras, verificar el estándar cada 10 muestras.

10.-Al finalizar pasar agua deionizada. Apagar el dilutor, cerrar las válvulas de aire y gas. Apagar el aparato oprimiendo la tecla "Power".

## 3. Determinación de $\text{Cl}^-$ por Coul.

Calibración.

1.-Poner el interruptor selector de modo de operación en "check".

2.-Presionar el botón "Drain/Fill".

3.-Cuando la pantalla de  $\text{Cl}^-$  esté estable ajustar con el botón detector de  $\text{Cl}^-$  para que la pantalla marque 00+001.

4.-Poner el interruptor selector de modo en posición "calibrate". Si la lámpara de "Drain/Fill" esta prendida, presione el botón y espere a que la lám para de muestra "sample" se prenda.

- 5.-Ajuste con el control de cero de  $\text{Cl}^-$  para que la pantalla indique 000.
- 6.-Mientras la lámpara de muestra permanezca prendida inyectar 10 ml del estándar de calibración.
- 7.-Cuando la lámpara de muestra se prenda ajustar con el control " $\text{Cl}^-$  calibrate" a 100 mmol/l.
- 8.-Presionar el botón "Drain/Fill" para reciclar los reactivos en el aparato.
- 9.-Repetir los pasos 5 o 8 hasta que el estándar dé valores de  $100 \pm 1.5 \%$ .
- 10.-Poner el interruptor selector de modo en la posición "run".
- 11.-Se inyectan las muestras cuando la lámpara de muestra esté encendida. Se recomienda inyectar el estándar cada 20 muestras para verificar que la calibración no haya cambiado.

#### 4. Determinación de creatinina sérica.

Fundamento:

La determinación de creatinina en el Analizador 2 se basa en la inyección de un volumen preciso (125 ml) de muestra en el reactivo de Jaffé y el aparato mide la velocidad del aumento de absorción debido a la formación del complejo alcalino de Picrato de Creatinina. La velocidad de formación del complejo es directamente proporcional a la concentración de creatinina (23).

Procedimiento:

- 1.-Encender el aparato 15 minutos antes de comenzar a utilizarlo.
- 2.-Drenar con agua deionizada.
- 3.-Colocar el amortiguador alcalino y el ácido picrico en baño maría a  $37^\circ\text{C}$  durante 30 minutos. Inmediatamente después de sacar los reactivos del baño, verter el frasco de ácido picrico en el frasco de amortiguador alcalino y agitar para mezclar.
- 4.-Colocar el reactivo en aparato y drenarlo.

- 5.-Verificar la transmitancia al 100%.
- 6.-Verificar el funcionamiento de las lámparas.
- 7.-Calibrar el patrón de referencia de 5mg/dl de creatinina.
- 8.-Realizar las determinaciones de los muestras.
- 9.-Verificar cada 10 muestras que el aparato siga calibrado.

#### 5. Determinación de proteínas séricas totales.

Fundamento:

Este método se basa en la refracción de la luz incidente por los sólidos totales disueltos; en el suero esto refleja la cantidad de proteínas. Los refractómetros están calibrados con la temperatura y no deben usarse a temperatura significativamente diferente de 25 ° C.

Procedimiento:

Calibración. Ponga una o dos gotas de agua deionizada sobre el vidrio. Cierre la cubierta y observe el campo. Si la línea oscura coincide con la escala de W1-1.333, el refractómetro se puede utilizar. Si no, hacer que coincida dando vueltas al tornillo en la parte superior. Seque el agua con un poco de papel absorbente.

- 1.-Coloque una o dos gotas de suero en el vidrio.
- 2.-Cierre la cubierta.
- 3.-Sostenga horizontalmente el instrumento de manera que la luz incida sobre la ventana.
- 4.-Lea en la escala que indica g/dl.
- 5.-Enjuague con agua deionizada y seque con papel absorbente después de leer cada muestra.

## F. ANALISIS ESTADISTICO

### 1.- Evaluación del método EIS (Nova 4).

a. Linealidad. Se evaluó mediante el uso de los estándares acuosos proporcionados por Nova Biomedical, mezclando dos sueros con niveles altos y bajos de las concentraciones fisiológicas en las siguientes proporciones: 4+0, 3+1, 2+2, 1+3 y 4+0, cada mezcla se analizó por triplicado; y con sueros diluidos. Se analizó por regresión lineal.

b. Precisión. Se llevó a cabo con las mezclas de sueros a diferentes concentraciones, los tres sueros se analizaron por duplicado en cada ensayo durante todo el estudio para obtener la precisión intraensayo. La precisión interensayo se estimó analizando los resultados obtenidos en todos los ensayos. La precisión se expresa como varianza ( $\sigma^2$ ), desviación estándar (DE) y porciento de coeficiente de variación (%CV).

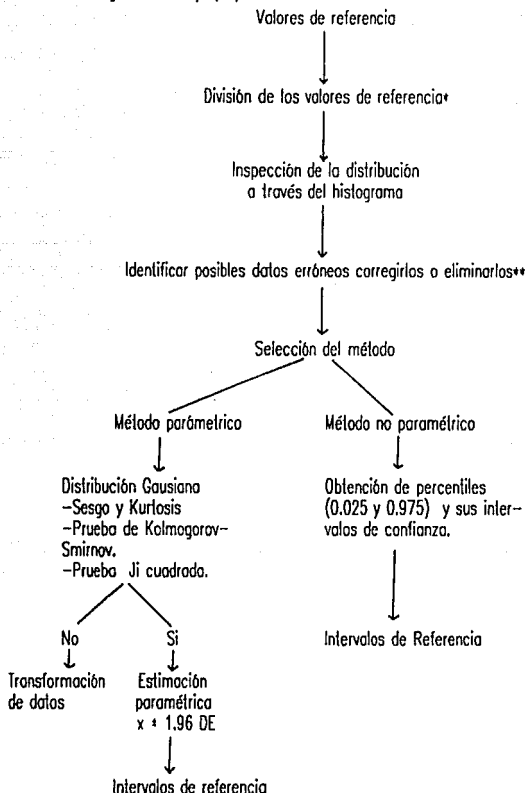
c. Exactitud. Se estimó por comparación de los resultados obtenidos en un suero control comercial (Monitrol ES 1) y el correspondiente valor asignado según el método por el proveedor (Baxter). Se expresa en terminos de porciento de error (%E)

### 2.- Comparación de métodos (EIS vs. EEA. y Coul.).

Este experimento se realizó analizando las muestras de suero obtenidas de la muestra de la población de referencia por ambos métodos, EIS y EEA. para  $\text{Na}^+$  y  $\text{K}^+$ , y EIS y Coul. para  $\text{Cl}^-$ . Los resultados se evaluaron estadísticamente obteniendo el coeficiente de correlación y por regresión lineal, para determinar si existen diferencias entre ambos métodos se realizaron pruebas de hipótesis con la prueba T pareada.

### 3.- Obtención de intervalos de referencia.

a. Diagrama de Flujo (24).



• Los valores de referencia obtenidos de los individuos de referencia se dividieron por sexo.

\*\* Se consideraron posibles datos erróneos y se eliminaron, aquellos valores de los analitos que estuvieron fuera de  $\pm 3$  DE de su correspondiente distribución (25).

## VII. RESULTADOS

### Evaluación de EIS.

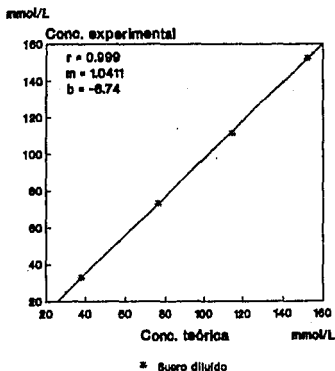
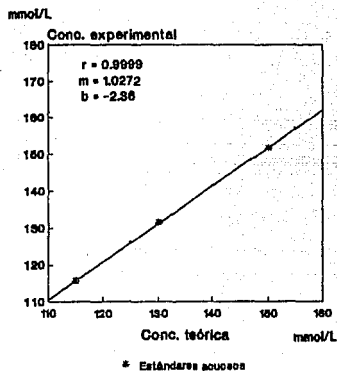
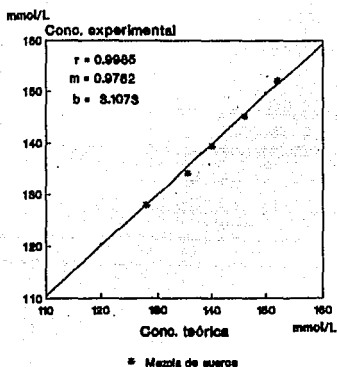
Tabla 1. Evaluación de la linealidad.

| Material        | m  | b      | r     | r <sup>2</sup> | S <sub>y/x</sub> | p ANDEVA |        |
|-----------------|----|--------|-------|----------------|------------------|----------|--------|
| Na <sup>+</sup> | 1• | 0.9762 | 3.10  | 0.9986         | 99.71            | 0.5839   | <0.001 |
|                 | 2• | 1.0272 | -2.36 | 0.9999         | 99.98            | 0.3301   | <0.001 |
|                 | 3• | 1.0111 | -6.74 | 0.9999         | 99.98            | 0.7804   | <0.001 |
| K <sup>+</sup>  | 1• | 0.9933 | 0.01  | 0.9998         | 99.97            | 0.0273   | <0.001 |
|                 | 2• | 1.0347 | -0.10 | 0.9999         | 99.99            | 0.0249   | <0.001 |
|                 | 3• | 1.0413 | -0.26 | 0.9998         | 99.96            | 0.0493   | <0.001 |
| Cl <sup>-</sup> | 1• | 0.9963 | 0.56  | 0.9996         | 99.91            | 0.3165   | <0.001 |
|                 | 2• | 1.0180 | -1.80 | 0.9996         | 99.92            | 0.4709   | <0.001 |
|                 | 3• | 1.0329 | -3.49 | 0.9998         | 99.97            | 0.7131   | <0.001 |
| CO <sub>2</sub> | 1• | 0.9951 | 0.19  | 0.9987         | 99.75            | 0.2642   | <0.001 |
|                 | 2• | 1.0656 | -0.91 | 0.9996         | 99.92            | 0.3606   | <0.001 |
|                 | 3• | 1.0136 | -0.34 | 0.9998         | 99.98            | 0.1477   | <0.001 |

1• Mezcla de sueros n°5

2• Estándares acuosos n°3

3• Suero diluido



**Figura 7. Sodio.**  
**Gráficas de linealidad para**  
**EIS (Nova 4)**

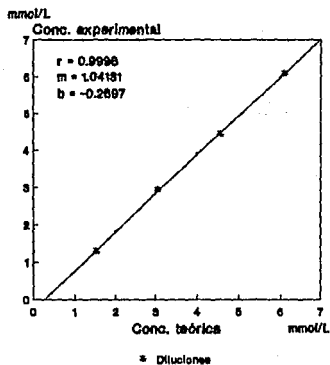
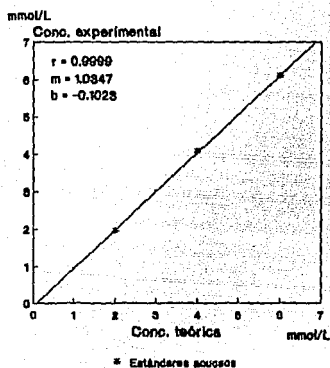
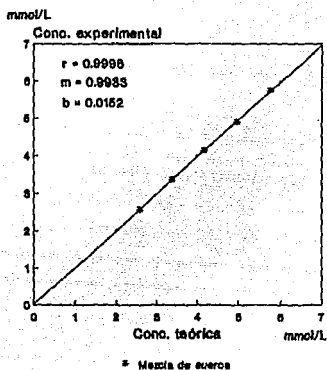
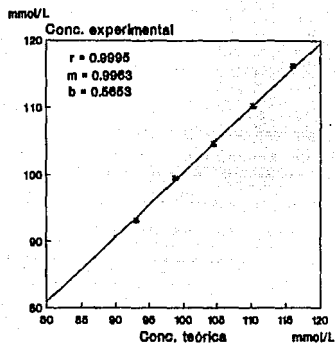
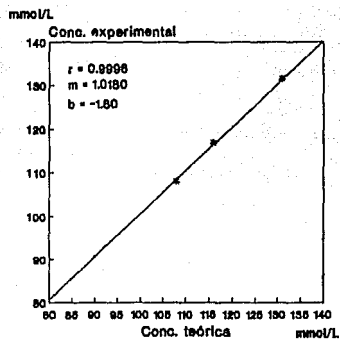


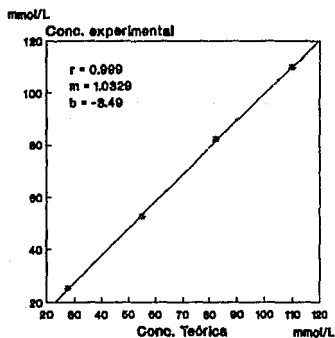
Figura 8. Potasio  
 Gráficas de linealidad  
 para EIS (Nova 4).



\* Mezcla de sueros

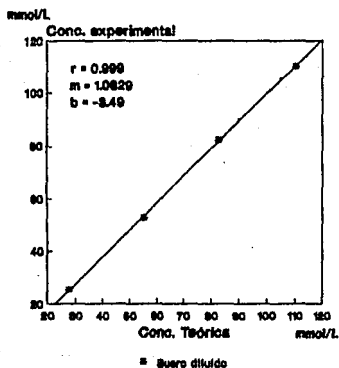
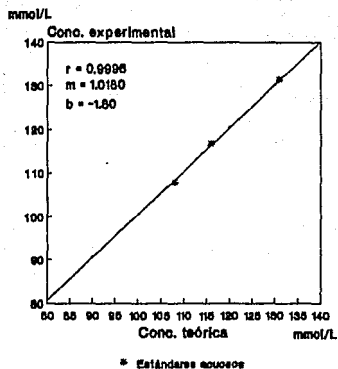
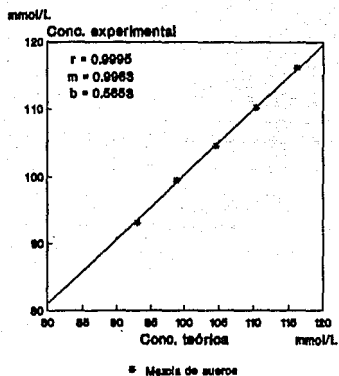


\* Estándares acuosos



\* Suero diluido

**Figura 9. Cloro**  
**Gráficas de linealidad**  
**para EIS (Nova 4).**



**Figura 10. CO<sub>2</sub>**  
**Gráficas de linealidad**  
**para EIS (Nova 4).**

Tabla 2. Precisión. EIS (Nova 4) con sueros control caseros.

|                 |   | INTRAENSAJO |                 |        |    | INTERENSAJO |                 |        |     |
|-----------------|---|-------------|-----------------|--------|----|-------------|-----------------|--------|-----|
|                 |   | X<br>mmol/L | D. E.<br>mmol/L | % C.V. | n  | X<br>mmol/L | D. E.<br>mmol/L | % C.V. | n   |
| Na <sup>+</sup> | 1 | 136.53      | 0.3991          | 0.2923 | 63 | 136.53      | 0.8690          | 0.6364 | 165 |
|                 | 2 | 146.39      | 0.4798          | 0.3300 | 66 | 145.39      | 1.0392          | 0.7148 | 168 |
|                 | 3 | 160.67      | 0.5420          | 0.3597 | 64 | 160.67      | 1.2190          | 0.8090 | 170 |
| K <sup>+</sup>  | 1 | 4.02        | 0.0280          | 0.6989 | 60 | 4.02        | 0.0460          | 1.1947 | 165 |
|                 | 2 | 4.16        | 0.0272          | 0.6492 | 63 | 4.16        | 0.0467          | 1.1291 | 168 |
|                 | 3 | 4.68        | 0.0326          | 0.7007 | 61 | 4.68        | 0.0614          | 1.312  | 170 |
| Cl <sup>-</sup> | 1 | 103.0       | 0.6522          | 0.6333 | 60 | 103.0       | 2.3931          | 2.3238 | 165 |
|                 | 2 | 107.3       | 0.6628          | 0.6243 | 61 | 107.3       | 2.3690          | 2.1975 | 168 |
|                 | 3 | 111.9       | 0.6691          | 0.5979 | 59 | 111.9       | 2.3690          | 2.1347 | 168 |
| CO <sub>2</sub> | 1 | 19.1        | 0.398           | 2.01   | 60 | 19.1        | 0.8538          | 4.39   | 165 |
|                 | 2 | 20.6        | 0.493           | 2.39   | 61 | 20.6        | 0.6950          | 3.36   | 125 |
|                 | 3 | 21.3        | 0.409           | 1.919  | 60 | 21.3        | 0.8376          | 3.94   | 100 |

Tabla 3. Exactitud. Comparación con los valores asignados, suero Monitrol II (Baxter).

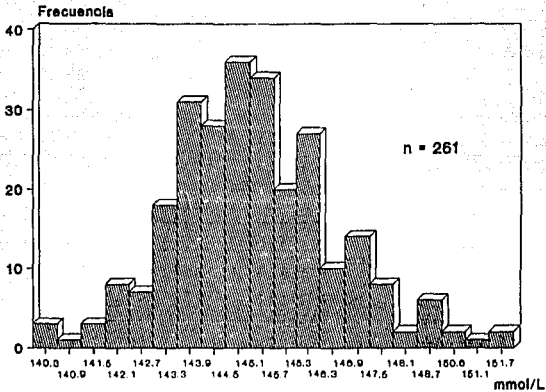
| NOVA 4 (EIS)  |                   |           |             |        |        |    |
|---------------|-------------------|-----------|-------------|--------|--------|----|
|               | Valor<br>Asignado | $\bar{X}$ | Precisión * |        | % E    | n  |
|               |                   |           | D.E.        | % C.V. |        |    |
| $\text{Na}^+$ | 151<br>148-159    | 151.57    | 1.160       | 0.765  | 0.3824 | 47 |
| $\text{K}^+$  | 7.2<br>7.0-7.4    | 7.40      | 0.122       | 1.66   | 2.80   | 47 |
| $\text{Cl}^-$ | 115<br>113-117    | 114.2     | 2.381       | 2.09   | -0.68  | 47 |
| $\text{CO}_2$ | 29<br>25-33       | 28.8      | 2.300       | 8.01   | -0.77  | 47 |

\* Precisión interensayo.

**Tabla 4. Casos excluidos y eliminados.**

|                                           |                       | Hombres    | Mujeres    | Total      |
|-------------------------------------------|-----------------------|------------|------------|------------|
| <b>Muestra obtenida</b>                   |                       | <b>151</b> | <b>122</b> | <b>273</b> |
| <b>Casos excluidos</b>                    | <b>Proteínas</b>      | 1          | 1          | 2          |
|                                           | <b>Creatinina</b>     | 1          | 0          | 1          |
| <b>Casos eliminados</b>                   | <b>Na<sup>+</sup></b> | 3          | 2          | 5          |
|                                           | <b>K<sup>+</sup></b>  | 3          | 0          | 3          |
|                                           | <b>Cl<sup>-</sup></b> | 0          | 0          | 0          |
|                                           | <b>CO<sub>2</sub></b> | 0          | 1          | 1          |
| <b>Total casos excluidos y eliminados</b> |                       | <b>8</b>   | <b>4</b>   | <b>12</b>  |
| <b>Muestra real para el estudio</b>       |                       | <b>143</b> | <b>118</b> | <b>261</b> |

## SODIO



## POTASIO

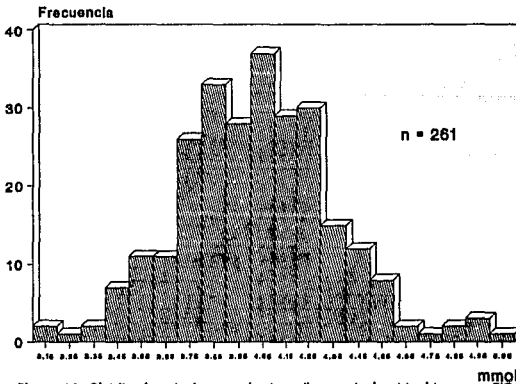
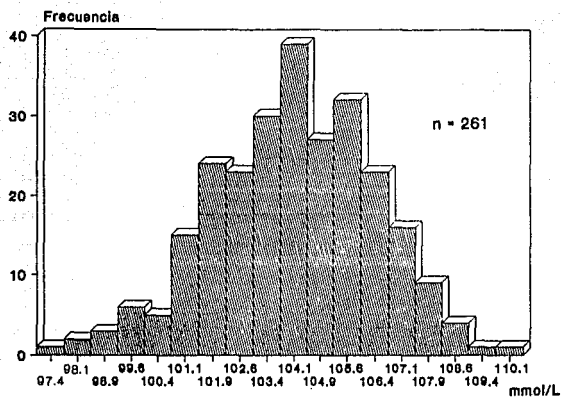


Figura 11. Distribución de frecuencia de sodio y potasio obtenidos con EIS (Nova 4)

## CLORO



## CO<sub>2</sub>

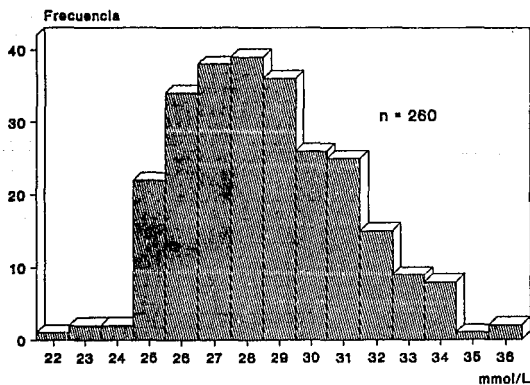


Figura 12. Distribución de frecuencia de cloro y CO<sub>2</sub> obtenidos con EIS (Nova 4).

**Tabla 5. Intervalos de referencia.**

|                 | EIS                     | EIS*          | FLAM/COUL                     |
|-----------------|-------------------------|---------------|-------------------------------|
| Na <sup>+</sup> | 144.3 - 152.5           | 141.5 - 149.5 | 140.0 - 146.0 <sub>(NG)</sub> |
| K <sup>+</sup>  | 3.46 - 4.76             | 3.40 - 4.66   | 3.40 - 4.60 <sub>(NG)</sub>   |
| Cl <sup>-</sup> | 104.1 - 113.4           | 99.7 - 108.5  | 101.0 - 110.0 <sub>(NG)</sub> |
| CO <sub>2</sub> | 25 - 34 <sub>(NG)</sub> |               |                               |

En mmol/l

NG: Distribución No Gausiana (Percentiles 2.5 y 97.5)

EIS\*: EIS con el factor de corrección "Offset".

Tabla 6. Intervalos de referencia por sexo.

| Análito         | Método | Hombres                       | Mujeres                       |
|-----------------|--------|-------------------------------|-------------------------------|
| Na <sup>+</sup> | EIS    | 144.6 - 153.0                 | 144.2 - 151.7                 |
|                 | EIS*   | 141.8 - 150.0                 | 141.4 - 148.7                 |
|                 | EEA    | 140.0 - 147.0 <sub>(NG)</sub> | 140.0 - 146.0 <sub>(NG)</sub> |
| K <sup>+</sup>  | EIS    | 3.46 - 4.73                   | 3.46 - 4.79 **                |
|                 | EIS*   | 3.41 - 4.64                   | 3.40 - 4.68 **                |
|                 | EEA    | 3.0 - 4.6 <sub>(NG)</sub>     | 3.4 - 4.8 <sub>(NG)</sub> **  |
| Cl <sup>-</sup> | EIS    | 104.1 - 112.9                 | 104.2 - 113.9                 |
|                 | EIS*   | 99.4 - 108.2                  | 101.1 - 109.9                 |
|                 | COUL   | 101.1 - 110.0 <sub>(NG)</sub> | 101.0 - 110.0 <sub>(NG)</sub> |
| CO <sub>2</sub> | EIS    | 24 - 34 <sub>(NG)</sub>       | 25 - 34 <sub>(NG)</sub>       |

EIS\* :con el factor de corrección offset.

\*\* No hay diferencia estadísticamente significativa

NG: Distribución No Gaussiana (Percentiles 2.5 y 97.5)

Comparación de métodos.

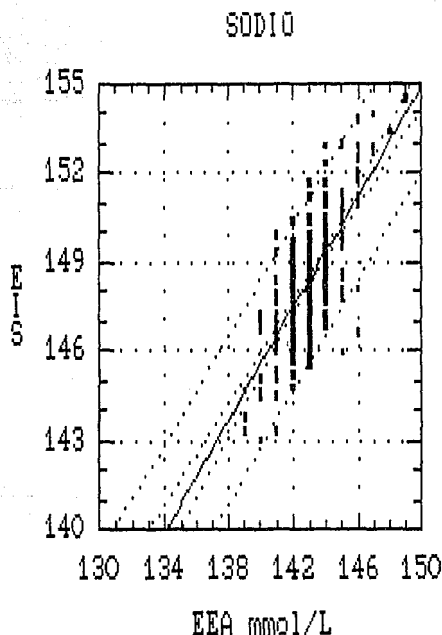


Figura 13. Comparación entre EIS y EEA,  $n=261$  hay diferencia estadísticamente significativa entre métodos (prueba T pareada,  $p<0.001$ ).  $EIS = 0.1063 EEA + 23.61$ ;  $r = 0.7494$ .

# POTASIO

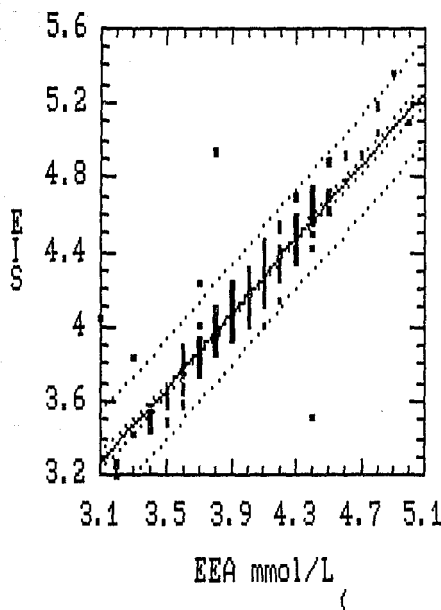


Figura 14. Comparación entre EIS y EEA,  $n = 261$ . Hay diferencia estadísticamente significativa entre métodos (prueba T pareada,  $p < 0.001$ ).  $EIS = 1.0015 EEA + 0.1585$ ;  $r = 0.9147$ .

# CLORO

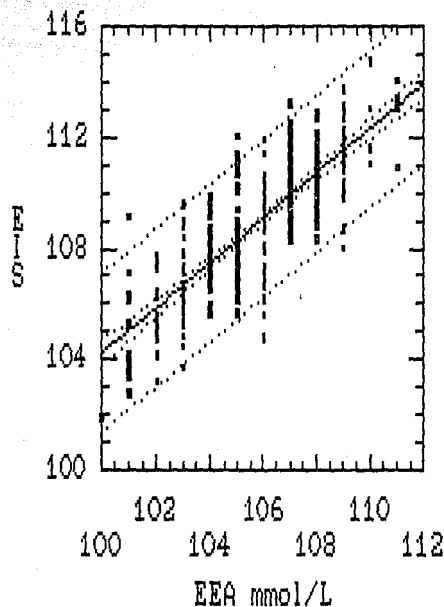


Figura 15. Comparación entre EIS y COUL,  $n=261$ . Hay diferencia estadísticamente significativa entre métodos (prueba T pareada,  $p<0.001$ ).  $EIS = 0.8063 \text{ COUL} + 23.98$ ;  $r = 0.7994$ .

## VIII. DISCUSION

La evaluación de la linealidad del Nova 4 (EIS) se realizó desde dos puntos de vista: en una matriz acuosa (estándares externos y diluciones de suero) y en una matriz sérica (mezclas de sueros). En la Tabla 1 se muestran los datos del análisis de regresión; de acuerdo con el criterio de linealidad ( $r > 0.99$  y  $r^2 > 98\%$ ) propuesto por el Comité de elaboración de Guías Oficiales de Validación (2) se considera que el método EIS es lineal con matriz acuosa y sérica para los cuatro analitos. También se comprueba la linealidad con el análisis de varianza (ANDEVA) en el cual se obtuvieron probabilidades  $< 0.001$  para todos los casos. En las figuras 7 a 10 se muestran las gráficas de linealidad.

La precisión intraensayo obtenida para  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$  y  $\text{Cl}^-$  con los sueros control caseros está dentro de las especificaciones del fabricante ( $< 0.7\%$ ). La precisión interensayo para el  $\text{Na}^+$  y  $\text{K}^+$  también cumple con las especificaciones del fabricante, el electrodo de cloro no, la obtenida fue de 2.32 y la especificada por el fabricante es  $< 1.5\%$ .

En la Tabla 2 se muestran los resultados de precisión obtenidos con sueros control caseros. La precisión interensayo para el  $\text{Na}^+$  y  $\text{K}^+$  también reúnen los requerimientos de las nuevas guías alemanas de control de calidad (26), que indican que el %CV para  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$  y  $\text{Cl}^-$  deben ser  $< 2.0$ ,  $< 2.7$  y  $< 2.0$  respectivamente. El electrodo de cloro tampoco cumple con este requisito.

En cuanto a la exactitud (Tabla 3) evaluada con el suero control comercial Monitrol ES I, para el electrodo de  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$  y  $\text{Cl}^-$  es aceptable de acuerdo con las nuevas guías alemanas de control de calidad (26). Para el electrodo de  $\text{CO}_2$  no se encontró referencia, pero el %E es bajo, y no se rebasa de los límites establecidos por el fabricante del suero control comercial.

En las Figuras 11 y 12 se muestran los histogramas de frecuencia para los cuatro analitos, se realizaron las pruebas Kolmogorov-Smirnov y ji cuadrado para determinar si su

comportamiento es normal, para  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$  y  $\text{Cl}^-$  por EIS se encontró que si, esto indicado por la  $p > 0.05$  para ambas pruebas, por lo que los intervalos de referencia se calcularon por el método paramétrico ( $X \pm 1.96 \text{ DE}$ ). La distribución del  $\text{CO}_2$  no es normal, por lo tanto los intervalos de referencia se calcularon con los percentiles 2.5 y 97.5. Esto mismo ocurrió para  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$  y  $\text{Cl}^-$  por EEA y COUL. Se encontraron diferencias estadísticas en las medias entre sexo para  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$  menores al 1% no son de importancia clínica, pero para el  $\text{CO}_2$  las diferencias son del 5.8 % que si son de importancia clínica.

Con base en el contenido de agua en el suero (93 %) se esperaba que el método EIS directo diera resultados 7% mas altos que EEA (método indirecto) para  $\text{Na}^+$  y  $\text{K}^+$  y que COUL para  $\text{Cl}^-$ , sin embargo lo que se encontró fue que EIS presentó en promedio valores 3.7 % mas altos para  $\text{Na}^+$  y  $\text{K}^+$  y 2.9% mas altos para  $\text{Cl}^-$ . Algunas propuestas para explicar estas discrepancias son: la unión de  $\text{Na}^+$  y  $\text{K}^+$  a proteínas, la unión de  $\text{Na}^+$  y  $\text{K}^+$  a bicarbonato y/o a otros aniones, o a que el contenido de agua es mayor que el estimado por unión de moléculas de agua a las proteínas.

En cuanto a la unión de  $\text{Na}^+$  y  $\text{K}^+$  a proteínas, parece que esto no representa mas de 1 % de las diferencias observadas si estas uniones ocurrieran totalmente (27). La unión a bicarbonato se ha informado (29) como 2.7% para  $\text{Na}^+$  y 3.1% para  $\text{K}^+$  en suero con 25 mmol/L de bicarbonato. Estas observaciones han sido confirmadas por otros autores, pero el grado de unión ha sido diferente, de 2% o ligeramente menor.

Parece ser que estas tres causas contribuyen a las discrepancias con respecto a lo que se esperaba en muestras con concentración de proteínas dentro de los límites de referencia (6.0-8.0 g/dL).

En el caso de los pacientes que presentan alteraciones en la concentración de proteínas o lípidos el volumen de agua en el suero varía. En muestras con hiperproteinemia, los métodos indirectos darían resultados erróneamente mas bajos, debido al desplazamiento de volumen.

## IX. CONCLUSIONES

-El analizador de electrolitos Nova 4 que utiliza electrodos ion-selectivos presenta precisión, exactitud y linealidad para  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Cl}^-$  y  $\text{CO}_2$  en suero dentro de los requerimientos del control de calidad establecidos.

-Los intervalos de referencia obtenidos para  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Cl}^-$  y  $\text{CO}_2$  por EIS, EEA y COUL son representativos de la población que acude al INNSZ y son confiables para uso clínico e investigación.

-Los resultados de la determinación de electrolitos séricos en muestras de pacientes y de protocolos de investigación deben interpretarse con los intervalos de referencia del método con el que se obtuvieron.

**INSTITUTO NACIONAL DE LA NUTRICION  
SALVADOR ZUBIRAN  
BANCO DE SANGRE**

No. BOLSA

|                                       |  |  |  |                          |           |                             |             |                         |             |                       |           |
|---------------------------------------|--|--|--|--------------------------|-----------|-----------------------------|-------------|-------------------------|-------------|-----------------------|-----------|
| <b>NOMBRE</b>                         |  |  |  | <b>DOMICILIO</b>         |           |                             |             | <b>FECHA EXTRACCION</b> |             |                       |           |
| <b>LUGAR DE EMPLEO</b>                |  |  |  | <b>TELEFONO</b>          |           | <b>EDAD</b>                 | <b>SEXO</b> | <b>PESO</b>             | <b>T.A.</b> | <b>Hb</b>             | <b>Ht</b> |
|                                       |  |  |  |                          |           |                             |             |                         |             |                       |           |
|                                       |  |  |  | <b>SI</b>                | <b>NO</b> |                             |             | <b>SI</b>               | <b>NO</b>   | <b>RECHAZADO POR:</b> |           |
| Donación de Sangre                    |  |  |  |                          |           | Tatuajes                    |             |                         |             | V.D.R.L.      Mazzini |           |
| Homosexual                            |  |  |  |                          |           | Venas adecuadas             |             |                         |             |                       |           |
| Transfusiones                         |  |  |  |                          |           | Diabetes                    |             |                         |             |                       |           |
| Embarazos                             |  |  |  |                          |           | Convulsiones                |             |                         |             |                       |           |
| Enf. último mes                       |  |  |  |                          |           | Enf. vías resp. altas       |             |                         |             |                       |           |
| Interv. Quirúrgicas (últimos 6 meses) |  |  |  |                          |           | Alergias alimenticias       |             |                         |             | Ag HBs                |           |
| Extrac.dentaria (últimos 3 meses)     |  |  |  |                          |           | Enf. de la piel             |             |                         |             |                       |           |
| Sífilis                               |  |  |  |                          |           | Adicción a drogas           |             |                         |             | Gpo                   |           |
| Hepatitis                             |  |  |  |                          |           | Inoculaciones o Inyecciones |             |                         |             |                       |           |
| Paludismo                             |  |  |  |                          |           | Vacunaciones                |             |                         |             | A   B   O   AB        |           |
| Tuberculosis                          |  |  |  |                          |           | Policitemia                 |             |                         |             |                       |           |
| Brucelosis                            |  |  |  |                          |           | Enf. Hematológicas          |             |                         |             | Reac.post.extracción  |           |
| Cardiopatías                          |  |  |  |                          |           | Otras enfermedades          |             |                         |             |                       |           |
|                                       |  |  |  |                          |           |                             |             |                         |             | SI      No            |           |
| <b>PRACTICO LA EXTRACCION</b>         |  |  |  | <b>FIRMA DEL DONADOR</b> |           |                             |             | <b>DONO SANGRE PARA</b> |             |                       |           |

X ANEXO

## CUESTIONARIO PARA INTERVALOS DE REFERENCIA

N° \_\_\_\_\_

NOMBRE: \_\_\_\_\_ FECHA: \_\_\_\_\_  
 DIRECCION: \_\_\_\_\_ TEL: \_\_\_\_\_  
 OCUPACION: \_\_\_\_\_ L. ORIGEN: \_\_\_\_\_  
 ABUELOS EXTRANJEROS: \_\_\_\_\_ EDAD: \_\_\_\_\_ SEXO: \_\_\_\_\_  
 PESO: \_\_\_\_\_ ESTATURA: \_\_\_\_\_ HTO.: \_\_\_\_\_ P/A: \_\_\_\_\_

## TIENE O TUVO ALGUNA DE LAS SIGUIENTES ENFERMEDADES:

|                                                                                                                                                                                                       | SI    | NO    | AÑOS  | FUE<br>TRATADA |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------|-------|-------|----------------|
| 1.- ENFERMEDADES DEL PULMON<br>CUAL _____                                                                                                                                                             | _____ | _____ | _____ | _____          |
| 2.- ENFERMEDADES HEMATOLOGICAS<br>CUAL _____                                                                                                                                                          | _____ | _____ | _____ | _____          |
| 3.- ULCERA ESTOMACAL O INTESTINAL, VOMITO DE SANGRE,<br>SANGRADO INTESTINAL, CALCULOS, ICTERICIA, ENFER-<br>MEDAD DEL HIGADO, HERNIA, U OTRAS ENFERMEDADES -<br>DEL ESTOMAGO O PANCREAS<br>CUAL _____ | _____ | _____ | _____ | _____          |
| 4.- ENFERMEDADES REUMATICAS<br>CUAL _____                                                                                                                                                             | _____ | _____ | _____ | _____          |
| 5.- ENFERMEDADES DEL CORAZON<br>CUAL _____                                                                                                                                                            | _____ | _____ | _____ | _____          |
| 6.- ENFERMEDADES DE LA GLANDULA TIROIDES<br>CUAL _____                                                                                                                                                | _____ | _____ | _____ | _____          |
| 7.- ENFERMEDADES DEL RINON, "ALBUMINURIA" PIEDRAS EN<br>RINON, SANGRE EN ORINA, PROBLEMAS AL ORINAR, -<br>INFECCION DE LA VESIGA / PELVIS / RENAL.<br>CUAL _____                                      | _____ | _____ | _____ | _____          |
| 8.- CANCER Y OTROS TUMORES<br>CUAL _____                                                                                                                                                              | _____ | _____ | _____ | _____          |
| 9.- ENFERMEDADES HEREDITARIAS (INCLUYENDO DIABETES)<br>CUAL _____                                                                                                                                     | _____ | _____ | _____ | _____          |
| 10.-ALGUN TIPO DE ALERGIA<br>TIPO _____                                                                                                                                                               | _____ | _____ | _____ | _____          |
| 11.-HA TENIDO ALGUN TIPO DE CONVULSIONES<br>TIPO _____                                                                                                                                                | _____ | _____ | _____ | _____          |
| 12.-TIENE UD. FAMILIARES CON OSTEOPOROSIS (HUESOS -<br>FRAGILES, FRACTURAS FRECUENTES O QUE HAYAN DISMI-<br>NUIDO DE ESTATURA)<br>CUAL _____                                                          | _____ | _____ | _____ | _____          |
| 13.-PRACTICA UD. ALGUN TIPO DE EJERCICIO<br>CUAL _____                                                                                                                                                | _____ | _____ | _____ | _____          |
| 14.-CON QUE FRECUENCIA SE EXPONE UD. A LOS RAYOS DEL<br>SOL<br>MIN.AL DIA _____ HORAS AL DIA _____                                                                                                    | _____ | _____ | _____ | _____          |

15.- COME UD. LOS SIGUIENTES ALIMENTOS:

MUCHO POCO NADA

|                                                   |       |       |       |
|---------------------------------------------------|-------|-------|-------|
| DERIVADOS LACTEOS                                 | _____ | _____ | _____ |
| TORTILLAS DE MAIZ                                 | _____ | _____ | _____ |
| REFRESCOS MINERALES                               | _____ | _____ | _____ |
| CHOCOLATE                                         | _____ | _____ | _____ |
| NARANJA                                           | _____ | _____ | _____ |
| ESPINACA                                          | _____ | _____ | _____ |
| FRIJOLES                                          | _____ | _____ | _____ |
| CERVEZA                                           | _____ | _____ | _____ |
| 16.- TOMA USTED                                   | _____ | _____ | _____ |
| DESDE CUANDO _____ QUE CANTIDAD _____             | _____ | _____ | _____ |
| 17.- TOMA UD. BEBIDAS ALCOHOLICAS CON FRECUENCIA  | _____ | _____ | _____ |
| CUANTAS COPAS POR SEMANA _____                    | _____ | _____ | _____ |
| CON QUE FRECUENCIA AL MES _____                   | _____ | _____ | _____ |
| 18.- BEBE USTED CAFE                              | _____ | _____ | _____ |
| CUANTAS TAZAS AL DIA _____                        | _____ | _____ | _____ |
| 19.- HA TENIDO ALGUNA FRACTURA                    | _____ | _____ | _____ |
| CUANDO _____                                      | _____ | _____ | _____ |
| 20.- SE LE ADORMECEN FRECUENTEMENTE LAS PIERNAS   | _____ | _____ | _____ |
| O LOS BRAZOS _____                                | _____ | _____ | _____ |
| DESDE CUANDO _____                                | _____ | _____ | _____ |
| 21.- HA PERMANECIDO INMOVILIZADO DURANTE LARGOS   | _____ | _____ | _____ |
| PERIODOS _____                                    | _____ | _____ | _____ |
| CUAL FUE LA CAUSA _____                           | _____ | _____ | _____ |
| 22.- PADECE DOLOR DE ESPALDA                      | _____ | _____ | _____ |
| 23.- PADECE CALAMBRES FRECUENTES                  | _____ | _____ | _____ |
| 24.- HA NOTADO TENDENCIA A JOROBARSE              | _____ | _____ | _____ |
| 25.- HA RECIBIDO EN FORMA PROLONGADA ALGUNO DE    | _____ | _____ | _____ |
| ESTOS MEDICAMENTOS: CORTISONA, HEPARINA O         | _____ | _____ | _____ |
| METOTREXATE. _____                                | _____ | _____ | _____ |
| CUAL _____                                        | _____ | _____ | _____ |
| CUANTO TIEMPO _____                               | _____ | _____ | _____ |
| 26.- HA RECIBIDO ALGUNO DE ESTOS MEDICAMENTOS:    | _____ | _____ | _____ |
| CALCIO, VIT. D., FOSFATOS, FLUORUROS, CALCI       | _____ | _____ | _____ |
| TONINA, ANABOLICOS, ESTROGENOS. _____             | _____ | _____ | _____ |
| CUAL _____                                        | _____ | _____ | _____ |
| CUANTO TIEMPO _____                               | _____ | _____ | _____ |
| 27.- HA NOTADO ADELGAZAMIENTO Y FRAGILIDAD DE SUS | _____ | _____ | _____ |
| UNAS. _____                                       | _____ | _____ | _____ |
| DESDE CUANDO _____                                | _____ | _____ | _____ |
| 28.- TOMA UD. ANTICONCEPTIVOS ORALES:             | _____ | _____ | _____ |
| 29.- CUANDO FUE SU ULTIMA REGLA:                  | _____ | _____ | _____ |
| 30.- A QUE EDAD EMPEZO SU MENOPAUSIA _____        | _____ | _____ | _____ |
| 31.- USO DE DROGAS FARMACEUTICAS: ANESTESICOS, ES | _____ | _____ | _____ |
| TIMULANTES, SEDANTES, TRANQUILIZANTES, MORFI      | _____ | _____ | _____ |
| NA, DURANTE LOS ULTIMOS 3 MESES: _____            | _____ | _____ | _____ |
| TIPO: _____ DOSIS: _____                          | _____ | _____ | _____ |
| 32.- REGULARMENTE TOMA VITAMINAS                  | _____ | _____ | _____ |
| 33.- HA CAMBIADO SU PESO A MAS DE 2 Kg. DURANTE   | _____ | _____ | _____ |
| LOS 3 ULTIMOS MESES _____                         | _____ | _____ | _____ |
| 34.- HA CAMBIADO SU DIETA DURANTE LOS 3 ULTIMOS   | _____ | _____ | _____ |
| MESES _____                                       | _____ | _____ | _____ |
| 35.- PADECE UD. HIPERTENSION ARTERIAL             | _____ | _____ | _____ |

**ESTA TESIS NO DEBE  
SALIR DE LA BIBLIOTECA**

**XI. BIBLIOGRAFIA**

1. Solberg HE. Approved recommendation on the theory of reference values. Part 1. The concept of reference values. Clin Chim Acta 1987;165:111-118.
2. Métodos analíticos de validación. Comité de elaboración de Guías Oficiales de validación de la Dirección General de Insumos para la Salud. SSA, 1992.
3. Westgard JO, Carey RN, Wold S. Criteria for judging precision and accuracy in method development and evaluation. Clin Chem 1974;20(7):825-833.
4. Eisenmann G, Rudin DO, Cosby JU. Glass electrode for measuring sodium ion. Science 1957;126:831-834.
5. Ross JW. Calcium-selective electrode with liquid ion exchanger. Science 1967;156:1378-1379.
6. Anker P, Wieland E, Ammann D, Dohner RE, Asper R, Simon W. Nutral carrier based ion-selective electrode for the determination of total calcium in blood serum. Anal Chem 1981;53:1970-1974.
7. Oesch U, Ammann D, Simon W. Ion-selective membrane electrodes for clinical use. Clin Chem 1986;32:1448-1459.
8. Simon W, Morf WE, Ammann C. Calcium ionophores. En: Wasserman RH (ed) Calcium binding proteins and calcium function. Elsevier North-Holland New York, 1977 p50.
9. Kruse-Jarres JD. Ion-selective potentiometry in clinicalchemistry. A review. Med Prog Technol 1988;13(3):107-130.
10. Guilbault GG. Recommendations for publishing manuscripts on ion-selective electrodes. Ion-selective Electrode Rev 1979;1:139-143.
11. Meier PC, Ammann D, Morf WE, Simon W. Liquid membrane ion-selective electrodes and their biochemical application. En: Medical and Biological Application of Electrochemical Devices. London:Wiley, 1980:13-91.
12. Cowell DC, Browning DM, Clarke S, Kilshaw D, Randel J, Singer. Sodium and potassium ion-selective electrodes: a review of theory and calibration. Med Lab Sci 1985;42:252-261.
13. Waugh WH. Utility of expressing serum sodium per unit of water in assessing hyponatremia. Metabolism 1969;18:706-712.

14. Czaban JD, Cormier AD, Legg KD. Establishing the direct-potentiometric "normal" range for Na/K: residual liquid junction potential and activity coefficient effects. Clin Chem 1982;28(9):1936-1945.
15. Ladenson JH. Evaluation of an instrument (Nova 1) for direct potentiometric analysis of sodium and potassium in blood and their indirect potentiometric determination in urine. Clin Chem 1979;25(5):757-763.
16. Nova 4 Electrolyte Analyser Instruction Manual, Nova Biomedical 1990.
17. Willard Merril D. Métodos instrumentales de análisis. CECSA, México 1982:747-760.
18. Skoog West, Análisis Instrumental 2da. ed. Interamericana México 1987:617-626.
19. Chloride/Carbon Dioxide Analyser. Operating instructions Clinical Instrument Division. Beckman. 1979.
20. Lustgarten JA, Wenk RE, Byrd C, Hall B. Evaluation of an automated selective-ion electrolyte analyser for measuring Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup> and Cl<sup>-</sup> in serum. Clin Chem 1974;20(90):1217-1221.
21. Annon W, Kirwan NA, Robertson WS. Normal Range for serum sodium by ion-selective electrodes analysis exceed that by flame photometry (teller) Clin Chem 1979;25:643.
22. Jacklyn CL. Comparison for serum sodium and chloride results for Flame IV-Autoanalyser II, SMAC, Ektachem 400 and Nova 4 clinical analyser systems. Clin Biochem 1988;21:167-172.
23. Manual de operación del Analizador 2 de Creatinina. Beckman, 1985.
24. Solberg HE. The theory of reference values. Part 5. Statistical treatment of collected reference values. Determination of reference limits. Clin Chim Acta 1984;137:97F-114F.
25. Barnett V, Lewis T. Outliers in statistical data. Chinchester: John Wiley and Sons 1978.
26. Anonymous Qualitätssicherung der quantitativen Bestimmungen im Laboratorium DI Arztebl 1988;85:B517-B532.
27. Mohan MS, Bates RG, Hiller JH, Brand MJ. Measurement of sodium in albumin solutions with ion-selective electrodes. Clin Chem 1978;24:580-584.
28. Coleman RL, Young CC. Evidence for the formation of bicarbonate complexes with Na<sup>+</sup> and K<sup>+</sup> under physiological conditions. Clin Chem 1981;27:1938-1939.

29. Czaban JD, Cormier AD, Legg KD. The apparent suppression of Na/K data obtained with ion-selective electrodes is due to junction potential and activity coefficient effects, not bicarbonate binding. Clin Chem 1982;28:1703-1705.