

COD 11022 40 determinaciones
CONSERVAR A 15-30°C
Reactivos para medir la concentración de metanefrinas Sólo para uso <i>in vitro</i> en el laboratorio clínico

## METANEPHRINES



**METANEPHRINAS**  
PISANO



### FUNDAMENTO DEL MÉTODO

Las metanefrinas contenidas en la muestra son retenidas por una resina de intercambio catiónico. Una vez eliminadas las interferencias por lavado, se eluyen las metanefrinas y se cuantifican espectrofotométricamente como vanilina después de una oxidación con periodato en medio alcalino<sup>1</sup>.

### CONTENIDO Y COMPOSICIÓN

- Reactivo. 1 x 225 mL. Tampón Bis-Tris 0,4 mol/L, EDTA de sodio 2,7 mmol/L, conservante.
- Reactivo. 1 x 400 mL. Amoniaco 4 mol/L.  
*Irritante (X1): R36/37/38: Irrita los ojos, la piel y las vías respiratorias. S26: En caso de contacto con los ojos, lávese inmediata y abundantemente con agua y acúdase a un médico. S36/37/39: Usen indumentaria y guantes adecuados y protección para los ojos/la cara. S45: En caso de accidente o malestar, acuda inmediatamente al médico.*
- Microcolumnas. 2 x 20. Contienen resina de intercambio catiónico equilibrada.
- Reactivo. 2 para 10 mL. Polvo de m-periodato de sodio, para 0,12 mol/L después de reconstituir.  
*Comburente (O): R8: Peligro de fuego en contacto con materias combustibles.*
- Reactivo. 2 para 10 mL. Polvo de metabisulfito de sodio, para 0,67 mol/L después de reconstituir.  
*Nocivo (Xn): R22: Nocivo por ingestión. R31: En contacto con ácidos libera gases tóxicos. R41: Riesgo de lesiones oculares graves. S26: En caso de contacto con los ojos, lávese inmediata y abundantemente con agua y acúdase a un médico. S39: Usen protección para los ojos/la cara. S46: En caso de ingestión, acúdase inmediatamente al médico.*
- Patrón. 2 x 5 mL. Normetanefrina 100 mg/L = 550 µmol/L en ácido clorhídrico 0,1 mol/L. Patrón primario acuoso.

### CONSERVACIÓN

Conservar a 15-30°C.

Los reactivos son estables hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta, siempre que se conserven bien cerrados y se evite la contaminación durante su uso.

Indicaciones de deterioro:

- Reactivos: presencia de partículas, turbidez, absorbancia del blanco de reactivo superior a 0,060 a 360 nm (cubeta de 1 cm).
- Microcolumnas: Ausencia de tampón sobre el filtro superior.

### REACTIVOS AUXILIARES

- Ácido clorhídrico concentrado de grado analítico.

### PREPARACIÓN DE LOS REACTIVOS

Reactivos (B) y (C): Añadir a los viales correspondientes 10 mL de agua destilada y agitar hasta disolución completa. Estables 5 meses a 2-8°C.

### EQUIPO ADICIONAL

- Baño de agua hirviendo
- Espectrofotómetro para lecturas a 360 nm (358-362)

### MUESTRAS

Orina de 24 horas recogida mediante procedimientos estándar.

No debe utilizarse ácido bórico como conservante.

Mantener a 2-8°C y utilizar antes de 24 horas. Las muestras pueden conservarse un máximo de 15 días a 2-8°C ó 1 mes a -20°C si se ajustan a un pH inferior a 3 con ácido clorhídrico concentrado (HCl). Centrifugar o filtrar antes de iniciar la determinación.

### PROCEDIMIENTO

Preparación de la muestra

- Pipetear en un tubo de ensayo:

Muestra	5,0 mL
---------	--------

- Ajustar el pH entre 0,7-0,9 con ácido clorhídrico concentrado.
- Incubar en un baño de agua hirviendo durante 20 minutos. Enfriar en agua corriente. Seguidamente añadir (Nota 1):

Reactivo (1)	5,0 mL
--------------	--------

Separación Cromatográfica (Nota 2)

- Destapar la Microcolumna (3), romper la lengüeta inferior y bajar el filtro hasta el nivel de la resina, evitando comprimirla. Dejar pasar todo el sobrenadante desechando el eluido.
- Verter el contenido del tubo (muestra tratada) en la microcolumna y desechar el eluido.
- Lavar el tubo con 3 mL de agua destilada y verterlo en la microcolumna. Desechar el eluido.
- Añadir a la microcolumna:

Agua destilada	10,0 mL	Desechar el eluido
Reactivo (2)	7,5 mL	Recoger el eluido

- Agitar bien el eluido (Nota 3).

Colorimetría

- Pipetear en tubos de ensayo:

	Blanco Reactivo	Blanco Patrón	Patrón	Blanco Muestra	Muestra
Eluido	—	—	—	2 mL	2 mL
Patrón (S)	—	0,1 mL	0,1 mL	—	—
Reactivo (2)	2 mL	1,9 mL	1,9 mL	—	—
Reactivo (C)	—	0,05 mL	—	0,05 mL	—

- Agitar bien y añadir:

Reactivo (B)	0,05 mL	0,05 mL	0,05 mL	0,05 mL	0,05 mL
--------------	---------	---------	---------	---------	---------

- Agitar bien y dejar reaccionar durante 2 minutos a temperatura ambiente (15-30°C). A continuación añadir:

Reactivo (C)	0,05 mL	—	0,05 mL	—	0,05 mL
--------------	---------	---	---------	---	---------

- Agitar bien y leer la absorbancia (A) de la muestra, patrón y sus blancos frente al blanco de reactivos a 360 nm. La absorbancia es estable durante 60 minutos.

### CÁLCULOS

La concentración de metanefrinas en la muestra se calcula a partir de la siguiente fórmula general:

$$\frac{A_{\text{Muestra}} - A_{\text{Blanco Muestra}}}{A_{\text{Patrón}} - A_{\text{Blanco Patrón}}} \times \frac{V_E}{V_M} \times \frac{V_{PC}}{V_{EC}} \times C_P \times \frac{1}{\text{Rec}} = C_{\text{Muestra}}$$

El volumen de muestra ( $V_M$ ) es 5 mL, el volumen de eluido ( $V_E$ ) es 7,5 mL, el volumen de eluido en la colorimetría ( $V_{EC}$ ) es 2 mL, el volumen de Patrón en la colorimetría ( $V_{PC}$ ) es 0,1 mL, la concentración del Patrón ( $C_P$ ) es 100 mg/L ó 550 µmol/L y la media de la recuperación (Rec) es 0,98.

Se deducen las siguientes fórmulas para calcular la concentración:

$\frac{A_{\text{Muestra}} - A_{\text{Blanco Muestra}}}{A_{\text{Patrón}} - A_{\text{Blanco Patrón}}}$	x 7,65 = mg/L metanefrinas
	x 42,1 = µmol/L metanefrinas

La cantidad de metanefrinas en la orina de 24 horas se calcula según las siguientes fórmulas generales:

mg/L metanefrinas	x $V_{\text{Orina/24 horas}} (L) =$	mg metanefrinas/24 horas
µmol/L metanefrinas		µmol metanefrinas/24 horas

### VALORES DE REFERENCIA

Orina<sup>2</sup>: hasta 1 mg/24 h = hasta 5,5 µmol/24 h

Estos valores se dan únicamente a título orientativo; es recomendable que cada laboratorio establezca sus propios intervalos de normalidad.

### CONTROL DE CALIDAD

Se recomienda el uso de la Orina Control (cod. 18036 y 18037) para verificar la funcionalidad del procedimiento de medida.

Cada laboratorio debe establecer su propio programa de Control de Calidad interno; así como procedimientos de corrección en el caso de que los controles no cumplan con las tolerancias aceptables.

### CARACTERÍSTICAS METROLÓGICAS

- Límite de detección: 0,2 mg/L = 1,1 µmol/L.
- Límite de linealidad: por lo menos hasta concentraciones de 30,9 mg/L = 170 µmol/L.
- Repetibilidad (intra-serie):

Concentración media	CV	n
0,3 mg/L = 1,5 µmol/L	9,8 %	25
3,8 mg/L = 21,2 µmol/L	5,6 %	25

- Reproducibilidad (inter-serie):

Concentración media	CV	n
0,3 mg/L = 1,5 µmol/L	14,8 %	25
3,8 mg/L = 21,2 µmol/L	10,0 %	25

- Sensibilidad: 63,8 mA·L/mg = 11,6 mA·L/µmol.

Veracidad: En la determinación de muestras cargadas con distintas concentraciones de metanefrinas, los resultados no muestran diferencias sistemáticas con las concentraciones teóricas. Los detalles del estudio comparativo están disponibles bajo solicitud.

- Interferencias: Algunos alimentos, medicamentos y sustancias pueden interferir<sup>3</sup>.

### CARACTERÍSTICAS DIAGNÓSTICAS

La metanefrina y la normetanefrina, conocidas como metanefrinas, son metabolitos de la vía de degradación de las catecolaminas que se excretan en orina.

Los valores elevados de metanefrinas se asocian a la existencia de feocromocitoma, paragangliomas y neuroblastomas, tumores del tejido cromafin secretores de catecolaminas<sup>4,5,6</sup>.

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

### NOTAS

- En muestras de orina concentradas o excesivamente acidificadas, puede ser necesario ajustar el pH de la mezcla a 5,7-7,0 con hidróxido de sodio 1 mol/L.
- El almacenaje prolongado de las columnas puede ocasionar un excesivo empacado de la resina que disminuiría el flujo. Para evitarlo, colocar la columna en posición invertida unos 10 min, volverla a su posición original y esperar que sedimente la resina antes de bajar el disco superior.
- Realizar la colorimetría inmediatamente, ya que las metanefrinas son poco estables en las condiciones de pH del eluido.

### BIBLIOGRAFÍA

- Pisano J. A simple analysis for normetanephrine and metanephrine in urine. *Clin. Chim. Acta* 1960; 5: 406-414.
- Pesce J.A. and Kaplan L.A. Methods in Clinical Chemistry. C.V. Mosby Co, 1987.
- Young D.S. Effects of drugs on clinical laboratory tests, 4th ed. AACCC Press, 1995.
- Friedman and Young. Effects of disease on clinical laboratory tests, 3rd ed. AACCC Press, 1997.
- Witteles et al. Sensitivity of Diagnostic and Localization Tests for Pheochromocytoma in Clinical Practice. *Arch. Intern. Med.* 2000; 160:2521-2524.
- Tietz N.W. Clinical guide to laboratory tests, 3rd ed. Saunders Co, 1999.