

# Efeitos do timol sobre os parâmetros urinários envolvidos na formação de cálculos

Primeira submissão em 12/05/09  
Última submissão em 30/06/09  
Aceito para publicação em 06/07/09  
Publicado em 20/08/09

## Effects of thymol on urinary parameters related to lithogenesis

Renato Ribeiro Nogueira Ferraz<sup>1</sup>; Silvia Regina da Silva Moreira<sup>2</sup>; Ita Pfeferman Heilberg<sup>3</sup>

unitermos	resumo
Litíase	<p><b>Introdução:</b> Em estudo anterior, demonstramos que a acidificação ou alcalinização de amostras de urina no momento de entrega do material ao laboratório em comparação a amostras coletadas com conservantes não alterou os resultados urinários de parâmetros relacionados à investigação metabólica de litíase renal como o oxalato (OxU), cálcio (CaU), magnésio (MgU), ácido úrico (AcUrU) e creatinina (CreatU), com exceção do citrato (CitU), cujo valor foi discretamente menor. <b>Objetivo:</b> Avaliar se a adição de timol, por meio de sua ação antibacteriana, é capaz de prevenir a redução do CitU em amostras acidificadas 24 horas após a coleta, em relação às pré-acidificadas, sem interferir na determinação dos outros parâmetros urinários. <b>Métodos:</b> 40 voluntários sadios coletaram uma amostra isolada de urina que foi dividida em quatro alíquotas de 10 ml contendo timol (1 g/l). Na primeira, o conservante ácido (HCl 6 N, 20 ml/l) foi adicionado imediatamente após a coleta e na segunda, somente após 24 horas. Além do CitU, nessas amostras também foram determinados OxU, CaU e MgU. Na terceira e quarta alíquotas, um conservante alcalino (NaHCO<sub>3</sub>, 5g/l) foi adicionado imediatamente ou 24 horas após a coleta para determinação do AcUrU. <b>Resultados:</b> Na presença de timol, não se observou variação significativa do CitU entre as urinas pré ou pós-acidificadas (577 ± 490 mg/l vs. 575 ± 501 mg/l). Os valores dos demais parâmetros também não sofreram alteração. <b>Conclusão:</b> A adição prévia de timol às amostras de urina permite que todos os parâmetros urinários litogênicos possam ser determinados numa mesma amostra, reduzindo o custo e o desconforto de múltiplas coletas de urina de 24 horas.</p>
Parâmetros urinários	
Conservantes	
Timol	

## abstract

## key words

**Introduction:** In a previous study, we demonstrated that acidification or alkalization of urine samples upon delivery of the material to the laboratory in comparison with samples with preservatives did not alter the results of urinary parameters related to the metabolic investigation into renal lithiasis such as oxalate (OxU), calcium (CaU), magnesium (MgU), uric acid (AcUrU) and creatinine (CreatU), with the exception of citrate (CitU), whose value was slightly lower. **Objective:** To evaluate if the addition of thymol, through its antibacterial effect, is able to prevent the reduction of CitU observed in samples acidified 24 hs after collection in comparison with pre-acidified ones without interfering in the determination of other urinary parameters. **Methods:** Forty (40) healthy volunteers collected a single spot urine sample, which was divided into four aliquots of 10 ml containing thymol (1 g/l). In the first sample, the acid preservative (HCl6N, 20 ml/l) was added immediately after collection and in the second, only after 24hs. OxU, CaU, CitU and MgU were determined. In the third and fourth aliquots, an alkali preservative (NaHCO<sub>3</sub>, 5 g/l) was added immediately or 24 hs after collection for AcUrU determination. **Results:** In the presence of thymol, there was no significant variation in CitU values between pre-or post-acidified samples (577±490 mg/l vs. 575±501 mg/l). The values of other parameters also remained unchanged. **Conclusion:** The prior addition of thymol to urine samples allows the determination of all lithogenic urinary parameters in the same sample, reducing the cost and inconvenience of multiple 24-hour urine collections.

Lithiasis  
Urinary parameters  
Preservatives  
Thymol

<sup>1</sup>Biólogo; doutor em Ciências – Nefrologia pela Universidade Federal de São Paulo (UNIFESP); inscrito no Programa de Pós-Doutorado da disciplina de Nefrologia na UNIFESP.

<sup>2</sup>Biomédica; especialista em Análises Clínicas; responsável técnica e administrativa do Laboratório Central do Hospital do Rim e Hipertensão da Fundação Oswaldo Ramos.

<sup>3</sup>Médica, doutora em Medicina – Nefrologia pela UNIFESP; professora adjunta da disciplina de Nefrologia do Departamento de Medicina da UNIFESP; coordenadora do ambulatório de Litíase Renal da UNIFESP.

## Introdução

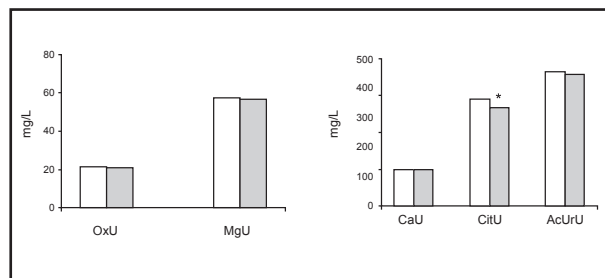
A investigação laboratorial de pacientes litíasicos inclui a determinação de parâmetros urinários envolvidos na formação dos cálculos, tais como oxalato (OxU), cálcio (CaU), magnésio (MgU), citrato (CitU) e ácido úrico (AcUrU), determinados em amostras de urinas de 24 horas<sup>(4, 5, 10, 14, 16, 20)</sup>. Apesar de uma coleta única de urina de 24 horas apresentar uma boa relação custo-benefício na avaliação clínica dos pacientes litíasicos<sup>(16, 21)</sup>, alguns autores reportam que a coleta em uma única ocasião pode subestimar a detecção dos distúrbios metabólicos<sup>(22, 27)</sup>, sugerindo que no mínimo duas amostras sejam requeridas para um diagnóstico mais apurado.

No que tange à determinação do OxU, a condição ideal é a de que as amostras de urina sejam coletadas em um recipiente contendo ácido clorídrico (HCl) como conservante, com a intenção de assegurar a completa dissolução dos cristais de oxalato de cálcio<sup>(11)</sup>, prevenir a precipitação de sais de cálcio e magnésio e conter a oxidação do ascorbato em oxalato<sup>(2, 13, 26)</sup>. Nessas amostras de urina acidificadas, CaU, MgU, CitU e CreatU também podem ser determinados. Todavia, quando o conservante ácido é adicionado ao recipiente antes da coleta de urina, o AcUrU não pode ser determinado na mesma amostra, já que haveria precipitação de cristais de ácido úrico em condições de pH reduzido. Por fim, quando se utiliza o método do eletrodo íon-seletivo, sódio e potássio urinários também não podem ser determinados em amostras com conservantes ácidos ou alcalinos previamente adicionados, já que estes poderiam danificar os eletrodos.

Em estudo anterior realizado em nosso serviço<sup>(6)</sup>, demonstramos que a acidificação ou alcalinização de amostras de urina no momento de entrega do material ao laboratório, ou seja, 24 horas após a coleta, não altera os níveis urinários de oxalato, cálcio, magnésio e ácido úrico (**Figura 1**) quando comparada à metodologia de acidificação prévia (ácido previamente adicionado ao recipiente de coleta), permitindo que todos esses parâmetros possam ser determinados em uma única amostra. Diferentemente, o valor do citrato urinário foi discreta, porém significativamente menor, nas urinas acidificadas 24 horas após a coleta (Figura 1).

É possível que tal redução da citrúria tenha sido decorrente do consumo do CitU por bactérias que podem proliferar em urinas mantidas a temperatura ambiente.

O objetivo do presente estudo foi o de avaliar se a adição de timol, um agente com ação antibacteriana,



**Figura 1** – Parâmetros urinários em amostras isoladas de urina com adição prévia (barras brancas) ou 24 horas após a coleta (barras pontilhadas) de conservante ácido ou alcalino, determinado na ausência de timol

Adaptado de FERRAZ, R.R. et al.<sup>(6)</sup>

$p < 0,05$  vs. adição imediata do conservante ácido

poderia prevenir a redução do valor do CitU em amostras acidificadas 24 horas após a coleta, em comparação às pré-acidificadas, e se tal agente interferiria nos resultados dos outros parâmetros urinários determinados em amostras acidificadas ou alcalinizadas imediatamente ou 24 horas após a coleta.

## Métodos

Com o intuito de avaliar a ação antibacteriana do timol, amostras de urina de 20 indivíduos entregues no laboratório com solicitação de urocultura foram selecionadas aleatoriamente para experimentos na presença ou não de timol. As amostras foram divididas em três alíquotas: a primeira, sem adição de timol, foi plaqueada imediatamente após a coleta. A segunda, também sem adição de timol, foi plaqueada 24 horas após a coleta, e a terceira, em que o timol havia sido previamente adicionado imediatamente após a coleta da urina, foi plaqueada também depois de 24 horas.

Quarenta voluntários sadios (16 M/24 F,  $35 \pm 11$  anos) coletaram uma amostra isolada de urina que foi dividida em quatro alíquotas de 10 ml contendo timol (1 g/l). Na primeira alíquota, o conservante ácido (HCl 6 N, 20 ml/l) foi adicionado imediatamente após a coleta e na segunda, somente após 24 horas, no ato da entrega do material ao laboratório. Nessas amostras foram determinados OxU, CaU, CitU e MgU. Na terceira e quarta alíquotas, um conservante alcalino ( $\text{NaHCO}_3$ , 5 g/l) foi adicionado imediatamente ou 24 horas após a coleta para determinação do AcUrU.

O cálcio e o magnésio urinários foram determinados por espectrofotometria de absorção atômica (Perkin Elmer Atomic Spectrophotometer 3110, Norwalk, Connecticut, USA); o oxalato foi determinado por método enzimático<sup>(9)</sup>

utilizando-se o Sigma Oxalate Diagnostic Kit (Sigma Chemical Co., St Louis, MO, USA); o citrato foi determinado pelo método da citrato-liase<sup>(12)</sup>, e o ácido úrico pelo método da uricase<sup>(7)</sup>. O coeficiente de variação (CV) do nosso laboratório foi: 1,5% para o OxU, 2,5% para o CaU, 6,9% para o MgU, 13,4% para o CitU e 6,8% para o AcUrU.

Este estudo foi registrado no Comitê Nacional de Ética em Pesquisa (CONEP) sob o n. 252819/2009, aprovado e autorizado pelo Comitê de Ética em Pesquisa (COEP) da Universidade Federal de São Paulo (UNIFESP), sob o n. 0576/2009, por estar de acordo com a resolução 196/96 do Conselho Nacional de Saúde (CNS) quanto aos seus aspectos éticos e legais.

## Análise estatística

Os valores das determinações de todos os parâmetros urinários foram submetidos a um teste de normalidade (Kolmogorov-Smirnov). Como a maioria dos parâmetros

não apresentou uma curva de distribuição normal, somente testes não-paramétricos foram escolhidos. O teste de Wilcoxon foi utilizado para comparação entre os valores dos parâmetros determinados nas alíquotas de urina com ou sem adição prévia de HCl ou NaHCO<sub>3</sub> (todas contendo timol). Os resultados são apresentados como média  $\pm$  desvio-padrão (DP). A hipótese nula de que não ocorreriam diferenças entre os valores obtidos com as dosagens dos parâmetros nas alíquotas diferenciadas pela forma de preservação de urina foi proposta. Todos os testes estatísticos foram realizados considerando-se um nível de significância de  $p < 0,05$  e um nível de confiança de 95% foi considerado como apropriado.

## Resultados

A **Tabela 1** mostra os valores das contagens bacterianas obtidos na alíquota plaqueada imediatamente após a coleta sem a adição de timol, na alíquota plaqueada 24 horas após a coleta

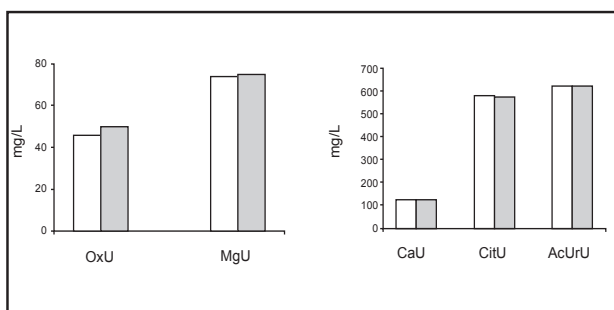
**Tabela 1** Contagens bacterianas (UFC/ml) nas amostras de urina plaqueadas imediatamente após a coleta (basal) ou após 24 horas (na ausência ou presença de timol)

Amostra	Sem timol		Com timol
	Basal	Após 24 horas	Após 24 horas
1	< 10 <sup>3</sup>	< 10 <sup>3</sup>	< 10 <sup>3</sup>
2	< 10 <sup>3</sup>	< 10 <sup>3</sup>	< 10 <sup>3</sup>
3	< 10 <sup>3</sup>	< 10 <sup>3</sup>	< 10 <sup>3</sup>
4	< 10 <sup>3</sup>	< 10 <sup>3</sup>	< 10 <sup>3</sup>
5	< 10 <sup>3</sup>	100 x 10 <sup>3</sup>	< 10 <sup>3</sup>
6	< 10 <sup>3</sup>	< 10 <sup>3</sup>	< 10 <sup>3</sup>
7	< 10 <sup>3</sup>	< 10 <sup>3</sup>	< 10 <sup>3</sup>
8	< 10 <sup>3</sup>	160 x 10 <sup>3</sup>	5 x 10 <sup>3</sup>
9	< 10 <sup>3</sup>	< 10 <sup>3</sup>	< 10 <sup>3</sup>
10	< 10 <sup>3</sup>	< 10 <sup>3</sup>	< 10 <sup>3</sup>
11	< 10 <sup>3</sup>	250 x 10 <sup>3</sup>	< 10 <sup>3</sup>
12	< 10 <sup>3</sup>	150 x 10 <sup>3</sup>	< 10 <sup>3</sup>
13	15 x 10 <sup>3</sup>	250 x 10 <sup>3</sup>	< 10 <sup>3</sup>
14	30 x 10 <sup>3</sup>	50 x 10 <sup>3</sup>	< 10 <sup>3</sup>
15	50 x 10 <sup>3</sup>	> 1.000 x 10 <sup>3</sup>	< 10 <sup>3</sup>
16	80 x 10 <sup>3</sup>	200 x 10 <sup>3</sup>	< 10 <sup>3</sup>
17	100 x 10 <sup>3</sup>	> 1.000 x 10 <sup>3</sup>	< 10 <sup>3</sup>
18	180 x 10 <sup>3</sup>	300 x 10 <sup>3</sup>	< 10 <sup>3</sup>
19	> 1.000 x 10 <sup>3</sup>	> 1.000 x 10 <sup>3</sup>	< 10 <sup>3</sup>
20	> 1.000 x 10 <sup>3</sup>	> 1.000 x 10 <sup>3</sup>	< 10 <sup>3</sup>

UFC: unidades formadoras de colônia.

também sem a adição do conservante, e na alíquota plaqueada também 24 horas após a coleta, mas com adição imediata de timol após coletada. Nas oito amostras que já apresentavam uma contagem bacteriana basal significativa (n. 13 a 20) e que apresentaram proliferação bacteriana na alíquota incubada após 24 horas sem timol (a contagem se elevou nas amostras 13 a 18 e se manteve nas amostras 19 e 20), a adição imediata desse conservante após a coleta mesmo nas alíquotas plaqueadas após 24 horas inibiu o crescimento bacteriano, resultando em contagens de unidades formadoras de colônias (UFC)/ml de urina inferiores às basais. Nas 12 amostras restantes onde não se detectaram contagens bacterianas basais expressivas, a presença do timol inibiu o crescimento bacteriano.

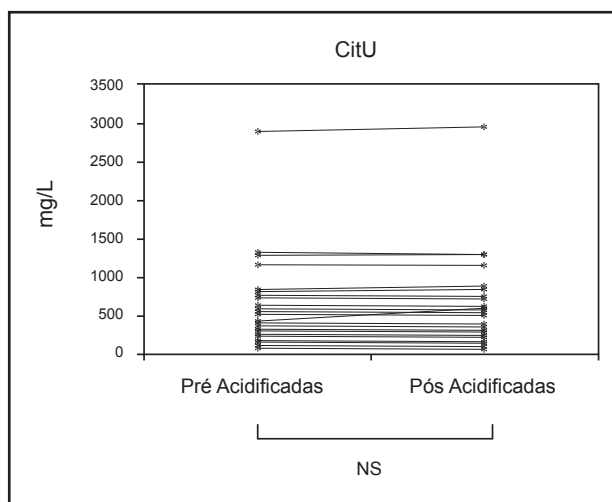
Conforme mostrado na **Figura 2**, não foram observadas diferenças estatisticamente significativas ou clinicamente relevantes entre os valores médios do OxU, CaU, MgU, CitU e AcUrU determinados nas alíquotas contendo timol previamente adicionado, onde o conservante ácido ou alcalino foi adicionado imediatamente ou 24 horas após a coleta. Mais especificamente, para a citratúria, esses valores foram de  $577 \pm 490$  mg/l vs  $575 \pm 501$  mg/l, respectivamente. A grande variabilidade do CitU, evidenciada por meio do valor do DP, é um achado comum e pode ser atribuída a diversos fatores, como estado ácido-básico, condição de hidratação, depleção de potássio e, especialmente nas mulheres, fase do ciclo menstrual<sup>(25)</sup>. A faixa de normalidade reportada pela maioria dos laboratórios que realizam ensaios de citrato é igualmente ampla. A **Figura 3** mostra os dados individuais do CitU.



**Figura 2** – Parâmetros urinários em amostras isoladas de urina com adição prévia (barras brancas) ou 24 horas após a coleta (barras pontilhadas) de conservante ácido ou alcalino, determinado na presença de timol

## Discussão

A adição de substâncias estabilizadoras e as condições sob as quais as amostras de urina são coletadas e armazenadas são importantes aspectos a serem considerados na



**Figura 3** – Valores individuais do CitU na presença de timol em amostras isoladas de urina com adição de conservante ácido imediatamente ou 24 horas após a coleta  
CitU: Citrato urinário

determinação da excreção urinária dos parâmetros envolvidos na litogênese. Está bem estabelecido que a adição de conservante ácido reduzindo o pH urinário para valores próximos de 1 ou 2 é necessária para correta determinação do OxU<sup>(3, 8, 11, 15, 18, 23, 24, 28)</sup>.

Considerando que diversos distúrbios metabólicos podem apresentar variação de acordo com dieta e outros fatores ambientais, podem ser necessárias duas ou até três amostras de urina de 24 h para determinação dos distúrbios metabólicos envolvidos na formação de cálculos, como a hipercalcúria, hiperuricosúria e hipocitratúria<sup>(13, 22, 27)</sup>. No entanto, em decorrência dos aspectos metodológicos com respeito à necessidade de acidificação para alguns parâmetros, e alcalinização para outros, o número de amostras necessárias poderia aumentar ainda mais, elevando seu custo e gerando a inconveniência de múltiplas coletas.

Em um estudo anterior realizado em nosso serviço<sup>(6)</sup>, a acidificação ou alcalinização somente após a entrega das amostras de urina ao laboratório não modificou os níveis urinários de oxalato, cálcio, magnésio, creatinina e ácido úrico. Todavia, uma pequena, porém significativa, redução nos valores do CitU determinado nas alíquotas em que o conservante ácido foi adicionado 24 horas após a coleta foi detectada<sup>(6)</sup>. Essa redução foi de pequena magnitude (5,9% nos indivíduos saudáveis e de 3,1% para pacientes litíase), encontrando-se dentro dos limites do coeficiente de variação para o método em nosso laboratório, portanto sem relevância clínica. Todavia, pelo fato de a redução da citratúria poder ter sido decorrente da proliferação de bactérias consumidoras de citrato durante o período de arma-

zenamento pós-coleta, quisemos testar no presente estudo se a presença de um agente antibacteriano como o timol, utilizado em laboratórios no exterior<sup>(1)</sup>, poderia evitar esse problema. Nos laboratórios americanos de referência para avaliação metabólica de pacientes litíasicos, as amostras de urina são habitualmente alíquotadas pelos próprios pacientes e enviadas por correio a uma unidade central, muitas vezes distante do local de origem. O tempo decorrente entre a coleta e a chegada do material para análise pode nesses casos demorar até 72 horas. Nesse tipo de coleta de urina de 24 horas, os pacientes recebem, além do recipiente para armazenamento da urina, um frasco contendo timol para ser adicionado ao recipiente de coleta<sup>(1)</sup>.

No presente estudo, o timol mostrou-se eficaz na prevenção da proliferação de microorganismos, inibindo o crescimento ou reduzindo a contagem final das colônias, conforme demonstrado nos experimentos de urocultura.

Adicionalmente, demonstramos que a adição prévia de timol às alíquotas de urina preveniu a redução nos valores do CitU, observada em nossos experimentos anteriores<sup>(6)</sup>. Assim, é provável que tal achado tenha sido devido à redução na proliferação de bactérias consumidoras do CitU na presença de timol. Quanto aos demais parâmetros

litogênicos determinados nas amostras de urina com timol previamente adicionado, nenhuma alteração foi observada, independentemente do momento de adição do conservante ácido ou alcalino. Esses resultados se assemelham aos de Nicar *et al.*<sup>(19)</sup>, que também não observaram nenhuma alteração nos valores das determinações desses parâmetros em amostras de urina contendo timol.

Os achados do presente trabalho indicam que a adição de timol às amostras de urina permite que todos os parâmetros urinários envolvidos na litogênese possam ser determinados em uma mesma amostra de urina, reduzindo o custo e o desconforto de múltiplas coletas de urina de 24 horas.

## Agradecimentos

Coordenação de Aperfeiçoamento Pessoal de Nível Superior (CAPES), Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e Fundação Oswaldo Ramos.

## Referências

1. ASPLIN, J. *et al.* Supersaturation and stone composition in a network of dispersed treatment sites. *J Urol*, v. 159, n. 6, p. 1821-5, 1998.
2. BAXMANN, A.C.; MENDONÇA, C.O.G.; HEILBERG, I.P. Effect of vitamin C supplements on urinary oxalate and pH in calcium stone-forming patients. *Kidney Int*, v. 63, n. 3, p. 1066-71, 2003.
3. BRAIOTTA, E.A.; BUTERRY, J.E.; LUDVIGSEN, N. The effects of pH, temperature and storage on urine oxalate. *Clin Chim Acta*, v. 147, n. 1, p. 31-4, 1985.
4. COE, F.L.; EVAN, A.; WORCESTER, E. Kidney stone disease. *J Clin Invest*, v. 115, n. 10, p. 2598-608, 2005.
5. CURHAN, G.C. *et al.* Twenty-four-hour urine chemistries and the risk of kidney stones among women and men. *Kidney Int*, v. 59, n. 6, p. 2290-8, 2001.
6. FERRAZ, R.R. *et al.* Preservation of urine samples for metabolic evaluation of stone-forming patients. *Urol Res*, v. 34, n. 5, p. 329-37, 2006.
7. FOSSATI, P.; PRENCIPE, L.; BERTI, G. Use of 3,5-dichloro-2-hydroxybenzenesulfonic acid/4-aminophenazone chromogenic system in direct enzymic assay of uric acid in serum and urine. *Clin Chem*, v. 26, n. 2, p. 227-31, 1980.
8. GRIFFITH, D.P.; DUNN, D. Collection and preservation of urine for biochemical analyses. *Invest Urol*, v. 15, n. 6, p. 459-61, 1978.
9. HALLSON, P.C.; ROSE, G.A. A simplified and rapid enzymatic method for the determination of urinary oxalate. *Clin Chim Acta*, v. 55, n. 1, p. 29-39, 1974.
10. HEILBERG, I.P.; SCHOR, N. Renal stone disease: Causes, evaluation and medical treatment. *Arq Bras Endocrinol Metabol*, v. 50, n. 4, p. 823-31, 2006.
11. HODGKINSON, A. Sampling errors in the determination of urine calcium and oxalate: solubility of calcium oxalate in HCl-urine mixtures. *Clin Chem Acta*, v. 109, n. 2, p. 239-44, 1981.
12. HOLT, C.; COWLEY, D.M.; CHALMERS, A.H. Rapid estimation of urinary citrate by use of a centrifugal analyzer. *Clin Chem*, v. 31, n. 5, p. 779-80, 1985.
13. LAERUM, E.; PALMER, H. Methodological aspects of examination of 24-hour urinary excretions in outpatients with recurrent urolithiasis. *Scand J Urol Nephrol*, v. 17, n. 3, p. 321-4, 1983.
14. LEVY, F.L.; ADAMS-HUET, B.; PAK, C.Y. Ambulatory evaluation of Nephrolithiasis: an update of a 1980 protocol. *Am J Med*, v. 98, n.1, p. 5-59, 1995.

15. LI, M.G.; MADAPPALLY, M.M. Rapid enzymatic determination of urinary oxalate. *Clin Chem*, v. 35, n. 12, p. 2330-3, 1989.
16. LOTAN, Y. *et al.* Cost effectiveness of medical management strategies for nephrolithiasis. *J Urol*, v. 172, n. 6, p. 2275-81, 2004.
17. MOE, O.W. Kidney stones: Pathophysiology and medical management. *Lancet*, v. 367, n. 9507, p. 333-44, 2006.
18. NG, R.H.; MENON, M.; LADENSON, J.H. Collection and handling of 24-hour urine specimens for measurement of analytes related to renal calculi. *Clin Chem*, v. 30, n. 3, p. 467-71, 1984.
19. NICAR, M.J. *et al.* The preservation of urine samples for determination of renal stone risk factors. *Lab Med*, v. 18, n. 6, p. 382-4, 1987.
20. PAK, C.Y. Medical stone management: 35 years of advances. *J Urol*, v. 180, n. 3, p. 813-9, 2008.
21. PAK, C.Y.; PETERSON, R.; POINDEXTER, J.R. Adequacy of a single stone risk analysis in the medical evaluation of urolithiasis. *J Urol*, v.165, n. 2, p. 378-81, 2001.
22. PARKS, J.H. *et al.* A single 24-hour urine collection is inadequate for the medical evaluation of nephrolithiasis. *J Urol*, v. 167, n. 4, p. 1607-12, 2002.
23. ROBERTSON, W.G. Mild Hyperoxaluria: a critical review and future outlook. In: *Kidney Stones: Proceedings of the 8th European Symposium on Urolithiasis*. Parma. *Editoriale Bios*, Cosenza, Italy, p. 933, 1999.
24. SHEPARD, M.D.S.; MAZZACHI, R.D. The collection, preservation, storage and stability of urine specimens for routine clinical biochemical analysis. *Clin Biochem Rev*, v. 4, n. 1, p. 61, 1983.
25. SIMPSON, D.P. Citrate excretion: a window on renal metabolism. *Am J Physiol*, v. 244, p.223-34, 1983.
26. WANDZILAK, T.R. *et al.* Effect of high dose vitamin C on urinary oxalate levels. *J Urol*, v. 151, n. 4, p. 834-7, 1994.
27. YAGISAWA, T.; CHANDHOKE, P.S.; FAN, J. Comparison of comprehensive and limited metabolic evaluations in the treatment of patients with recurrent calcium urolithiasis. *J Urol*, v. 161, n. 5, p. 1449-52, 1999.
28. ZERWEKH, J.E. *et al.* Assay of urinary oxalate: six methodologies compared. *Clin Chem*, v. 29, n. 11, p. 1977-80, 1983.

**Endereço para correspondência**

Ita Pferman Heilberg  
 Universidade Federal de São Paulo  
 Disciplina de Nefrologia  
 Rua Botucatu, 740  
 Vila Clementino – São Paulo-SP  
 CEP: 04023-900  
 Fone: (11) 5574-6300  
 Fax: (11) 5573-9652  
 e-mail: ipheilberg@nefro.epm.br