

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y FARMACIA

COMPARACIÓN DEL METODO CONVENCIONAL CON EL METODO URISED®
PARA EL ESTUDIO DEL SEDIMENTO URINARIO EN
ENFERMEDADES RENALES CRÓNICAS

TANIA MELISSA CARDENAS MARROQUIN

QUÍMICA BIOLÓGICA

Guatemala, Mayo de 2005

I. RESUMEN

El examen general de orina es una prueba de gran importancia, ya que involucra la aplicación de los conocimientos y el empleo de recursos dentro del laboratorio para proporcionar al médico y al paciente resultados con calidad para diagnosticar las enfermedades inflamatorias más comunes del riñón. Cuando la destrucción del tejido renal es avanzada, el déficit de la función renal se traduce en el cuadro denominado insuficiencia renal crónica, que a diferencia de la destacada capacidad del riñón de recuperar su función tras lesión renal aguda, la lesión suele ser no reversible, cuando esto sucede aparecen señales en la presión arterial y otros procesos que son consecuencia de la falta de función depuradora de la sangre, que con un examen del sedimento urinario se puede llegar a un diagnóstico adecuado, siempre y cuando los elementos formes del mismo sean observados con claridad y puedan ser cuantificados de la forma estandarizada.

En el presente trabajo se comparó el método convencional de un examen de orina que consiste en centrifugar una cantidad determinada de orina, descartar el sobrenadante, colocar una gota del mismo en un portaobjetos, colocar un cubreobjetos y observar con seco débil observando células epiteliales, moco entre otros y luego para el recuento de glóbulos blancos y glóbulos rojos con el seco fuerte, con el método estandarizado URISED®, el cual consiste en utilizar tubos cónicos con un compartimiento especial para el sedimento y una medida estandarizada de orina (12 mL), una tinción supravital (Sternheimer-Malbin) para la mejor observación de los elementos formes, una cámara con medidas y círculos estandarizados para el conteo de glóbulos blancos y glóbulos rojos.

Se acudió a la Unidad Nacional de Apoyo al Enfermo Renal Crónico (UNAERC), con el fin de obtener muestras de pacientes diagnosticados con enfermedad renal crónica, se solicitó al paciente un consentimiento por escrito para obtener datos personales y además se proporcionaron recipientes adecuados para recolección de la muestra, que se trasladaron de inmediato al Laboratorio Clínico Popular (LABOCLIP), donde fueron procesadas por ambos métodos, a través de un doble ciego. Los resultados, se analizaron

estadísticamente por el método Wilcoxon, para determinar la correlación entre ambos métodos.

Los resultados del estudio indican que existe correlación de datos entre ambos métodos con respecto a elementos formes de células epiteliales, cristales del sedimento urinario de pacientes con enfermedad renal crónica, en cuanto a los demás elementos formes del sedimento urinario como lo son los leucocitos, moco y bacterias no hay correlación entre métodos, se estandarizó el recuento de leucocitos por campo de observación (40X) con el método URISED®.

II. INTRODUCCION

El examen general de orina es una prueba de gran importancia para el clínico y para el paciente mismo, sin embargo para algunos químicos, no pasa de ser una simple rutina, pero el uroanálisis es algo más que la simple impregnación de la tira y la observación del sedimento, es la aplicación de los conocimientos y el empleo de recursos dentro del laboratorio para proporcionar al médico y al paciente resultados con calidad para diagnosticar las enfermedades inflamatorias más comunes del riñón, entre las que se puede mencionar la glomerulonefritis, la pielonefritis y la nefritis intersticial.

Cuando la destrucción del tejido renal es avanzada, el déficit de la función renal se traduce en el cuadro denominado insuficiencia renal crónica, que a diferencia de la destacada capacidad del riñón de recuperar su función tras lesión renal aguda, la lesión renal de naturaleza más mantenida suele no ser reversible, y conduce a la progresiva destrucción del riñón. Cuando esto sucede aparece hipertensión arterial y otros procesos que son consecuencia de la falta de función depuradora de la sangre. En estos casos la observación adecuada del sedimento urinario, a través de un método que evidencie en forma clara los elementos formes involucrados en una patología puede proporcionar información importante cuando se pretende llegar a un diagnóstico correcto.

Este trabajo pretende comparar dos métodos ampliamente utilizados con el fin de destacar las ventajas que presenta el método URISED® entre las que se puede mencionar la utilización de una tinción supravital (Sternheimer) para una mejor diferenciación de los elementos formes difíciles de observar como lo son los glóbulos rojos y glóbulos blancos, cuenta con tubos especiales que en el momento de decantar el sobrenadante los mismos pueden ser invertidos completamente sin perder parte del sedimento, proporciona una cámara especial con 10 compartimientos para la observación de 10 muestras de una sola vez, proceso no utilizado en el método convencional.

III. ANTECEDENTES

A. Historia:

La inspección de la orina para propósitos de diagnóstico ha sido practicado por siglos y probablemente representa el procedimiento más antiguo de laboratorio usado hoy en día en la medicina moderna. Hipócrates notó que el volumen de orina debería ser proporcional a la cantidad de líquido ingerido y es un poco más espeso en consistencia, diferenció cambios en la orina debido a enfermedades del riñón (1).

Giles de Corbeil en el siglo trece usó un sistema elaborado de urianálisis que combinaba 20 colores, tres consistencias y cuatro zonas para predecir la enfermedad (2,3).

Johannes Actuarius de Constantinopla, publicó su mejor trabajo *De Urinis*, en el siglo trece, en él, relaciona el color de la orina a los humores, él fue el primero en describir hemoglobinuria paroxística. El cirujano italiano William de Saliceto notó la coincidencia de riñones contraídos y el goteo, pero no fue hasta cientos de años después que sus observaciones fueron confirmadas (2,3).

No fue hasta el crecimiento de la química, física y psicología en el siglo diecisiete que el pensamiento médico se empezó a influenciar acerca del urianálisis y fue entonces que se convirtió en una ciencia y menos un misterio. Van Helmont por ejemplo midió la gravedad específica y demostró que aumentaba durante fiebre y descendía durante poliuria. La poliuria de los diabéticos había sido observada por antiguos médicos y el sabor dulce de la orina diabética había sido observada por Sasruta, un médico hindú en 600 A.C. Sin embargo Thomas Willis aparentemente fue el primero en documentar el sabor dulce de la orina diabética en tiempos más recientes, en 1674 el mencionó que la orina en diabéticos tenía un sabor similar a la miel. En 1673 un médico holandés describió una prueba de calentamiento y ácido acético en orina que causa una forma lechosa en la orina de ciertos pacientes. El significado de esta prueba no fue entendida hasta después en 1811 donde William Wells y John Blackall notaron la coincidencia de proteinuria pero no la conectaron con enfermedad renal (2,3).

El microscopio moderno fue aplicado por primera vez al análisis de orina por Bird a mediados del siglo diecinueve, este estudio se llevaba a cabo por médicos distinguidos o bien por personas de alta sociedad educados en este estudio llamándose uroscopia y en algunos casos se llevaba a cabo por personas comunes y corrientes llamados profetas de la orina. Richard Bright quien publicó su libro sobre la orina en el cual se describían cristales y cilindros que fueron nombrados correctamente, además se describió cómo estimar la glucosa, albúmina, hemoglobina, bilis, pH y osmolaridad y fue el primero en describir correctamente el hallazgo de glóbulos rojos en pacientes con enfermedades renales crónicas (2,3).

A finales del siglo diecinueve muchos textos sobre el urianálisis fueron publicados y la medicina hoy en día aún se está beneficiando del trabajo de los químicos como Berzelius quien analizó la orina para la determinación de muchos constituyentes orgánicos también sugirió que grandes cantidades de urea en la orina comparados con la cantidad en la sangre pudiera indicar que los riñones removían la urea de la sangre. El azúcar en la orina fue identificado como glucosa en 1838, y el examen cuantitativo de Fehling fue descrito en 1848. El examen de Biuret para proteínas fue desarrollado en 1833 y Henry Bence Jones, físico-químico descubrió la proteína urinaria en 1848. Para este tiempo los textos de orina recomendaban que un examen de orina rutinario fuera realizado en cada paciente (4).

En los primeros días del siglo veinte Thomas Addis desarrolló una técnica para el análisis cuantitativo del sedimento urinario. Por lo cual el análisis de orina rutinario cambió poco en concepto, pero cualitativamente se hizo mas fácil el uso de tabletas de celulosa impregnados con reactivos, por lo cual se aumentó el número de pruebas cuantitativas todas en precisión así como en número (4).

B. Generalidades

La orina es un líquido excretado por los riñones a través de las vías urinarias, con el cual se eliminan sustancias innecesarias para el organismo. Desempeña un papel importante en la regulación del balance de líquidos y electrolitos y del equilibrio entre

ácidos y bases. En las personas sanas es clara y de color amarillo. La cantidad de orina producida diariamente es de 1 a 1,5 litros, valor que aumenta si se ingieren muchos líquidos y disminuye en caso de sudoración intensa o en casos contrarios una patología entre las cuales se puede mencionar la nefritis, denominación común para los procesos inflamatorios del riñón. Existen varias formas de nefritis, las más habituales son la glomerulonefritis y, en menor medida, la pielonefritis y la nefritis tubulointersticial (5).

C. Anatomía del riñón

1. Anatomía macroscópica. Los riñones son órganos pares situados en la pared posterior del abdomen a ambos lados de la columna vertebral. Debajo de la cápsula de tejido fibroso que incluye los riñones se ubica la corteza, que contiene los glomérulos. La porción interna del riñón, la médula, contiene los tubos colectores. La pelvis renal disminuye rápidamente su calibre y se une dentro del uréter. Cada uréter desciende al abdomen al costado de la columna vertebral para unirse en la vejiga. La vejiga provee un almacenamiento temporal de orina, que es eventualmente vertida a través de la uretra al exterior (5).

2. Anatomía microscópica. Cada riñón está constituido por aproximadamente 1 millón de unidades funcionales, o nefronas. La nefrona comienza con el glomérulo, que es un penacho de capilares que se forman desde la arteriola aferente (entrada) y son drenados por la arteriola eferente de menor tamaño (salida). El glomérulo está rodeado por la cápsula de Bowman, la cual está formada por la porción final dilatada ciega del túbulo renal. El túbulo contorneado proximal recorre un curso tortuoso a través de la corteza, entrando en la médula y formando primero la rama descendente del asa de Henle y luego la rama ascendente del asa de Henle. La sección gruesa de la rama ascendente del asa de Henle vuelve a entrar en la corteza, formando el túbulo contorneado distal. La salida de dos o más túbulos distales marca el comienzo de un túbulo colector. Como los túbulos colectores descienden a través de la corteza y médula, reciben el efluente de una docena o más túbulos distales. Los túbulos colectores se unen y aumentan su tamaño así como pasan hacia abajo en la médula. Los túbulos de cada pirámide se unen para formar un

túbulo central, el cual vacía a través de la papila en unos cálices menores, eventualmente evacuando en la pelvis renal (5,6).

D. Fisiología Renal

El riñón es el principal regulador de todos los fluidos corporales y es primariamente responsable de mantener la homeostasis, o equilibrio entre fluido y electrolitos en el organismo. El riñón tiene seis funciones principales:

1. Formación de la orina
2. Regulación del equilibrio hidroelectrolítico
3. Regulación del equilibrio ácido-base
4. Excreción de los productos de desecho del metabolismo proteico
5. Función hormonal
6. Conservación proteica

El riñón es capaz de efectuar estas funciones complejas porque aproximadamente el 25% del volumen de sangre bombeado por el corazón en la circulación sistémica circula a través de los riñones; por lo tanto los riñones, que constituyen cerca del 0.5% del peso total del cuerpo, reciben un cuarto de la salida cardiaca (6-8).

E. Formación de la Orina

La función principal de los riñones es la remoción de productos potencialmente tóxicos y es realizada mediante la formación de la orina. Los procesos básicos involucrados en la formación de la orina son filtración, reabsorción y secreción. Los riñones filtran grandes volúmenes de plasma, reabsorben la mayoría de lo que es filtrado, y queda para la eliminación una solución concentrada de desechos metabólicos llamada orina (8).

1. Filtración Glomerular. Por los riñones pasan entre 1000 y 1500 mL de sangre por minuto. El glomérulo tiene una membrana basal semipermeable que permite el libre pasaje de agua y electrolitos pero es relativamente impermeable a moléculas grandes. En los capilares glomerulares la presión hidrostática es aproximadamente tres veces mayor que la presión en otros capilares. Como resultado de esta gran presión, las sustancias son filtradas a través de la membrana semipermeable en la cápsula de Bowman a una velocidad aproximada de 130 ml/min; esto es conocido como la velocidad de filtración glomerular (IFG). Las células y proteínas plasmáticas de gran peso molecular son incapaces de pasar a través de la membrana semipermeable. Por lo tanto el filtrado glomerular es esencialmente plasma sin las proteínas. La IFG es un parámetro extremadamente importante en el estudio de la fisiología renal y en la evaluación clínica de la función renal. En una persona promedio sana, se forman por día más de 187,000 mL de filtrado. La excreción normal de orina es alrededor de 1500 mL por día, lo cual es solamente cerca del 1% de la cantidad de filtrado formado; por lo tanto el otro 99% debe ser reabsorbido (9,10).

2. Túbulo proximal. Las células del túbulo proximal desempeñan una variedad de roles fisiológicos. Aproximadamente un 80% de la sal y el agua son reabsorbidos desde el filtrado glomerular en el túbulo proximal. Toda la glucosa filtrada y la mayoría de los aminoácidos filtrados son normalmente reabsorbidos aquí. Las proteínas de bajo peso molecular, urea, ácido úrico, bicarbonato, fosfato, cloruro, potasio, magnesio, y calcio son reabsorbidos en grado variable. Una variedad de ácidos orgánicos y bases, así como también iones hidrógeno y amoníaco, se secretan en el fluido tubular por las células tubulares. En condiciones normales, la glucosa no es excretada en la orina; todo lo que filtra se reabsorbe. Cuando la concentración plasmática de glucosa esta aumentada por encima de un nivel crítico, llamado el umbral plasmático renal, el máximo tubular para la glucosa es excedido y la glucosa aparece en la orina. Cuanto mayor es la concentración de glucosa plasmática, mayor es la cantidad excretada por la orina. También existen umbrales renales plasmáticos para los iones fosfato y bicarbonato. (11-13).

La mayoría de la energía metabólica consumida por el riñón es usada para promover la reabsorción activa. La reabsorción activa puede producir el movimiento neto

de una sustancia contra un gradiente de concentración o eléctrico y por lo tanto requiere gasto de energía para el transporte de células. La reabsorción activa de glucosa, aminoácidos, proteínas de bajo peso molecular, ácido úrico, sodio, potasio, magnesio, calcio, cloruro, y bicarbonato está regulada por el riñón de acuerdo a los niveles de estas sustancias en la sangre y la necesidad del organismo. La reabsorción pasiva ocurre cuando una sustancia se mueve por difusión simple como el resultado del gradiente de concentración químico o eléctrico, y no se involucra energía celular en el proceso. El agua, urea, y cloruro son reabsorbidos de esta forma (14,15).

3. Asa de Henle. La rama descendente del asa de Henle es altamente permeable al agua. En la médula, el asa de Henle desciende en un medio progresivamente hipertónico a medida que se aproxima a la papila. Hay una reabsorción pasiva de agua en respuesta a este gradiente osmótico, dejando la presunta orina altamente concentrada en el fondo del asa. La rama ascendente es relativamente impermeable al pasaje de agua pero reabsorbe activamente sodio y cloruro. Este segmento de la nefrona es a menudo llamado el segmento dilutorio porque la remoción de la sal con pequeño pasaje de agua desde el contenido tubular disminuye la sal y la concentración osmótica, diluyendo en efecto el fluido tubular. La rama gruesa ascendente del asa de Henle transfiere cloruro de sodio activamente desde su luz hacia el fluido intersticial. El fluido tubular en su luz se vuelve hipotónico, y el fluido intersticial hipertónico. Este fenómeno es conocido como el mecanismo de contracorriente. Una serie de mecanismos sucesivos producen la captación de cloruro de sodio en el líquido intersticial medular. A medida que el fluido isotónico en la rama descendente alcanza el área en la cual la rama ascendente está bombeando sodio, se vuelve ligeramente hipertónico debido al movimiento de agua al intersticio hipertónico. El primer paso se repite, y nuevamente, a medida que se agrega más cloruro de sodio al intersticio por la rama ascendente, se produce una mayor salida de agua de la rama descendente (15,16).

4. Túbulo contorneado distal. Una pequeña fracción de sodio, cloruro, y agua filtrado es reabsorbida en el túbulo distal. El túbulo distal responde a la hormona antidiurética (HAD), y por lo tanto su permeabilidad al agua es alta en presencia de la hormona y baja en su ausencia. El potasio puede ser reabsorbido o segregado en el túbulo distal. La

Aldosterona estimula la reabsorción de sodio y la secreción de potasio en el túbulo distal. También ocurre la secreción de hidrógeno, amoníaco, y ácido úrico y la reabsorción de bicarbonato, pero hay un pequeño transporte de sustancias orgánicas. Este segmento de la nefrona tiene una baja permeabilidad a la urea (17).

5. Túbulo colector. La HAD controla la permeabilidad del agua del túbulo colector a lo largo de su longitud. En la presencia de la hormona, el fluido tubular hipotónico entra al túbulo perdiendo agua. El sodio y cloruro son reabsorbidos por el túbulo colector, con el transporte de sodio estimulado por la aldosterona. El potasio, hidrógeno, y amonio son también reabsorbidos por el túbulo colector. Cuando la HAD está presente, la velocidad de reabsorción de agua excede la velocidad de reabsorción de soluto, y la concentración de sodio y cloruro aumenta en la presunta orina. El túbulo colector es relativamente impermeable a la urea (18-20).

F. Sedimento urinario

El sedimento normal se halla prácticamente vacío, aunque en ocasiones pueden observarse células de la vía urinaria e incluso de los genitales externos, así como eritrocitos o leucocitos aislados, cristales, sales amorfas o filamentos de moco, resultando el resto de los elementos de probable origen patológico. Los componentes patológicos que se observan más a menudo son bastante inespecíficos y se evidencian en diversas enfermedades de la vía urinaria (21,22).

1. Eritrocitos. Los eritrocitos se eliminan en forma muy reducida en la orina, incluso en personas normales, con aumento 400x, se puede observar aproximadamente 0 a 2 hematíes por campo. Éstos se identifican al examen microscópico como discos redondos de color débilmente amarillo rojizo, con doble contorno. En las orinas hipotónicas se hinchan y en las hipertónicas se arrugan. La morfología de los hematíes puede revelar el origen glomerular o post glomerular de la hematuria (23). Elementos que apoyan la sospecha de una hematuria de origen glomerular son la presencia simultánea de cilindros eritrocitarios, granulados, hialinos (24).

2. Leucocitos Cuando se habla de leucocitos casi siempre se habla de granulocitos, y estos indican la presencia de procesos inflamatorios del riñón y la vía urinaria. Al examinar un sedimento urinario de una persona sana, pueden detectarse hasta 5 leucocitos por campo de 400x, sin que esto tenga significado patológico. Son células de tamaño mayor a los hematíes y menor a las células epiteliales, con presencia de núcleo segmentado y granulaciones. En la mujer debe tenerse en cuenta que los leucocitos hallados pueden ser de origen vaginal, sobre todo si se acompañan de una gran cantidad de células de epitelio plano, por lo que el estudio de la orina de chorro medio puede ser de gran valor para aclarar esta cuestión. Si además de la leucocituria se evidenciaran cilindros leucocitarios procedentes de los túbulos, el origen sería renal y el diagnóstico pielonefritis (24,25).

3. Epitelio. Los elementos epiteliales son frecuentes en el sedimento urinario y su valor diagnóstico muy reducido. Existen diversos tipos de epitelio:

a) Epitelio plano: Procede de los genitales externos o de la porción inferior de la uretra. Se trata de grandes células de aspecto irregular con un núcleo pequeño y redondo, pudiendo observarse en forma frecuente un repliegue parcial en el borde celular (26).

b) Epitelio de transición: Tiene su origen desde la pelvis renal, uréter y vejiga, hasta la uretra. Su presencia acompañada de leucocituria puede indicar una inflamación de la vía urinaria descendente. En caso de apreciar anomalías nucleares deberá descartarse un proceso maligno. Estas células son más pequeñas que las del epitelio plano, son redondeadas con "cola" y su núcleo es más grande y redondo (26).

c) Epitelio tubular o renal: Son células algo mayores que los leucocitos y presentan granulaciones. Su núcleo, de difícil visualización es grande y redondo. Las células de epitelio tubular que contienen gotas de grasa muy refringentes en el protoplasma, se conocen como células granulosas o cuerpos ovales grasos y su presencia sugiere la existencia de un Síndrome Nefrótico (26).

4. Cilindros. La presencia de cilindros indica casi siempre la presencia de una enfermedad renal, aunque la evidencia de alguno de ellos (hialinos y granulosos) pueden encontrarse en personas sanas tras grandes esfuerzos físicos (27-29).

Existen diversos tipos de cilindros:

a) Cilindros hialinos: Están compuestos por una proteína de alto peso molecular (mucoproteína de Tamm-Horsfall) que se produce y elimina en cantidades muy pequeñas en condiciones normales. Estos cilindros son homogéneos, incoloros, transparentes y poco refringentes, por lo que son fáciles de omitir. Pueden aparecer en forma aislada en personas sanas o tras la administración de diuréticos potentes como la furosemina, sin embargo su número aumenta drásticamente durante el curso de un síndrome nefrótico. No es raro detectar cilindros hialinos con inclusiones celulares (eritrocitos, leucocitos, epitelio tubular), lo que determina la presencia de enfermedad del parénquima renal (30-32).

b) Cilindros granulosos: Ocasionalmente pueden aparecer en personas sanas, aunque su presencia se relaciona con enfermedades agudas y crónicas del riñón. Suelen ser más grandes que los hialinos y presentar inclusiones granulares. No es raro observar una mezcla de cilindros hialinos y granulosos (30-32).

c) Cilindro céreos: Suelen ser más anchos que los hialinos, muestran un refringencia mucho mayor y no son fáciles de omitir. Presenta muescas o hendiduras finas en sus bordes, que dirigen perpendicularmente al eje longitudinal del cilindro. Su presencia indica siempre una enfermedad renal crónica grave en un paciente con insuficiencia renal crónica avanzada, pero en ocasiones puede observarse en la fase de recuperación de la diuresis luego de un periodo de anuria (30-32).

d) Cilindros epiteliales: Están compuestos de epitelio tubular descamado. Su presencia se aprecia especialmente en la fase de recuperación de la diuresis luego de una falla renal aguda por necrosis tubular isquémica o tóxica. Son poco frecuentes (30-32).

e) Cilindros eritrocitarios: Se componen de eritrocitos hinchados que se adhieren a una sustancia fundamental hialina. Indican siempre el origen renal de la hematuria y por consiguiente se trata de un hallazgo muy valioso. Aparecen fundamentalmente en la Glomerulonefritis aguda y crónica y también en la Nefropatía lúpica, endocarditis bacteriana asociada a Glomerulonefritis (30-32).

f) Cilindro leucocitario: Se producen cuando ocurre una exudación intensa de leucocitos y al mismo tiempo se eliminan proteínas por el túbulo. Su presencia tiene fundamental importancia ya que demuestra que la inflamación es de origen renal, casi siempre, a causa de una pielonefritis (30-32).

5. Cristales. Los cristales pueden adoptar múltiples formas que dependen del compuesto químico y del pH del medio. En comparación con otros elementos de la orina, los cristales sólo poseen valor diagnóstica en muy pocos casos (33,34).

a) Uratos: Se encuentran en forma amorfa en orinas ácidas o conformando un cilindro, lo que puede llevar a confusión. Cuando se eliminan en grandes cantidades, se reconocen macroscópicamente como un precipitado rojo-pardo (polvo de ladrillo) (33,34).

b) Urato diamónico: Aparece en orinas ligeramente alcalinas como pequeñas esferas de color amarillo pardo. No tiene ningún significado diagnóstico especial (33,34).

c) Ácido úrico: En la orina ácida pueden adoptar múltiples forma. Son frecuentes en orinas concentradas, como ocurre en la fiebre, en la gota y en la lisis tumoral (33,34).

d) Oxalato de calcio: Es incoloro y muy birrefringente. Es característica su forma en sobre de carta. Se producen con gran frecuencia luego de la ingesta de alimentos ricos en oxalato (33,34).

e) Cistina: Se detectan en orinas ácidas como cuadros hexagonales incoloros. Se observan en la cistinuria, trastorno congénito de la reabsorción tubular de cistina (34-36).

F. Infección urinaria

Infección urinaria se define como la invasión y multiplicación de microorganismos a lo largo del tracto urinario, acompañadas o no de síntomas y signos, o de compromiso de la función renal. La mayoría de las infecciones del tracto urinario son causadas por bacterias, aunque ocasionalmente pueden estar implicados hongos y virus. Las infecciones del tracto urinario pueden ser primarias (no complicadas) y secundarias (complicadas), estas últimas asociadas a anomalías anatómicas del tracto urinario que pueden ser *obstructivas* (valvas uretrales, cuerpos extraños, cálculos y divertículos) y *no obstructivas*, como el reflujo uretral. De acuerdo con su localización, la infección del tracto urinario puede dividirse en infección urinaria alta (pielonefritis), e infección urinaria baja (cistitis), cuando está limitada a la vejiga (38-39).

Es la enfermedad más común del riñón y de las vías urinarias con una tasa de ocurrencia que oscila entre 0,3 y 7,8%, dependiendo de la edad, el sexo y las características de la población estudiada. La mayoría de las infecciones del tracto urinario son debidas a bacilos gram negativo (Enterobacterias) de los cuales la mayor frecuencia corresponde a *E. coli*, que son los responsables de más del 80% de las infecciones primarias y del 75% de las recurrencias. El grupo de *Klebsiella* representa del 10 al 15% y *Proteus*, *Enterococos*, *Staphylococos* y especies de *Pseudomonas* para los casos restantes (38,39).

G. Patologías del tracto urinario

1. Insuficiencia Renal Crónica, (IRC) es la pérdida funcional e irreversible de nefronas como consecuencia de la evolución de las nefropatías crónicas. Desde un punto de vista fisiopatológico, podemos decir que en IRC hay una pérdida progresiva e irreversible de la elasticidad y velocidad que tiene el riñón para regular el medio interno. Dicho de otra forma, a medida que progresa la IRC se va produciendo una progresiva homeostenosis por la pérdida de elasticidad y velocidad con el que el riñón regula el medio interno, hasta que ésta es tan estrecha que no es compatible con la vida. Un excelente ejemplo está dado por la progresiva pérdida de la capacidad para concentrar y diluir la orina. A diferencia de la destacada capacidad del riñón de recuperar su función tras lesión renal aguda, la lesión

renal de naturaleza mas mantenida suele no ser reversible sino que conduce a la progresiva destrucción de la masa de nefronas. A pesar del tratamiento con éxito de la hipertensión de la obstrucción e infección de las vías urinarias y de las enfermedades sistémicas, muchas formas de lesión renal progresan inevitablemente hacia una insuficiencia renal crónica (IRC). La reducción de la masa renal produce hipertrofia estructural y funcional de las nefronas que quedan. Esta hipertrofia compensadora se debe a la hiperfiltración adaptativa mediada por aumentos de las presiones y flujos capilares glomerulares. Estas adaptaciones terminan por demostrar que son una mala adaptación dado que predisponen a la esclerosis glómerular un aumento de la carga funcional sobre los glomérulos menos afectados que a su vez conducen a su destrucción (40).

2. Pielonefritis, es la infección de las vías urinarias altas que incluye a la pelvis y al parénquima renal. Se considera que existe infección de las vías urinarias cuando existen microorganismos patógenos que invaden la orina. La pielonefritis puede ser aguda o crónica. La primera se origina, generalmente, como consecuencia de una infección que asciende desde el tracto urinario inferior hasta el riñón; la pielonefritis crónica se produce cuando la infección se desarrolla más lentamente y, a veces, acaba desencadenando una insuficiencia renal crónica (40,41).

3. Pielonefritis aguda, los síntomas suelen aparecer en las primeras 24 horas; cursa con fiebre alta, escalofríos, náuseas y vómitos. En la orina de estos pacientes se puede observar la presencia de leucocitos, sangre y bacterias, que se ponen de manifiesto mediante distintos métodos de tinción. Organismos coliformes son los causantes mas comunes de este tipo de infección. Esta enfermedad se puede encontrar en niños, especialmente en niñas y es relativamente común en embarazos. A veces este tipo de enfermedad se asocia a algún tipo de malformación anatómica de las vías urinarias, como una estenosis a nivel uretral, o a la presencia de un cálculo renal o en vías urinarias que facilita el estancamiento de la orina y el consiguiente crecimiento bacteriano (42).

4. Pielonefritis crónica, Es una inflamación predominantemente intersticial con destrucción del tejido renal y signos de organización, con fibrosis, retracción, deformación pielocalicilar y depresiones corticales irregulares. En un comienzo existe infiltración celular linfoplasmocitaria, luego se producen glomérulo esclerosis, atrofia de túbulo con material coloideo (cilindros hialinos) y esclerosis vascular.

a) Los factores predisponentes son:

i) Reflujo: Que se produce cuando la orina vesical ingresa de nuevo al lumen uretral, de manera que la válvula vésico-uretral es sobrepasada en sentido ascendente. Puede ser de diferente magnitud según el grado de la deformación de la vía urinaria. Causa del reflujo es la estasia urinaria, que a su vez puede deberse a malformaciones o lesiones obstructivas adquiridas. Se denomina nefropatía por reflujo a la lesión córtico-medular renal resultante del mecanismo de reflujo, la que corresponde a una hidroureteronefrosis frecuentemente con pielonefritis crónica.

ii) Obstrucciones: Se deben a malformaciones o a lesiones adquiridas, ya sean estas últimas intrínsecas, como litiasis o tumores, o extrínsecas, como cicatrices, hiperplasia nodular de la próstata o tumores.

iii) Inmunodepresión: Ocurre en el SIDA y en tratamientos con drogas inmunosupresoras. En estos casos son frecuentes las infecciones por hongos (*Candida, Toluopsis, Criptococcus, Aspergillus, Mucor, Histoplasma, Blastomyces, Nocardia, Actinomyces*).

iv) Factores quirúrgicos: Diversos tipos de intervenciones quirúrgicas de la vía urinaria riñones y órganos vecinos predisponen a infecciones urinarias, asimismo la introducción de sondas en la vía urinaria. Vías de propagación a los riñones. Las vías por las que los agentes infecciosos pueden alcanzar los riñones son: Ascendente, Hematógena, Linfática, Directa o por continuidad (43,44) s frecuentes son el *Proteus*, *Enterococcus, Pseudomona, Staphylococcus*, y entre los hongos, los del género *Candida* (45-47).

b) Etiología: Los microorganismos que participan en la primera infección de la vía urinaria generalmente pertenecen al grupo coliforme: *Escherichia coli*, en el 50 a 90% de los casos; menos frecuentemente se trata de *Enterobacter*, *Klebsiella*, *Pseudomona*, *Proteus*. En cambio, en las infecciones recurrentes o en las pielonefritis crónicas los más frecuentes son el *Proteus*, *Enterococcus*, *Pseudomona*, *Staphylococcus*, y entre los hongos, los del género *Candida* (45-47).

c) Curso de la pielonefritis crónica: Curación con cicatrices de extensión variable. Cuando son muy grandes, se produce el riñón retraído pielonefrítico. Las cicatrices pueden tener las mismas complicaciones que las de la pielonefritis aguda. Extensión en la misma forma que la de la pielonefritis aguda, manutención por persistencia de factores predisponentes o de microorganismos resistentes al tratamiento. La pielonefritis crónica puede llevar a la insuficiencia renal (47).

d) Diagnóstico de la pielonefritis crónica: Este diagnóstico no se puede llevar a cabo tan fácilmente, aun en autopsias. El sedimento urinario puede contener intermitentemente leucocitos, células epiteliales y cilindros leucocitarios y bacterias, glóbulos rojos y cilindros de glóbulos rojos son encontrados no tan frecuentemente. El hallazgo de leucocitos anormalmente grandes es un signo característico de esta patología cuando se proporciona una orina hipotónica. En la mayoría de los casos el diagnóstico se hace a través de los hallazgos de la historia clínica, los hallazgos en el sedimento urinario y hallazgos radiográficos además a través de un biopsia renal (47,48).

5. Glomerulonefritis. Es un tipo de enfermedad renal causada por inflamación de las estructuras internas del riñón (glomérulos) (49).

a) Causas y factores de riesgo. La glomerulonefritis puede ser una condición temporal y reversible o puede ser progresiva. Esta última puede ocasionar la destrucción de los glomérulos del riñón e insuficiencia renal crónica y enfermedad renal en estado terminal.

La enfermedad puede ser causada por problemas específicos con el sistema inmune del cuerpo, pero se desconoce la causa exacta en la mayoría de los casos. El daño de los glomérulos con la sub-secuente filtración ineficiente ocasiona la pérdida de sangre y de proteínas en la orina. Dado que los síntomas se desarrollan gradualmente, el trastorno se puede descubrir cuando al realizar un examen físico de rutina o en un examen para otro fin, el análisis de orina resulta anormal. Esta enfermedad puede causar hipertensión y puede ser descubierta únicamente como causa de una hipertensión que es difícil de controlar. Esta condición se puede desarrollar después de sobrevivir a la fase aguda de la glomerulonefritis rápidamente progresiva. En de una cuarta parte de las personas con glomerulonefritis crónica, no hay antecedentes previos de enfermedad renal y la enfermedad aparece primero como insuficiencia renal crónica (49).

b) Síntomas

- Sangre en la orina (orina oscura, de color rojizo o café)
- Orina espumosa

Los síntomas de la insuficiencia renal crónica que se desarrollan gradualmente pueden ser:

- Pérdida de peso (involuntaria)
- Náuseas, vómitos
- Sensación de malestar general (malestar)
- Fatiga
- Dolor de cabeza
- Prurito generalizado
- Necesidad de orinar en la noche (nicturia) (49,50).

c) Signos y exámenes Se puede presentar presión sanguínea alta con un análisis de orina anormal. Los exámenes de laboratorio pueden revelar anemia o indicar disminución de la función renal, incluyendo azotemia (acumulación de desechos nitrogenados tales como la creatinina y la urea). Posteriormente, se pueden evidenciar signos de insuficiencia renal crónica como edema y signos de sobrecarga de líquidos que incluyen ruidos anormales del corazón y de los pulmones. Un análisis de la orina puede mostrar sangre, cilindros,

proteínas o alguna otra anomalía. Los hallazgos de un ultrasonido abdominal o renal, de una gammagrafía abdominal o renal o de una PIV (pielografía intravenosa) no son específicos. Una radiografía de tórax puede mostrar sobrecarga de líquidos. Una biopsia del riñón puede mostrar una de las formas de glomerulonefritis crónica o cicatrización inespecífica de los glomérulos (50).

H. Recuento de Addis

Consiste en contar los elementos figurados eritrocitos, leucocitos, células epiteliales y cilindros y las proteínas de la orina de 12 horas. Una elevación de cifras de estos componentes indica alteraciones patológicas. Pero esta prueba, si bien es útil para vigilar la evolución de un proceso patológico, es difícil de realizar y no forma parte del análisis general de orina en los laboratorios de los hospitales (51).

Metodología:

- Se recoge una muestra de orina de 12 horas y se mide su volumen
- Se mezcla bien la muestra y se colocan 10 mililitros en un tubo de centrifugación graduado
- Se centrifuga a 2,000 rpm durante 5 minutos se decanta el líquido sobrenadante y se suspende el sedimento en solución de cloruro de sodio al 0.9% por 100 p-v
- Se mezcla cuidadosamente el sedimento con pipeta pasteur y se llenan ambos lados de una cámara de Neubauer se deja que el sedimento asiente, se cuentan los cilindros, glóbulos rojos, glóbulos blancos y células epiteliales separadamente en la totalidad de la cuadrícula de ambas cámaras
- Se repite la maniobra 4 veces haciendo un total de 10 recuentos. Cada cuadrícula tiene superficie de 9 mm^2 y la profundidad de la cámara es de 0.1 mm, su volumen es por lo tanto $9 \text{ mm}^2 \times 0.1 \text{ mm} = 0.9 \text{ mm}^3 \times 10 = 9.0 \text{ mm}^3$ (51).

Cálculo:

Si V es el volumen de la orina de 24 horas en mililitros

S es el volumen del sedimento de los 10 mililitros

N es el número de células o cilindros encontrados

N es el número de cilindros o células en la orina de 24 horas

$$N = \frac{S}{0.009 \text{ ml}} \times S \times \frac{V}{10}$$

Cifras normales:

Cilindros de 0 a 4270 en 24 horas

Glóbulos rojos de 0 a 425,000 en 24 horas

Leucocitos y células epiteliales hasta 2,250,000 en 24 horas (51).

I. Tinciones

Técnica de tinción , los exámenes microscópicos de preparados coloreados son importantes para identificar microorganismos y distinguir los tipos de células uroteliales. Además de la tinción ordinaria con Papanicolaou, en análisis de orina se emplean diversos tipos de coloraciones supravitales (52).

1.Tinción de Sternheimer-Malbin, esta solución colorante que se uso primero para diagnosticar pielonefritis, ha resultado ser muy útil para distinguir diversos tipos de células uroteliales. Existe una solución comercial de constituyentes similares a los de la solución de Sternheimer-Malbin siendo esta muy práctica ya que se mezclan bien bajo un cubreobjetos una gota de sedimento urinario y una gota de solución depositada lado a lado. Siendo esta tinción la de mayor empleo sus constituyentes son cristal violeta y safranina O, la observación microscópica se puede hacer pocos minutos después ya que la tinción se acentúa en forma gradual, los glóbulos rojos, glóbulos blancos y células epiteliales adquieren una coloración difusa por desvitalización, proporcionando una delineación mas definida de la estructura y contrastando los colores del núcleo y citoplasma (52).

2.Tinción de peroxidasa de Kaye, modificada por Lampen: permite reconocer cilindros leucocitarios (52).

3. Tinción de la grasa con Sudán III, identifica la grasa contenida en células o cilindros. Tinción con lugol: para la identificación de leucocitos (52).

4. Tinción de Eosina, tiñe eritrocitos de color rosa. Doble tinción con eosina y azul de metileno: otorga color rojizo a los hematíes y cilindros eritrocitarios, diferenciándolo del color azul que toman otros elementos (52).

5. Tinción eosinofílica de Hansel, para la detección de eosinofilia, hallazgo característico de la nefritis intersticial aguda inducida por medicamentos (52).

6. Tinción con yodo, la reacción del yodo sirve para identificar células ricas en glicógeno y contaminantes vegetales; el contenido de glicógeno de las células uroteliales reflejan alteraciones citohormonales en las mujeres que están en edad de procrear (52).

7. Tinción de Perls, cuando existe una pérdida de sangre por la orina esta puede ser debida a una hematuria o a una hemoglobinuria (52).

J. Método URISED®

El método URISED® es un método que a diferencia del método convencional posee la ventaja de contar con tubos de fondo cónico con un área especial en el que se concentra una cantidad estandarizada de sedimento en todas las muestras no importando la cantidad de mililitros adicionados, estos tubos se invierten completamente por treinta segundos para obtener la cantidad exacta de sedimento urinario, además de esto posee una tinción supravital que es la de Sternheimer-Malbin que evidencia en forma clara todos los elementos formes de la orina, como lo son glóbulos blancos observándose sus núcleos de coloración púrpura y el citoplasma de color de un tono más clara, glóbulos rojos de color neutra a rosa a morado, células epiteliales de color rosado, cilindros de color rosa a morado, bacterias que se encuentran móviles no se tiñen pero las inmóviles de color púrpura oscuro, el moco de color rosa a azul pálido, otro elemento adicional es el modo

de adicionar la cantidad de sedimento urinario ya que cuenta con tips para adicionar 50 ul de la muestra en cámaras especiales que poseen 9 círculos para estandarizar el área de contado de los elementos formes de la orina. Una ventaja adicional es que después de preparadas las muestras se pueden dejar reposar por un término de una hora sin que las mismas se sequen. Este método permite estandarizar el estudio del sedimento urinario (53).

IV. JUSTIFICACION

Las innovaciones en el Laboratorio clínico han sido amplias y la mayoría de las áreas han sido estandarizadas, sin embargo el área de urianalisis ha experimentado muy poco, o casi ningún cambio ya que no se han implementado métodos estandarizados que permita la identificación de los elementos formes de la orina. El método comúnmente utilizado posee una variedad de factores que pudieran alterar los resultados obtenidos, como por ejemplo, el uso de tubos de vidrio, que facilita a las células y otros elementos formes de la orina adherirse a las paredes, el no utilizar tubos cónicos permitiendo que al momento de decantar el sobrenadante se pierda parte del sedimento, el volumen de orina utilizado no siempre representa la cantidad correcta y al adicionarse mas mililitros aumenta la cantidad de elementos formes y viceversa. Otro factor muy importante es la presencia de elementos formes difíciles de observar como lo son los eritrocitos fantasmas, leucocitos y la mayoría de cilindros que al momento de su identificación y cuantificación pueden proporcionar información importante para el diagnóstico de una patología relacionada.

Es necesario que todos los laboratorios puedan intercambiar datos con métodos que estén estandarizados, que sean accesibles, fáciles de utilizar por el evaluador y que lo observado sea lo mismo para un observador que para otro en un laboratorio distinto, esto con el fin de poder proporcionar al médico tratante una herramienta de alta confiabilidad para llegar a un diagnóstico certero, por lo cual se pretende evaluar dos métodos de urianalisis, el método convencional porta-cubre objetos que es ampliamente utilizado, pero presenta desventajas como la pérdida de sedimento urinario al decantar el sobrenadante, la cantidad de muestra aplicada al cubreobjetos no está cuantificada por lo cual se pueden adicionar menos elementos formes al colocar una gota muy pequeña o viceversa, y el método URISED® que utiliza una tinción supravital cámaras con compartimientos especiales para el recuento de glóbulos rojos y blancos, cantidad de muestra cuantificada, etc.

Se utilizarán pacientes con enfermedades renales crónicas ya que estos pacientes presentan una variedad de elementos formes que no se encuentran comúnmente en pacientes ambulatorios y esto permitirá una mejor evaluación de ambos métodos.

V. Objetivos

General:

1. Comparar el método convencional de urianálisis con el método URISED® en pacientes con enfermedades renales crónicas para mejorar el diagnóstico.

Específicos:

1. Evaluar la tinción supravital al observar microscópicamente los elementos formes del sedimento urinario.
2. Determinar si existe correlación entre ambos métodos para los elementos formes del sedimento urinario.
3. Proporcionar una alternativa al método convencional con el método URISED® en las instituciones donde se diagnostican enfermedades renales.

VI. Hipótesis

El método URISED® permite una clara diferenciación de los elementos formes de la orina en muestras de pacientes con enfermedades renales crónicas, en comparación con el método convencional.

VII. Materiales y Métodos

A. Universo y Muestra

1. Universo de Trabajo

Pacientes adultos, de ambos sexos, que acudieron a Unidad Nacional de Ayuda a enfermos Renales (UNAERC).

2. Criterios de Inclusión

Ser paciente de la Institución

Presentarse a la institución con cita previa

Padecer de algún tipo de enfermedad renal crónica diagnosticada

Obtener la primera orina de la mañana

No estar tomando medicamentos

3. Muestra

Todos los pacientes que cumplan con los criterios de inclusión, que asistan a UNAERC y deseen participar en el estudio.

B. Recursos

1. Humanos

Licenciada Alba Marina Valdés de García Asesora

Licenciada Claudia Patricia Aldana Acajabón Co-Asesora

Tania Melissa Cárdenas Investigadora

2. Físicos

- kit URISED®
- porta objetos, cubre objetos
- microscopio
- centrifuga
- tubos cónicos convencionales
- descartadores
- hoja de consentimiento, hoja de entrevistas
- hojas de resultados

4. Institucional

- UNAERC (Unidad Nacional de Apoyo a Enfermos Renales Crónicos).
- LABOCLIP (Laboratorio Clínico Popular de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia)

C. Metodología

1. Obtención de la Muestra

- a) De forma verbal se pidió la colaboración con el estudio a las personas que se presentaron a la Institución, para lo cual se llenó un consentimiento y una hoja de datos. (Anexo 1)
- b) Se entregó un recipiente previamente identificado para la recolección de la muestra.
- c) Se colectaron todas las muestras del día en recipiente adecuado y fueron transportados al laboratorio donde fueron procesadas (LABOCLIP).

2. Procesamiento de Muestras

- a) Se dividió la muestra en dos para ser procesado con el método convencional y el método URISED®.
- b) Se observó la muestra a través de un doble ciego, el método convencional se observó por la Licenciada encargada del área de urianálisis del laboratorio, y el método URISED® por el investigador.
- c) Se anotaron los resultados de ambas observaciones y luego se analizaron los datos a través del método estadístico de Wilcoxon proporcionado por el departamento de estadística de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia.

2.Métodos

a) Convencional:

- i. Se llenaron los tubos cónicos con 12 ml de orina,
- ii. Se centrifugó por 5 minutos a 2,500 rpm,
- iii. Se descartó el sobrenadante,
- iv. Introducir una pajilla y se mezcló nuevamente el sedimento
- v. Se colocó una gota en el porta objetos cubriéndola con un cubre objetos,
- vi. Se observó con seco débil (10X), anotando lo observado (células epiteliales, moco, etc.)
- vii. Se procedió a observar en seco fuerte (40X), anotando lo observado (eritrocitos, leucocitos, etc.) por campo.

b) URISED®:

- i. Método de centrifugación: Se adicionaron 12 ml de orina, o bien 10 ml en los tubos URISED®
 - ii. Se cerraron los tubos y centrifugaron por 5 minutos a 2000rpm
 - iii. Se descartó el sobrenadante por inversión
 - iv. Se dejaron los tubos boca abajo por 30 segundos, sobre papel mayordomo absorbente, se regresaron los tubos a su posición.
-
- i. Tinción: se adicionó una gota de colorante (Sterheimer-Malbin)
 - ii Se espero 1 minuto
 - iii Se mezcló bien con pipeta de 50 microlitros
 - iv Se adicionó con el mismo tip, una gota en la laminilla URISED® (apertura semicircular), estos se llenaron por capilaridad, examinar muestra. Cilindros en 10X, resto de formes 40X. Cada laminilla URISED cuenta con 9 círculos en la parte superior derecha, como asistentes para conteo, para estandarizar el tamaño del campo, contar en 40X los glóbulos rojos y blancos en los 9 círculos y promediar, la preparación de la muestra no se seco durante 1 hora.

D. Diseño de muestreo y estadístico:

a) Muestra : 30 pacientes que estén diagnosticados con algún tipo de enfermedad renal crónica y que asistan a UNAERC.

b)Análisis de resultados:

- i. Se colocaron los resultados en tablas .
- ii. Se sacó la diferencia entre ambos métodos que podían ser positivos o negativos.
- iii. Se colocaron las diferencias en otra tabla ordenándolos en forma ascendente y se le asigno un valor arbitrario a cada uno.
- iv. Se sumaron los valores positivos así como los negativos y se tomó el valor mas pequeño designado T para ser comparado con el valor proporcionado por el método de Wilcoxon.
- v. Se obtiene el número de muestras con diferencias designado n
- vi. Se obtenía un valor critico que seria comparado con el valor encontrado según el valor n.
- vii. El valor T es comparado con el valor critico deduciendo que si el valor critico es menor al valor se rechaza la hipótesis nula y viceversa.

VIII. RESULTADOS

Tabla 1 Resultados de la observación de 30 muestras de orina de pacientes de UNAERC por el método Convencional en un campo de observación 40X.

No.	CELULAS EPITELIALES	MOCO	BACTERIAS	LEUCOCITOS	ERITROCITOS	CRISTALES	OTROS
1.	+++	-	++	3/C	E		Ep transición +, ep renal +
2.	+	+	-	E	1/C		
3.	++	+	+	1/C	75/C		
4.	++	++	++	E	E		
5.	++	+	+	E	-		
6.	+	-	-	E	-		
7.	+	-	+	E	E		Ep renal +
8.	+++	++	++	4-5/C	2/C	Ac urico+	Levaduras +
9.	+	-	++	10-12/C	-		ep transición +
10.	++	-	++	6/C	3/C		Ep renal +, leucocitos en acumulos +, ep transición ++
11.	+++	E	++	1/C	1/C		Ep transición ++
12.	E	-	+	2-3/C	E		
13.	++	++	+	E	15/C		
14.	E	-	+	E	1/C		
15.	+	-	+++	C /LLENOS	1/C		Acumulos de leucocitos
16.	+	-	+	10/C	E		Cilindros hialinos +, células mixtas +, leucocitos en acumulos +, ep renal +
17.	+	+	+	E	E	Uratos amorfos +	Ep transición +, ep renal +
18.	+	+	+	E	1/C	Oxalatos de calcio+ uratos amorfos	Epitelio renal +
19.	+	+	+	E	1/C		Ep transición +, levaduras +
20.	++	+	++	E	4/C		Células granuloso +, ep renal +, ep transición +
21.	+	-	++	65/C	E		Ep renal +, ep transición +,
22.	+	+	-	E	E		Cuerpos ovals grasos ++, ep transición +, ep renal +
23.	+++	-	-	8-10/C	E		
24.	+	-	+	1/C	E		
25.	+	-	+	-	E	Ac urico+	Ep transición +
26.	+	+	++	10/C	E		Ep transición +
27.	++	-	+	E	-		Cuerpos ovals grasos +, ep renal +
28.	++	-	-	E	-		
29.	+	+	+	2-3/C	-		
30.	++	+	+	E	-		

Fuente : datos experimentales

NOMENCLATURA:

++: REGULAR CANTIDAD

+++ : ABUNDANTES

C : CAMPO

EP : EPITELIO

LEV : LEVADURAS

+ : ESCASO

E : EVENTUALES (0-1 por campo)

Tabla 2 Resultados de la observación de 30 muestras de orina de pacientes de UNAERC por el método URISED® en un campo de observación 40X.

No.	CELULAS EPITELIALES	MOCO	BACTERIAS	LEUCOCITOS	ERITROCITOS	CRISTALES	OTROS
1	+++	+	++	8-10/C	3-5/C		Ep transición +, ep renal +
2	+	-	+	2-3/C	1-2/C		
3	++	-	+	E	C /LLENOS		
4	+++	-	+	E	-		
5	++	+	+	-	-		
6	+	-	+	-	-		
7	+	-	+	E	-		
8	+++	+	++	2-3/C	2/C	AC URICO +	Lev +, Ep renal +
9	++	+	++	25-27/C	E		
10	+	-	++	5-6/C	-		
11	+++	+	+++	1-2/C	3-4C		Ep renal +, lev +
12	++	+	++	2-3/C	-		
13	++	-	++	3-5/C	15-17/C		Ep renal +, acumulos de leucocitos
14	++	+	+++	2-3/C	-		Lev +
15	+++	-	+++	C/LLENOS	E		Ep renal +, acumulos de leucocitos
16	+	-	+	25-30/C	-		Cilindros hialinos +, cilindros leucocitario + leucocitos en acumulos +
17	+++	++	++	3-4/C	-	URATOS AMORFOS +	ep renal +
18	+	+	++	2-3/C	-	OXALATOS DE CALCIO + URAOS AMORFOS +	
19	+++	+	+	1/C	E		
20	+++	++	++	1-2/C	E		
21	++	-	++	C / LLENOS	2-3/C		Ep renal +, lev +, acumulos de leucocitos
22	++	++	++	1-2/C	-		Cuerpos ovals grasos ++, ep renal +
23	+++	+	+	35-40/C	-		Ep renal ++, ep Transición ++
24	++	+	++	3-4/C	-		Lev +
25	++	+	++	1/C	E	ÁCIDO URICO +	
26	++	-	+	6-7/C	E		Ep renal +
27	+++	-	++	2-3/C	-		Cuerpos ovals grasos +, lev +
28	+++	-	++	1/C	-		Ep trans +, ep renal +
29	+++	+	+	E	E		
30	+++	+	++	8-10/C	1/C		

Fuente: datos experimentales

IX. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

La obtención de la muestra de orina de pacientes que asisten a UNAERC, se realizó con la ayuda del personal de enfermería reclutando pacientes en los cuales la función renal permitiera la obtención de la cantidad necesaria de muestra que era de 24 mL, esto debido a que la muestra se repartió en dos partes iguales de 12 ml para ser analizado. Se estandarizó el tiempo de centrifugación como se indica en la metodología de ambos métodos siendo este 5 minutos. La velocidad de centrifugación de 2,500 revoluciones por minuto, entre las variables particulares de el método URISED® estaban el tiempo que se debía invertir el tubo de orina (30 segundos), la cantidad de tinción aplicada a cada sedimento (1 gota), el tiempo de reposo para cada muestra (1 minuto), cantidad de muestra agregada a cada cámara (50 microlitros) factores de suma importancia para obtener los resultados adecuados para cada método.

El tiempo de asistencia a la institución de los pacientes está comprendida en un mes hasta 7 años como se presenta en el Anexo 3. Entre los criterios de inclusión utilizados para la selección de los pacientes está que no recibieran antibióticos, sino únicamente calcio y hierro.

Debido a que UNAERC no tiene el equipo para el análisis del sedimento urinario en sus instalaciones, se contacto al Laboratorio Clínico Popular LABOCLIP para realizar los análisis, se analizaron a través de un doble ciego las muestras y se anotaron los resultados obtenidos para el método convencional y el método URISED®.

Se procedió a analizar los resultados por el método estadístico de Wilcoxon, en el que se menciona un valor crítico que se encuentra al analizar los resultados, este valor es diferente para cada uno de los elementos formes de la orina, no se puede hacer referencia de un valor específico, este valor se comparó con un valor T establecido según el método estadístico, cuando el valor crítico es menor a T, se rechaza la hipótesis nula, no hay correlación y viceversa al encontrarse un valor crítico mayor a T, se acepta la hipótesis como se presenta en el anexo 2.

Al observar las tablas con relación a la observación de moco, bacterias y leucocitos las diferencias encontradas son de valor negativo, indicando que el valor crítico fue mayor que T, por lo cual se acepta la hipótesis, es decir que el método URISED® permite una clara diferenciación de estos elementos formes de la orina de pacientes con enfermedades renales crónicas, en comparación con el método convencional, ya que como se menciona anteriormente utiliza una tinción supravital (Sterheimer-Malbin) que efectivamente ayuda a diferenciar los elementos formes ya mencionados.

Al realizar la comparación para eritrocitos el dato encontrado nos indica que no hay valor crítico para el mismo, ya que las diferencias encontradas son mínimas y el método estadístico no contempla un valor crítico para estos casos. Se puede añadir que el método URISED® no presenta ninguna ventaja ante el método convencional en cuanto a eritrocitos por lo que ambos métodos se correlacionan en cuanto a este elemento del sedimento urinario.

En cuanto al análisis estadístico de células epiteliales, cristales y otros el valor crítico es menor a T, y los valores encontrados son muy similares por lo cual se deduce simplemente que la diferencia encontrada entre ambos métodos no es significativa lo que indica una correlación entre ambos métodos.

En el sedimento urinario de pacientes renales crónicos se obtuvo un bajo porcentaje de resultados anormales, 3 muestras con cristales y únicamente una muestra presentó cilindros. Esto indica que la mayoría de los pacientes que nos proporcionaron muestra tienen un control adecuado de su enfermedad.

Entre las ventajas encontradas en el método URISED® aparte de la tinción utilizada es el ahorro de tiempo para preparar las muestras y además permite la estandarización del conteo de leucocitos.

X. CONCLUSIONES.

1. Hay correlación de datos entre ambos métodos para los elementos formes de células epiteliales, moco, cristales, epitelio y eritrocitos.
2. El método URISED® permite la estandarización del recuento de leucocitos por campo de observación.
3. La tinción supravital utilizada por el método URISED® permite una observación mas detallada de los elementos formes en bacterias, leucocitos y moco en el sedimento urinario.

XI. RECOMENDACIONES

1. Como método alternativo se puede utilizar para verificar los hallazgos encontrados con el método convencional.
2. Los pacientes ambulatorios se verían beneficiados ya que la observación del sedimento urinario a través del método URISED® proporciona resultados estandarizados.

XII. REFERENCIAS

1. Berthelot MPE. Laboratory Methods. 15th ed. Philadelphia: Saunders Company, 1995. 39 p.
2. Kass EH. Asymptomatic and Infections of the Urinary Tract. 6th ed. Toronto: McGraw Hill, 1990. 69 p.
3. Haber MH. Pissprophecy, A Brief History or Urianalysis. 2nd ed. Philadelphia: Saunders Company, 1998. 430 p.
4. McClatchey Kenneth. Clinical Laboratory Medicine, 2nd ed. USA: Lippincott Williams And Wilkins. 2002. 532 p.
5. Graff SL. Análisis de Orina Atlas a color. 2 ed. México: Editorial Panamericana, 1987. 89 p.
6. Schumann GB. Examination of the Urine, 18th ed. Philadelphia: Saunders Company, 1997. 345 p.
7. Mongenson CE. Prevention of Diabetic renal disease. 18th ed. Washington: Saunders Company, 1998. 87 p.
8. Cirillo M. Microalbuminuria in nondiabetic adults. 7th ed. Virginia: Saunders Company, 1998. 161 p.
9. Mithcell TH. Microalbuminuria with non-insulinic dependent diabetics. 4th ed. Washington: Cross Country Editors, 1997. 537 p.
10. Putnam FW. The heat precipitation of Bence-Jones proteins. 3rd ed. Philadelphia: One optimum Arch Chemistry Editors, 1995. 115 p.
11. Annino JS. Clinical Chemistry Principals and procedures. 3rd Edition. Little Brown and company Boston, 1993. 179 p.
12. O'Brein, D. and Ibbott, F.A., Laboratory Manual of pediatric Micro and Ultramicro Biochemical Techniques. 3rd ed. Harper and Row New York. 1991. 6 p.
13. Little PJ. Urinary White cell excretion. 6th. Ed. New York: Lipincott. 1989. 49 p.
14. Lauler DP. et.al, Renal Medular Necrosis. 2nd ed. Wisconsin: Little Brown and Company Boston, 1989. 132 p.
15. Mc Queen EG. The Nature of Urinary Casts. Clinical Pathology. Revised ed. Michigan: American medical Editor, 1988. 389 p.

16. Schreiner GE. The Urinary Sediment. 1st. ed. Washington: Ciba, 1988. 35 p.
17. Lippman RW. Urine and the Urinary Sediment a Practical Manual. 2nd ed. Springfield, Illinois: William and Editors, 1989. 576 p.
18. Lynch R. et. al. Metodos de Laboratorio. 2^a ed. Madrid: Editorial Interamericana, 1988. 107 p
19. Bernard JH. Diagnóstico y Tratamientos Clínicos por el laboratorio. 8^a ed. Madrid: Salvat, 1988. 50p.
20. Bernkard A. New reagent for qualitative detection of albumin in urine. 2nd. ed. New England: Clinical Pathology Technology. 1987. 15 p.
21. Cantrow A. and Schepartz B, Biochemistry. 4th ed. Philadelphia: Saunder Company, 1986. 68 p.
22. Galambos JT. Herndon EG. and Reynolds GH, Specific gravity determination. 1st. ed. New England: Brothers and Editors, 1985. 300 p.
23. John AK. Métodos de Laboratorio. 3^a ed. España: Editorial Interamericana S.A. 1985. 177 p.
24. Blackberg SN. and Wagner JO, Melanuria. Edición Revisada, Mexico: Interamericana, 1985. 124 p.
25. Blondheim SH. Margoliash E. and Shafrir EA, A simple Test for the urinary sediment. 3rd ed. Philadelphia: Lipincott, 1985. 168 p.
26. Efron ML. Young D. Moser HW, A simple chromatographic screeing test for the detection of disorders of aminoacids metabolism. Only ed. New England: Westinghouse, 1984. 278 p.
27. Smith IM. Chromatographic and Electrophoretic Techniques. 2nd ed. London: William Heinmann Medical Books Ltd. 1984 98 p.
28. Hoffman WS. The Biochemistry of Clinical Medicine. 3rd ed. Chicago: Year Book Medical Publisher Inc. 1984. 310 p.
29. Varley H. Practical Clinical Biochemistry. 3rd ed. New York: Interscience Books Inc. 1984. 139 p.
30. Serie PA. Manual de Técnicas Básicas para un laboratorio de Salud. O.P.S. Do. Tec. 1983.44 p.

31. Argeri LP. Fundamentos y Práctica. 4ª ed. Madrid: Panamericana, 1993. 367 p.
32. Griffin SL. Atlas Color. 6ª ed. Argentina: Médica Panamericana, 1987. 80 p.
33. Strasinger SK. Manual de Líquidos y Orina. 2ª ed. Madrid: Salvat, 1997 341 p.
34. Eknoyan G. Levey AS. The importance of a correct diagnosis. Department of Medicine, EE.UU: Baylor College of Medicine, 1997. 90 p.
35. Wesley TG. The National Epidemic of Chronic Kidney Disease. 2nd ed. Wisconsin: Princeton 1997. 37 p.
36. Pedro RC. El Sedimento Urinario y su Utilidad en el Diagnóstico Clínico. 2ª ed. España: Interamericana, 1997. 66 p.
37. Masson et. al. Manual de Madrid de Laboratorio en Hematología. 2ª ed. Madrid: Panamericana, 1997. 341 p.
38. Heintz R. El sedimento urinario. 3ª ed. España: Médica Panamericana. 1997. 98 p.
39. Takahashi M. Citología del Cáncer. Atlas Color. 2ª ed. Madrid: Panamericana, 1995. 462 p.
40. Brum W. And Perls, Laboratory Diagnosis of the Urinary Tract Infections. 6th ed. Washington: McGraw Hill, 1994 482 p.
41. Bern TW. Qualitative Detection of Albumin and other proteins in the urine Sediment. 7th ed. Boston, Lipincott, 1994. 106 p.
42. Galambos TJ. Specific Gravity Determination. 3rd ed. New England: Westinghouse, 1994. pp. 276 p.
43. McQueen EG. Composition of urinary casts. 2nd ed. Michigan: Lancet, 1994. 368 p.
44. Annino JS. Clinical Chemistry Principals and Procedures. 3rd ed. Boston: Little Brown and Company, 1994.179 p.
45. Harrison GA. Chemical Methods in clinical medicine. 3rd ed. London: Churchill Ltd., 1999. 49 p.

46. Farland HA. A simple method of concentrating Urine for protein determination. 3rd ed. Boston: Lipincott, 1998. 539 p.
47. Baylord WT. Clinical Chemistry. 2nd ed. Massachusettes: Whitewestinghouse, 1990. 102 p.
48. Blondheim SH. A Simple test for Urianalysis. 5th ed. New England. Brothers Editors, 1998. 455 p.
49. Cartwright TC. The Urinary Sediment. Something New in something so Old. 7th ed Boston. Massachusetts: 1997. 25 p.
50. Ferrero TG. Sedimento Urinario. 2^a ed. Madrid: Oxford University Press. 1996. 56 p.
51. Nishishinya MB. Utilidad del Sedimento Urinario en la infección Urinaria. 4^a ed. Madrid, España: 1996. 74 p.
52. Strasinger SK. Manual de Orina. 3a ed. México: Manual Moderno. 1991. 569 p.
53. Cartwright J. The Urinary Sediment. 6th ed. Illinois: Oxxford University Press, 1991. 440 p.

XIII. Anexos:**Anexo 1****Hoja de consentimiento:**

Yo _____

Estoy de acuerdo en participar en el estudio de urianalisis que realiza Tania Melissa Cárdenas Marroquín, estudiante de la carrera de Química Biológica de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia.

Datos Personales No. _____

Nombre: _____

Dirección: _____

Edad: _____ **Sexo:** **F** **M**

Enfermedad Renal que padece: _____

Tiempo de padecer la enfermedad: _____

Medicamentos: _____

Anexo 2

CALCULOS:

Diferencia encontrado entre ambos métodos para moco, ordenados en forma ascendente y valor asignado según el método estadístico de Wilcoxon.

$$[\Sigma \text{ valores absolutos positivos}] = 2+2+1+1+1+1= 8$$

$$[\Sigma \text{ valores absolutos negativos}] = 11$$

$$\eta = 17$$

$$T = 8$$

$$\eta \leq 30$$

$$\text{valor crítico} = 35$$

$$T < \text{valor crítico}$$

Por lo cual la hipótesis nula se rechaza, ya que según el método estadístico cuando el valor crítico es menor a T se rechaza la misma.

CALCULOS:

Diferencia encontrado entre ambos métodos para bacterias, ordenados en forma ascendente y valor asignado según el método estadístico de Wilcoxon.

$$[\Sigma \text{ valores absolutos positivos}] = 3 + 3 + 3 = 9$$

$$[\Sigma \text{ valores absolutos negativos}] = 14 (1.5) = 21$$

$$\eta = 17$$

$$T = 9$$

$$\eta \leq 30$$

$$\text{valor crítico} = 35$$

$$T < \text{valor crítico}$$

Por lo cual la hipótesis nula se rechaza, ya que según el método estadístico cuando el valor crítico es menor a T se rechaza la misma.

CALCULOS:

Diferencia encontrado entre ambos métodos para leucocitos, ordenados en forma ascendente y valor asignado según el método estadístico de Wilcoxon.

$$[\Sigma \text{ valores absolutos positivos}] = 7.5 + 10 = 17.5$$

$$[\Sigma \text{ valores absolutos negativos}] = 85.5$$

$$\eta = 17$$

$$T = 17.5$$

$$\eta \leq 30$$

$$\text{valor crítico} = 35$$

$$T < \text{valor crítico}$$

Por lo cual la hipótesis nula se rechaza, ya que según el método estadístico cuando el valor crítico es menor a T se rechaza la misma.

CALCULOS:

Diferencia encontrado entre ambos métodos para eritrocitos, ordenados en forma ascendente y valor asignado según el método estadístico de Wilcoxon.

$$[\Sigma \text{ valores absolutos positivos}] = 5$$

$$[\Sigma \text{ valores absolutos negativos}] = 10$$

$$\eta = 5$$

$$T = 5$$

$$\eta \leq 30$$

valor crítico = no se puede obtener debido a la cantidad mínima de diferencias encontradas.

Anexo 3

	Nombre	Edad	Tiempo de asistir a la Institución	Diagnostico	Medicamentos	Otros
1	Seida Borrayo	21	6 meses	IRC	calcio, hierro	
2	Marta Alvarado	40	1 año	IRC	idem	
3	Soledad Rosales	42	2 años	IRC	idem	
4	Marta Marroquin	45	7 años	IRC	idem	diabetes
5	Blanca Veronica Gomes	43	2 meses	Pielonofritis	idem	
6	Luis Arroyo	45	8 años	IRC	idem	
7	Armando Melendez	54	11 meses	en estudio	ninguno	
8	Mayra Lopez	32	5 años	IRC	idem	
9	America de Orellana	52	6 años	IRC	idem	diabetes
10	Maria Hernandez	37	2 años 3 meses	IRC	idem	
11	Juliana Yoc	52	5 meses	IRC	idem	
12	Augusto Atenojenes	56	5 años	IRC	idem	presion alta
13	Sabena Quiroa	33	1 mes	IRC	idem	
14	Jorge Franco	47	10 meses	IRC	idem	
15	Antonio Lorenzo	62	2 años	IRC	idem	
16	Victor Coronado	57	2 años	IRC	idem	
17	Juan Cardenas	50	4 años	IRC	idem	diabetes
18	Carmelina Marroquin	48	8 meses	IRC	idem	
19	Margarita Prado	46	6 años	IRC	idem	
20	Ena Chavarria	41	1 año	IRC	idem	
21	Tomasa Hernandez	47	7 años	IRC	idem	
22	Miriam Tejada	42	3 años	IRC	idem	hormonas
23	Gregaria Morales	44	1 año	IRC	idem	presion alta
24	Reina Sequin	20	1 año	IRC	idem	
25	Olga Quiñonez	52	6 años	IRC	idem	colon irritable
26	Iliana Rivera	32	3 años	IRC	idem	
27	Lorenza Hernandez	55	4 años	IRC	idem	diabetes
28	Clara Arqueta	32	6 años	IRC	idem	presion alta
29	Guadalupe Reyes	31	5 años	IRC	idem	
30	Amalia Osorio	43	3 meses	IRC	idem	

IRC: Insuficiencia Renal Crónica

Licda Alba Marina Valdez
Asesora

Licda. Claudia Aldana
Co-Asesora

Tania Cárdenas
Tesisista

TABLA 7: Muestra las orinas en las que se observo otros elementos formes del sedimento urinario.

Campo de Observación 40 X n = 30

Método Convencional

No.	EPITELIO TRANS		EPITELIO RENAL		LEVADURAS		ACUMULOS		CUERPOS GRASOS	
	Convencional	URISED®	Convencional	URISED®	Convencional	URISED®	Convencional	URISED®	Convencional	URISED®
1	+	+	+	+						
2										
3										
4										
5										
6										
7	+									
8				+	+	+				
9	+									
10	++		+				+			
11				+		+				
12										
13				+				+		
14						+				
15				+			+	+		
16			+				+	+		
17	+		+	+						
18			+							
19										
20	+				+					
21	+		+	+		+		+		
22	+		+	+					++	++
23		++		++						
24						+				
25	+									
26	+			+						

27			+			+			+	+
28		++		+						
29										
30										

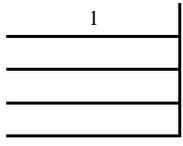
Fuente: datos experimentales

TABLA 8: Muestra las orinas en las que se observo otros elementos formes del sedimento urinario.

Campo de Observación 40 X n = 30

Método URISED®

No.	EPITELIO TRANS		EPITELIO RENAL		LEVADURAS		ACUMULOS		CUERPOS
	Convencional	URISED®	Convencional	URISED®	Convencional	URISED®	Convencional	URISED®	Convencional
1	1	1	1	1					
2									
3									
4									
5									
6									
7	1					1			
8				1	1				
9	1								
10	2		1			1	1		
11				1					
12									
13				1		1		1	
14									
15				1			1	1	
16			1				1	1	
17	1		1	1					
18			1						
19									
20	1				1	1			
21	1		1	1				1	
22	1		1	1					2
23		2		2		1			
24									
25	1								
26	1			1		1			



experimentales