

UNIVERSIDAD MAYOR DE SAN ANDRÉS
Facultad de Ciencias Farmacéuticas y Bioquímicas
CARRERA DE BIOQUÍMICA



**APLICACIÓN DEL MÉTODO DE TINCIÓN GRAM
NORMAL Y MODIFICADO, PARA MEJORAR LA
VISUALIZACIÓN DE BACTERIAS
GRAMPOSITIVAS Y GRAMNEGATIVAS EN
SEDIMENTO URINARIO**

**TESINA PARA OPTAR EL TITULO DE:
LICENCIADA EN BIOQUÍMICA Y FARMACIA**

POSTULANTE: DEISY ZONIA CAMARGO RODAS
TUTORES EXTERNOS: DRA. MYRIAM BALCAZAR DE CHÁVEZ
JEFE DEL LABORATORIO DE LA ASISTENCIA PÚBLICA
DRA. CONSUELO VILLEGAS JORDÁN
LABORATORIO DE LA ASISTENCIA PÚBLICA

LA PAZ - BOLIVIA
FEBRERO - 2003

DEDICATORIA

*CON EL CARIÑO MÁS PROFUNDO A MIS QUERIDOS
PADRES:*

*SR. ARMANDO CAMARGO G., SRA. BENECIA R. DE
CAMARGO, A MI HERMANA AMANDA DE SOSSA, POR
HABERME APOYADO INCONDICIONALMENTE.*

*A MI ESPOSO HUGO MOLINA O., A MIS HIJOS, SONIA,
HUGO, DAYSI, POR HABERME BRINDADO SU
COMPRENSIÓN APOYO Y CARIÑO GRACIAS POR
TODO.*

AGRADECIMIENTO

AGRADECER EN FORMA ESPECIAL A LA DRA. MYRIAM BALCAZAR DE CHÁVEZ, DRA. CONSUELO VILLEGAS J., AL DR. JORGE ROCHA R., AL DR. JUAN JOSÉ MIGUEZ, A LA DRA. MIRTHA ARCIENEGA C., A LA BIOTC. ROSARIO ORELLANA C., QUE ME BRINDARON SUS CONOCIMIENTOS Y SABIDURÍA PARA QUE EL PRESENTE TRABAJO PUEDA REALIZARSE.

AGRADECER INFINITAMENTE A TODOS MIS CATEDRÁTICOS DE LA FACULTAD DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA A MIS TUTORES INTERNOS MUCHAS GRACIAS.

RESUMEN

El país presenta problemas epidemiológicos producidos por microorganismos, las infecciones urinarias tienen su debida importancia especialmente en la población de mujeres embarazadas que son motivo de frecuente consulta médica en la atención primaria de salud y representa parte del objetivo de estudio del presente trabajo.

Dentro de los microorganismos causantes de estos procesos infecciosos están las bacterias, habiéndose determinado en el estudio el predominio de bacterias de forma bacilar con características Gram negativas.

El presente trabajo como hecho fundamental plantea la utilización de la tinción Gram acética (adición ácido acético 0.1 N) sobre la base de la tinción Gram ya conocida y utilizada en la práctica microscópica para determinación de bacterias.

El aporte del presente trabajo se ha dado en una población de mujeres embarazadas Del Seguro Básico de Salud (SBS) con diagnostico clínico de la infección urinaria, cuyo sedimentos urinarios fueron utilizados para la identificación de bacterias con los métodos de tinción Gram y tinción Gram acética.

Los resultados transcriben observación de 269 laminas identificando 137 laminas con bacterias Gram positivas y 109 laminas con bacterias Gram negativas luego de aplicar la tinción Gram acética 1N.

Los parámetros de eficacia del método se transcriben en un 81.06% de sensibilidad y 98.5% de especificidad para la identificación de bacterias Gram positivas y 75.9% de sensibilidad y 100% de especificidad para la identificación de bacterias Gram negativas.

De acuerdo a los resultados encontrados se pueden inferir para la utilización de la tinción Gram acética en la determinación de bacterias complementando con cultivos bacterianos. Aprovechando las características del poder de penetración, hidratación y aclaración celular del ácido acético.

El presente trabajo se realizó en el laboratorio de análisis Clínico de la Asistencia Pública en el Distrito Norte de la ciudad de La Paz.

1. INTRODUCCIÓN

Bolivia es un país con problemas endémicos producidos por microorganismos, las infecciones del tracto urinario, no dejan de tener importancia y son un motivo frecuente de consulta médica en la Atención Primaria de Salud. Esto hace que muchas veces deba comenzarse un tratamiento antibiótico en forma empírica hasta obtener los resultados de estudios microbiológicos.

Los gérmenes causantes de estos procesos son en su gran mayoría bacilos Gram negativos, los cuales poseen una amplia plasticidad genética para expresar y adquirir determinantes de resistencia a los antimicrobianos, planteando un desafío clínico.

La mayoría de las infecciones del tracto urinario son debidas a bacilos Gram negativos (enterobacterias) de los cuales, la mayor frecuencia corresponde a serotipo de E. Coli, que son los responsables de más del 80% de las infecciones primarias y del 75% de las recurrencias. El grupo Kebsiella representa del 10 a 15% y Proteus, Enterococos, Stapliy Lococos y especies de Pseudomonas para los casos restantes.

La infección urinaria se define se define como la invasión y multiplicación de gérmenes 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 virus¹.

La recurrencia de infecciones bajas en mujeres jóvenes, así como la elección de antibióticos seguros en embarazadas son otros de los tópicos que destacan la importancia del uso racional de los antibióticos en los planes terapéuticos de las infecciones urinarias. Aunque el problema de la resistencia bacteriana no es parte del trabajo que se plantea, sin embargo, representa la consecuencia por falta de un seguimiento bacteriológico en el diagnóstico de laboratorio clínico, que únicamente determina infección con un sencillo ensayo en el sedimento

¹ RODRÍGUEZ, Lanza, IUL. HTM. W.W.W. Geocilios. Com. INTERNET

urinario.

El presente trabajo plantea la utilización de la tinción gram como rutina al seguimiento del análisis de sedimento urinario para la identificación de Bacterias, con el añadido de ácido acético 0.1 N a la tinción de gram.

El aporte del presente trabajo se ha dado sobre una población de mujeres embarazadas del Seguro Básico de Salud con diagnóstico clínico de infección urinaria, los resultados transcriben la sensibilidad del método en el análisis de eficacia en la utilización de la tinción gram acética, este aporte se puede sugerir para todos los laboratorios de análisis clínico que no realizan bacteriología, puesto que el agregado de ácido acético a la tinción gram; debe complementarse con estudios de cultivos y determinaciones bacterianas convencional².

2. ANTECEDENTES DEL PROBLEMA DE ESTUDIO.

▪ ELEMENTOS BÁSICOS DE EMBRIOLOGÍA, HISTOLOGÍA Y ANATOMÍA RENAL

Embriológicamente, el riñón adulto, o metanefros se forma luego de la regresión de dos estructuras primitivas: el pronefros y el mesonefros. El sistema colector renal deriva del conducto excretor principal del pronefros temprano, llamado conducto de Wolff. Estas ramas ductales constituyen, los cálices renales y los tubos colectores.

El riñón es una glándula tubular compuesta cuyos túbulos son de dos tipos: flexuosos, incluidos en la corteza renal, y los rectos que forman parte de la sustancia medular y los corpusculos de Malpighi a través de los cuales se filtra el suero

² RODRÍGUEZ, Lanza, IUL. HTM. W.W.W. Geocilios. Com. INTERNET

▪ FISIOLÓGÍA RENAL

El riñón es un órgano que desempeña diversas funciones fundamentales para el mantenimiento de la vida del individuo. En este sentido cabe destacar la regulación de los electrolitos y del agua del medio interno, y también el pH, la eliminación de los productos finales del metabolismo proteico y la regulación de la tensión arterial³.

2.1 ANATOMÍA FUNCIONAL DE LOS RIÑONES

2.1.1 ORGANIZACIÓN GENERAL DE LOS RIÑONES Y DE LAS VÍAS URINARIAS

El sistema renal se encuentra situado en la pared posterior del abdomen, por fuera de la cavidad peritoneal. En el hombre adulto, cada riñón pesa unos 150 gramos y miden 10 cm, en la cara interna del riñón se encuentra el hilio a través del cual pasan la arteria y la vena renal, los linfáticos, los nervios y el uréter que lleva la orina final desde el riñón a la vejiga, donde queda acumulada antes de expulsarse al exterior. En la médula renal se encuentran unas pequeñas bolsitas de extremos abiertos llamadas cálices mayores que se dividen en cálices menores y se encargan de recoger la orina de los túbulos de cada papila. Las paredes de los cálices, la pelvis y el uréter tienen elementos contráctiles que propulsan la orina hacia la vejiga, donde la orina se deposita hasta que se vacía con la micción.⁴

2.1.2 RIEGO SANGUÍNEO RENAL

El riego sanguíneo de ambos riñones constituye, normalmente el 21% del gasto cardiaco. La arteria renal da lugar a los capilares glomerulares de los glomerulos renales es donde se filtra gran cantidad de líquido y de soluto, excepto las proteínas del plasma para empezar a formar la orina.⁵

³ ARGERI, Nelson Jorge, LOPARDO Horacio Ángel. Análisis de Orina Fundamento y Practica, Editorial Medica Panamericana. Buenos Aires - Argentina. Pág. 13 Y 16

⁴ VIDAL, Jorge. "Anatomía". Buenos Aires 1996. 4va Edición. Pág. 325-326.

⁵ GAYTON HALL. "Tratado de Fisiología Médica". México. 1999. Edit McGraw-Hill interamericana. Pág. 345

La circulación renal se caracteriza por tener dos lechos capilares, el glomerular y el peritubular, los riñones pueden regular las presiones hidrostáticas tanto en los capilares glomerulares como en los peritubulares. Para responder así a las demandas homeostáticas del organismo.

2.1.3 LA NEFRONA EN LA UNIDAD FUNDAMENTAL DEL RIÑÓN

En el ser humano, cada riñón está formado por 1 millón de nefronas aproximadamente todas ellas son capaces de formar la orina. El riñón no puede regenerar nefronas nuevas por lo que lesiones o enfermedades renales producen una pérdida progresiva del número de nefronas. Pasado los 40 años va descendiendo el número de estas, es así que al llegar a los 80 años muchas personas tienen un 40 % de nefronas menos, esta pérdida no encierra peligro para la vida por los cambios adaptativos de las restantes nefronas.

Cada nefrona consta de dos partes principales: 1) un glomérulo a través de los cuales se filtra gran cantidad de sangre. 2) un largo túbulo donde el líquido filtrado se convierte en orina en su recorrido hasta la pelvis renal. El líquido que se filtra en los capilares glomerulares discurre por el interior de la cápsula de Bowman, luego por el túbulo proximal, de este pasa a circular por el asa de Henle que desciende hasta la medula renal, pasada la mácula densa el líquido atraviesa el túbulo distal que se encuentra en la corteza renal terminando en el conducto colector cortical que finalmente al penetrar en la médula se convierte en el conducto colector medular vaciando su contenido en la pelvis renal.

Aunque cada nefrona contiene todos los elementos descritos anteriormente, existen algunas diferencias entre las neuronas dependiendo de la profundidad a que se encuentran dentro de la masa de los riñones. Las neuronas cuyos glomérulos están situados en la parte externa de la corteza se llaman nefronas corticales y se distinguen por tener asas de Henle cortas que tienen un breve recorrido dentro de la médula.

Alrededor del 20% y 30% de las neuronas tienen sus glomérulos situados profundamente en la corteza renal, cerca de la médula y se llaman neuronas

yuxtamedulares. Estas nefronas tienen largas asas de Henle que penetran profundamente en la médula y a veces, todo su recorrido es intramedular hasta desembocar en la punta de las papilas renales.

Los vasos que riegan las nefronas yuxtamedulares también se distinguen de las neuronas corticales. En estas últimas todo el sistema tubular está rodeado de una extensa red de capilares peritubulares, en cambio en las neuronas yuxtamedulares las largas arteriolas afrentes se extienden desde los glomérulos hacia abajo, penetrando en la parte externa de la médula y entonces se dividen en capilares peritubulares especializados llamados vasa recta, los cuales se extienden hacia abajo y dentro de la médula adosados al asa de Henle. Al igual que las asas de Henle, los vasos rectos vuelven a la corteza para terminar desembocando en las venas corticales. Esta red especializada de capilares de la médula juega un papel esencial en la formación una orina concentrada.⁶

2.1.4 FORMACIÓN DE LA ORINA COMO RESULTADO DE LA FILTRACIÓN GLOMERULAR, LA REABSORCIÓN TUBULAR Y LA SECRECIÓN TUBULAR.

Las cantidades en que las diferentes sustancias se excretan por la orina representa: 1) La filtración glomerular, 2) la reabsorción de sustancias que se encuentran en el túbulo y pasan a la sangre, 3) la secreción de sustancias que desde la sangre pasan al interior de los túbulos renales.

La formación de la orina comienza con la filtración en los capilares glomerulares de gran cantidad de líquido que prácticamente carece de proteínas. La mayoría de las sustancias del plasma, excepto las proteínas, se filtran libremente de tal modo que sus concentraciones en el filtrado glomerular de la cápsula de Bowman son casi las mismas que en el plasma. Cuando el líquido filtrado sale de la capsula de Bowman y pasa por los túbulos, su composición se va modificando debido a la reabsorción de agua y de determinados solutos, que son devueltos a la sangre.

⁶ Idem Pág. 345-347.

2.1.4.1 FILTRACIÓN REABSORCIÓN Y CREACIÓN DE LAS DISTINTAS SUSTANCIAS

En general, la reabsorción tubular es cuantitativamente más importante que la secreción tubular dentro del proceso de formación de la orina, pero la secreción juega un papel importante en la determinación de las cantidades de iones de potasio y de hidrógeno y de algunas otras sustancias que se excretan por la orina. La mayoría de las sustancias de la sangre que tienen que ser depuradas, especialmente los productos finales del metabolismo como la urea, creatinina, ácido úrico y uratos, se reabsorben mal y, por tanto, se excretan en grandes cantidades por la orina. Algunas sustancias extrañas y los agentes químicos también se reabsorben mal pero, además, son secretados y pasan de la sangre a los túbulos, de modo que sus tasas de excreción son elevadas. Por otra parte los electrólitos como los iones de sodio, cloro y de bicarbonato, se reabsorben intensamente, y su aparición en la orina es en pequeñas cantidades, los aminoácidos y la glucosa se reabsorben completamente en los túbulos y no aparecen en la orina aunque se hayan filtrado en gran cantidad en los capilares glomerulares. Cada uno de estos procesos: filtración glomerular, reabsorción tubular y secreción tubular, está regulado de acuerdo con las necesidades del organismo⁷.

2.1.5 CONCEPTOS GENERALES DE ORINA

▪ COMPOSICIÓN DE LA ORINA.

La orina fisiológicamente es un líquido amarillento en el hombre producido como resultado de la filtración glomerular, la reabsorción tubular y la secreción tubular de olor característico debido a una sustancia volátil que en estado puro tiene aspecto oleoso⁸.

Su composición permite considerarla como una disolución de urea en agua salada, en efecto la orina normal contiene, aproximadamente:

⁷ Idem. Pág. 350.

⁸ ENCICLOPEDIA DE LA CIENCIA Y DE LA TÉCNICA, EDICIONES OCÉANO. Pág.34

COMPOSICIÓN DE LA ORINA		
Agua:	955 ml	95.5%
Cloruro de sodio (sal):	10 ml	10%
Urea:	20 ml	20%
Acido úrico:	0.5 ml	0.5%
Otras sustancia:	14.5 ml	14.5%
Total:	1000ml	100%

Estas proporciones no son fijas, pues varían según el régimen alimenticio, además se encuentran en la orina dos materias colorantes, la urobilina rojiza que proviene de la bilirrubina de la bilis, en parte reabsorbida en el intestino delgado, y el urocromo amarillo que es el pigmento más importante⁹.

Las sustancias que aparecen en la orina son numerosas. Entre los constituyentes normales se distinguen los inorgánicos (calcio, sodio, potasio) y los orgánicos, estos se dividen en compuestos nitrogenados y no nitrogenados. Las sustancias nitrogenadas mas importantes son (la urea, ácido úrico, amoniaco y algunos aminoácidos), entre las no nitrogenadas cabe mencionar al ácido oxálico.

La presencia de albúmina (albuminuria) y glucosuria se observa en procesos patológicos. Por la orina se eliminan a veces cálculos es decir, concreciones de sales de composición química variable, que se forman en las vías urinarias con un mecanismo aún no esclarecido. Sometiendo la orina a centrifugación se obtiene la separación del sedimento urinario, la observación microscópica de este permite la distinción de un sedimento no organizado, del que forman parte sustancias inorgánicas como el fosfato bi o tricálcico, el fosfato amonicomagnésico, el fosfato trimagnésico y sustancias orgánicas como el ácido úrico, los uratos y los oxalatos.

⁹ VIDAL, Jorge. Anatomía Fisiología e Higiene, Editorial Bruño 4ta Edición. Lima – Perú. Pág. 3299

En función del estado de hidratación del individuo, el riñón es capaz de eliminar orina mas o menos concentrada, es decir, la misma cantidad de solutos disueltos en mayor o menor cantidad de agua.

Esta es una función básicamente del túbulo renal. Además de la variable fracción de sodio o agua reabsorbidos en el túbulo proximal la acción de la hormona antidiurética en el túbulo colector hace a éste mas o menos permeable al agua, condicionando una mayor o menor reabsorción del 15% de ésta que llega a ese segmento, por tanto, una orina más o menos diluida.

La hormona antidiurética HAD es sintetizada por células nerviosas del hipotálamo y es segregada por la hipófisis. El principal estímulo para su secreción es el aumento de la osmolaridad plasmática, aunque también la estimula la disminución del volumen del líquido extracelular. La HAD actúa sobre el túbulo colector haciéndolo permeable al agua, con lo que la reabsorción de esta aumenta o disminuye la osmolaridad plasmática y se escruta una orina más concentrada. Estas situaciones de disminución de la osmolaridad o expansión del volumen extracelular se inhiben la secreción de HAD y se absorbe menos agua, excretándose orina más diluida.¹⁰

Estos componentes del sedimento se depositan en forma de cristales de aspecto característico y fácilmente distinguible. El sedimento organizado esta compuesto por los hematies y los leucocitos, que por lo general, están ausentes o son muy escasos, pero que en condiciones patológicas se hacen muy numerosos, dando lugar respectivamente a la hematuria y la piúria, entre otros elementos organizados tenemos a las bacterias su presencia es debido a la infección de vías urinarias (bacteriuria) o fermentación de la orina después de su emisión. A menudo existen células de descamación del epitelio de revestimiento de las vías excretoras, que son eliminadas con la orina. Su presencia no tiene significado patológico mientras su número sea limitado.

En la orina pueden encontrarse también, fármacos o tóxicos que son eliminados por vía renal¹¹.

¹⁰ <http://www.carlosaya.net/biblioteca/contenidos/docs/nefrología/predialisis/pacodiez>

¹¹ ENCICLOPEDIA DE LA CIENCIA Y DE LA TÉCNICA, EDICIONES OCÉANO. Pág. 7.

2.1.6 TOXICIDAD DE LA ORINA

El riñón no elabora los elementos de la orina, sino que éstos preexisten en la sangre. La función del riñón se reduce a extraer dichos elementos de la sangre, para eliminarlos después de haberlos concentrado.

La orina normal es tóxica en mayor grado según las distintas horas del día, la orina de la vigilia presenta un poder más tóxico que la del sueño. Su poder tóxico de la orina no proviene exclusivamente de la urea que contiene, sino también de otras sustancias como las materias colorantes, sales de potasa y compuestos nitrogenados no bien determinados. Si estas sustancias tóxicas quedaran en la sangre, un hombre moriría intoxicado a los dos días, Si la eliminación es insuficiente, el hombre contrae una enfermedad grave llamada uremia¹².

2.1.7 VÍAS DE EXCRECIÓN DEL RIÑÓN

A su salida de los poros urinarios la orina es recogida por los cálices, estos son pequeños tubos que nacen del cuello de cada papila para formar los conductos colectores más voluminosos, que desembocan en la pelvis.

2.1.7.1 PELVIS RENAL

En la Pelvis renal desembocan los cálices que tienen forma de embudo estos se comunican con el uréter por medio de su vértice.¹³

2.1.7.2 URÉTERES

Estos conductos forman parte del conducto excretor el que comunica la pelvis con la vejiga, tienen una longitud aproximada de unos 30 centímetros y un diámetro aproximado de unos 5 milímetros, los uréteres a la salida de la pelvis se hallan separados por una distancia de 7 centímetros, pero al dirigirse hacia

¹² ENCICLOPEDIA DE LA CIENCIA, EDICIONES OCÉANO. PÁG. 330 331

¹³ VIDAL, Jorge. Op. Cit. Pág 328.

la vejiga en la cual penetran lateralmente su distancia es apenas de 2 centímetros.¹⁴

2.1.7.3 VEJIGA

La vejiga es una bolsa muscular y elástica que se encuentra en la parte inferior del abdomen, inmediatamente por detrás de la pelvis y por delante del recto se encarga de recoger la orina que traen los uréteres, su capacidad de almacenamiento de la orina es muy variable en los individuos, el término medio oscila entre 300 ml.¹⁵

2.1.7.4 URETRA

Es un conducto por el cual es expulsada al exterior la orina a por la contracción vesical. Nace en el orificio anterior del trígono vesical y se abre al exterior por el meato urinario. La base de la uretra está rodeada por un músculo circular llamado esfínter uretral que se compone de fibras normalmente contraídas y de fibras estriadas que permiten mantener cerrado este conducto y resistir así el deseo de orinar.¹⁶

2.2 EXAMEN GENERAL DE LA ORINA

2.2.1 RECOLECCIÓN ADECUADA DE LA ORINA

Si bien es cierto que una muestra parcial de la orina no tiene la misma representatividad que el total de 24 horas, sin embargo entendemos que resulta aceptable en la rutina, proceder a indicar al paciente la colección de la primera orina de la mañana que, normalmente, responde a un lapso de 8 a 12 horas, tiempo durante el cual la orina se encuentra en la vejiga del paciente.

Las muestras colectadas en esta forma resultan suficientemente representativas como para reconocer la presencia de una determinada

¹⁴ Idem. Pág 328.

¹⁵ Idem. Pág 329.

¹⁶ Idem. Pág 329.

patología renal detectable por el análisis de la orina. Para tal cometido indicamos al paciente lo siguiente:

Al levantarse, previo lavado minucioso de genitales externos, se debe desechar el primer chorro o micción, y colectar aproximadamente unos 200 ml, sin suspender el chorro el recipiente adecuado.

Este recipiente deberá rotularse con nombres y apellidos, fecha y hora que se recolecto la muestra y de inmediato llevar al laboratorio para su análisis¹⁷.

2.2.2 EXAMEN FÍSICO

2.2.2.1 VOLUMEN

La cantidad normal de orina emitida se debe medir en 24 horas, y esta en relación directa con la densidad urinaria. En el hombre es de 1200 a 1500 ml, en la mujer es de 1000 a 1200 ml.

2.2.2.2 COLOR

El color normal de la orina es amarillo ámbar en sus diferentes tonalidades:

- **ORINA INCOLORA:**

En la diabetes insípida (con densidad baja) y en la diabetes mellitus no tratada (con densidad alta).

En la insuficiencia renal avanzada o final. En las taquicardias paroxísticas.

En la anemia ferropénica acentuada.¹⁸

- **AMARILLO INTENSO:**

En todas las orinas densas, concentradas, por oliguría de origen extrarrenal.

En la ictericia de cualquier origen, En la anemia perniciosa y en la ictericia

¹⁷ ARGERI, Nelson Jorge y LOPARDO, Horacio Ángel. Análisis de Orina Fundamentos y Práctica, Editorial Médica Panamericana Buenos Aires – Argentina,

¹⁸ Idem. Pág. 26

hemolítica, aunque el tono suele ser rosado en ambas (urobilina).

Ingesta de drogas que contengan ferrinas, el uso terapéutico de las flavinas, el ácido pícrico.¹⁹

- **ORINA ROJA O ROSADA:**

En las oligurias febriles.

En las hematurias

En las hemoglobinurias

Anemia perniciosa

Anemia hemolítica²⁰

- **ORINA PARDA (“cerveza negra”)**

En las ictericias parenquimatosas y mecánicas, con típica coloración amarillenta de la espuma al agitarla. En ciertas hematurias: en la glomerulonefritis aguda.²¹

- **ORINA NEGRUZCA**

(Generalmente se va oscureciendo al cabo de un rato de emitida):

En los melanosarcomas negra por la eliminación de melanina.

En la alcaptonuria

En la intoxicación por ácido fénico y derivados.

Medicación por L-DOPA o tinidazol.

En la fiebre hemoglobinúrica del paludismo tropical.²²

- **ORINA BLANQUECINA O LECHOSA:**

a) En la quiluria.

¹⁹ Idem. Pág. 26

²⁰ Idem. Pág. 26

²¹ Idem. Pág. 26

²² Idem. Pág. 26

- b) En ciertas lipurias masivas.
- c) En las piurías marcadas.
- d) En las oxalosis o hiperoxaluria.²³

- **ORINA VERDOSA O AZULADA:**

En la intoxicación por timol, fenol, etc.

Presencia de bacilos piocianinicos.²⁴

- **ORINA TURBIA:**

En todas las *piurías* en las *fosfaturías*: aunque sea normal la cantidad de fosfatos, un pH muy alcalino los precipita. Debe considerarse fisiológicamente, cierta turbidez por alcalosis compensada al levantarse y durante la fase gástrica de la digestión en orinas fermentadas.²⁵

2.2.2.3 OLOR DE LA ORINA

El olor de la orina normal es suigéneris, recién emitida presenta un olor aromático característico.

Puede presentar un olor fétido debido a la presencia de Bacterias gram negativas, o también puede presentar un olor a uvas en caso de Diabetes mellitus o procesos infecciosos producidos por bacterias como ser *Pseudomonas*, o puede presentar un olor amoniacal por la presencia de *Proteus*.²⁶

²³ Idem. Pág. 26

²⁴ Idem. Pág. 26

²⁵ Idem. Pág. 26

²⁶ FISCHE BACH "Manual de Pruebas Diagnósticas". México. 2000. 5ta edición. Pág 157.

2.2.2.4 ASPECTO DE LA ORINA

- **LÍMPIDA**

El aspecto de la orina normal es límpida, ligeramente opalescente en mujeres debido a la presencia de la descamación celular.²⁷

- **TURBIA**

Turbia Intensa se presenta en orinas piúricas, orinas alcalinas, presencia de carbonatos, presencia de fosfaturias, orinas fermentadas.

Turbia Rosácea Anaranjada, en presencia de uratos amorfos, estos se disuelven a 16°C.²⁸

- **DENSIDAD DE LA ORINA**

La densidad en la orina es el peso de un cuerpo sólido que desplaza a un líquido y se lo mide tomando en cuenta la densidad del agua, como la densidad de la orina generalmente oscila entre 1004 y 1030 g/ml esta relacionada con la concentración de diferentes sustancias en disolución.²⁹

2.2.3 EXAMEN QUÍMICO DE LA ORINA

2.2.3.1 REACCIÓN Y PH DE LA ORINA

El pH urinario representa el logaritmo negativo de la concentración de iones (H) en la orina, el pH urinario hace que el riñón pueda mantener una concentración normal de (H) en el plasma y líquido extra celular. El pH urinario oscila entre un rango que va desde 4,5 a 8.5 según la composición dietética.³⁰

²⁷ Idem. Pág. 157

²⁸ Idem. Pág. 157

²⁹ Idem. Pág. 157

³⁰ Idem. Pág. 157

pH ACIDO (4.5 a 6.5).

Se presenta en: acidosis metabólica, diabetes mellitus, pacientes en ayunas.

pH ALCALINO (7.1 a 8.5).

Se presenta en: Alcalosis respiratoria, infección en vías urinarias, producidas por Proteus o Pseudomonas donde el pH puede llegar a 9, alteraciones renales crónicas, obstrucción pilórica.

2.2.3.2 PROTEÍNAS EN ORINA O ALBIMINURIA

Normalmente la eliminación de proteínas por la orina no es detectable (3mg/día), por medios corrientes. La cantidad de albúmina en la orina no relaciona la gravedad de la afección, pero en el enfermo nos sirve para determinar el progreso o regresión de su enfermedad. Es importante señalar que en procesos piuricos debe rescatarse la cantidad de albuminuria producida por los piocitos. Se sabe que 80 a 100.000 leucocitos por ml producen 1g o/o de albumina.³¹

2.2.3.3 GLUCOSA EN ORINA

Normalmente no existe glucosa en la orina, puede ser metabólica o hiperglicémica, como en el caso de la glucosuria alimenticia. por lo menos con los métodos usuales una ínfima «glucosis» fisiológica no tiene interés clínico, pues escapa a la detección con aquellas técnicas). Sólo aparece cuando se rebasa el «umbral» de 180 mg/100 ml en la glucemia (clásica).³²

2.2.3.4 CETONURIA

La aparición de acetona y otros cuerpos cetónicos (ácidos acetoacético y beta-hidroxi-butírico) en la orina es un hallazgo anormal que ocurre en todos los

³¹ Idem. Pág. 157

³² Idem. Pág. 157

casos de «cetosis», es decir, cuando la cetonemia está aumentada a raíz de una movilización y consumo exagerados de las grasas en el organismo, por falta absoluta o relativa de hidratos de carbono. Normalmente, se eliminan unos 125 mg diarios, incapaces de positivizar las reacciones habituales en clínica, y siempre menos de 0,5 g/24 horas de cuerpos cetónicos.³³

2.2.3.5 PIGMENTOS BILIARES COLURIA (bilrrubinuria)

La presencia de pigmentos biliares concretamente bilirrubina en la orina, a la que confieren una coloración amarilla intensa en los casos incipientes, y como cerveza oscura si la concentración es pronunciada. La espuma, al agitar la orina, está teñida también de amarillo. La COLURIA aparece en todas las ictericias obstructivas o parenquimatosas.³⁴

2.2.3.6 UROBILINURIA

Comprendemos la urobilina propiamente dicha y su cromógeno, el urobilinógeno. Es sabido que su presencia en la orina supone la llegada de bilirrubina al intestino, donde se transforma en urobilinógeno (reducción por bacterias) y luego en urobilina. (Por oxidación), reabsorbiéndose parcialmente y eliminándose casi exclusivamente por el hígado (círculo enterohepático de la urobilina). Normalmente, la orina contiene de 0,03 a 0,48 mg por día.³⁵

2.2.3.7 HEMATURIA (eritrocituria)

Presencia de hematíes en orina, a diferencia de la «hemoglobinuria», en que existe pigmento hemático, pero no células. La hematuria puede ser macroscópica o sólo reconocible como eritrocituria en el sedimento.³⁶

2.2.3.8 PRESENCIA DE NITRITOS EN LA URINA

La prueba depende la conversión de los nitratos en nitritos por la acción

³³ Idem. Pág. 157

³⁴ Idem. Pág. 157

³⁵ Idem. Pág. 157

³⁶ Idem. Pág. 157

bacteriana de la orina, para ellos es preciso que está contenga la población microbiana de toda una noche o un mínimo de 4 horas, por lo que es preferible usar la primera micción de la mañana. Casi todas las enterobacterias pueden formar nitritos a partir de nitratos, pero no todas las bacterias de la vejiga pueden hacerlo ejemplo: enterococos, por lo que a veces se encuentran falsos negativos. También la existencia de cantidades importantes de gérmenes reductores de nitros da estos falsos negativos. Estos microorganismos reducen el nitrato a amoniaco, óxido nítrico y óxido nitroso, hidroxilamina y nitrógeno, por tanto dan negativa la prueba de los nitritos. El resultado positivo puede ser una indicación para cultivo de orina, a menos que la muestra haya sido almacenada en malas condiciones, permitiendo el crecimiento bacteriano. A pH ácido los nitritos, si existen, reaccionan con el ácido para – arsanílico para dar una sal de diazonio, que acoplándose con una benzoquinolina, produce un colorante azólico rosado y de debe leer a los 40 segundos. Los falsos positivos pueden deberse a medicamentos que colorean de rojo a la orina, los falsos negativos pueden deberse a la presencia de ácido ascorbico, al urobilinogeno y pH menor a 6.³⁷

2.2.4 SEDIMENTO URINARIO

La orina constituye uno de los datos más útiles para el diagnóstico y pronóstico de las nefropatías. Interesa solicitarlo, no sólo en los enfermos con síntomas renales o urológicos manifiestos, sino también en los hipertensos en general, en el embarazo patológico, en los procesos infecciosos etc., para descubrir la posible participación etiológica o complicación renal latente. el examen del sedimento urinario abarca corrientemente los siguientes aspectos; citología, bacteriología, existencia de cilindros y sustancias químicas precipitadas (cristales y sedimento amorfo). Conviene asegurar la no contaminación por secreciones vaginales, perineales.³⁸

³⁷ WALLACH, Jacques. Interpretación Clínica de las Pruebas de Laboratorio 4ta Edición. Pág. 495 y 496

³⁸ Idem. Pág 496.

2.2.4.1 LEUCOCITOS Y PIOCITOS

Normalmente se presentan de 0-3 leucocitos/ul. Su hallazgo mayor en el sedimento es patológico y corresponde cuando son abundantes, al mismo significado clínico que la «piuria» macroscópica: existencia de un proceso inflamatorio supurado en el riñón o vías urinarias. Sin embargo, la presencia de unos pocos leucocitos inalterados en el sedimento, especialmente en la mujer, debe considerarse normal. Por otra parte, si, además de leucocitos, existen hematíes y ambos en proporción sanguínea, el caso no puede calificarse de piuria, sino de simple hematuria.³⁹

Para interpretar el significado de una leucocituria intensa es necesario conocer el número de leucocitos y piocitos, el cual será mayor a 10 células por campo, y verificar, el grado de la proteinuria una vez filtrada o centrifugada la orina.

Estas células se encuentran en todas las infecciones renales: pielitis, pielonefritis, hidro – nefrosis, litiasis o neoplasias infectadas, pionefrosis, tuberculosis renal, etc. En las cistitis, prostatitis, uretritis, etc.

En las nefritis «médicas»; glomerulonefritis en fase aguda o en nuevos brotes de reagudización. A diferencia de las pielonefritis y nefropatías supuradas, aquí se trata de leucocituria más que de piuria, pues suelen faltar los leucocitos degenerados o piocitos, y, además, las cifras son mucho más discretas. Ciertamente, la relación leucocitos: albúmina es siempre mayor en las infecciones urológicas que en las nefritis. Puede existir, pues, piuria sin bacteriuria y, por ello, el hallazgo de aquella no autoriza, por sí sola, a concluir que existe una infección renal pero la piuria tuberculosa va «sin gérmenes» y hay que sospecharla en toda piuria estéril persistente. También existe leucocituria estéril en el riñón de fenacetina o en una infección urinaria «decapitada» por un tratamiento antibiótico. En las mujeres, que cursan un cuadro cístico pueden deberse a vaginitis y cursan sin piuria ni bacteriuria.

³⁹ ARGERI, Nelson Jorge y LOPARDO, Horacio Ángel. Op. Cit. Pág. 57.

2.2.4.2 CÉLULAS EPITELIALES

En general, tienen escaso interés clínico: en cualquier sedimento de una persona normal se observa la presencia de algunas. Cuando son abundantes y proceden de los túbulos renales corresponden a una nefropatía pircenquimatosa (nefrosis necrotizante mercurial o necrosis tubular de otro origen, glomerulonefritis con descamación tubular, etc.).

Se observan fragmentos de células columnares degeneradas o con inclusiones. Las células de pelvis renal o de vejiga aparecen en los catarros, pielitis y cistopielitis intensas. En los tumores uroteliales u otros (renales, prostáticos), acumulaciones de células atípicas con núcleo hiper cromático, nucléolos grandes o múltiples, etc.⁴⁰

2.2.4.3 PRESENCIA DE CILINDROS EN LA ORINA

La comprobación de cilindruria en un sedimento depone, por lo pronto, en favor de una nefropatía difusa, «médica», y en contra de un proceso urológico aunque naturalmente una pielitis ascendente con afectación parenquimatosa da también cilindruria

- **LOS CILINDROS HIALINOS**

Tienen la misma significación que la albuminuria en general e incluso pueden aparecer normalmente en pequeña cantidad.

- **LOS CILINDROS GRANULADOS**

Son siempre patogénicos, y lo mismo que los epiteliales de los que proceden por degeneración celular, significan descamación y lesión tubular apareciendo en la orina de los enfermos renales con afectación parenquimatosa aguda: glomerulonefritis, nefrosis necrótica, Tiene gran interés para el pronóstico observar la evolución de la cilindruria. En las formas graves y agudas son

⁴⁰ DAVIDSON, Todds. "Diagnóstico y tratamiento clínico por el laboratorio). España. 1998. Pág. 528.

especialmente números cilindros. En la nefritis aguda se normaliza antes la proteïnuria que la cilindruria, por lo que interesa examinar el sedimento aunque el enfermo no presente proteïnuria patente.⁴¹

También pueden encontrarse abundantes cilindros granulosos en los diabéticos con cetosis grave («cilindros del coma»). Los falsos cilindros granulosos son cilindros hialinos recubiertos por polvo mineral u otros detritos y tienen la misma importancia que los hialinos.

- **CILINDROS HEMÁTICOS**

Los cilindros hemáticos aparecen en las hematurias parenquimatosas renales, hematurias nefríticas y tienen igual significación suelen corresponder a lesión glomerular. Es de interés su hallazgo para excluir el origen subrenal de las hematurias urológicas en casos dudosos.

Aparte de la glomerulonefritis aguda, aparecen en la subaguda y ocasionalmente en la crónica; también, a veces, en la endocarditis bacteriana subaguda, en las colagenosis especialmente en el lupus y en la necrosis tubular aguda hemoglobinúrica⁴²

- **LOS CILINDROS HEMOGLOBÍNICOS**

Aparecen típicamente en las hemoglobinurias (genuinas, transfusional, etc.), pero en ocasiones acompañan los cilindros hemáticos y granulosos en la nefritis aguda. Las hemoglobinurias crónicas suelen acompañarse de cilindros con hemosiderina, granulos en su superficie tingibles por el azul de Prusia.⁴³

⁴¹ Idem.. Pág. 529.

⁴² Idem.. Pág. 529.

⁴³ Idem.. Pág. 530.

- **CILINDROS LEUCOCITARIOS**

Aparecen de modo característico en las pielonefritis,

- **LOS CILINDROS CÉREOS**

Son los de peor pronóstico, pues corresponden a profundos y avanzados trastornos degenerativos tubulares; se registran en las nefritis crónicas graves con insuficiencia renal, en las amiloidosis, en las dermatomiositis, lupus eritematoso, etc. Su anchura demuestra que proceden de los tubos colectores o de los túbulos dilatados por obstrucción intrarrenal.⁴⁴

2.2.4.4 PRESENCIA DE CRISTALES EN SEDIMENTO URINARIO

La existencia de cristales o depósitos inorgánicos amorfos en un sedimento urinario puede corresponder a una nefrolitiasis concomitante, pero no es, en sí, concluyente para su diagnóstico; efectivamente, hay litiasis comprobadas que no se acompañan de sedimentos demostrativos, y viceversa, la cristaluria puede existir por mucho tiempo sin que se hayan formado cálculos en los riñones, aunque se deba a una verdadera diátesis cistínica, urática. Etc.⁴⁵

Para distinguir las cristalurias diatésicas de las exógenas bastará reexaminar el sedimento de la orina después de unos días de régimen adecuado, sin sobrecarga dietética de los alimentos ricos en la sustancia respectiva.

Si el diagnóstico de litiasis es evidente cólico nefrítico, pero no poseemos el cálculo, la composición química de los cristales autoriza a concluir sobre idéntica composición que los cálculos queden, siempre que en el examen repetido del sedimento en distintos días, y han suprimidos los alimentos que pueden originarlos, haya la abundante presencia de los mismos cristales.

⁴⁴ Idem.. Pág. 531.

⁴⁵ FISCHER BACH Op. Cit. Pág 210.

- **URATOS.**

Pueden presentarse en la gota, caso en que la uricemia puede darnos, junto a los signos clínicos mayor apoyo diagnóstico. En estos casos la orina suele ser ácida que es una de las condiciones de precipitación del ácido úrico. Pueden precipitarse también uratos.⁴⁶

- **LEUCINA Y TIROSINA.**

Estos cristales aparecen en la insuficiencia hepática grave (atrofia amarilla aguda, intoxicación fosfórica, etc.).⁴⁷

- **CISTINA.**

Aparece en los enfermos con cistinosis o cistinuria,

Oxalatos.

Se precipitan especialmente en orinas ácidas. Pueden tener un origen exógeno o ser manifestación de una diátesis oxálica⁴⁸

- **FOSFATO**

Los cristales aparecen en orinas alcalinas por lo general. Se trata de fosfato calcico o as fosfato amónico-magné – sico. Este último puede aparecer por fermentación amoniacal de la urea, fuera del organismo o incluso dentro de la vejiga en pacientes con retención urinaria (prostáticos, estenóticos uretrales, etc.) infectada, y en este caso se observa ya en la orina recién emitida. Gérmenes ureolíticos frecuentes son los Proteus, pero fuertemente ureolíticos a veces lo son cepas de Corynebacterium.⁴⁹

⁴⁶ Idem. Pág 210.

⁴⁷ Idem. Pág 211.

⁴⁸ Idem. Pág 211.

⁴⁹ Idem. Pág 211.

2.2.4.5 IONOGRAMA URINARIO

Representa el conocimiento de las proporciones relativas de los electrólitos contenidos en la orina, expresados en miliequivalentes por litro de los distintos aniones y cationes.

Permite enjuiciar la situación metabólica del organismo en lo que respecta al metabolismo mineral y ácido-básico, y por otra parte informa sobre la función renal.⁵⁰

- CLORUROS

La determinación de los cloruros en la orina no suele utilizarse en clínica y sólo tiene valor si se practica durante varios días seguidos, en la orina de 24 horas y en enfermos sometidos a régimen cuyo contenido salino sea conocido. Los valores normales varían de 5 a 20g en 24 horas (80 y 200 g de Cl y Na).⁵¹

- POTASIO EN ORINA (potasuria)

La eliminación urinaria de este catión varía dentro de amplios límites, según la dieta. Con una alimentación mixta corriente, la potasuria normal oscila entre 1,5 y 3,5 g en 24 horas, es decir, no sobrepasa los 90 mEq al día.⁵²

- FÓSFORO EN ORINA (fosfaturia)

La eliminación media suele ser, normalmente, de 1 g en 24 horas, pero puede variar dentro de amplios límites según la dieta: de 0,5 a 3 g por día.⁵³

- CALCIURIA

La eliminación diaria normal de calcio por la orina varía entre 2,5 y 20 mEq, o

⁵⁰ Idem. Pág.212.

⁵¹ Idem. Pág 212.

⁵² Idem. Pág 212.

⁵³ Idem. Pág 212.

sea, aproximadamente, entre 55 y 220 mg.⁵⁴

2.2.4.6 OSMOLURIA

La presión osmótica global de la orina depende de su concentración en sustancias osmóticamente activas, es decir, Se expresa actualmente en osmoles por litro.

Normalmente, la concentración osmolar máxima de la orina alcanza los 1000 o 1300 miliosmoles/L, que corresponde a una densidad máxima de 1040. Siendo la mínima concentración de 50 miliosmoles/L, que representa una densidad de 1001.⁵⁵

2.3 EXAMEN MICROBIOLÓGICO DE LA ORINA

La infección de las vías urinarias es una infección en la uretra, vejiga o riñones. Si no se trata debidamente, puede lesionar los riñones o causar una infección en la sangre.

2.3.1 BACTERIURIA E INFECCIÓN URINARIA

Se entiende como bacteriuria la eliminación de gérmenes por la orina recientemente emitida. La presencia de bacterias o bacteriuria en la orina es un hecho frecuente. La turbidez que presentan estas orinas se debe exclusivamente a la cantidad de gérmenes que hay en suspensión.⁵⁶

Bacteriuria no es sinónimo de infección ni de inflamación urinaria. La bacteriuria puede existir sin estar asociada a ningún parámetro que indique inflamación. El término de bacteriuria sólo debe ser empleado para designar ese hecho en forma exclusiva sin ninguna otra preestimación de criterio que insinúe una causa que la provoque.

⁵⁴ Idem. Pág 212.

⁵⁵ FISCHE BACH Op. Cit. Pág 210.

⁵⁶ <http://www.geocitis.com/rodriguezlanza/iul.htm>

La existencia de bacterias en la orina recientemente emitida se presta a una serie de variantes que debe ser considerada en cada oportunidad. Se ha estipulado una concentración teórica de gérmenes de > 100.000 col/ml. de orina del chorro medio de una micción, sobre la que la bacteriuria sería significativa y se asociaría a probable infección.

El urotelio no se inflama. Cuando es agredido se descama y se elimina con la orina en el sedimento en forma de células muertas. Los tejidos suburoteliales formados por tejido conjuntivo, vasos sanguíneos, linfáticos y nervios, son los únicos capaces de inflamarse y permitir salir la urina leucocitos muertos (piuria) y eritrocitos (hematuria).

La bacteriuria solo significa la presencia de bacterias en la orina y puede ser denominada infección urinaria pero por si sola no se debe concluir con ningún diagnóstico de inflamación urinaria sino se acompaña de otros signos y/o síntomas que la acompañen como la piuria, la hematuria y los síntomas irritativos.

La inflamación puede tener un origen infeccioso o no infeccioso. La bacteriuria puede o no estar acompañada de inflamación del aparato urinario. Si hay infección urinaria los gérmenes aparecen en la orina y puede no haber ningún signo o síntoma de inflamación.

Pueden estar disminuidos de cantidad o ausentes por:⁵⁷

- un tratamiento antibiótico previo.
- acción de algún antiséptico instilado.
- retención vesical insuficiente.
- Tuberculosis.
- baja densidad de la orina (< 1.003).
- Formas L o Protoplastos.
- Obstrucción ureteral o piélica completa.
- Gérmenes que requieren investigación específica (Clamydias, etc.).

⁵⁷ <http://www.geocitis.com/rodriguezlanza/iul.htm>

La enfermedad infecciosa del aparato urinario se produce cuando los gérmenes violan la integridad del urotelio y penetran en el tejido suburotelial.

Los gérmenes pueden llegar al tejido suburotelial por vía vascular sanguínea o linfática, o haciéndolo en forma directa por una agresión traumática (cateterismo, punción séptica).

Para que la infección urinaria ocurra son necesarias condiciones predisponentes:⁵⁸

1. Una mayor agresividad bacteriana para romper la barrera urotelial.
2. La mayor agresividad bacteriana se incrementa con la mayor concentración de los gérmenes.
3. Una mayor permeabilidad del urotelio sea por lesión directa, destrucción de sus uniones celulares o por disminución de su inmunidad local.
4. Un aumento sostenido de la presión dentro de la vía urinaria con respecto a la resistencia de salida de la orina.

2.3.2 ETIOPATOGENIA

Es llamativo el hecho de cómo la presencia de bacterias en la orina puede no estar acompañada de ninguna manifestación de inflamación.

Esa falta de manifestaciones de inflamación puede estar explicada por:⁵⁹

- a) Una disminución del número y la virulencia de los gérmenes.
- b) A la indemnidad urotelial y a las defensas inmunitarias del tejido mesenquimal que sostiene al urotelio.

⁵⁸ <http://www.geocitis.com/rodriguezlanza/iul.htm>

⁵⁹ JAWEST, Ernest y MELNICK J.L "Microbiología Médica". 14va Ed. México D.F. 1992. Manual moderno S.A. de CV. Pág. 13

- c) A presiones intraurinaria bajas (por debajo de 30 cm. de agua en forma sostenida).

Las condiciones determinantes lo establecen el número y agresividad de los gérmenes.

Las condiciones predisponentes la forman la resistencia del urotelio a la penetración bacteriana y a la presión dentro de la vía excretora.

Ha sido comprobado que si la presión dentro de la vía excretora (conteniendo bacterias) se sostiene por encima de los 40 cm. de presión de agua, la inflamación por infección es inevitable.

Toda obstrucción orgánica o funcional de la vía excretora facilita la pululación y agresividad de los gérmenes.

La entrada de los gérmenes en el aparato urinario puede hacerse: ⁶⁰

- a) Por vía sanguínea y filtrada en el riñón proveniente de focos intestinales, dentarios, amigdalinos o cutáneos
- b) Por vía ascendente, subiendo por la uretra hacia la vejiga, o a través de una instrumentación (punción, cateterismo o cistoscopia).

La infección de la vejiga no da fiebre. Pero sí la da cuando los paréquimas que drenan en ella deben vencer una presión mayor de 40 cm. de agua en forma sostenida.

2.3.3 ETIOLOGÍA

Los gérmenes capaces de provocar infecciones urinarias son: ⁶¹

- a) Gram negativos: (enterobacterias) Escherichia coli Klebsiella, Proteus,

⁶⁰ Idem Pág. 13

⁶¹ Idem Pág. 13

Pseudomonas , Serratia y Citrobacter.

b) Gram positivos: *Streptococo faecalis* y *Estafilococo faecalis*.

2.3.4 INFECCIONES URINARIAS EN MUJERES EMBARAZADAS

Si la uretra o la vejiga están infectadas, tal vez sienta dolor o ardor cuando orina, tenga dolor o sensación de que la vejiga está llena, o quizás necesite orinar con frecuencia. Si tiene los riñones infectados, tal vez tenga dolor de espalda o en los costados justo encima de la cintura. También puede tener escalofríos que le hacen temblar, fiebre o sudores, o sentirse enfermo del estómago. La orina puede tener olor fuerte o hasta presentar sangre o pus. Si las bacterias invaden la uretra, de allí pueden pasar a la vejiga y los riñones. Si las bacterias no salen al orinar, pueden multiplicarse y causar una infección. Las bacterias que causan estas infecciones generalmente provienen de las heces o de la piel que está alrededor de la abertura de la uretra. Las infecciones de las vías urinarias son más comunes en mujeres que empiezan su vida sexual, están embarazadas o acaban de pasar la menopausia. Son también más comunes en los hombres y en las mujeres que tienen diabetes o cálculos renales. Los niños también pueden contraer infecciones de las vías urinarias.⁶²

Las infecciones urinarias son muy frecuentes y, debido a que los agentes causales son a veces idénticos o semejantes a las bacterias de la flora normal (por ejemplo, *Escherichia coli*), hay que ser muy cuidadosos en el análisis bacteriológico. Puesto que la orina es capaz de mantener un importante crecimiento bacteriano en muchas condiciones, en infecciones urinarias frecuentemente se encuentran altas cantidades de células. En el mayor de los casos, la infección se presenta como consecuencia de un microorganismo que asciende de la uretra y que proviene del exterior. Ocasionalmente, aun la vejiga puede llegar a infectarse, las infecciones del tracto urinario son las que más se adquieren en los nosocomios (hospitales). Poblaciones mayores a 100.000 bacterias por mililitro pueden dar pautas de infección urinaria. Lo más frecuente son los miembros de las bacterias enterales, constituyendo la *E.coli* cerca del

⁶² <http://www.geocitis.com/rodriguezlanza/iul.htm>

90% de los casos. Otros microorganismos incluyen a la *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Proteus*, *Pseudomonas* y *Streptococcus faecalis*. La *Neisseria gonorrhoeae*, el agente causal de la gonorrea, no prolifera en la orina, sino en el epitelio de la uretra, y debe diagnosticarse por métodos diferentes.

Para determinar bacteriuria por contaminación y por infección, se utiliza el término de bacteriuria significativa. Inicialmente se consideraba como diagnóstico de I.T.U. una cifra superior o igual a 100.000 UFC/ml de orina emitida espontáneamente. Si bien es cierto que esta cifra tiene una muy buena especificidad para I.T.U., su sensibilidad es muy baja, ya que alrededor de un tercio de pacientes sintomáticas con recuentos entre 100 y 100.000 UFC/ml. Esto se observa preferentemente en el caso de gérmenes Gram positivos como el *Staphylococcus saprophyticus*. Por esta razón, algunos autores consideran cifras mayores a 100 UFC/ml, en mujeres sintomáticas, como indicativos de I.T.U. En hombres sintomáticos en que la contaminación es menos probable se considera una cifra de 1.000 UFC/ml como sugerente de infección. El diagnóstico de bacteriuria significativa en pacientes cateterizados, se hace con cifras mayores de 100 UFC/ml.⁶³

Debido al número relativamente alto de microorganismos que se encuentran en una infección urinaria de importancia, el examen microscópico directo de la orina es de gran valor y se recomienda como parte del procedimiento básico mediante la tinción de Gram. Es muy importante el contar el número de bacterias para el diagnóstico. Más de 100.000 bacterias (más de 100 colonias) son significativas, pero incluso más de 100 en ciertas circunstancias (mujer sintomática) también pueden serlo. Han de hacerse dos o tres muestras con más de 100.000 bacterias/ml de una sola especie para iniciar el tratamiento en caso de pacientes asintomáticos. En el aspirado suprapúbico más de 100 bacterias/ml suponen infección.

Con la tinción de Gram efectiva podemos atrevernos a hablar de infección aunque, de todas formas, lo ideal es el cultivo. Se inocula la orina en la superficie de dos placas de agar para posteriormente, tras incubar, hacer el

⁶³ <http://www.geocitis.com/rodriguezlanza/iul.htm>

recuento de las colonias. Una de las placas tendrá agar sangre y la otra azul de metileno con eosina para detectar gram negativos.⁶⁴

2.3.5 ESTRUCTURA DE LA CÉLULA PROCARIOTA

La célula procariota es más simple que la célula eucariota a cualquier nivel, con una excepción: la pared celular puede ser más compleja.

2.3.5.1 NUCLEOIDE

El nucleoide procariota, equivalente al núcleo eucariota puede observarse mediante microscopio de luz. El material genético de una célula (ácido desoxirribonucleico o ADN) se conoce como genoma. Las estructuras moleculares básicas de los ADN procariótico y eucariótico son indistinguibles. Ambos se componen de dos cadenas helicoidales de nucleótidos de purina y pirimidina, unidas entre sí por enlaces hidrógeno para formar una doble hélice. Así como el ADN eucariótico organizado en varias moléculas individuales (cromosomas), el genoma procariótico consiste normalmente en una sola molécula circular. El ADN procariótico no está unido a histonas ni organizado en pequeños cromosomas. La ausencia de membrana nuclear, coloca a la molécula de ADN procariótico dentro del citoplasma, en un área que se conoce como nucleoide.⁶⁵

Desde hace tiempo se ha considerado que el nucleoide de las células bacterianas consiste en una sola molécula circular continua, con un peso molecular aproximado de 3×10^9 .

2.3.5.2 ESTRUCTURA CITOPLÁSMICA

Todas las células, tanto las eucarióticas como las procarióticas, están rodeadas por la MEMBRANA CITOPLASMÁTICA o celular. Ésta membrana se compone primariamente de fosfolípidos dispuestos en dos capas. Actúa como barrera

⁶⁴ <http://www.geocitis.com/rodriguezlanza/iul.htm>

⁶⁵ JAWEST, Ernest y MELNICK J.L Op. Cit. Pág. 14

que impide la fuga de sustancias hacia el exterior de la célula y la entrada de materiales indeseables, la característica de esta membrana o bicapa lipídica es semejante en las eucariotas y en las procariotas. Las células procariotas carecen de plásticos autónomos, como mitocondrias y cloroplastos situadas en la membrana citoplasmática.⁶⁶

La membrana citoplásmica de las bacterias (también conocida como membrana celular) es visible en las micrográficas electrónicas de corte bacterianos finos. Es una membrana unitaria clásica compuesta de fosfolípidos y proteínas. Las membranas de las procariotas se distinguen de las células eucariotas por la ausencia de esteroides, con la única excepción de los micoplasmas que los incorporan en sus membranas en sus membranas, como el colesterol, cuando proliferan en un medio que contiene esteroides.

Invaginaciones contorneadas de la membrana citoplasmática forman estructuras especializadas denominadas mesosomas. Hay dos tipos: los mesosomas de tabique, los cuales forman paredes transversales durante la división celular y los mesosomas laterales. El cromosoma bacteriano (DNA) está adherido al mesosoma. En bacterias con sistemas transportadores de electrones excepcionalmente activos se encuentran invaginaciones más extensas de la membrana citoplasmática en el interior del citoplasma (por ejemplo, en bacterias fotosintéticas y en las fijadoras de nitrógeno).

2.3.5.3 FUNCIÓN

Las principales funciones de la membrana citoplasmática son: 1) permeabilidad selectiva y transporte de solutos; 2) Transporte de electrones y fosforilación oxidativa en especies aeróbicas; 3) excreción de exoenzimas hidrolíticas; 4) portar a las enzimas y las moléculas parteadoras que intervienen en la biosíntesis del DNA de los polímeros de la pared celular y de los lípidos de la membrana y 5) portar a los receptores de membrana y otras proteínas de los sistemas quimiotácticos y otros de transducción de señal.⁶⁷

⁶⁶ Idem. Pág. 15

⁶⁷ Idem. Pág. 17

Por lo menos 50% de la membrana citoplasmática debe permanecer en estado semilíquido para que ocurra el crecimiento celular. A temperaturas bajas esto se logra principalmente mediante grandes aumentos en la síntesis e incorporación de ácidos grasos insaturados.

La membrana citoplasmática forma una barrera hidrófoba impermeable a la mayor parte de las moléculas hidrófilas. Sin embargo, existen varios mecanismos (Sistemas de transporte) que permiten a la célula transportar nutrientes al interior y expulsar productos de desecho al exterior.

2.3.5.4 ENVOLTURA O PARED CELULAR

Las capas de la envoltura celular ubicadas entre la membrana citoplásmica y la cápsula se conocen colectivamente como la “pared celular”. En las bacterias grampositivas está constituida principalmente por peptidoglucano y ácido teicoico (véase adelante); en las gramnegativas, la pared celular incluye al peptidoglucano y a la membrana externa.⁶⁸

La presión osmótica interna de la mayor parte de las bacterias fluctúa entre 5 a 20 atmosferas como resultado de una concentración de solutos adquiridos mediante transporte activo. En casi todos los medios esta presión sería suficiente para hacer estallar a la célula si no fuese por la presencia de una pared celular con enorme resistencia a la tensión. La pared celular bacteriana debe su resistencia a una envoltura compuesta por una sustancia denominada mureína, mucopéptido o peptidoglucano (todos son sinónimos).

Las bacterias se clasifican como gram positivas o gram negativas según su respuesta a la técnica de tinción de Gram. Este procedimiento de tinción diferencial, denominado así por el histólogo Christian Gram, quien lo desarrolló en un intento por teñir bacterias en los tejidos infectados.

Además de la protección osmótica que proporciona, la pared celular desempeña una función esencial en la división celular y funciona, además,

⁶⁸ Idem. Pág. 18

como un primordio para su propia biosíntesis. Varias capas de la pared son los sitios de importantes determinantes antigénicos y un componente (el lipopolisacárido de las paredes celulares gram negativas) es responsable de la actividad inespecífica de endotoxina de la bacteria gram negativa. En general, la pared celular tiene permeabilidad inespecífica; sin embargo, una capa de la pared de las células gram negativas, la membrana externa impide el paso de moléculas relativamente grandes

La Capa de peptidoglucano Éste es un polímero complejo que consta, para fines descriptivos, de tres partes: una columna vertebral compuesta de N-acetilglucosamina y ácido N-acetilmurámico Murámico alternados; un grupo de cadenas tetrapeptídicas laterales idénticas adherida al ácido N-acetilmurámico y un conjunto de puentes peptídicos transversales también idénticos. La columna vertebral es la misma en todas las especies bacterianas; las cadenas tetrapeptídicas laterales y los puentes peptídicos transversales varían de especie a especie.

Las cadenas tetrapeptídicas laterales de todas las especies tienen, no obstante, ciertas características importantes en común. Casi todas tiene L-alanina en la posición 1 (adherida al ácido N-acetilmurámico); D-glutamato o algún sustituto en la posición 2; y D-alanina en la posición 4. La posición 3 es la más variable. La mayor parte de las bacterias gram negativas tienen ácido diaminopimérico en esta posición, al cual se liga la lipoproteína de la pared celular descrita adelante. Las bacterias gram positivas pueden tener ácido diaminopimérico, L-lisina, o cualquiera de otros L-aminoácidos en la posición 3.⁶⁹

El ácido diaminopimérico es un elemento singular en las paredes de las células procariotas y el precursor inmediato de la lisina en la biosíntesis bacteriana de dicho aminoácido. Los mutantes bacterianos bloqueados en la vía biosintética antes del ácido diaminopimérico crecen normalmente cuando se les adiciona este ácido en el medio, pero se lisan al administrárseles sólo L-lisina, ya que continúan su crecimiento, pero están incapacitados para sintetizar específicamente nuevo peptidoglucano de la pared celular.

⁶⁹ Idem. Pág. 19

El hecho de que todas las cadenas de peptidoglucano estén unidas transversalmente significa que cada capa de peptidoglucano es una sola molécula gigante. En las bacterias gram positivas pueden haber hasta 10 capas de peptidoglucano, el cual representa más de 50% del material más de 50% del material de la pared celular; en las gram negativas al parecer existen solo 1 o 2 capas que constituyen de 5 a 10% del material de la pared. Las bacterias deben sus formas, características en algunas especies en particular, a la estructura de sus paredes celulares.

2.3.5.5 ENVOLTURA CELULAR GRAM POSITIVA

La envoltura de las células gram positivas es relativamente simple: está constituida por 2 a 3 capas: la membrana citoplasmática, una capa de peptidoglucano gruesa y en algunas bacterias una capa externa llamada cápsula.⁷⁰

La mayor parte de las paredes celulares gram positivas contienen considerables cantidades de ácido teicoico teicurónico, los cuales representan hasta 50% del peso seco de la pared y 10% del peso seco total de la célula. Además, algunas paredes gram positivas pueden contener moléculas de polisacáridos.

1. Ácidos teicoico y teicurónico: Estos son polímeros hidrosolubles que contienen ribitol o residuos de glicerol unidos por enlaces fosfodiéster y que tiene uno o más aminoácidos o azúcares sustitutos. Hay dos tipos de ácidos teicoicos; el ácido teicoico de la pared, unido de manera covalente al peptidoglucano, y el ácido teicoico de la membrana (ácido lipoteicoico), unido por covalencia al glucolípido de la membrana y concentrado en los mesosomas. Algunas especies gram positivas carecen de ácidos teicoicos de la pared, pero al parecer todas las especies contienen ácidos teicoicos de la membrana.

Los ácidos teicoicos constituyen importantes antígenos de superficie en las

⁷⁰ Idem. Pág. 20

especies gram positivas que los poseen, y su accesibilidad a los anticuerpos se ha considerado como evidencia de que se encuentran en la superficie exterior de la capa de peptidoglucano. Sin embargo, su actividad a menudo se incrementa por la digestión parcial del peptidoglucano; de aquí que la mayor parte del ácido teicoico puede yacer entre la membrana citoplásmica y la capa de peptidoglucano para extenderse posiblemente hacia arriba a través de los poros de esta última. Los ácidos teicoicos enlazan al ion magnesio e interviene en el suministro de éste a la célula. También intervienen en el funcionamiento normal de la envoltura celular.

2.3.5.6 COMPONENTES ESPECIALES DE LAS PAREDES CELULARES GRAM NEGATIVAS

Esta es una estructura muy compleja de múltiples capas. La membrana citoplásmica (denominada membrana interna en la bacterias gram negativas), está rodeada por una capa laminar sencilla de peptidoglucano a la cual esta anclada un capa compleja denominada membrana externa.⁷¹

También puede estar presente una cápsula como envoltura mas externa. El espacio entre las membranas interna y externa se denomina espacio periplásmico.

Las paredes celulares de las bacterias gram negativas contienen tres componentes que yacen exteriores a la capa de peptidoglucano: lipoproteína, membrana externa y lipopolisacárido.

1 LIPOPROTEÍNA: Las moléculas de una lipoproteína rara sirven para entrecruzar las capas de la membrana exterior y del peptidoglucano. La lipoproteína contiene 57 aminoácidos que representan repeticiones de una secuencia de 15 aminoácidos; es un péptido enlazado a los residuos de ácido diaminopimélico de las cadenas tetrapeptídicas laterales del peptidoglucano. El componentes lipídico, que consiste en un diglicérido tioéter ligado a una cisteína terminal, se inserta de manera no covalente en al membrana externa.

⁷¹ Idem. Pág. 22

Su función de la lipoproteína es estabilizar la membrana externa y fijarle en la capa del peptidoglucano.⁷²

2 MEMBRANA EXTERNA: La membrana externa es una estructura de dos capas; su hoja interna semeja en composición a la de la membrana citoplásmica, mientras los fosfolípidos de la hoja externa son sustituidos por moléculas de lipopolisacárido. Como resultado, las capas de esta membrana son asimétricas, y las propiedades de esta bicapa difieren considerablemente de las de una membrana biológica simétrica, como la membrana citoplasmática.⁷³

La capacidad de la membrana externa para excluir moléculas hidrófobas constituye una característica poco común entre las membranas biológicas y actúa para proteger a la célula (en el caso de las bacterias entéricas) de las sales biliares. Debido a su naturaleza lipídica, sería de esperarse que la membrana externa tiene canales especiales constituidos por moléculas de proteína denominadas porinas, que permiten la difusión pasiva de compuestos hidrófilos de bajo peso molecular como azúcares, aminoácidos y ciertos iones. Las moléculas grandes de antibióticos penetran la membrana externa de manera relativamente lenta, o cual explica la gran resistencia a los antibióticos de las bacterias gram negativas. La permeabilidad de la membrana externa varía ampliamente de una especie gram negativa a otra.

3. LIPOPOLISACÁRIDO (LPS): El lipopolisacárido de las paredes celulares de las bacterias gram negativas consiste en un complejo lipídico denominado lípido A, al cual se adhiere un polisacárido constituido por un centro y una serie terminal de unidades repetidas.⁷⁴

El lípido A consiste en unidades del disacárido glucosamina fosforilado al cual está unidos varios ácidos grasos de canal larga. El ácido b-hidroximirístico, un ácido graso con 4 átomos de carbono siempre está presente y es exclusivo de

⁷² Idem. Pág. 22

⁷³ Idem. Pág. 23

⁷⁴ Idem. Pág. 23

este lípido; los otros ácidos grasos, junto con los grupos sustitutos en los fosfatos, varían según la especie bacteriana.

El LPS está adherido a la membrana externa mediante enlaces hidrófobos. Se sintetiza sobre la membrana citoplásmica y se transporta a su posición final exterior. Se requiere la presencia de los LPS para que numerosas proteínas de membrana externa efectúen su función.

No todas las bacterias gram negativas tienen membranas externas del LPS conformadas por un número variable de unidades repetidas de oligosacáridos;

4. ESPACIO PERIPLÁSMICO: El espacio entre la membrana interna y la externa, denominado espacio periplásmico, contiene la capa de murina y una solución de proteínas similar a un gel. El espacio periplásmico es aproximadamente 20 a 40% del volumen celular, lo que está lejos de ser insignificante. Las proteínas periplásmicas incluyen proteínas de enlace para sustratos específicos (por ejemplo, aminoácidos, azúcares, vitaminas e iones). Las bacterias por sí solas poseen numerosas autolisinas, enzimas hidrolíticas que atacan al peptidoglicano, como las glucosidasas, amidasas y peptidasas. Estas enzimas presuntamente desempeñan funciones esenciales en el desarrollo y en la división celular, pero su actividad es más aparente durante la disolución de células muertas (autólisis).⁷⁵

2.3.5.7 TINCIONES

Las tinciones se combinan químicamente con el protoplasma bacteriano; si la célula no ha muerto, el proceso mismo de la tinción termina por hacerlo. El método, por consiguiente, es bastante drástico y puede producir artificios.

- **TINCIÓN EN GRAM**

Una característica taxonómica importante de las bacterias es su respuesta a la tinción de Gram. Esta característica parece ser fundamental, ya que la

⁷⁵ Idem. Pág. 24

reacción a la tinción se correlaciona con muchas otras propiedades morfológicas en maneras relacionadas filogenéticamente. Un microorganismo potencialmente gram positivo puede verse como tal solamente cuando concurren un conjunto particular con condiciones ambientales en un cultivo joven.

El procedimiento para la tinción de Gram se inicia con la aplicación de un colorante básico, el cristal violeta. Luego se aplica una solución de yodo; en este momento todas las bacterias se tiñen de azul. A continuación, las células se tratan con alcohol. Las células gram positivas retienen el complejo cristal violeta – yodo y permanecen de color azul; en cambio las gram negativas se decoloran completamente por alcohol. Por último, se aplica un colorante de contraste (como la safranina, que es un colorante rojo); de esta manera, las células gram negativas, previamente decoloradas, toman el colorante de contraste y las células gram positivas ahora aparecen púrpuras⁷⁶.

3. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La propuesta de la aplicación del método de tinción de Gram adicionado con ácido acético al 0.1 N o Tinción Gram Acética basado en la tinción de Gram convencional, prueba básica de identificación de bacterias, plantea la posibilidad de su aplicación en la determinación de bacterias gram positivas o negativas en sedimento urinario, es decir para complementar el análisis bioquímico clínico de orina, para lo cual se pone en manifiesto con la práctica de todas las muestras de orina procedentes de una población de mujeres embarazadas durante el último trimestre del 2002.

4. JUSTIFICACIÓN

El análisis de orina para la determinación y confirmación de infección urinaria en un laboratorio de análisis clínico contempla el análisis físico y químico de la orina y la observación microscópica de sedimento urinario para poder encontrar la presencia de bacterias. La propuesta que se plantea en el presente ensayo

⁷⁶ Idem. Pág. 25.

es la determinación de bacterias en orina realizando:

Aplicación del método de tinción Gram al sedimento de la muestra de orina centrifugada y aplicación del método que se pone a prueba; es decir tinción Gram adicionado con Ácido Acético 0.1N al sedimento de orina.

5. HIPÓTESIS.

La tinción de Gram modificado con ácido acético al 0.1 N facilita la visualización de la presencia de las bacterias gram positivas y gram negativas en el sedimento de orina de una población de mujeres embarazadas con infección del tracto urinario.

6. OBJETIVOS DE INVESTIGACIÓN

6.1 OBJETIVO GENERAL

- MEJORAR LA VISUALIZACIÓN DE BACTERIAS GRAMPOSITIVAS Y GRAMNEGATIVAS EN EL SEDIMENTO URINARIO UTILIZANDO LA TINCIÓN GRAM MODIFICADA CON ADICIÓN DE ÁCIDO ACÉTICO 0.1 N.

6.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- ESTABLECER LA COMPARACIÓN EN EL MÉTODO MICROSCÓPICO UTILIZANDO LA TINCIÓN GRAM Y LA TINCIÓN GRAM ADICIONADO CON ÁCIDO ACÉTICO AL 0.1 N EN SEDIMENTO URINARIO
- DETERMINAR LA EFICACIA ENTRE EL MÉTODO MICROSCÓPICO DE TINCIÓN GRAM Y TINCIÓN GRAM ADICIONADO CON ÁCIDO .ACÉTICO AL 0.1 N EN SEDIMENTO URINARIO.

7. METODOLOGÍA

El trabajo realizado es de tipo experimental y prospectivo.

7.1 ESTANDARIZACIÓN DEL MÉTODO DE GRAM ADICIONADO CON ÁCIDO ACÉTICO AL 0.1 N

La estandarización a partir de bacterias Gram positivas y Gram Negativas para la determinación de las diferencias encontradas entre el método de tinción Gram y el método modificado con ácido acético al 0.1 N en el microscopio.

7.2 MÉTODOS, TÉCNICAS Y MATERIALES

El presente trabajo, se ha desarrollado toda la fase práctica y experimental en el laboratorio de la asistencia pública situado en la Av Simón Bolívar N° 1519 de la ciudad de La Paz.

- **MATERIAL BIOLÓGICO**

Se utilizó cepas de control de cultivos: bacilos gramnegativos, cocos grampositivos, sedimento urinario con presencia de bacteriuria.

- **MATERIAL DE VIDRIO**

Dos láminas de vidrio por cada paciente, previa identificación de datos personales.

- **REACTIVOS**

Acido acético 0.1 N

Se ha utilizado portaobjetos en duplicado por cada paciente, uno para colorearlo con tinción gram y otro con tinción gram más ácido acético 0.1N.

- **MÉTODOS**

Tinción gram y tinción gram acética.

7.3 PROCEDIMIENTO Y TÉCNICA

Luego de realizar el examen físico y químico de la orina, se procede de la siguiente manera:

- 1.- Centrifugar la muestra de orina 10min a 2500 RPM.
- 2.- Obtener el sedimento urinario.
- 3.- Colocar 50 UL de sedimento en portaobjetos previamente identificado.
- 4.- Fijar la muestra a temperatura ambiente por 30min.
- 5.- Realizar la tinción Gram normal.
- 6.- Pasos de la tinción Gram:

Cubrir el porta objetos con el colorante primario por un minuto cristal violeta luego lavar con agua corriente.

Cubrir el porta objetos con solución de lugol un minuto (mordiente) lavar con agua corriente.

Cubrir el porta objeto con alcohol-acetona 10seg (de colorante) lavar con agua corriente.

Cubrir el porta objeto con el colorante de contraste por un minuto (safranina o fuccina fucada) luego lavar con agua corriente.

Para la tinción Gram adicionada con ácido acético 0.1N se siguen los mismos pasos hasta el inciso "C" y en el paso de la coloración del contraste de safranina se le agrega 50UL de ácido acético de 0.1N durante un minuto se procede con el lavado.

Dejamos secar a temperatura ambiente.

Observar al microscopio con objetivo inmersión.

7.4. APLICACIÓN DEL MÉTODO ESTANDARIZADO EN MUESTRAS OBTENIDAS

Luego de estandarizar el método, proceder a determinar bacterias de sedimentos de orina de la población en estudio con la técnica de Gram Acética al 0.1N.

7.5 TIPO DE ESTUDIO Y MUESTREO

El presente estudio es del tipo experimental, cuyo método de muestreo, está basado de acuerdo a la programación de la población de mujeres embarazadas del Seguro Básico de Salud con infección urinaria. Atendiendo a la población existente en el distrito urbano norte de la ciudad de La Paz y la distribución de laboratorios existentes en el mismo.



7.6. POBLACIÓN Y ÁMBITO DE ESTUDIO

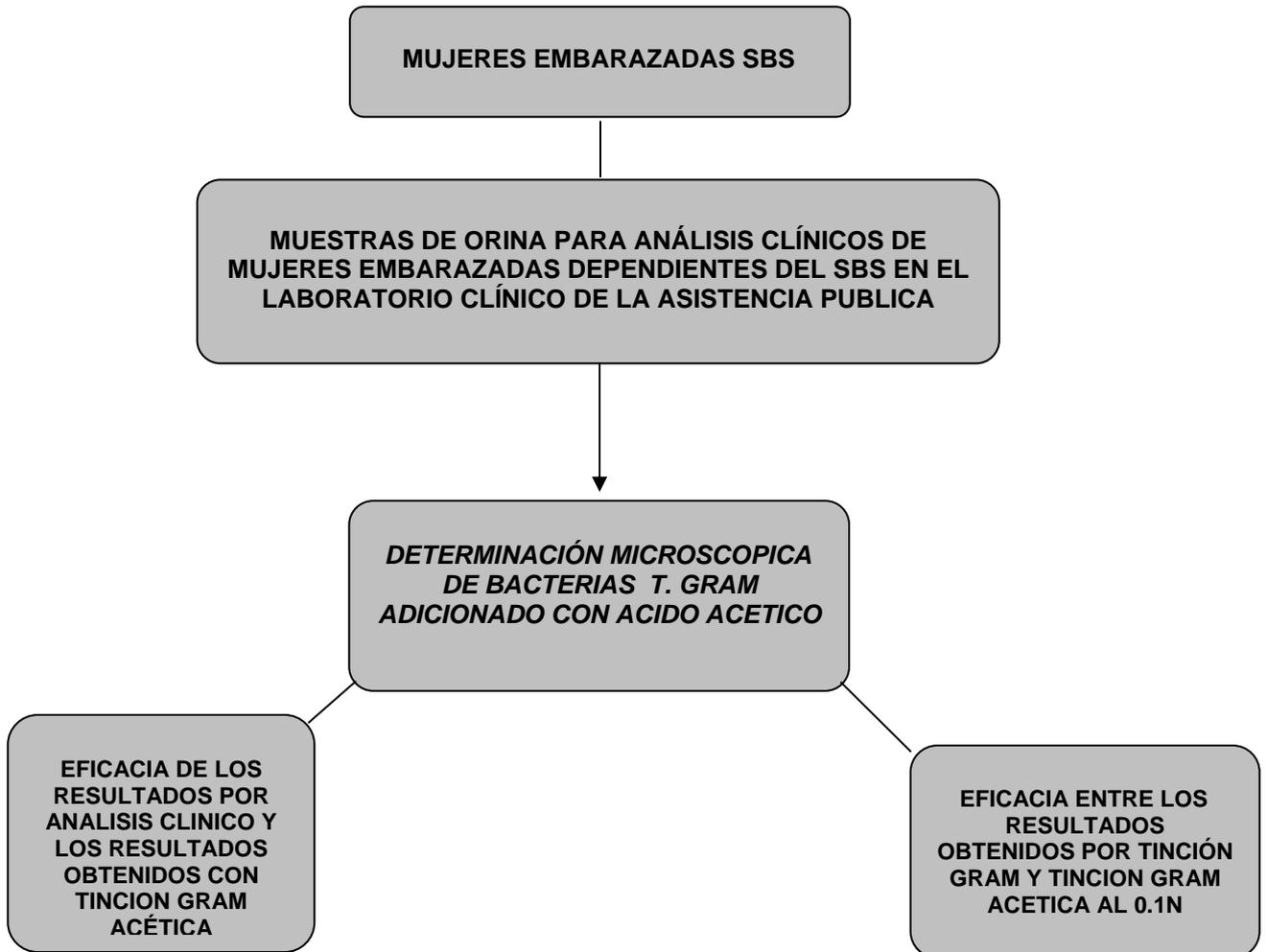
Mujeres Embarazadas del Seguro Básico de Salud diagnosticadas en el Laboratorio Clínico de la Asistencia Pública. La Asistencia Pública esta ubicada en el Distrito Urbano de Salud 2 y tiene una cobertura de atención media de 15.000 por año. Pero para realizar una programación aproximada vamos a basarnos en la población del Distrito de Salud Urbano Norte;

Población del Distrito Urbano Dos: 256.634 Habitantes

Programación Anual al 1%: 2566 habitantes

Cobertura de casos por centro de salud trimestral (Asistencia Pública): 256

Las actividades se realizaron de acuerdo al siguiente flujograma:



8. ANÁLISIS DE RESULTADOS

Los resultados encontrados luego de haber procesado 269 muestras durante los meses de octubre a diciembre, habiendo comenzado en septiembre para la estandarización del método se muestran en seguida, los comentarios de los mismos se los realizan posteriormente.

8.1 RESULTADO GENERAL DEL MÉTODO EMPLEADO

La determinación de bacterias en sedimento urinario con el método de tinción gram acética es:

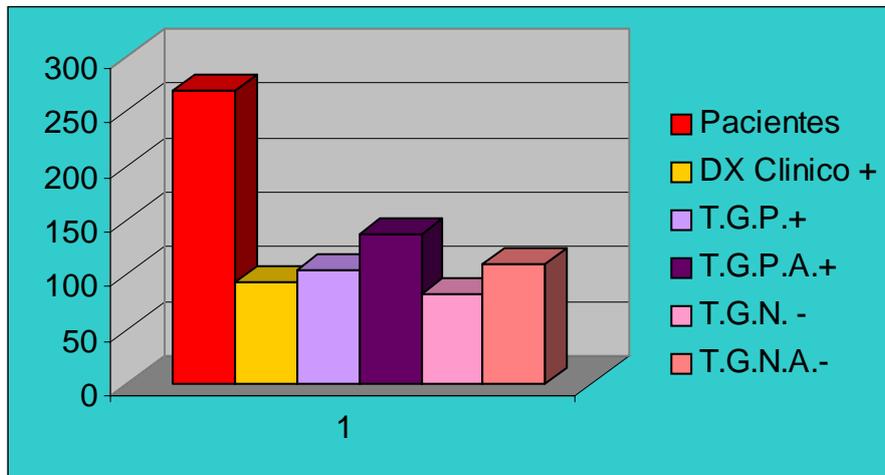
8.1.1 RESULTADOS GENERALES

TABLA Nº 1

RESULTADOS GENERALES DE LA DETERMINACIÓN DE BACTERIAS GRAM POSITIVAS Y GRAM NEGATIVAS EN MUESTRAS DE SEDIMENTO URINARIO DE MUJERES EMBARAZADAS DURANTE LOS MESES DE OCTUBRE NOVIEMBRE Y DICIEMBRE DEL 2002	
MUESTRAS PROCESADAS	269
MUESTRAS CON INFECCIÓN URINARIA	94
MUESTRAS SIN INFECCIÓN URINARIA	175
MUESTRAS CON BACTERIAS GRAM POSITIVAS	105
MUESTRAS CON BACTERIAS GRAM POSITIVAS A. ACETICO	137
MUESTRAS CON BACTERIAS GRAM NEGATIVAS	82
MUESTRAS CON BACTERIAS GRAM NEGATIVAS A. ACÉTICO	109

Los gráficos de esta tabla son:

GRÁFICO Nº 1

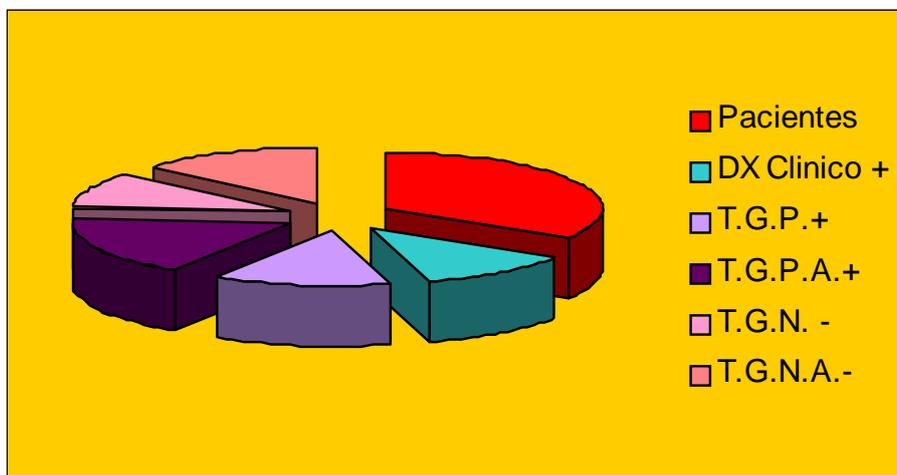


REFERENCIAS

- Pacientes: número de muestras procesadas
- DX Clínico +: las muestras con infección urinaria
- T.G.P. +: bacterias gram positivas
- T.G.P.A.+: bacterias gram positivas con ácido acético
- T.G.N.-: bacterias gram negativas
- T.G.N.A.-: bacterias gram negativas con ácido acético

El siguiente gráfico representan los mismos resultados en porcentaje:

GRÁFICO 2



8.1.2 RESULTADOS EFICACIA TINCIÓN GRAM ACÉTICA

TABLA 2

DETERMINACIÓN DE LA EFICACIA DE LA TINCIÓN GRAM ACÉTICA	
POSITIVOS T.GRAM ACÉTICA VP	138
CONVERSION NEGATIVA FP	27
CONVERSION POSITIVA FN	71
NEGATIVOS T.GRAM ACETICA VN	131
SENSIBILIDAD	66%
ESPECIFICIDAD	83%

Los resultados de la tabla 2 se objetivizan mediante las siguientes gráficas:

GRÁFICO 3

EFICACIA DE LA TINCIÓN GRAM ACÉTICA

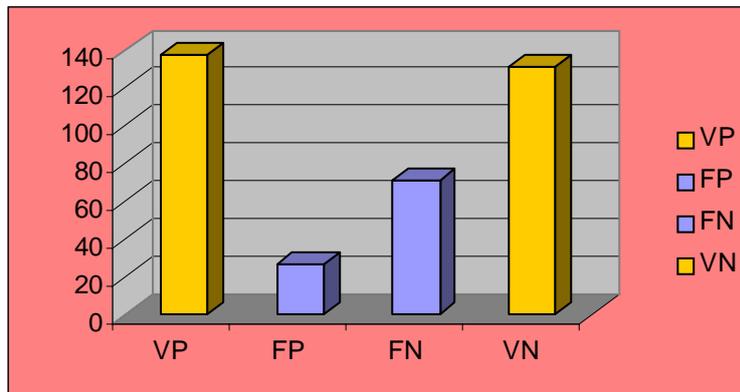


GRÁFICO 4

PORCENTAJE EFICACIA TINCIÓN GRAM ACÉTICA

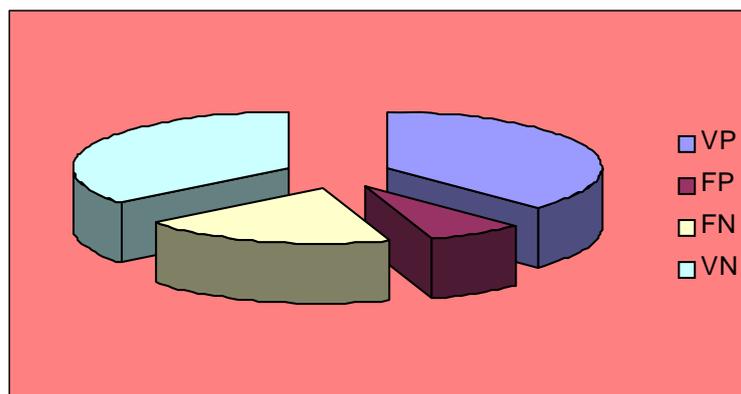


GRÁFICO 5
SENSIBILIDAD Y ESPECIFICIDAD

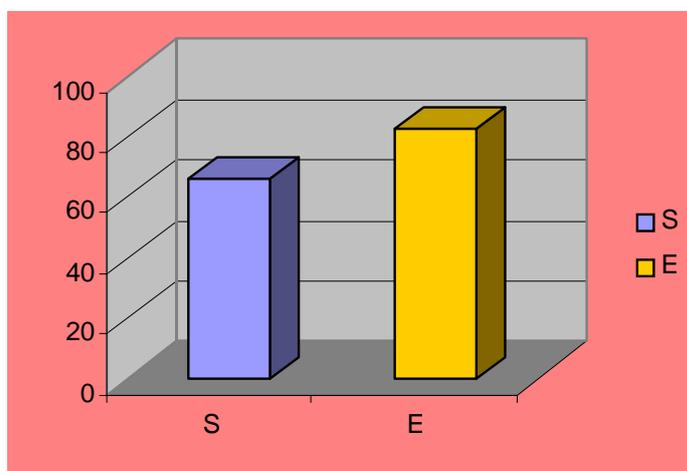
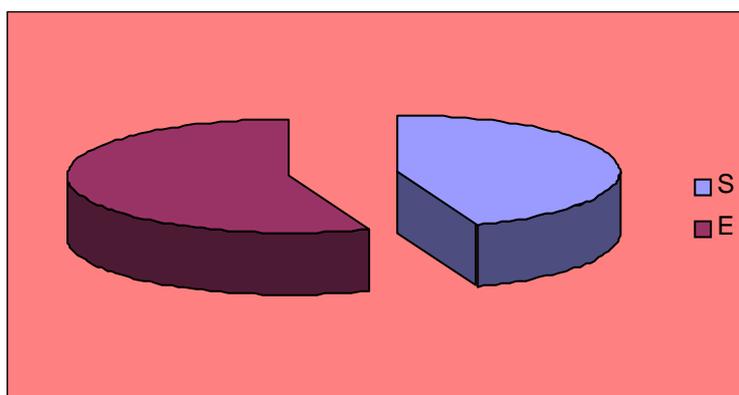


GRÁFICO 6
PROPORCIÓN DE LA SENSIBILIDAD Y ESPECIFICIDAD



8.1.3 RESULTADOS EFICACIA TINCIÓN GRAM POSITIVA ACÉTICA

TABLA 3

DETERMINACIÓN DE LA EFICACIA DE LA TINCIÓN GRAM POSITIVA ACÉTICA	
POSITIVOS T. GRAM ACÉTICA VP	137
CONVERSION NEGATIVA FP	2
CONVERSION POSITIVA FN	32
NEGATIVOS T. GRAM ACÉTICA VN	132
SENSIBILIDAD	81,06%
ESPECIFICIDAD	98,5%

Los resultados de la tabla 3 se especifican mediante los siguientes gráficos:

GRÁFICO 7
EFICACIA TINCIÓN GRAM POSITIVA ACÉTICA

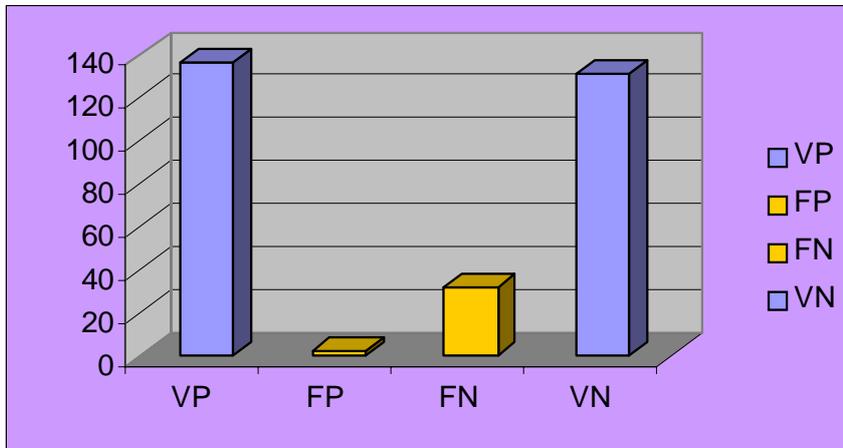


GRÁFICO 8
EFICACIA TINCIÓN GRAMPOSITIVA ACÉTICA EN PORCENTAJE

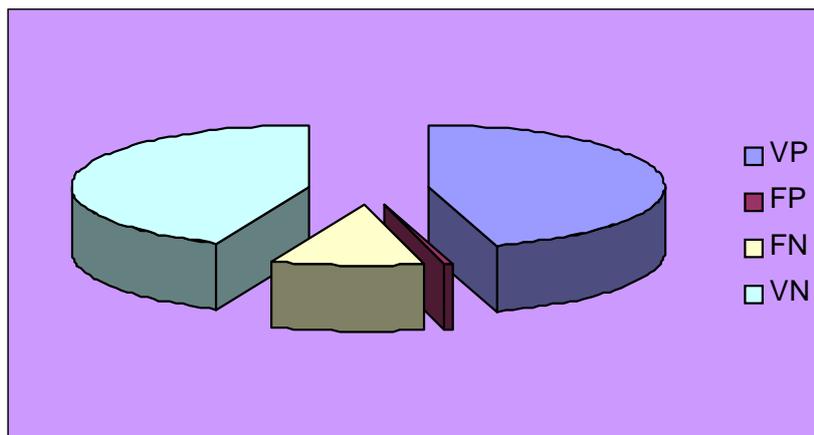


GRÁFICO 9
SENSIBILIDAD Y ESPECIFICIDAD

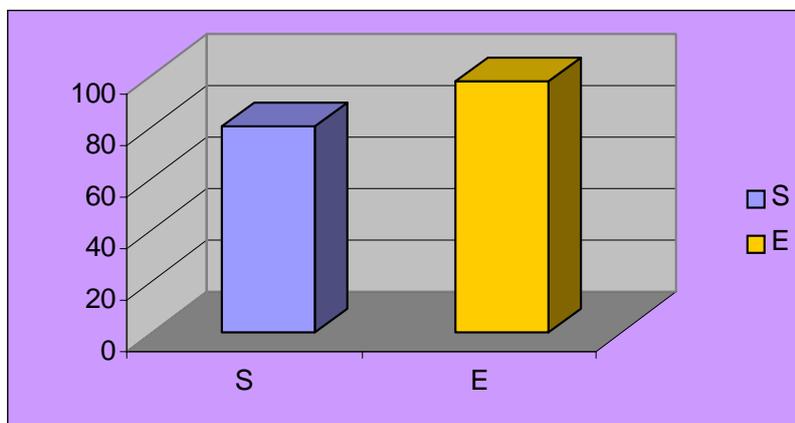
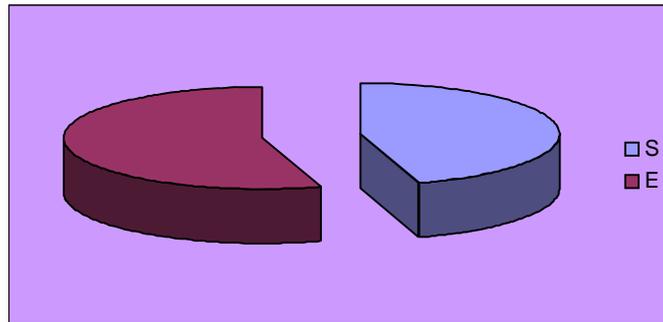


GRÁFICO 10
PROPORCIÓN DE LA SENSIBILIDAD Y ESPECIFICIDAD



8.1.4 RESULTADOS EFICACIA TINCION GRAM NEGATIVA ACÉTICA
TABLA 4

DETERMINACIÓN DE LA EFICACIA DE LA TINCIÓN GRAM NEGATIVA ACÉTICA	
POSITIVOS T.GRAM ACÉTICA VP	120
CONVERSION NEGATIVA FP	0
CONVERSION POSITIVA FN	38
NEGATIVOS T.GRAM ACETICA VN	149
SENSIBILIDAD	75,9%
ESPECIFICIDAD	100%

Los resultados de la tabla 3 se especifican mediante las siguientes gráficas:

GRÁFICO 11
EFICACIA GRAM NEGATIVA ACÉTICA

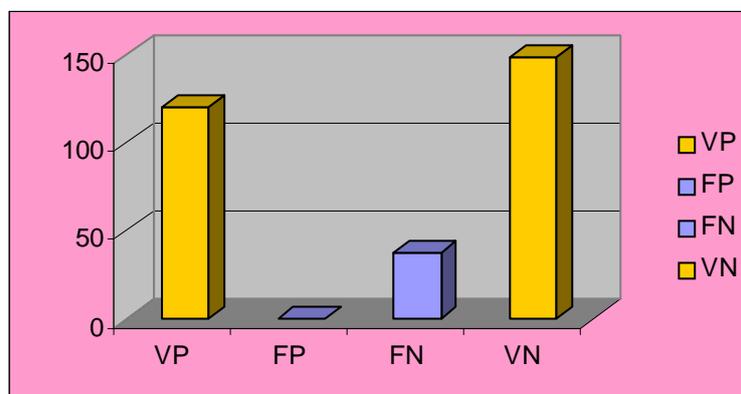


GRÁFICO 12
EFICACIA GRAM NEGATIVA ACÉTICA EN PORCENTAJE:

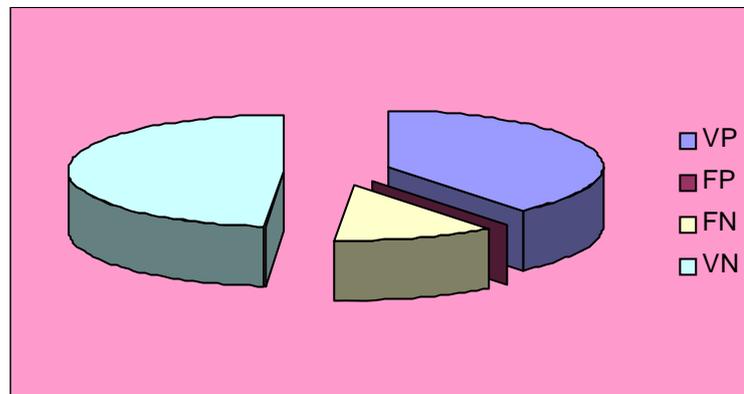


GRÁFICO 13
SENSIBILIDAD Y ESPECIFICIDAD:

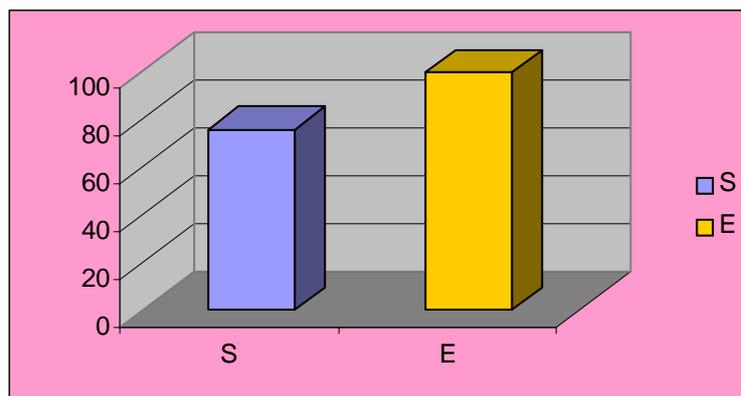
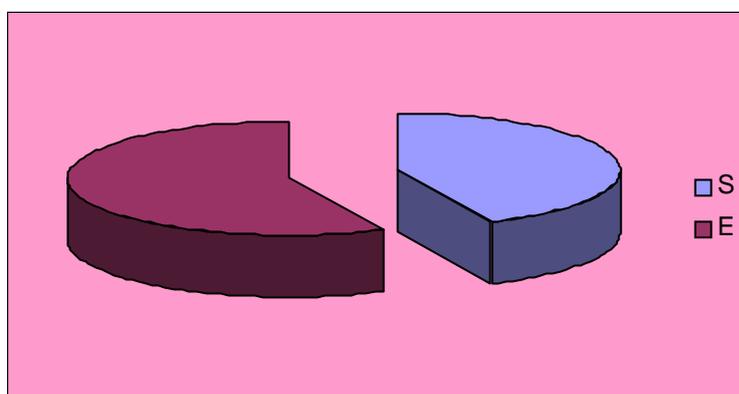


GRÁFICO 14
PROPORCIÓN DE SENSIBILIDAD Y RESISTENCIA



8.1.5 RESULTADOS DE LA MORFOLOGÍA ENCONTRADA

La determinación microscópica de acuerdo a la morfología determinada en porcentaje; es la siguiente:

TABLA 5

MORFOLOGÍA DE LAS BACTERIAS OBSERVADAS CON LA TINCIÓN GRAM ACÉTICA EN PORCENTAJE			
MORFOLOGÍA	PORCENTAJE (%)	GRAM POSITIVOS (%)	GRAM POSITIVOS (%)
BACILOS	68,03	24,53	43,50
COCOS	10,41	10,41	0

9. CONCLUSIONES

Se han procesado 269 muestras de mujeres embarazadas para diagnóstico clínico en el Laboratorio de la Asistencia Pública, los resultados encontrados determinan las siguientes conclusiones.

La aplicación del método de tinción gram permite diferenciar bacterias en gram positivas y gram negativas en sedimento urinario.

La Tinción gram acética permite determinar con mayor sensibilidad y especificidad la presencia de bacterias gram positivas y gram negativas en el sedimento urinario (como se analizará más adelante).

Los resultados de eficacia de la tinción gram acética proporcionan una sensibilidad de 66% y una especificidad de 83% con respecto a la determinación con tinción gram simple.

La aplicación de la tinción gram con ácido acético 1N mejora la determinación de bacterias respecto a la tinción gram simple con una conversión negativa de 27, es decir, que 27 casos reportados como positivos en la Tinción Gram simple, han sido convertidos como casos negativos (conversión negativa).

La conversión positiva (conversión de casos negativos a positivos) es de 71.

La tinción gram acética proporciona datos exactos de 131 verdaderos negativos.

La aplicación de la tinción gram acética 1N mejora la determinación de bacterias gram positivas con una sensibilidad del 81,06% y una especificidad de 98,5%.

La aplicación de la tinción gram con ácido acético 1N mejora la determinación de bacterias gram positivas respecto a la tinción gram simple con una conversión negativa de 2, es decir, que 2 casos reportados como positivos en la Tinción Gram simple, han sido convertidos como casos negativos (conversión negativa).

La conversión positiva (conversión de casos negativos a positivos) es de 32

La tinción gram acética proporciona datos exactos de 132 verdaderos negativos.

La aplicación de la tinción gram acética 1N mejora la determinación de bacterias gram negativas con una sensibilidad del 75,9% y una especificidad de 100%.

La aplicación de la tinción gram con ácido acético 0.1 N mejora la determinación de bacterias gram negativas respecto a la tinción gram simple con una conversión negativa de 0.

La conversión positiva (conversión de casos negativos a positivos) es de 38

La tinción gram acética proporciona datos exactos de 149 verdaderos negativos.

Como se muestra en la tabla 4 la determinación microscópica ha dado mayor cantidad de bacilos gram negativos, seguido de bacilos gram positivos y finalmente cocos gram positivos.

10. COMENTARIOS Y RECOMENDACIONES FINALES

Los resultados finales apoyan de manera afirmativa la hipótesis planteada respecto, al empleo del método de la tinción gram adicionada con ácido acético al 1N en la determinación de bacterias gram positivas y gram negativas. Por lo tanto el ensayo planteado permite resumir las siguientes afirmaciones:

- La sensibilidad del método acético permite determinar la presencia total de bacterias en los sedimentos urinarios.
- La afirmación para la determinación de infección bacteriana se la debe realizar cruzando con los parámetros del análisis clínico característicos de las orinas.
- El método empleado puede determinar la presencia de bacterias en sedimentos urinarios, cuyo análisis clínico en el laboratorio no ha declarado infección. Debido a que la presencia de las mismas no sea procedente de las muestras de orina de las pacientes.
- Por la amplia determinación de bacilos gram negativos, es pertinente recomendar realizar la determinación del bacilo tuberculoso con la tinción Ziehl Nielsen, como perfil para otros trabajos.
- Para todos los casos en los que el método empleado ha corroborado la determinación clínica de infección urinaria, se recomienda hacer el diagnóstico bacteriológico convencional.
- Para los laboratorios que no realizan diagnóstico bacteriológico, se recomienda hacer práctica de la tinción gram, para confirmar sus diagnósticos de infección urinaria.
- Finalmente se recomienda realizar otros trabajos aplicando el ácido acético ya que en el presente trabajo se pudo encontrar, levaduras, hifas, y otros.

11. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALMEIDA Claudio. Infecciones Microbianas Urinarias: En ciudades de América Latina y Características socioeconómicas de sus poblaciones. 1996.
- ARGERI, Nelson Jorge, LOPARDO Horacio Ángel. Análisis de Orina Fundamento y Practica, Editorial Medica Panamericana. Buenos Aires - Argentina.
- DAVIDSON, Todds. Diagnóstico y tratamiento clínico por el laboratorio. España. 1998..
- ENCICLOPEDIA DE LA CIENCIA Y DE LA TÉCNICA, EDICIONES OCÉANO.
- FISCHER BACH Manual de Pruebas Diagnósticas. México. 2000. 5ta edición.
- GAYTON HALL. Tratado de Fisiología Médica. México. 1999. Edit McGraw-Hill interamericana.
- LUGO Orlando, GUTIERREZ Mario. El Seguro Básico de Salud: Difusión y Uso Ministerio de Salud y Previsión Social.
- MADRID V. Antonio. Curso de infecciones Urinarias en Mujeres Embarazadas ed. Madrid (España): Ed. AMV. 1996. XVII.
- BECQUER L. Armando y col. Importancia de la Detección de Bacterias en muestras de orina. Cuba 1996.
- WOLFGANG JOKLIK D PHIL y col. Microbiología: Zinsser 20 a ed. Ed. Panamericana. Buenos Aires (Argentina) 1995.

- JICA. (Agencia de Cooperación Internacional del Japón) Manual Bacteruria: Infecciones del Tracto Urinario . Trinidad (Bolivia) 1995.
- ELEY Adrián R. Infecciones Urinarias de Etiología microbiana. Zaragoza (España) : Ed Acribia. 1994. XI.
- IBTA. Impactos de las Infecciones Urinarias. La Paz (BOLIVIA) 1995.
- OMS /OPS. OFICINA PANAMERICANA OFICINA REGIONAL DE LA ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE LA SALUD Metodología de la investigación/ Manual para el desarrollo de personal de salud. 1996.
- DAVIS Bernard. Tratado de Microbiología 3 ed. Ed. Saivat Editores S. A. 1096.
- JAWEST, Ernest y MELNICK J.L “Microbiología Médica”. 14va Ed. México D.F. 1992. Manual moderno S.A. de CV
- MARIN, Manuel. Química Orgánica, Ignacio Puig Editorial, Editor Albeerto Moly. Buenos Aires – Argentina.
- TRIGOSO, Cristian A. Bacteriología Básica, y colaboradores tomo 1 editores: Dr. BuddynLazo de la Vega, Dr. Eduardo Aranda, Año 1992.
- RODRÍGUEZ, Lanza, IUL. HTM. W.W.W. Geocilios. Com. Internet
- VIDAL, Jorge. Anatomía. Buenos Aires 1996. 4va Edición.
- VIDAL, Jorge. Anatomía Fisiología e Higiene, Editorial Bruño 4ta Edición. Lima – Perú.
- WALLACH, Jacques. Interpretación Clínica de las Pruebas de Laboratorio 4ta Edición.

- http://www.carlosaya.net/biblioteca/contenidos/docs/nefrología/pre_dialisis/pacodiez
- <http://www.geocitis.com/rodriguezlanza/iul.htm>

ANEXOS

ANEXO 1**REACTIVOS**
ÁCIDO ACÉTICO CH₃-COOH

ETANOICO: CH₃-COOH.- Se llama también ácido acético. En estado libre se encuentra en el reino orgánico, en los jugos de ciertos animales y vegetales, pero como abunda más es bajo la forma de acetatos, especialmente de potasio y de calcio.

PESO MOLECULAR	60
SOLUBILIDAD	X.
ESTADO FISICO	SOLIDO INCOLORO
PUNTO DE FUSIÓN	+ 16'7°
DENSIDAD	1049
EBULLICIÓN	118'8°

PROPIEDADES

El etanoico se presenta comúnmente como un líquido incoloro, de olor picante, corrosivo, que se solidifica fácilmente en hermosas formas cristalinas, a la manera del hielo. Este ácido acético exento de agua se solidifica a 17°, de suerte que en invierno se suele mantener sólido en el interior de las botellas y en verano se vuelve líquido, por esto a dicho ácido se llama ácido acético glacial.

El ácido acético es monobásico, y por consiguiente no puede, da origen a sales neutras, sin embargo varios acetatos se combinan con un molécula de ácido acético para formar los llamados biacetatos. Con el Cl en presencia de la luz produce los ácidos cloroacéticos, mono, bi y tricloroacéticos, según el número de átomos de H del radical Ch₃ substituidos por el cloro.

APLICACIONES

El ácido acético es la base para la obtención de acetatos, y es de uso continuo en la alimentación bajo la forma de vinagre.

ANEXO 2**PREPARACIÓN DE COLORANTES Y REACTIVOS****VIOLETA DE GENCIANA**

Violeta de genciana.....1 g.
Alcohol 96°.....20cc
Agua destilada.....80cc

LUGOL

Yodo metálico.....1 g.
Ioduro de potasio.....2 g.
Agua destilada.....300 cc

SAFRANINA

Safranina colorante.....1 g.
Alcohol 95°.....20 ml
Agua destilada.....80 ml

SOLUCIÓN DECOLORANTE DE GRAM

Alcohol 95°.....70 ml
Acetona.....30 ml

ANEXO 3
PREPARACIÓN DE MATERIAL

ANEXO 4

FOTOS

ÍNDICE DE CONTENIDO

RESUMEN.....	1
1. INTRODUCCIÓN.....	3
2. ANTECEDENTES DEL PROBLEMA DE ESTUDIO.....	4
2.1 ANATOMÍA FUNCIONAL DE LOS RIÑONES.....	5
2.1.1 ORGANIZACIÓN GENERAL DE LOS RIÑONES Y DE LAS VÍAS URINARIAS.....	5
2.1.2 RIEGO SANGUÍNEO RENAL.....	5
2.1.3 LA NEFRONA EN LA UNIDAD FUNDAMENTAL DEL RIÑÓN.....	6
2.1.4 FORMACIÓN DE LA ORINA COMO RESULTADO DE LA FILTRACIÓN GLOMERULAR, LA REABSORCIÓN TUBULAR Y LA SECRECIÓN TUBULAR. .	7
2.1.4.1 FILTRACIÓN REABSORCIÓN Y CREACIÓN DE LAS DISTINTAS SUSTANCIAS.....	8
2.1.5 CONCEPTOS GENERALES DE ORINA.....	8
2.1.6 TOXICIDAD DE LA ORINA.....	11
2.1.7 VÍAS DE EXCRECIÓN DEL RIÑÓN.....	11
2.1.7.1 PELVIS RENAL.....	11
2.1.7.2 URÉTERES.....	11
2.1.7.3 VEJIGA.....	12
2.1.7.4 URETRA.....	12
2.2 EXAMEN GENERAL DE LA ORINA.....	12
2.2.1 RECOLECCIÓN ADECUADA DE LA ORINA.....	12
2.2.2 EXAMEN FÍSICO.....	13
2.2.2.1 VOLUMEN.....	13
2.2.2.2 COLOR.....	13
2.2.2.3 OLOR DE LA ORINA.....	15
2.2.2.4 ASPECTO DE LA ORINA.....	16
2.2.3 EXAMEN QUÍMICO DE LA ORINA.....	16
2.2.3.1 REACCIÓN Y PH DE LA ORINA.....	16
2.2.3.2 PROTEÍNAS EN ORINA O ALBIMINURIA.....	17
2.2.3.3 GLUCOSA EN ORINA.....	17
2.2.3.4 CETONURIA.....	17
2.2.3.5 PIGMENTOS BILIARES COLURIA (bilrrubinuria).....	18
2.2.3.6 UROBILINURIA.....	18
2.2.3.7 HEMATURIA (eritrocituria).....	18
2.2.3.8 PRESENCIA DE NITRITOS EN LA ORINA.....	18
2.2.4 SEDIMENTO URINARIO.....	19
2.2.4.1 LEUCOCITOS Y PIOCITOS.....	20
2.2.4.2 CÉLULAS EPITELIALES.....	21
2.2.4.3 PRESENCIA DE CILINDROS EN LA ORINA.....	21
2.2.4.4 PRESENCIA DE CRISTALES EN SEDIMENTO URINARIO.....	23
2.2.4.5 IONOGRAMA URINARIO.....	25
2.2.4.6 OSMOLURIA.....	26
2.3 EXAMEN MICROBIOLÓGICO DE LA ORINA.....	26
2.3.1 BACTERIURIA E INFECCIÓN URINARIA.....	26

2.3.2	ETIOPATOGENIA.....	28
2.3.3	ETIOLOGÍA.....	29
2.3.4	INFECCIONES URINARIAS EN MUJERES EMBARAZADAS.....	30
2.3.5	ESTRUCTURA DE LA CÉLULA PROCARIOTA	32
2.3.5.1	NUCLEOIDE	32
2.3.5.2	ESTRUCTURA CITOPLÁSMICA	32
2.3.5.3	FUNCIÓN.....	33
2.3.5.4	ENVOLTURA O PARED CELULAR.....	34
2.3.5.5	ENVOLTURA CELULAR GRAM POSITIVA	36
2.3.5.6	COMPONENTES ESPECIALES DE LAS PAREDES CELULARES GRAM NEGATIVAS.....	37
2.3.5.7	TINCIONES.....	39
3.	PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	40
4.	JUSTIFICACIÓN.....	40
5.	HIPÓTESIS.....	41
6.	OBJETIVOS DE INVESTIGACIÓN.....	41
6.1	OBJETIVO GENERAL	41
6.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	41
7.	METODOLOGÍA	42
7.1	ESTANDARIZACIÓN DEL MÉTODO DE GRAM ADICIONADO CON ÁCIDO ACÉTICO AL 0.1 N	42
7.2	MÉTODOS, TÉCNICAS Y MATERIALES	42
7.3	PROCEDIMIENTO Y TÉCNICA	43
7.4.	APLICACIÓN DEL MÉTODO ESTANDARIZADO EN MUESTRAS OBTENIDAS.....	44
7.5	TIPO DE ESTUDIO Y MUESTREO	44
7.6.	POBLACIÓN Y ÁMBITO DE ESTUDIO	44
8.	ANÁLISIS DE RESULTADOS	45
8.1	RESULTADO GENERAL DEL MÉTODO EMPLEADO	46
8.1.1	RESULTADOS GENERALES.....	46
8.1.2	RESULTADOS EFICACIA TINCIÓN GRAM ACÉTICA	48
8.1.3	RESULTADOS EFICACIA TINCION GRAM POSITIVA ACÉTICA	49
8.1.4	RESULTADOS EFICACIA TINCION GRAM NEGATIVA ACÉTICA.....	51
8.1.5	RESULTADOS DE LA MORFOLOGÍA ENCONTRADA.....	53
9.	CONCLUSIONES	53
10.	COMENTARIOS Y RECOMENDACIONES FINALES.....	55
11.	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	56
	ANEXOS.....	59