



ACTA

TGB-10-2023-01

Los abajo firmantes, Profesores: Prof. ANTONELLA ANTONUCCI Prof. MERCEDES ROMERO y Prof. HELGA HERNANDEZ, Reunidos en: Aula Dra Mercedes Quirga

a la hora: 2:00 pm.

Constituidos en Jurado para la evaluación del Trabajo de Grado, Titulado:

UTILIDAD DE LA COLORACION MERVÍ EN LA IDENTIFICACIÓN DE CÉLULAS EPITELIALES Y LEUCOCITOS PRESENTES EN SEDIMENTO URINARIO

Del Bachiller **BERNABELA TORREALBA EMERIC SHARLENE** C.I.: 22817366, como requisito parcial para optar al Título de **Licenciatura en Bioanálisis** en la Universidad de Oriente, acordamos declarar al trabajo:

VEREDICTO

REPROBADO	APROBADO	APROBADO MENCIÓN HONORIFICA	APROBADO MENCIÓN PUBLICACIÓN	☒
-----------	----------	-----------------------------	------------------------------	-------------------------------------

En fe de lo cual, firmamos la presente Acta.

En Ciudad Bolívar, a los 16 días del mes de Octubre de 2023


Prof. ANTONELLA ANTONUCCI
Miembro Tutor


Prof. MERCEDES ROMERO
Miembro Principal


Prof. HELGA HERNANDEZ
Miembro Principal


Prof. IVÁN AMAYA RODRIGUEZ
Coordinador comisión Trabajos de Grado



DEL PUEBLO VENIMOS / HACIA EL PUEBLO VAMOS

Avenida José Méndez c/c Colombo Silva- Sector Barrio Ajuro- Edificio de Escuela Ciencias de la Salud- Planta Baja- Ciudad Bolívar- Edo. Bolívar- Venezuela
Teléfono (0285) 6324976



UNIVERSIDAD DE ORIENTE
NÚCLEO DE BOLÍVAR
ESCUELA DE CIENCIAS DE LA SALUD
“Dr. Francisco Virgilio Battistini Casalta”
DEPARTAMENTO DE BIOANÁLISIS

**UTILIDAD DE LA COLORACIÓN MERVİ EN LA IDENTIFICACIÓN
DE CÉLULAS EPITELIALES Y LEUCOCITOS PRESENTES
SEDIMENTO URINARIO**

Tutor

Lcda. Antonella Antonucci.

Co Tutor

Lcda. Gabriela Contreras.

Trabajo de Grado presentado por:

Br. Bernabela Torrealba Emeric Sharlene

C.I: 22.817.366

Como requisito parcial para optar al título de Licenciado en Bioanálisis

Ciudad Bolívar, Octubre de 2023.

INDICE

INDICE.....	iii
AGRADECIMIENTO	v
DEDICATORIA.....	v
RESUMEN.....	vi
INTRODUCCIÓN	1
JUSTIFICACIÓN.....	9
OBJETIVOS	10
METODOLOGÍA	11
Tipo de estudio.....	11
Grupo control (Tinción de Azul de Metileno)	11
Diseño de estudio	12
Población	12
Muestra.....	12
Criterios de Inclusión	12
Criterios de Exclusión	12
Procedimiento.....	12
Procesamiento para muestras de orina.	13
FASES DEL ESTUDIO.....	14
Primera Fase de Experimentación.	14
Preparación del sedimento urinario para aplicación de grupo control (Tinción de Azul de Metileno).....	14
Segunda Fase de Experimentación.	15
Técnica de tinción	15

Análisis Estadísticos	18
RESULTADOS	21
TABLA 1.	22
TABLA 2.	23
TABLA 3.	24
DISCUSIÓN	25
CONCLUSIONES	27
RECOMENDACIONES	28
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	29
APÉNDICES.....	34
APÉNDICE A.....	35
APÉNDICE B	36

AGRADECIMIENTO

Primeramente a Dios, por llenarme de paciencia, motivación, sabiduría e inteligencia, por guiarme hasta el final de este anhelado sueño.

A mis padres, Eric y Luz, por ser mí apoyo incondicional, mi guía y mi motivación, por llevarme siempre hacia el camino de la educación, gracias por su amor incondicional, comprensión y sacrificio durante tantos años.

A mis hermanos Luzeric y Eric, y mi sobrina Eva, gracias por siempre acompañarme, por el apoyo moral que nunca faltó, por todos los consejos brindados a lo largo del camino.

A la Casa más Alta del Oriente, por los conocimientos adquiridos a lo largo de todos estos años por parte de sus profesores, gracias por ser mi alma mater, por abrirme tus puertas y por formarme en esta profesión, gracias por siempre enseñarnos a avanzar en medio de la adversidad.

A la Licenciada Antonella Antonucci, por ser no solo una tutora, sino también profesora, amiga y familia. Gracias por compartir siempre tus conocimientos, por abrir las puertas de Nellamed para beneficio de mi formación, no solo académicamente, si no de forma profesional, por siempre demostrar lo valiosa e importante que es esta profesión. Gracias por todos los momentos de alegría.

A la Licenciada Gabriela Contreras, por los infinitos conocimientos compartidos, sin tu apoyo y dedicación, este trabajo no sería lo mismo. Gracias por tus enseñanzas y paciencia, por la motivación diaria para seguir adelante, gracias por ser fuente de inspiración.

A los amigos y mucho más que me regalo la Universidad de Oriente, Jhonnar Hernández, Claudia Romero, Yohana Toicen, Wilson González, Yraniela Martínez, Krisbel Figarella, Maryhelen Zapata, Joelys Lemus, Marianna Ariccia, Carmelys Pérez, María Toledo, y a todos los que no logre nombrar, gracias por hacer que este recorrido académico pareciera más corto de lo que fue y mucho más divertido, forman parte fundamental del trayecto transitado, gracias por las alegrías y las tristezas.

A mis profesores universitarios, Licenciada Odalis Hernández, gracias por la capacidad que tiene para inspirar, y a los Licenciados que fueron formando parte a lo largo del camino académico, en especial al Licenciado Moisés Prado y la Licenciada Bismania Barrios, sus enseñanzas formaran siempre parte importante de mi vida profesional. A la Licenciada Marisol Mejías, por su amistad y su apoyo inmedible a lo largo de todos estos años. Al Licenciado Cristian Díaz, por sus consejos y opiniones siempre certeras.

A todos los que de una u otra forma hicieron parte de mi formación académica, de mi vida y de este trabajo de investigación, a todos ustedes muchas gracias.

Bernabela Torrealba, Emeric Sharlene.

DEDICATORIA

A Dios por estar conmigo a lo largo de este camino, por la fortaleza que me otorgo para seguir adelante a pesar de las dificultades del camino.

A mis padres, Eric y Luz, por brindarme su apoyo incondicional y comprensión, a lo largo de toda mi formación académica.

A mis hermanos, Luzeric y Eric, quienes siempre me acompañaron y aconsejaron, son parte fundamental de mi vida.

A los amigos y familia que me regalo la carrera, Jhonnar, Claudia, Yohana, Wilson, Krisbel, Maryhelen, Joelys, gracias por su amistad sincera, y por la compañía a lo largo de tantos años.

A todos aquellos que formaron parte fundamental de esta investigación, profesores, licenciados y amigos con quienes estaré eternamente agradecida.

Bernabela Torrealba, Emeric Sharlene.

RESUMEN

Título: UTILIDAD DE LA COLORACIÓN MERVI EN LA IDENTIFICACIÓN DE CÉLULAS EPITELIALES Y LEUCOCITOS PRESENTES EN SEDIMENTO URINARIO

Autor: Bernabela Torrealba, Emeric Sharlene.

Institución: Universidad de Oriente

Año: 2023

El análisis microscópico del sedimento urinario es una de las pruebas de laboratorio más solicitada para el estudio o valoración de pacientes con padecimientos renales. Existen diversos métodos para el estudio del sedimento urinario, tanto manual como automatizado. Las coloraciones tienen un importante papel en el estudio microscópico de las muestras de orina, ya que su uso permite lograr una correcta identificación de los diferentes elementos formes que se encuentran presentes en el mismo. Se realizó un estudio experimental de tipo factorial, con la finalidad de determinar la utilidad diagnóstica de la coloración MERVI en sedimento urinario para la identificación de células epiteliales y leucocitos presentes en muestras de orina, de pacientes que acudieron al Laboratorio Central del Complejo Hospitalario Universitario Ruiz y Páez. Se logró, en el total de los sedimentos estudiados, aplicar la tinción de forma satisfactoria. Logrando obtener porcentajes iguales en la identificación de los elementos formes de interés con los dos métodos de coloración empleados, por lo que se determinó en un 100% la eficacia de la nueva técnica de coloración MERVI para la identificación de leucocitos y células epiteliales presentes en el sedimento urinario, comparado con la coloración de azul de metileno. Cuantitativamente el rendimiento con respecto a la especificidad y sensibilidad fue de un 100% para la nueva técnica de coloración MERVI en la identificación de leucocitos y células epiteliales presentes en el sedimento urinario comparando con la coloración de azul de metileno.

Palabras claves: nueva coloración, violeta de genciana, merthiolate, sedimento urinario, leucocitos, células epiteliales.

INTRODUCCIÓN

La orina se define como el líquido excretado por los riñones que contiene sales y productos de desecho del organismo disueltos o en suspensión en agua. El análisis de la orina ha sido probablemente la primera prueba a disposición del médico siendo un instrumento fundamental para diagnosticar, no solo enfermedades de los riñones o de las vías urinarias, sino también afecciones de otros órganos (hígado, páncreas, etc.)¹.

Dejando aparte las pruebas realizadas para comprobar algunas condiciones particulares como por ejemplo, el embarazo o la presencia de enfermedades de las glándulas endocrinas, generalmente el análisis de orina tiende a determinar las siguientes propiedades: volumen total (orina emitida en 24 horas), color, transparencia, densidad, pH, eventual presencia de sustancias normalmente ausentes (albúmina, glucosa, acetona, sangre, pigmentos y sales biliares) o cantidades anormales de sustancias normalmente presentes solo en indicios (urobilinógeno) y composición del sedimento¹.

La historia de la observación de la orina como método diagnóstico y posteriormente pronóstico parece comenzar en el siglo VII d.C. con el bizantino Teófilo. La orina se examinaba observando la mácula y se determinaban el color, la sustancia (substantia), la cantidad (quantitas), contenido (contentum), y se clasificaba basado en su calidez (caliditas), frialdad (frigiditas), acidez (siccitas) y humedad (humiditas)².

El color se comparaba con 12 tonalidades propuestas por Albicus Sigismundus o con 21 tonalidades con la explicación correspondiente al libro 'Fasciculus medicinae' de Johannes de Kethan. (s. XV d.C.). De acuerdo al color tendremos un diagnóstico diferencial de la enfermedad que aqueja al paciente. La orina no sólo se inspeccionaba, también se olía e incluso se probaba. Sin embargo, esta inspección

urinaria no se practica en la actualidad. Es tal la importancia de la inspección de la orina que todavía en el siglo XIX se decía: "la orina es el elemento más importante del diagnóstico clínico, para averiguar la constitución de la sangre y los procesos químicos corporales" (von Hufeland)²

El análisis de los sedimentos urinarios es una práctica de utilidad a pesar de su extremada sencillez y su escasa complejidad. En cuanto a su significado clínico, su máximo aprovechamiento dependerá de la relación que el médico realice con el resultado obtenido y la clínica del paciente. Generalmente, el sedimento urinario se compone de elementos de distintos orígenes. Ellos pueden ser productos metabólicos del riñón como los cristales, células derivadas del flujo sanguíneo y del tracto urinario, células de otros órganos del cuerpo, elementos originados en el riñón como los cilindros y otros elementos que no tienen origen humano y que aparecen como elementos contaminantes (bacterias y levaduras)³.

Las células que pueden estar presentes en la orina, tales como eritrocitos, leucocitos y células epiteliales provienen de distintos puntos del tracto urinario, desde los túbulos hasta la uretra y también provienen de la vagina o vulva, como contaminantes. En cuanto a los eritrocitos, se considera normal la eliminación de una cantidad de 0 a 2 eritrocitos por campo. Los polimorfonucleares son los leucocitos más frecuentemente encontrados en el sedimento urinario. Aparecen como granulocitos y son característicos de las vías urinarias. Es menos común encontrar linfocitos, monocitos o eosinófilos. En un sedimento normal se eliminan desde 0 a 5 leucocitos por campo³.

Desde el punto de vista del laboratorio clínico una de las pruebas más solicitadas de manera rutinaria es el examen general de orina, en el cual se realiza el análisis químico (pH, glucosa, urobilinógeno, etc.), análisis físico (color, aspecto) y de manera conjunta el análisis microscópico del sedimento urinario en busca de

elementos formes (eritrocitos, leucocitos, bacterias, cilindros, etc.). Si bien es una prueba considerada «de rutina» es de suma importancia su adecuada interpretación; ya que proporciona datos diagnósticos de importancia clínica, principalmente asociados a patologías del sistema renal ⁴.

El análisis del sedimento urinario es una de las pruebas de laboratorio más solicitada para el estudio y/o valoración de pacientes con padecimientos renales. De manera general, las enfermedades renales y de las vías urinarias representan un problema de salud pública importante y su diagnóstico tardío afecta la calidad de vida del paciente, llegando en los casos más severos a incapacidad y/o muerte⁵.

Actualmente existen diversos métodos para analizar el sedimento urinario y se pueden clasificar en: 1) tradicionales o manuales y 2) automatizados. El primero es relativamente fácil de realizar, semicuantitativo o cuantitativo, económico y prácticamente cualquier laboratorio los puede realizar. Con respecto a los métodos automatizados, estos se han desarrollado con la finalidad de disminuir la variabilidad interobservador y se realizan en equipos especiales mediante análisis citométrico diferencial. Permite reportar parámetros de manera cuantitativa y son relativamente caros comparados con los métodos tradicionales⁶.

El sedimento urinario, siempre fue considerado como la “biopsia renal” de los lugares de bajos recursos. En los lugares de mediana o alta complejidad, se usa para decidir la realización de una biopsia renal, decidir un tratamiento y/o seguimiento de evolución y tratamiento. De ahí su relación exclusiva con patología glomerular y tubular. La observación microscópica de la orina, se convirtió con los años en algo más complejo, agregándosele un esencial análisis físico y químico que ayudó a entender los cambios organolépticos de la orina, además del interrogatorio clínico por parte del laboratorio al paciente. Características que comenzaron a ser fundamentales

para una correcta lectura de lo que se ve y un efectivo análisis de los resultados por parte del profesional prescriptor⁷.

Un tipo de células presente en el sedimento urinario son las células epiteliales del túbulo renal. Se originan en el epitelio de revestimiento de los túbulos renales y son difíciles de diferenciar de las de transición. Son las más importantes de todas las células desde el punto de vista clínico del sedimento urinario. Su presencia en gran cantidad sugiere daño tubular que puede producirse en enfermedades como pielonefritis, necrosis tubular aguda e intoxicación por salicilatos³. La utilidad del sedimento urinario radica fundamentalmente en su valoración en la mayoría de los criterios diagnósticos y de afección renal⁸.

Para la adecuada obtención y preparación de una muestra de orina es necesario tomar en cuenta algunos aspectos importantes con la finalidad de obtener un análisis representativo y fehaciente del mismo. Debido a lo anterior, la orina se recogerá siempre en un recipiente perfectamente limpio y deberá examinarse dentro de las primeras dos horas de haberse realizado la micción, por lo cual es fundamental documentar la fecha y hora en la que se recolectó la muestra de orina. Adicionalmente, la orina puede ser recolectada por micción espontánea, técnica de chorro medio y/o cateterismo estéril⁹.

La introducción de las coloraciones a mediados del siglo XIX fue en gran parte responsable de los principales avances logrados en la microbiología y en otros campos de la microscopía diagnóstica durante los últimos 100 años. El uso de las coloraciones biológicas en la actualidad se ha vuelto indispensable, que es difícil creer como pudo haber progreso en el estudio de los microorganismos antes de su introducción. Las tinciones consisten en preparaciones acuosas u orgánicas de colorantes o grupos de colorantes que proporcionan una variedad de colores a los

microorganismos, a los tejidos vegetales y animales, u otras sustancias de importancia biológica¹⁰.

Cuando se habla de coloraciones en el laboratorio clínico, se hace referencia a las técnicas que a medida que ha pasado el tiempo se desarrollan con el fin de facilitar los estudios de los microorganismos, pues brinda la posibilidad de distinguirlos del medio ambiente y así poder analizar características morfológicas. En general, las bacterias y otros microorganismos son transparentes, lo que dificulta su estudio cuando los exámenes se realizan en fresco. Por eso para distinguirlos del medio es necesario hacer una coloración¹¹.

No existen bacterias a nivel renal ni vesical. A pesar de que la orina está libre de ellas, ésta puede contaminarse con bacterias presentes en la uretra o en la vagina. En cuanto a su significado clínico, cuando una muestra de orina es recolectada en forma estéril y contiene gran número de bacterias y además es acompañada por muchos leucocitos, es muy factible encontrar una infección del tracto urinario¹¹. En 1847, y finalmente Paul Ehrlich, en 1886, clasificó los colorantes en acidófilos, basófilos y neutrófilos, consiguiendo así la expansión y desarrollo de la histología microscópica, todas estas técnicas permitieron la fundación de la histología moderna¹².

Existen numerosos métodos de tinción utilizados en el análisis del sedimento de orina. En ocasiones, la tinción facilita y contribuye notablemente al reconocimiento de distintos elementos. En el caso de identificación para leucocitos, existen una variedad de coloraciones, ejemplos de estas son la tinción de Sternheimer-Malbin, que permite visualizar leucocitos con un patrón tintorial diferente (leucocitos vitales, leucocitos desvitalizados). La tinción de peroxidasa de Kaye, modificada por Lampen permite reconocer cilindros leucocitarios. También existen tinciones como la de la grasa con Sudan III que permite identificar la grasa contenida en células o cilindros¹².

Para reconocimiento de eritrocitos, hay coloraciones como la tinción de eosina, que tiñe eritrocitos de color rosa, logrando diferenciarlos de otros elementos. Tinciones más simples como la tinción con lugol permite una identificación sencilla de leucocitos. Doble tinción con eosina y azul de metileno, que otorga color rojizo a los eritrocitos y cilindros eritrocitarios, diferenciándolo del color azul que toman otros elementos¹³.

El violeta de genciana, también conocido como cristal violeta, violeta de metilo, violeta de anilina; es un colorante orgánico que posee acción desinfectante además de presentar una utilidad como indicador de pH en el campo de la química. Su acción desinfectante es aprovechada como antiséptico local de alta potencia. Por su capacidad tintorial se emplea en materiales como papel, cuero y detergentes para proporcionarles color y también forma parte de tintas de bolígrafos y de impresoras¹³.

En el ámbito del laboratorio clínico, el violeta de genciana tiene un gran protagonismo sobretudo en el área de la microbiología porque es empleado en la tinción de Gram. Este colorante permite dividir a las bacterias en dos grandes grupos: las bacterias Gram-positivas, que retienen el colorante cristal violeta luego del proceso de tinción y las Gram-negativas, que no logran retener el tinte, consecuencia de los componentes que recubren este tipo de bacterias (pared celular). Para facilitar la observación de las bacterias Gram-negativas se usa otro colorante para contraste, que puede ser la safranina, fucsina de Gram o rojo neutro¹⁴.

El cristal violeta tiene uso en el uroanálisis como componente de la tinción de Sternheimer-Malbin, tinción empleada para el análisis de sedimentos urinarios y que permite distinguir elementos celulares como los leucocitos y células epiteliales. Con el empleo de esta coloración se facilita la distinción de los piocitos, denominados también células Sternheimer-Malbin¹⁵.

El merthiolate, nombre comercial del tiomersal o timerosal, es un compuesto derivado del mercurio que es principalmente conocido porque era usado como un antiséptico, aunque también se ha empleado ampliamente como conservante de vacunas, antisueros y productos nasales. Su empleo como agente de conservación para vacunas empezó luego de múltiples accidentes relacionados con frascos multidosis, ocurridos en las primeras décadas del siglo XX. El timerosal también es usado en el proceso de producción de vacunas para prevenir la contaminación bacteriana y fúngica durante su elaboración¹⁶.

Existen dos presentaciones de merthiolate, una carece de colorantes y la otra presenta como colorantes amarillo D&C N°7 y rojo D&C N°22, los cuales tienen como función identificar la herida como tratada. El rojo D&C N°22 es hecho a base de eosina, mientras que el amarillo D&C N°7 contiene fluorescina. Aproximadamente la mitad del peso del merthiolate es ocupado por mercurio (49.6% de mercurio por peso). El timerosal es metabolizado como etil-mercurio y tiosalicilato. Su actividad bactericida se encuentra relacionada con el etil-mercurio liberado al momento de producirse la ruptura del merthiolate, aunque este mecanismo no ha sido totalmente dilucidado¹⁶.

El principio activo del producto comercialmente conocido como merthiolate es el cloruro de benzalconio. Esta es una sal de amonio cuaternario, semisólida y amarillenta que, por su actividad catiónica, funciona como antiséptico y germicida sobre algunas bacterias u hongos, al interferir en las membranas biológicas causando cambios en la estructura y permeabilidad de ellas. El cloruro de benzalconio es usado tanto en productos cosméticos como de higiene personal (shampoos, acondicionadores, lociones). También forma parte de algunas soluciones oftalmológicas y de aplicación por vía nasal. Es uno de los componentes activos más usados en desinfectantes para hogares, industrias, lugares de agricultura y hospitales¹⁷

En el laboratorio clínico el uso del merthiolate es importante en el área de parasitología, donde es usado principalmente en la técnica MIF, que tiñe trofozoitos y quistes de protozoarios. Tiene uso no solo en preparados de exámenes directos de heces, también se emplea después de haber realizado técnicas de concentración. Es una técnica de fácil preparación que además de teñir los microorganismos, alarga el tiempo de vida de almacenamiento de las muestras¹⁷.

Joan Sibrián Rivera estableció en 2018 un protocolo de trabajo que incluye el uso de la violeta de genciana y el merthiolate combinándolos para crear una coloración que pueda ser utilizada en el área de parasitología para la identificación de formas vacuolares y formas granulares de *Blastocystis sp*¹⁸.

Contreras y Díaz establecen en 2021 un protocolo de trabajo utilizando la combinación de la violeta de genciana y merthiolate como colorantes a la que denominaron MERVI. Esta nueva técnica de coloración obtuvo resultados exitosos, siendo completamente sensible y específica en el diagnóstico e identificación no solo de *Blastocystis sp.*, sino también para protozoarios¹⁹.

Sotillo y Sarmiento en el año 2022 estandarizaron la aplicación de la técnica de tinción MERVI, en otra área del laboratorio clínico, específicamente en hematología clínica. Pretendiendo establecer una modificación de la técnica actualmente empleada en parasitología, creando un nuevo protocolo de trabajo utilizando para ello muestras clínicas de sangre completa para la observación e identificación de los componentes sanguíneos a través de la técnica de extendido sanguíneo²⁰.

Bajo ese contexto, este trabajo determinó la utilidad diagnóstica de la coloración MERVI, en el área de uroanálisis de laboratorio clínico. Se realizó una modificación de la técnica actualmente empleada en parasitología, utilizando muestras de orina para la observación e identificación de los leucocitos y células epiteliales presentes en el sedimento urinario. Haciendo una comparación con el azul de metileno, como técnica de coloración estandarizada.

JUSTIFICACIÓN

El examen microscópico para sedimento urinario es un procedimiento rutinario realizado por la gran mayoría de los laboratorios clínicos, es un examen fácil de ejecutar, sencillo, seguro, preciso, confiable y económico, que puede ser de gran ayuda diagnóstica y pronóstica en el estudio renal²¹.

Aunque es un procedimiento rutinario realizado por la gran mayoría de los laboratorios, no siempre permite diferenciar de forma sencilla los diferentes elementos formes presentes en la orina; por otra parte después de examinar un determinado número de sedimentos urinarios, se presenta fatiga visual del analista, debido a que todos los componentes son incoloros. Es necesario adicionar un método de coloración como procedimiento de rutina para el análisis de orina, que permita que cada elemento del sedimento tome un color que facilite su observación y disminuya los errores de interpretación.

Varias coloraciones se han propuesto para la identificación clara de estos elementos, entre las que se encuentra el azul de metileno. Sin embargo, se debe mencionar que todas presentan limitaciones diversas, generalmente los laboratorios no aplican estas técnicas de tinción al momento de un análisis microscópico de sedimento urinario, entre otras razones, la principal es por el costo adicional que pudiesen generar sus componentes.

Por lo antes expuesto, éste estudio demostró la utilidad diagnóstica de la coloración MERVI en sedimento urinario para la identificación de células epiteliales y leucocitos presentes en muestras de orina, de pacientes que acudieron al Laboratorio Central del Complejo Hospitalario Universitario Ruiz y Páez, al comparar los resultados que arrojó con la tinción de azul de metileno como método de coloración estandarizado.

OBJETIVOS

Objetivo general

Determinar la utilidad diagnóstica de la coloración MERVÍ en sedimento urinario para la identificación de células epiteliales y leucocitos presentes en muestras de orina.

Objetivos específicos

- Identificar células epiteliales y leucocitos en sedimento urinario con la tinción de azul de metileno y coloración MERVÍ.
- Señalar la eficacia de la coloración MERVÍ en la identificación de células epiteliales y leucocitos en sedimento urinario.
- Determinar la sensibilidad y especificidad de la coloración MERVÍ como tinción de células epiteliales y leucocitos en sedimento urinario en relación con la tinción de azul de metileno.

METODOLOGÍA

Tipo de estudio

Se realizó un estudio experimental de tipo factorial. Muchos experimentos se llevan a cabo para estudiar los efectos producidos por dos o más factores. Ningún factor se considera extraño; todos tienen el mismo interés. En el experimento factorial o arreglo factorial, se investigan todas las posibles combinaciones de los niveles de los factores en cada ensayo completo o réplica del experimento. El experimento factorial afecta a los diseños de tratamientos, que se refiere a la elección de los factores a estudiar, sus niveles y la combinación de ellos²².

Grupo control (Tinción de Azul de Metileno)

El azul de metileno en el laboratorio se utiliza como colorante en las tinciones para la observación en el microscopio, y para teñir resultados en los laboratorios. Para microscopía es utilizado en el diagnóstico celular, y se ha empleado en los exámenes bacteriológicos de muestras de origen humano. Se trata de un colorante que se utiliza para el diagnóstico de estructuras (mediante la fijación, inclusión y tinción con la solución azul de metileno) en muestras de origen citohistológico, bacteriológico y hematológico humano. En muestras de origen citohistológico o urinario las estructuras sin teñir son relativamente pobres en contrastes y apenas si pueden diferenciarse bajo el microscopio óptico. Las imágenes generadas con ayuda de las soluciones de tinción permiten a un examinador autorizado y cualificado reconocer mejor la forma y la estructura²³.

Diseño de estudio

Población

La población estuvo conformada por los pacientes que acudieron al Laboratorio Central del Tórax, del Complejo Hospitalario Universitario Ruiz y Páez, a realizarse examen general de orina.

Muestra

La muestra estuvo constituida por 60 pacientes que solicitaron examen general de orina, siendo esta la muestra necesaria para la obtención del sedimento urinario.

Criterios de Inclusión

Las muestras de orinas anormales que muestren los siguientes tipos de elementos formes en el sedimento urinario.

- Células epiteliales planas, presentes en formas moderadas o abundantes.
- Leucocitos mayores a 4xcpo.

Criterios de Exclusión

Las muestras de orina que no cuenten con los criterios de inclusión anteriormente descritos.

Procedimiento

- a) Búsqueda y recolección de datos y muestras.

Se realizó una visita al Laboratorio Central del Tórax, del Complejo Hospitalario Universitario Ruiz y Páez, donde luego de firmar una carta de

autorización (APÉNDICE A) para la utilización de las muestras de orina ya procesadas, se seleccionaron las muestras que presentaron los criterios de inclusión necesarios para la experimentación.

b) Procesamiento para el análisis general de una muestra de orina.

c)

Procesamiento para muestras de orina.

1) Preparación de la muestra para un análisis general de orina.

Se agregó un aproximado de 10ml de orina en un tubo de 10x75mm, es deseable que el tubo esté compuesto de estireno poliacrílico transparente. Se centrifugó durante 5 minutos a una fuerza centrífuga relativa de 500xg, la centrífuga debe ser del tipo oscilante y no del tipo angular. La orina sobrenadante se debe retirar con aspirador o pipeta o por decantación para dejar un volumen de sedimento de 0,2ml. Esto debe seguirse en principio porque los elementos formes esenciales de la orina se diluirían si el volumen del sedimento supera los 0,2ml. El sedimento debe mezclarse bien con una pipeta u otro dispositivo para lograr uniformidad y evitar dañar los elementos formes de la orina. Se agregó 15ul del sedimento en un portaobjetos de vidrio y se colocó un cubreobjetos sobre el sedimento, asegurándose de que el sedimento se distribuya uniformemente pero que no se escape por los bordes del cubreobjetos y observe al microscopio²⁴.

Los sedimentos en los que se observaron células epiteliales planas, presentes en formas moderadas o abundantes y leucocitos mayores a 4xcpo, fueron seleccionados para el proceso de experimentación, en el que se realizó la comparación entre la tinción MERVI y la tinción de azul de metileno.

Fases Del Estudio

Primera Fase de Experimentación.

Preparación de la muestra para el análisis de sedimento urinario.

- Agregar un aproximado de 10ml de orina en un tubo de plástico.
- Centrifugar la muestra por 5 min a 500xg.
- En otro tubo descartar el sobrenadante.
- Obtención de sedimento urinario.
-

Preparación del sedimento urinario para aplicación de grupo control (Tinción de Azul de Metileno)

- Descartar el sobrenadante de la muestra de orina centrifugada.
- Obtener el sedimento urinario.
- Colocar una gota de azul de metileno en el sedimento obtenido.
- Colocar una gota del sedimento teñido en un portaobjetos y cubrir con el cubreobjetos.
- Observar al microscopio con el objetivo de 40x.

Para esta primera parte experimental se aplicó como técnica de tinción inicial de MERVI una proporción de 10uL de merthiolate y 5uL de violeta de genciana como punto de inicio para la experimentación y de esta forma desarrollar las proporciones adecuadas para un protocolo de trabajo definitivo, trabajando con la tinción de azul de metileno como grupo control para ser comparado con la tinción de MERVI.

Segunda Fase de Experimentación.

En esta segunda fase de experimentación se realizaron las diferentes pruebas correspondientes a las proporciones que son necesarias para cada reactivo. También se realizó la mezcla de diferentes cantidades de violeta de genciana y merthiolate para la obtención de un protocolo de trabajo definitivo.

Así como se determinó la proporción adecuada de violeta de genciana y merthiolate, se estableció el tiempo adecuado a cada proporción preparada realizando el montaje de dos directos del mismo sedimento preparado, con diferentes tiempos antes de observar al microscopio, así como se observa en el cuadro nro. 1.

Cuadro nro. 1

COMPONENTES		TIEMPO DE COLORACION	
MERTHIO LATE	VIOLETA DE GENCIANA		
10uL	5uL/10uL	5min	10min
20uL	5uL/10uL	5min	10min
30uL	5uL/10uL	5min	10min
40uL	5uL/10uL	5min	10min
50uL	5uL/10uL	5min	10min

Una vez determinado el protocolo de trabajo definitivo para aplicar el método de coloración al sedimento urinario, se inició el proceso de comparación entre MERVI y la técnica de coloración estandarizada azul de metileno. El procedimiento ideal seleccionado para el protocolo de trabajo se detalla a continuación:

Técnica de tinción

En una copa de Eppendorf preparar aproximadamente una gota de colorante. Agregando 40uL de merthiolate y 10uL de violeta de genciana. En una lámina portaobjeto, agregar una gota del sedimento obtenido y la preparación anterior. Cubrir

con una laminilla y esperar 10 minutos la acción del colorante y proceder a la observación microscópica.

La técnica anteriormente descrita, se considera como la ideal porque a nivel de observación microscópica se detalla de forma satisfactoria la morfología de los leucocitos y las células epiteliales, así como la mayoría de los elementos formes que se pueden presentar en el sedimento urinario, son totalmente distinguibles. En las siguientes imágenes, se puede visualizar el proceso de tinción aplicado con ambas técnicas de coloración.

La técnica de coloración MERVÍ demostró tener una capacidad de tinción similar a la coloración de azul de metileno. Luego de la fase de experimentación, donde se observaron el total de las 60 muestras seleccionadas, se evidenció que tanto el azul de metileno como MERVÍ, tienen la capacidad de teñir las estructuras internas de los diferentes elementos formes presentes en el sedimento urinario, como se logra observar en las siguientes figuras.

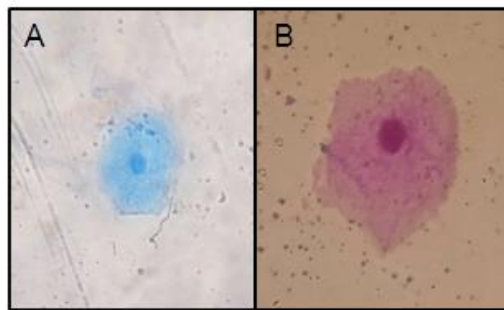


FIG1. Célula epitelial plana en sedimento urinario, teñida con colorante azul de metileno (A) y con la coloración de MERVÍ (B).

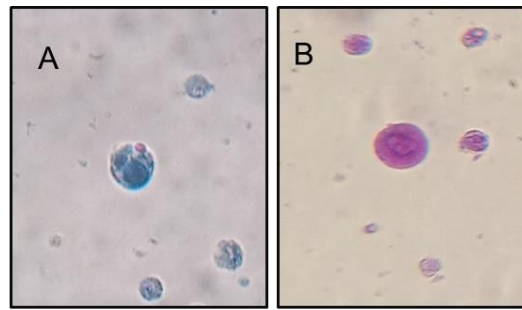


FIG2. Leucocitos en sedimento urinario, teñidos con colorante azul de metileno (A) y con la coloración de MERVÍ (B).

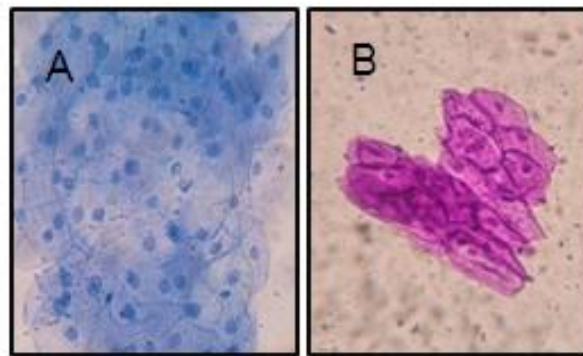


FIG3. Células epiteliales planas en sedimento urinario, teñida con colorante azul de metileno (A) y con la coloración de MERVÍ (B).

En la figura 1 se evidencia una célula epitelial plana, que se suele observar de forma habitual en el sedimento urinario (Fig. 1A) empleando la coloración azul de metileno. De igual forma se puede observar con el uso de la coloración MERVÍ el núcleo y el citoplasma de la célula (Fig. 1B). La posible presencia de estas células en el sedimento urinario es normal, debido a la descamación de las mismas a nivel del tracto urinario.

En la figura 2, se identificó la presencia de leucocitos utilizando la coloración azul de metileno (Fig. 2A). Con la coloración MERVÍ (Fig. 2B), se logró teñir de forma satisfactoria los diferentes leucocitos presentes, su presencia en la orina sugiere, generalmente, un proceso infeccioso, sin embargo, pueden significar

cualquier inflamación de las vías urinarias, incluidas las no causadas por un agente infeccioso, los valores normales son menores a 5 células por campo.

En la Figura 3, se observó la presencia de un grupo de células epiteliales planas, utilizando la coloración azul de metileno (Fig. 2A). Con la coloración MERVI (Fig. 2B), se resalta que no solo se logra evidenciar la presencia de grupos celulares, adicionalmente a esto, la forma estructural de las células se observan mejor definidas, características que se pierde un poco al utilizar el azul de metileno o al no utilizar un método de tinción al momento del estudio del sedimento urinario. Aunque la presencia de las células epiteliales es normal, hasta un número de 5 células por campo, el aumento de estas, puede indicar infecciones urinarias o problemas a nivel renal, de acuerdo al nivel de descamación celular.

Análisis Estadísticos

Los resultados del estudio se analizaron a través de estadística descriptiva y tablas de frecuencia expresados en porcentaje (%). Se aplicó el valor de p consignado, para el análisis de asociación de variables significativas con un valor de $p < 0,05$ para los análisis de frecuencia de los casos estudiados. El almacenamiento de los datos se hizo en el programa Excel 2010 y el programa IBM SPSS versión 26.0. Para determinar la utilidad diagnóstica de la nueva técnica de coloración propuesta MERVI, se tomó como método comparativo la coloración de azul de metileno. Se determinó la sensibilidad (S), especificidad (E), valor predictivo positivo (VPP) y valor predictivo negativo (VPN) de la nueva técnica de coloración propuesta con respecto a la coloración de azul de metileno, tomándose como verdaderos positivos (VP) aquellas muestras donde se observaron células epiteliales y leucocitos y como verdaderos negativos (VN) aquellos donde no se observaron los distintos elementos formes. De igual forma se aplicó el índice de Kappa para establecer la concordancia entre los métodos empleados para la identificación de células epiteliales y leucocitos.

Por lo anteriormente mencionado se presentan las definiciones de los principales parámetros de evaluación de una prueba de diagnóstico clínico y de laboratorio:

Sensibilidad: proporción de muestras donde se observaron células epiteliales o leucocitos. Lo anterior se representa con la siguiente fórmula:

$$S = \frac{VP}{VP + FN} \times 100$$

Dónde;

S: Sensibilidad

VP: verdaderos positivos

FN: falsos negativos

Especificidad: proporción de muestras donde no se observaron células epiteliales o leucocitos. Se representa de la siguiente manera:

$$E = \frac{VN}{VN + FP} \times 100$$

Dónde;

E: especificidad

VN: verdaderos negativos

FN: falsos negativos

Valor Predictivo Positivo: Proporción de muestras donde se observaron células epiteliales o leucocitos.

Valor Predictivo Negativo: Proporción de muestras donde no se observaron células epiteliales o leucocitos.

Verdaderos Positivos: Se observaron células epiteliales o leucocitos.

Verdaderos Negativos: No se observaron células epiteliales o leucocitos.

Falsos Positivos: El sedimento no presenta células epiteliales o leucocitos y se le reportan.

Falsos Negativos: El sedimento presenta células epiteliales o leucocitos y no se reportan.

RESULTADOS

En el siguiente estudio se determinó la utilidad diagnóstica de la coloración MERVI en muestras de orina, para lo cual se ensayaron diferentes proporciones del violeta de genciana y merthiolate, con el fin de obtener una técnica final comparable con el colorante azul de metileno. Se seleccionó una población específica de pacientes que acudieron al Laboratorio Central del Tórax, del Complejo Hospitalario Universitario Ruiz y Paez, a realizarse examen general de orina, para realizar la identificación de células epiteliales y leucocitos presentes en el sedimento urinario.

La fase de experimentación mostró resultados positivos tanto para la técnica de coloración con azul de metileno como para la nueva coloración propuesta, MERVI. Se logró observar en el 100% de las muestras estudiadas los elementos formes del sedimento urinario que fueron de interés para el estudio (Tabla 1).

La nueva técnica de coloración MERVI demostró su eficacia en la identificación de células epiteliales y leucocitos. En la fase experimental se evidenciaron células epiteliales en un total del 65% de las muestras y en un 35% de las muestras leucocitos, demostrándose una efectividad del 100% de la nueva coloración presentada (Tabla 2).

Se expresa que la técnica de coloración MERVI, presentó una sensibilidad y una especificidad del 100%, tomando como técnica de comparación el colorante azul de metileno. Existiendo una perfecta correlación entre ambas técnicas ($Kappa = 1,00$) para la identificación de células epiteliales y leucocitos (Tabla 3).

TABLA 1.

IDENTIFICACIÓN DE CÉLULAS EPITELIALES Y LEUCOCITOS EN SEDIMENTO URINARIO CON LA TINCIÓN AZUL DE METILENO Y COLORACIÓN DE MERVI

Elementos	Azul de metileno		MERVI	
	Nº	%	Nº	%
Células	39	65%	39	65%
Leucocitos	21	35%	21	35%
TOTAL	60	100%	60	100%

TABLA 2.

**SEÑALAR LA EFICACIA DE LA COLORACIÓN MERVI EN LA
IDENTIFICACIÓN DE CÉLULAS EPITELIALES Y LEUCOCITOS**

Elementos	MERVI	
	Nº	%
Células	39	65%
Leucocitos	21	35%
TOTAL	60	100%

TABLA 3.

SENSIBILIDAD, ESPECIFICIDAD, VPP, VPN Y EL ÍNDICE DE KAPPA DE LA COLORACIÓN MERVY Y AZUL DE METILENO PARA LA IDENTIFICACIÓN DE CÉLULAS EPITELIALES Y LEUCOCITOS

PARAMETRO	AZUL DE METILENO	MERVY
CELULAS EPITELIALES	39 (65%)	39 (65%)
LEUCOCITOS	21 (35%)	21 (35%)
SENSIBILIDAD		100%
ESPECIFICIDAD		100%
VPP		100%
VPN		100%
INDICE KAPPA		1%

Índice de Kappa: 0,21 - 0,49 débil; 0,50 - 0,79 moderado; $\geq 0,80$ excelente; 1,00 Perfecto.

DISCUSIÓN

El diagnóstico de laboratorio para el análisis de los sedimentos urinarios en Venezuela es una práctica de mucha utilidad, debido a su extremada sencillez y su escasa complejidad. Se basa primordialmente en la observación microscópica de muestras de orina, debido a los diferentes elementos formes que componen los sedimentos urinarios y otros factores mencionados anteriormente, que limitan su correcta identificación a nivel microscópico, se hace necesario buscar procedimientos sencillos y eficaces, que puedan ser aplicados en los laboratorios clínicos, con la finalidad de mejorar la confiabilidad de los resultados del examen general de orina.

Según el Instituto de Salud de Bucaramanga en su manual de coloraciones de 2019, la importancia del uso de las coloraciones en el diagnóstico del laboratorio radica en facilitarle al analista los estudios de los microorganismos, brindando la posibilidad de poder distinguirlos del medio ambiente y así poder analizar las características morfológicas de éstos, que por lo general son transparentes y es necesario el poder distinguirlos, por ello recomiendan la aplicación de buenas técnicas de coloración²⁵.

Luego de aplicar las diferentes técnicas de coloración utilizadas en el presente estudio, no se encontraron diferencias significativas con respecto a la identificación de células epiteliales y leucocitos. Al utilizar la tinción de MERVI, se observa una total identificación de las diferentes estructuras presentes en sedimento urinario, estos resultados van de la mano con el trabajo realizado en el año 2020 por Ruiz, quien realizó una evaluación de la eosina amarillenta y el azul de anilina como métodos de tinción para sedimento urinario, luego de los resultados emitidos por 7 técnicos diferentes, del mismo sedimento, encontró una variación de 8 a 20 eritrocitos y de 5 a 18 leucocitos, consideró que esta variación se debió a que no utilizaron colorante para el sedimento urinario, concluyó que es necesario utilizar métodos de coloración para

la correcta identificación de las células, eritrocitos y polimorfonucleares, así como para disminuir errores de interpretación²⁶.

Tampoco se encontraron referencias de coloraciones aplicadas en la identificación de elementos formes presentes en muestras de orina, donde se empleen los colorantes violeta de genciana y merthiolate en conjunto.

Sin embargo, el cristal violeta, tiene uso en el uroanálisis como componente de la tinción de Sternheimer-Malbin, tinción empleada para el análisis de sedimentos urinario, lo que permite comparar la eficacia de esta coloración. Estos resultados difieren con el trabajo expuesto en la Ciudad de México por Sánchez, quien luego de aplicar la tinción en 108 muestras de orina, concluyo con un 66,7% que los resultados son inconstantes, ya que se requiere filtración frecuente de la preparación debido a que suele precipitar²⁷.

Tomando en cuenta que la técnica de coloración MERV, presentó una sensibilidad y una especificidad del 100%, se logró comparar con el trabajo realizado por Chanqueo y colaboradores, quienes en 2015 en su trabajo de investigación estimaron la sensibilidad y especificidad de la tinción de Gram-Hucker en urocultivos, que tiene como componente principal el cristal violeta, y llegaron a la conclusión que el mismo tuvo una sensibilidad de 37,5% a diferencia del presente trabajo, sin embargo presento una especificidad del 100% que concuerda con los resultados expresados anteriormente²⁸. Q

CONCLUSIONES

Se logró la identificación de los elementos formes de interés con la nueva técnica de coloración MERVI, no se encontraron diferencias significativas al momento comparar los resultados con la tinción azul de metileno.

La coloración resulto eficaz para la identificación de las células epiteliales y los leucocitos que pueden estar presentes en las muestras de orina.

La técnica de coloración MERVI para la identificación de células epiteliales y leucocitos presentes en sedimento urinario, resulto específica y sensible.

RECOMENDACIONES

Al momento de aplicar ésta coloración no debe usarse cristal violeta para llevar a cabo la preparación del reactivo MERVI, debido a que esta posee un nivel de concentración mayor a la violeta de genciana distribuida comercialmente en farmacias.

El uso de ésta nueva técnica de coloración para la identificación de células epiteliales y leucocitos presentes en sedimento urinario, simplifica el protocolo de trabajo, y aunque no es de rutina el uso de coloraciones para la visualización de muestras de orinas, el uso de MERVI disminuye costos en cuanto a colorantes se refiere.

Se debe considerar realizar este tipo de coloración para la identificación de otros elementos formes que se encuentran presentes en el sedimento urinario.

Es necesario incluir técnicas de coloración en el protocolo del trabajo de rutina en el área de uroanálisis.

El utilizar nuevos componentes al alcance de todos, puede ser muy beneficioso en cuanto a la obtención de técnicas sencillas y de fácil aplicación.

La preparación del colorante MERVI debe realizarse poco antes del procesamiento de las muestras de orina, puesto que se observó que la coloración suele generar precipitados de sus componentes, interfiriendo en algunas ocasiones con la visualización de las formas de interés.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Robertson, D. 2016. Lectura compresiva para el estudio del uroanálisis. LabCon 2da edición, pp.279-284, 2da ilustrada [En línea] <https://www.aafp.org/pubs/afp/issues/2005/0315/p1153.html#:~:text=Urinalysis%20is%20invaluable%20in%20the,systemic%20disease%20affecting%20the%20kidneys> [Citado el: 26 de Junio de 2023.]
2. Sanford, J. 2018. La urología en el mundo antiguo. Revista Medica, XXXV edición [En línea] <https://caibco.ucv.ve/caibco/vitae/VitaeVeintiseis/MedicinaenelTiempo/ArchivosHTM/aprox.htm#arriba>. [Citado el: 26 de Junio de 2023.]
3. Pernigotti, M. 2015. Centro de Investigación y Biotecnología – Wiener Laboratorios S.A.I.C. [En línea] <https://notiwiener.net/2015/01/sedimentos-urinarios-en-el-diagnostico-clinico/>. [Citado el: 11 de Septiembre de 2022.]
4. Shanahan, K. 2016. Análisis de orina y de los líquidos corporales. Editorial Lippincott Williams & Wilkins, 2da edición. [En línea] <https://www.aresta.com.co/laboratorios/analisis-clinicos/seccion-sedimentourinario/> [Citado el: 26 de Junio de 2023.]
5. Peut, D. 2014. Diagnósticos clínicos, por métodos de laboratorio. Saunders 74, edición 15, pp. 354, 3ra ilustrada.
6. Bork, R. 2018. Evaluación del analizador automatizado para orinas Sysmex UF-100. s.l.: Clin Chem, 44, pp. 92-95. 2da edición.

7. Pijuán, C. 2016. Instituto de análisis Farestaie. [En línea] <https://www.farestaie.com.ar/laboratorios/analisis-clinicos/seccion-sedimentourinario/#:~:text=Existen%20numerosos%20m%C3%A9todos%20de%20tinci%C3%B3n,leucocitos%20vital%20leucocitos%20desvitalizados>) [Citado el: 11 de Septiembre de 2022.]

8. Serafini-Cessi, N. Malagolini, D. 2014. Tamm-Horsfall glycoprotein: biology and clinical relevance. *Am J Kidney Dis*, 42 pp. 658-676. Instituto de análisis Farestaie. [En línea] <https://www.farestaie.com.ar/laboratorios/analisis-clinicos/seccion-sedimento-urinario/#:~:text=Existen%20numerosos%20m%C3%A9todos%20de%20tinci%C3%B3n,leucocitos%20vital%20leucocitos%20desvitalizados>) [Citado el: 11 de Septiembre de 2022.]

9. National Committee for Clinical Laboratory Standards, 2019. Urinalysis and collection, transportation and preservation of urine specimens; Urinalysis approved guideline. Clinical and Laboratory Standards Institute. s.l. : Five Ed. Vol. 37. Number 6.

10. Koneman, E., Procop, G., Church, D., Hall, G., Janda, W. 2018. *Diagnostico Microbiologico: Texto Y Atlas En Color*. s.l. : Editorial WoltersKluwer. España. 7ª ed. pp 637.

11. Instituto de Salud de Bucaramanga, 2019. *Manual de coloraciones* 2a ed. Colombia CIGD. [En línea] <https://181.48.57.101>. [Citado el: 11 de Septiembre de 2022.]

12. Coke, R. 2017. Historia de la Medicina Chilena. Santiago de Chile. : Editorial Andrés Bello. pp 412, 3ra ilustrada.
13. Jimenez, D. 2017. Violeta de genciana. Revista cientifica SCIENCE ISSN, 9na edición [En línea] <https://scienceissn.com.ec/salud/violeta-de-genciana/>. [Citado el: 26 de Junio de 2023.]
14. Fixatives, Reagents and Stains. 2018. APACOR. [En línea] <https://apacor.com/product/fixatives-reagents-and-stains/>. [Citado el: 11 de Septiembre de 2022.]
15. Zambrano, B. 2014. Consideraciones generales sobre el mercurio, el timerosal y su uso en vacunas pediátricas. [En línea] http://www.scielo.edu.uy/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1688-03902004000100002. [Citado el: 11 de Septiembre de 2022.]
16. Piovesan, B. 2019. Benzalkonium Chlorides: Uses, Regulatory Status, and Microbial Resistance. [En línea] <https://journals.asm.org/doi/10.1128/AEM.00377-19>. [Citado el: 11 de Septiembre de 2022.]
17. Randall, J. 2016. Laboratorio clinico para la parasitologia. [En línea] https://books.google.co.ve/books?id=O_2tVxluA98C&pg=PA53&lpg=PA53&dq=merthiolate+in+laboratory+stain&source=bl&ots=_HIn951pNc&sig=ACfU3U0J1qSJMkpMLovAEo1GnZL9f3Zmzw&hl=en&sa=X&ved=2ahUKEwjwv93StZL3AhUEsDEKHVIQAYwQ6AF6BAhFEAM#v=onepage&q&f=false. [Citado el: 26 de Junio de 2023.]
18. Sibrián, J. 2018. Coloración Xarin. [En línea]

<https://www.facebook.com/100001260686093/posts/2066163270102342/?sfnsn=mo> [Citado el: 11 de Septiembre de 2022.]

19. Contreras, G. Díaz, C. 2021.Utilidad de la coloración con Merthiolate y Violeta de Genciana en muestras clínicas de heces fecales para el diagnóstico de chromistas y protozoarios intestinales. Trabajo de Grado. Ciudad Bolívar, Estado Bolívar. Esc. Cs. Salud. Bolívar U.D.O. : Dpto. de Parasitología y Microbiología, Laboratorio Clinico Nellamed C.A. pp 64 (Multígrafo).
20. Sotillo, J. Sarmiento, G. 2022.Aplicación de la tinción MERVI en muestras clínicas de sangre periférica para la identificación de células en extendido sanguíneo. Trabajo de Grado. Ciudad Bolívar, Estado Bolívar. Esc. Cs. Salud. Bolívar U.D.O.
21. Gómez, R. Pellegrini, P. 2014. Departamento Laboratorio Biomédico Nacional y de Referencia. Instituto de Salud Pública de Chile. [En línea] <https://www.ispch.cl/sites/default/files/documento/2013/04/RECOMENDACIONES%20PARA%20EL%20AN%C3%81LISIS%20DEL%20SEDIMENTO%20URINARIO.PDF>. [Citado el: 2 de Octubre de 2022.]
22. Medina, P., López, A. 2016. Análisis crítico del criterio factorial sobre casos aplicados. Editorial Scientia Et Technica. 2da ilustrada [En línea] 17(47): 101106. Disponible: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=84921327018>. [Citado el: 26 de Junio de 2023.]
23. Mulisch, M. Ulrich, W. 2015. Romeis - MikroskopischeTechnik, Editors: SpringerSpektrum, 19. Auflage[En línea]

https://www.merckmillipore.com/INTERSHOP/web/WFS/Merck-BR-Site/pt_BR/-/BRL/ShowDocument-File?ProductSKU=MDA_CHEM-115943&DocumentId=200703.415.ProNet&DocumentUID=14170&DocumentType=PI&Language=ES&Country=NF&Origin=PDP#:~:text=Se%20trata%20de%20un%20colorante,con%20la%20soluci%C3%B3n%20azul%20de [Citado el: 11 de Septiembre de 2022.]

24. Comité Japonés de Estandarización del Examen de Sedimentos Urinarios. 2017. Procedimientos de Examen de Sedimentos Urinariosm. Volumen 66, NúmeroJ-STAGE-1, Páginas 9-17. [En línea] https://www.jstage.jst.go.jp/article/jamt/66/J-STAGE-1/66_17J1-1e/_html/-char/en#sec01 [Citado el: 21 de Octubre de 2022.]
25. Instituto de Salud de Bucaramanga. 2019. Manual de coloraciones. 2a ed. Colombia: CIGD. [En línea] <https://181.48.57.101>[Citado el: 12 de Abril de 2023.]
26. Ruiz, I. 2020. Método de tinción para el sedimento urinario. Acta médica, vol XXIII, número 89, pag. 27-29. [En línea] <https://biblat.unam.mx/hevila/actamedicaescuelasuperiordemedicinaIPN/2020/vol23/no89/6.pdf>
27. Sánchez, T. 2018. Implementación de la tinción Sternheimer-Malbin en uroanálisis. [En línea] <https://es.slideshare.net/ThorfinnRowle/tincin-de-sternheimermalbin> [Citado el: 12 de Abril de 2023.]
28. Chanqueo, L. 2015. Evaluación de la tinción de Hucker. Rev. chil. infectol. v.22 n.3 Santiago sep. 2015. [En línea] <http://dx.doi.org/10.4067/S0716-10182005000300004> [Citado el: 12 de Abril de 2023.]

APÉNDICES



APÉNDICE A

Ciudad Bolívar, Marzo de 2023.

Laboratorio Central del Complejo Hospitalario Universitario Ruiz y Paez
Licenciada Marina Appice;
Su despacho

CARTA DE AUTORIZACIÓN

En esta oportunidad me dirijo a usted con el fin de solicitar su colaboración y autorización para el acceso al laboratorio clínico, específicamente al área de Uroanálisis, con el objetivo de tomar las muestras de orina ya procesadas, esto para llevar a cabo un estudio de investigación que me permita realizar el trabajo de grado que lleva por título; **“UTILIDAD DE LA COLORACIÓN Mervi EN LA IDENTIFICACIÓN DE CÉLULAS EPITELIALES Y LEUCOCITOS PRESENTES EN SEDIMENTO URINARIO”**,

Trabajo de grado realizado por la **BR. BERNABELA TORREALBA EMERIC SHARLENE**, C.I. 22.817.366, bajo la tutoría de la **LICENCIADA ANTONELLA ANTONUCCI**, como requisito para optar por el título de Licenciatura en Bioanálisis otorgado por la Universidad de Oriente, Núcleo Bolívar.

Sin más que hacer referencia, me despido agradeciendo su máxima colaboración.

Br. Bernabela Emeric

Licenciada Marina Appice

Licenciada Antonella Antonucci

SELLO CENTRO



APÉNDICE B

Ciudad Bolívar, Marzo de 2023.

Laboratorio Clínico NellaMed
Licenciada Antonella Antonucci;

CARTA DE AUTORIZACIÓN

En esta oportunidad me dirijo a usted con el fin de solicitar su autorización para el acceso al laboratorio clínico, específicamente al área de Uroanálisis, con el objetivo de procesar las muestras de orina necesarias para poder realizar el trabajo de grado que lleva por título; **"UTILIDAD DE LA COLORACIÓN MERVİ EN LA IDENTIFICACIÓN DE CÉLULAS EPITELIALES Y LEUCOCITOS PRESENTES EN SEDIMENTO URINARIO"**, como requisito para optar por el título de Licenciatura en Bioanálisis otorgado por la Universidad de Oriente, Núcleo Bolívar.

Sin más que hacer referencia, me despido agradeciendo su máxima colaboración.

Br. Bernabela Emeric

Licenciada Antonella Antonucci

SELLO CENTRO

METADATOS PARA TRABAJOS DE GRADO, TESIS Y ASCENSO:

Título	UTILIDAD DE LA COLORACIÓN MERVÍ EN LA IDENTIFICACIÓN DE CÉLULAS EPITELIALES Y LEUCOCITOS PRESENTES SEDIMENTO URINARIO
---------------	---

Autor(es)

Apellidos y Nombres	Código CVLAC / e-mail	
Bernabela Torrealba, Emeric Sharlene.	CVLAC	22.817.366
	e-mail	esbt141122@gmail.com

Palabras claves:

Nueva coloración, violeta de genciana, merthiolate, sedimento urinario, leucocitos, células epiteliales.

METADATOS PARA TRABAJOS DE GRADO, TESIS Y ASCENSO:

Área	Subárea
Departamento de Bioanálisis	

Resumen (abstract):

El análisis microscópico del sedimento urinario es una de las pruebas de laboratorio más solicitada para el estudio o valoración de pacientes con padecimientos renales. Existen diversos métodos para el estudio del sedimento urinario, tanto manual como automatizado. Las coloraciones tienen un importante papel en el estudio microscópico de las muestras de orina, ya que su uso permite lograr una correcta identificación de los diferentes elementos formes que se encuentran presentes en el mismo. Se realizó un estudio experimental de tipo factorial, con la finalidad de determinar la utilidad diagnóstica de la coloración MERVI en sedimento urinario para la identificación de células epiteliales y leucocitos presentes en muestras de orina, de pacientes que acudieron al Laboratorio Central del Complejo Hospitalario Universitario Ruiz y Páez. Se logró, en el total de los sedimentos estudiados, aplicar la tinción de forma satisfactoria. Logrando obtener porcentajes iguales en la identificación de los elementos formes de interés con los dos métodos de coloración empleados, por lo que se determinó en un 100% la eficacia de la nueva técnica de coloración MERVI para la identificación de leucocitos y células epiteliales presentes en el sedimento urinario, comparado con la coloración de azul de metileno. Cuantitativamente el rendimiento con respecto a la especificidad y sensibilidad fue de un 100% para la nueva técnica de coloración MERVI en la identificación de leucocitos y células epiteliales presentes en el sedimento urinario comparando con la coloración de azul de metileno.

METADATOS PARA TRABAJOS DE GRADO, TESIS Y ASCENSO:

APELLIDOS Y NOMBRES	ROL / CÓDIGO CVLAC / E_MAIL				
Antonucci, Antonella	ROL	CA	AS	TU	JU X
	CVLAC:	12.192.195			
	E_MAIL	nenella1976@gmail.com			
	E_MAIL				
Hernández, Helga	ROL	CA	AS	TU	JU X
	CVLAC:	15.372.705			
	E_MAIL	helgahernandezj1@gmail.com			
	E_MAIL				
Romero, Mercedes	ROL	CA	AS	TU X	JU
	CVLAC:	15.636.934			
	E_MAIL	romeromercedes1701@gmail.com			
	E_MAIL				

FECHA DE DISCUSIÓN Y APROBACIÓN:

Año	Mes	Día
2023	10	16

LENGUAJE. SPA

METADATOS PARA TRABAJOS DE GRADO, TESIS Y ASCENSO:

ARCHIVO (S):

NOMBRE DE ARCHIVO	TIPO MIME
Tesis Utilidad De La Coloración Mervi En La Identificación De Células Epiteliales Y Leucocitos Presentes Sedimento Urinario	. MS.word

ALCANCE:

Espacial: Laboratorio Clínico NellaMed

Temporal: 10 años

TÍTULO O GRADO ASOCIADO CON EL TRABAJO:

Licenciatura en Bioanálisis

NIVEL ASOCIADO CON EL TRABAJO

Pregrado

ÁREA DE ESTUDIO

Departamento de Bioanálisis

INSTITUCIÓN:

Universidad de Oriente

.

METADATOS PARA TRABAJOS DE GRADO, TESIS Y ASCENSO:



**UNIVERSIDAD DE ORIENTE
CONSEJO UNIVERSITARIO
RECTORADO**

CU N° 0975

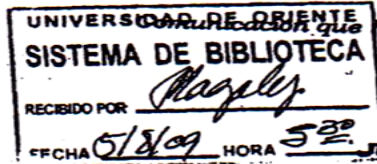
Cumaná, 04 AGO 2009

Ciudadano
Prof. JESÚS MARTÍNEZ YÉPEZ
Vicerrector Académico
Universidad de Oriente
Su Despacho

Estimado Profesor Martínez:

Cumplo en notificarle que el Consejo Universitario, en Reunión Ordinaria celebrada en Centro de Convenciones de Cantaura, los días 28 y 29 de julio de 2009, conoció el punto de agenda **"SOLICITUD DE AUTORIZACIÓN PARA PUBLICAR TODA LA PRODUCCIÓN INTELECTUAL DE LA UNIVERSIDAD DE ORIENTE EN EL REPOSITORIO INSTITUCIONAL DE LA UDO, SEGÚN VRAC N° 696/2009"**.

Leído el oficio SIBI - 139/2009 de fecha 09-07-2009, suscrita por el Dr. Abul K. Bashirullah, Director de Bibliotecas, este Cuerpo Colegiado decidió, por unanimidad, autorizar la publicación de toda la producción intelectual de la Universidad de Oriente en el Repositorio en cuestión.



hago a usted a los fines consiguientes.

Cordialmente,

JUAN A. BOLANOS CUNTELE
Secretario



C.C: Rectora, Vicerrectora Administrativa, Decanos de los Núcleos, Coordinador General de Administración, Director de Personal, Dirección de Finanzas, Dirección de Presupuesto, Contraloría Interna, Consultoría Jurídica, Director de Bibliotecas, Dirección de Publicaciones, Dirección de Computación, Coordinación de Teletinformática, Coordinación General de Postgrado.

JABC/YGC/marija

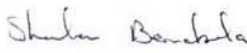
Apertado Correos 094 / Telfa: 4008042 - 4008044 / 8008045 Telefax: 4008043 / Cumaná - Venezuela

METADATOS PARA TRABAJOS DE GRADO, TESIS Y ASCENSO:

DERECHOS

De acuerdo al artículo 41 del reglamento de trabajo de grado (Vigente a partir del II Semestre 2009, según comunicación CU-034-2009) “Los Trabajos de grado son exclusiva propiedad de la Universidad de Oriente y solo podrán ser utilizados a otros fines con el consentimiento del consejo de núcleo respectivo, quien lo participara al Consejo Universitario”

AUTOR(ES)


Br. BERNABELA TORREALBA EMERIC SHARLENE Br.
C.I. 22817366 C.I.
AUTOR AUTOR

JURADOS


TUTOR: Prof. ANTONELKA ANTONUCCI
C.I.N. 12.192.195
EMAIL: Nenelka1976@gmail.com


JURADO Prof. MERCEDES ROMERO
C.I.N. 8939481
EMAIL: hromeroc@1201@gmail.com


JURADO Prof. HELGA HERNANDEZ
C.I.N. 12.256.705
EMAIL: helgahernandezj4@gmail.com


P. COMISIÓN DE TRABAJO DE GRADO

DEL PUEBLO VENIMOS / HACIA EL PUEBLO VAMOS
Avenida José Méndez e c Colombo Silva- Sector Barrio Ajuro- Edificio de Escuela Ciencias de la Salud- Planta Baja- Ciudad Bolívar- Edo. Bolívar- Venezuela
Teléfono (0285) 6321976