

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES ZARAGOZA

Elaboración de un atlas de Sedimento Urinario como apoyo
a los laboratorios de Análisis Clínicos de la
FES-Zaragoza.

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
QUÍMICO FARMACÉUTICO BIÓLOGO

PRESENTA:

GUADALUPE NOEMI DURÁN HERNÁNDEZ

ASESORES:

Q.F.B. Rosalba Cervantes Cruz

Q.F.B. Luz Margarita Chávez Martínez

MÉXICO, D.F.

2012



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

AGRADECIMIENTOS

Agradezco a Dios, porque me permitió lograr una de mis metas, por brindarme sabiduría, inteligencia y paciencia para realizar esta obra de la cual esperó aporte mucho y ayude a muchos.

Agradezco a mis asesoras QFB. Rosalba Cervantes Cruz y QFB. Luz Margarita Chávez Martínez, por ser mi guía durante este proceso, por confiar en mí y brindarme siempre su tiempo y espacio.

Agradezco al Laboratorio de Análisis Clínicos de HGR N°25 por su cooperación y apoyo con la obtención de fotos de sedimento urinario, especialmente a la QFB. Natalia Hernández Méndez, QBP. Silvia Rodríguez Cortés, QFB. Sergio Rosales Peña y Técnico Lab. Maura Rodríguez, así mismo al Área de Patología por su amabilidad, comprensión y apoyo.

Agradezco al Diseñador Gráfico y amigo Antonio Luna Gutiérrez por su contribución en la elaboración de esta obra.

Finalmente, agradezco a mis padres, hermanos, familiares y amigos que representan mi motor para seguir adelante.

“TODO LO PUEDO, EN CRISTO QUE ME FORTALECE” JÚ IV, 13

ÍNDICE

1. Resumen	1
2. Introducción	2
3. Marco Teórico	3
3.1 El riñón	3
3.1.1 Formación de la orina	3
3.2 Examen microscópico de orina	5
3.2.1 Sedimento Urinario	6
3.3 Elementos formes presentes en patologías ...	11
3.4 Tinciones de Sedimento Urinario	12
4. Planteamiento del problema	14
5. Objetivos	15
6. Material	16
7. Diseño experimental	17
7.1 Tipo de estudio	
7.2 Criterios de inclusión	
7.3 Criterios de exclusión	
7.4 Población de estudio	
8. Metodología	18
9. Resultados	20
10. Discusión de resultados	21
11. Conclusiones	23
12. Propuestas	23
13. Referencias	24

1. RESUMEN

Apoyando al programa de estudios del módulo de Química Clínica donde el alumno logra parte de su aprendizaje a través de material didáctico, se elaboró un atlas de texto e imagen que permita la identificación de estructuras en sedimento urinario. Representando una herramienta más para el alumno de la carrera de Q.F.B. del área de Bioquímica Clínica e interesados sobre el tema.

El contenido de esta obra consta de seis capítulos en formato pdf que incluyen figuras, esquemas, imágenes y cuadros, así como, un Glosario de términos que contribuirá de forma rápida y fácil a la comprensión del texto. La revisión bibliográfica fue obtenida de los últimos 10 años, de libros de anatomía y fisiología del riñón, de Bioquímica Clínica, atlas de sedimento urinario y artículos; sin olvidar la literatura clásica.

Se tomaron 170 fotos de sedimento urinario teñidos y sin teñir mediante una cámara digital (Fujifilm Finepix 10.5 megapíxeles), fueron editadas (Galería fotográfica de Windows live) para después ser etiquetadas y clasificadas en Power point y finalmente integradas. En cada foto se encontrará una breve descripción de lo que se observa y algunos datos clínicos.

Se realizó la tinción de sedimento y una selección de acuerdo a la calidad que presentó la estructura teñida; se entregó 14 laminillas de sedimento teñido al laboratorio de Análisis Clínicos correspondiente a la Clínica Universitaria en Atención a la Salud (C.U.A.S.) “Estado de México”, con tinciones como: Lugol, Gram, Wright y Sternheimer-Maibin donde se puede observar células epiteliales, leucocitos, bacterias y cristales de oxalato de calcio.

Se espera que este material esté a la disposición del alumno de noveno semestre del área de Bioquímica Clínica e interesados sobre el tema.

2. INTRODUCCIÓN

A partir de la Generación 2005, entró en vigencia un nuevo plan de estudios de la Carrera de Química Farmacéutico Biológica, el cual consta de 9 semestres, divididos en tres bloques: ciclo básico, ciclo intermedio y ciclo Terminal que comprende octavo y noveno semestre. En este último ciclo el alumno podrá elegir entre una de las tres orientaciones: Bioquímica Clínica, Farmacia Industrial y Farmacia Clínica.

El nuevo plan busca que el alumno participe activamente en su propio proceso de aprendizaje para lo cual en el área de Bioquímica Clínica se cuenta con laboratorios de Análisis Clínicos que permite aplicar la modalidad de “aprender haciendo”.

En la orientación de Bioquímica Clínica se proporciona principalmente al alumno elementos para la práctica profesional desde aspectos legales, organizativos y fundamentos de las pruebas que se realizan en el laboratorio de análisis clínicos para el diagnóstico de alguna patología, por ejemplo Examen General de Orina (EGO) o Uroanálisis.

Específicamente, el Uroanálisis comprende el examen de las características físicas de la orina como: color, aspecto y densidad; las características químicas como: pH, contenido de proteínas, glucosa, cetonas, sangre oculta, bilirrubina, urobilinógeno y nitritos; por último las características microscópicas tales como: células y bacterias, entre otros elementos.¹ Esta última parte, el alumno requiere de información que le permita conocer y reconocer las estructuras presentes en el sedimento urinario.

Las Nuevas Tecnologías presentan como herramientas alternativas de valiosa potencialidad y uso efectivo en las aulas, como un modo de acercar el conocimiento científico a los estudiantes, a través de recursos innovadores que promueven la formación del juicio crítico. Dentro de estos recursos se encuentran los materiales multimedia educativos, capaces de mostrar, producir y/o almacenar información textual, sonora y audiovisual de un modo integrado.²

El término multimedia se utiliza para referirse a sistemas que utilizan múltiples medios de expresión (físicos o digitales) para presentar o comunicar información. El uso de los sistemas multimedia en la educación responde a una nueva herramienta de enseñanza que permite la integración de texto, imágenes y sonido, habitualmente bajo el control de un ordenador. Cuando se piensa en imágenes se puede traer a la mente mucha información, la capacidad de abstracción está directamente relacionada con la capacidad de visualización, esto explica que la mayoría de los estudiantes sean visuales.³

Por todo lo anterior, el empleo de un atlas de texto e imágenes en un programa electrónico pretende simplificar la información proporcionando una guía rápida y apoyo visual que atrape la atención de los estudiantes facilitando la retención e identificación de las estructuras, sin embargo, no se pretende desplazar la información que otras fuentes bibliográficas pueden proporcionar.

3. MARCO TEÓRICO

3.1 EL RIÑÓN

Los riñones son órganos pares rojizos, en forma de fríjol, situados a los lados de la columna vertebral, a la altura de las dos últimas vértebras dorsales y la primera lumbar, justo arriba de la cintura. El riñón derecho está un poco más abajo que el izquierdo debido a que el hígado ocupa un espacio considerable, sin embargo estos no se encuentran fijos pues siguen los movimientos respiratorios.^{4,5}

En el adulto un riñón normal mide de 10 a 12 cm de largo, de 5 a 7 cm de ancho y 3 cm de espesor, aproximadamente tiene una masa de 135 a 150 g.⁶

Cada riñón está rodeado por tres capas de tejido: una **capa profunda** (Cápsula renal) que es continuación de la cubierta externa del uréter, sirve como barrera contra traumatismos y también mantiene la forma del riñón, además una **capa intermedia** (Cápsula adiposa) una masa de tejido graso que rodea a la cápsula renal, protege y sostiene firmemente en su sitio en la cavidad abdominal y por último la **capa superficial** (fascia renal) una delgada capa de tejido conectivo denso e irregular, que fija el riñón a las estructuras circundantes y a la pared abdominal.⁷

La unidad funcional del riñón es la **nefrona**, cada riñón humano está constituido por 1.2 millones de nefronas. Inicialmente se compone por un glomérulo donde se produce la filtración de la sangre que proviene de una arteria, posteriormente pasan a un sistema de túbulos (túbulo contorneado proximal, asa de Henle, túbulo distal y conducto colector) en donde la mayor parte del ultrafiltrado es reabsorbido por la pared tubular y devuelto a la sangre; la fracción no reabsorbida pasa a un conducto constituido por un segmento cortical y medular formando así la orina que la conducen finalmente a las papilas renales y la pelvis renal para su excreción.⁷

3.1.1 Formación de la orina

La sangre que llega al riñón a través de la arteria renal de gran diámetro y elevada presión se ramifica en arterias interlobulillares que irrigan la corteza renal y dan origen a las **arterias aferentes**. Los capilares vuelven a unirse para formar la **arteriola eferente** que lleva la sangre a una segunda red capilar que rodea las células del túbulo renal (Fig. 1). La microcirculación del riñón está constituida por dos redes capilares dispuestas en serie: una red de mayor presión situada entre las arteriolas aferentes y las eferentes del glomérulo, la sangre procedente de esta pasa a la segunda red capilar que suministra oxígeno y nutrientes a las células tubulares y permite el intercambio de sustancias con el contenido de la luz tubular.^{7 y 8}

Las sustancias disueltas en el plasma pasan por filtración en el glomérulo o por secreción por la pared del túbulo renal. El filtro glomerular permite el paso de los solutos cuyo radio molecular es $r < 1.8$ nm (masa molecular=15,000 daltons), en condiciones normales las sustancias con radio > 4.4 .nm (80,000 D) no pasan a través del filtro glomerular, por ejemplo: las globulinas plasmáticas.

Las partículas provistas de carga negativa como la albúmina del plasma $r=3.5\text{nm}$ pasan con menos facilidad que los compuestos de carácter neutro debido a que la carga de la pared del filtro glomerular es negativa y tendría un efecto de repulsión sobre compuestos cargados negativamente, disociados como aniones.⁹

Además el filtro glomerular está constituido por varias capas: las células endoteliales, la membrana glomerular basal y los podocitos (Figura 1). Las células endoteliales contienen numerosos poros en forma de hendidura, es decir laminilla fenestrada (laminillas o aberturas grandes que permite el paso de moléculas grandes) con poros de 5nm de diámetro; otra de las capas corresponde a la membrana basal glomerular que es muy gruesa y mide entre 100 a 200 nm rica en componentes como laminina una glicoproteína asociada a colágeno IV y proteoglicanos cargados negativamente como el heparan sulfato.

Posterior a la membrana basal se encuentran los podocitos o membrana visceral de la cápsula de Bowman y apéndices denominados pedicefios que forman interdigitaciones que controlan la filtración de proteínas del lumen capilar en el espacio de Bowman. Posee una capa cargada negativamente por su composición, principalmente glicocalix que limita la filtración de moléculas con carga negativa, como la albúmina.^{8, 9 y 10}

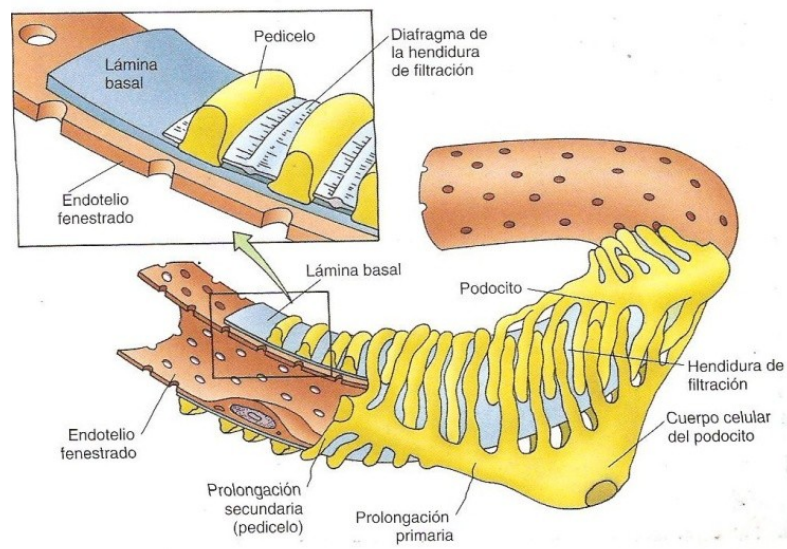


Figura 1. Capas del filtro Glomerular⁸

Las sustancias umbrales son aquellas que no son reabsorbidas completamente por los túbulos renales cuando su concentración plasmática no se encuentra dentro del límite superior normal. Cuando la concentración normal a nivel plasmático es superado las sustancias aparecen en la orina.

Una vez que se ha producido el filtrado glomerular, el túbulo renal reabsorbe la mayor parte de agua, además de los electrolitos, los aminoácidos, el ácido úrico, lactato, urea, péptidos, proteínas, ácido ascórbico, glucosa, etc. Sin embargo parte de los productos de procedencia endógena, es decir, resultado del metabolismo celular como: Ácido úrico. Los compuestos exógenos como: penicilina, diuréticos, ácido para-

aminohipurato (PAH) y otros productos xenobióticos mediante transporte activo son desechados formando parte de la orina.⁹ (Fig. 2)

A medida que el filtrado se moviliza a través de los túbulos, diversas sustancias se le agregan por el proceso de secreción tubular. El túbulo proximal secreta sulfatos, hipuratos, iones hidrógeno y fármacos como la penicilina. El túbulo distal a su vez intercambia iones de hidrógeno por iones sodio provenientes del bicarbonato de sodio.

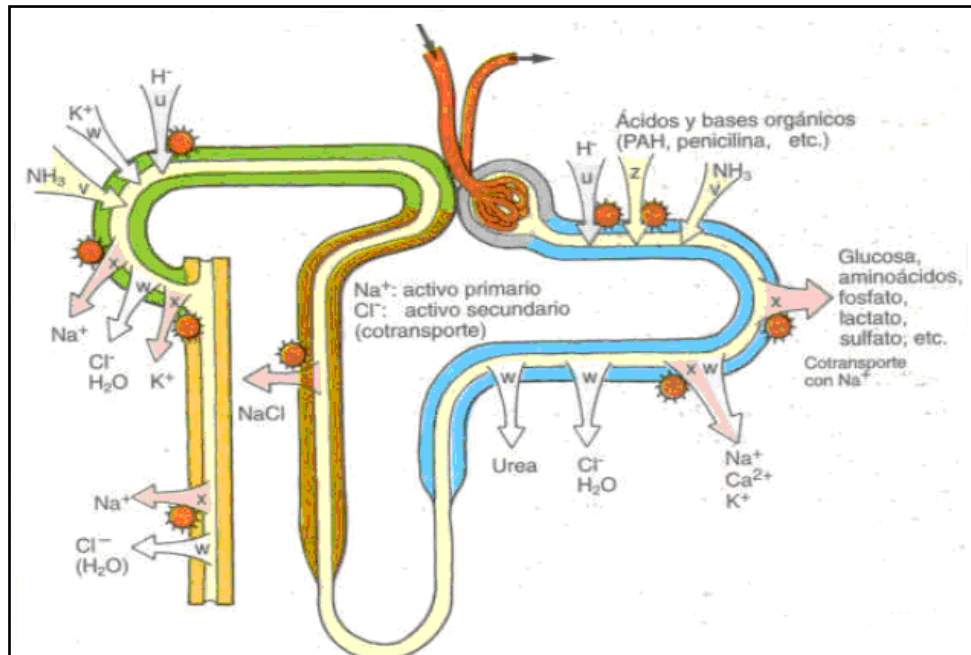


Figura 2. Absorción, secreción y eliminación en túbulos⁹

3.2 Examen microscópico de orina

El examen microscópico de orina es la parte más dependiente del error humano y la que consume mayor tiempo en el análisis de rutina; desde el método de obtención del sedimento hasta el equipo empleado para tener mejor visualización y la forma en que se interpretan los resultados. Es una herramienta diagnóstica valiosa para la detección y evaluación de trastornos renales y del tracto urinario, así como, de otras enfermedades sistémicas.¹

La CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute) antes NCCLS recomienda utilizar un sistema estandarizado para el examen microscópico o bien un sistema automatizado (Guía aprobada **GP16-A2**). La estandarización pretende eliminar las posibles causas de variación como la interpretación del personal. Como complemento, el examen químico sirve de parámetro de comparación para detectar falsos positivos y negativos.^{11,12 y 13}

3.2.1 Sedimento Urinario

Se define al sedimento como el depósito que deja sobre el fondo de un recipiente la sustancia sólida contenida en un líquido en estado de suspensión, de acuerdo con esta definición se ha considerado como estudio microscópico del sedimento urinario a la observación a través del microscopio del material no soluble de la orina que se deposita en el fondo de un tubo obtenida por centrifugación.¹⁴

La observación microscópica de sedimento es con el fin de comprobar la presencia o ausencia de parámetros patológicos en la orina del paciente, para esto es necesario que la muestra sea la primera orina de la mañana, por ser la más concentrada y facilitar el hallazgo de elementos formes. (Cuadro 1)

Cuadro 1. Elementos formes en sedimento urinario.^{1, 14, 15, 16, 17, 18, 19,20 y21}

CILINDROS	
Elemento forme	Causas y significado clínico
Hialinos	Constituidos de proteína y material mucoide del túbulo, son incoloros y con índice de refracción cercano al medio que le rodea. Su presencia está relacionada con proteinuria, por ejercicio extenuante, orinas concentradas y en procesos severos como mieloma múltiple.
Eritrocitarios	Agrupaciones proteicas en cuyo interior han quedado atrapados eritrocitos hinchados que se adhieren a la matriz hialina, indican hematuria de origen glomerular, presentándose en Glomerulonefritis aguda y crónica.
Leucocitario	Formación proteica en cuyo interior han quedado atrapados leucocitos debido a una filtración intensa de leucocitos. Identifica al riñón como origen de la infección, se consideran sugestivos de Pielonefritis, Glomerulonefritis aguda y Nefritis intersticial.
Céreos	Máxima degeneración celular de cilindros celulares, su material proteico tiene aspecto de vela. Se asocia con inflamación y degeneración tubular, además se observa en insuficiencia renal crónica y en rechazo de injerto renal.
Granulosos	Se originan en cilindros celulares que sufren degeneración y destrucción celular. Aparecen en enfermedades glomerulares, tubulares, rechazo de injerto renal y Pielonefritis.
Grasos	Las células descamadas contienen gotitas de grasa (triglicéridos y ésteres de colesterol) muy refringentes que a menudo quedan incluidas en el cilindro hialino o epitelial, es característico de los procesos degenerativos del túbulo, principalmente en Síndrome Nefrotico

CÉLULAS

Renales	Son células de tamaño de 12-16 μm con citoplasma esférico y núcleo redondeado muy visibles y poco céntrico de mayor tamaño que los leucocitos. La presencia de un número elevado de células sugiere daño tubular.
Epitelio tubular	Son poco mayor que los leucocitos y pueden adoptar formas cúbicas o de columnas. Se considera normal la aparición de 2 células por campo un número mayor sería un indicativo de una degeneración del parénquima renal (nefrona, unidad funcional del riñón).
Transición (Uroepitelio)	Son células con formas: piriformes, redondeadas, con forma de raqueta, son de 2 a 4 veces más grandes que los leucocitos, en ocasiones poseen dos núcleos. Pueden proceder de la pelvis, uréteres, vejiga o uretra y su aparición indica una exfoliación anormal de estas zonas, también se asocia a la presencia de neoplasia.
Epitelio plano (Pavimentosas o escamosas)	Son células grandes aplanadas cuyo núcleo puede aparecer intacto. Es común encontrarlas en orina y provienen de la uretra y de la vagina. Muchas veces es contaminación pero si no se encuentra conglomerado e histológicamente anormal no tendrán significado clínico.
Eritrocitos	<p>Aparecen en la orina como discos bicóncavos, incoloros que miden aproximadamente 7 micras de diámetro, carecen de núcleo. Se considera normal la presencia de 0-2 por campo.</p> <p>La presencia de eritrocitos en orina se relaciona: daño a la membrana glomerular o lesión vascular dentro del aparato genitourinario, Glomerulonefritis, infecciones agudas, reacciones tóxicas e inmunológicas, enfermedades malignas y después del ejercicio enérgico que desaparecen con el reposo. También se debe considerar la posibilidad de contaminación menstrual en muestras de mujeres.</p>
Leucocitos	Son polimorfonucleares se considera normal un recuento de 3-5 leucocitos por campo, un número mayor se denomina piuria y será indicativo de un proceso infeccioso en el sistema urinario. Generalmente mantienen un movimiento browniano y son visibles sus gránulos citoplasmáticos.
Piocito	Polimorfonucleares con un tamaño mayor y lleno de bacterias fagocitadas. Se asocia con Infección en Vías Urinarias y Pielonefritis.

OTROS ORGANISMOS

Bacterias	La presencia de bacterias en orina, se puede originar desde los tejidos periuretrales, de contaminación fecal o vaginal. Se considera patológico en Urocultivos con cuentas que exceden los 100000 de colonias por mL. Sin embargo la presencia de bacterias abundantes en sedimento acompañadas de leucocituria (10 a 20 leucocitos por campo) es significativo de una Infección en Vías Urinarias.
Levaduras	Son células de forma ovoide, incolora y con una pared de doble refracción, generalmente muestran gemación y ocasionalmente se observan sus hifas. Están presentes principalmente en pacientes diabéticos o por contaminación cutánea o vaginal.
<i>Trichomonas vaginalis</i>	Se pueden observar por contaminación vaginal, es un parásito que mide 20-30 μm , son transparentes, de forma globosa con 4 flagelos polares y una membrana ondulante.

CRISTALES EN ORINAS ÁCIDAS

Ácido úrico	<p>Es el producto del metabolismo de las purinas, el 75% son excretados por la orina y el resto por el intestino. Se presentan en muy diversas formas como son en diamante o prisma rómbico y rosetas constituidas por muchos cristales. Tienen color amarillo o rojo-castaño.</p> <p>La hiperuricemia puede ser asintomática o predisponer al síndrome clínico Gota.</p>
Uratos	Se encuentra en forma de sales amorfas (de sodio, potasio, magnesio y calcio) y se presentan en su forma amorfa. Los uratos amorfos tienen aspecto granular de color amarillo-rojo (polvo de ladrillo). Carecen de significado clínico.
Oxalato de calcio	<p>Se presentan en forma octaédrica o de sobre, rara vez se presentan como esferas ovals o discos bicóncavos, que tienen forma de pesas de gimnasia, son incoloros. Suelen aparecer en personas que consumen abundantemente: tomate, ajo, naranja o espárragos.</p> <p>También aparecen en personas con un metabolismo alterado incapaz de digerir el oxalato. Están relacionados con cálculos urinarios que puede provocar una Insuficiencia renal.</p>
Colesterol	No es frecuente encontrarlos en orina, son placas o prismas transparentes, bajo una luz polarizada podemos observar una cruz en su interior. Aparecen en pacientes que presentan una obstrucción de los conductos linfáticos abdominales o cuya ingesta de grasa es muy elevada.

CRISTALES EN ORINAS ALCALINAS O NEUTRAS

Fosfatos	<p>Fosfatos se encuentran en orina con pH alcalino o neutro, mientras que los fosfatos triples a pH alcalino.</p> <p>Los cristales de <u>fosfato amorfo</u> están presentes en la orina en forma no cristalina, son partículas granulares que carecen de forma definida.</p> <p>Los cristales de <u>fosfato de calcio</u> son prismas largos, delgados e incoloros con un extremo puntiagudo, ordenados en forma de rosetas. Los cristales de <u>fosfato triple</u> (fosfato amónico-magnésico) son prismas incoloros de tres a seis caras que con frecuencia tienen extremos oblicuos.</p> <p>A veces pueden precipitar formando cristales plumosos o con aspecto de helecho.</p> <p>A menudo se encuentran en orinas normales, pero pueden también formar cálculos urinarios. Pueden aparecer en Pielonefritis crónica, cistitis crónica, hipertrofia de próstata y retención vesical de la orina.</p>
Biurato de amonio	<p>Orina con pH alcalino. Son cuerpos esféricos de color amarillo castaño, con espículas largas e irregulares. Constituyen una anomalía sólo si se encuentran en orina recién emitida.</p>
Sulfonamidas	<p>Precipitan en forma de grupos de agujas, por lo general con una unión excéntrica, su color puede ser claro o castaño. Por medicamentos empleados. Presentes en orina con pH ácido/neutro.</p>
Cistina, Tirosina y Leucina	<p>Cristales anormales en orina con pH ácido o neutro.</p> <p>Los cristales de Cistina son placas hexagonales, refringentes e incoloras cuyos lados pueden ser iguales o no.</p> <p>Los cristales de Tirosina son agujas muy finas, altamente refringentes que aparecen en acumulos o en grupos de color negro en el centro.</p> <p>Los cristales de Leucina son esferoides oleosos, refractarios, de color amarillo con estriaciones radiales y concéntricas. Habitualmente se encuentran en enfermedad metabólica hereditaria.</p>
Carbonato de calcio	<p>Orina con pH alcalino. Son pequeños e incoloros, aparecen en forma esférica o de pesa de gimnasia, o en masas granulares de gran tamaño de color oscuro, existe una conexión a nivel de sus bordes. Carecen de significado clínico.</p>
Ácido Hipúrico	<p>Son prismas o placas alargadas de color amarillo castaño o incoloro. Pueden ser delgados como una aguja y con frecuencia están agrupados.</p>

ARTEFACTOS/OTROS

Mucina	Son estructuras en forma de cintas, largas, delgadas y ondulantes que pueden mostrar tenues estriaciones longitudinales. Existe en orina normal en pequeñas cantidades pero puede ser muy abundante en casos de inflamación o irritación del tracto urinario.
Gránulos de almidón	Son brillantes y estriados de forma redondeada u oval, se presenta principalmente porque algunas marcas de talco lo contienen. Bajo la luz polarizada toma la forma de “cruz de malta”.
Espermatozoides	Pueden observarse en la orina de ambos sexos después del coito, en el caso de los hombres también se presenta en enfermedades de los órganos genitales y en la espermatorrea. Tienen un cuerpo oval, cola larga y delgada.
Gotas de grasa	<p>La lipiduria, es decir excreción de lípidos en la orina, puede estar presente en forma de gotitas o glóbulos libres en el interior de las células o incorporarse en los cilindros, macrófagos o leucocitos. Son refringentes, de forma globular y con frecuencia de color amarillo-castaño. Se observan en el Síndrome Nefrótico.</p> <p>Cuando se observan en orinas únicamente gotas de grasa, sin ninguna célula ni cilindro con inclusiones de grasa, debe sospecharse de una contaminación (pomadas, supositorios, etc.)</p>
Fibras	Estas pueden ser musculares o células vegetales por contaminación como las fibras de la tela provenientes de la ropa, pañales, papel higiénico o hilachas del aire.
Materia fecal y vello púbico	Es parte de la contaminación de la muestra de orina cuando la higiene de la persona no es adecuada sobretodo en las mujeres por la cercanía de la zona urogenital y el ano; así como, la incorrecta toma de muestra respectivamente.
Burbuja de aire	Es aire que se encuentra atrapado en forma de burbuja, al microscopio se observa un halo negro y no presenta refringencia. Se forma al colocar el cubreobjetos en la gota de sedimento a examinar.
Fragmentos de vidrio	Se puede confundir con algún tipo de cristal, se distingue de estos porque al ajustar con el micrómetro no presentan refringencia. Proceden del mismo material que se usa para la lectura del sedimento como del cubreobjetos o el portaobjetos, debido a la fricción o la ruptura.

3.3 ELEMENTOS FORMES PRESENTES EN PATOLOGÍAS RENALES

Es importante conocer la patología para comprender la presencia de los elementos formes en el sedimento urinario. (Cuadro 2)

Cuadro 2. Descripción general de las principales patologías renales. ^{17, 18,19 y 22}

Alteración	Definición
AGUDA	Proceso inflamatorio que afecta al glomérulo, caracterizado por el inicio rápido de síntomas. Se observa con mayor frecuencia en niños y adultos jóvenes después de una infección en el aparato respiratorio causadas por cepas de estreptococos del grupo A.
GLOMERULONEFRITIS	
CRÓNICA	Es una variedad de trastornos que producen daño continuo o permanente al glomérulo, actualmente se le define como la etapa final del resultado de daño glomerular acompañado de pérdida irreversible de tejido renal e insuficiencia renal crónica.
SÍNDROME NEFRÓTICO	Se caracteriza por la aparición de proteinuria masiva, edema, altas concentraciones de lípidos séricos y bajas concentraciones de albúmina sérica. Los trastornos circulatorios que afectan a la presión y el flujo sanguíneo renal son una de las causas más frecuentes.
NECROSIS TUBULAR	Daño irreversible de tejido tubular renal.
INSUFICIENCIA RENAL	Resultado de necrosis tubular puede ser debida a vasoconstricción renal y daño tubular directo por agentes nefrotóxicos.
PIELONEFRITIS	Resultado de casos no tratados de cistitis o infección urinaria baja. Las infecciones recurrentes son debidas a anormalidades estructurales u obstrucción de las vías urinarias que permiten que las bacterias permanezcan en el riñón generando un daño tubular o Pielonefritis crónica.
INFECCIÓN DE VÍAS URINARIAS	Invasión microbiana de cualquiera de los tejidos del tracto urinario que se extiende desde la corteza renal hasta el meato uretral.

Se presentan los elementos formes en sedimento urinario de algunas enfermedades renales. (Cuadro 3)

Cuadro 3. Elementos formes presentes en enfermedades renales. ^{16,18,19,22 y 23}

Patología	Elementos formes
Síndrome Nefrótico	Cuerpos ovals, cilindros grasos, cilindros céreos y gotas de grasa
Insuficiencia Renal	Prerrenal y Post-renal (Shock, hipovolemia, vómito) Sedimento no presenta hallazgo
	Intrarrenal específica (Glomerulonefritis, Necrosis tubular) Muchos leucocitos o eritrocitos *dismórficos, cilindros de tipo celular y granuloso.
	Intrarrenal inespecífica (cálculo renal) Células tubulares y cilindros granulares, la orina puede ser de color marrón oscuro. Además, de oliguria, una densidad baja de 1.005 a 1.015.
Necrosis tubular	Revela células tubulares y cilindros granulares
Glomerulonefritis	Se acompaña de hematuria con eritrocitos dismórficos, proteinuria y por consecuencia la presencia de cilindros eritrocitarios, leucocitarios y granulares que se ve favorecida con la oliguria que experimenta el paciente.
Infección de vías urinarias	Hallazgo de más de 5 leucocitos por campo (piuria) y hematuria en algunos casos indicadores de una respuesta inflamatoria. La piuria es causa frecuentemente de orina turbia debido a la gran cantidad de leucocitos, está se distingue de la fosfaturia ya que la orina infectada tiene un olor amoniacal característico, debido a la descomposición de la urea por las bacterias aumentando el pH, mayor a 7.5 (<i>Proteus</i>).
Pielonefritis	Los hallazgos en aguda o crónica son similares: leucocitos, grupos de cilindros leucocitarios, bacterias, reacciones positivas a nitritos y posible proteinuria y hematuria.

* Dismórficos: Son eritrocitos que se originan en una enfermedad glomerular y suelen poseer formas irregulares con una hemoglobina mínima y una distribución irregular del citoplasma debido al paso por entre la membrana glomerular.

3.4 TINCIÓN DE SEDIMENTO URINARIO

Aunque algunos autores opinan que los métodos de tinción para sedimento urinario tienen sólo la finalidad de permitir obtener una mejor imagen microscópica, pero se emplean para incrementar el contraste de la muestra y revelar detalles estructurales.

Las tinciones aplicadas a sedimento urinario se enlistan a continuación:

Cuadro 4. Tinciones aplicadas a sedimento urinario.^{1, 13, 14, 20,24 y 25}

Tinción	Estructura que pone de relieve
Gram	Diferencia entre bacterias grampositivas y gramnegativas, también epitelio plano. (Cristal violeta y Safranina)
Ziehl-Neelsen	Bacterias ácido-alcohol resistentes: <i>Mycobacterium tuberculosis</i> (Carbolfucsina y Azul de metileno)
Azul de metileno y fucsinafenicada	Morfología general de los microorganismos
Sternheimer-Maibin	Leucocitos, eritrocitos, células epiteliales y cilindros leucocitarios. (violeta de Genciana y Safranina)
Eosina Y	Hematíes, para diferenciar de los cuerpos grasos ovals. Además epitelio, leucocitos y cilindros.
Wright	Eritrocitos, leucocitos y células epiteliales.
Eosinofílica de Hansel	Se realiza una cuenta de 200 células en búsqueda de eosinófilos adquieren color rojo-rosado, bisegmentado de color azul oscuro. La eosinofilia es un hallazgo de la nefritis intersticial aguda inducida por medicamentos. (Azul de metileno- Eosina Y en metanol)
Azul de metileno de Löffler	Leucocitos y epitelio sobresaliendo estructuras nucleares, permite diferenciar mejor las células tubulares de leucocitos. (Solución Etanólica de azul de metileno e hidróxido de potasio)
Lugol	Cristales, células epiteliales, cilindros céreos, cilindros y leucocitos
Eosina-Azul de metileno	Eritrocitos, cilindros eritrocitarios y epitelio plano se tiñen con eosina. Los demás elementos adquieren un color azulado
Sudán II	Cuerpos lipídicos, grasa contenida en la célula o cilindros granulados
Azul de algodón lactofenol	Micelio, hifas y levaduras

4. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

El alumno de la carrera de QFB del área Bioquímica Clínica, se enfrenta en cada una de las áreas que conforma el Laboratorio de Análisis Clínicos a muestras de pacientes donde cada caso es diferente, adquiriendo experiencia que ayudará en la práctica profesional. Para lograr que el estudio se realice correctamente se requiere de habilidades y conocimiento visual para realizar su trabajo con éxito. Sin embargo, la cantidad de muestras patológicas que se manejan en un semestre a veces no son suficientes para adquirir la habilidad de resolver algún problema en el futuro.

En el área de Uroanálisis se ha observado que el estudiante manifiesta cierta dificultad para distinguir estructuras que se encuentran en sedimento. A pesar de que el programa de estudios comprende un apartado para el Examen General de Orina donde a través de imágenes se muestra los diferentes cristales y células en sedimento; en la práctica no siempre se logra su correcta identificación.

Por lo tanto se pretende que a través de un documento electrónico, la identificación de estructuras en sedimento urinario sea una guía rápida y clara. Apoyando al programa de estudios donde se pretende que el alumno aprenda de forma didáctica.

5. OBJETIVOS

- ❖ Realizar un Atlas de imagen y texto que contenga las principales estructuras que se encuentran en sedimento urinario, mediante un formato electrónico.
- ❖ Proporcionar al alumno de 9º semestre de la carrera de QFB, que cursa la orientación de Bioquímica Clínica y relacionados con el área de Uroanálisis, información básica, clara y específica sobre la identificación de estructuras presentes en sedimento urinario y su relación con las patologías.

6. MATERIAL

1. EQUIPO

- Centrifuga SOL-BAT
- Microscopio Carl Zeiss®

2. MATERIAL DE VIDRIO

- tubos de ensayo 13x100
- portaobjetos y cubreobjetos (22 x 22 mm)

3. MATERIAL BIÓLOGICO

- Primera orina de la mañana, obtenida mediante chorro medio.

4. REACTIVOS

- Metanol grado reactivo
- Tinción de Gram: Cristal violeta, safranina, lugol y alcohol-acetona
- Colorantes: Wright y Sternheimer-Maibin
- Alcohol etílico en diferentes grados (70%, 96% y absoluto)
- Resina sintética disuelta en Xilol 60%

5. OTROS

- Frascos de boca ancha y estériles para recolectar orina
- Cámara digital Fujifilm Finepix 10.5 megapíxeles
- Micropipeta semiautomática (50 µL)

7. DISEÑO EXPERIMENTAL

7.1 Tipo de estudio: Observacional, descriptivo y transversal

7.2 Criterio de inclusión:

- Muestras de orina obtenidas mediante el chorro medio, en pacientes que se requiera la lectura de sedimento.

7.3 Criterios de exclusión:

Muestras de orina que presenten las siguientes condiciones:

- Más de 2 horas de haber sido emitidas.
- Contaminadas con heces o papel higiénico.
- Muestra de pacientes que se encuentren menstruando.
- Muestras de pacientes que se encuentren bajo tratamiento con algún antibiótico, diurético o pomadas vaginales.

7.4 Población de estudio:

- El estudio se realizará en 200 pacientes; hombres y mujeres de cualquier edad.

8. METODOLOGÍA

- a) Se revisó el programa de estudios del módulo de Química Clínica
- b) Se delimitó el contenido del Atlas:

Temas elegidos:

- Introducción a la Anatomía y Fisiología del riñón.
 - Formación de la orina.
 - El Sedimento, obtención y aplicación de la Guía aprobada **GP16-A2** (*Urinalysis and Collection, Transportation and Preservation of Urine Specimens*).
 - Estructuras que se encuentran presentes en sedimento urinario.
 - Sedimento en algunas patologías como: Glomerulonefritis, Pielonefritis, Infección de vías urinarias, Insuficiencia renal, Síndrome Nefrótico, y Necrosis tubular.
 - Tinciones para sedimento urinario.
- c) Se recopiló información bibliográfica de los temas seleccionados en libros, manuales, atlas y revistas de los últimos 10 años, sin excluir la literatura clásica.
 - d) Se escribió la información seleccionada para cada Capítulo (Microsoft Word) y se formuló un glosario de términos.
 - e) Obtención y observación del sedimento urinario proveniente de muestras recibidas en el laboratorio de la Clínica Universitaria en Atención a la Salud “Edo. de México” y laboratorio de rutina HGR N°25.
Se procesó 250 muestras de orina de la siguiente forma: se centrifugó un volumen de 10 mL de muestra en tubos de 13x100 mm a 1500 rpm/5 minutos, se decantó el sobrenadante y resuspendió el sedimento en un volumen aproximado de 1 mL de sobrenadante. Se depositó 25µL sobre un portaobjetos y se cubrió con un cubreobjetos de 22 x 22 mm. Posteriormente se observó a 10x para búsqueda rápida de cilindros y a 40x para observar los elementos restantes.
 - f) Se obtuvo imágenes en microscopio óptico mediante cámara digital Fujifilm Finepix.
 - g) Se revisó historial clínico de los pacientes que presentaron muestra de orina patológica.
 - h) Tinción de sedimento:
Se agregó una gota (25µL) a la mitad de un portaobjetos limpio y con la misma puntilla de la pipeta se extendió la muestra suavemente (evitar romper las estructuras), se eliminó el exceso de sobrenadante inclinando suavemente la laminilla sobre una gasa.
Se dejó secar la preparación a temperatura ambiente (10-15 minutos), fijando con metanol grado reactivo durante 10 minutos. Posteriormente se secó y se aplicó la

tinción (Lugol, Safranina, Wright, Gram y Sternheimer-Maibin (S-M)) respectivamente según las estructuras presentes.

Técnica de tinción:

- Se agregó colorante hasta cubrir la muestra fija, el tiempo para cada colorante fue: 2 minutos para S-M, Lugol, Safranina y Wright. Se lavó con agua corriente al finalizar la coloración.
- La tinción de Gram: 1 minuto Cristal violeta, 1 minuto lugol, de 2 a 3 gotas con alcohol-acetona y 30 segundos con Safranina. Se enjuago con agua corriente entre cada paso.
- Tinción de Papanicolaou: Se sumergió en un recipiente con Hematoxicilina 5 minutos, se pasó en solución amoniacal (amoniac/bicarbonato), posteriormente se sumergió en OG6 (Orange G) durante 7 minutos y en seguida en solución EA50 (Eosina amarillenta, verde luz y café Bissmark).^{8, 24 y 25}

Nota: La técnica de Papanicolaou antes descrita es la aplicada en el Área de Patología HGR N°25.

- i) Se tomó imágenes de laminillas de sedimento teñido con técnica de Papanicolaou realizadas por el personal del área de patología Hospital General Regional N° 25 (HGR).
- j) Los frotis fueron deshidratados con: alcohol etílico en el siguiente orden al 70%, 96% y finalmente con alcohol etílico absoluto.
- k) Se observó al microscopio y se obtuvieron imágenes.
- l) Se montó con resina sintética disuelta en Xilol 60% agregando una gota al sedimento fijo y teñido. Se colocó un cubreobjetos (22X22) y se dejó secar.
- m) Se seleccionó las laminillas con mejor distribución e intensidad de color para diferenciar las estructuras.
- n) Se seleccionó las imágenes y se editaron (Galería fotográfica de Windows live) para después ser etiquetadas y clasificadas.
- o) Se desarrolló la Galería de imágenes en Microsoft PowerPoint.
- p) Se agregó botones de navegación en el documento de Galería de imágenes.
- q) Se redactó: introducción, indicaciones de uso y tablas de contenido.
- r) Se convirtió el texto en formato pdf (Adobe Reader 9).
- s) Se integró hipervínculos (ligas) en Capítulos, Glosario y Galería de imágenes.
- t) Se agregó aplicación para presentar portada y Menú principal (Autoplay Media Studio).
- u) Se grabó en CD-ROM el Atlas texto e imagen.

9. RESULTADOS

Se entrega archivo adjunto de la obra realizada en disco compacto con la etiqueta: **ATLAS de TEXTO E IMAGEN- SEDIMENTO URINARIO.**

Se hace donación al laboratorio de Análisis Clínicos correspondiente a la Clínica Universitaria en Atención a la Salud (C.U.A.S.) “Estado de México” de 14 laminillas como material didáctico, a partir de la tinción de sedimento:

Cuadro 5. Listado de laminillas de sedimento urinario.

ETIQUETA	ESTRUCTURAS
L01	Cristales de oxalato de calcio y mucina
L02	Cristales de oxalato de calcio
S03	Células de epitelio plano, leucocitos y bacterias
S04	Células de epitelio y bacterias
S05	Bacterias y cristales de oxalato de calcio
G06	Bacterias, leucocitos y células de epitelio plano
G07	Leucocitos y células epiteliales
S-M08	Eritrocitos
S-M09	Leucocitos y bacterias
S-M10	Bacterias, células epiteliales y cristales de oxalato de calcio
S-M11	Células epiteliales y cristales de oxalato de calcio
S-M 12, 13 y 14	Células de epitelio plano

* L: LUGOL, S: SAFRANINA, G: GRAM Y S-M: STERNHEIMER-MAIBIN

10. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

Se obtuvo un Atlas de texto e imagen sobre sedimento urinario, constituido por seis capítulos donde se desarrollan temas como: el riñón, su anatomía y fisiología, la formación de la orina y la regulación de absorción-excreción de sustancias, así como, la importancia que tiene el sedimento urinario para el diagnóstico de alguna patología renal.

Entre las patologías que se abordan se encuentran: Glomerulonefritis, Pielonefritis, Síndrome Nefrótico, Necrosis tubular, Insuficiencia renal e Infecciones de vías Urinarias; el medio principal para explicarlas es mediante esquemas y cuadros que permiten conocer la causa de la patología y como se manifiesta en sedimento.

El texto y las imágenes se presentan en formato pdf y PowerPoint respectivamente, para facilitar la disponibilidad del disco y se logre leer en cualquier equipo de cómputo sin tener conexión a internet. Se agregó una aplicación para hacer el material más atractivo, que presentará el menú de inicio.

La galería de imágenes cuenta con 170 fotografías de sedimento urinario, mediante microscopio de campo brillante, algunas fueron obtenidas con la cooperación del Hospital General Regional N° 25 y Área de Patología. No se empleo ningún otro aparato para mejorar la calidad de la imagen, ya que se buscó una imagen lo más real posible.

De algunas estructuras como los cristales de Leucina, Colesterol y Biurato de amonio, así como, cuerpo graso oval no se logró obtener imagen alguna, debido a que se encuentran con menor frecuencia, sin embargo se complementó la galería de imágenes con fotografías de otros atlas, para las cuales se encuentran las bibliografías. Con la finalidad de que el alumno pueda consultarlas.

Se estimó un estudio con 200 muestras de orina, sin embargo fue necesario procesar un mayor número debido a la frecuencia con que se puede encontrar la mayoría de elementos formes. La presencia o ausencia de alguna estructura está muy relacionado con el estado de salud del paciente; la diversidad de estructuras es grande aun si el paciente presenta alguna patología renal.

La colaboración del HGR N° 25 contribuyó con una variedad más extensa en sedimento urinario, sin embargo no en todos los casos fue posible tener acceso al historial clínico del paciente, debido a que algunos pacientes provenían de cirugía general o alguna otra especialidad, así como, de pacientes hospitalizados.

Se procesó las muestras de orina según el inciso e) de la metodología y de acuerdo a los elementos encontrados en sedimento urinario se realizó la fijación y la tinción. La fijación de sedimento se efectuó con solventes como el etanol, formol y metanol ya que de acuerdo con la literatura el alcohol etílico penetra el tejido con rapidez y se puede usar junto con otros fijadores para aumentar su velocidad de fijación, sin embargo distorsiona el contorno nuclear y altera el citoplasma contrayéndolo.²⁴

Por lo tanto, se utilizó solo metanol ya que logró fijar el material sin destruir o deformar las células y los cristales, conservando la estructura para lograr una correcta identificación.

No se logró fijar los cilindros con la técnica que se empleó (inciso h)) debido a la fragilidad que presentan, por otro lado algunos cristales y cilindros se encontraron una sola vez durante el estudio y la prioridad fue obtener una buena imagen en su forma natural.

Las tinciones realizadas fueron elegidas, principalmente por su disponibilidad, fácil preparación y por la calidad y cantidad de estructuras que se lograron teñir. Dentro de las estructuras teñidas (eritrocitos, leucocitos, bacterias y células epiteliales) que pueden ser vistas en Galería de Fotos (figura 124 a la figura 170).

El colorante de Sternheimer-Maibin es empleado en métodos estandarizados como el **Sistema MD KOVA®**, se adiciona una gota del colorante directamente al sedimento para ser observado con la finalidad de distinguir los pormenores de los elementos formes.^{11 y 13}

Los criterios de selección de las laminillas teñidas fueron los siguientes:

- Que los elementos formes se encontraran distribuidos de manera uniforme en toda la laminilla, para lograr la identificación de todos los elementos presentes.
- En cantidad suficiente para localizarlos con mayor rapidez.
- Conservando la forma de las estructuras, es decir evitar la ruptura mecánica principalmente en los cristales.
- Que las estructuras se encontraran teñidas de forma homogénea, sin sobrecoloración para percibir detalles.

El montaje de las laminillas semipermanentes se realizó con Xilol. La vida media de este material didáctico es de medio año y puede ser solicitado en el laboratorio de Análisis Clínicos correspondiente a la Clínica Universitaria en Atención a la Salud (C.U.A.S.) "Estado de México" dirigirse con la Jefa de laboratorio la QFB. Rosalba Cervantes Cruz.

11. CONCLUSIONES

Se logró obtener una obra de texto e imagen en un CD-ROM con elementos didácticos que serán de utilidad para el estudiante de noveno semestre de la carrera de QFB. e interesados en el estudio de sedimento urinario.

La elaboración de material con propósitos educativos que involucran la tecnología, cada vez se convierte en una mejor opción por la versatilidad y la oportunidad que brinda para facilitar el aprendizaje mediante la visualización de imágenes cumpliendo con el propósito de que el alumno participe activamente en su propio proceso de aprendizaje en los laboratorios de Análisis Clínicos.

El disco estará disponible en las Bibliotecas de FEZ-Zaragoza y en los laboratorios de Análisis Clínicos correspondiente a Clínicas Universitarias en Atención a la Salud (C.U.A.S.) “Estado de México” y “Zaragoza”, así como, un ejemplar impreso que estará en el laboratorio del Estado de México para que el alumno o el docente pueda consultarlo.

12. PROPUESTAS

Sería interesante y beneficiosa la elaboración de técnicas para fijar cada una de las estructuras que están presentes en sedimento y aplicar las tinciones que se han expuesto en este trabajo. La elaboración de laminillas permanentes o semipermanentes es un material didáctico que el alumno podrá consultar sin ningún problema.

13. REFERENCIAS

- 1) Graff L. Análisis de orina y su interpretación. Atlas de color. Buenos Aires: Médica Panamericana; 1987.
- 2) Ramírez A. Atlas interactivo para la identificación de parásitos en animales domésticos, (trabajo para optar el título a MVZ), Facultad de Veterinaria, Proyecto PAPIME, UNAM, 2010.
- 3) Moreno M. Elaboración de material de Apoyo para la asignatura de Microbiología General II en Unidad de Micología, (trabajo para Servicio Social), FES-ZARAGOZA, UNAM, 2011.
- 4) Velásquez. Lorenzo P. Moreno A. Leza J. Lizasoain I. Farmacología Básica y Clínica. 17 edición. Madrid, España: Panamericana; 2005.
- 5) Riella M. Martins C. Nutrición y Riñón. Madrid, España: Panamericana; 2001.
- 6) Azcárraga G. Urología. 7 edición. México D.F.: Méndez; 1997.
- 7) Tortora G. Derrickson B. Principios de Anatomía y Fisiología. 11 edición. Buenos Aires: Panamericana; 2006.
- 8) Gartner L, Hiatt J. Texto Atlas de Histología. 3 edición. Barcelona España: Mc Graw Hill; 2008
- 9) Agamenon S. Texto y Atlas de Fisiología. Mosby/Doyma libros; 2003.
- 10) Dvorkin M, Cardinali P, Lermoli H. Bases Fisiológicas de la práctica Médica. 14 edición. Buenos Aires: Medica Panamericana; 2010
- 11) Villanova P. Nacional Comité for Clinical Laboratory Standards. Urinalysis and Collection, Transportation and preservation of urine specimens; approved guideline GP16-A2, Second edition. Nacional Committe for Clinical Laboratory Standards; 2002.
- 12) Dalet F. El Sedimento Urinario: ¿Qué hay de nuevo en algo tan viejo? Act Fund Puigvert. 1999; 18:135-148
- 13) Guerra M. ¿Porqué estandarizar el uroanálisis?, Colombia; LABCARE; 2010.
- 14) Silva C. García J. Manual de Laboratorio de Bioquímica. Técnico sup. en laboratorio de Diagnóstico Clínico. Sevilla: MAD; 2006.
- 15) Tamagho E. Urología General de Smith. 14ª ed. México: Manual Moderno; 1999.
- 16) Campuzano G, Arbeláez M. El Uroanálisis: Un gran aliado del médico. Medellín, Colombia: Editorial Universidad de Antioquia; 2001.
- 17) Lippman RW. Examen de orina y su interpretación. Barcelona: JIMS; 1978.

- 18) Kunin C. Infección de las vías urinarias Diagnóstico, prevención y tratamiento, 3 ed. Buenos Aires: Medica Panamericana; 1982.
- 19) King S. Líquidos corporales y Análisis de orina. 3 ed. México: Manual Moderno; 1991.
- 20) Heintz R, Althof S. El sedimento urinario. 5 ed. Madrid: Panamericana; 2003.
- 21) Rosales S. Comparación del Método manual con el equipo automatizado iQ200TM para conteo de leucocitos y eritrocitos en orinas de pacientes del HGR 25 IMSS, (trabajo para optar el título a QFB), FES-Zaragoza, UNAM, 2010.
- 22) Botella J. Manual de Nefrología Clínica, Madrid: Masson; 2002
- 23) Campell-W, Wein A. Urología. Tomo 1. 9 edición, Buenos Aires, Argentina: Panamericana; 2008
- 24) Crocker J, Burnett D. La ciencia del diagnóstico de laboratorio. 2 ed., México, D.F.: Mc Graw Hill; 2005.
- 25) Renwick E. Coloración de Papanicolaou. [<http://www.sociedad de citología.org.ar/sac/index.php>] Buenos Aires, Argentina. Sociedad Argentina de Citología (27 Julio 2009- 12 Febrero 2012)