



UNIVERSIDAD FEMENINA DE MEXICO

INCORPORADA A LA UNIVERSIDAD NACIONAL DE MEXICO

**Estudio Comparativo del examen Eritrocitoscópico
y de las Reacciones con Ortotolidina "In Vitro"
y en papel (Hemastix) para la Comprobación de
Hematurias. Investigación en 1300 Orinas.**

T E S I S
QUE PARA OBTENER
EL TITULO DE
QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO
P R E S E N T A
ROSSE MARY DEL CARMEN MUÑOZ COUTIRO

México, D. F.

1965



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



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.

A mis Padres:

Sr. Alberto J. Muñoa y
Sra. Dra. Consuelo C. de Muñoa
con eterno agradecimiento y cariño

A mis hermanos
carñosamente

12282

In memoriam
Sr. Dr. Tomás Perrín
por la realización de este trabajo

A mis estimados maestros
con gratitud y respeto

A mis compañeros

Con profundo agradecimiento
Al Instituto Nacional de Cardiología
en cuyos Laboratorios realicé la
parte práctica de este trabajo.

ESTUDIO COMPARATIVO DEL EXAMEN ERITROCITOSCOPICO
Y DE LAS REACCIONES CON ORTOTOLIDINA "IN VITRO" Y
EN PAPEL (HEMASTIX) PARA LA COMPROBACION DE
HEMATURIAS, INVESTIGACION EN 1300 ORINAS.

I N D I C E

- I.- CONSIDERACIONES PREVIAS
- II.- IMPORTANCIAS DE LAS HEMATURIAS.
- III.- TECNICA HABITUALMENTE EMPLEADA EN EL LABORATORIO DE QUIMICA Y PRUEBAS FUNCIONALES DEL I.N.C. PARA LA INVESTIGACION-QUIMICA DE HEMATURIA.
- IV.- TECNICA EN EL HEMASTIX.
- V.- ENSAYOS PRELIMINARES.
- VI.- MATERIAL Y METODOS.
- VII.- RESULTADOS OBTENIDOS.
- VIII.- COMENTARIO.
- IX.- CONCLUSIONES.
- X.- REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS.

C A P I T U L O I

CONSIDERACIONES PREVIAS :

Dada la importancia que tiene el estudio de la orina en química clínica, y el extraordinario número de exámenes que de ella se solicitan en los laboratorios, se hace indispensable el empleo de métodos rápidos y precisos para rendir con oportunidad y eficiencia tales informes .

En el presente trabajo nos vamos a ocupar de la investigación de hematuria; es decir de la presencia de sangre en la orina, no abordando, por ahora, el de la hemoglobina pura.

Como es sabido, la presencia de sangre, más o menos abundante en la orina, cambia el color de esta en rojiza a rojo pardo. Pero cuando se encuentra en poca cantidad no hay cambio de color. En todo caso, es necesario recurrir a técnicas basadas, generalmente en fenómenos de oxidación, para revelar la existencia de hematurias; aunque la sangre se encuentre en proporción mínima. La técnica espectroscópica tiene aplicación principal en las hemoblobinurias, y la óptica (microscopía) inútil en estas últimas, es desde luego la más segura para investigar la presencia de eritrocitos . Sería totalmente inútil transcribir aquí las conocidas técnicas habituales para la investigación química de sangre, nuestro propósito es enjuiciar un proceder relativamente nuevo (aunque basado en conocidas reacciones químicas) muy "sensible", fácil y rápido.

Se trata del producto llamado comercialmente "Hemastix" y que se ofrece en tiras de papel grueso portadoras en un extremo de una substancia colorante la orto-tolidina en es-

tado de leucoderivado o sea decolorada por reducción, de un peróxido y de una sustancia (amortiguadora). Introducido dicho extremo en una orina que contenga sangre aún en la ínfima cantidad de $1 \times 50\ 000$, según Leonard el aceptor hemoglobínico actúa sobre el peróxido, y el leucoderivado se oxigena, reapareciendo así el color azul (1). La inmersión de la tira debe ser instantánea. La coloración aparece inmediatamente después de la extracción, o en un lapso máximo de dos minutos.

CAPITULO II

IMPORTANCIA DE LAS HEMATURIAS.

El descubrimiento de la sangre oculta en la orina, demuestra casi siempre estados patológicos. A veces (y esto sólo en dichos estados) se encuentra solamente pigmento hemático; es decir se trata de hemoglobinuria. En ambos casos, las reacciones químicas a que hemos aludido son positivas.

La presencia de hematurias puede deberse a hemorragias de cualquier parte del tracto urinario (nefritis, glomerulo-nefritis (II) procesos congestivos, tuberculosis, carcinomas u otros estados infecciosos, tumores, concrecciones calculosas, traumatismos etc.)

(III)

Entre las hemoglobinurias se encuentran principalmente las debidas a quemaduras extensas, a la ingestión de productos tóxicos hemolíticos como el clorato de potasio en cantidad excesiva, o de algunos hongos venenosos, a picaduras de diversas serpientes o de ciertos insectos, a infestaciones, o procesos infecciosos (paludismo, hemoglobinuria paroxística) a transfusiones indebidas, enfriamientos, ejercicios forzados etc. (IV).

Entre las hematurias sin importancia clínica debemos tomar en cuenta la contaminación con sangre menstrual, antes, durante, o después del proceso (V) y las del impresionante, pero fugaz, cuadro nefrítico de los deportistas.

CAPITULO III

TECNICA HABITUALMENTE EMPLEADA EN EL LABORATORIO DE QUIMICA Y PRUEBAS FUNCIONALES DEL I.N.C., PARA LA INVESTIGACION QUIMICA DE HEMATURIA.

Durante varios años fueron empleadas satisfactoriamente, técnicas a base de benci- cidina pero desde algún tiempo la manufactura de dicho reactivo ha dejado mucho que - desear para tales fines.

Se procedió, entonces, al estudio de diversos métodos y se adoptó, por fin, el de la orto-tolidina (ya preconizado por Rutlan y Hardisty desde 1912) (VI) con la modifica- ción introducida por Kehn O'Kelly en 1952 (VI), siendo la técnica como sigue :

Solución madre o de reserva :

Orto-tolidina al 4% en etanol. Esta solución es estable por largo tiempo conser- vado en refrigerador a una temperatura de 4° C, aproximadamente. Puede presentar una precipitación parcial, que no altera la utilidad del reactivo.

Solución de trabajo :

Partes iguales de la solución madre, de ácido acético glacial, y de agua destilla- da. Se guarda en refrigerador a 4° C y es utilizable durante un mes.

Peróxido de Hidrógeno a 20 volúmenes.

Todas las soluciones deben guardarse en frascos perfectamente cerrados.

TECNICA :

El sedimento obtenido por centrifugación y decantación de la orina en tubos ordinarios es tratado con cuatro gotas de la solución de trabajo y una gota de peróxido de hidrógeno (20 volúmenes) y se deja en reposo durante un minuto.

INTERPRETACION :

El resultado es positivo cuando, al cabo de dicho tiempo, aparece un color azul-más o menos oscuro, o verde que pronto se torna en azul persistente. La intensidad del color está en relación con la proporción de sangre.

Los resultados se expresan en cruces. Kohn O'Kelly hizo estudios sobre la sensibilidad del reactivo de ortotolidina, utilizando diferentes diluciones de este, y de sangre, obteniendo los resultados que figuran en el presente cuadro : (VI)

Prueba de la ortotolidina para sangre oculta, en diferentes concentraciones de -
ambas.

Concentración de sangre

Diluciones de stocks : 4% de ortotolidina en -
50% de ácido acético glacial.

	50%	33%	20%	10%	5%
1: 1 000	+++	++	++	++	+
1: 2 500	+++	+++	++	+	+
1: 5 000	+++	++	+	+	
1:10 000	+++	++	+		
1:20 000	++	+	+		
1:30 000	+	+			
1:50 000	+				

Reactivo de ortotolidina : peróxido de hidrógeno en proporción de cuatro gotas y
(una pipeta aproximadamente de 12 s.w.g.)

+++ = Muy fuertemente positiva; desarrollando un color azul intenso casi inmediatamente.

++ = Fuertemente positiva; apareciendo coloración azul o azul verdosa, en 5 a 20 segundos.

+ = Positiva; dando color azul verdoso o verde oscuro, en un minuto.

+ = Débilmente positiva; coloración verde, o verde clara en 2 minutos.

La concentración de 33%, es la recomendada para la técnica habitual.

Algunas veces se recurre al proceder llamado de deslizamiento y que se practica en la concavidad de una placa de porcelana previamente cubierta con una delgada capa de vaselina. En aquélla se deposita una gota de la muestra de orina, otra de peróxido hidrico, y por último Otra de la solución de trabajo de orto-tolidina. En caso positivo apa recerá una coloración azul o menos oscura, o verde, en relación con la intensidad de la hematuria. (VI).

Hemos dicho que el método de la orto-tolidina preconizado por Rutlan y Hardisty y modificado por O'Kelly es el que habitualmente se utiliza, desde hace varios años, en el Laboratorio de Química Clínica del I.N.C., pero añadiremos que se introdujo una variante (Dr. Alvarado) que aumenta la "sensibilidad" de tal proceder. La preparación del reactivo y la técnica de su empleo podemos resumirla así :

I.- Se disuelven 4 grs. de orto-tolidina en 100 ml de ácido acético glacial, colocado en un matraz: un calentamiento suave facilita la completa disolución de aquélla. El reactivo es estable por largo tiempo.

II.- Al producto de la centrifugación de la orina, se añaden 5 gotas de ácido acético glacial; se agita durante 3 minutos y se agregan 5 gotas de la solución de orto-tolidina. Se sigue agitando durante 5 minutos y por último, se añaden 5 gotas de peróxido de hidrógeno. Pronto aparecerá (en caso positivo) una coloración verde, o azul, dependiendo de la intensidad de la hematuria.

Este proceder tiene la ventaja de que no es necesario preparar la solución de trabajo cada vez que se haga la prueba.

En general, las técnicas con ortotolidina tiene exactitud suficiente para fines clínicos. Además, dicha substancia puede adquirirse fácilmente en el comercio, y su costo no es elevado. (VII).

CAPITULO IV

TECNICA CON EL HEMASTIX.

Hemos dicho qué el producto llamado "Hemastix" consiste en un soporte acintado de celulosa uno de cuyos extremos ha sido tratado por orto-tolidina reducida, peróxido de hidrógeno y una sustancia amortiguadora. (1).

Introducido el extremo activo en una orina hematórica (o hemoglobínica) la hemoglobina cataliza la oxidación de la orto-tolidina por el peróxido, y reaparece el color azul de esta sustancia. La reacción es también específica en casos de microhematuria y microhematuria.

Algunas pruebas químicas para investigación de sangre dan reacción falsamente positivas en casos de yoduremia, lo que no ocurre con las de orto-tolidina. En cambio la oxidación de esta es inhibida total o parcialmente, por algunas sustancias cuando se encuentran en gran cantidad en la orina. Se han encontrado el ácido ascórbico y algunas antibióticas como la terramicina, la acramicina, y panmycin y el tetracycl. (1).

Antes de introducir el extremo de la tira de "Hemastix" en la orina, ésta debe estar bien mezclada. La coloración (si la orina contiene sangre) aparece al cabo de un minuto. Su intensidad está en razón directa de la proporción de contenido hemático. Si el color desarrollado no es azul, sino verde, la reacción se estima débilmente positiva.

En el laboratorio de Química del I.N.C. se ha introducido una modificación que

hace más sensible a esta prueba. Consiste en centrifugar la orina y poner en contacto la tira de "Hemastix" con el sedimento. En casos de hematuria muy escasa el resultado suele ser negativo con la técnica ordinaria, y positivo con la modificación dicha.

Las tiras cuyo extremo activo muestre alguna coloración que no sea el levísimo - tinte gamuza original, deberán desecharse.

Deben conservarse en un lugar fresco, pero no en refrigerador, y siempre dentro del pomo de origen, cuidadosamente tapado.

CAPITULO V

ENSAYOS PRELIMINARES

Antes de iniciar nuestra experiencia, fué necesario realizar una serie de ensayos con el fin de valorar la sensibilidad de nuestro método (orto-tolidina en solución) en comparación con las tiras de Hemastix.

Con una serie de diluciones de sangre en orina normal, comprendidas desde el 1: 1000 hasta 1: 500 000, realizamos, con cada una de ellas, la investigación de sangre oculta de acuerdo con la técnica descrita en el Capítulo No. III .

En el cuadro No. I exponemos los resultados obtenidos en relación con dichos ensayos y por medio de los valores obtenidos pudimos concluir que el método es lo suficientemente aceptable como para ser utilizado, ya que mediante la modificación hecha se aumentó considerablemente la sensibilidad.

Según los fabricantes de Hemastix (1) la sensibilidad con las tiras es de 1: 100 000.

CAPITULO VI

MATERIAL Y METODOS.

Examinamos 1041 muestras de orina escogidas al azar, tanto del servicio de consulta externa como de enfermos hospitalizados en el Instituto Nacional de Cardiología.

Nuestra experiencia se llevó a cabo en la forma siguiente :

I.- Examen Químico :

Consistió en realizar el estudio en la orina total (como lo recomiendan los fabricantes de Hemastix) y en sedimento urinario obtenido por centrifugación, tanto con tiras de Hemastix como con orto-tolidina en solución cada tira de Hemastix la dividimos en dos porciones iguales y con cada una de ellas hicimos un ensayo, en forma simultánea, sobre orina total y sedimento.

II.- Examen Microscópico :

Con la misma muestra de sedimento urinario, antes de realizar la investigación química, hicimos el estudio microscópico con el fin de llevar a cabo la búsqueda de eritrocitos.

Todos aquellos exámenes cuyos resultados presentaron alguna discrepancia entre los exámenes químico y microscópico, fueron objeto de estudios más cuidadosos con el fin de encontrar, hasta donde fué posible la causa o causas que lo motivaron.

En el Capítulo de "Discusión" haremos descripciones más amplias al respecto.

Se aumentó a la cantidad original de 1041 análisis de orina efectuados con los reactivos de Orto-Tolidina, Tiras de Hemastix y examen microscópico, 300 casos más, realizándose también con muestras de orina tomadas al azar del I.N.C. . Se llevaron a cabo dichos estudios con las técnicas expuestas con anterioridad, a las cuales se les han agregado las del Piramidón, Bencidina y Fenolftalina, (Fenolftaleína reducida) como métodos de comprobación de la sensibilidad de las Tiras de Hemastix.

DESCRIPCION DE LAS TECNICAS ADICIONALES.

TECNICA DE LA BENCIDINA.

Esta reacción es bastante sensible siempre que los reactivos sean de buena calidad. La sensibilidad de los diferentes lotes de bencidina varía mucho. Debe utilizarse exclusivamente la bencidina rotulada "Para investigar sangre".

1.- Se prepara una solución saturada de bencidina en ácido acético glacial; si esta solución se guarda en frasco color oscuro se conserva bastante bien. También puede prepararse extemporaneamente la solución disolviendo una pequeña cantidad de cristales de bencidina en 5 ml de ácido acético glacial y calentando ligeramente para disolver.

2.- Peróxido de Hidrógeno al 3%.

3.- En un tubo de ensayo se mezclan partes iguales de solución de bencidina y de peróxido de hidrógeno.

4.- Se ponen 2 ml de orina en un tubo de ensaye y se agregan 2 ml de la mezcla de reactivos.

5.- La aparición de un color verde a azul oscuro indica la positividad de la reacción (IX).

REACCION DE THEVENON Y ROLLAND.-

Reactivos :

solución alcohólica de Piramidón al 5%

Acido acético al 33%

Agua Oxigenada.

TECNICA.

Verter en un tubo de ensaye :

Orina no filtrada 3 a 4 cc.

Solución alcohólica de piramidón 3 a 4 cc.

Acido acético al 33% 6 a 8 gotas.

Después de agitación agregar a la mezcla de 5 a 6 gotas de agua oxigenada.

Si la orina contiene sangre en bastante cantidad se obtiene una coloración violeta intenso; si al contrario, la orina no contiene hemafes más que al estado de trazas se - nota una coloración azul violácea dentro de un cuarto de hora (X).

REACCION DE MEYER :

Reactivos :

1.- En un matraz Erlenmeyer se ponen 20 grs. de potasa cáustica anhydra que se disuelven con 100 ml de agua destilada; agregar 2 grs. de fenolftaleína y 10 grs. de polvo de zinc.

Se hierve a reflujo hasta que el color de la mezcla primitivamente roja quede in colore.

Este procedimiento reduce la fenolftaleína a fenoltalina. Se enfría, se filtra, se pone la solución en frasco ambar y se conserva en lugar oscuro.

2.- Acido acético al 2% en alcohol.

3.- Peróxido de hidrógeno de 12 volúmenes.

TECNICA.-

Poner en un tubo de ensaye :

Orina	5 ml
Acido acético al 2%	1 ml
Reactivo de Meyer	0.3 ml
Agua oxigenada	1 gota

Agitar . En presencia de hemoglobina o de sus derivados se desarrolla un tinte -

REACCION DE MEYER :

Reactivos :

1.- En un matraz Erlenmeyer se ponen 20 grs. de potasa cáustica anhidra que se disuelven con 100 ml de agua destilada; agregar 2 grs. de fenolftaleína y 10 grs. de polvo de zinc.

Se hierve a reflujo hasta que el color de la mezcla primitivamente roja quede incolora.

Este procedimiento reduce la fenolftaleína a fenoltalina. Se enfría, se filtra, se pone la solución en frasco ambar y se conserva en lugar oscuro.

2.- Acido acético al 2% en alcohol .

3.- Peróxido de hidrógeno de 12 volúmenes.

TECNICA.-

Poner en un tubo de ensaye :

Orina	5 ml
Acido acético al 2%	1 ml
Reactivo de Meyer	0.3 ml
Agua oxigenada	1 gota

Agitar . En presencia de hemoglobina o de sus derivados se desarrolla un tinte -

rojo más o menos acentuado. (X).

Todas estas reacciones, a pesar de ser bastante sensibles no son absolutamente ca_racterísticas de la hemoglobina ya que dan falsas reacciones positivas en algunos casos con las sales de hierro, yoduros y bromuros.

Para valorar la sensibilidad de estos métodos se hicieron una serie de diluciones de sangre en orina normal, comprendidas desde el 1:1000 hasta 1:500 000, realizándose con cada uno de ellos la investigación de "sangre oculta" de acuerdo con las técnicas des_critas anteriormente.

En el cuadro No. 6 se exponen los resultados obtenidos del estudio comparativo de las 300 orinas con los 5 métodos químicos y el examen microscópico.

CAPITULO VII

RESULTADOS OBTENIDOS

Son varios los grupos que podemos formar tomando en cuenta la semejanza o discrepancia de los resultados entre los exámenes químicos y microscópicos, de acuerdo con los datos que exponemos en el Cuadro No. 1 de las 1041 muestras de orina analizadas.

1.- El primer grupo estará formado por 621 muestras de orina (59.6% del total), en las cuales tanto los exámenes químicos como el microscópico fueron negativos.

2.- El grupo No. 2 lo podemos subdividir a su vez en la forma siguiente :

80 muestras de orina (7.69%) en las cuales el examen microscópico reveló muy escasos eritrocitos y los 3 procedimientos químicos fueron negativos.

36 muestras (3.4 %) en las cuales el examen microscópico reveló muy escasos eritrocitos, la orto-tolidina en solución y las tiras de Hemastix sobre el sedimento, revelaron huellas de hemoglobina mientras que las tiras de Hemastix en orina total resultó negativa.

21 muestras de orina (2.01 %) con examen microscópico indicando muy escasos eritrocitos y solo la orto-tolidina en solución reveló huellas de hemoglobina.

15 muestras de orina (1.44 %) con examen microscópico indicando muy escasos eritrocitos y solo la tira de Hemastix sobre sedimento reveló huellas de hemoglobina.

3.- El grupo No. 3 estará formado por 48 muestras de orina con examen microscópico negativo de los cuales, 25 muestras (2.4 %) revelaron huellas de hemoglobina con tiras de Hemastix, sobre sedimento siendo negativo al resto de los exámenes químicos y 23 muestras de orina (2.2 %) que con la orto-tolidina en solución reveló también huellas de hemoglobina. Hay otras 20 muestras de orina con el examen microscópico negativo y los exámenes químicos positivos.

4.- Un 4o. grupo, en el cuál quedan comprendidas 155 muestras de orina, en los cuales el examen microscópico indicó presencia de eritrocitos en diversas cantidades y todos los exámenes químicos fueron positivos. Las diferencias de orden cuantitativo en el examen químico, puso de manifiesto la sensibilidad de cada método.

Existe un último grupo y es quizá el más interesante. Está formado por 45 muestras de orina de pacientes que sufrieron alguna intervención quirúrgica en el I.N.C. y en los que el examen microscópico reveló la presencia de eritrocitos, habiendo resultado negativos todos los exámenes químicos.

Con estas mismas muestras de orina repetimos los exámenes químicos, haciendo una pequeña modificación que consistió en: decantar la orina centrifugada sobre papel filtro, con el fin de retirar la mayor cantidad posible de orina, y el resultado fué, que - 40 muestras resultaron positivas en el examen químico y 5 continuaron siendo negativas.- En el Cuadro No. 3 exponemos la relación de resultados obtenidos en este grupo.

A continuación procedimos a estudiar las 5 muestras de orina, pero ahora lavan-

do con solución salina al 0.85%, el sedimento urinario, con lo cual conseguimos que el examen químico fuera positivo.

En el cuadro No. 4 damos a conocer los datos obtenidos en esta experiencia.

Después procedimos a consultar los expedientes de todos los pacientes del último grupo con el fin de recopilar datos relacionados con los medicamentos que recibieron durante el Pre-Trans y Post. operatorio inmediato.

Basándonos en estos datos hicimos ensayos "IN VITRO" con cada uno de los Fármacos, que se utilizaron durante las intervenciones quirúrgicas, haciendo soluciones con orina normal con glóbulos rojos en suspensión; tratando así de encontrar la probable causa o causas que nos interferían la reacción.

Solo pudimos encontrar que la Vitamina "C" es capaz de impedir el desarrollo de color que indica positividad de la reacción. El resto de los medicamentos no impidieron.

CUADRO No. 1

1041 ORINAS

MUESTRAS	TIRA ORINA	TIRA SEDIMENTO	SOLUCION ORTOTOLIDINA	EXAMEN MICROSCÓPICO (*)
621	negativo	negativo	negativo	negativo
80	negativo	negativo	negativo	muy escasos
36	negativo	huellas	huellas	muy escasos
25	negativo	huellas	negativo	negativo
23	negativo	negativo	huellas	negativo
21	negativo	negativo	huellas	muy escasos
18	negativo	huellas	huellas	negativo
15	negativo	huellas	negativo	muy escasos
13	huellas			mod. abundantes
10	+	++	++	mod. abundantes
5	+++	+++	+++	numerosos
5	negativo	+	+	mod. abundantes
5	huellas	huellas	huellas	muy escasos
4	+++	+++	+++	muy numerosos
3	+++	+++	+++	mod. abundantes
3	+++	+++	+++	numerosos
3	huellas	++	++	numerosos
3	huellas	huellas	+	negativo
3	negativo	huellas	+	mod. abundantes

MUESTRAS	TIRA ORINA	TIRA SEDIMENTO	SOLUCION ORTOTOLIDINA	EXAMEN MICROSCOPICO (*)
3	huellas	huellas	huellas	negativo
7	huellas	huellas	negativo	muy escasos
2	+ +	+ +	+ +	numerosos
2	+ +	+ +	+ +	mod. abundantes
2	huellas	+	+	muy escasos
2	huellas	+	+	negativo
2	negativo	+	+	muy escasos
2	negativo	huellas	+	muy escasos
2	negativo	negativo	+	muy escasos
1	negativo	+ +	+ +	mod. abundantes
1	huellas	+	+ +	mod. abundantes
1	huellas	huellas	+	mod. abundantes
1	huellas	huellas	huellas	mod. abundantes
1	negativo	negativo	huellas	mod. abundantes
1	negativo	huellas	negativo	mod. abundantes
1	+ +	+ +	+ + +	numerosos
1	negativo	+ + +	+ + +	numerosos
1	+	+	+	numerosos
1	. +	+ +	+ +	numerosos
1	negativo	+ + +	huellas	numerosos
1	negativo	+ + +	+ + +	numerosos

MUESTRAS	TIRA ORINA	TIRA SEDIMENTO	SOLUCION ORTOTOLIDINA	EXAMEN MICROSCOPICO (*)
1	negativo	huellas	huellas	numerosos
1	negativo	huellas	negativo	numerosos
1	+	+ +	+ +	muy numerosos
1	negativo	+ + +	+ + +	muy numerosos
1	negativo	+ +	+ +	muy numerosos
1	+ +	+ + +	+	muy escasos
1	negativo	+	huellas	muy escasos
1	negativo	negativo	+ +	muy escasos
1	huellas	huellas	+	muy escasos
1	+ +	+ +	+	negativo
1	+	+	+	negativo

(*) .- Negativo.- NI un solo eritrocito per campo microscópico .

Muy escasos.- Un eritrocito per campo microscópico .

Numerosos.- De 8 a 10 eritrocitos per campo microscópico .

Moderadamente abundantes.- De 10 a 15 eritrocitos per campo microscópico .

Abundantes.- De 15 en adelante eritrocitos per campo microscópico .

Muy numerosos.- Campo microscópico lleno .

CUADRO No. 2

ENSAYOS PRACTICADOS CON 45 MUESTRAS DE ORINA DE PACIENTES
EN POST-OPERATORIO (*) INMEDIATO

Paciente No.	Resultados Solución Ortotolidina	Tira Hemastix	Examen Microscópico (Eritrocitos)
1	Negativo	Negativo	Escasos
2	Negativo	Negativo	Abundantes
3	Negativo	Negativo	Abundantes
4	Negativo	Negativo	Escasos
5	Negativo	Negativo	Escasos
6	Negativo	Negativo	Escasos
7	Negativo	Negativo	Moderadamente abundantes
8	Negativo	Negativo	Escasos
9	Negativo	Negativo	Escasos
10	Negativo	Negativo	Moderadamente abundantes
11	Negativo	Negativo	Escasos
12	Negativo	Negativo	Escasos
13	Negativo	Negativo	Escasos
14	Negativo	Negativo	Moderadamente abundantes
15	Negativo	Negativo	Numerosos
16	Negativo	Negativo	Abundantes

Paciente No.	Resultados Solución Ortoftalidina	Tira Hemastix	Examen Microscópico (Eritrocitos)
17	Negativo	Negativo	Abundantes
18	Negativo	Negativo	Abundantes
19	Negativo	Negativo	Moderadamente abundantes
20	Negativo	Negativo	Escasos
21	Negativo	Negativo	Escasos
22	Negativo	Negativo	Escasos
23	Negativo	Negativo	Escasos
24	Negativo	Negativo	Escasos
25	Negativo	Negativo	Numerosos
26	Negativo	Negativo	Numerosos
27	Negativo	Negativo	Escasos
28	Negativo	Negativo	Escasos
29	Negativo	Negativo	Abundantes
30	Negativo	Negativo	Abundantes
31	Negativo	Negativo	Abundantes
32	Negativo	Negativo	Moderadamente abundantes
33	Negativo	Negativo	Abundantes
34	Negativo	Negativo	Abundantes
35	Negativo	Negativo	Escasos
36	Negativo	Negativo	Numerosos

Paciente No.	Resultados Solución Ortotolidina	Tira Hemastix	Examen Microscópico (Eritrocitos)
37	Negativo	Negativo	Numerosos
38	Negativo	Negativo	Escasos
39	Negativo	Negativo	Escasos
40	Negativo	Negativo	Numerosos
41	Negativo	Negativo	Abundantes
42	Negativo	Negativo	Abundantes
43	Negativo	Negativo	Escasos
44	Negativo	Negativo	Escasos
45	Negativo	Negativo	Numerosos

(x) Estos pacientes fueron sometidos a Intervención Quirúrgica en el I.N.C. con Cir-
culación Extracorporea, habiendo recibido los siguientes medicamentos.

Solución Glucosada	Solución Heparina	Ac. Acetil Salicílico
Anectine	Manitol	Hidrocortisona
Penicilina	Bicarbonato	Cloruro de Potasio
Vitamina A.	Gluconato	Vitamina C.
Vitamina B ₁	Protamina	Acetil-Digitoxina
Vitamina B ₁₂	Antistina	Penicilina G Procaína

CUADRO No. 3

LAS MISMAS MUESTRAS DE ORINA DEL CUADRO No. 2 PERO
DECANTANDO LA ORINA SOBRE PAPEL FILTRO

Paciente No.	Resultado Sol. Ortotolidina	Examen Microscópico Eritrocitos.
1	+	Escasos
2	+ +	Abundantes
3	+ +	Abundantes
4	+	Escasos
5	+	Escasos
6	+ +	Escasos
7	+ +	Moderadamente abundantes
8	+	Escasos
9	+ +	Escasos
10	+	Moderadamente abundantes
11	+	Escasos
12	+ +	Escasos
13	+	Escasos
14	+ +	Moderadamente abundantes
15	+ +	Numerosos
16	+ +	Abundantes
17	+	Abundantes
18	- -	Abundantes
19	- -	Moderadamente abundantes
20	-	Escasos

Paciente No.	Resultado Sol. Ortotolidina	Examen Microscópico Eritrocitos.
21	-	Escasos
22	- -	Escasos
23	- -	Escasos
24	-	Escasos
25	(-)	Numerosos
26	+	Numerosos
27	+ +	Escasos
28	+	Escasos
29	(-)	Abundantes
30	+ +	Abundantes
31	(-)	Abundantes
32	+ +	Moderadamente abundantes
33	+	Abundantes
34	+ +	Abundantes
35	(-)	Escasos
36	+ +	Numerosos
37	+ +	Numerosos
38	(-)	Escasos
39	+	Escasos
40	+ +	Numerosos
41	+ +	Abundantes
42	+	Abundantes
43	+	Escasos
44	+ +	Escasos
45	+	Numerosos

CUADRO No. 4

MUESTRAS DE ORINA QUE DIERON NEGATIVAS A LA ORTO-
TOLIDINA (CUADRO No. 3) Y CUYO SEDIMENTO SE LAVO -
CON SOLUCION SALINA AL 0.85%.

Paciente No.	Resultado Solución Orto-tolidina	Examen Microscópico Eritrocitos.
25	+	Numerosas
29	+	Abundantes
31	+	Abundantes
35	+	Escasos
38	+	Escasos

CUADRO No. 5

ENSAYO "IN VITRO" CON 15 MUESTRAS DE ORINAS NORMALES
CONTENIENDO GLOBULOS ROJOS EN SUSPENSION, AÑADIENDO
DO A CADA MUESTRA DIFERENTES SUSTANCIAS.

MEZCLA No.	SUSTANCIAS	RESULTADO	
		Orto. Sol. (1)	Tira (2)
1	Orina Normal con G.R. + Eter	Positivo	Positivo
2 "	" + Fluotane	Positivo	Positivo
3 "	" + Anectine	Positivo	Positivo
4 "	" + Vitamina C	Negativa	Negativa
5 "	" + Terramicina	Positivo	Positiva
6 "	" + Vitamina B	Positivo	Positivo
7 "	" + Cibalgina	Positivo	Positivo
8 "	" + Manitol	Positivo	Positivo
9 "	" + Eter + Fluotane	Positivo	Positivo
10 "	" + Vitamina C + Terramicina	Negativo	Negativo
11 "	" + Manitol	Positivo	Positivo
12 "	" + Fluotane + Eter + manitol	Positivo	Positivo
13 "	" + Fluotane + Manitol	Positivo	Positivo
14 "	" + Eter + Manitol	Positivo	Positivo
15 "	" + Penicilina	Positivo	Positivo

CAPITULO VIII

COMENTARIOS

Creemos importante basar nuestro comentario en torno a dos hechos importantes :

El primero de ellos, se refiere a la sensibilidad de las tres métodos químicos útil zados. El primer grupo, de los que hemos formado anteriormente; hay concordancia.

El resto de los grupos, ponen de manifiesto que hay una mayor sensibilidad, cuando el examen químico (con tiras u ortotolidina y en solución) se hace sobre sedimento urinario, que con la orina total.

Al grupo de 68 (6.5%) muestras de orina, cuyas exámenes químicos fueron positivos, mientras que el examen microscópico fué negativo, podrían ser error de método, o quizás se trató de verdaderas Hemoglobinurias. A este respecto no pudimos realizar investigaciones más amplias.

El segundo hecho importante, se refiere al pequeño grupo de 45 (4.3%) muestras de orina, en las cuales encontramos el examen químico negativo, a pesar de que el estudio microscópico revaló presencia de eritocitos.

El hecho de que aún haciendo suspensiones de eritocitos con las orinas de pacientes, de este último grupo, persistiera el examen química negativo, nos hizo pensar que una o varias sustancias eliminadas con la orina, serían las responsables de este hecho.

Como primer paso tratamos de retirar el sedimento la mayor cantidad de orina, incluso fué necesario lavar el sedimento urinario con solución fisiológica, para poder lograr que el examen químico fuera positivo. Este hecho nos orientó a pensar que la o las sustancias responsables no se encontraban unidas a la Hemoglobina.

Los exámenes IN VITRO, aunque muy deficientes (porque no pudimos tomar en cuenta los productos metabólicos que puedan eliminarse en la orina de los pacientes que han recibido los medicamentos recopilados en este grupo) nos dió alguna luz en relación a la causa de este fenómeno.

La vitamina "C", se oxida con facilidad en medio ácido (a ácido dihidroascórbico), sustancia altamente reductora que interfiere en la prueba indispensable para que actúen sobre el agua oxigenada liberando el O₂ que a su vez vá a obrar sobre la orto-telidina, exigiéndola, cuya reacción se manifiesta por una coloración azul. Es este quizá el mecanismo de interferencia de dicha reacción (VIII).

En virtud de que la Vitamina "C" es un fármaco de uso muy generalizado, consideramos importante que, al hacer el examen de sangre oculta en la orina, se tomen todas las precauciones antes mencionadas.

CAPITULO IX

CONCLUSIONES

1).- Se confirma que la investigación de sangre oculta en la orina ofrece mayor margen de seguridad cuando ésta se realiza sobre sedimento urinario que con la orina total, según quedó demostrado en la relación de los resultados obtenidos.

2).- Las técnicas clásicas empleadas : Orto-toluidina, Pirimidón, Bencidina, - Fenoltaleína, ofrecen una mayor economía que las tiras de Hemastix, pero el mayor costo de éstas queda plenamente justificado por la rapidez en obtener los resultados y suprimir la elaboración de reactivos con el consiguiente ahorro de tiempo.

3).- Sabiendo que existen medicamentos que falsean el examen químico, creemos importante que un estudio de sangre oculta en la orina, debe realizarse teniendo siempre en cuenta las probables causas de mayor error y recurrir, en caso necesario, a los artificios que hemos indicado, con el fin de evitar, hasta donde sea posible, las causas de dichos errores.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- I.- Jack R. Leonards, M.D. Ph. D. Cleveland.
The Journal of the American Medical Association.
Vol. 179 No. 10, Chicago. Illinois. March 1962.
- II.- Meyer Bodansky y Oscar Bodansky.
Bioquímica de Enfermedad.
Traducción de la obra en Inglés, Biochemistry of Disease.
Por Meyer Bodansky, Ph. D. M.D.; y Oscar Bodansky Ph. D.M.D.
Versión castellana por el Dr. Marín Ramos Contreras.
- III.- Kohn J. and O'Kelly.
Journal Clinical Pathology.
British Medical Association.
1955.
- IV.- Dr. Alfredo Fisher.
Laboratorio (Análisis Clínicos).
Quinta Edición.
- V.- W. J. King and I.D.P. Weetton.
Micro-Análisis in Medical Biochemistry.
1956.
- VI.- J. Kohn and T. O'Kelly.
Journal Clinical Pathology.
British Medical Association.
1954.
- VII.- Harold Varley M. SC., F.R.I.C.
Practical Clinical Biochemistry.
Second Edition (Reprinted).
- VIII.- Philip B. Hawk, Ph.D., Bernard L. Oser, Ph. D.
and William H. Summerson, Ph. D.
Practical Physiological Chemistry. Twelfth Edition.
- IX.- Helmer, Spulding y Robinson.
Métodos de Laboratorio.
Traducida al castellano por el Dr. Joaquín Sanz Astolfi.
5a. Edición. 1960.
- X.- Dr. Antonio Vidal.
Manual Técnico de Química Clínica.
1940.

**Esta tesis se imprimió en noviembre de 1965
empleando el sistema de reproducción
Xerox-Offset, en los talleres de
Impresos Offsali-G, S. de R. L.,
Mier y Pesado 227 - Col. del Valle,
México 12 D. F. Tel. 23-03-33**