



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO  
FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES  
ZARAGOZA**



**Estudio comparativo de los métodos automatizado UF-100i y estandarizado Kova  
con el método manual para el análisis de sedimento urinario**

Tesis

Para obtener el título de:  
Química Farmacéutica Biológica

Presenta  
Verónica Gómez Gaviño

Directora de Tesis: Q.F.B. Carolina Jiménez López  
Asesora: Dra. Martha A. Sánchez Rodríguez

México D.F., 2010



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.

## **DEDICATORIA:**

Este trabajo está dedicado especialmente a mi hermano, quien por causas del destino no se encuentra físicamente con nosotros, pero que siempre estará en nuestra mente y en nuestro corazón, y que ahora en donde quiera que se encuentre celebrará con nosotros.

A esas dos grandes personas, que son ejemplo de que se puede salir adelante ante las adversidades de la vida, mis PADRES, a quienes amo y debo todo lo que soy, ya que siempre han apoyado y respetado cada una de las cosas que he querido hacer, quienes me han dejado volar en el lugar que yo he elegido, quienes en todo momento están conmigo.

A todos aquellos que como yo, tienen un sueño que se ve imposible, pero que al abrir los ojos vemos que lo podemos hacer real.

A todos aquellos que creen en sus corazonadas, siguiendo el camino que ellos eligen y que saben que los conducirá al lugar que quieren llegar, o que probablemente pueda no ser el adecuado, y con ello descubrir que existen varios, pero que solo uno es el correcto.

A todos aquellos que como yo descubren que con esfuerzo, dedicación, empeño, entusiasmo se pueden lograr grandes cosas y que al poner con amor y pasión a tu trabajo, este pueda llegar a ser una de las mejores cosas que pudieron haber sucedido.

A todos aquellos que como yo, tropiezan y saben que podemos caer, pero que siempre habrá alguien que nos dará la mano, y si no lo encuentras tener la fortaleza para continuar.

A todos aquellos que como yo, tienen la dicha de conocer y tener a los mejores amigos.

A todos aquellos que como yo, tienen la capacidad de amar y querer aunque esa persona no esté contigo en este instante.

A todos aquellos que como yo, aprenden que hay personas que te pueden ayudar, y que también hay otras que te pueden lastimar.

Y a todos aquellos que como yo, descubren que la vida puede durar solo un instante y que ese instante dependerá nada más de ti y no del que los demás quieran hacer.

La vida es difícil, tan difícil como uno la quiera hacer, pero recuerda, que lo que fácil llega fácil se va!!!!

***DEDICADA A TODOS LOS QUE AMAN LO QUE HACEN.....***

## AGRADECIMIENTO

A todos los que de alguna u otra manera contribuyeron en la realización de este proyecto:

 Agradecimiento especial a la empresa patrocinadora de este proyecto, *ROCHE DIAGNOSTICS*, por la confianza y el apoyo brindado para la realización de este proyecto, así como también por acercarme a conocer el magnífico mundo de la automatización en el área de Uroanálisis.

 Al laboratorio de Análisis Clínicos de la Clínica Multidisciplinaria Zaragoza, UNAM, por facilitar las instalaciones para que este proyecto se llevara a cabo.

 Q.F.B. Carolina Jiménez López por abrir la puerta de entrada a este magnífico proyecto.

 Dra. Martha Sánchez Rodríguez, al compartir y contribuir con su amplia experiencia dentro del área, ya que a pesar de las infinitas actividades que desarrolla siempre estuvo en la mejor disposición, realizando grandes aportaciones.

 A los sinodales quienes plasmaron sus conocimientos para que esto pudiera ser mejor: M. en E. Yolanda Flores Cabrera, M. en C. Ángel García Sánchez, Q.F.B. Lilia Tequianes Bravo.

 Q. Jorge Rivas Montes, quien durante mi estancia en las aulas siempre acompañó mi camino, estando en los momentos difíciles y festejando los días buenos.

 A la Q.F.B. Enriqueta Castrejón Rodríguez, porque además de sus enseñanzas, nos hacía sentir cobijados.

 A los excelentes químicos (mis maestros) que de alguna u otra manera dejaron huella en mí y a quienes agradeceré el haber colocado una semilla que espero estén dando excelentes frutos: Patricia Vidal Millán, Gloria Velásquez Vaquero, Felipe Alberto Pérez Vega, Mauro Arrieta, Ángel Zamorano, Gustavo Miranda, Idalia Flores Gómez, Magín Enrique Juárez, Patricia Mercado, Oscar Guadarrama, Rubén Marroquín Segura, Estela Valencia, Lourdes Castillo.

 A las instituciones y a quienes las representan por brindar el apoyo para la obtención de las muestras utilizadas para el presente estudio:

- Dr. Julio Kaji Kiyono. Hospital Regional 1º de Octubre (ISSSTE).
- Dr. Mariano Zacarías Flores, Hospital General Dr. Gustavo Baz Prada, ISEM.
- Q.B.P. Guillermo Flores Cedillo y Q.F.B. Carmina Jiménez Ramírez, Unidad de Medicina Familiar No.40 Siglo XXI IMSS.
- Q.F.B. Esteban Mena, Hospital General de Zona No. 47 IMSS.

 Especialmente a las personas que han creído en mí y me han dado la confianza para desarrollarme y crecer el ámbito laboral, Lic. Fernando Ramos Suárez y a la Q.F.B. Bethel González Rodríguez.

 Laboratorio de Análisis Clínicos, Policlínica Milemiun S.A. de C.V., al C.P. Juan Jesús Vázquez Zavala, por impulsarme y enseñar que con esfuerzo se pueden lograr nuestros más difíciles objetivos, así como por todo el apoyo brindado para el desarrollo de mis actividades.

 Con cariño especial a la Q.F.B. Rosaura Pérez Peinado y a la Dra. Beatriz Ramírez Mora, quienes han sido un gran apoyo para mí tanto laboral como personal, quienes siempre me han ayudado a salir adelante. Ejemplos de fortaleza y trabajo, gracias por transmitir su experiencia y hacerme ver mis fortalezas y también mis debilidades.

 A mis hermanas: Guille, Noemí y Ana, a quienes tanto quiero y amo aunque no se los diga siempre por no estar juntas; a mis sobrinos quienes con su frescura me hacen sentir lo fácil que puede ser la vida, sin olvidar a mis cuñados.

 Mis mejores amigos, los que siempre están cuando los necesito, los que me sacan de mis tristezas y quienes están en mis alegrías: Jorge, Karis, Diana y Araceli. Y a quienes fueron parte importante durante mi carrera, Mariana, Aurora y Mauricio.

 Y sin olvidar a la mejor escuela en la que pude haber estado, en donde pase unos de los momentos más bellos e inolvidables de mi vida, de la que con orgullo puedo decir que soy egresada, tener corazón azul y ahora piel dorada, a la gloriosa y magnífica ***UNAM-FES Zaragoza***.

# ÍNDICE

<b>RESUMEN</b>	1
<b>INTRODUCCIÓN</b>	2
<b>MARCO TEORICO</b>	3
Anatomía del riñón	3
Fisiología renal	4
Formación de orina	5
<i>Filtración glomerular</i>	5
<i>Reabsorción y Secreción</i>	6
Regulación del equilibrio hidroelectrolítico	7
<i>Balance de agua</i>	8
<i>Balance de Sodio</i>	8
<i>Balance de Potasio</i>	8
Regulación del equilibrio ácido-base	8
Excreción de los productos de desecho nitrogenados	9
Función hormonal	9
Examen general de orina o uroanálisis	9
Recolección de la muestra de orina	10
Examen físico y químico	11
Examen Microscópico	11
Normatividad en el uroanálisis	12
<i>Sistemas aplicados en el uroanálisis</i>	12
<i>Sistema estandarizado Kova®</i>	13
Control de Calidad del Sistema Kova	14
Sistemas automatizados	14
Sistema Yellow IRIS	14
Sysmex UF-100i	15
Principios UF	16
Control de Calidad del Sistema UF-100i	20
Comparación de métodos	20
<b>PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA</b>	21

---

<b>OBJETIVOS</b>	
Objetivo General	22
Objetivos Específicos	22
<b>HIPOTESIS</b>	23
<b>MATERIAL Y MÉTODOS</b>	24
Diseño de Investigación	24
Población de estudio	24
Criterios de inclusión	24
Criterios de Exclusión	24
Variables de estudio	25
Análisis Estadístico	25
Material	26
Equipos e Instrumentos	26
Reactivos	26
<b>PROCEDIMIENTOS</b>	27
<b>RESULTADOS</b>	33
<b>DISCUSIÓN DE RESULTADOS</b>	39
<b>CONCLUSIONES</b>	45
<b>RECOMENDACIONES Y SUGERENCIAS</b>	46
<b>REFERENCIAS</b>	47
<b>ANEXO 1</b>	50
<b>ANEXO 2</b>	54
<b>ANEXO 3</b>	55

## RESUMEN

El presente estudio tuvo como objetivo comparar el método manual convencional con el sistema estandarizado Kova y el sistema automatizado UF-100i para el análisis del sedimento urinario, para lo cual se determinó la precisión de cada método realizando 27 repeticiones con materiales control (Kova-trol I y II, *Hycor Biomedical EU*) para el conteo de leucocitos y eritrocitos.

Se observó un coeficiente de variación menor con el UF-100i para ambos tipos celulares en los dos niveles; el coeficiente de correlación para el conteo de eritrocitos entre el método Kova y UF-100i fue de  $r = 0.950$ ; manual y UF-100i,  $r = 0.899$ ; para leucocitos  $r = 0.742$  entre Kova y UF-100i, manual y UF-100i  $r = 0.536$ , todos estadísticamente significativos ( $p < 0.0001$ ).

Para el estudio comparativo entre métodos, se analizaron 254 muestras de orina fresca, a las cuales se les realizó el examen físico y químico, encontrándose que las correlaciones entre los métodos para los conteos celulares fueron: UF-100i y Kova ( $r = 0.914$ ,  $p < 0.0001$ ) para leucocitos, y para eritrocitos ( $r = 0.758$ ,  $p < 0.0001$ ).

Cabe mencionar que en el conteo de eritrocitos la mejor correlación se dio entre el método manual y el Sistema Kova, siendo el sistema UF-100i confiable y preciso para la medición de elementos formes en las muestras de orina, aunque hay interferencia en muestras con hematuria visible y requiere revisión microscópica.

Se determinaron coeficientes de correlación con valores entre 0.900 y 0.975, entre los métodos y con la lectura de tira reactiva. Asimismo se evaluó la utilidad del equipo automatizado en enfermedades renales y de otro origen, mostrando que tiene una sensibilidad del 82% para células epiteliales con una especificidad del 90%, y el porcentaje que requiere revisión microscópica es de 8.1% para cilindros patológicos y 10.5% para células de tipo renal.

## INTRODUCCIÓN

El examen general de orina o uroanálisis es una prueba de laboratorio que permite al médico obtener datos importantes relacionados al diagnóstico y tratamiento de enfermedades renales o del tracto urinario, así como la detección de enfermedades metabólicas o sistémicas no relacionadas con el riñón. El análisis del sedimento urinario tradicionalmente se lleva a cabo de manera manual, involucrando una serie de pasos que contribuyen a la imprecisión y consumo excesivo de tiempo.

La normatividad mexicana e internacional (CLSI: *Clinical and Laboratory Standards Institute*), establecen los criterios necesarios para el funcionamiento del laboratorio clínico y el área de uroanálisis respectivamente, así como de recomendar la utilización de un procedimiento estandarizado o automatizado para el examen microscópico.

El sistema Kova<sup>®</sup> (*ICL Scientific, Fountain Valley, CA*) es el sistema estandarizado más comúnmente utilizado en el país para el análisis del sedimento urinario, existiendo además analizadores automatizados diseñados para el conteo de elementos formes en orina; el Yellow IRIS (*International Remote Imaging Systems, Chatsworth, CA*) en los Estados Unidos, basado en el análisis de imágenes, y el Sysmex UA (*TOA Medical Electronics, Kobe, Japón*) en Japón, basado en el principio de citometría de flujo. El Sysmex UF-100i es un analizador automatizado que realiza el conteo de los elementos formes presentes en una muestra de orina sin centrifugar de acuerdo a las propiedades de luz dispersa frontal, impedancia y fluorescencia.

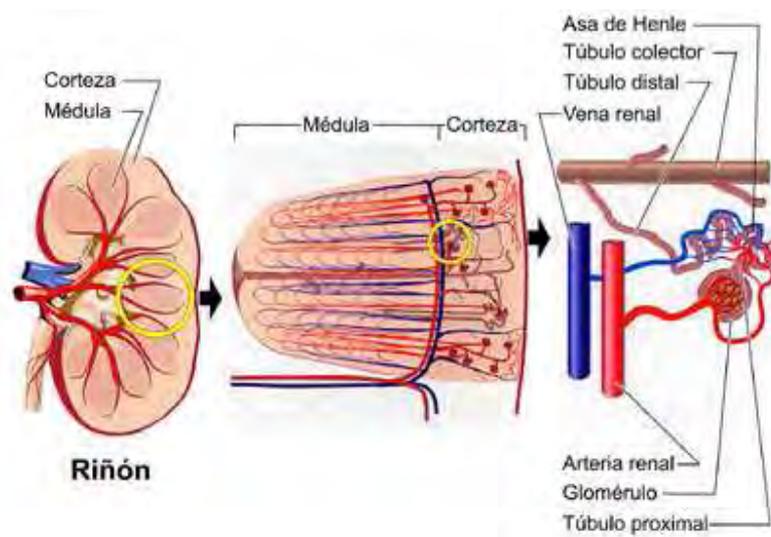
Este avance es importante dado que es un intento por automatizar el área de Uroanálisis del Laboratorio Clínico, ya que por lo regular no se le da la misma importancia que a las otras áreas, además de que requiere de personal con amplia experiencia en la observación microscópica.

## MARCO TEÓRICO

### Anatomía del riñón

El sistema urinario está compuesto por los riñones (que producen la orina), los uréteres (conducen la orina), la vejiga urinaria (almacena temporalmente la orina) y la uretra que comunica con el exterior y sirve para evacuar el contenido urinario.

Los riñones son órganos grandes, rojizos, con forma de habichuela, están situados en la parte posterior del abdomen a ambos lados de la columna vertebral, el riñón derecho está ubicado apenas más alto que el izquierdo. En el adulto, cada riñón pesa aproximadamente 150g y mide 12 cm de longitud por 6 cm de ancho; las caras medias de los riñones están indentadas formando hilos que reciben las arterias y venas renales.



**Figura 1.** Anatomía microscópica del riñón.

La nefrona es la unidad estructural y funcional microscópica, aproximadamente cada riñón tiene un millón de nefronas, consiste en los tubos proximales y distales conectados por el asa de Henle y un plexo capilar denominado glomérulo que se halla encerrado en un extremo ciego, invaginado y dilatado del tubo renal que se conoce como cápsula de Bowman, que se estrecha para formar el tubo proximal, ésta parte de tubo se enrolla

repetidamente sobre sí mismo y a continuación se estrecha y estira para formar la delgada asa descendente de Henle, ésta a su vez efectúa un giro de 180° para formar el asa ascendente recta de Henle, que al principio es delgada, pero que se ensancha bruscamente y se dobla sobre sí misma para formar el tubo distal (Figura 1). El glomérulo y los tubos contorneados están presentes en las cortezas, las asas de Henle y los conductos colectores se encuentran en la médula, la unión entre el asa ascendente de Henle y el tubo distal se conoce con el nombre de mácula densa.

Los glomérulos están conectados al sistema arterial por arteriolas aferentes y eferentes, la arteria renal proporciona la sangre al riñón, entra a la nefrona a través de la arteriola aferente y fluye a través del glomérulo hacia la arteriola eferente. La capacidad de estas arteriolas de variar de tamaño ayuda a crear la presión hidrostática diferencial necesaria para la filtración glomerular, esta parte del sistema vascular está recubierta por células granuladas especializadas que reciben el nombre de células yuxtaglomerulares, las cuales conjuntamente con la mácula densa adyacente forman el aparato yuxtaglomerular.<sup>1,2,3,4</sup>

## **Fisiología Renal**

El riñón es el principal regulador de todas las sustancias de los líquidos orgánicos y es fundamentalmente responsable del mantenimiento de la homeostasis hidroelectrolítica en el organismo.

El riñón ejerce cinco funciones principalmente:

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

El riñón es capaz de llevar a cabo estas funciones complejas debido a que aproximadamente un 25% del volumen de sangre bombeada por el corazón hacia la circulación sistémica fluye a través del riñón, por lo tanto los riñones que representan alrededor del 0.5% del peso corporal total, reciben una cuarta parte del volumen minuto

cardiaco. El volumen minuto cardiaco normal es de 4 a 6 litros/minuto, es decir, cada minuto circulan por el riñón de 1.000 a 1.500 mL. de sangre.<sup>4</sup>

## **1. Formación de Orina**

Los procesos básicos involucrados en la formación de orina son la filtración (que tiene lugar en los glomérulos), la reabsorción y la secreción (en los túbulos renales). Los riñones filtran grandes volúmenes de plasma, reabsorben la mayor parte de lo filtrado y eliminan una solución concentrada de desechos metabólicos que denominamos “orina”. A través de estos procesos, el riñón regula la cantidad de las diversas sustancias orgánicas y es capaz de mantener el medio interno para que sea posible un funcionamiento adecuado de todas las células del organismo. En el individuo sano los riñones son altamente sensibles a las fluctuaciones de la dieta, ingestión de agua y electrolitos, compensando estas variaciones mediante la alteración del volumen, densidad y composición de la orina<sup>4</sup>.

### ***Filtración Glomerular***

La filtración es la fuerza que ejerce una presión sobre líquidos y sustancias disueltas para que atraviesen una membrana. El glomérulo está compuesto por una membrana basal semipermeable, es decir, permite el paso a moléculas pequeñas como agua y electrolitos, pero es impermeable a moléculas de mayor tamaño como células y proteínas plasmáticas. Los capilares glomerulares difieren de otros capilares del organismo debido a que la presión hidrostática en su interior es aproximadamente tres veces mayor que la presión hidrostática en los otros capilares, como consecuencia de esta elevada presión, las sustancias son filtradas a través de la membrana semipermeable hacia el interior de la cápsula de Bowman a una velocidad de aproximadamente 130 mL./min., este valor es conocido como “índice de filtración glomerular” (IFG).

Por lo anterior, el líquido formado se denomina filtrado glomerular, el cual está esencialmente compuesto por plasma sin proteína<sup>4,6</sup>. (Cuadro 1)

**Cuadro 1.** Filtración, reabsorción y excreción renal.<sup>4</sup>

Componente	Cantidad filtrada por día	Cantidad excretada por día	Porcentaje (%) reabsorbido
Agua	180 L	1.5 L	99.2
Sodio	24.000 mEq	100 mEq	99.6
Cloruro	20.000 mEq	100 mEq	99.5
Bicarbonato	5.000 mEq.	2 mEq	99.9
Potasio	700 mEq	50 mEq	92.9
Glucosa	180 g	0	100
Albúmina	3.6 mg	180 mg	95

### ***Reabsorción y Secreción***

Las células tubulares proximales llevan a cabo diversas funciones fisiológicas: aproximadamente un 80% de la sal y del agua es reabsorbido desde el filtrado glomerular, a este nivel se reabsorbe también toda la glucosa filtrada y la mayor parte de los aminoácidos, existiendo un umbral plasmático renal y una capacidad tubular máxima de reabsorción (Tm). La reabsorción pasiva tiene lugar cuando una sustancia se mueve en respuesta a un gradiente eléctrico o de concentración mediante un proceso de simple difusión sin que exista energía celular involucrada en el proceso, el agua, urea y cloruro son reabsorbidos de este modo.

La rama descendente del asa de Henle es altamente permeable al agua, la cual se mueve pasivamente a través de la pared tubular cuando existe un gradiente osmótico entre el líquido tubular y el líquido intersticial; la rama ascendente del asa de Henle es relativamente impermeable al agua, pero reabsorbe activamente sodio y cloruro<sup>3,4,5</sup>.

Una pequeña fracción de sodio, cloruro y agua filtrados se reabsorbe a nivel del túbulo distal, éste responde a la acción de la hormona antidiurética (HAD), de modo que su permeabilidad al agua es elevada en presencia de esta hormona y escasa en su ausencia, el potasio puede ser reabsorbido y segregado a este nivel. La aldosterona estimula tanto la reabsorción de sodio como la secreción de potasio a nivel del túbulo distal, este segmento de la nefrona también posee una escasa permeabilidad a la urea.

La HAD controla la permeabilidad al agua de los túbulos colectores a lo largo de toda su extensión, en presencia de dicha hormona, el líquido tubular hipotónico que llega a estos conductos pierde agua. El sodio y el cloruro son reabsorbidos a este nivel y el transporte del sodio es estimulado por la aldosterona<sup>7,8,9</sup>.

Mientras la reabsorción tubular elimina sustancias desde el filtrado hacia la sangre, la secreción tubular adiciona materiales hacia el filtrado a partir de la sangre (Figura 2)<sup>5,6</sup>.

## 2. Regulación del equilibrio hidroelectrolítico

El riñón mantiene al organismo en equilibrio con relación a una variada cantidad de sustancias, cada una de las cuales se excreta en cantidades equivalentes a las ingeridas, la ruptura de este equilibrio provoca una amplia gama de trastornos bioquímicos<sup>4</sup>.

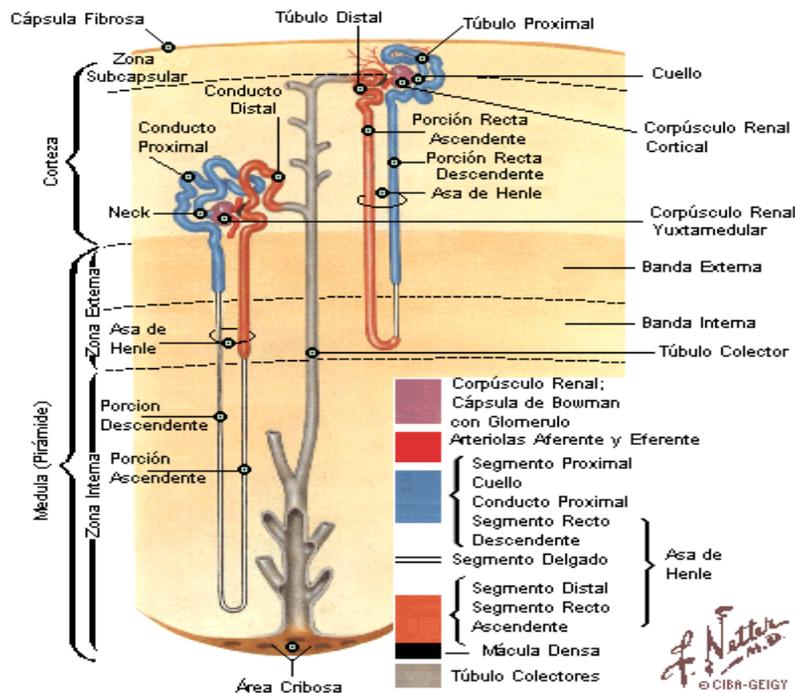


Figura 2. Estructura microscópica de la nefrona.<sup>5</sup>

### ***Balance de agua***

La capacidad del riñón para regular el balance hídrico del organismo se debe a su aptitud para disociar la excreción de agua de la de solutos.

Aunque la reabsorción de agua se produce a lo largo de todo el túbulo renal, la mayor parte del agua filtrada se reabsorbe en el túbulo proximal y en condiciones isosmóticas (reabsorción obligada), por consiguiente, la capacidad de disociar la reabsorción del agua de la de los solutos es privativa de los segmentos distales de la nefrona (reabsorción facultativa). Esta reabsorción de agua en el túbulo contorneado distal y el colector depende básicamente de la hipertonicidad del intersticio medular, la permeabilidad del túbulo renal para el agua y los niveles circulantes de HDA.

En circunstancias normales, el riñón humano es capaz de diluir la orina hasta 40 mOsm/Kg o concentrar, hasta alcanzar la osmolaridad urinaria un valor de 1.20 mOsm/Kg<sup>4,7</sup>.

### ***Balance de Sodio***

Diversos mecanismos fisiológicos contribuyen a mantener constante el balance de Na<sup>+</sup> mediante un aumento o una disminución de su reabsorción tubular. El principal estímulo sobre el riñón lo constituyen las modificaciones del volumen arterial efectivo<sup>5,7</sup>.

### ***Balance de Potasio***

El riñón participa activamente en el balance de K<sup>+</sup> del organismo, en condiciones normales excreta casi todo el K<sup>+</sup> ingerido; en el túbulo proximal se reabsorbe alrededor del 70% del K<sup>+</sup> filtrado, y en el asa de Henle entre el 20 y el 30% restante.

La excreción renal del K<sup>+</sup> está influida y regulada por factores como: nivel sérico, secreción de aldosterona, estado ácido básico, volumen del flujo urinario y la reabsorción de Na<sup>+</sup> en el tubo distal<sup>4,7</sup>.

## **3. Regulación del equilibrio ácido-base**

El pH orgánico es controlado mediante tres sistemas: los sistemas buffer ácido-base, los pulmones y el riñón. El papel desempeñado por los riñones en el mantenimiento del equilibrio ácido-base, se basa en la regeneración de bicarbonato, este mecanismo se lleva a cabo mediante la secreción tubular renal de hidrogeniones en la orina<sup>4,7</sup>.

#### **4. Excreción de los productos de desecho nitrogenados**

Una de las funciones principales del riñón consiste en la eliminación de los productos nitrogenados del catabolismo proteico. Las enormes reservas renales para la excreción de los productos del catabolismo, se reflejan en la ausencia de síntomas de insuficiencia renal hasta que la función renal se encuentra reducida a menos de un tercio de la capacidad normal<sup>4,7</sup>.

#### **5. Función hormonal**

El riñón posee importantes funciones metabólicas y endocrinas, sirve como órgano efector de numerosas hormonas, influye sobre el metabolismo de otras y por último actúa directamente como un órgano endocrino segregando hormonas reguladoras<sup>4</sup>.

### **Examen general de orina o uroanálisis**

En 1827 Richard Brig introdujo por primera vez el análisis de orina como parte del examen médico rutinario, donde la proteinuria era prueba de lesión renal y la presencia de glucosa confirmación de una diabetes.

El examen general de orina (EGO) o uroanálisis, se ha descrito como una “biopsia líquida” del tracto urinario, obtenida de forma indolora<sup>10</sup>, permite al médico obtener datos importantes en relación al diagnóstico y tratamiento de enfermedades renales o del tracto urinario, así como detección, seguimiento o exclusión de enfermedades metabólicas o sistémicas no directamente relacionadas con el sistema renal<sup>1</sup>.

Cuando se presenta una enfermedad renal, existe una serie de indicadores clínicos como dolor, hematuria, proteinuria, hiperazoemia, leucocitosis, alteraciones que pueden ser detectadas en el laboratorio clínico siendo las células renales, cilindros y eritrocitos los parámetros de elección del daño renal, los leucocitos como indicador de infección en el tracto urinario junto con las bacterias<sup>11,12</sup>.

## Recolección de la muestra de orina

Existen ciertas consideraciones importantes que hay que recordar al recolectar una muestra de orina para su estudio, si se siguen las normativas indicadas, es menos probable que se produzcan errores en la interpretación de los resultados; es por esto que se recomienda emplear alguno de los siguientes métodos de recolección para la obtención de una muestra de orina.

Métodos de recolección de orina<sup>13</sup>:

- Cateterismo vesical estéril
- Punción percutánea supra púbrica de la vejiga urinaria
- Micción espontánea
- Micción espontánea con la técnica del chorro intermedio

En principio, los internistas preferirían la punción suprapúbica de la vejiga al cateterismo vesical, ya que esta última se asocia a infección urinaria en 1-5 % de los casos. El cateterismo es el método que puede usarse si el paciente presenta dificultades en la micción, y también en pacientes de sexo femenino para evitar la contaminación vaginal. La punción vesical suprapúbica es una técnica sencilla y carente de riesgos, se puede realizar incluso de forma ambulatoria, la única condición esencial es que la vejiga este rellena, el momento más adecuado es el de la mañana antes de la micción; consiste en la inserción de una aguja directamente en la vejiga distendida. Esta técnica evita la contaminación vaginal y uretral y también puede ser útil en la recolección de orina en lactantes y en niños de corta edad. El embarazo, la presencia de grandes tumores ginecológicos, las cicatrices hipogástricas extensas y, naturalmente, las alteraciones de la hemostasia representan una contraindicación de la punción vesical.

La orina emitida espontáneamente, sobre todo por las mujeres, se encuentra contaminada en un elevado porcentaje por secreción vaginal, por eso es preferible obtener la orina del chorro medio<sup>13,15</sup>.

El método de la micción espontánea con técnica del chorro medio, consiste en recoger la orina de la porción intermedia de la micción en un recipiente limpio, para ello, deberá evacuar la orina en el sanitario y durante la micción: se deja escapar la porción inicial del

chorro de orina, se recolecta la porción media en un frasco limpio y el final de la micción deberá evacuarlo en el sanitario, cerrar el recipiente (Anexo2 y Anexo3).

En lactantes y niños de corta edad, con el objetivo de obtener muestras adecuadas se dispone de bolsas colectoras pediátricas que se fijan a los genitales, las cuales deberán ser utilizadas previo aseo genital. Los bolsas colectoras son blandas, plegables y no causan demasiada incomodidad al paciente, no obstante como en todos los casos de recolección de orina, se debe evitar la contaminación fecal.<sup>9,13,14,15</sup>

## **Examen físico y químico**

El uroanálisis comprende el examen físico, químico y microscópico. En el examen físico se incluyen aspectos útiles (determinación de color y aspecto) para hacer un juicio presuntivo de la posible presencia de componentes anormales en la orina, así como la capacidad concentradora del riñón; para el examen químico se utiliza generalmente una tira reactiva, en la que se evalúan ensayos químicos cualitativos colorimétricos y pueden ser utilizadas para determinar densidad, pH, niveles de proteínas, glucosa, cetonas, bilirrubinas, urobilinógeno, sangre, nitritos y leucocitos en orina. Estas tiras de inmersión representan un método rápido y económico para analizar la orina.<sup>1,12,13</sup>

## **Examen Microscópico**

El examen microscópico provee una correcta identificación y cuantificación de los elementos formes de interés clínico emitidos en la orina como son: leucocitos, eritrocitos, cilindros y células renales, sin embargo, además de ser realizado durante las primeras dos horas por la lisis de leucocitos y eritrocitos, se debe recordar que debe haber una concordancia entre las tres partes que lo conforman (examen físico, examen químico y microscopia) con la finalidad de una adecuada interpretación de los resultados que se emiten, por lo tanto, es aquí donde se da la problemática con el método manual convencional, ya que existen muchas variables que son fuentes potenciales de error en su proceso, como: volumen no medido de orina a centrifugar, sedimento obtenido y observado, superficie de conteo, no olvidando que el tiempo y velocidad de centrifugación afecta la cantidad y la concentración final de células en el sedimento, por

consiguiente, es esencial prestar mucha atención a todos los detalles técnicos para poder obtener resultados reproducibles y exactos. Cabe señalar que el sedimento de orina obtenido por centrifugación, contiene los elementos formes que se han acumulado después del proceso de filtrado glomerular y durante el tránsito del líquido a través de los túbulos renales y del tracto urinario inferior.<sup>1,3,9,14</sup>

Los cilindros existentes son elementos formes detectados a menudo en orina provenientes de los túbulos renales y de otros conductos, los microorganismos (bacterias y hongos) son elementos extraños al sistema urinario, su identificación ofrece datos importantes para el diagnóstico de la etiología de ciertas enfermedades.

La muestra de orina debe ser rastreada en su totalidad con un bajo aumento, prestando especial atención a los bordes del cubreobjetos, en donde tienden a concentrarse cilindros y otros elementos. La confiabilidad y la precisión del examen dependen en cierta medida del observador.<sup>1,3,9,14</sup>

## **Normatividad en el uroanálisis**

La normatividad mexicana<sup>16</sup> e internacional, específicamente la estipulada por el CLSI (*Clinical and Laboratory Standards Institute*)<sup>17</sup> antes NCCLS, establecen los criterios necesarios para el correcto funcionamiento del laboratorio clínico y el área de uroanálisis respectivamente, con el fin de obtener resultados de utilidad clínica para el paciente y médico. Uno de ellos es utilizar un procedimiento estandarizado o automatizado para el examen microscópico, además de implementar el control de calidad interno y externo.

### ***Sistemas aplicados en el uroanálisis***

En 1926, Addis desarrolló un procedimiento para cuantificar los elementos formes en el análisis microscópico de orina (Cuenta de Addis), que emplea un hematocitómetro para contar eritrocitos, leucocitos, cilindros y células epiteliales presentes en una muestra, se emplea para vigilar la evolución de los casos diagnosticados de enfermedad renal.

Este procedimiento rara vez se usa hoy en día, ya que existen sistemas comerciales estandarizados como el Kova<sup>®</sup> (*ICL Scientific, Fountain Valley, CA*), el Fisherbrand,

Urisystem (*Fisher Scientific, Pittsburg, PA*) y el sistema Count-10 (*V-Tech, INC., Palm Desert, CA*) que proporcionan un resultado más preciso del examen microscópico.<sup>3</sup>

### **Sistema estandarizado Kova ®**

En el país el sistema más comúnmente utilizado es el Sistema Estandarizado Kova, el cual, cumple con los lineamientos de la norma<sup>17</sup> y por lo tanto, es el método seleccionado para el análisis de muestras de orina. El sistema Kova consta de tubos graduados con fondo cónico, una pipeta de transferencia con bulbo en su base (pipeteador) que permite obtener después de la centrifugación 1 mL de sedimento, así como también una cámara de conteo Kova Glasstic (*ICL Scientific, Fountain Valley, CA*) con una superficie uniforme para un volumen fijo de 6.6  $\mu\text{L}$  con capacidad para 10 muestras (Figura 3).

Para observar el sedimento al microscopio, utilizando el pipeteador deberá mezclar el sedimento obtenido y por acción capilar llenar el compartimento con la muestra, prosiguiendo de la misma manera con las muestras restantes y en los otros compartimentos<sup>13,29</sup>.



**Figura 3.** Materiales del Sistema Estandarizado Kova®<sup>43</sup>

### **Control de Calidad del Sistema Kova**

El Sistema Kova utiliza como Control de Calidad Interno (CCI) un material control, KOVA-Trol (*Hycor Biomedical, EU*), el cual es una preparación liofilizada de orina humana destinada al uso en el laboratorio clínico como control de calidad de las determinaciones químicas y para el análisis de sedimento microscópico. El KOVA-Trol está diseñado para uso con el sistema estandarizado Kova<sup>®</sup>, sin limitar su uso a este sistema.<sup>3,13,18,19</sup>

En este sentido, en un estudio previo llevado a cabo en el laboratorio de Análisis Clínicos Zaragoza, comparando el método manual convencional con el sistema Kova<sup>®</sup>, se encontró que el primero tiene una imprecisión mayor al 40% para el conteo de eritrocitos y leucocitos utilizando orinas de control con valores tanto bajos como altos, atribuyéndose ese error a la falta de estandarización del método, sin olvidar todo el trabajo manual que implica y la ambigüedad de los resultados.<sup>20</sup>

### **Sistemas automatizados**

El desarrollo de los autoanalizadores de sangre ha incitado la tentativa de producir dispositivos similares para el área de Uroanálisis, el primer intento de automatizar la parte del examen microscópico de orina ocurrió aproximadamente hace 20 años; permitiendo optimizar el tiempo, mejorar el rendimiento laboral, disminuir la subjetividad en la interpretación de los resultados y, por consecuencia, mejorar la precisión<sup>21</sup>. El Yellow IRIS (*International Remote Imaging Systems, Chatsworth, CA*) en los Estados Unidos y el Sysmex UA (*TOA Medical Electronics, Kobe, Japón*) en Japón son ejemplo de ello, los cuales se basan en diferentes tecnologías<sup>3</sup>.

### **Sistema Yellow IRIS**

Basado en el análisis de imágenes, después de adicionar el colorante a la muestra de orina se detiene su movimiento y pasa a través de una cámara de flujo laminar, en donde los elementos formes son detectados y proyectados en forma de imagen fotografiada por una cámara de video montada sobre un microscopio y una lámpara estroboscópica, se toman múltiples fotografías clasificándolas en doce categorías definidas según sus dimensiones longitudinales. Los datos son analizados por

computadora en cuanto a número y tamaño, las imágenes son presentadas al operador en una pantalla de color, entonces el operador hace la identificación final tocando una categoría apropiada en la pantalla del monitor.

Como el volumen de la cámara de flujo laminar es conocido, las imágenes pueden contarse y relacionarse con el volumen de orina con una precisión que excede de la que puede obtenerse con una muestra centrifugada, un portaobjetos de cristal y un cubreobjetos. El mayor inconveniente del sistema, es que requiere del continuo monitoreo de las imágenes por el operador.<sup>1, 22-26</sup>

### **Sysmex UF-100i**

El es un analizador diseñado para realizar estudios de microscopia urinaria en laboratorios clínicos como auxiliar en un diagnóstico *in vitro*, su funcionamiento se basa en el principio de citometría de flujo (*Sysmex TOA Medical Electronics*, Figura 4).

El UF-100i es un analizador automatizado que realiza el conteo de los elementos formes presentes en una muestra de orina sin centrifugar a una longitud de onda de 488nm, utilizando un láser de argón de acuerdo a las propiedades de luz dispersa frontal, impedancia y fluorescencia. Se maneja mediante una pantalla táctil LCD (*Liquid Crystal Displays*), identifica la muestra (de forma manual o por su código de barras), mezcla y aspiran automáticamente 800  $\mu\text{L}$  de orina y los transfiere a la unidad de reacción para la realización del análisis, 400  $\mu\text{L}$  son diluidos por el Urinopack para regular la presión osmótica, pH, remover fosfatos y uratos, así como para hacer la tinción y realizar el conteo de los elementos formes en 9  $\mu\text{L}$  y mostrar recuentos de eritrocitos (G.R.), leucocitos (G.B.), células epiteliales (C.E.), cilindros hialinos y bacterias como parámetros de análisis, así como recuentos de cilindros patológicos (comprende a los cilindros granulados, céreos, eritrocitarios, leucocitarios, epiteliales), levaduras, células renales, cristales y espermatozoides como parámetros de alarma.<sup>22,23,29,30</sup>



**Figura 4.** Equipo automatizado SYSMEX UF-100i. Roche Diagnósticos.<sup>32</sup>

### ***Principios UF***

#### **Impedancia**

La orina tiene una gran variación en conductividad de muestra a muestra, para ello, el diluyente (Urinopack) restringe la conductividad a un intervalo, es entonces cuando la conductividad de cada muestra es medida antes de entrar a la cámara de flujo y con esto la corriente se ajusta a un nivel constante entre los electrodos, además de esto, se disuelven los contenidos cristalinos de uratos y fosfatos (Figura 5).

Cuando una partícula pasa por la cámara de flujo, la resistencia incrementa y el voltaje aumenta, esta impedancia refleja el volumen de la partícula como: células, bacterias y cilindros que son medidos a través de impedancia electrónica.<sup>30,32</sup>

### Principios de la Serie UF

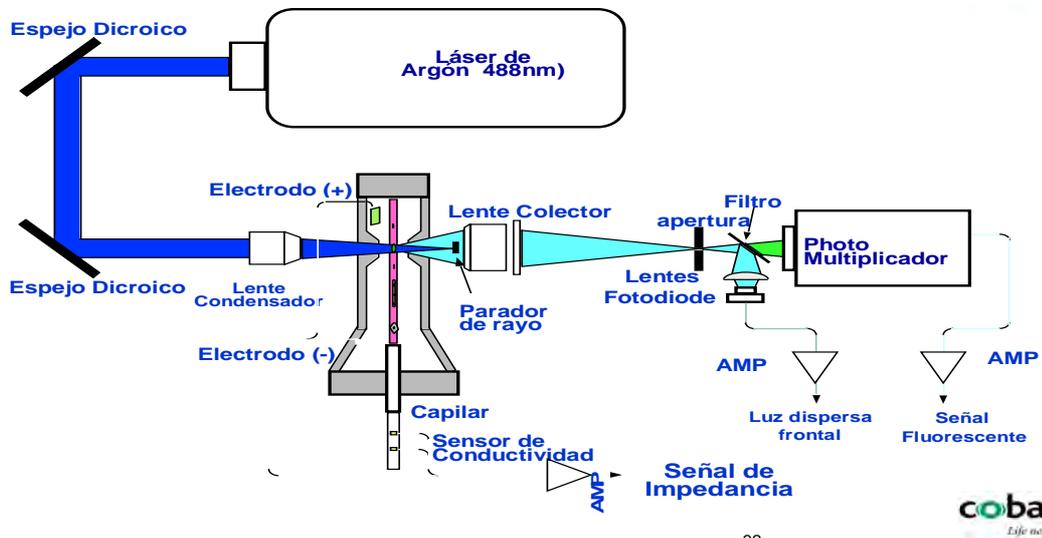
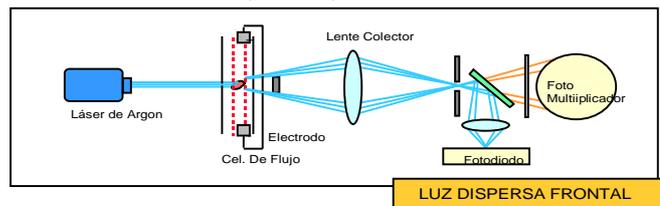


Figura 5. Principios del equipo serie UF.<sup>32</sup>

### Fluorescencia (FI)

La fluorescencia refleja la cantidad de tinción que absorbe la partícula (Figura 6), la tinción utilizada contiene carbocianina, que tiñe negativamente la membrana celular del retículo endoplasmático, nuclear y mitocondrial emitiendo una fluorescencia verde; y la fenantridina tiñe ácidos nucleicos y emite una fluorescencia naranja.

El tiempo del respectivo pulso eléctrico derivado de la señal de fluorescencia (Flw) que representa el largo de la partícula teñida.<sup>24, 28, 31</sup>



### Fluorescencia

La flourescencia (FI)  
Refleja la cantidad de tinción que absorbe La partícula.

El tiempo del respectivo pulso electrico  
Derivado de la señal de fluorecencia (Flw)  
Representa el largo de la partícula teñida

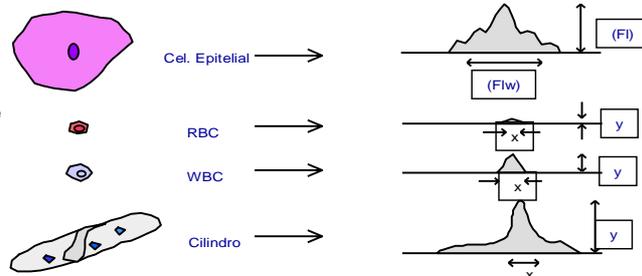


Figura 6. Principio de fluorescencia en el sistema UF.<sup>32</sup>

### Luz Dispersa Frontal

Refleja el tamaño de la partícula (Fsc). El tiempo que se toma en generar el pulso electrónico derivado de la luz dispersa frontal, refleja el largo de la partícula<sup>24,32</sup>. (Figura 7).

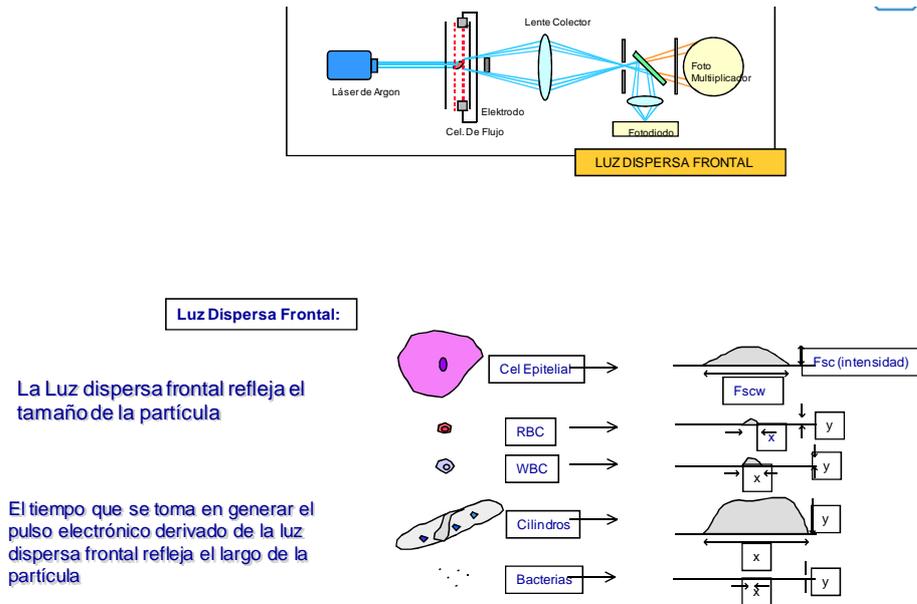


Figura 7. Principio de luz dispersa frontal en el sistema UF.<sup>32</sup>

Los elementos individuales de la muestra fluorescen ante la luz dispersa en varios grados, la intensidad de la luz dispersa, luz fluorescente y la resistencia (impedancia) de cada elemento son convertidas en una señal eléctrica para clasificarlas al enfocarlas hidrodinámicamente. Los resultados del análisis se muestran en la pantalla LCD reportando por campo (40x), por microlitro ( $\mu\text{L}$ ) o bien un conteo en 10x para cilindros, mostrando diferentes tipos de presentación como por ejemplo: listas, histogramas, diagramas de dispersión, etc. (Figura 8 y Figura 9).<sup>24,32,44</sup>

El UF-100i permite almacenar datos de hasta 1000 muestras, siendo posible además conectar un lector de tiras de orina, cuyos resultados se leen y guardan por separado; para comprobar la fiabilidad de los resultados se efectúa una comparación cruzada entre los resultados del análisis y los datos de la tira de orina. Cuando los valores están fuera de los límites establecidos se indica, a fin de comprobarlos y verificarlos.<sup>24,32</sup>

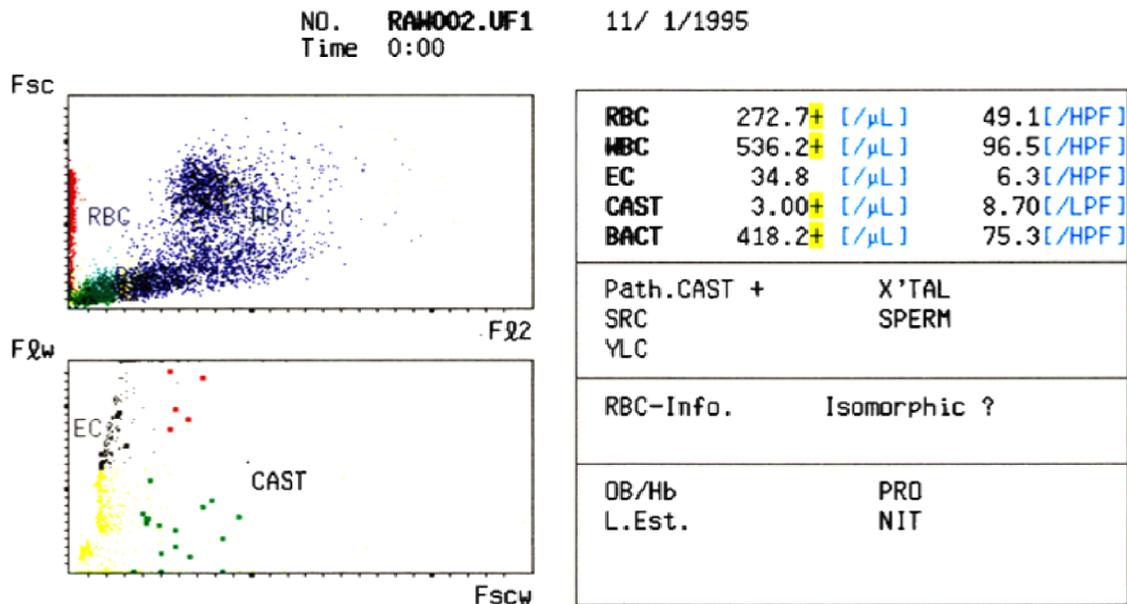


Figura 8. Primera pantalla del equipo UF-100.<sup>32</sup>

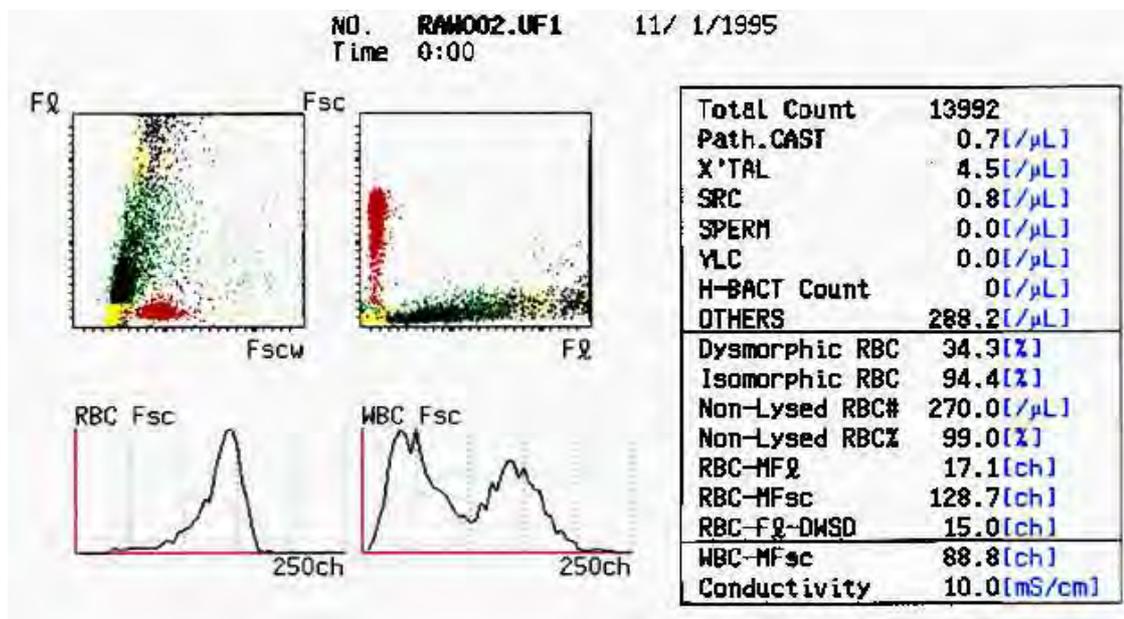


Figura 9. Segunda pantalla del equipo UF-100.<sup>32</sup>

### **Control de Calidad del Sistema UF-100i**

El control de calidad del sistema garantiza la fiabilidad del equipo y los reactivos, para ello el equipo utiliza el UFCHECK, el cual es un material de control con una mezcla de partículas látex de eritrocitos (G.R.) y leucocitos (G.B.), células epiteliales, cilindros y bacterias, la cual se recomienda utilizar una o dos veces al día y después de operaciones de mantenimiento o de cambio de reactivos. Una vez verificado que el control haya sido aceptable, se procede al análisis de las muestras, teniendo en cuenta que el equipo permite al usuario ajustar su configuración para adaptarlo a las necesidades de acuerdo a su población de estudio o a las condiciones de su laboratorio<sup>21,24,32</sup>.

Las partículas utilizadas no son suficientemente estables para permitir ser incorporadas como un material convencional de control de calidad del uroanálisis<sup>32</sup>.

### **Comparación de métodos**

Los estudios realizados para la comparación de los diferentes métodos para el análisis del sedimento urinario son escasos, Toffaleti y cols. reportan que puede haber un error del 5–10% en el procedimiento manual con respecto al automatizado para la lectura del sedimento urinario atribuyendo el error al analista.<sup>41</sup> Por otro lado, la mayoría de los estudios sobre la efectividad del citómetro de flujo para la lectura del sedimento urinario se han enfocado en su utilidad clínica más que en la comparación de métodos; sin embargo, Langlois y cols.<sup>35</sup> reportan que el uso del método automatizado para la lectura del sedimento y el uso de un lector de tiras reactivas de orina son clínicamente aceptables y disminuyen la carga de trabajo en el análisis microscópico del sedimento, pero no lo sustituye, observando coeficientes de correlación de  $r=0.84-0.98$  para glóbulos blancos;  $r=0.88-0.98$  para glóbulos rojos; células epiteliales,  $r=0.59-0.72$ ; cilindros  $r=0.51$  en la comparación de la cámara de conteo y el citómetro de flujo.

Por su parte Ottiger y Huber<sup>29</sup> mostraron la superioridad en precisión del método automatizado sobre el sistema comercial estandarizado para elementos formes tradicionales, dejando la lectura microscópica del sedimento sólo para muestras que el equipo no puede identificar adecuadamente, y Roggeman y Zaman<sup>42</sup> encontraron que la carga de trabajo se reduce hasta en un 40%.

## PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Las investigaciones sobre la utilidad clínica del método automatizado para la lectura del sedimento urinario se han realizado con muestras de pacientes con infección de vías urinarias principalmente, observando una buena correlación, arriba del 90%, para la identificación de leucocitos, eritrocitos y células epiteliales, confirmando con métodos alternativos y recomendándolo para disminuir el número de muestras que deberán leerse microscópicamente,<sup>30,31</sup> sin embargo, los resultados no han sido muy alentadores con respecto a otros elementos formes como cilindros patológicos y células renales. Por lo tanto, es necesario evaluar la utilidad clínica del sistema automatizado para otro tipo de enfermedades renales no necesariamente infecciosas, también para considerarlo como una alternativa para sustituir al método manual. Debido a lo anterior, se evaluarán los tres sistemas utilizando controles y también muestras de orina de pacientes con y sin padecimientos renales, tratando de abarcar la extensa gama de componentes de origen patológico, permitiendo establecer la equivalencia o no entre ellos.

Por lo que se plantean las siguientes preguntas de investigación:

¿Es el método automatizado con el citómetro de flujo UF-100i más preciso para la lectura del sedimento urinario que el método comercial estandarizado (Kova<sup>®</sup>) y el método manual?

¿El citómetro de flujo UF-100i detectará la gama de elementos formes de origen patológico de un sedimento urinario como: leucocitos, eritrocitos, células renales y cilindros hialinos, facilitando así el trabajo del químico clínico en el laboratorio?

## **OBJETIVOS**

### **Objetivo General**

Comparar los métodos, automatizado UF-100i y el estandarizado Kova, con el método manual para el análisis de sedimento urinario.

### **Objetivos Específicos**

1. Determinar la precisión de cada método para leucocitos y eritrocitos utilizando materiales de control.
2. Comparar el resultado del examen microscópico de cada método con el examen químico (tira reactiva, lectura visual).
3. Comparar el conteo de células (leucocitos, eritrocitos, renales), los diferentes tipos de cilindros, obtenidos con cada uno de los métodos.

## HIPOTESIS

- El análisis del sedimento urinario reviste una gran importancia clínica para la detección y seguimiento de trastornos renales. Se ha documentado que el análisis microscópico del sedimento urinario con el método manual tiene una imprecisión arriba del 40% en el conteo de leucocitos y eritrocitos con materiales de control, que disminuye si se usa el sistema Kova, pero si utilizamos el sistema UF-100i que tiene como principio la citometría de flujo, la imprecisión será menor a la reportada.
- Se ha reportado que el citómetro de flujo UF-100i tiene una correlación clínica superior al 90% para eritrocitos, leucocitos y células epiteliales, por lo que, esperamos encontrar una correlación semejante de éstos y otros elementos formes de origen patológico como cilindros, teniendo como métodos de comparación el método manual y el estandarizado Kova.

## **DISEÑO DE INVESTIGACIÓN**

Se llevó a cabo un estudio observacional, prolectivo, transversal y comparativo en el Laboratorio de Análisis Clínicos de la Clínica Multidisciplinaria Zaragoza.

## **POBLACIÓN DE ESTUDIO**

Se analizaron 254 muestras de orina de pacientes de las áreas de: Nefrología, Medicina Interna, Hospitalización, Ginecología, Consulta externa y Medicina General del Hospital Regional 1 de Octubre (ISSSTE), Hospital General Cd. Netzahualcoyotl Dr. Gustavo Baz Prada, Hospital General de Zona No. 47 IMSS, Unidad de Medicina Familiar No.40 Siglo XXI IMSS y muestras de pacientes que acuden al laboratorio clínico de la Clínica Multidisciplinaria Zaragoza, UNAM. Todos los pacientes firmaron previo consentimiento informado.

## **CRITERIOS DE INCLUSIÓN**

- Muestra de orina con volumen de 20 mL o mayor, indistintamente del diagnóstico.

## **CRITERIOS DE EXCLUSIÓN**

- Muestras de orina con un volumen menor a 20 mL.
- Muestras de orina que no se procesaron antes de 3 horas después de ser recolectadas.

## VARIABLES DE ESTUDIO:

### ***Independiente:***

Método para el uroanálisis que tiene tres categorías:

- Método Kova
- Método UF-100i (Citómetro de flujo)
- Método manual

### ***Dependiente:***

Componentes del sedimento urinario:

- Leucocitos
- Eritrocitos
- Células renales
- Cilindros patológicos
- Bacterias

## ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Los datos se describieron a través de frecuencias y proporciones. Se utilizó la prueba de McNemar como de comparación y las de concordancia de kappa y gamma, correlación de Pearson y Spearman como de asociación. Se consideró un valor de  $p < 0.05$  como significativo.

## **MATERIAL Y MÉTODOS**

### **MATERIAL**

Tubos de ensayo 13 x 100 mm Pyrex

Gradilla metálica

Pipeta Pasteur

Cubreobjetos 22 x 22 mm

Portaobjetos

Micropipeta de 25  $\mu$ L

Tubos graduados Kova para 12 mL

Pipeteadores Kova

Cámaras de conteo Kova con 10 espacios (6.6  $\mu$ L)

Tapas Kova

Envases de plástico de 100 mL

### **EQUIPOS E INSTRUMENTOS**

Citómetro de flujo UF-100i (Sysmex Corporation, Japón)

Microscopio óptico (Carls Zeiss, Alemania)

Centrífuga clínica SOL-BAT, México

Refractómetro de sólidos totales (Hand American Optical Corporation, modelo AO TS meter)

### **REACTIVOS**

Tiras reactivas Combur<sup>10</sup> Test. Cobas. Roche

Ac. sulfosalicílico al 5% (Prueba para confirmación de proteínas)

UF CHECK (Sustancia Control)

CELLSHEATH (Solución envolvente)

URINOPACK (Diluyente)

URINOSEATCH (Solución de Tinción)

CELLCLEAN (Detergente alcalino)

Kova -Trol I y Kova - Trol II (Materiales de control, Hycor Biomedical, EU)

Hipoclorito de sodio al 10%

## PROCEDIMIENTOS

El estudio se realizó en dos etapas:

1. Determinación de la precisión de cada uno de los métodos en función del sedimento urinario.
2. Análisis físico y químico de las muestras de orina, además del sedimento urinario por los diferentes métodos estandarizados y manual.

### I. Determinación de la precisión

#### Hidratación de materiales de control

1. Se despegó el liofilizado de las paredes del frasco, se removió el sello cuidadosamente para permitir la entrada de aire y poder quitar el tapón sin dispersión del material liofilizado.
2. Después de añadir 60 mL de agua destilada (pH= 6) al frasco, se tapó y dejó reposar por 45 min., sin agitar.
3. Una vez transcurrido el tiempo, se mezcló por inversión 6 veces, 2 por rotación, 4 más por inversión y 2 más por rotación. Se evitó la agitación fuerte.
4. Se prepararon alícuotas de 12 mL y se congelaron.
5. Las alícuotas fueron colocadas en refrigeración 24 horas antes de su uso, para evitar una descongelación brusca.
6. Se sacaron los materiales control del refrigerador antes de ser utilizados y se esperó a que alcanzara la temperatura ambiente.
7. Antes de ser examinados se homogenizaron por inversión
8. Se utilizó una alícuota por día de trabajo y por método para evitar deterioro de los componentes del material de control, y se desecho el sobrante, ya que a lo largo de la semana sufren deterioro.<sup>32</sup>

## **Análisis químico**

1. Se homogenizó perfectamente el material control o la muestra invirtiendo suavemente el frasco de 3 a 5 veces.
2. Se llenó a 3/4 partes un tubo de 13 x 100 mm con el material control o la muestra.
3. Una vez realizado lo anterior, se introdujo la tira reactiva en el tubo de ensayo, sumergiendo completamente el área reactiva (aproximadamente 1 segundo).
4. El exceso fue eliminado en posición horizontal sobre un papel absorbente, asegurándose de no colocar en el mismo sitio las tiras reactivas.
5. La lectura de la tira se realizó transcurrido el tiempo indicado, dos minutos para leucocitos y un minuto para el resto de los parámetros. Comparando las áreas reactivas con la correspondiente escala de color de la carta adherida al frasco. No tocar la carta de color con la tira (Lectura visual).

## **Análisis microscópico**

### ***Método manual convencional***

1. Se homogenizó perfectamente el material control (Kova-Trol I y II) o la muestra invirtiendo suavemente el frasco de 3 a 5 veces.
2. Se llenó a 3/4 partes un tubo de 13 x 100 mm con el material control o la muestra.
3. La centrifugación se realizó a 1500 rpm durante 5 minutos.
4. El sobrenadante fue decantado con cuidado, sin agitar, dejando aproximadamente 1 mL.
5. El sedimento fue resuspendido.
6. Se midieron 25 $\mu$ L con un micropipeta y fueron colocados sobre un portaobjetos.
7. Se cubrió con un cubreobjetos de 22 x 22 mm, evitando la formación de burbujas de aire o alguna pérdida.
8. La observación al microscopio fue realizada a 10x para búsqueda rápida de cilindros y el conteo realizado en 10 campos a 40x.

9. El material utilizado se desinfectó colocándolo en un recipiente con hipoclorito de sodio al 10% antes de lavarlo.
10. A todas las muestras se les agregó 1 mL de hipoclorito de sodio al 10 %, y después de 1 hora fueron desechadas en el excusado evitando salpicaduras.
11. El conteo de los elementos formes fue reportado y se verificó la concordancia de resultados de cada una de las etapas (examen físico, químico y microscópico).

### **Sistema Kova**

1. Se homogenizó perfectamente el material control (Kova-Trol I y II) o la muestra invirtiendo suavemente el frasco de 3 a 5 veces.
2. Se transfirió una alícuota de material control o muestra de orina a un tubo Kova, llenándolo hasta la graduación de 13 mL, de este volumen se utilizaron 800  $\mu$ L para el análisis con el sistema UF-100i y finalmente se ajustó el volumen a 12 mL. para ser utilizados en el sistema Kova.
3. Se colocó la tapa al tubo y centrifugó a 1500 rpm durante 5 minutos.
4. Las tapas fueron retiradas con precaución.
5. Un pipeteador fue insertado en el interior del tubo Kova, empujándolo hasta que se asentó firmemente en el fondo, para obtener 1 mL de sedimento.
6. El sobrenadante fue decantado y se resuspendió el sedimento con ayuda del pipeteador.
7. A continuación se llenó la cámara por capilaridad (aproximadamente 6.6  $\mu$ L).
8. La observación al microscopio fue realizada a 10x para búsqueda rápida de cilindros y el conteo realizado en diez cuadrantes de la cámara a 40x para células (leucocitos, eritrocitos y renales).
9. El conteo de los elementos formes fue reportado y se verificó la concordancia de resultados de cada una de las etapas (examen físico, químico y microscópico).

### **Sistema UF-100i**

1. *Inicio.* Después de ENCENDER el equipo, éste realizó una autocomprobación. Durante este proceso se verificaron los contadores internos. En caso de que

hubiese detectado la necesidad de realizar trabajos de mantenimiento, hubiese provoca una señal acústica y en la pantalla LCD se hubiera visualizado el mensaje correspondiente.

2. *Comprobación de fondo.* Después de realizada la autocomprobación, se lavaron automáticamente las conducciones hidráulicas y cámaras de medición y se realizó una comprobación de fondo para ver si persiste alguna contaminación.
3. *Aspiración de muestras.* Si el análisis se efectuó en modo de alimentador de muestras, estas se pudieron analizar automáticamente, hasta 100 muestras por hora. Después de que el tubo de muestras se transportó hasta la posición situada bajo la pipeta de aspiración, se mezcló la muestra, se aspiró y comenzó el análisis. Si las muestras se analizaran en modo manual, fue necesario mezclarlas primeramente y colocarlas bajo la pipeta de aspiración, que después de pulsar el botón RUN, la muestra se aspiró y el análisis fue realizado.
4. *Análisis,* se aspiró un volumen exacto de la muestra y se llevó a una cámara de reacción con un volumen definido de reactivos. Antes de que la muestra fuera diluyera, pasó por la celda de flujo y un sensor midió su conductividad. Se midieron las propiedades de luz dispersa y fluorescencia para contar y determinar las partículas presentes en la orina. El volumen de las partículas se determinó a partir de las señales de impedancia.
5. *Visualización,* una vez completado el análisis, los datos se guardaron en la unidad principal y pudieron mostrar en la pantalla LCD. Los resultados gráficos y numéricos de la última muestra analizada se mostró en dos páginas en la pantalla LCD de la unidad principal. El aparato puede permitir el almacenaje los datos de hasta 1000 muestras. Los resultados pueden verse, imprimirse y revisarse posteriormente.

*Nota:* El UF-100i puede almacenar los resultados del análisis químico realizado con un lector de tiras de orina conectado al equipo. Después de realizar el análisis, comprueba los números de identificación con las muestras.

## II. Análisis de las muestras de orina

### Análisis físico

Se homogenizó la muestra perfectamente invirtiendo suavemente el frasco de 3 a 5 veces.

1. El volumen total de muestra se midió utilizando una probeta.
2. El color se observó (utilizando una superficie blanca de fondo) y el aspecto a contraluz homogenizando la muestra (o bien un fondo oscuro).
3. La densidad se midió con un refractómetro.
4. Los resultados obtenidos fueron registrados.

### Análisis químico

1. Se homogenizó perfectamente el material control o la muestra invirtiendo suavemente el frasco de 3 a 5 veces.
2. Se llenó a  $3/4$  partes un tubo de 13 x 100 mm con el material control o la muestra.
3. Una vez realizado lo anterior, se introdujo la tira reactiva en el tubo de ensayo, sumergiendo completamente el área reactiva (aproximadamente 1 segundo).
4. El exceso fue eliminado en posición horizontal sobre un papel absorbente, asegurándose de no colocar en el mismo sitio las tiras reactivas.
5. La lectura de la tira (lectura visual) se realizó transcurrido el tiempo indicado, dos minutos para leucocitos y un minuto para el resto de los parámetros. Comparando las áreas reactivas con la correspondiente escala de color de la carta adherida al frasco teniendo cuidado de no tocar la carta con la tira.

**Análisis del sedimento urinario (Método manual convencional y Sistema Kova)**

Seguir las indicaciones mencionadas en la determinación de la precisión para cada método.

**Análisis de la orina sin centrifugar “Citometría urinaria” (Sistema UF-100i)**

Seguir las indicaciones mencionadas en la determinación de la precisión.

## RESULTADOS

### I. Determinación de la precisión

Para realizar el estudio comparativo de los métodos automatizado UF-100i y estandarizado Kova con el método manual para el análisis de sedimento urinario, se determinó la precisión intra-ensayo utilizando materiales controles (Kova -Trol I y Kova -Trol II *Hycor Biomedical, EU*) para análisis químico y microscópico del sedimento urinario. Dicha determinación se realizó utilizando cada nivel de material control por cada uno de los métodos y con los elementos celulares que contiene (leucocitos y eritrocitos), así como también el examen químico con la tira reactiva, en donde la lectura de cada uno de los materiales control correspondió a los intervalos establecidos por la casa comercial y de acuerdo a la marca de tira reactiva empleada.

Los resultados demostraron que el método manual tiene un coeficiente de variación (C.V.) del 27% para el conteo de leucocitos y eritrocitos, esto sólo en uno de los niveles de material (Kova-trol I), para el otro nivel (Kova-trol II) los resultados fueron del 26 al 50%; en el sistema estandarizado Kova oscilaron entre un 13 y 16%. Con el UF-100i se obtuvo un menor C.V.(Cuadro 2).

**Cuadro 2.** Coeficientes de variación para cada método de acuerdo al nivel del material de control.

Método	Eritrocitos	Leucocitos
Kova-trol I		
Manual	27 %	27 %
Kova	13 %	15 %
UF-100i	6 %	14 %
Kova-trol II		
Manual	50 %	26 %
Kova	25 %	16 %
UF-100i	12 %	10 %

Los coeficientes de correlación en el conteo de eritrocitos fueron: entre el método manual y UF-100i  $r=0.899$ , Kova y UF-100i  $r=0.950$ ; para leucocitos de  $r=0.742$  entre Kova y UF-100i, manual y UF-100i  $r=0.536$ , todos con una significancia estadística ( $p < 0.0001$ ). Con esta determinación de precisión se observó que el equipo automatizado UF-100i tiende a contar entre 8 y 10 eritrocitos más que el método estandarizado Kova.

## II. Análisis de las muestras de Orina

Una vez determinada la precisión de cada uno de los métodos, se prosiguió al análisis de las muestras de orina. Se analizaron 254 muestras de orina de pacientes de diferentes áreas hospitalarias, como resultado se obtuvo que 165 de ellas no arrojaron alguna alteración en los parámetros que indicaran alguna patología o significancia clínica, las 89 restantes resultaron con algún tipo de alteración en el uroanálisis.

Se determinaron frecuencias (Cuadro 3) de orinas con eritrocitos y leucocitos, de acuerdo a los intervalos establecidos por Ben-Ezra y cols.<sup>23</sup>, en donde se puede apreciar que el sistema UF-100i tiene la capacidad de discriminar las muestras patológicas de las no patológicas y cuantificar un número menor de muestras en los tres intervalos considerados como de conteo alto. Por lo anterior y al comparar el sistema UF-100i con el estandarizado Kova, el UF-100i identifica como muestras con conteos altos, 14% menos de las muestras patológicas en leucocitos y 8% para eritrocitos.

En la determinación de concordancia entre métodos, se aprecia que los resultados obtenidos con el UF-100i y sistema estandarizado Kova concuerda en un 92 y 95%, en que las muestras eran negativas, 71% que eran positivas para eritrocitos y un 90% que lo eran para leucocitos (Cuadro 4).

**Cuadro 3.** Frecuencia de muestras de orina con diferente cantidad de componentes celulares sanguíneos según el método empleado. Valores de corte propuesto por Ben-Ezra y cols.

	Leucocitos		Eritrocitos	
	No patológica (n = 165)	Patológica (n = 89)	No patológica (n = 165)	Patológica (n = 89)
<b>Tira reactiva</b>				
Negativo	<b>144 (87%)*</b>	<b>43 (48%)*</b>	<b>153 (93%)<sup>†</sup></b>	<b>51 (57%)<sup>‡</sup></b>
10 – 25 células/μL	<b>15 (9%)*</b>	16 (18%)	<b>10 (6%)<sup>‡</sup></b>	<b>20 (23%)<sup>‡</sup></b>
50 células/μL	<b>6 (4%)<sup>‡</sup></b>	<b>24 (27%)*</b>	2 (1%)	<b>18 (20%)<sup>†</sup></b>
250 células/μL	0	6 (7%)	0	0
<b>Manual</b>				
0 – 5 células/c	<b>159 (96%)<sup>‡</sup></b>	<b>52 (58%)<sup>†</sup></b>	161 (98%)	66 (74%)
6 – 20 células/c	<b>6 (4%)<sup>‡</sup></b>	27 (30%)	4 (2%)	13 (15%)
21 – 50 células/c	0	6 (7%)	0	2 (2%)
> 50 células/c	0	4 (5%)	0	8 (9%)
<b>Kova</b>				
0 – 5 células/c	161 (98%)	<b>58 (65%)<sup>‡</sup></b>	163 (99%)	66 (74%)
6 – 20 células/c	4 (2%)	25 (28%)	2 (1%)	15 (17%)
21 – 50 células/c	0	4 (5%)	0	2 (2%)
> 50 células/c	0	2 (2%)	0	6 (7%)
<b>UF-100i</b>				
0 – 26 células/μL	165 (100%)	70 (79%)	163 (99%)	73 (82%)
27 – 105 células/μL	0	16 (18%)	2 (1%)	11 (12%)
106 – 52 células/μL	0	1 (1%)	0	3 (4%)
> 525 células/μL	0	2 (2%)	0	2 (2%)

Prueba McNemar, \*p< 0.0001, <sup>†</sup>p<0.01, <sup>‡</sup>p<0.05, comparando vs. UF-100

**Cuadro 4.** Concordancia de resultados positivos y negativos entre el UF-100i y otros métodos de comparación para eritrocitos y leucocitos con muestras de pacientes.

Método	UF-100i	
	Concordancia negativa	Concordancia positiva
<b>Eritrocitos</b>		
Tira reactiva	200 (84%)	13 (77%)
Manual	222 (94%)	12 (71%)
Kova	224 (95%)	12 (71%)
<b>Leucocitos</b>		
Tira reactiva	213 (91%)	14 (74%)
Manual	208 (89%)	16 (84%)
Kova	217 (92%)	17 (90%)

Para conocer la confiabilidad del sistema UF-100i se determinó la concordancia agrupando los resultados en categorías ordinales, utilizando el estadístico gamma con los otros métodos y para ambos elementos celulares. Se encontraron coeficientes con valores de 0.900 y 0.975, lo que nos indica que existe una buena concordancia no debida al azar entre los métodos, así como también con la lectura visual realizada con la tira reactiva. Es importante resaltar que las mejores concordancias se obtuvieron con el sistema Kova (Cuadro 5).

En el cuadro 6 se representan las correlaciones entre los métodos, de las cuales, las mejores se alcanzaron entre el estandarizado Kova y Sistema U-100i ( $r = 0.914$ ,  $p < 0.0001$ ) esto para el conteo de leucocitos, y en eritrocitos ( $r = 0.758$ ,  $p < 0.0001$ ). Cabe mencionar que en el conteo de eritrocitos la mejor correlación se dió entre el método Manual y el Sistema Kova.

**Cuadro 5.** Concordancia ordinal entre el UF-100i y otros métodos para leucocitos y eritrocitos con muestras de pacientes.

Método	UF-100i	
	Leucocitos	Eritrocitos
Tira reactiva	0.943*	0.900*
Manual	0.932*	0.945*
Kova	0.975*	0.952*

\*Prueba gamma,  $p < 0.0001$

**Cuadro 6.** Correlación entre los métodos para cuenta de eritrocitos y leucocitos en el sedimento urinario de orinas de pacientes.

Método	Leucocitos				Eritrocitos			
	UF-100i	Kova	Manual	Tira reactiva	UF-100i	Kova	Manual	Tira reactiva
UF-100i	1.000	0.914*	0.725*	0.641 <sup>†</sup>	1.000	0.758*	0.672*	0.546 <sup>†</sup>
Kova		1.000	0.820*	0.629 <sup>†</sup>		1.000	0.928*	0.703 <sup>†</sup>
Manual			1.000	0.643 <sup>†</sup>			1.000	0.735 <sup>†</sup>

\*Correlación de Pearson,  $p < 0.0001$ ; <sup>†</sup>correlación de Spearman,  $p < 0.0001$

En la evaluación de otros elementos formes contenidos en algunas muestras de orina, se mostró que para células epiteliales se tenía una sensibilidad del 82% con una especificidad del 90%. Se determinó además que únicamente el 8.1% de las muestras con la presencia de cilindros requieren de revisión microscópica, esto al ser emitida una señal de alarma indicando que los cilindros cuantificados son de los denominados “patológicos”, los cuales deberán ser clasificados según corresponda (cilindro granular fino, grueso, eritrocitario, leucocitario, céreo, etc.) ya que el equipo identifica claramente sólo a los de tipo hialino.

Con respecto a las células redondas (células renales) se requiere que únicamente un 10.5% sean revisadas al microscopio, esto principalmente cuando además exista la presencia de levaduras (Cuadro 7).

**Cuadro 7.** Confiabilidad del UF-100i para el análisis de células epiteliales y cilindros en el sedimento urinario.

	Células Epiteliales	Cilindros
	Cel/ $\mu$ L	$\mu$ L
Prueba de gamma ( $\gamma$ )	0.870*	0.946
Sensibilidad (%)	75	95
Especificidad (%)	90	82

\*  $p < 0.0001$

## DISCUSIÓN DE RESULTADOS

### I. Determinación de la precisión

Al determinar la precisión de los tres métodos para el conteo de leucocitos y eritrocitos utilizando materiales control (*Kova-Trol Hycor Biomedical, EU*), se observó que el método manual mostró una mayor imprecisión en comparación con los otros métodos; esto debido a que durante el proceso analítico del examen hay varios factores involucrados que lo afectan directa o indirectamente, sobretodo en la parte que comprende al análisis microscópico. Factores tales como el no medir el volumen de orina a centrifugar, el volumen de sedimento obtenido y la observación, el tipo de instrumentos empleados para la realización del conteo y finalmente la forma en que se interpretan los resultados, variando éstos de un analista a otro, tomando en cuenta además que durante la centrifugación se produce una fuerza que causa substancialmente la pérdida de células en la muestra, afectando así la precisión del método.<sup>19</sup>

Por su parte el sistema Kova, al ser un sistema estandarizado que reúne los requisitos establecidos por la CLSI de utilizar tubos de ensayo graduados para 12 mL, pipetas de transferencia para obtener 1 mL de sedimento y una cámara de conteo con escala para un volumen definido de la muestra, permite mantener el control de todo el proceso, disminuyendo la imprecisión del sistema en comparación al método manual convencional en cuyo caso los volúmenes no son constantes por lo que se produce una variación en las pérdidas por centrifugación variables, además de que el conteo se realiza por campo visual.<sup>3</sup>

A diferencia de los métodos anteriores, el sistema automatizado UF-100i no utiliza el proceso de centrifugación, es por esto que se logró obtener una mejor precisión con los dos niveles de materiales control utilizados y para ambos tipos celulares (leucocitos y eritrocitos), mostrando una imprecisión del 6 al 14%. Al respecto Ottiger y Huber<sup>29</sup>, demostraron que al utilizar el mismo equipo y compararlo también con la cámara de conteo, la imprecisión fue de 4.1% para eritrocitos y 2.8% para leucocitos empleando una mezcla de partículas látex (material de control del equipo). Por su parte Fenili y Pirovano<sup>27</sup> observaron una imprecisión del 2.4 al 17.7% con muestras de orina, lo que

demuestra que en este trabajo la imprecisión es más baja, aún utilizando materiales de control elaborados para fines de control de calidad de métodos no automatizados.

Analizando por el número de células que son contadas, se ha establecido en diferentes estudios que hay una imprecisión mayor en las cuentas bajas, siendo hasta del 33% para eritrocitos y 24% para leucocitos, lo cual mejora si el conteo celular es mayor de 200 células/ L,<sup>23,34</sup> lo cual concuerda con lo encontrado en este trabajo. Es importante destacar que en el conteo de eritrocitos se obtuvo un valor más alto (8 a 10 eritrocitos), por la cantidad de muestra en la que se realiza el conteo y también porque se omite la centrifugación, mientras que por microscopía pueden pasar inadvertidos por la gran cantidad de leucocitos.

El sistema UF-100i muestra estas imprecisiones debido principalmente a la composición de los materiales control utilizado (color y tipo de partículas añadidas para simular a las células), los cuales interfirieron con el principio de fluorescencia del equipo (FI) para detectar y clasificar a los eritrocitos y leucocitos presentes, ya que estas partículas emitieron fluorescencia. El sistema UF-100i para la identificación de leucocitos, requiere teñir la membrana nuclear y celular, lo cual no es posible con los materiales utilizados, por lo que se tiene una fiabilidad baja teniendo que aplicar el criterio de revisión microscópica de muestras, por no cumplir con las características de tinción como en el caso de una célula sanguínea.<sup>24</sup>

Las comparaciones fueron realizadas contra el método estandarizado Kova, debido a que en el método manual hay muchos inconvenientes en el proceso que deben ser controlados<sup>35</sup>. En este estudio se tuvo cuidado en evitar estas posibles fuentes de error, sin embargo, aún persiste la imprecisión atribuible al factor humano ya que la interpretación del sedimento requiere tiempo, pericia, entrenamiento y experiencia adquirida a través del uso constante de los métodos.

## II. Análisis de las muestras de Orina

### ***Análisis de Concordancia***

En la realización del análisis de concordancia, y debido a que el sistema UF-100*i* realiza las lecturas de sus exámenes en número de células por campo o por micro litro, se prosiguió a aplicar el siguiente criterio basado en reportes previos que señalan que: si existe un conteo celular de 0 – 5 células/campo, esto es el equivalente a 0 – 26 células/ $\mu$ L en el equipo automatizado, considerándose como mejor valor de corte  $> 25$  células/ $\mu$ L<sup>23,31</sup>.

De acuerdo a lo anterior y a los resultados obtenidos por el UF-100*i*, se observó que identifica una mayor proporción de orinas con cuentas celulares  $\leq 26$  células/ $\mu$ L, tanto en orinas patológicas como no patológicas, encontrándose con ello una no concordancia con la tira reactiva. En este sentido, se ha reportado un desacuerdo entre el equipo automatizado y la tira reactiva de 6.5% para eritrocitos y 4.8% para leucocitos, cada uno con un 3% de falsos negativos, aproximadamente<sup>21,36</sup>.

Al realizar el comparativo con el método estandarizado se encontró que existe un 2% de falsos negativos en orinas no patológicas y 14% para leucocitos y 8% para eritrocitos en orinas patológicas, a pesar de esto, se observa una concordancia negativa del 92% y 95% respectivamente, algo similar a lo reportado por Koken y cols.<sup>31</sup> que mencionaron una especificidad del UF-100*i* con 92% para leucocitos en muestras de orina emitidas por pacientes con una infección en vías urinarias.

Respecto a las muestras positivas, se encontró una mayor discrepancia en la proporción de los diferentes intervalos de cuentas celulares (leucocitos), aunque sin observarse una diferencia estadísticamente significativa, teniendo un menor número de muestras con cuentas altas. Esto es lógico puesto que cuando se hacen las revisiones del sedimento por microscopia, aún con el sistema estandarizado, un conteo mayor a 30 células se dificulta sobre todo si también hay un conteo aumentado de eritrocitos u otros elementos formes, por lo que la precisión con las tiras reactivas es superior, aunque no hay que olvidar que éste es sólo un método semicuantitativo y debe utilizarse únicamente de tamizaje, por ser este un método que lleva a cabo reacciones químicas de acuerdo a los componentes celulares no importando que hayan sufrido ruptura parcial o total; lo mismo

se observó en el caso de los eritrocitos, pero sólo en las muestras con una cuenta > 525 células/ $\mu$ L (equivalente a > 50 células/c). En este sentido, se reporta una sensibilidad del 73% para leucocitos<sup>31</sup>, por lo que el valor encontrado en este estudio es superior (90%). En eritrocitos no se encontró un resultado con el cual hacer un comparativo, pero esto no impide explicar las discordancias, puesto que si se tienen muestras con eritrocitos pequeños y distorsionados (dismórficos) provenientes de vías urinarias superiores, su membrana no es ideal para teñir pues no retiene los colorantes, causando entonces una emisión de luz débil que los distribuye en la zona baja de intensidad de fluorescencia que se localiza muy próxima a las levaduras siendo entonces clasificadas incorrectamente por el sistema UF-100i como levaduras, por interferencia con hematuria visible. Para una muestra con las características antes mencionadas, la casa comercial recomienda no procesarla mediante este método, ya que necesariamente requieren revisión microscópica. Recientemente se ha reportado que el UF-100i tiene una limitada capacidad para discriminar hematurias de origen glomerular y no glomerular en muestras de pacientes con enfermedad renal, por lo que se indica que tiene una sensibilidad clínica en la detección de sangrado de origen glomerular<sup>32,37</sup>.

En el conteo por microscopia existe variación debido a que depende de la distribución de las células en la superficie de conteo, si los eritrocitos sufrieron pérdida considerable de hemoglobina o si se tiene una densidad urinaria menor a 1.011, siendo éstos y otros factores causantes de que los eritrocitos puedan pasar inadvertidos aún con un examen químico positivo<sup>27</sup>. También hay que recordar que la lectura del sedimento urinario depende del analista (entrenamiento, capacitación y habilidad en el manejo del método). El examen químico es un auxiliar para disminuir o prácticamente eliminar los resultados falsos positivos o negativos, pero el tiempo transcurrido en que la orina se almacene en la vejiga, el transcurrido después de emitida la muestra, así como su pH son causas de afectación para el conteo de leucocitos y eritrocitos<sup>38</sup>, cambiando su distribución a la zona de baja intensidad de luz dispersa frontal y alta fluorescencia, generando por lo tanto variación en el conteo<sup>39</sup>.

En el comparativo de los métodos en escala ordinal, se aprecia una buena concordancia entre el KOVA y el UF-100i, para el conteo de leucocitos ( $\gamma = 0.975$ ) y eritrocitos

( $\gamma = 0.952$ ), siendo ésta no debida al azar, más allá del método y analista, punto esencial para evaluar la confiabilidad del método, además de su precisión.

Al respecto, Ben-Ezra y cols.<sup>23</sup> encontraron resultados semejantes utilizando la misma prueba, por lo que sugieren que el uso del UF-100 es confiable para el conteo de este tipo de células en el sedimento urinario.

De otros elementos formes analizados en muestras urinarias, Kouri et al.<sup>22</sup> reportaron una sensibilidad del 73% y una especificidad del 62% desde el punto de vista clínico, utilizando también cámara de conteo pero combinando células epiteliales de transición y células tubular renal, semejante a lo encontrado en este trabajo con una sensibilidad del 75% y especificidad del 90% y excelentes resultados de concordancia ( $\gamma = 0.870$ ), aunque se tomaron únicamente células epiteliales.

### **Análisis de Correlación**

El análisis de la correlación entre los métodos es superior entre el método estandarizado y el automatizado para leucocitos ( $r = 0.914$ ), pero no así en eritrocitos ( $r = 0.758$ ). Diversos estudios han reportado excelentes correlaciones en la cuenta de leucocitos con diferentes métodos, todos superiores a  $r = 0.900$ , tanto para el método manual como el Kova, con esto la correlación obtenida resulta estar dentro de ellas. Para el conteo de eritrocitos, estudios previos al realizado demostraron correlaciones superiores a la encontrada, pero discordantes entre sí<sup>27,29,34,40</sup>; aunque como ya se había mencionado, evaluaciones clínicas dirigidas a la diferenciación de la hematuria reportan resultados no muy alentadores<sup>37</sup>.

Puntos importantes en el proceso del uroanálisis a través de estas metodologías definen que tanto en el método manual como en el sistema Kova se realiza el proceso de centrifugación, aquí inevitablemente se genera una pérdida de los elementos celulares a contar, esto aunado a la experiencia del analista en el manejo de los métodos. Por lo tanto, la buena correlación encontrada entre el método Kova y el manual es probablemente debida al error provocado por la centrifugación, y por ello, en la lectura del sedimento urinario resultaron ser una constante<sup>19, 23,27</sup>.

Con relación al examen químico, los reportes de correlación entre el resultado obtenido de la tira reactiva y el equipo automatizado indican valores ligeramente superiores a los

observados en este estudio ( $r = 0.785$  y  $0.636$  para leucocitos y eritrocitos, respectivamente)<sup>36</sup>. Un factor causante de error es la lectura visual debido a la capacidad del analista, el tiempo de reacción y el cansancio<sup>41</sup>.

Con respecto a otros elementos formes contenidos en el sedimento urinario, como células epiteliales, se encontraron sensibilidades del 75% y especificidad del 90%, esto debido principalmente a la vitalidad de las células, sobre todo para poder cumplir el principio de fluorescencia (FI) de reflejar la cantidad de tinción que absorbe la célula y la luz dispersa frontal que refleja el tamaño de la partícula, ya que la tinción aplicada es de tipo supravital<sup>13,24,29,32</sup>. Además de no olvidar la variedad celular de epitelio existente ya que ningún método aplica la correcta identificación de acuerdo al plano del cual son descamadas, es decir si son células epiteliales superficiales, intermedias o parabasales, según corresponda<sup>2,6,13</sup>, lo que también podría causar alguna variación por los métodos (manual y Kova, principalmente) y por la interpretación de cada analista. En el UF-100i se aplica un análisis poblacional del dispersograma<sup>24,32</sup>, ayudando así a una mejor y constante identificación, de aquí que se tenga una mejor sensibilidad.

Aunque para cilindros se observan resultados aceptables, para los cilindros “patológicos” es siempre necesaria una revisión microscópica, esto por la variedad que existe, con la finalidad de una correcta clasificación<sup>13</sup>; pero al definir su existencia en el equipo, la búsqueda por microscopia resulta más eficaz, ahorrando con ello tiempo y por lo tanto el poder analizar un mayor número de muestras. En cuestión a células redondas (células renales), es necesaria su confirmación al microscopio, por las características morfológicas similares a algún otro elemento que pudiera estar presente en la muestra de orina como alguna otra célula (eritrocitos) y/o con levaduras, debido al principio de citometría, la forma y tamaño de las células puede provocar equivocaciones de identificación en el equipo UF-100i<sup>32,35</sup>, por lo que el resultado de sensibilidad es menor que para otros elementos formes.

## CONCLUSIONES

- El sistema automatizado UF-100*i* es más preciso para el conteo leucocitos que el estandarizado Kova y el método manual, pero tiende a contar de 8 a 10 eritrocitos más que el Kova.
- El sistema automatizado UF-100*i* mostró una mejor correlación para leucocitos con el método Kova, que con el método manual y la tira reactiva.
- Para el conteo de eritrocitos, el sistema UF-100*i* mostró una baja correlación comparado con los otros métodos.
- El UF-100*i* tiene una sensibilidad de 75% y una especificidad del 90% para células epiteliales.
- Para cilindros tiene una sensibilidad del 95% y una especificidad del 82%.
- El sistema UF-100*i* es confiable y preciso para la medición de elementos formes en las muestras de orina, excepto para eritrocitos.

## RECOMENDACIONES Y SUGERENCIAS

- Continuar con la evaluación del sistema UF-100*i* para establecer o descartar las interferencias, así como para establecer los límites de alerta correspondientes a la población de estudio.
- Evaluar el funcionamiento del sistema UF-100*i* utilizando como muestra líquido de diálisis.
- Aplicar el funcionamiento del equipo para el análisis de otros líquidos corporales.

## REFERENCIAS

1. Henry JB. Todd-Sanford-Davidsohn. Diagnóstico y tratamiento clínicos por el laboratorio. Tomo I. 9ª ed. México: Salvat; 1993. p. 127-8.
2. Michael H. Ross. Gordon I.Kaye, Wojchiech Paulina. Histología, texto y atlas color con biología celular y molecular. 4ª. ed. Buenos Aires: Médica Panamericana; 2004. p. 605-27.
3. King Strasinger S. Líquidos corporales y análisis de orina. México: El Manual Moderno; 1991. p. 118-9.
4. Kaplan LA, Pesce A. Química clínica- técnicas de laboratorio- fisiopatología- Métodos de análisis. Buenos Aires: Médica Panamericana; 1986. p. 469-76.
5. Netter F. Medicina Interna. Barcelona: Masson; 2003. p. 358-63.
6. Tortora GJ, Anagnostako NP. Principios de Anatomía y Fisiología. 6ª. ed. México: Harla; 1993. p. 1038-77.
7. Farreras V. Medicina interna. Madrid: Elsevier; 2000. p. 993-1001.
8. Matthew JL. Stanley SR. Leslie DM. Peter DS. Métodos de laboratorio. 2ª.ed. México: Interamericana;
9. Bauer JD. Análisis clínicos. Métodos e interpretación. México: Reverte; 1986. p. 743-806.
10. Ángel MG, Ángel RM. Interpretación clínica del laboratorio. 7ª. ed. Bogotá: Médica Panamericana; 2006. p. 267-70.
11. Tsai JJ, Yeun JK, Kumar VA, Don BR. Comparison and interpretation of urinalysis performed by a nephrologist versus a hospital-based clinical laboratory. Am J Kidney Dis. 2005; 46:820-9.
12. Chandrosoma P. Patología general. 3ª ed. México: El Manual Moderno; 1999. p. 727-77.
13. Althof S, Kindler J. El sedimento urinario. Atlas técnicas de estudio valoración. 6ª ed. Madrid: Médica Panamericana; 2003. p. 6-7.
14. Walsh PC, Retik AB, Stamey TA, Vaughan D. Campbell Urología. 6ª ed. Buenos Aires: Médica Panamericana; 1994. p. 303-22.
15. Graff L. Análisis de Orina, Atlas Color. Buenos Aires: Médica Panamericana; 1987. p. 19-31.
16. Diario Oficial de la Federación. Norma Oficial Mexicana-166-SSA1-1997. Para la organización y funcionamiento de los laboratorios clínicos. Jueves 13 de enero del 2000.
17. Ravinovitch A, Sarewitz SJ, Woodcock SM, Allinger DB, Azar M, Dynek PA, et al. Urinalysis and collection, transportation, and preservation of urine specimens; approved guideline-second edition. NCCLS Document 2000; 21(19).

18. Hycor. KOVA<sup>®</sup> Urinalysis: The standard for standardization. Disponible en: [www.hycorbiomedical.com/uroanalysis.html](http://www.hycorbiomedical.com/uroanalysis.html). Consultado en: agosto 2008.
19. Hiroshi Okada, Yutaka Sakai, Gaku Kawabata., et al. Automated urinalysis, evaluation of the UF-50. *Am J Clin Pathol.* 2001; 115: 605-10
20. Jiménez LC, Hernández GA, Cabrera AA, Sánchez RM. Inconvenientes del método manual para la lectura de sedimento urinario. *Bioquímica.* 2006; 30 (Suppl. A): 110.
21. Lun A, Ziebig R, Priem F, Filler G, Sinha P. Routine workflow for use of urine strips and urine flow cytometer UF-100 in the hospital laboratory. *Clin Chem.* 1999; 45: 1305-7.
22. Kouri TT, Kahkonen U, Malminiemi K, Vuento R, Rowan M. Evaluation of sysmex UF-100 urine flow cytometer vs. chamber counting supravivally stained specimens and conventional bacterial cultures. *Am J Clin Pathol.* 1999; 112: 25-35.
23. Ben-Ezra J, Bork L, McPherson RA. Evaluation of the Sysmex UF-100 automated urinalysis analyzer. *Clin Chem.* 1998; 44: 92-5.
24. Delanghe JR, Kouri TT, Huber RA, Hannemann-Pohl K, Guder GW, Lun A, et al. The role of automated urine particle flow cytometry in clinical practice. *Clin Chim Acta.* 2000; 301(1-2): 1-18.
25. Wahs DT, Wises PK, Butch AW. Analytic performance of the iQ200 automated urine microscopy analyzer and comparison with manual counts using Fushs-Rosenthal cell chambers. *Am J Clin Pathol.* 2005; 123: 290-6.
26. Lamchiaghase P, Preechaborisutkul K, Lomsomboon P, Srisuchart P, Tantiniti P, Khanura N, et al. Urine sediment examination: a comparison between the manual method and the iQ200 automated urine microscopy analyzer. *Clin Chim Acta.* 2005; 358: 167-74.
27. Fenili D, Pirovano B. The automation of sediment urinalysis using a new urine flow cytometer (UF-100<sup>TM</sup>). *Clin Chem Lab Med.* 1998; 36: 909-17.
28. Apeland T, Mestad O, Hetland. Assessment of hematuria: automated urine flowmetry vs. microscopy. *Sysmex Journal International.* 2005; 15 (Suppl. 1): 101-5.
29. Ottiger C, Huber AR. Quantitative urine particle analysis: integrative approach for the optimal combination of automation with UF-100 and microscopic review with KOVA cell chamber. *Clin Chem.* 2003; 49: 617-23.
30. Manoni F, Valverde S, Antico F, Salvadego A, Giacomini, Gessoni G. Field Evaluation of a second-generation cytometer UF-100 in diagnosis of acute urinary tract infections in adult patients. *Clin Microbiol Infect.* 2002; 8: 662-8.
31. Koken T, Aktepe OC, Serteser M, Samli M, Kahraman A, Dogan N. Determination of cut-off values for leucocytes and bacteria for urine flow cytometer (UF-100) in urinary tract infections. *Int Urol Nephrol.* 2002; 34: 175-8.

32. Sysmex Corporation. UF-100i. Analizador totalmente automático citometría de orina, serie UF100, instrucciones de uso. Japón: Sysmex; 2005. p. 1-1, 2-1.
33. Rosales-Aguilar M, Castillo-Fregoso MC. Análisis del comportamiento semanal de controles de orina kova-trol y Biorad en el laboratorio de rutina. *Bioquímica*. 2004; 29: 74-80.
34. Sutheesophon K, Wiwanitkit V, Boonchalermvichian C, Charuruks N., Evaluation of Sysmex UF-100 automated urinalysis analyzer and comparative study with JCCLS reference method. *J Med Assoc Thai*. 2002; 85 (Suppl 1): S246-52.
35. Langlois MR, Delanghe JR, Steyaert SR, Everaert KC, De Buyzere ML. Automated flow cytometry compared with an automated dipstick reader for urinalysis. *Clin Chem*. 1999; 45: 118-22.
36. Scharnhorst V, Gerlag PG, Nanlohy Manuhutu ML, van der Graaf F. Urine flow cytometry and detection of glomerular hematuria. *Clin Chem Lab Med*. 2006; 44: 1330-4.
37. Simerville JA, Maxted WC, Pahira JJ. Urinalysis: a comprehensive review. *Am Fam Physician*. 2005; 71: 1153-62.
38. Ozdem S, Bayraktar T, Oktay C, Sari R, Gültekin M. The prevalence of asymptomatic pyuria in diabetic patients: comparison of the Sysmex UF-100 automated urinalysis analyzer with Fuchs-Rosenthal hemacytometer. *Clin Biochem*. 2006; 39: 873-8.
39. Regeniter A, Haenni V, Risch L, Kochli HP, Colombo JP, Frei R, Huber AR. Urine analysis performed by flow cytometry: reference range determination and comparison to morphological findings, dipstick chemistry and bacterial culture results-a multicenter study. *Clin Nephrol*. 2001; 55: 384-92.
40. Dimech W, Roney K. Evaluation of an automated urinalysis system for testing urine chemistry, microscopy and culture. *Pathology*. 2002; 34:170-7.
41. Toffaleti J, et al. Comparison of 2 automated system for urine chemistry and urine sediment analysis. *Lab Hematol*, 1999; 5: 1-3.
42. Roggeman S, Zaman Z. Safely reducing manual urine microscopy analyses by combining urine flow cytometer and strip results. *Am J Clin Pathol* 2001; 116: 872-878.
43. [www.hls.utas.edu.au/.../urine\\_microscopy.htm](http://www.hls.utas.edu.au/.../urine_microscopy.htm), consultada en Noviembre del 2008.
44. Van Acker JT, Delanghe JR, et al. Automated flow cytometric analysis of cerebrospinal fluid. *Clin Chem Hematology*. 2001; 47(3): 556-60.

## ANEXO1



**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES  
\* Z A R A G O Z A \*  
LABORATORIO DE ANÁLISIS CLÍNICOS  
ZARAGOZA**

**CARTA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA  
PARTICIPAR EN LA INVESTIGACIÓN**

**Comparación de los métodos estandarizados (Kova y automatizado UF-100i) con el método manual para el análisis de sedimento urinario**

### **Antecedentes y Objetivo**

El examen general de orina o uroanálisis es un estudio que permite detectar o dar seguimiento a trastornos renales o de vías urinarias, comprende el examen físico, químico y microscópico. El examen microscópico debe proveer una correcta identificación y cuantificación de los elementos formes (leucocitos, eritrocitos, cilindros y células renales) de interés clínico. Sin embargo, es aquí donde se da la problemática en el método manual convencional, principalmente por el proceso de obtención del sedimento: centrifugación; volumen no medido de orina a centrifugar, sedimento obtenido y observado, superficie de conteo. Todos estos factores contribuyen a realizar una interpretación subjetiva y como consecuencia una disminución en la precisión. El procedimiento debe realizarse durante las primeras dos horas, principalmente por la lisis de leucocitos y eritrocitos.

Al surgir la necesidad de optimización de recursos humanos o económicos, se presenta la alternativa de utilizar un procedimiento automatizado, que elimina la serie de pasos para la obtención de sedimento y que son fuentes de error. Para saber la utilidad del sistema automatizado es necesario evaluarlo utilizando controles y también muestras de orina de pacientes con padecimientos renales, tratando de abarcar la extensa gama de componentes de origen patológico.

Por tal motivo, en el presente estudio se compararán tres métodos de laboratorio para análisis de sedimento urinario y así establecer cuál es la técnica más confiable para llevar a cabo este análisis.

## **Procedimiento**

Se seleccionarán pacientes con nefropatía del Hospital General 1º de Octubre del ISSSTE. A todos los participantes voluntarios se les solicitará una muestra de chorro medio de la primera orina de la mañana y se les aplicará un cuestionario de datos generales.

## **Condiciones para ingresar al estudio**

- Sujetos de 20 – 79 años, no importando el sexo.
- Clínicamente diagnosticados con alguna nefropatía.
- Firmar o poner su huella digital en esta carta de compromiso.

## **Riesgos**

No existe ningún riesgo agregado para su salud, las recolecciones de orina las llevará a cabo el mismo paciente en frascos de plástico nuevos proporcionados por los investigadores. Las muestras serán desechadas de acuerdo a las normas nacionales.

## **Beneficios**

Los resultados del análisis del examen general de orina serán de utilidad para el control y vigilancia de su padecimiento.

## **Confidencialidad**

Toda la información obtenida es **ESTRICTAMENTE CONFIDENCIAL**, por lo que sólo se le proporcionará al paciente y a su médico tratante.

## **Derecho a rehusar**

La aceptación a participar en este estudio es enteramente **VOLUNTARIA**. Por lo que si decide no hacerlo no le afectará en su atención médica ya que es independiente de ésta.

## **Preguntas**

Toda duda que tenga durante el tiempo que dura la investigación la podrá consultar con la QFB. Verónica Gómez Gaviño del Laboratorio de Análisis Clínicos Zaragoza, UNAM en Av. Guelatao No. 66 Col. Ejército de Oriente, tel. 5623-0599, 5623-0766.

Si hay dudas en caso de los derechos del paciente, comunicarse con el Comité de Ética del Hospital Regional 1º de Octubre, ISSSTE al tel. 5586-3027.

Los resultados serán dirigidos al Dr. Julio Kaji Kiyono quien los dará a conocer al paciente.

### CONSENTIMIENTO

Consiento en participar en el estudio. He recibido una copia de este impreso y he tenido la oportunidad de leerlo o me lo han leído en presencia de un familiar responsable.

\_\_\_\_\_  
Nombre del participante

\_\_\_\_\_  
Firma del participante

\_\_\_\_\_  
Dirección

\_\_\_\_\_  
Nombre de testigo

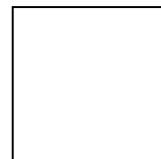
\_\_\_\_\_  
Firma de testigo

\_\_\_\_\_  
Dirección

\_\_\_\_\_  
Nombre del investigador

\_\_\_\_\_  
Firma del investigador

En caso de no saber leer y escribir, poner huella digital.



\_\_\_\_\_  
QFB. Carolina Jiménez López  
Investigadora principal

México, D.F. a \_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ del \_\_\_\_\_.



**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES  
\* Z A R A G O Z A \***

**LABORATORIO DE ANÁLISIS CLÍNICOS  
ZARAGOZA**

**HOJA DE RECOLECCIÓN DE DATOS**

**Comparación de los métodos estandarizados (Kova y automatizado UF-100i) con el método manual para el análisis de sedimento urinario**

Nombre:

---

Edad: \_\_\_\_\_

Sexo: F

M

Diagnóstico:

---

Tiempo de evolución:

---

Tratamiento médico:

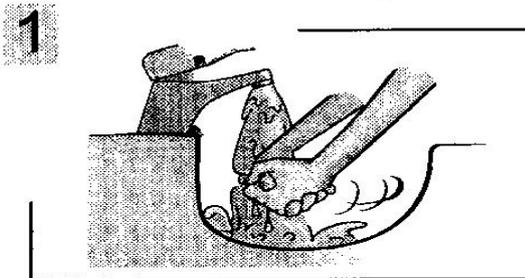
---

---

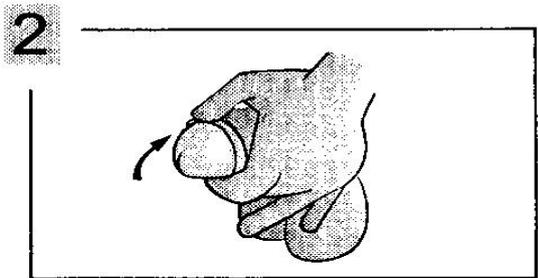
---

**ANEXO 2**

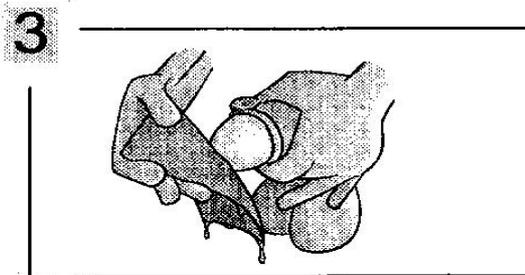
**RECOLECCION DE ORINA DEL CHORRO MEDIO (HOMBRE)**



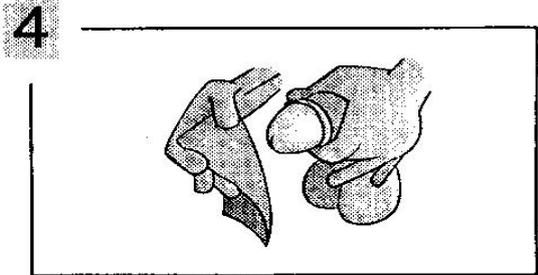
**1** Lavese las manos.



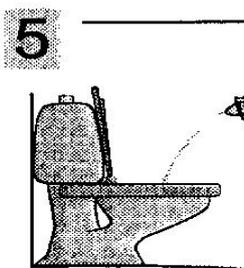
**2** Retraiga el prepucio



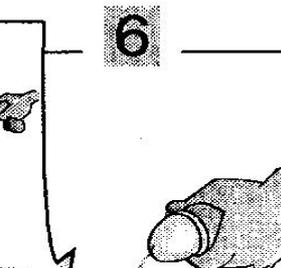
**3** con una gasa con antiseptico limpie el orificio uretral



**4** con una segunda gasa seca termine de limpiar

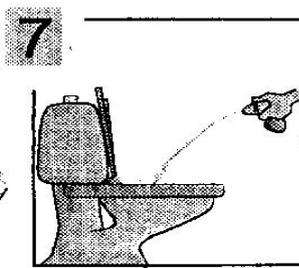


**5** Deseche la 1ª fracción de la orina

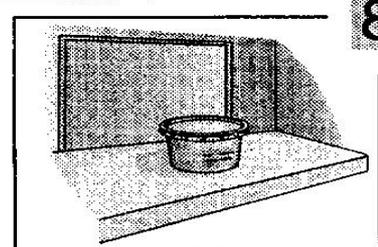


50 ml

recolecte la muestra del chorro medio en el contenedor que se le asigne. aprox. 50ml .



**7** Deseche la ultima fracción de la orina

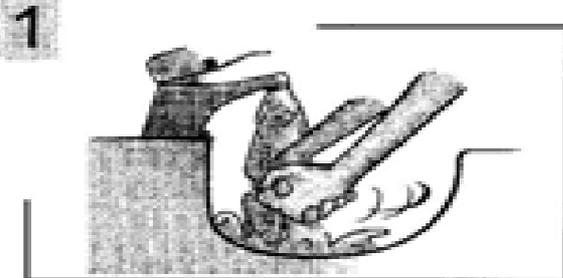


**8** tape y cierre perfectamente. anote el nombre y hora de recoleccion, envíe la muestra al laboratorio lo mas pronto posible.

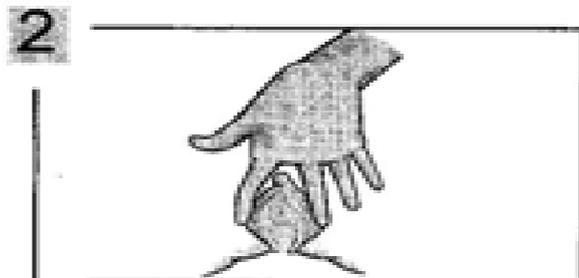
**Fig.** PRECAUCION: NO TOCAR LA MUESTRA CON LA MANO

### ANEXO 3

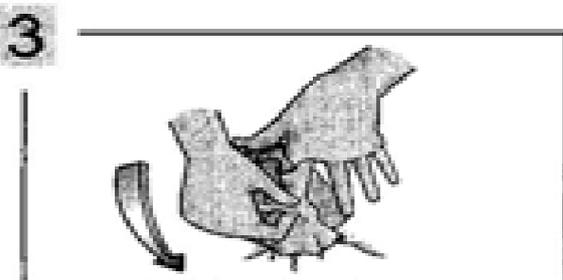
## RECOLECCION DE ORINA DEL CHORRO MEDIO (MUJERES)



Lavese las manos.



Sientese sobre la tasa del baño, separe las piernas y con los dedos de las manos separe los labios genitales exponiendo el meato urinario.



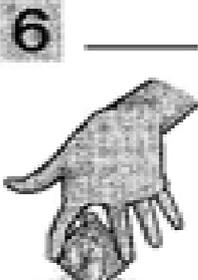
limpie el meato urinario con una gasa con antiseptico de arriba hacia abajo de 2 a 3 veces.



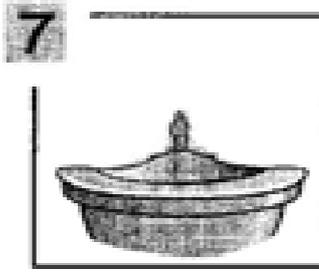
Con una segunda gasa seca termine de limpiar. Manteniendo los labios genitales separados



Deseche la 1ª fraccion de la orina



50 ml



Deseche la última fraccion de la orina



recolecte la muestra del chorro medio en el contenedor que se le asigne. aprox. 50ml .

**PRECAUCION:**  
NO TOCAR LA MUESTRA CON LA MANO

tape y cierre perfectamente. anote el nombre y hora de recoleccion, envíe la muestra al laboratorio lo mas pronto posible.