



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES ZARAGOZA

**Comparación del método manual con el equipo automatizado iQ200™ para conteo de
leucocitos y eritrocitos en orinas de pacientes del HGR 25 IMSS.**

T E S I S

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:
QUÍMICO FARMACÉUTICO BIÓLOGO**

**P R E S E N T A:
SERGIO ROSALES PEÑA**

Directora de Tesis:
Q.F.B Natalia Hernández Méndez

MÉXICO, D.F.

AGOSTO 2011



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES ZARAGOZA

Carrera: Química Farmacéutico Biológica

**Comparación del método manual con el equipo automatizado iQ200™ para conteo de
leucocitos y eritrocitos en orinas de pacientes del HGR 25 IMSS.**

Alumno: Sergio Rosales Peña
No. de Cuenta: 98555167
Año de Término de Carrera: 2010.
Orientación: Bioquímica Clínica
Director: Q.F.B Natalia Hernández Méndez.
Opción de Titulación: Tesis Experimental.
Laboratorio de Uroanálisis del H.G.R. N° 25 IMSS

DEDICATORIA.

Este trabajo esta dedicado especialmente a mí esposa Claudia Reyes Casales a quien amo tanto, quiero que sepas que este logro es de los dos puesto que eres y seguirás siendo lo más importante en mí vida.

¡Gracias por apoyarme!

A mí hijo Sergio Rosales Reyes, por haberme enseñado el valor de la vida, dándome siempre mucho amor, comprensión y confianza, gracias por ser mi mejor amigo.

¡Te amo!

A mis padres Evaristo Rosales Miranda y María del Carmen Peña Velázquez, por darme la vida, amor, valores, educación y un firme cimientto, aunque no están físicamente, yo se que desde donde estén comparten este logro y estoy seguro de que siguen estando orgullosos de mí.

¡Siempre estarán en nuestros corazones!

A Dios por darme la fortaleza de aprender del pasado formando este prestigioso presente.

A Patricia Rosales Peña e Hipólito Páez Pérez por apoyarnos incondicionalmente en todo momento y por la estima que tienen con mí familia.

A Norma Patricia Páez Rosales y Héctor Hipólito Páez Rosales por su incondicional amor con mí familia y el respeto a mis decisiones.

A mis hermanas Yolanda, Guadalupe y Paula por ser la mejor familia que Dios me ha dado.

A mis cuñados Pedro y Domingo por demostrar su fortaleza al conservar a sus familias.

A mis suegros Petra Casales Rocha y Mario Reyes Ruíz por su confianza brindada e incondicional apoyo.

A María Nely, Aurea Berenice, María Sagrario y Edgar, por que siempre han respetado las cosas que he realizado.

A mis pequeños sobrinos como un testimonio de alcanzar nuestros ideales.

A mis maestros por estar siempre instruyéndome en mi formación profesional.

Al A. de laboratorio Rafael Romero González, por su total e incondicional apoyo que recibí en el laboratorio clínico del HGR 25 IMSS.

A la T.L.C. Laura Villegas Reyes y a la Sra. Teresa Vargas Aguirre por confiar en mí.

A mis mejores amigos José Qinatzi, Héctor, Lorena, Luisa, Beatriz Adriana, Sergio A, Laurencio, Miguel, las Químicas Ma. Isabel Bernal A., Erika Lira (HGR 25 IMSS), Irene (UMF 64 IMSS) y Juanita (UMF 96 IMSS).

Hoy presencié una conferencia donde se debatió el átomo, el origen de la vida y las teorías evolutivas del universo, al terminar, supe que el químico es el que más sabe...

Evaristo Rosales Miranda

(27 Junio 1986)

Cuando los oídos aprendan a escuchar, llegaran los labios que te llenaran de sabiduría.

Hermes Trimegistro

AGRADECIMIENTOS.

Q.F.B. Natalia Hernández Méndez por el tiempo dedicado, su apoyo brindado y por ser parte esencial en la realización de este trabajo.

Q.B.P. Silvia Rodríguez Cortés por su sincera amistad y su incondicional asesoría en la evaluación del iQ200™.

M en C. Consuelo Guzmán Álvarez por las sugerencias durante mi carrera.

Dra. Araceli Plasencia Mota por su apoyo incondicional para terminar mi carrera.

Dra. Martha A. Sánchez Rodríguez por el tiempo que me dedico a pesar de sus múltiples ocupaciones ya que siempre ha estado en la mejor disposición para apoyarnos e impartirnos sus conocimientos.

Q.F.B Alicia Cabrera Aguilar por dedicarme su tiempo e implementar sus valiosas aportaciones y sugerencias para concluir este trabajo.

Q.F.B Manuel Orduña Sánchez quien plasmo sus conocimientos con dedicación y paciencia durante nuestra formación profesional.

Q.F.B Miriam Hinojosa Morales quien me ha depositado su confianza abriendo la puerta de entrada para concluir este proyecto.

Q.F.B Norma Patricia Vivar Guzmán por su amistad incondicional y las sugerencias recibidas.

A todo el personal del H.G.R. No. 25 del IMSS que participó en la realización de este trabajo.

A la empresa CENTRUM México por la confianza y apoyo para realizar este proyecto.

Al Instituto Mexicano del Seguro Social por facilitar las instalaciones para realizar este estudio y por permitirnos crecer hasta donde nosotros queramos.

A mi gloriosa **UNAM-FES Zaragoza** que me ha formado y a la cual orgullosamente perteneceré por siempre **¡GRACIAS!**

ÍNDICE.

1. RESUMEN	1
2. INTRODUCCIÓN	2
3. MARCO TEÓRICO	3
3.1 Anatomía del riñón	3
3.1.1 Anatomía macroscópica del riñón	3
3.1.2 Anatomía microscópica del riñón	4
3.2 Fisiología renal	5
3.2.1 Formación de orina	5
3.2.2 Filtración glomerular	5
3.2.3 Reabsorción y secreción	6
3.2.4 Regulación del equilibrio electrolítico (sodio y potasio)	6
3.2.5 Excreción de productos del metabolismo nitrogenado	6
3.2.6 Regulación del equilibrio ácido-base	7
3.2.7 Función hormonal	7
3.3 Normatividad en el uroanálisis	7
3.4 Examen general de orina o uroanálisis	7
3.4.1 Recolección de la muestra de orina	8
3.4.2 Examen físico	8
3.4.3 Examen químico	9
3.4.4 Análisis microscópico	9
3.4.4.1 Hematuria	9
3.4.4.2 Leucocituria	10
3.5 Sistemas aplicados en el uroanálisis	11
3.5.1 El recuento de Addis	11
3.5.2 El sistema Kova ^R	11
3.5.3 Sysmex UF-100i	11
3.6 El analizador automatizado para microscopia urinaria iQ200 TM	11
3.6.1 Principio del iQ200 TM	12
3.6.2 Control de calidad del iQ200 TM	12
3.6.3 Control de calidad externo	13
3.7 Comparación del método manual y el iQ200 TM	13
4. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	14
5. OBJETIVOS	15
5.1 Objetivo general	15
5.2 Objetivo específico	15

6. HIPÓTESIS	16
7. MATERIAL Y MÉTODOS	17
7.1 Diseño de la investigación	17
7.2 Población de estudio	17
7.3 Criterios de inclusión	17
7.4 Criterios de exclusión	17
7.5 Variables de estudio	17
7.6 Material	18
7.7 Equipos e instrumentos	18
7.8 Reactivos	18
7.9 Procedimientos	19
7.9.1 Determinación de la precisión	19
7.9.2 Análisis del material de control de calidad con el método manual	19
7.9.3 Análisis del material de control de calidad con el sistema iQ200™	20
7.9.4 Análisis de las muestras de orina con el método manual	22
7.9.5 Análisis de las muestras de orina con el iQ200™ IRIS DIAGNOSTICS	22
7.10 Análisis estadístico	23
8. RESULTADOS	24
9. DISCUSIÓN DE RESULTADOS	27
10. CONCLUSIONES	29
11. RECOMENDACIONES Y SUGERENCIAS	30
ANEXO 1	31
ANEXO 2	32
ANEXO 3	33
12. REFERENCIAS	34

1. RESUMEN

El examen general de orina es una prueba de laboratorio de gran importancia para el Instituto Mexicano del Seguro Social, que involucra los conocimientos del analista dentro del laboratorio, proporcionando al médico resultados con calidad en beneficio del paciente.

Por un intento de automatizar el área de uroanálisis del HGR 25 IMSS, el presente estudio tuvo como objetivo comparar la microscopía del sedimento urinario con el método manual y el sistema automatizado iQ200™ para el conteo de leucocitos y eritrocitos.

Se determinó la precisión de cada método realizando 30 repeticiones con material de control de calidad (BIO-RAD Liquichek-Urinalysis Control Levels 2, USA), obteniendo un coeficiente de variación con el método manual de 34% para el conteo de leucocitos y 21% para eritrocitos, siendo menor con el sistema automatizado el cual fue de 8% para el recuento de leucocitos y 7% para eritrocitos.

En el estudio comparativo se analizaron 300 muestras de orina efectuando el examen microscópico con ambos métodos, observando una correlación de $r=0.922$ (leucocitos) y $r=0.798$ (eritrocitos), siendo ambos estadísticamente significativos ($p < 0.0001$).

Para conocer la confiabilidad del sistema iQ200™ se determinó la concordancia entre métodos agrupando los resultados en categorías ordinales, obteniendo un muy buen acuerdo para leucocitos ($k=0.948$) y un buen acuerdo para eritrocitos ($k=0.763$), sin embargo el 3% de las muestras de orina que contenían cristales de oxalato de calcio fueron clasificadas por el analizador automatizado como leucocitos y eritrocitos requiriendo revisión microscópica.

2. INTRODUCCIÓN

El examen general de orina permite al médico obtener datos de importancia clínica relacionados con el diagnóstico, tratamiento y evolución de enfermedades renales o del tracto urinario, así como la detección, seguimiento o exclusión de enfermedades metabólicas o sistémicas.

Por tal motivo el Instituto Mexicano del Seguro Social (IMSS) implemento un manual de procedimientos de laboratorio clínico, donde se incluye al examen microscópico del sedimento urinario por el método manual, en el cual intervienen procesos preanalíticos y analíticos que pueden interferir con los resultados, tales como la pérdida de sedimento urinario al decantar el sobrenadante y la interpretación discrepante de las estructuras de los sedimentos de orina por parte del analista.

La Normatividad Mexicana (NOM-166-SSA1-1997) e internacional (CLSI; Clinical and Laboratory Standards Institute, GP16-A2), establecen los criterios necesarios para el funcionamiento del área de uroanálisis, recomendando utilizar un procedimiento estandarizado o automatizado.

Uno de los equipos recomendados es el analizador automatizado de microscopia Iris iQ200TM (IRIS International, Inc., Chatsworth, California, EUA), el cual permite la estandarización del examen microscópico de los componentes del sedimento urinario, ya que realiza el análisis de imágenes digitales de partículas en muestras de orina sin centrifugar, captadas con el objetivo de un microscopio a medida que la muestra fluye a través de una celda de flujo planar, efectuando la clasificación y el recuento automático de las partículas de acuerdo a su tamaño, forma, contraste y textura.

Por consiguiente la finalidad de esta investigación es evaluar la concordancia y/o correspondencia que hay en el recuento de leucocitos y eritrocitos, entre el método manual y el analizador automatizado iQ200TM en muestras de orina para pacientes hospitalizados y ambulatorios, como un intento por automatizar el área de uroanálisis que nos permita un rápido y oportuno diagnóstico del examen general de orina, ya que no se ha implementado un método análogo para la identificación de los elementos formes del sedimento urinario en el área de uroanálisis del HGR 25 IMSS.

3. MARCO TEÓRICO

3.1 ANATOMÍA DEL RIÑÓN

3.1.1 Anatomía macroscópica del riñón

Macroscópicamente los riñones humanos son dos vísceras de color pardo-rojizo en forma de fríjol, envueltos en una delgada cápsula fibrosa. Se localizan en la parte posterior del peritoneo junto a la columna vertebral. Miden en el adulto de 11 a 13 cm de alto, por 6 cm de ancho y 3 cm de grosor, siendo el izquierdo algo más largo y grande que el derecho. Su peso oscila, entre 150 y 160 g en el hombre, siendo ligeramente menor en la mujer.¹ En un corte sagital renal, se aprecian dos zonas bien diferenciadas, la más externa o corteza de aspecto granuloso y la más interna o médula de aspecto estriado.^{2, 3} De la corteza salen proyecciones hacia la médula denominadas columnas de Bertin que delimitan a las pirámides medulares o de Malpighi, estas tienen forma cónica con su base dirigida hacia la corteza y el vértice hacia el hilio. El vértice de cada pirámide forma una papila renal, donde drena la orina a una estructura denominada cáliz menor (7-14 cálices menores). La unión de varios cálices menores forman 2-3 cálices mayores y a su vez éstos se reúnen para formar la pelvis renal en el borde interno del riñón. Esta zona se llama hilio, que también conduce los vasos sanguíneos y los nervios renales.^{1, 3} (Figura 1).

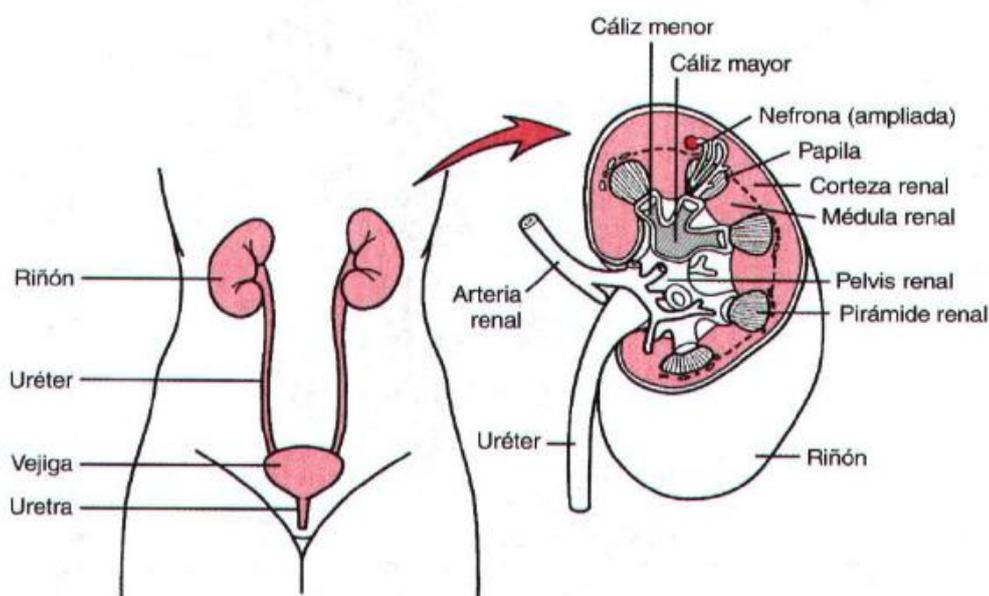


Figura 1. Organización general de los riñones y el sistema urinario.⁴

La arteria renal originada por la aorta alcanza al riñón por el hilio donde se ramifica en una rama anterior y otra posterior, antes de penetrar en el tejido renal se divide en varias arterias

segmentarias que discurren por las columnas de Bertin dando lugar a las arteriolas aferentes que irrigan un solo glomérulo. Los capilares glomerulares drenan hacia la arteriola eferente originando los vasos rectos descendentes, que discurre por el intersticio en íntimo contacto con los túbulos renales, contribuyendo al intercambio de líquidos, sustancias e iones. El retorno venoso en el riñón sigue, un trayecto opuesto a la circulación arterial, que finalmente, llega a la vena renal.⁵

3.1.2 Anatomía microscópica del riñón

La nefrona es la unidad estructural y funcional microscópica del riñón.^{4, 6, 7} Cada riñón humano está constituido aproximadamente por un millón de nefronas, de las cuales hay dos tipos; las nefronas yuxtamedulares cuyos glomérulos están ubicados en los límites con la médula renal y las nefronas corticales cuyos glomérulos están ubicados en la parte más externa de la corteza. Cada nefrona consiste en un glomérulo que es una red capilar originada a partir de la arteriola aferente, está da lugar a varios lobulillos que se reúnen nuevamente formando la arteriola eferente. El glomérulo está rodeado por la cápsula de Bowman que se prolonga con el túbulo proximal, el cual en su parte interna se halla tapizado por un epitelio cúbico simple con un ribete en cepillo muy desarrollado, que amplía más de 20 veces la superficie de absorción. Se continúa con el asa de Henle que posee un epitelio plano con algunas microvellosidades, está da origen al túbulo distal que posee un epitelio de células cúbicas, sin embargo algunas células de su pared sufren transformaciones para originar la mácula densa que forman el aparato yuxtglomerular. Finalmente el túbulo distal desemboca en los túbulos colectores que convergen con otros similares en los conductos papilares.^{8, 9} (Figura 2)

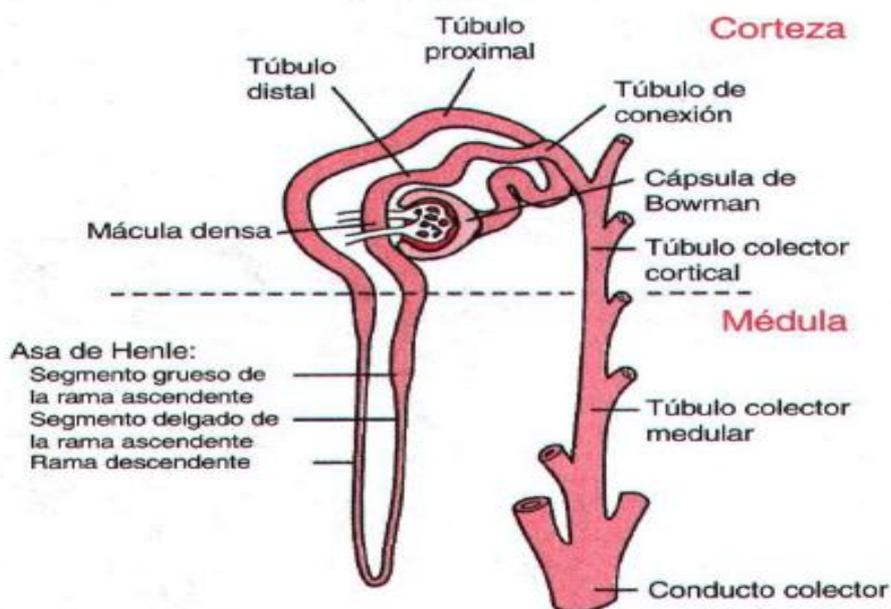


Figura 2. La nefrona.⁴

3.2 Fisiología renal

Los riñones son los responsables de eliminar del cuerpo las sustancias de desecho que se han ingerido o producido en el metabolismo, así como la regulación del volumen y la composición de los líquidos corporales.^{4,7}

Sus funciones principales son:

- Formación de la orina.
- Regulación del equilibrio electrolítico.
- Excreción de productos del metabolismo nitrogenado.
- Equilibrio ácido-basé.
- Función hormonal.

3.2.1 Formación de orina

Los procesos básicos involucrados en la formación de la orina son filtración, reabsorción y secreción. Los riñones filtran el plasma, reabsorben la mayoría del filtrado y queda para la eliminación una solución concentrada de desechos metabólicos llamada orina.^{4,7}

3.2.2 Filtración Glomerular

Se inicia con la filtración de grandes volúmenes de plasma que ejercen una presión sobre el líquido y las sustancias disueltas, desde los capilares glomerulares hasta la cápsula de Bowman. Los capilares del glomérulo difieren por su presión hidrostática tres veces mayor que otros capilares. La membrana de los capilares glomerulares está compuesta por un endotelio capilar perforado por miles de pequeños agujeros llamados fenestras. La membrana basal consta de una red de colágeno y de proteoglicano con grandes espacios y una capa de células epiteliales que reviste la superficie externa del glomérulo, la cual no es continua ya que tienen largas expansiones parecidas a un pie (podocitos). Por esta barrera pasa el filtrado, que tiene la misma composición que el plasma sanguíneo (sales y moléculas orgánicas), con excepción de proteínas plasmáticas y células sanguíneas. El índice de filtración glomerular en condiciones normales es de aproximadamente 125 mL/min, que equivale a 180 litros por día, de los cuales finalmente se excretan de 1-2 litros diarios de una solución concentrada de desechos metabólicos denominada orina.^{4,7}

3.2.3 Reabsorción y secreción

La reabsorción de sustancias puede efectuarse por mecanismos activos con gasto local de energía (potencial químico o electroquímico) o pasivos que no necesita gasto de energía. En el túbulo proximal los electrolitos filtrados son reabsorbidos, sin embargo las membranas tubulares son muy permeables al agua, de modo que cuando se reabsorben solutos el agua difunde por ósmosis a través de ellas. En este fragmento se reabsorbe el bicarbonato, la glucosa, los péptidos, la urea y los aminoácidos.^{4,7}

La porción descendente del asa de Henle es muy permeable al agua, pero mucho menos permeable al cloruro sódico y a la urea. Por lo tanto, la osmolaridad del líquido aumenta gradualmente hasta que se iguala con el líquido intersticial circundante. La rama ascendente delgada del asa de Henle es impermeable al agua, pero reabsorbe algo de cloruro sódico, debido a su alta concentración en el líquido tubular. La rama ascendente gruesa del asa de Henle es poco permeable al agua, transportando de forma activa grandes cantidades de sodio, cloruro, potasio y otros iones.⁴

El túbulo distal en su porción inicial posee propiedades similares al asa de Henle ascendente gruesa, sin embargo en su porción final y en los túbulos colectores la osmolaridad depende de la presencia de la hormona antidiurética (ADH), por lo tanto su permeabilidad al agua es alta en presencia de la hormona y baja en su ausencia. La aldosterona estimula la reabsorción de sodio y la secreción de potasio. También en esta porción ocurre la secreción de hidrógeno, amoníaco, ácido úrico y la reabsorción de bicarbonato con baja permeabilidad de la urea.^{4,7}

3.2.4 Regulación del equilibrio electrolítico (sodio y potasio)

Menos del 1% del sodio filtrado por el glomérulo es excretado por la orina. El principal factor que determina la reabsorción tubular es el volumen extracelular. Si el sodio disminuye se estimula el sistema renina-angiotensina-aldosterona aumentando su reabsorción. La excreción renal del potasio está influida y regulada por sus niveles séricos, la secreción de aldosterona, el estado ácido-básico, el volumen del flujo urinario y la reabsorción de sodio en el tubo distal.⁴

3.2.5 Excreción de productos del metabolismo nitrogenado

La urea y el ácido úrico son filtrados por los glomérulos, sufren procesos de reabsorción y secreción tubular, dependiendo de la concentración sanguínea. La creatinina sufre pocas alteraciones durante su paso por los túbulos siendo en su mayoría excretada.^{4,7}

3.2.6 Regulación del equilibrio ácido-base

El pH del líquido extracelular debe mantenerse entre límites estrechos de 7.35 y 7.45. Esto se consigue a través de reguladores de pH sanguíneos que contienen una forma ácida y otra básica, como la reabsorción de bicarbonato ($\text{CO}_2 + \text{H}_2\text{O} \leftrightarrow \text{H}_2\text{CO}_3 \leftrightarrow \text{H}^+ + \text{HCO}_3^-$) por el túbulo proximal, la excreción de acidez titulable que acepta H^+ en la luz tubular excretándolos después por la orina ($\text{H}_2\text{PO}_4^- \leftrightarrow \text{H}^+ + \text{HPO}_4^{2-}$) y las células del túbulo proximal transforman el amoniaco en amonio ($\text{NH}_3 + \text{H}^+ \leftrightarrow \text{NH}_4^+$).^{4, 7}

3.2.7 Función hormonal

La eritropoyetina se sintetiza en las células endoteliales de los capilares periglomerulares, actúa en las células precursoras de la serie roja en la medula ósea favoreciendo su multiplicación y diferenciación. La vitamina D es transformada en el hígado en un primer metabolito, el 25-hidroxicolecalciferol, que a su vez sufre un proceso de biotransformación a nivel renal en el derivado 1,25-dihidroxicolecalciferol (calcitriol) que es la forma activa de la vitamina.⁴

3.3 Normatividad en el uroanálisis

La Normatividad Mexicana (NOM-166-SSA1-1997)¹⁶ e internacional (CLSI; Clinical and Laboratory Standards Institute, GP16-A2)¹⁷, establecen los criterios necesarios para el funcionamiento del área de uroanálisis, recomendando utilizar un procedimiento estandarizado o automatizado. También recomiendan implementar controles de calidad internos y externos.^{12, 18}

3.4 Examen general de orina o uroanálisis

Desde hace tiempo se reconoce que las propiedades físicas y químicas de la orina, constituyen indicadores importantes en el estado de salud.^{10, 11} El examen de orina con fines diagnósticos se ha practicado durante siglos siendo Richard Brig el que introdujo por primera vez el análisis de orina como parte del examen médico rutinario.^{12, 13} Para el Instituto Mexicano del Seguro Social (IMSS) el examen general de orina es muy importante por lo que se implemento un manual de procedimientos de laboratorio clínico, donde se incluye al examen microscópico del sedimento urinario por el método manual.¹⁵

El uroanálisis es una prueba de laboratorio que 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.¹²⁻¹⁴ Consta del análisis físico donde se observan las características macroscópicas de la orina, el examen químico realizado actualmente mediante tiras reactivas y la visualización de los elementos formes con el microscopio luego del centrifugado de la muestra.^{11, 14} Además es la técnica más inocua de todas las que se pueden utilizarse en el estudio de un paciente renal o no renal.¹⁴

3.4.1 Recolección de la muestra de orina

Existen consideraciones importantes basadas en las normatividades que hay que recordar al recolectar una muestra de orina para su estudio, para reducir errores en la interpretación de los resultados.¹⁹ Las muestras de elección son las matutinas ya que la orina es generalmente más concentrada y por tanto, contienen niveles más altos de elementos formes.²⁰⁻²²

Los principales métodos de recolección de muestras de orina son:

- El cateterismo de la vejiga que puede utilizarse en pacientes con dificultad para orinar evitando la contaminación uretral o vaginal, pero existe la posibilidad de introducir microorganismos en la vejiga, siendo este el motivo por el cual no debe utilizarse de forma rutinaria.
- La aspiración supra púbica de la vejiga, que consiste en la inserción de una aguja directamente en la vejiga distendida, es útil en niños de corta edad, evita la contaminación uretral y vaginal.
- La micción espontánea es una técnica que puede presentar contaminación de la uretra o de secreción vaginal, siendo el motivo por el cual no debe utilizarse.
- Con el objetivo de obtener muestras adecuadas en niños de corta edad, se dispone de colectores pediátricos que no son incómodos para el paciente, además de ser blandos y plegables.
- El método de elección es la micción matutina con la técnica de chorro medio, ya que es fácil de realizar. Está consiste en recolectar la orina de la porción intermedia de la micción en un recipiente limpio, para ello, deberá de evacuar la porción inicial de la orina en el sanitario, recolectando la fracción media en un frasco limpio, evacuando el final de la micción en el sanitario^{14, 20, 23} (ver anexo 1, 2 y 3).

3.4.2 Examen físico

Sirve para realizar un juicio presuntivo de la posible presencia de componentes anormales en la orina.²⁴ Este examen incluye el color, aspecto, olor y densidad.²⁰ Existen algunas alteraciones en la coloración de la orina como la presencia de sangre que depende de su cantidad y procedencia. Si procede del tracto urinario es de coloración roja y si proviene del parénquima renal es marrón, sin embargo la presencia de leucocitos pueden producir falta de transparencia provocando turbidez.^{20, 25}

3.4.3 Examen químico

La tira reactiva nos permite evaluar ensayos químicos colorimétricos semicuantitativas (1+ a 4+) de interés clínico. Actualmente la mayoría de las tiras disponibles en el mercado permiten la valoración de la densidad, pH, niveles de proteínas, glucosa, cetonas, urobilinógeno, bilirrubina, hemoglobina, leucocitos y nitritos.^{14, 26} La presencia de eritrocitos o hemoglobina en la orina es causada por nefropatías, litiasis, tumores, enfermedades sistémicas, etc.²¹

La detección de sangre en la orina se basa en la actividad de la hemoglobina, similar a la peroxidasa, en la que cataliza la reacción del hidroperóxido orgánico y cromógeno. El color resultante oscila entre amarillo, verde y azul oscuro o la aparición de puntos verdes en el área de reacción por la presencia de eritrocitos intactos en la orina.^{20, 26} La presencia de leucocitos indica un proceso inflamatorio infeccioso del tracto urinario.²⁰ El Naftol AS-D cloroacetato que está unido a un ester, que se hidroliza mediante la esterasa y se une a una sal de diazonio desarrollándose una coloración beige para muestras negativas y rosa para las positivas.²⁶

3.4.4 Análisis microscópico

En el examen microscópico se identifican y cuantifican los elementos formes de interés clínico en la orina obtenidos por centrifugación.²⁷ Éste se debe llevar a cabo antes de las dos primeras horas de haber recolectado la orina.^{14, 28, 29} El método manual tiene el problema de poseer variables que son fuentes potenciales de error tales como, la pérdida del sedimento urinario al decantar el sobrenadante y la identificación de las estructuras del sedimento urinario por parte del analista. Sin embargo el analizador automatizado de microscopia urinaria Iris iQ200TM, realiza el examen del sedimento urinario con muestras de orina sin centrifugar, así como la preparación de la muestra, lectura, análisis y el reporte de los elementos formes.³⁰

En el sedimento urinario se observan leucocitos, eritrocitos, células (descamativas, transicionales y renales), sales (urato o fosfato), cristales (ácido úrico, oxalato de calcio, cistina, leucina, tirosina, colesterol, fosfato triple, etc), cilindros (hialinos, granulados, céreos, epiteliales, leucocitarios, eritrocitarios), bacterias, levaduras, espermatozoides, filamentos de moco, gotitas de grasa y parásitos (*Trichomona vaginalis*, *Enterobius vermicularis*, *Schistosoma haematobium*).^{20, 32}

3.4.4.1 Hematuria

La hematuria es la presencia de eritrocitos o hemoglobina en orina. Se considera la presencia de 1 a 2 hematíes por campo de 40x como un valor normal.²⁰ Los hematíes son discos uniformes bicóncavos de aproximadamente 7 µm de diámetro por 2 µm de grosor y carecen de núcleo.^{14, 20} (Figura 3).



Figura 3. Eritrocito (40x).

Fuente: Rodríguez S, Lab. Clin. del HGR 25 IMSS.

Los hematíes responden a los cambios de tonicidad del medio perdiendo agua, reduciendo su tamaño en ambientes hipertónicos, mientras que al incorporar agua se distienden aumentando de tamaño en medios hipotónicos. La hematuria se origina por lesiones o rupturas de vasos sanguíneos en el riñón o en el tracto urinario.³¹ Existen más de 100 causas que pueden producirla como las nefropatías, tumores del sistema genitourinario, litiasis, infecciones urinarias, procesos quísticos, traumatismos urológicos, medicamentos, radiaciones y trastornos metabólicos.^{10, 21}

3.4.4.2 Leucocituria

La presencia de leucocitos en la orina se denomina leucocituria o piuria, que sugiere la existencia de un proceso infeccioso en el tracto urinario, son esféricos y poseen un diámetro aproximado de 10-12 μm , pueden entrar desde el glomérulo hasta la uretra en procesos inflamatorios. En condiciones normales pueden aparecer de 1-2 leucocitos por campo de 40x en el sedimento urinario.^{14, 20} (Figura 4).



Figura 4. Leucocitos (40x).

Fuente: Rodríguez S, Lab. Clin. del HGR 25 IMSS.

3.5 Sistemas aplicados en el uroanálisis

3.5.1 El recuento de Addis fue desarrollado por Thomas Addis en 1926, el cual es un procedimiento para cuantificar eritrocitos, leucocitos y cilindros, presentes en un análisis microscópico de orina, empleando un hematocitómetro. Es útil para vigilar la evolución de los casos diagnosticados de daño renal.³³

3.5.2 El sistema Kova^R (ICL Scientific, Fountain Valley, CA), es un sistema comercial estandarizado que nos permite obtener 1 mL de sedimento urinario después de centrifugar la muestra, el sistema posee una cámara de conteo Kova Glasstic con una superficie uniforme para un volumen fijo de 6,6 μ L que nos sirve para observar el sedimento al microscopio.^{14, 34, 35}

3.5.3 Sysmex UF-100i (TOA Medical Electronics, Kobe, Japón), es un citómetro de flujo automatizado donde se marcan primero las partículas con fluoróforos, estos se miden en un haz de láser y se clasifican de acuerdo a su fluorescencia, tamaño, impedancia y luz dispersa. Los resultados se muestran como gráficos de dispersión e histogramas.³⁶⁻³⁸

3.6 El analizador automatizado para microscopia urinaria iQ200TM de IRIS DIAGNOSTICS (Chatsworth, California, USA, distribuido en México por CENTRUM Instrumentation Laboratory), realiza el análisis de imágenes digitales de partículas en muestras de orina sin centrifugar, captadas con el objetivo de un microscopio. La clasificación y el recuento automático de partículas se realizan de acuerdo a su tamaño, forma, contraste y textura. Las imágenes son presentadas al operador en la pantalla de un monitor, para su clasificación de forma manual.³⁹⁻⁴¹ (Figura 5).



Figura 5. Analizador automatizado iQ200TM.

Fuente: S. Rodríguez, Lab. Clin. del HGR 25 IMSS, 2010.

3.6.1 Principio del iQ200™

El sistema se compone de un muestreador que inicia el transporte de gradillas a la estación de pipeteo, un lector de código de barras que explora la etiqueta enviando la información al sistema de computo, una vez que se han recibido las instrucciones del proceso de la muestra, las bombas de pipeteo mezclan y aspiran 1,3 mL de orina, haciéndola circular envuelta de iQ Lámina (solución isotónica libre de partículas) a través del instrumento hasta una celda de flujo plana. El objetivo de un microscopio realiza el análisis de la orina, el cual está iluminado con una lámpara de luz estroboscópica. El objetivo está unido a una cámara de video digital que capturando quinientos fotogramas por muestra enviándolas al procesador de análisis donde las partículas se agrupan y tabulan.³⁹⁻⁴² (Figura 6).

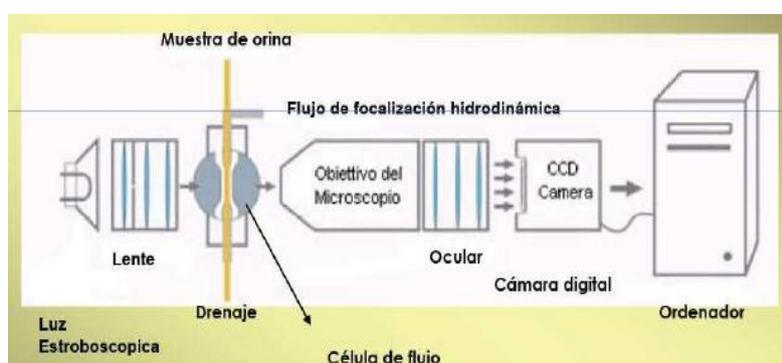


Figura 6. Sistema de lectura del iQ200™.

Fuente: Manual de usuario iQ200, IRIS International, Inc., Chatsworth, California, EUA, 2010.⁴⁰

El programa de reconocimiento automático utiliza la forma, tamaño, contraste y textura, para clasificar las imágenes en 12 categorías diferentes: eritrocitos, leucocitos, agregados leucocitarios, cilindros hialinos, cilindros no clasificados, células epiteliales escamosas, células epiteliales no escamosas, bacterias, levaduras, cristales, filamentos de moco y espermatozoides. Los resultados pueden reportarse automáticamente o basados en los criterios definidos por el usuario.³⁹⁻⁴¹

3.6.2 Control de calidad del IQ200™

El programa de control de calidad es utilizado para verificar y controlar el funcionamiento adecuado del sistema. El foco/control iQ se emplea para enfocar el instrumento, el iQ control positivo se utiliza como control anormal y el iQ control negativo se usa como control normal. El control positivo y el foco iQ son suspensiones de hematíes fijados en una solución isotónica libre de partículas, con un recuento muy preciso de estas células, sin embargo el control negativo es únicamente una solución libre de partículas. Todos los controles se deben ejecutar al menos una vez cada 24 h, o bien, como se indica en el manual de procedimiento de control de

calidad del laboratorio. Así mismo, el foco iQ se debe ejecutar al menos una vez cada 24 horas.³⁹⁻⁴¹

3.6.3 Control de calidad externo

El control de calidad BIO-RAD liquichek-urinalysis control levels 1 and 2, USA, tiene un uso intencionado como orina valorada con el fin de supervisar la precisión de los métodos y técnicas en uso. Este producto esta preparado a partir de orina humana a la que se añaden eritrocitos de origen humano, leucocitos artificiales, constituyentes de origen animal, sustancias químicas, conservadores y estabilizadores, para evaluar el examen físico-químico y la microscopia del sedimento urinario por los diferentes metodos.^{43, 44}

3.7 Comparación de método manual y el iQ200™

Los estudios realizados en la comparación del método manual con el sistema iQ200™ para el análisis del sedimento urinario son escasos, ya que la mayoría de los estudios se han enfocado a la utilidad clínica del sistema y a la comparación entre métodos automatizados. Shayanfar y Bestmann³⁰ reportan una imprecisión de 5.5 % para leucocitos y 6.5% para eritrocitos, sin embargo manifiestan que el uso del método es clínicamente aceptable ya que disminuye la carga de trabajo en el análisis microscópico del sedimento urinario. Lamchiagdhase y Preechaborisutkul⁴⁵ reportan una precisión de 6.4% para ambos tipos celulares, mostrando una concordancia de $\kappa=0.80$ para leucocitos y $\kappa=0.68$ para eritrocitos, donde hay un acuerdo importante entre ambos métodos.²⁷ Cabe mencionar que los autores concluyeron que el sistema automatizado iQ200™ es suficientemente preciso, aunque no es un sustituto del examen microscópico para el sedimento urinario.^{30, 45, 46}

4. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Investigaciones recientes sobre la utilidad clínica del método automatizado iQ200TM para pacientes hospitalizados y ambulatorios, han presentado una buena concordancia en la identificación de leucocitos (coeficiente de $\kappa=0.80$) y eritrocitos (coeficiente de $\kappa=0.68$) en comparación con el método manual, siendo recomendado para disminuir el número de muestras que deberán analizarse microscópicamente. Sin embargo en algunos hospitales públicos con gran demanda como es el caso del HGR 25 IMSS, el examen del sedimento urinario se ha realizado hasta la fecha con el método manual, por lo que es necesario evaluar la utilidad clínica del sistema automatizado para considerarlo como una alternativa de sustitución del método manual, disminuyendo el tiempo que se invierte en el análisis del sedimento urinario. Debido a lo anterior se evaluaron los dos métodos con el control BIO-RAD Liquichek-Urinalysis Control Levels 2 y muestras de orina de pacientes hospitalizados y ambulatorios de diversas áreas con o sin padecimientos renales, permitiendo establecer la equivalencia o no entre ellos.

5. OBJETIVOS

5.1 Objetivo general

Comparar el método manual con el equipo automatizado iQ200TM (IRIS International, Inc., Chatsworth, California, EUA) para el análisis de leucocitos y eritrocitos en el sedimento urinario.

5.2 Objetivo específico

- Determinar la precisión de cada método para leucocitos y eritrocitos utilizando el material de control de calidad externo BIO-RAD Liquichek-Urianalysis Control Levels 2, USA.
- Comparar el conteo de leucocitos y eritrocitos, obtenidos con cada uno de los métodos.

6. HIPÓTESIS

El análisis microscópico del sedimento urinario (método manual) presentará una concordancia de kappa en la lectura de leucocitos y eritrocitos en muestras de orina de pacientes del HGR 25 IMSS con respecto al equipo automatizado iQ200TM, esperando que el grado de acuerdo sea mayor al reportado ($\kappa=0.80$ y $\kappa=0.68$).

7. MATERIAL Y MÉTODOS

7.1 Diseño de la investigación

Se llevó a cabo un estudio observacional, prolectivo, transversal y comparativo entre el método manual y el iQ200TM, en el laboratorio de análisis clínicos del HGR 25 IMSS. El estudio se dividió en dos fases: 1) precisión con muestras de control de calidad y 2) correlación y concordancia con muestras clínicas de pacientes.

7.2 Población de estudio

Se analizaron 30 muestras de material de control de calidad (BIO-RAD Liquichek-Urinalysis Control Levels 2, USA) y 300 muestras de orina de pacientes hospitalizados y ambulatorios de las áreas de: Nefrología, Urología, Medicina Interna, Pediatría, Cardiología, Hematología, Reumatología, Cirugía General, Clínica de VIH, Neumología y Consulta Externa, que acuden al laboratorio clínico del HGR 25 IMSS.

7.3 Criterios de inclusión

- Muestras de orina con volumen de 30 mL o mayor, indistintamente del diagnóstico.

7.4 Criterios de exclusión

- Muestras de orina con un volumen menor de 30 mL
- Muestras de orina que no se procesaron antes de 2 horas después de ser recolectadas.
- Muestras muy densas o viscosas.
- Muestras turbias.
- Muestras con hematuria visible.

7.5 Variables de estudio

➤ Independiente

Método para el uroanálisis con dos categorías:

- Método manual.
- Analizador automático para sedimento urinario iQ200TM (analizador de imágenes).

➤ **Dependiente**

Componentes del sedimento urinario:

- Leucocitos.
- Eritrocitos.

7.6 Material

- Envases de plástico de 100 mL
- Tubos de ensayo 13 x 100 mm
- Gradilla metálica
- Portaobjetos de 75 x 25mm
- Cubreobjetos 22 x 22 mm
- Tubos de ensayo 16 x 100 mm
- Gradillas control iQ200™
- Gradillas de muestras iQ200™

7.7 Equipos e instrumentos

- Analizador automático para sedimento urinario iQ200™ (IRIS International, Inc., Chatsworth, California, USA)
- Microscópio óptico (Carls Zeiss, Alemania)
- Centrífuga clínica (BECKMAN, model TJ-6, USA)
- Pipeta automática 50µL (OXFORD, SAMPLER^R SISTEM, USA)

7.8 Reactivos

- Control de calidad BIO-RAD liquichek-urinalysis control levels 2 (BIO-RAD laboratories, USA)
- iQ CALIBRATOR (Calibrador, USA)
- Foco/control iQ (Enfoca y controla el instrumento, USA)
- Control positivo iQ (Control anormal, USA)
- Control negativo iQ (Control normal, USA)
- Solución iQ Lámina (Controla el flujo de la muestra, USA)
- Solución de limpieza (Limpia las tuberías, USA)
- Diluyente Iris (Enjuague de la solución de limpieza, USA)
- Hipoclorito de sodio al 10%

7.9 Procedimiento

El estudio se realizó en dos etapas:

1. Determinación de la precisión con el material de control de calidad.
2. El análisis de correlación y concordancia del sedimento urinario con las muestras de orina.

7.9.1 Determinación de la precisión

Material de control

1. Se sacó el frasco de control de calidad nivel 2 del refrigerador y se esperó que alcanzara la temperatura ambiente.
2. Una vez que se alcanzó la temperatura ambiente se mezcló el material de control 10 veces por inversión, 10 veces por rotación, 4 más por inversión y 2 más por rotación.
3. Cada alícuota fue utilizada únicamente el día que fue analizada.

7.9.2 Análisis del material de control de calidad con el método manual

1. Se homogenizó perfectamente el material de control (10 veces por inversión, 10 veces por rotación, 4 más por inversión y 2 más por rotación).
2. Se transfirieron 8 mL de material de control un tubo de ensayo de 13x100 mm.
3. La centrifugación se realizó a 1800 rpm durante 5 min.
4. El sobrenadante fue decantado con cuidado.
5. El sedimento fue resuspendido por agitación suave.
6. Se midieron 50µL con una pipeta automática y fueron colocados en un portaobjeto de 75x25 mm cubriéndolo con un cubre-objeto de 22x22 mm evitando la formación de burbujas de aire o alguna pérdida.
7. La observación al microscopio se realizó con el objetivo de 40x en un promedio de 10 campos.
8. Se desinfectó el material utilizado colocándolo en un recipiente con hipoclorito de sodio al 10% antes de lavarlo.
9. A todas las muestras se les agregó 1 mL de hipoclorito de sodio al 10%, y después de 1 hora fueron desechadas.

7.9.3 Análisis del material de control de calidad con el sistema iQ200™

1. Inicio

- Se prendió el sistema en el siguiente orden el CPU, analizador, monitor e impresora.
- Esperamos aproximadamente 3 minutos para que el programa del iQ200™ se cargara automáticamente.
- Se presiono el botón de inicio de sesión introduciendo el nombre del operador y la clave de acceso al programa.

2. Mantenimiento diario

- Se comprobó diariamente el volumen del iQ Lámina.
- Se reviso el recipiente de material de desecho.

3. Control de calidad del sistema (CC)

- Se colocaron 6 mL de foco/control en un tubo de 16x100 mm (enfocar el instrumento).
- Se colocó boca abajo la botella de control positivo iQ agitándola con fuerza cinco veces y cinco más boca arriba, dejándola reposar por un minuto hasta que se dispersaron las burbujas.
- Se colocaron 3 mL de control positivo iQ en un tubo de 16x100 mm colocando el código de barras de control positivo en dicho tubo y situándolo en la gradilla de CC.
- Sin agitar la botella del control negativo iQ, se colocaron 3 mL en un tubo de 16x100 mm poniendo un código de barras de control negativo situando el tubo en la gradilla de CC.
- Se situó la gradilla en el muestreador y se pulso el botón de inicio.
- De forma automática se procesaron los controles del instrumento, revisando los resultados en la pantalla de CC.
- Si los resultados de los controles fueron satisfactorios se procesan las muestras de lo contrario se repite el análisis de control de calidad del sistema.

4. Proceso de muestras

- El registro del material de control (nivel 2) se introdujo de forma manual al sistema de cómputo.
- Se transfirieron aproximadamente 3 mL del material de control sin centrifugar perfectamente homogenizado en tubos de 16x100 mm.
- Se colocó el tubo en la gradilla de muestras.
- Se instaló la gradilla en el muestreador pulsando el botón de inicio.

5. Aspiración de la muestra

- El sistema transporta las gradillas a la estación de pipeteo donde las bombas mezclaron y aspiraron automáticamente la muestra de control sin centrifugar, haciéndola circular a través del instrumento hasta una celda de flujo planar.

6. Análisis

- El objetivo de un microscopio realizó el análisis del material de control en la celda de flujo planar, la cual está iluminada con una lámpara de luz estroboscópica. El objetivo está unido a una cámara de video digital el cual captura quinientos fotogramas por cada muestra enviándolas al procesador de análisis donde las partículas se agruparon y tabularon de acuerdo a su forma, tamaño, contraste y textura, en 12 categorías diferentes de manera automática.

7. Revisión de resultados

- En la lista de trabajo identificamos las muestras para su revisión manual, clasificando los fotogramas al lugar que les corresponde.
- El iQ200™ informó el número promedio de leucocitos y eritrocitos por campo de gran aumento (40x).

8. Apagado del instrumento

- Se procesaron las gradillas de control con las soluciones de limpieza y el diluyente, para lavar el instrumento.
- Apagamos el sistema y el instrumento.

7.9.4 Análisis de las muestras de orina con el método manual

1. Se homogenizó perfectamente la muestra de orina (3-5 veces por inversión).
2. Se transfirieron 8 mL de la muestra de orina en un tubo de ensaye de 13x100 mm.
3. La centrifugación se realizó a 1800 rpm durante 5 min.
4. El sobrenadante fue decantado con cuidado.
5. El sedimento fue resuspendido por agitación suave.
6. Se midieron 50µL con una pipeta automática y fueron colocados en un portaobjeto de 75x25 mm cubriéndolo con un cubre-objeto de 22x22 mm evitando la formación de burbujas de aire o alguna pérdida.
7. La observación al microscopio se realizó con el objetivo de 40x en un promedio de 10 campos.
8. Se desinfecto el material utilizado colocándolo en un recipiente con hipoclorito de sodio al 10% antes de lavarlo.
9. A todas las muestras se les agregó 1 mL de hipoclorito de sodio al 10%, y después de 1 hora fueron desechadas.

7.9.5 Análisis de las muestras de orina con el iQ200™ IRIS DIAGNOSTICS

1. Proceso de muestras
 - El registro de las muestras de orina se introdujeron de forma manual al sistema de cómputo.
 - Se transfirieron 3 mL de la muestra de orina sin centrifugar perfectamente mezclada en tubos de 16x100 mm.
 - Se colocó el tubo en la gradilla de muestras.
 - Se colocó la gradilla en el muestreador pulsando el botón de inicio.

Nota: El inicio del sistema, su mantenimiento diario, la calibración, el control de calidad, la aspiración de la muestra, el análisis, la revisión de resultados y el apagado del instrumento, se describieron en el punto 6.10.3. El iQ200™ tiene una productividad de 60 muestras por hora y almacena los resultados de las muestras procesadas.

7.10 Análisis estadístico

Se determinó la precisión intra-ensayo con los elementos celulares (leucocitos y eritrocitos) que contiene el material de control de calidad externo (BIO-RAD Liquichek-Urinalysis Control Levels 2, USA). Se utilizó la prueba de Spearman para determinar la correlación y la prueba de kappa para determinar la concordancia en el paquete estadístico para ciencias sociales SPSS versión 15.0.^{49, 50}

8. RESULTADOS

I. Determinación de la precisión

Para realizar el análisis comparativo del sedimento urinario entre el método manual y el equipo automatizado iQ200™, se determinó la precisión intra-ensayo utilizando materiales controles (BIO-RAD Liquichek-Urianalysis Control Levels 1 and 2, USA) para el análisis microscópico. Dicha determinación se realizó con los elementos celulares que contiene el nivel 2 (leucocitos y eritrocitos) en cada uno de los métodos.

Los resultados demostraron que el método manual tiene un coeficiente de variación (C.V.) del 34% para el conteo de leucocitos y 21% para eritrocitos, con el sistema automatizado iQ200™ se obtuvo un menor C.V. (Cuadro 1).

Cuadro 1. Coeficientes de variación para cada método de acuerdo al material de control.

Liquichek-Urianalysis control 2		
Método	Leucocitos	Eritrocitos
Manual	34%	21%
iQ200™	8%	7%

II. Análisis de las muestras de orina

Una vez determinada la precisión, se prosiguió al análisis de las muestras de orina. Se analizaron 300 muestras de pacientes de diferentes áreas hospitalarias, como resultado se obtuvo que 239 de ellas no arrojaron alguna alteración en los parámetros que indicaran alguna patología o significancia clínica, las 61 restantes resultaron con algún tipo de alteración en el uroanálisis.

El coeficiente de correlación de Spearman entre el método manual y el iQ200™ para el conteo de leucocitos fue de $r=0.922$; para eritrocitos de $r=0.798$, con una significancia estadística ($p < 0.0001$). (Cuadro 2).

Cuadro 2. Correlación entre los métodos para cuenta de leucocitos y eritrocitos del sedimento en orinas de pacientes.

	Leucocitos	Eritrocitos.
Método	iQ200™	Manual
Manual	0.922	1.000
iQ200™	1.000	0.798

Correlación de Spearman, $p < 0.0001$

Para conocer la confiabilidad del sistema iQ200™ se determinó la concordancia agrupando los resultados en categorías ordinales, utilizando el estadístico de kappa para ambos métodos y para ambos elementos celulares. Se encontraron coeficientes con valores para leucocitos de $k=0.948$ y en eritrocitos de $k=0.763$. (Cuadro 3).

Cuadro 3. Concordancia ordinal entre el método manual y el iQ200™ para cuenta de leucocitos y eritrocitos en muestras de pacientes.

	iQ200™	
Método	Leucocitos	Eritrocitos.
Manual	0.948	0.763

Prueba de concordancia de kappa

Se requirió de revisión microscópica por el método manual en 3 muestras para leucocitos (1%) y 6 muestras para eritrocitos (2%), debido a la presencia de cristales de oxalato de calcio, los cuales son clasificados como elementos celulares (leucocitos o eritrocitos) por el sistema. Cabe mencionar que no se redujo el tiempo de análisis de los sedimentos urinarios con el sistema automatizado.

9. DISCUSIÓN DE LOS RESULTADOS

I. Determinación de la precisión

Al determinar la precisión entre ambos métodos para el conteo de leucocitos y eritrocitos utilizando materiales de control (BIO-RAD Liquichek-Urinalysis Control Levels 2, USA), mostró que el método manual presentó una mayor imprecisión en comparación con el iQ200TM; esto debido a la pérdida de sedimento urinario al decantar el sobrenadante.

A diferencia del método anterior, el iQ200TM utiliza un volumen conocido de muestra, eliminándose el proceso de centrifugación y decantación, así mismo las imágenes de los elementos formes son clasificadas por el equipo y reclasificadas por el analista, es por esto que se logró obtener una imprecisión del 7 al 8% con el material de control para ambos tipos celulares (leucocitos y eritrocitos). Sin embargo, el sistema iQ200TM mostró estas imprecisiones debido a los componentes del material de control utilizado (leucocitos, eritrocitos y cristales de cistina), los cuales interfieren cuando encontramos cristales de cistina con las mismas dimensiones que los elementos celulares (leucocitos y eritrocitos) y por la elevada cantidad de los componentes del control de calidad. Por su parte en estudios previos Shayanfar y Bestmann¹⁶ observaron una imprecisión de 5.5 (leucocitos) y de 6.5% (eritrocitos) con muestras de orina. Lamchiaghase y Preechaborisutkul²⁷ reportaron una imprecisión de 6.4% para ambos tipos celulares con material de control. Esto demuestra que en este trabajo la imprecisión es casi similar al utilizar materiales de control de calidad.

II. Análisis de las muestras de orina

Análisis de correlación

El análisis de correlación para ambos métodos ($r=0.922$ y $r=0.798$) indica una correlación entre fuerte y perfecta para ambos tipos celulares (leucocitos y eritrocitos). Estudios previos demostraron una correlación semejante ($r=0.920$ y $r=0.760$) para leucocitos y eritrocitos, siendo estos valores mejorados cuando el analista estaba perfectamente adaptado al sistema.²⁷ En ciertas muestras analizadas por el método manual se observaron cantidades menores de elementos celulares (1 a 2 leucocitos y de 1 a 3 eritrocitos) debido a que al decantar el sobrenadante se pierde sedimento. Respecto al iQ200TM, se requirió de revisión microscópica en 3 muestras para leucocitos (1%) y 6 muestras para eritrocitos (2%), debido a la presencia de cristales de oxalato de calcio que fueron clasificados como elementos celulares (leucocitos y eritrocitos) por el equipo debido a su forma, tamaño y contraste. Respecto al tiempo de análisis del sedimento urinario con el sistema

automatizado no se disminuyó ya que se introdujeron los datos del control de calidad y de los pacientes de forma manual al sistema, aunado a la falta de práctica en el manejo del equipo.

Análisis de concordancia

En el comparativo de los métodos en escala ordinal apreciamos una muy buena concordancia para el conteo de leucocitos ($k=0.948$) y buena para eritrocitos ($k=0.763$), siendo esta no debida al azar, el cual es un punto esencial para evaluar la confiabilidad del método. Al respecto, Lamchiagdhase y Preechaborisutkul²⁷ encontraron una concordancia casi similar con el mismo método ($\kappa=0.80$ para leucocitos y $\kappa=0.68$ para eritrocitos). Esto demuestra que en este trabajo la imprecisión es menor a la encontrada por otros investigadores, por lo que se sugiere que el uso del iQ200TM es confiable para el conteo de leucocitos y eritrocitos, aunque no es un sustituto del examen microscópico del sedimento urinario.³⁰ En un estudio realizado con el sistema automatizado UF-100i en comparación con el método manual (Gómez GV y Sánchez RM)¹² obtuvieron una concordancia de 0.932 para leucocitos y 0.945 para eritrocitos, aunque el principio de ambos equipos no es el mismo ya que el sistema UF-100i es un citómetro de flujo que emite los resultados en gráficos de dispersión e histogramas y no como imágenes clasificadas, sin embargo ambos métodos tienen la capacidad de discriminar las muestras patológicas de las no patológicas.

10. CONCLUSIONES

- El sistema automatizado iQ200TM es más preciso que el método manual para el conteo de leucocitos y eritrocitos con material de control de calidad.

- El sistema automatizado iQ200TM en comparación con el método manual mostró una fuerte correlación para ambos tipos celulares (leucocitos y eritrocitos).

- La concordancia entre el método manual con el sistema automatizado iQ200TM es muy buena con respecto al recuento de leucocitos y buena para el recuento de eritrocitos.

- El iQ200TM reduce el número de muestras que se deben analizar con el método manual para el recuento de leucocitos y eritrocitos, sin embargo no es un sustituto del examen microscópico del sedimento urinario.

11. RECOMENDACIONES Y SUGERENCIAS

- Continuar con la evaluación del sistema iQ200™ para el conteo de leucocitos y eritrocitos para establecer o descartar las interferencias.

- Evaluar el sistema iQ200™ con material de control que contenga otros elementos formes (células, bacterias, cilindros, cristales, levaduras).

- Evaluar el funcionamiento del sistema iQ200™ con otros líquidos corporales.

ANEXO 1

FORMATO DE REGISTRO E INDICACIONES DEL PACIENTE



**INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL
HOSPITAL GENERAL REGIONAL #25**

Laboratorio de analisis clinicos

FECHA: 13 de Mayo de 2011

Nombre del Paciente: **REYES CASALES CLAUDIA**

Número de Cita: **1605117**



Núm. Expediente: **9691710021 2F1973OR**

Edad: **38 Años** Sexo: **F**

Servicio:

Tel:

Capturo: **admin**

FAVOR DE PRESENTARSE EL DÍA : Lunes, 16 de Mayo de 2011 A LAS 7:00 am

EXAMENES SOLICITADOS

P40 EXAMEN GENERAL DE ORINA
UROCULTIVO

P40 EXAMEN GENERAL DE ORINA

INDICACIONES

- RECOLECTAR EN SU CASA LA PARTE MEDIA DE LA PRIMERA ORINA DE LA MAÑANA (TIRAR EL PRIMER CHORRO EN LA TAZA Y RECOLECTAR EL RESTO EN UN FRASCO CON TAPA)
- EN EL FRASCO ESTERIL QUE SE LE PROPORCIONO DEBE DE RECOLECTAR LA ORINA MEDIA DE LA MAÑANA CON PREVIO ASEO (TIRAR EL PRIMER CHORRO EN LA TAZA Y RECOLECTAR EL RESTO EN EL FRASCO PROPORCIONADO POR EL PERSONAL DEL LABORATORIO).

NOTA :

1. VERIFICAR SUS DATOS PERSONALES.
2. PRESENTARSE DENTRO DEL HORARIO DE 6:45 AM A 8:00 AM DESPUES DE ESE HORARIO NO SE ATENDERA Y TENDRA QUE PROGRAMAR NUEVA CITA.

NOTA IMPORTANTE

SE LE COMUNICA A TODO DERECHOHABIENTE QUE NO SE LE ATENDERA SI NO PRESENTA LOS SIGUIENTES

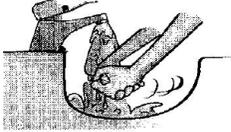
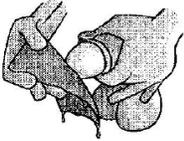
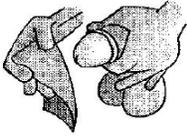
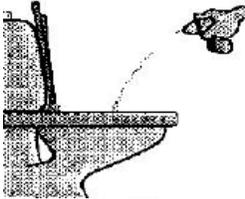
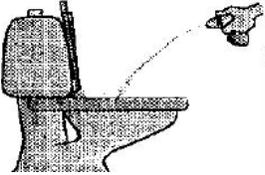
DOCUMENTOS:

- * SOLICITUDES DEBIDAMENTE REQUISITADAS POR EL MEDICO.
- * LA HOJA DE INDICACIONES PROPORCIONADA POR EL LABORATORIO.
- * CARNET DE CITAS MEDICAS.

ANEXO 2

INDICACIONES PARA LA RECOLECCIÓN DE ORINA DE CHORRO MEDIO

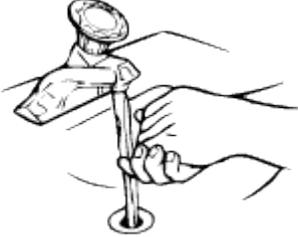
(HOMBRE)

 <p>1. Lávese las manos con agua y jabón durante 30 segundos y séquese.</p>	 <p>2. Destape el frasco para recoger la muestra sin tocar el interior del recipiente o de la tapa.</p>
 <p>3. Prepárese para orinar; deslice el prepucio hacia atrás y limpie con una gasa con jabón y agua, empezando a partir del orificio uretral.</p>	 <p>4. Con una segunda gasa seca termine de limpiar “enjuagando el jabón perfectamente”.</p>
 <p>5. Orine una pequeña cantidad en el inodoro desechando la primera fracción de la orina.</p>	 <p>6. Después de pasar 1 o 2 segundos, recoja aproximadamente 50 mL de orina en el frasco.</p>
 <p>7. Deseche la ultima fracción de la orina en el inodoro.</p>	 <p>8. Cierre perfectamente el frasco, anote nombre, la hora de recolección y llévelo lo más pronto posible al laboratorio.</p>

ANEXO 3

INDICACIONES PARA LA RECOLECCIÓN DE ORINA DE CHORRO MEDIO

(MUJER)

 <p>1. Lávese las manos con agua y jabón durante 30 segundos y séquese.</p>	 <p>2. Destape el frasco para recoger la muestra sin tocar el interior del recipiente o de la tapa.</p>
 <p>3. Siéntese en el inodoro, lo más hacia atrás que pueda. Separe los labios vaginales con una mano, y mantenga los pliegues separados.</p>	 <p>4. Usando una gasa, limpie con agua y jabón la zona entre los labios y alrededor de la uretra de 2 a 3 veces, vaya de adelante hacia atrás “enjuagando el jabón perfectamente”.</p>
 <p>5. Orine una pequeña cantidad en el inodoro desechando la primera fracción de la orina. Después de pasar 1 o 2 segundos, recoja aproximadamente 50 mL de orina en el frasco y deseche la segunda fracción de la orina en el inodoro.</p>	 <p>6. Cierre perfectamente el frasco, anote nombre, la hora de recolección y llévelo lo más pronto posible al laboratorio.</p>

12. REFERENCIAS.

1. O'Rahilly R, Muller F, Hernández ZC. Anatomía de Gardner. 5ª ed. México: Interamericana, 1986. p. 474-83.
2. Rouvière H, Delmas A. Anatomía humana. 11ª ed. México: Masson, 2005. p. 551-69.
3. Henry JB, Todd-Sanford-Davidsohn. Diagnóstico y tratamiento clínicos por el laboratorio. Tomo I. 9ª ed. México: Salvat, 1993. p. 127-8.
4. Guyton AC, Hall JE. Tratado de fisiología médica. 10ª ed. México: Interamericana, 2001. p. 339-98.
5. Quiroz FP. Tratado de anatomía humana. Tomo III. 34ª ed. México: Porrúa, 1996. p. 218-36.
6. Tortora GJ, Anagnostako NP. Principios de anatomía y fisiología. 6ª ed. México: Harla, 1993. p. 1038-77.
7. Ganong WF. Fisiología medica. 14ª ed. México: El manual moderno, 1994. p. 753-84.
8. Ham AW, Cormack DH. Tratado de histología. 8ª ed. México: Interamericana, 1983. p. 846-71.
9. Ross MH, Kaye GI, Wojchiech P. Histología, texto y atlas a color con biología celular y molecular. 4ª ed. Buenos Aires: Panamericana, 2004. p. 605-27.
10. Tamagho EA, McAninch JW. Urología general de Smith. 12ª ed. México: El manual moderno, 2001. p. 1-61.
11. Baños LM, Nuñez AC, Cabiedes J. Análisis del sedimento urinario. *Reumatología Clínica* 2010; 06 (05): 16-22.
12. Gómez GV, Jiménez LC, Vivar GN, Sánchez RM. Comparación del citómetro UF-100i con el sistema Kova y el método convencional para el conteo de leucocitos y eritrocitos en orina. *Bioquímica* 2008; 33 (2): 51-8.
13. Campuzano MG, Arbeláez GM. El uroanálisis: Un gran aliado del médico. *Urología* 2007; 60: 67-92.

14. Strasinger SK, Canterbury DL. Líquidos corporales y análisis de orina. 1ª ed. México: *El manual moderno*, 1991. p. 17-150.
15. Flores IG. Procedimientos de laboratorio clínico. 2ª ed. México: *Instituto Mexicano del Seguro Social*, 1978. p. 369-76.
16. Norma Oficial Mexicana-166-SSA1-1997. Para la organización y funcionamiento de los laboratorios clínicos. *Diario Oficial de la Federación*, Jueves 13 de Enero del 2000.
17. Villanova PA. National Committee for Clinical Laboratory Standards. Urinalysis and Collection, Transportation and preservation of urine specimens; approved guideline GP16-a2— second edition. *National Committee for Clinical Laboratory Standards*, 2002.
18. 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).
19. Rabinovitch A, Arzoumanian L, Curcio K, Dougherty B. Urinalysis; Approved guideline-third edition. *The Clinical and Laboratory Standards Institute*. 2009; 29(4): 1-41
20. Graff SL. Análisis de orina, Atlas a color. Buenos Aires: *Panamericana*; 1987. p. 19-71.
21. Salinas CJ. El estudio de la orina. *Urología*. 2008; 61 (10): 1-8.
22. Over S. Efecto de la demora en el análisis de las partículas del sedimento urinario. *Sysmex J. Int.*; 2000; 12 (1): 9-12.
23. A global preanalytical resource centre sponsored by Becton Dickinson and Company. Las muestras de orina – una visión general de los métodos de recolección, los dispositivos de recogida, manipulación de las muestras y el transporte. 2010; 1-10. Disponible en: <http://www.specimencare.com/main.aspx?cat=711&id=6235.html>. Ultimo acceso 8 de Diciembre del 2010.
24. Balcells A. La clinica y el laboratorio. 16ª ed. Barcelona: *Masson*, 1993. p. 37-9.
25. Dalet EF. Guía rápida para la interpretación clínica del examen general de orina 1ª ed. México: *Instrumentation Laboratory*, 2009: 9-165.

26. YD Diagnostics. Uriscan urine strips. Disponible en: <http://www.yd-diagnostics/uriscan/urine/strips.htm>. Ultimo acceso 19 de Diciembre del 2010.
27. Laso MC. Interpretacion del análisis de orina. *Arch Argent Pediatr.* 2002; 100 (2): 179-83.
28. Dalet F. El sedimento urinário. *Uro-nefro-andrología.* 1999; 18 (3): 135-48.
29. Wald R, Bell MJ, Nisenbaum R, Perrone S, Orfeas L, Laupacis A, *et al.* La fiabilidad interobservador de interpretación del sedimento urinario. *Clin J Am Soc Nephrol.* 2009; 4 (3): 1-11.
30. Shayanfar N, Tobler U, Eckardstein AV, Bestmann L. Automated urinalysis: first experiences and a comparison between the Iris iQ200 urine microscopy system, the Sysmex UF-100 flow cytometer and manual microscopic particle counting. *Clin Chem Lab Med.* 2007; 45(9): 1251-56.
31. Villanueva V. Enfoque diagnostico de la hematuria. *Rev. de posgrado cátedra Med.* 2001; 101: 31-35.
32. Althof S, Kindler J. El sedimento urinário. Atlas técnicas de estudio valoración. 6ª Ed. Madrid: *Médica Panamericana*, 2003. p. 303-22.
33. Moreno TE, Venerando M, Rivero FG, López LG, Almedia CL, Casas ME. Sistematización de pruebas de laboratorio clínico en enfermedades renales. *Arch Med Camagüey.* 2001; 5 (1): 1025-55.
34. Hycor. KOVA^R Urinalysis: The standard for standardization. Disponible en: <http://www.hycorbiomedical.com/uroanalysis.html>. Ultimo acceso 8 de Septiembre del 2010.
35. 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.
36. Ben-Ezra J, Bork L, McPherson RA. Evaluation of the Sysmex UF-100 automated urinalysis analyzer. *Clin Chem.* 1998; 44: 92-5.

37. 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.
38. Sysmex Corporation. UF-100i. Analizador totalmente automático citometría de orina, serie UF100, instrucciones de uso. *Japón Sysmex, 2005: 1-1, 2-1.*
39. Manual de capacitación de la serie iQ200. Iris Diagnostics International, Inc. Chatsworth, California. 2008; 6-26.
40. iQ200 Manual de operación, A/2005 300-4400 Rev. IRIS de la división Diagnostics, IRIS Internacional Inc. 2005; 5-12.
41. Manual del operador de la serie iQ200. Iris Diagnostics Division. IRIS International, Inc. Chatsworth, California. 2007; 2-15.
42. Haliassos A, Katritsis D, Mandalaki E, Bizzioura L, Antonopoulou R, Chiotinis N. Evaluación del analizador automatizado iQ200 para microscopia urinaria en un laboratorio clínico. *Biochem Diagnostics.* 2005; 51 P A214 (E-23).
43. Campos OV. Control de calidad en el uroanálisis. *Sistema de calidad Bio-Rad.* 2008; 12: 1-9.
44. Bio-Rad laboratories. Liquichek-urinalysis control levels 1 and 2. Disponible en: <http://www.bioradlaboratories/liquichek/urinalysis/controllevels1and2.html>. Último acceso 24 de Septiembre del 2010.
45. Lamchiagdhase P, Preechaborisutkul K, Lomsomboon P, Srisuchart P, Tantiniti P, Khan-u-Ra 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
46. Wah DT, Porntip KW, Butch WA. Analytic performance of the iQ200 automated urine microscopy analyzer and comparison with manual counts using fuchs-rosenthal cell chambers. *Am J Clin Pathol.* 2005; 123: 290-96.