

Comparación del citómetro UF-100i con el sistema Kova y el método convencional para el conteo de leucocitos y eritrocitos en orina

Verónica Gómez-Gaviño,* Carolina Jiménez-López,* Norma P. Vivar-Guzmán,* Martha A. Sánchez-Rodríguez*

RESUMEN

Antecedentes: El análisis del sedimento urinario tradicionalmente se lleva a cabo de manera manual, ya sea con el método convencional o el estandarizado, involucrando una serie de pasos que contribuyen a la imprecisión y consumo excesivo de tiempo. El Sysmex UF-100i es un analizador con el principio de citometría de flujo diseñado para el conteo de elementos formes en orina total. **Objetivos:** Determinar la precisión del UF-100i utilizando materiales de control comercial, no del equipo, y evaluar la concordancia y correlación para el conteo de leucocitos y eritrocitos entre el analizador y los métodos manuales (convencional y estandarizado Kova), y con la tira reactiva, con muestras de orina de pacientes. **Metodología:** Precisión: se utilizaron los materiales Kova-trol I y II, se hicieron 27 repeticiones de cada uno por los métodos mencionados, como cualquier muestra de orina. Concordancia y correlación: se analizaron 254 muestras de orina fresca a las cuales se les realizó el examen físico y químico. La lectura del sedimento se llevó a cabo por el método convencional y el estandarizado; el conteo en orina sin centrifugar con el UF-100i. **Resultados:** Precisión: se observó un coeficiente de variación menor con el UF-100i para ambos tipos celulares y diferentes niveles; los coeficientes de correlación para el conteo de eritrocitos entre el método Kova y UF-100i fueron $r = 0.950$ ($p < 0.0001$) y para leucocitos, $r = 0.742$ ($p < 0.0001$). Las correlaciones entre el UF-100i y Kova fueron: leucocitos $r = 0.914$ ($p < 0.0001$), y eritrocitos $r = 0.758$ ($p < 0.0001$). **Conclusión:** Es posible utilizar los materiales de control comercial para uroanálisis como control de calidad interno en el sistema automatizado. El UF-100i puede ser utilizado con confianza para llevar a cabo el conteo de eritrocitos y leucocitos en orina.

ABSTRACT

Background: Usually, the microscopic analysis of urine sediment is performed manually, by a conventional or standardized method, but it is a tiring, intensive and imprecise procedure. The Sysmex UF-100i is an automated analyzer that performs a microscopic urinalysis by flow cytometry. **Objectives:** To determinate the precision of UF-100i using urine commercial controls, different controls from the ones provided by the manufacturer; and to evaluate the agreement and correlation for erythrocytes and leukocytes counts between the flow cytometer and conventional, standardized (Kova) or dipstick methods, with patients samples. **Methodology:** Precision: Kova-trol I and II was used. We performed 27 repetitions of each urine control for each method, as routinely practiced. Agreement: we studied 254 freshly collected urine samples and routine urinalysis was performed. The urine sediments were analyzed by conventional, Kova and by automated methods. **Results:** Precision: UF-100i showed a coefficient of variation lowest than the other methods in both types of blood cells and control level. The correlation coefficient for erythrocytes count between Kova and UF-100i was $r = 0.950$ ($p < 0.0001$), and for leukocytes count $r = 0.742$ ($p < 0.0001$). Clinic samples: Uf-100i and Kova correlations were: leukocytes, $r = 0.914$ ($p < 0.0001$) and erythrocytes, $r = 0.758$ ($p < 0.0001$). **Conclusion:** It is possible to use urine commercial controls as an internal quality control for UF-100i analyzer. This analyzer can perform accurate and precise quantification of urinary erythrocytes and leukocytes.

* Laboratorio de Análisis Clínicos, Clínica Multidisciplinaria "Zaragoza", Facultad de Estudios Superiores Zaragoza, Universidad Nacional Autónoma de México.

Correspondencia:

QFB Carolina Jiménez López
Jilotepec Núm. 9, La Sardaña,
Tultitlán Estado de México
E-mail: rllopezmx@yahoo.com.mx

Recibido: 21-01-2008

Aceptado: 24-06-2008

Palabras clave: Automatización, control de calidad, uroanálisis, leucocitos, eritrocitos.

Key words: Automated, quality control, urinalysis, leukocytes, erythrocytes.

INTRODUCCIÓN

El examen general de orina es una herramienta valiosa para la detección y seguimiento de trastornos renales o de vías urinarias, además de enfermedades metabólicas o sistémicas; es una prueba de mucha utilidad que ha evolucionado de forma gradual hasta llegar a la automatización, permitiendo optimizar el tiempo, mejorar el rendimiento laboral, disminuir la subjetividad en la interpretación de los resultados y, por consecuencia, mejorar la precisión.¹ Las normatividades mexicana² e internacional³ establecen los criterios para la organización y correcto funcionamiento del laboratorio y del área de uroanálisis respectivamente, con el fin de obtener resultados de utilidad clínica.

Dentro de los componentes del uroanálisis, el examen microscópico de la orina es la parte más dependiente del error humano y la que consume mayor tiempo en el análisis de rutina; es dependiente de muchas variaciones, incluyendo el método de obtención del sedimento, la cantidad de sedimento examinado, los métodos y equipo empleados para obtener una mejor visualización y la forma en que se interpretan los resultados,⁴ es por esto que el CLSI (*Clinical and Laboratory Standards Institute*) antes NCCLS,³ recomienda utilizar un sistema estandarizado para el examen microscópico o bien un sistema automatizado.

La estandarización pretende eliminar las posibles causas de variación, como son: el tiempo y velocidad de centrifugación, la decantación, el volumen de orina y sedimento, la superficie de conteo, la microscopía y la interpretación del personal, sin olvidar que se debe implementar un sistema de control de calidad interno y externo.^{3,5-7} Actualmente se cuenta con sistemas estandarizados que cumplen los lineamientos de la norma, uno de ellos es el sistema Kova®, metodología eficiente para cuantificar los elementos del sedimento, se puede reportar el número de células por campo o por microlitro. Como complemento, el examen químico sirve de parámetro de comparación para detectar falsos positivos y negativos, sin embargo está sujeto a algunas variaciones obteniendo una interpretación subjetiva principalmente cuando se hace una lectura visual.⁸

Con relación a la automatización, existen dos sistemas para automatizar la microscopía basados en diferentes tecnologías: 1) un análisis de imágenes to-

madadas por una videocámara y lámpara *strobe*, que detiene el movimiento del fluido para detectar los elementos presentes y a continuación realiza una comparación clasificándolos en doce categorías, se requiere revisión para células epiteliales y cilindros patológicos; 2) un sistema basado en el principio de citometría de flujo, en donde se procesa orina no centrifugada.⁹⁻¹¹

El sistema UF-100i tiene como principio la citometría de flujo con láser de argón, realiza el conteo de acuerdo a las propiedades de luz dispersa, impedancia y fluorescencia de los elementos formes presentes en la orina. El volumen de los elementos se determina por las señales de impedancia, el reactivo utilizado restringe la conductividad de la orina a un rango para evitar interferencias. La tinción se hace con carbocianina que tiñe la membrana celular y fenantridina al ácido nucleico, según la tinción de cada elemento se emiten un cierto grado de fluorescencia. La luz dispersa frontal refleja el tamaño de la partícula. Finalmente, la intensidad de luz dispersa, luz fluorescente y la resistencia (impedancia) de cada elemento son convertidas en una señal eléctrica para clasificarlas al enfocarlas hidrodinámicamente. El equipo es calibrado por conteo de leucocitos, eritrocitos, células epiteliales, cilindros y bacterias utilizando una solución de partículas de látex, que también se usa con propósitos de control diario.¹¹ Los resultados se reportan por campo (40x) o por microlitro, o bien equivalente a un conteo en 10x para cilindros hialinos.¹ Para determinar su utilidad se han llevado a cabo diversos estudios para evaluar la eficiencia del equipo, existiendo resultados controversiales para los diferentes elementos formes incluyendo leucocitos y eritrocitos.¹²⁻¹⁴

Al elegir un equipo automatizado es una ventaja adicional poder usar materiales de control diferentes a los del equipo para verificar su funcionamiento, por eso surge el interés de evaluar la utilidad de Kova-control I y II (Hycor Biomedical) con el equipo UF-100i (citometría urinaria), siendo la primera vez que se plantea porque básicamente se emplea el calibrador del sistema, comparando con el método convencional y el sistema Kova para determinar la precisión. Otro propósito de este trabajo fue evaluar la concordancia y correlación entre el UF-100i y los otros métodos, incluyendo el examen químico con tiras reactivas,

para el conteo de leucocitos y eritrocitos en muestras de orina de pacientes.

MATERIAL Y MÉTODOS

Análisis de la precisión

Se reconstituyeron los materiales de control Kova-trol I y Kova-trol II (Hycor Biomedical, EU) con niveles alto y bajo respectivamente. Una vez que alcanzaron la temperatura ambiente, de acuerdo a las indicaciones del fabricante, se llenó hasta las 3/4 partes de un tubo de 13 x 100 mm y hasta 13 mL en tubos graduados del sistema Kova, de este volumen se utilizó 800 μ L para el análisis con el sistema UF-100i, y finalmente se ajustó el volumen a 12 mL para el método estandarizado.

Se realizaron 27 repeticiones de cada nivel del material de control por cada uno de los métodos: manual, sistema Kova y UF-100i, también se llevó a cabo el examen químico con las tiras reactivas como si fueran muestras de orina.

Análisis de las muestras

Población de estudio

Se analizaron 254 muestras de orina de pacientes del Hospital General de Zona No. 47 del IMSS, Unidad de Medicina Familiar No. 40 del IMSS, Hospital General Gustavo Baz Prada del ISEM y del Hospital Regional 1° de Octubre del ISSSTE, de las áreas de hospitalización, medicina general, ginecología, medicina interna y nefrología. El protocolo de investigación fue llevado a cabo siguiendo los criterios de Helsinki y aprobado por el Comité de Ética de la FES Zaragoza. Todos los pacientes firmaron un consentimiento informado.

Recolección de muestras

Las muestras se obtuvieron de la primera orina de la mañana por el método de chorro medio, previo aseo de genitales de acuerdo a lo indicado por escrito y verbalmente a cada paciente, en envases de plástico estériles. Fueron transportadas en un contenedor aislante con gel refrigerante al laboratorio y procesadas antes de 3 h después de la obtención de la muestra.

Uroanálisis

Examen físico. Se registró el color observado con fondo blanco, el volumen se midió con una probeta y el

aspecto se observó a contraluz. La densidad se midió con un refractómetro (Hand American Optical Corporation, modelo AO TS meter). A continuación se procedió al llenado de los tubos de 13 x 100 mm y Kova como se indicó en el análisis de precisión.

Examen químico. Se introdujo una tira reactiva Combur 10 Test (Roche Diagnostics, EU) por 1 seg. aproximadamente en la muestra, el exceso se eliminó sobre papel absorbente en posición horizontal. La lectura se realizó visualmente transcurrido 1 minuto, excepto para leucocitos que fue a los 2 minutos.

Examen microscópico. Se procedió de la misma forma para los materiales de control y las muestras de los pacientes.

1. Método manual. Se centrifugaron los tubos de 13 x 100 mm a 1,500 rpm/5 minutos (centrífuga SOL-BAT, México), se decantó el sobrenadante y se resuspendió el sedimento en un volumen aproximado de 1 mL, a continuación se depositaron 25 μ L sobre un portaobjetos y se cubrió con un cubreobjetos de 22 x 22 mm. Se observó a 10x para búsqueda rápida de cilindros y a 40x en 10 campos para el conteo de leucocitos y eritrocitos (Carls Zeiss, Alemania).
2. Sistema Kova. A los tubos graduados se les colocaron los tapones y se centrifugaron a 1,500 rpm/5 minutos (SOL-BAT, México), se insertó la pipeta en el fondo cónico para decantar el sobrenadante y obtener 1 mL de sedimento, con ayuda de la pipeta se resuspendió el botón, a continuación se llenó por capilaridad la cámara de conteo Kova (6.6 μ L) y se realizó el conteo de leucocitos y eritrocitos en 10 cuadrantes a 40x.
3. Sistema UF-100i (Sysmex Corporation, Japón). Se utilizó orina sin centrifugar después de una homogenización y se procesó siguiendo las indicaciones del fabricante. La muestra automáticamente se agita y el equipo aspira 800 μ L. Cuatrocientos μ L de esta muestra son diluidos con los reactivos para regular la presión osmótica de las células, pH y para hacer la tinción, también se remueven los uratos y fosfatos amorfos. El conteo se realiza en 9 μ L.

Análisis estadístico

Los conteos celulares en los métodos convencional y Kova fueron reagrupados en 4 categorías conforme lo descrito por Ben-Ezra y cols.:¹⁵ 0 – 5 cél/campo, 6 – 20 cél/campo, 21 – 50 cél/campo y > 50 cél/campo. Para el UF-100i en: 0 – 26 cél/mL, 27 – 105 cél/mL, 106 – 524 cél/mL y \geq 525 cél/mL.

Se utilizaron como medidas descriptivas, el coeficiente de variación para las variables cuantitativas, y frecuencias y porcentajes para las cualitativas. Se empleó la prueba McNemar para el análisis comparativo.

Para la asociación entre métodos se utilizaron la correlación de Pearson para las variables cuantitativas, y para las cualitativas el estadístico de gamma¹⁶ y la correlación de Spearman. El estadístico de gamma es una medida de asociación entre dos variables en escala ordinal, siendo la probabilidad de que un par al azar de observaciones sea concordante menos la probabilidad de que el par sea discordante, asumiendo la ausencia de colas. Es un parámetro simétrico, tiene un intervalo entre 0 y 1, y se interpreta como cualquier otra correlación.

Se consideró una significancia estadística con un valor de $p < 0.05$. Todos los análisis se llevaron a cabo con el paquete estadístico SPSS V. 10.0.

RESULTADOS

Precisión

Como observación en el análisis físico de los materiales de control se pudo apreciar que el Kova-trol I tiene un color amarillo muy intenso semejante a una muestra de orina A_{III}.

La lectura del examen químico de cada uno de los materiales de control correspondió a los intervalos establecidos por la casa comercial y de acuerdo a la marca de tira reactiva utilizada y fue realizada por un solo analista. Se determinó la precisión intra-ensayo para eritrocitos y leucocitos de cada uno de los materiales de control y por cada uno de los métodos. Se observó que el coeficiente de variación (CV) para ambos tipos celulares y diferentes niveles es menor con el UF-100i, encontrándose una diferencia estadísticamente significativa entre el sistema automatizado y el método convencional (*Cuadro I*). Los coeficientes de correlación para el conteo de eritrocitos fueron: entre el método Kova y UF-100i $r = 0.950$; convencional y UF-100i $r = 0.899$. Para leucocitos los coeficientes de correlación fueron de $r = 0.742$ entre Kova y UF-100i; convencional y UF-100i de $r = 0.536$, todos estadísticamente significativos ($p < 0.0001$). El equipo automatizado tiende a contar entre 8 y 10 eritrocitos más que el método estandarizado.

Análisis de concordancia y correlación con muestras de orina

De las 254 muestras analizadas, 89 resultaron con algún tipo de alteración en el uroanálisis y el resto no

mostró modificación en los parámetros de significancia clínica.

En el *cuadro II* se observa la frecuencia de orinas con eritrocitos y leucocitos de acuerdo a los intervalos establecidos, observándose que el sistema UF-100i tiene la capacidad de discriminar las muestras patológicas de las no patológicas y cuantificar un menor número de muestras en los tres intervalos considerados como de conteo alto. Particularmente, el equipo automatizado identifica como muestras con cuentas altas, 14% menos de las muestras patológicas para leucocitos. Con relación a los eritrocitos, se identifican 8% menos de las muestras patológicas, todo comparando contra el método estandarizado. El resultado del UF-100i concuerda del 92 al 95% con el Kova en que las muestras son negativas y en el 71% que son positivas para eritrocitos y 90% que lo son para leucocitos (*Cuadro III*).

Para conocer el grado de confiabilidad del sistema UF-100i y complementar el dato obtenido de imprecisión, se determinó la concordancia entre métodos con el estadístico de gamma, empleando los resultados reagrupados en las categorías ordinales. Se encontraron coeficientes con valores entre 0.900 y 0.975, es decir una buena concordancia no debida al azar, entre los métodos y con la lectura de la tira reactiva. Las mejores concordancias se observan con el sistema Kova (*Cuadro IV*).

También se determinó la correlación entre los métodos, encontrándose coeficientes de correlación más altos entre el método UF-100i y Kova para leucocitos $r = 0.914$ ($p < 0.0001$), y para eritrocitos $r = 0.758$ ($p < 0.0001$), aunque la mejor correlación para este último parámetro fue entre el sistema Kova y el método convencional. La correlación más baja se encontró entre el UF-100i y la tira reactiva en ambos tipos celulares (*Cuadro V*).

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

Método	Eritrocitos (%)	Leucocitos (%)
Kova-trol I		
Convencional	27	27
Kova	13	15
UF-100i	6	14
Kova-trol II		
Convencional	50	26
Kova	15	16
UF-100i	12*	10

*Prueba de McNemar, $p < 0.05$, comparando el método convencional vs UF-100i.

DISCUSIÓN

En los laboratorios clínicos uno de los procedimientos menos automatizado es el uroanálisis. Particularmente, el análisis del sedimento urinario se lleva a cabo por la observación microscópica de una muestra de orina centrifugada, lo que provoca una pérdida de elementos formes principalmente leucocitos y eritrocitos que se traduce en imprecisión.^{4,17}

Con la idea de mejorar la imprecisión en este análisis, se han diseñado equipos automatizados que realizan la lectura del sedimento urinario en muestras no centrifugadas, uno de ellos, el Sysmex UF-100i tiene como fundamento la citometría de flujo. Este equipo ha sido evaluado por diferentes autores, pero no se ha medido la imprecisión utilizando materiales de control diferentes a los calibradores del propio equipo. Tampoco se han hecho comparaciones con las mismas muestras entre los diferentes métodos, particularmente con el método convencional.

Precisión

Este trabajo es el primero en el que se determina la imprecisión intraensayo del sistema UF-100i, utilizando materiales comerciales elaborados para el análisis de sedimento urinario manual. Se obtuvieron coeficientes de variación entre 6 y 14% para el método automatizado. Al respecto, Ottiger y Huber,¹² encontraron una precisión de 4.1% para eritrocitos y 2.8% para leucocitos utilizando una mezcla de partículas de látex (material de control del equipo); y Fenili y Pirovano¹⁸ observaron una imprecisión del 2.4 al 17.7% con muestras de orina, lo que demuestra que ésta es baja aun con materiales de control elaborados para fines de control de calidad no automatizado y semejante a la reportada para los controles del equipo. 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.^{13,15} Al respecto, en este trabajo se observó este mismo fenómeno, pero se encontraron impresiones menores a las reportadas, tal vez porque en los estudios mencionados la imprecisión se obtuvo con muestras de pacientes. 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, en tanto que por microscopía pueden pasar inadvertidos por la gran cantidad de leucocitos.

Cuadro II. 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.¹⁵

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

Prueba McNemar, * $p < 0.0001$, [†] $p < 0.01$, [‡] $p < 0.05$, comparando vs UF-100i.

Cuadro III. 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
Eritrocitos		
Tira reactiva	200 (84%)	13 (77%)
Convencional	222 (94%)	12 (71%)
Kova	224 (95%)	12 (71%)
Leucocitos		
Tira reactiva	213 (91%)	14 (74%)
Convencional	208 (89%)	16 (84%)
Kova	217 (92%)	17 (90%)

Cuadro IV. 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*
Convencional	0.932*	0.945*
Kova	0.975*	0.952*

*Prueba gamma, $p < 0.0001$.**Cuadro V.** Correlación entre los métodos para cuenta de eritrocitos y leucocitos en el sedimento urinario de orinas de pacientes.

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

*Correlación de Pearson, $p < 0.0001$; †correlación de Spearman, $p < 0.0001$.

tos. La imprecisión más alta fue en el conteo de leucocitos muy probablemente debido a la composición de los controles (color y las partículas añadidas para simular el tamaño de los leucocitos hacen que las características de tinción no sea igual a la de células sanguíneas) que interfiere con el principio del método, porque se hace una tinción y se emiten diversos grados de fluorescencia según el elemento forme.¹¹

Las comparaciones fueron realizadas contra el método estandarizado Kova, debido a que en el método convencional hay muchas variaciones en el procedimiento que deben ser controladas.¹⁹ En este trabajo se tuvo cuidado en evitar estas posibles fuentes de error, sin embargo, aún persiste la imprecisión atribuible al factor humano.

Análisis de concordancia

Se ha reportado que el conteo de 0 – 5 células/campo es equivalente a 0 – 26 células/ μL en el equipo automatizado, considerándose como mejor valor de corte > 25 células/ μL .^{15,20} Tomando en cuenta esta consideración, el UF-100i identifica una mayor proporción de orinas con cuentas celulares ≤ 26 células/ μL tanto en orinas patológicas como no patológicas, encontrándose una no concordancia principalmente con la

tira reactiva. En este sentido, se ha reportado desacuerdo entre el equipo automatizado y la tira reactiva de 6.5% para eritrocitos y 4.8% para leucocitos, con un 3%, aproximadamente, de falsos negativos.^{1,21}

Comparando con el método estandarizado, se encontró un 2% de falsos negativos en orinas no patológicas y 14% para leucocitos y 8% para eritrocitos en orinas patológicas, sin embargo, se observa una concordancia negativa del 92% y 90%, respectivamente, similar a lo reportado por Koken y cols.²⁰ que mencionan una especificidad (capacidad del método para detectar una muestra como negativa) del UF-100i del 92% para leucocitos en orinas provenientes de pacientes con infección de vías urinarias.

Con relación a las muestras positivas, se encontró una mayor discrepancia en la proporción de muestras positivas de leucocitos en los diferentes intervalos de cuentas celulares, aunque sin observarse una diferencia estadísticamente significativa, siendo un número menor de muestras con cuentas altas; lo mismo se observó en el caso de los eritrocitos, pero sólo en las muestras con una cuenta $>$ de 525 células/ μL (equivalente a > 50 células/c). Esto es lógico puesto que cuando se hacen las revisiones del sedimento por microscopía, aun con el sistema estandarizado, el conteo de más de 30 células es difícil sobre todo si

también hay un conteo alto de eritrocitos, por lo que la precisión de las tiras reactivas es superior, aunque hay que recordar que éste es un método semicuantitativo y sólo debe utilizarse como un tamizaje. En este sentido, se reporta una sensibilidad (capacidad de la prueba para detectar a las muestras positivas) del 73% para leucocitos,²⁰ por lo que el valor encontrado en este estudio es superior (90%). Para eritrocitos no se encontró un resultado con qué comparar, pero es posible explicar las discordancias puesto que en muestras con eritrocitos pequeños y distorsionados (dismórficos) provenientes de vías urinarias superiores que al teñirse la membrana emiten una luz muy débil, éstos son incorrectamente clasificados como levaduras por el sistema UF-100i por interferencia con hematuria visible. La casa comercial recomienda no procesar estas muestras que necesariamente requieren revisión microscópica, ya que se distribuyen en la zona de intensidad de fluorescencia baja muy próxima a las levaduras. En este sentido, recientemente se ha reportado que el UF-100i tiene una limitada capacidad para discriminar hematurias de origen glomerular y no glomerular en poblaciones con alta incidencia de enfermedad renal, con una baja especificidad en la detección de sangrado de origen glomerular.¹⁴ En el conteo por microscopía hay variación debido a que depende de la distribución de las células en la superficie de conteo, los eritrocitos se pueden pasar por alto cuando hay muchos leucocitos aun con un examen químico positivo, con una densidad urinaria menor a 1.011 y si los eritrocitos tienen baja cantidad de hemoglobina.¹⁸ 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 reducir o prácticamente eliminar los falsos positivos o negativos, pero el tiempo transcurrido después de emitida la muestra y el pH también afectan el conteo de leucocitos y eritrocitos.²²

En el caso de los leucocitos, si se encuentran viejos o dañados, lo cual ocurre conforme transcurre el tiempo desde la obtención de la muestra, se aprecian alteraciones en el volumen y densidad, cambiando su distribución a la zona de baja intensidad de luz dispersa frontal y alta fluorescencia, generando variación en el conteo.⁵

Considerando la comparación entre los métodos en escala ordinal, se aprecia una buena concordancia entre ellos y la tira reactiva con el UF-100i, particularmente en el conteo de leucocitos ($\gamma = 0.975$) y eritrocitos ($\gamma = 0.952$) no debida al azar más allá del método y analista, punto esencial para evaluar la

confiabilidad del método, además de la precisión. Al respecto, Ben-Ezra y cols. encontraron resultados semejantes utilizando la misma prueba, por lo que sugieren que el uso del UF-100 es confiable el conteo de este tipo de células en el sedimento urinario.¹⁵

Análisis de correlación

La correlación entre los métodos es superior entre el método estandarizado y el automatizado para leucocitos ($r = 0.914$), pero no así para eritrocitos ($r = 0.758$). Diferentes estudios han reportado excelentes correlaciones en la cuenta de leucocitos y los diferentes métodos utilizados en este trabajo, todos superiores a $r = 0.900$, tanto para el método convencional^{13,18,23} como el Kova.¹²

Para eritrocitos, los diferentes reportes muestran correlaciones superiores a la encontrada en este trabajo, pero discordantes entre sí;^{12,13,18,23} aunque, como ya se había mencionado, estudios clínicos dirigidos a la diferenciación de la hematuria reportan resultados no muy alentadores.¹⁴ En este sentido, tanto en el método convencional como en el sistema Kova se realiza el proceso de centrifugación, que inevitablemente genera pérdida de los elementos a contar, aunado a la experiencia del analista y habilidad en el manejo de los métodos. La buena correlación encontrada entre el método Kova y el convencional es probablemente debida a que el error provocado por la centrifugación y el analista es una constante.

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 trabajo ($r = 0.785$ y 0.636 para leucocitos y eritrocitos, respectivamente).²¹ Un factor que provoca error es la lectura visual debido a la capacidad del analista, el tiempo de reacción y el cansancio.⁸

En conclusión, es posible y recomendable utilizar los materiales de control comercial para uroanálisis como control de calidad interno para el sistema UF-100i. El sistema automatizado puede ser utilizado con confianza para llevar a cabo el conteo de eritrocitos y leucocitos en orina sin centrifugar, a excepción de las muestras con hematuria visible. Aún no es posible eliminar la lectura microscópica de las muestras urinarias con muchos elementos formes en el sedimento, pero un buen análisis fisicoquímico y el uso del sistema automatizado permitirán disminuir la carga de trabajo para los analistas, evitando así el posible error humano.

AGRADECIMIENTOS

Se extiende un agradecimiento a: QFB. Esteban Díaz Mena (Hospital General de Zona No. 47, IMSS), Dr. Mariano Zacarías Flores (Hospital Gustavo Baz Prada, ISEM), Dr. Julio Kagi Kiyono (Hospital Regional 1° de Octubre, ISSSTE), QBP. Guillermo Flores Cedi- llo, QFB. Carmina Jiménez Ramírez, por propor- cionar facilidades para la obtención de las muestras de orina. Este estudio contó con el apoyo de Roche Diag- nostics.

REFERENCIAS

1. Lun A, Ziebig R, Priem F, Filler G, Sinha P. Routine wor- kflow for use of urine strips and urine flow cytometer UF- 100 in the hospital laboratory. *Clin Chem*. 1999; 45: 1305-7.
2. *Diario Oficial de la Federación*. NOM-166-SSA1-1997. Para la organización y funcionamiento de los laboratorios clínicos. Jueves 13 de enero del 2000.
3. Ravinovitch A, Sarewitz SJ, Woodcock SM, Allinger DB, Azar M, Dynek PA, et al. National Committee for Clinical Laboratory Standards. Urinalysis and collection, transpor- tation, and preservation of urine specimens; approved gui- deline. *NCCLS Document* 2000; 21(19).
4. Winkel P, Statland BE, Jorgenson J. Urine microscopy: an ill-defined method examined by a multifactorial technique. *Clin Chem*. 1974; 20: 436-9.
5. 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 Bio- chem*. 2006; 39: 873-8.
6. Okada H, Sarai Y, Kawabata G, Fujisana M, Arakawa S, Hamaguchi Y, et al. Evaluation of the Sysmex UF-50. *Am J Clin Pathol*. 2001; 115: 605-10.
7. Castillo de Sánchez ML, Fonseca Yerena ME [Eds]. Mejoría continua de la calidad. Guía para los laboratorios de Amé- rica Latina. México: *Médica Panamericana*; 1998. p. 53-70.
8. Dimech W, Roney K. Evaluation of an automated urinaly- sis system for testing urine chemistry, microscopy and cul- ture. *Pathology*. 2002; 34: 170-7.
9. Wah DT, Wises PK, Butch AW. Analytic performance of the iQ200 automated urine microscopy analyzer and com- parison with manual counts using Fushs-Rosenthal cell chambers. *Am J Clin Pathol*. 2005; 123: 290-6.
10. Lamchiagdhase P, Preechaborisutkul K, Lomsomboon P, Srisuchart P, Tantiniti P, Khan-u-ra N, et al. Urine sedi- ment examination: a comparison between the manual me- thod and the iQ200 automated urine microscopy analyzer. *Clin Chim Acta*. 2005; 358: 167-74.
11. Delanghe JR, Kouri TT, Huber AR, Hannemann-Pohl K, Guder WG, Lun A, et al. The role of automated urine par- ticle flow cytometry in clinical practice. *Clin Chim Acta*. 2000; 301: 1-18.
12. Ottiger C, Huber AR. Quantitative urine particle analysis: integrative approach for the optimal combination of auto- mation with UF-100 and microscopic review with Kova cell chamber. *Clin Chem*. 2003; 49: 617-23.
13. 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.
14. Scharnhorst V, Gerlag PG, Nanlohy Manuhutu ML, van der Graaf F. Urine flow cytometry and detection of glo- merular hematuria. *Clin Chem Lab Med*. 2006; 44: 1330-4.
15. Ben-Ezra J, Bork L, McPherson RA. Evaluation of the Sysmex UF-100 automated urinalysis analyzer. *Clin Chem*. 1998; 44: 92-5.
16. Siegel S, Castellan NJ. Estadística no paramétrica. *Aplica- da a las ciencias de la conducta*. 3a Ed. México: Trillas; 1995. p. 333-41.
17. Carlson DE, Statland BE. Automated urinalysis. *Clin Chem Lab Med*. 1988; 8: 449-61.
18. Fenili D, Pirovano B. The automation of sediment urinaly- sis using a new urine flow cytometer (UF-100™). *Clin Chem Lab Med*. 1998; 36: 909-17.
19. Jiménez-López C, Hernández-González A, Sánchez-Rodrí- guez M, Cabrera-Aguilar A, Rivas-Contreras E. Inconve- nientes del método manual para la lectura del sedimento urinario. *Bioquímica*. 2006; 31(Supl 1): 110.
20. Koken T, Aktepe OC, Serteser M, Samli M, Kahraman A. Determination of cut-off values for leucocytes and bacteria for urine flow cytometer (UF-100) in urinary tract infectio- ns. *Int Urol Nephrol*. 2002; 34: 175-8.
21. 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.
22. Simerville JA, Maxted WC, Pahira JJ. Urinalysis: a com- prehensive review. *Am Fam Physician*. 2005; 71: 1153-62.
23. Regeniter A, Haenni V, Risch L, Kochli HP, Colombo JP, Frei R, et al. Urine analysis performed by flow cytometry: reference range determination and comparison to morpho- logical findings, dipstick chemistry and bacterial culture re- sults-a multicenter study. *Clin Nephrol*. 2001; 55: 384-92.