

Comparación de la observación de leucocitos en el sedimento urinario con el recuento en cámara de Neubauer*

Comparison between the observation of white blood cells from centrifuged urine smear and the Neubauer chamber

► Horacio Angel Lopardo¹, Jose Luis Pinheiro²

1. Doctor en Ciencias Bioquímicas. Profesor Titular de Bacteriología Clínica, Universidad Nacional de La Plata. Jefe del Servicio de Microbiología, Hospital de Pediatría "Prof. Dr. Juan P. Garrahan".

2. Técnico de Laboratorio. Servicio de Microbiología, Hospital de Pediatría "Prof. Dr. Juan P. Garrahan".

* Servicio de Microbiología, Hospital de Pediatría "Prof. Dr. Juan P. Garrahan". Combate de los Pozos 1881 (1245) Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina.

Resumen

Se comparó la metodología rutinaria de observación del sedimento urinario entre porta y cubreobjetos con el recuento en cámara de Neubauer, tomado como método de referencia y se verificó su capacidad de predicción de bacteriuria significativa. En un período de dos meses se realizaron 2.287 urocultivos. Sólo 1.153 resultaron evaluables según los criterios de exclusión y en 982 se pudo correlacionar ambos métodos microscópicos con el resultado de los cultivos. La correlación entre los recuentos en cámara y las observaciones del sedimento urinario fue del 96,4%. Las sensibilidades respectivas de la observación del sedimento y del recuento en cámara respecto del urocultivo fueron de 53,5% y 55,5%. Las especificidades respectivas fueron del 90,7% y 91,4%. A partir de los resultados obtenidos se infiere que la observación de leucocituria significativa es predictiva de la bacteriuria significativa. Por el contrario, su ausencia no puede ser un motivo para descartarla. La observación del sedimento entre porta y cubreobjetos resultó prácticamente equivalente al método más tedioso de recuento en cámara de Neubauer.

Palabras clave: leucocitos * sedimento urinario * Cámara de Neubauer * urocultivo * niños

Summary

The current method of centrifuged urine smear was compared to the Neubauer chamber method, using this technique as the gold standard. Their predictive ability for detecting significant bacteriuria was determined. During two months, 2.287 urine cultures were studied. Only 1.153 were evaluable. In 982 samples a comparison between the two microscopic methods could be established. The correlation between them was 96,4%. The sensitivity of the centrifuged urine smear and the Neubauer chamber

Acta Bioquímica Clínica Latinoamericana

Incorporada al Chemical Abstract Service.

Código bibliográfico: ABCLDL.

ISSN 0325-2957

ISSN 1851-6114 en línea

method was 53.5% and 55.5% respectively. Specificities were 90.7% and 91.4%. Those results pointed out that seeing a significant number of polymorphonuclear neutrophils (PMNs) both in the centrifuged urine smear and in the Neubauer chamber was predictive of significant bacteriuria. On the other hand, absence of PMNs is not an argument for not considering this possibility. Centrifuged urine was equivalent to the Neubauer chamber method in this comparative study

Key words: *white blood cells * centrifuged urine * Neubauer chamber * urine culture * children*

Introducción

La infección urinaria constituye un problema frecuente y de gran importancia en la primera infancia. Los niños con historia previa de pielonefritis pueden evolucionar hacia la formación de cicatrices renales, uremia y/o hipertensión en etapas posteriores de su vida (1).

Desafortunadamente, existe cierta incertidumbre en el diagnóstico microbiológico de esas infecciones, especialmente en lactantes, donde alrededor de un 90% de las mismas comprometen el parénquima renal.

Esa incertidumbre está generada por las dificultades que conlleva la toma de muestra, la falta de sensibilidad de los métodos de *screening* y la falta de estandarización de la interpretación de los resultados de los cultivos.

La infección urinaria se define como el resultado de la agresión microbiana del parénquima urinario, con o sin compromiso intersticial (2). La presencia de leucocitos en la orina es el marcador más sencillo para detectar la inflamación de dicho parénquima. La observación de leucocitos en el sedimento urinario es una práctica habitual y ha sido recomendada como complemento para la interpretación de los urocultivos. Algunos autores preconizan el uso de los recuentos de leucocitos de la orina sin centrifugar en cámara de Neubauer, como método más preciso (3). No obstante, este método resulta demasiado laborioso para laboratorios que procesan un gran número de muestras (4).

Uno de los objetivos de este trabajo fue comparar la metodología rutinaria de observación del sedimento entre porta y cubreobjetos con el recuento en cámara de Neubauer, tomado como método de referencia. El otro objetivo planteado fue verificar la capacidad de predicción de bacteriuria significativa de cada uno de estos métodos.

Materiales y Métodos

PACIENTES

Se incluyeron todos los pacientes menores de 18 años cuyas muestras de orina fueron procesadas en es-

te servicio de Microbiología en forma consecutiva por un período de dos meses.

Se excluyeron aquéllos cuyos urocultivos se enviaron para control intratratamiento, aquéllos que presentaban sonda permanente, ureterostomía, vesicostomía o nefrostomía y aquéllos cuyos datos eran insuficientes o que no pudieron estudiarse por ambos métodos.

DISEÑO

Se comparó el método de observación del sedimento entre porta y cubreobjetos con el recuento en cámara de Neubauer, tomándose a este último como método de referencia. Estos métodos fueron efectuados en forma ciega por distintos operadores.

Luego se determinó la sensibilidad, especificidad, valor predictivo positivo y negativo de la observación del sedimento urinario y del recuento en cámara de Neubauer tomando como referencia el desarrollo significativo en los urocultivos. Por razones operativas, este estudio comparativo no pudo realizarse en forma ciega respecto del cultivo.

OBSERVACIÓN DEL SEDIMENTO URINARIO

Se centrifugaron no menos de 5 mL y no más de 10 mL de cada muestra de orina en tubos de vidrio de 15 mL de capacidad y fondo cónico durante 10 minutos a 2.000 rpm. Se resuspendió el sedimento en aproximadamente 0,5 mL del sobrenadante y se montó una gota entre un porta y un cubreobjetos. La observación microscópica se realizó con un aumento de 400X. Se consideró ≥ 5 leucocitos por campo como punto de corte para leucocituria significativa a los efectos de establecer la comparación con el recuento en cámara y con el urocultivo (método de referencia). Este punto fue elegido en base a los datos observados en la literatura y a la experiencia previa de los autores (4).

OBSERVACIÓN DE LEUCOCITOS EN CÁMARA DE NEUBAUER

La observación se efectuó en cinco de los nueve cuadrados grandes de la cámara (5). Se consideró que la presencia de leucocitos era significativa cuando se observaron más de 10 por mm^3 (3).

UROCULTIVO

Los cultivos se realizaron a partir de muestras de orina recién emitidas o conservadas a 4 °C no más de 24 h. Se emplearon ansas calibradas de 5 µL y con ellas se estriaron las correspondientes placas. Cada muestra se sembró en una placa de agar CLDE (Laboratorios Britania, Buenos Aires, Argentina) y una placa de agar chocolate con base de agar Columbia (Laboratorios Britania, Buenos Aires, Argentina).

Se consideraron positivos (bacteriuria significativa) aquellos cultivos que presentaron desarrollos monomicrobianos con recuentos mayores o iguales a 10⁴ unidades formadoras de colonias por mL (ufc/mL). Las muestras que produjeron cultivos polimicrobianos o cultivos monomicrobianos con recuentos menores de 10⁴ ufc/mL sólo se consideraron para comparar el recuento en cámara con la observación del sedimento entre sí, sin sacar conclusiones acerca de su correlación con el cultivo. Sólo las muestras con cultivos polimicrobianos menores a 10⁴ y aquéllas en las que no se obtuvo desarrollo microbiano fueron consideradas negativas a los efectos de este estudio.

Resultados

En un período de dos meses se realizaron 2.287 urocultivos. Sólo 1.153 resultaron evaluables según los criterios de exclusión y 982 de ellos permitieron co-

rrelacionar ambos métodos microscópicos con el resultado de los cultivos.

La correlación entre los recuentos en cámara y las observaciones del sedimento urinario fue del 96,4% (Tabla I).

De la comparación con los urocultivos, surgió que las sensibilidades de ambos métodos microscópicos fueron del 53,5% y del 55,5% respectivamente para la observación del sedimento y el recuento en cámara. Las especificidades respectivas fueron del 90,7% y 91,4% (Tabla II).

Discusión y Conclusiones

El recuento en cámara de Neubauer de la orina sin centrifugar ha sido preconizado por algunos autores como el método de elección para valorar la presencia de leucocitos en muestras de pacientes con infecciones urinarias. Su costo operativo fue una traba para que se extendiera su uso en laboratorios que procesaban un gran número de muestras.

En el presente trabajo, la correlación entre la observación semiestandarizada entre porta y cubreobjetos y la realizada con la cámara de Neubauer fue del 96,4%.

Existen notables diferencias entre ambos métodos en lo que hace a la posibilidad de introducir errores sistemáticos, no obstante los resultados fueron com-

Tabla I. Comparación del método observación del sedimento entre porta y cubreobjetos con el método de recuento de leucocitos de la orina sin centrifugar en cámara de Neubauer.

Recuento en cámara	Sedimento urinario		Totales
	≥5 L / campo	<5 L / campo	
>10 L / mm ³	196	4	200
<10 L / mm ³	31	751	782
Totales	227	755	982

L = leucocitos. Correlación = 196 + 751 / 982 = 96,4%.

Tabla II. Comparación de ambos métodos microscópicos con los resultados de los urocultivos.

	Sedim	Sedim	Cámara	Cámara
	≥5/L/c	≤5 L/c	≥10 L / mm ³	≤10 L / mm ³
Cultivo positivo. N = 243	130	113	135	108
Cultivo negativo. N = 739	68	671	61	650
Total. N = 982	198	784	196	758
S		53,5%		55,5%
E		90,7%		91,4%
VPN		85,6%		85,7%
VPP		65,6%		68,9%

Sedim = observación del sedimento entre porta y cubreobjetos. Cámara = observación en cámara de Neubauer de una gota de orina sin centrifugar, S = sensibilidad, E = especificidad, VPN = valor predictivo negativo, VPP = valor predictivo positivo. L = leucocitos.

parables. Este hecho puede explicarse al considerar que el número de muestras con presencia de 3 a 5 leucocitos por campo (cerca al punto de corte) normalmente es bajo (3% en este estudio, resultados no mostrados). En estas circunstancias, las posibilidades de cometer errores en la valoración de la ausencia o presencia significativa de leucocitos resultan escasas.

Ambos métodos parecen poco apropiados para poder descartar infecciones urinarias en poblaciones pediátricas similares a la estudiada por los autores. Estos métodos podrían producir resultados falsamente negativos en casi un 50% de los casos positivos por cultivo (S=44,5% - 46,5%) y resultados falsamente positivos en un 9 a 10% (E=90,7 - 91,4%). La negatividad de un sedimento o un recuento en cámara correspondió a más del 85% de las muestras con cultivo negativo (VPP=85,6% - 85,7%).

La presencia de una cantidad significativa de leucocitos, tanto en la observación microscópica del sedimento urinario como en el recuento en cámara, correspondió a urocultivos positivos en más del 65% de los casos (VPP=65,6% - 68,9%).

Kass (6), trabajando con otras poblaciones, empleando otros puntos de corte para evaluar los urocultivos, pero utilizando el mismo punto de corte que se empleó en el presente trabajo para el sedimento urinario, encontró que entre un tercio y la mitad de los pacientes que presentaban bacteriuria significativa tenían más de 5 leucocitos por campo en el sedimento.

Crain y Gershel (7), coincidentemente, en una población pediátrica menor de dos meses, informaron una baja sensibilidad para el estudio microscópico del sedimento (48%). Hoberman, *et al.* (8) mencionaron cifras similares (54%) en un estudio de prevalencia de infecciones urinarias en niños febriles. El punto de corte utilizado en ese caso para el cultivo fue el mismo que el empleado en este estudio (10^4 ufc/mL). Estos autores, sin embargo, tomaron todas las muestras por cateterismo. Además, algunas muestras de escaso volumen no fueron excluidas del estudio y se observaron sin centrifugar entre porta y cubreobjetos. Esto pudo hacer descender la sensibilidad del método a pesar que en su discusión los autores manifiestan no registrar habitualmente diferencias entre la orina normal y la centrifugada. Contradictoriamente, estos mismos investigadores en otro estudio de 4.253 niños febriles menores de 2 años encontraron que la presencia de leucocitos y/o una coloración de Gram positiva arrojaban valores de sensibilidad del 95% y un VPP del 85% (9).

Stamm, por otra parte, en una población adulta, encontró muy buena correlación entre el recuento en cámara y el cultivo (3).

La diversidad de resultados observados en la literatura

puede deberse al tipo de población estudiada, a los distintos métodos empleados para la toma de muestra y para el cultivo y a los cuidados especiales que se tienen en laboratorios de investigación (10).

Gorelick y Shaw efectuaron un metaanálisis con 1.489 trabajos, destinado a dilucidar cuáles eran las pruebas más útiles para predecir infecciones urinarias en niños (11). Sólo 26 de ellos cumplieron con los criterios de inclusión. Solamente ocho trabajos aportaron datos obtenidos por estudio microscópico de orina centrifugada.

Según este metaanálisis la coloración de Gram y el uso de recuento de leucocitos en cámara de Neubauer tenían mayor sensibilidad y especificidad que la presencia de leucocituria en una muestra, ya sea centrifugada o no.

En el presente estudio, por el contrario, la observación del sedimento entre porta y cubreobjetos según el procedimiento establecido en Materiales y Métodos resultó prácticamente equivalente al más tedioso método de recuento en cámara de Neubauer.

Los resultados obtenidos en este estudio, no obstante, coincidieron con este metaanálisis en que la presencia de más de 5 leucocitos por campo no podía diagnosticar *per se* un episodio de infección urinaria y se señala, al igual que Kass (6), que la observación de leucocituria significativa tiene valor predictivo para la infección urinaria de no mediar circunstancias particulares no analizadas por los autores (glomerulonefritis, tumores del tracto urinario, tratamiento antibiótico en curso o cercano). Por el contrario, su ausencia no puede ser motivo de descarte de bacteriuria significativa.

CORRESPONDENCIA

DR. HORACIO LOPARDO
Servicio de Microbiología
Hospital de Pediatría Prof. Dr. Juan P. Garrahan
Combate de los Pozos 1881
(1245) CIUDAD AUTÓNOMA DE BUENOS AIRES, Argentina
E-mail: hlopardo@garrahan.gov.ar

Referencias bibliográficas

1. Jacobson SH, Eklof O, Eriksson CG, Lins LE, Tidgren B, Winberg J. Development of hypertension and uremia after pyelonephritis in childhood: 27-year follow-up. *BMJ* 1989; 229: 703-6.
2. Challú A, Previgliano H, Bernstein-Hahn L, Bottini E, Casellas JM, Exeni R, *et al.* "Grupo de trabajo sobre infecciones urinarias: recomendaciones. Actualizaciones Médico-Bioquímicas. *Acta Bioquím Clín Latinoam* 1985; 17 (Supl 1): 1-58.
3. Stamm WE. Measurement of pyuria and its relationship to bacteriuria. *Am J Med* 1983; 75 (Suppl 1B): 53-85.

4. Morgan MG, Mc Kenzie H. Controversies in the laboratory diagnosis of community acquired urinary tract infections. *Eur Clin Microbiol Infect Dis* 1993; 12: 499-504.
5. Nelson DA, Henry JB. Hematología y coagulación. En: Henry JB, editores. *Todd-Sanford-Davidsohn Diagnóstico y Tratamiento Clínicos por el Laboratorio*. 8ª ed. Barcelona: Salvat Editores; 1988. p.735-8.
6. Kass EH. Asymptomatic infections of the urinary tract. *Trans Assoc Am Physicians* 1956; 69: 56-64.
7. Crain EF, Gershel JC. Urinary tract infections in febrile infants younger than 8 weeks of age. *Pediatrics* 1990; 86: 363-7.
8. Hoberman A, Wald ER, Penchansky L, Reynolds EA, Young S. Enhanced urinalysis as a screening test for urinary tract infection. *Pediatrics* 1993; 91: 1196-9.
9. Hoberman A, Wald ER, Reynolds EA, Penchansky L, Charron M. Is urine culture necessary to rule out urinary tract infection in young febrile children? *Pediatr Infect Dis J* 1996; 15: 304-9.
10. Schroeder AR, Newman TB, Wasserman RC, Finch SA, Pantell RH. Choice of urine collection methods for the diagnosis of urinary tract infection in young febrile infants. *Arch Pediatr Adolesc Med* 2005; 159: 915-22.
11. Gorelick MH, Shaw KN. Screening tests for urinary tract infection in children: a meta-analysis. Available from: <http://www.pediatrics.org/cgi/content/full/104/5/e54>. [Accessed February 15, 2008]

Aceptado para su publicación el 20 de febrero de 2008