



Análisis de orina: estandarización y control de calidad

 18 min.



El presente trabajo tuvo como objetivo aplicar una estandarización de rutina del proceso propuesto por la *National Committee of Clinical Laboratory Standards* y comprobar que dicha estandarización aumentaba significativamente los parámetros de calidad del proceso. Para ello el Laboratorio Central del Hospital General de

Agudos Dr. Cosme Argerich realizó un estudio comparativo entre observadores a modo de control de calidad. Esto permitió proponer un esquema metódico, sistemático y económico del control de calidad de los análisis de orina completo, obteniendo una mejora costo-beneficio, tanto para el paciente como para el médico solicitante.



Diego Javier Fernández¹,

Sofía Di Chiazza²,
Fernando Pedro Veyretou¹,
Liliana Mónica González²,
María Cristina Romero³

¹ Bioquímico.

² Técnico de Laboratorio de Análisis Clínicos.

³ Licenciada en Ciencias Químicas. Jefe Sección Química Clínica.

* Sección Química, Laboratorio Central, Hospital General de Agudos Dr. Cosme Argerich. Gobierno de la Ciudad Autónoma de Buenos Aires. Pi y Margal 720. La Boca. Ciudad Autónoma de Buenos Aires. Argentina.



LABORATORIO DE MEDICINA ES EL LABORATORIO CON MAYOR NÚMERO DE DETERMINACIONES ACREDITADAS. **ISO 15189.**

En el año 2014, la auditoría de calidad acreditó 114 determinaciones.

Nuestro compromiso de calidad con usted se renueva año a año.

TECNOLOGÍA, EXPERIENCIA, CONOCIMIENTO Y CALIDEZ HUMANA.

www.labmedicina.com
Teléfono: 0810 888 4421



LABORATORIO DE MEDICINA
ANÁLISIS CLÍNICOS | Dr. Raul Gutman

CALIDAD  CERTIFICADA

Acta Bioquím Clín Latinoam 2014; 48 (2): 213-21.
 Código bibliográfico: ABCLDL.
 ISSN 0325-2957
 ISSN 1851-6114 en línea
 ISSN 1852-396X (CD-ROM)



CORRESPONDENCIA

Lic. María Cristina Romero
 Sección Química. Laboratorio Central.
 Hospital General de Agudos Dr. Cosme
 Argerich
 E-mail: cris@qb.fcen.uba.ar



Resumen

El examen de orina completa data de los tiempos de Hipócrates. En la actualidad se basa en la utilización de tiras reactivas y la visualización al microscopio, careciendo de una estandarización actualizada y control de calidad. En el presente trabajo se realizó un estudio comparativo entre observadores, estandarizando el proceso y elaborando una solución control junto con una colección fotográfica del sedimento para enseñanza, entrenamiento y control interno. Se evaluaron 200 muestras de orinas de pacientes al azar. Los parámetros fisicoquímicos se determinaron en un equipo Urisys 2400 (Roche). El análisis microscópico fue realizado por dos operadores experimentados. Se preparó una solución control positiva de los parámetros usuales de tiras reactivas. Los resultados fueron analizados mediante el test *Kappa*, $p < 0,05$. La correlación entre observadores, utilizando el procedimiento propuesto, fue siempre mayor que con el proceso de rutina. La solución control fue estable durante los 4 meses que duró la experiencia, dando positivas las determinaciones de glucosa, proteínas, hemoglobina, cetonuria y leucocitos, manteniéndose el valor de pH y de densidad. Se concluye que con la estandarización se logró aumentar el grado de correlación entre observadores, por lo tanto se propone el uso de esta metodología para uniformar criterios; además, la preparación de la sustancia control y de una colección fotográfica permitió controlar el procedimiento de una forma más económica sin dejar de lado la confiabilidad.

Palabras clave: control de calidad * análisis de orina completa * tiras reactivas * estandarización

Introducción

El análisis de orina es el más antiguo de los exámenes de laboratorio ya que su existencia data de la época de los egipcios. Consiste en un conjunto de pruebas fisicoquímicas que se deben realizar en una muestra de orina según los requisitos preestablecidos por el *National Committee of Clinical Laboratory Standards* en el año 1995 y que han sido recomendadas por el Comité Nacional para la estandarización de Laboratorios Clínicos, siendo una valiosa estrategia para la mejora continua y la confiabilidad de los procedimientos analíticos.

La importancia de la correcta realización del análisis de orina a través de tiras reactivas y su visualización microscópica, radica en su significancia diagnóstica en diversas patologías tanto renales como prerenales.

Al realizar un buen examen de orina quedan al descubierto afecciones renales y del tracto urinario hepatopatías enfermedades hemolíticas y trastornos del metabolismo de los hidratos de carbono. Si bien es un examen de rutina de gran utilidad es una tecnología con poco prestigio y relegada, que aún carece de una metodología de control de calidad apropiada y cuya estandarización ha sido un problema sin resolver hasta el día de hoy a nivel nacional ya que no se aplican en forma generalizada los criterios internacionales establecidos (1) pero que con cuidado y atención puede llegar a ser el examen más valioso si se ejecuta con habilidad y experiencia.

Un trabajo analítico debe proporcionar resultados con un alto nivel de exactitud y precisión ser reproducible tener como objetivo fundamental la obtención de resultados clínicamente útiles. Para ello el bioquímico debe tener en cuenta las tres etapas fundamentales de cualquier análisis:

- Fase preanalítica: permite obtener muestra apta y confiable.
- Fase analítica: proporciona una medición confiable.
- Fase postanalítica: aporta un informe confiable.

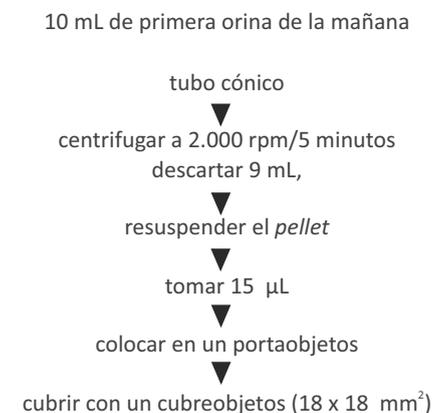
El presente trabajo tuvo como objetivos aplicar diariamente la estanda-

rización del proceso propuesta por el *National Committee of Clinical Laboratory Standards (NCCLS)* en 1995 y comprobar que dicha estandarización aumentaba significativamente los parámetros de calidad del proceso, realizar un estudio comparativo entre observadores a modo de control de calidad y elaborar una solución control de tiras reactivas y una colección fotográfica del sedimento para la enseñanza, entrenamiento y posterior control interno. El cumplimiento de estos objetivos llevaría a proponer un esquema para realizar, en forma metódica, sistemática y económica, el control de calidad para realizar el análisis de orina completa. A su vez, disminuiría el número de repeticiones, representando una mejora costo-beneficio, tanto para el paciente como para el médico solicitante.

Materiales y Métodos

Se evaluaron 200 muestras de pacientes elegidos al azar, primera orina de la mañana, recogidas en recipientes adecuados y procesadas antes de las dos horas de terminada la recolección o en su defecto refrigeradas hasta ser procesadas, ya que después de 2 horas la muestra se deteriora pudiéndose perder elementos formes en orinas alcalinas y de baja densidad. Se descartaron las orinas turbias y/o hemáticas. Los parámetros fisicoquímicos se determinaron en un equipo Urisys 2400-(Hitachi-ScienceSystems Ltd. IbaraKi-Japón). El análisis microscópico del sedimento fue realizado por dos operadores experimentados.

El procedimiento propuesto para el análisis fue:



Se observó al microscopio utili-

zando aumento 100X y 400X.

Solución Control Positivo de tiras reactivas: para evaluar los parámetros clásicos de la prueba de orina completa se confeccionó una solución madre conteniendo: urea (10,0 g), glucosa (1,0 g), cloruro de sodio (5,0 g), sangre con hematocrito entre 40 - 45% (0,1 mL), suero control (5,4 mL), sometidos ambos a screening serológico, acetona (4,0 mL) y formol (4,0 mL), agua destilada csp para llevar la solución final a 1,000 mL.

Solución Control Negativo de tiras reactivas: se utilizó agua destilada.

Los operadores (dos en total) realizaron el análisis primero de manera personal y luego de manera estandarizada sobre la misma muestra y al mismo tiempo. El análisis estadístico se realizó mediante el test Kappa considerando significativa $p < 0,05$

Resultados

SOLUCIÓN CONTROL POSITIVA DE TIRAS

REACTIVAS

Las tiras reactivas que se emplean para el análisis físico químico de orina suelen deteriorarse o contaminarse con el tiempo si no están debidamente almacenadas o manipuladas. Se evaluaron los parámetros clásicos de la prueba de orina completa como: glucosuria, proteinuria, hemoglobina en orina, cetonuria (se consideró la categoría vestigios como 0,5, una cruz como 1, dos cruces como 2 y así sucesivamente) según se muestra en la Figura 1. Los valores de pH ($x=5,0$) y de densidad ($x=1,009 \pm 0,001$) se mantuvieron estables durante toda la experiencia (6 meses) (Fig. 1).

El descenso de la cetona podría deberse a la evaporación de la misma tras un período de tiempo por la apertura del recipiente. Se debe alicuotar y refrigerar la solución control utilizando una alícuota cada vez que se inicia el proceso. El ascenso de glucosa en un punto se considera un hecho causado por un error aleatorio debido al mantenimiento semestral que requiere el equipo Urisys 2400 (Fig. 2).

El ensayo del control se realizó cada mañana antes de comenzar el trabajo diario, y tras cada cambio de lote de tiras reactivas. Si no se cuenta con un equipo automatizado/semiautomatizado de lector de tiras, el ensayo de control debería realizarse tras cada cambio de técnico.



Figura 1. Estabilidad de los parámetros físico químicos de la solución control durante la experiencia.



SEDIMENTO URINARIO:
ANÁLISIS DE CORRELACIÓN ENTRE OBSERVADORES, ESTANDARIZACIÓN DEL

Autoinmunidad

Porque la exactitud se consigue con reactivos de calidad e instrumentos fiables.

Amplia gama de productos conforman nuestras líneas de ELISA e IFI de Biosystems.

- › Sistema de alta expresión antigénica.
- › Inmejorable calidad y expresión de antígenos nucleares y citoplasmáticos.
- › Sin ruido de fondo.
- › Enfermedades autoinmunes sistémicas, Síndrome antifosfolípido, Enfermedad Celíaca.
- › Conjugados estandarizados frente referencia OMS.



Microscopio de fluorescencia LED

- › Sin necesidad de alineación de la fuente de luz.
- › Sin necesidad de reemplazo de la fuente de luz.
- › Sin tiempo de precalentamiento, instrumento listo para el uso en cualquier momento.
- › Elevada relación señal / ruido.
- › Permite la observación en campo claro.
- › Eficiencia energética y de bajo consumo.
- › LED no genera calentamiento.

alere.com

ALERE

14 de Julio 618, Buenos Aires Argentina
Tel: (011) 4554-4007 Fax: 4553-2141

PROCESO

El examen microscópico de sedimento urinario se practica fundamentalmente para detectar la presencia de elementos formes y partículas microscópicas: glóbulos blancos, glóbulos rojos, cilindros, cristales, bacterias, células epiteliales del tracto urinario y hasta células tumorales (2). El examen microscópico es una valiosa herramienta diagnóstica para la detección y evaluación de los trastornos renales y del tracto urinario. Es de especial interés la identificación y cuantificación de leucocitos, eritrocitos y cilindros para diferenciar enfermedades del parénquima renal.

El valor de este análisis depende del método estandarizado y la experiencia del operador que lo efectúe (3).

A) LEUCOCITOS

Se establecieron las categorías descriptas en la Tabla I para uniformar criterios entre observadores. Si bien el criterio es arbitrario, se considera como "sedimento normal" las categorías de muy escasos (ME) y escasos (E). Y como sedimento de "orinas patológicas" a las categorías regulares (R), abundantes (A) y/o muy abundantes (MA) leucocitos por campo, por lo que resulta crítica la distinción de las dos primeras categorías.



Tabla I. Categorías adoptadas en el informe del análisis de orina para leucocitos

Leucocitos por campo	Categoría	Informe
0 a 3	muy escaso	ME
4 a 7	escaso	E
8 a 11	regular	R
12 a 15	abundante	A
mayor a 15	muy abundante	MA

ME: muy escaso, E: escaso; R: regular, A: abundante, MA: muy abundante.

Los analistas bioquímicos informan la cantidad de leucocitos como una cantidad aproximada de leucocitos por campo por ejemplo 0 a 2 - 1 a 8 a 10 etc. Para establecer una correlación en forma gráfica se calculó el promedio de cada valor informado para hacer un gráfico de correlación y tener una impresión visual de

la dispersión de los resultados, calculando también, el coeficiente de correlación de Pearson que se aplica a variables independientes entre sí obteniéndose un r^2 de 0,71 (Fig. 3) para el proceso sin estandarizar y un r^2 de 0,5 para el proceso estandarizado (Fig. 4).

Los resultados de los analistas fueron agrupados por categorías. Se evaluó la correlación mediante el Test Kappa evidenciando una notable mejoría en la concordancia entre observadores utilizando el procedimiento propuesto como se visualiza en las Tablas II y III. En este caso la concordancia obtenida fue muy buena. El método estandarizado mejora la concordancia entre operadores para el recuento de leucocitos.



Figura 2. Estabilidad de los analitos de la solución control durante la experiencia.

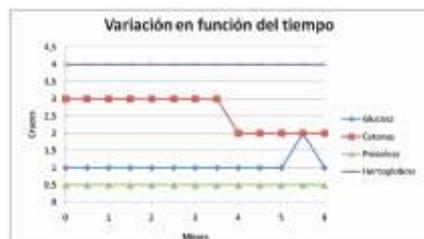


Figura 3. Leucocitos: variación entre operadores. metodología sin estandarizar.

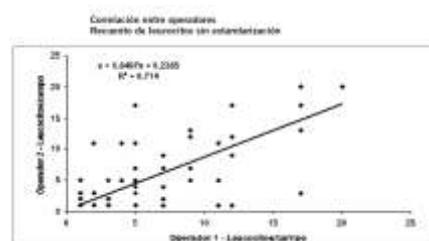


Figura 4. Leucocitos: variación entre operadores. Metodología estandarizada.

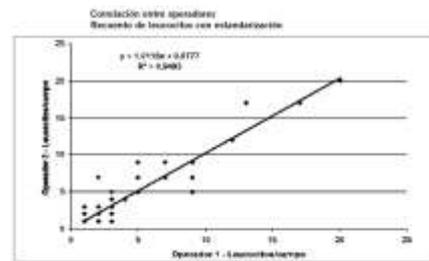


Tabla II. Análisis por test kappa para el procedimiento sobre leucocitos sin estandarizar.

Kappa	0,552
Varianza	0,00362
Desvío estándar	0,0602
Intervalo de confianza para k; alfa=0,05:	mayor que 0,434 menor que 0,670

k	Concordancia
<0,20	Pobre
0,21-0,40	Débil
0,41-0,60	Moderada
0,61-0,80	Buena
0,81-1,00	Muy Buena



Tabla III. Análisis por test kappa para el procedimiento sobre leucocitos estandarizado

Kappa	0,832
Varianza	0,00247
Desvío estándar	0,0497
Intervalo de confianza para k; alfa=0,05:	mayor que 0,734 menor que 0,929

k	Concordancia
<0,20	Pobre
0,21-0,40	Débil
0,41-0,60	Moderada
0,61-0,80	Buena
0,81-1,00	Muy buena

B) HEMATÍES

Análisis de correlación entre observadores, estandarización del proceso

Las categorías para uniformar criterios entre observadores se resumen en la Tabla IV.

Se tomó como punto de corte arbitrario la detección/no detección de hematíes. Los resultados para un proceso similar al desarrollado para los leucocitos se observa en la Tabla V, proceso sin estandarizar, Tabla VI proceso estandarizado. En este caso la concordancia obtenida fue buena.

C) CÉLULAS

Análisis de correlación entre observadores, estandarización del proceso

En el caso de las células, al ser un parámetro subjetivo su valor no fue significativo tras la estandarización.

Se elaboró una colección fotográfica con más de 200 imágenes con el objeto de ser utilizadas en la enseñanza y el entrenamiento de alumnos, nuevo personal y el control periódico del personal de la sección. Las figuras 5 - 12 son un ejemplo de la colección obtenida de las fotografías en el desarrollo del presente trabajo.



Tabla IV. Categorías adoptadas en el informe del análisis de orina para hematíes.

Hematíes por campo	Categoría	Interpretación
0	muy escaso	ME
1 a 6	escaso	E
7 a 13	regular	R
13 a 20	abundante	A
Mayor a 20	muy abundante	MA



Tabla V. Análisis por test kappa para el

procedimiento sobre hematíes sin estandarizar.

Kappa	0,487
Varianza	0,00389
Desvío estándar	0,0624
Intervalo de confianza para k; alfa=0,05:	mayor que 0,364 menor que 0,609

Interpretación:

k	Concordancia
<0,20	Pobre
0,21-0,40	Débil
0,41-0,60	Moderada
0,61-0,80	Buena
0,81-1,00	Muy buena



Tabla VI. Análisis por test kappa para el procedimiento sobre hematíes estandarizado.

Kappa	0,613
Varianza	0,00306
Desvío estándar	0,0554
Intervalo de confianza para k; alfa=0,05:	mayor que 0,505 menor que 0,722

Interpretación

k	Concordancia
<0,20	Pobre
0,21-0,40	Débil
0,41-0,60	Moderada
0,61-0,80	Buena
0,81-1,00	Muy Buena



Figura 5. Cilindro mixto - Corpúsculo de grasa - Células del epitelio renal. 400X LMG



Figura 6. Cilindro leucocitario. 400X LMG



**Inova
Diagnostics**
A Werfen Company

Enfermedades Autoinmunes

Quimioluminiscencia

BIO-FLASH



Síndrome Anti Fosfolípido

Cardiolipina IgG
Cardiolipina IgM
Cardiolipina IgA
 $\beta 2$ GPI IgM
 $\beta 2$ GPI IgG
 $\beta 2$ GPI IgA
 $\beta 2$ GPI Domain 1

Enfermedad Celíaca

DGP Screen
DGP IgA
DGP IgG
TG IgA
TG IgG

Artritis Reumatoidea

CCP3

Enfermedades del Tejido Conectivo

ENA 7
Jo-1
RNP
Sm
Ro60
Ro52
SS-B
Scl-70
Centrómero
DFS70
dsDNA
CTD Screen Plus
Ribosomal P

Vasculitis

MPO
PR3
GMB

Características

- Totalmente automatizado
- Acceso Random
- Almacena las curvas de calibración
- Elimina el procesamiento por lotes de reactivos
- Hasta 450 resultados en un solo turno
- Primer resultado en tan solo 30 minutos
- Almacena hasta 20 reactivos a bordo, refrigerados
- Pantalla Touch Screen

BIODIAGNOSTICO

Av. Ing. Huergo 1437 P.B. "I" C1107APB - Buenos Aires - Argentina Tel./Fax: +5411 4300-9090

info@biodiagnostico.com.ar www.biodiagnostico.com.ar



Figura 7. Hematíes conservados / hematíes crenados. 400X LMG



Figura 8. Levaduras vs. Hematíes. Hematíe teñido con eosina. Levadura, no se tiñe con eosina. 400X LMG



Figura 9. Levaduras – Leucocitos- Cilindros granulados. 400X LMG



Figura 10. Células de transición. 400X LMG



Figura 11. Piocitos – Leucocitos – Cilindros granulados. 400X LMG



Figura 12. Cilindro céreo – Células del epitelio renal. 400X LMG

Discusión



Discusión

La metodología utilizada para el análisis de rutina del sedimento urinario depende directamente de las habilidades del operador, careciendo, en general, de un método estandarizado intra e inter laboratorios para tal fin.

Un procedimiento que se acerca a la estandarización es el sistema Kova (4). La desventaja con que cuenta, en un país con grandes dificultades económicas en el sector salud como la Argentina, es su elevado costo que hace prohibitivo su uso.

Existen trabajos donde se intenta evaluar el control de calidad interno en un sistema automatizado, el sistema Kova y el método manual (5)(6). Otros evalúan a los profesionales responsables de este análisis, el uso de procedimientos estandarizados y la competencia técnica dentro de un determinado rango de acción (3).

En el presente trabajo se diagramó un método de control de calidad partiendo de las herramientas en uso en el laboratorio, personal disponible para tal fin y que sirva a la vez como método de enseñanza ya que en este laboratorio se reciben alumnos de las distintas tecnicaturas en Análisis Clínicos y residentes bioquímicos de la ciudad, así como también nuevo personal. Teniendo como base las metodologías reportadas en la literatura sobre el tema (7)(8), fueron adaptadas y modificadas de acuerdo con nuestras necesidades según se describe en materiales y métodos. Los resultados obtenidos hasta el presente indican que se logró redactar un protocolo de aseguramiento de la calidad adecuado sobre las técnicas empleadas y el personal idóneo. El protocolo empleado tiene como

fortalezas que es económico y fácil de implementar.

Conclusiones

De lo expuesto en el presente trabajo se puede concluir que se han cumplido los objetivos propuestos: la aplicación diaria de la estandarización del proceso según la NCCLS permitió aumentar el grado de correlación entre observadores, por lo tanto se propone el uso de esta metodología para unificar criterios. La elaboración de una sustancia control permite controlar el análisis de orina de una forma más económica sin dejar de lado la confiabilidad. Una colección fotográfica del sedimento facilita la capacitación y enseñanza del nuevo personal y el alumnado.

Lo ideal sería poder implementar este procedimiento en un número considerable de laboratorios teniendo como base iguales criterios de rechazo de muestras no adecuadas y una estandarización de los tiempos de procesamiento de las mismas siendo éste el menor posible.

Referencias bibliográficas

1. Strasinger SK, Di Lorenzo MS. Análisis de orina y de los líquidos corporales. Quinta Edición. Buenos Aires: Editorial Médica Panamericana; 2010.
2. Mundt LA, Shanahan K. Graff. Análisis de orina y de los líquidos corporales. Segunda Edición. Buenos Aires: Editorial Médica Panamericana; 2011.
3. Denner S, Fernández V, Brissón C, Boncompagni L, Quiroga J. Control de calidad del examen del sedimento urinario: una experiencia piloto. Revista FABICIB 2009; 13: 25-31.
4. Rosales Aguilar M, Castillo Fregoso MC. Análisis de comportamiento semanal de controles de orina Kova TROL y Bio Rad en laboratorio de rutina. Bioquímica 2004; 29 (3): 74-80.
5. Gómez Gaviño V, Jiménez López C, Sánchez Rodríguez MA, Vivar Guzmán NP. Evaluación del control de calidad interno en el sistema automatizado UF-1001, sistema Kova y método manual. Bioquímica 2007; 32 (A): 81.
6. Aguilar MR, Castillo Fregoso MC. Análisis de comportamiento semanal de Controles de orina Kova Trol y Bio Rad en Laboratorio de Rutina. Bioquímica 2004; 29 (29): 74-80.
7. Ramón F, Alsina M, Alvarez V, Biosca C, Bullich S, Cava F, et al. XIX Programa de Garantía Externa de la Calidad de Bioquímica (orina) de la Sociedad Española de Bioquímica Clínica y Patología Molecular (2009). Disponible en: <http://www.contcal.org/k3/docs/2009/ANUAL/orina.pdf> Fecha de acceso: 5 de marzo de 2011.
8. Merkt M, Rainiero C, Cavallo S, Carrión S, Bernasconi S, Ghisolfi C, et al. Estimación de la precisión analítica de un equipo semi-cuantitativo para el análisis de muestras de orina completa. Poster Congreso CALILAB; 2010 noviembre 5, 6, 7. Buenos Aires. Acta Bioquím Clín Latinoam 2010; 44 (3): 477-617. Aceptado: 21 de febrero de 2014