



Itziar Angulo-López<sup>1,2\*</sup>   
Dario Martín-Corujó<sup>3\*</sup>  
José Luis Díaz-de-Tuesta del Arco<sup>1,2</sup>   
Miren Basaras-Ibarzabal<sup>3</sup>

# Evaluación del parámetro BACT-info del citómetro de flujo UF-5000 (Sysmex) para la clasificación gram en infección del tracto urinario

<sup>1</sup>Servicio de Microbiología Clínica, Hospital Universitario Basurto (Bilbao, Bizkaia, España).

<sup>2</sup>Instituto de Investigación Sanitaria Biocruces Bizkaia (Barakaldo, Bizkaia, España).

<sup>3</sup>Departamento de Inmunología, Microbiología y Parasitología; Facultad de Medicina y Enfermería, Universidad del País Vasco (UPV/EHU) (Leioa, Bizkaia, España).

## Article history

Received: 13 May 2023; Revision Requested: 4 July 2023; Revision Received: 3 August 2023; Accepted: 13 September 2023; Published: 11 December 2023

## RESUMEN

**Introducción:** El urocultivo como *gold standard* para diagnóstico de infección del tracto urinario (ITU) supone una carga de trabajo considerable en los Servicios de Microbiología Clínica, debido al elevado número de muestras recibidas que finalmente serán negativas. Por ello, utilizar sistemas de cribado que además reduzcan el tiempo de respuesta del diagnóstico de ITU es necesario. El nuevo citómetro de flujo UF-5000 (Sysmex Corporation) es capaz de diferenciar entre bacterias gramnegativas y grampositivas mediante el parámetro BACT-info según el fabricante. El objetivo de nuestro estudio fue evaluar la capacidad de discriminación gram del citómetro UF-5000.

**Métodos:** Estudio prospectivo de 449 orinas recogidas de forma consecutiva, en el período 7/3/2022-27/5/2022, en las que se comparó el *flag* BACT-info con el urocultivo como método de referencia.

**Resultados:** La sensibilidad obtenida tanto para bacterias gramnegativas como positivas fue superior al 95%. Sin embargo, en el caso de bacterias grampositivas, el índice Kappa moderado (0,49) y el valor predictivo positivo bajo (37,1%) indicó que la correlación entre el *flag* BACT-info y el urocultivo no era aceptable, por lo que no sería recomendable informarlo al clínico petionario.

**Conclusión:** El uso del citómetro UF-5000 supone un adelanto en la orientación etiológica de las ITUs causadas por bacterias gramnegativas. Informar la morfología gram en la muestra de orina reduce el tiempo de respuesta en el diagnóstico microbiológico de ITU, lo que tendría un impacto en la disminución y optimización del tratamiento empírico, y, por ende, en la generación de resistencias antimicrobianas.

**Palabras clave:** ITU, citometría de flujo, Gram

Correspondencia:

Itziar Angulo López

Servicio de Microbiología Clínica, Hospital Universitario Basurto (Bilbao, Bizkaia, España)

E-mail: itzupitzu@gmail.com

\*Ambos autores han contribuido por igual como primeros autores.

## Evaluation of Sysmex UF-5000 flow cytometer *flag* BACT-info for Gram discrimination in urinary tract infection

## ABSTRACT

**Introduction.** Urine culture as a gold standard for the diagnosis of urinary tract infection (UTI) involves a considerable workload in Clinical Microbiology Departments, due to the high number of samples received that will ultimately be negative. Therefore, it is necessary to use screening systems that also reduce the turnaround time for UTI diagnosis. The new flow cytometer UF-5000 (Sysmex Corporation) is able to differentiate between Gram-negative and Gram-positive bacteria using the BACT-info parameter according to manufacturer. The aim of our study was to evaluate the gram discrimination ability of the UF-5000 cytometer.

**Methods.** A prospective study with 449 urine samples collected consecutively was conducted, in the period 7/3/2022-27/5/2022, in which the BACT-info *flag* was compared with urine culture as the reference method.

**Results.** The sensitivity obtained for both Gram-negative and Gram-positive bacteria was above 95%. However, for Gram-positive bacteria, the moderate Kappa index (0.49) and the low positive predictive value (37.1%) indicated that the correlation between BACT-info *flag* and urine culture was not acceptable and should not be reported to the requesting clinician.

**Conclusion.** Implementation of the third generation UF-5000 cytometer represents a significant advance in the aetiological orientation of UTIs caused by Gram-negative bacteria. Reporting the Gram morphology in the urine samples reduces the response time in the microbiological diagnosis of UTI, which would have an impact on the reduction and optimisation of empirical treatment, and thus on the generation of antimicrobial resistance.

**Keywords:** UTI, flow cytometry, Gram

## INTRODUCCIÓN

Las infecciones del tracto urinario (ITUs), son una de las infecciones más frecuentes a nivel hospitalario y ambulatorio, representando la segunda causa de infección en Atención Primaria [1]. La etiología de las ITUs es diversa, pero en su mayoría suelen ser infecciones monomicrobianas causadas por bacterias gramnegativas, siendo *Escherichia coli* el patógeno más comúnmente aislado. Sin embargo, también se producen infecciones por bacterias grampositivas como *Enterococcus* spp. en ancianos o *Staphylococcus saprophyticus* en mujeres jóvenes [1-3].

En cuanto al diagnóstico, el urocultivo sigue siendo el método *gold standard* para el diagnóstico microbiológico de la ITU. Sin embargo, este método conlleva el gran inconveniente de requerir un tiempo de respuesta de aproximadamente 24 horas para obtener un resultado concluyente del cultivo e identificar el microorganismo causal, y alrededor de 18 horas adicionales para informar el estudio de sensibilidad antimicrobiana [2,4].

Teniendo en cuenta el elevado número de muestras de orina que se reciben diariamente en los Servicios de Microbiología, y que un gran porcentaje de los urocultivos resultan finalmente negativos, es necesario aplicar técnicas de *screening* para identificar las muestras potencialmente positivas para ser posteriormente cultivadas. Uno de los métodos más utilizados es la citometría de flujo. Esta tecnología se basa en la aplicación de una luz láser que pasa a través de cada partícula en la muestra de orina y en la acción de dos fluorocromos, uno de ellos, tiñe las membranas y proteínas, y el segundo los ácidos nucleicos. El sistema analiza la intensidad y frecuencia de los rayos de luz transmitida y dispersada, de manera que, para cada elemento, se representan los resultados en forma de gráficas denominadas escatergramas, consiguiendo identificar las diferentes partículas [1,2].

Sysmex Corporation (Kobe, Japón), dispone de una gama de citómetros de flujo denominada UF (UF-500, UF-1000), y recientemente ha lanzado al mercado su tercera generación, el UF-5000, el cual se implementó en nuestro Servicio de Microbiología en febrero de 2022. Este nuevo modelo es capaz de disminuir la cantidad de falsos negativos aumentando la sensibilidad, gracias a la presencia de un nuevo láser semiconductor azul a una longitud de onda de 488 nm [2,5,6,7]. La velocidad de procesamiento es de hasta 105 muestras por hora, siendo capaz de diferenciar y cuantificar hasta 17 parámetros entre células y elementos formes. Además, este modelo predice la morfología de las bacterias cuantificadas, distinguiendo grampositivas de gramnegativas mediante el parámetro BACT-info [8].

El objetivo de este estudio fue evaluar la capacidad de discriminación gram (*flag* BACT-info) del citómetro de flujo UF-5000 de Sysmex en muestras de orina comparándolo con el urocultivo como método de referencia.

## MÉTODOS

**Diseño del estudio.** Estudio experimental prospectivo realizado entre el 7 de marzo y el 27 de mayo de 2022 en el Servicio

de Microbiología Clínica del Hospital Universitario de Basurto, el cual ofrece cobertura a aproximadamente 350.000 personas y en el que se reciben del orden de 250 muestras de orina diarias.

Se analizaron un total de 449 orinas de micción media recogidas en tubos de 10 mL con ácido bórico como conservante (Vacutest®). En el estudio se incluyeron, aproximadamente, entre 10 y 15 muestras diarias de orina para su posterior análisis. Las muestras de orina seleccionadas para el estudio fueron aquellas en las que el citómetro de flujo detectó un recuento  $\geq 5000$  bacterias/ $\mu\text{L}$ . La elección de este *cut-off* se basó en estudios previos en los que el rendimiento diagnóstico para realizar técnicas rápidas era óptimo a partir de dicho recuento [1].

Como criterios de exclusión iniciales, no se procesaron por el sistema UF-5000 las orinas con un volumen de muestra inferior a 2 mL, ni aquellas orinas hematóricas o en las que se observaba turbidez elevada, tal y como indican las especificaciones técnicas del sistema a estudio.

**Procesamiento habitual de las muestras de orina: citometría de flujo UF-5000 y urocultivo.** Las orinas recibidas se analizaron en primer lugar en el citómetro de flujo UF-5000 (Sysmex) que realizó el cribado de las que posteriormente serían cultivadas según la bacteriuria y/o leucocituria detectada. Según un estudio interno previo de evaluación de puntos de corte [9], se cultivaron todas las orinas con leucocituria (20 WBC/ $\mu\text{L}$ ) y/o bacteriuria (BACT/ $\mu\text{L}$ ) en función del sexo y lugar de procedencia de las muestras:

- Muestras de orina de mujeres de Atención Primaria: 500 BACT/ $\mu\text{L}$ .
- Hombres y niños/as  $\leq 16$  años de Atención Primaria: 100 BACT/ $\mu\text{L}$ .
- Pacientes ingresados o del Servicio de Urgencias: 50 BACT/ $\mu\text{L}$ .

Por el contrario, las muestras cuyos valores estuvieron por debajo de dichos puntos de corte se conservaron en refrigeración con un resultado clínico de "negativo por citometría".

Como método de referencia, el urocultivo se realizó sembrando en forma de recuento 1  $\mu\text{L}$  de la orina en el medio de cultivo cromogénico BD CHROMagar Orientation Medium, que posteriormente fue incubado en aerobiosis durante 17 - 24 horas a  $35 \pm 2^\circ \text{C}$ . Tras la incubación, se hizo un examen e interpretación manual de los cultivos siguiendo las directrices del protocolo SEIMC 14b [1], realizando la identificación bacteriana y el antibiograma mediante el sistema automatizado BD Phoenix M50. Los resultados se expresaron como número de unidades formadoras de colonias por mL (UFC/mL).

**Procesamiento experimental del estudio: flag BACT-info.** El citómetro UF-5000 es capaz de informar sobre la morfología de las bacterias cuantificadas mediante las siguientes *flags* o alertas: "gramnegativo", "grampositivo", "gram pos/neg", y "No clasificado".

Para el estudio comparativo se incluyeron en una base de datos de Microsoft Excel las muestras de orina en las que el citómetro detectaba "gramnegativo", "grampositivo", o en

aquellos casos en los que el citómetro indicaba que existían bacterias de ambos tipos, *flag* "gram pos/neg". No se incluyeron en el análisis posterior las muestras en las cuales el citómetro UF-5000 no era capaz de diferenciar la morfología bacteriana (*flag* No clasificado).

Se compararon estos datos con el resultado del urocultivo, que se informa como: negativo, orina contaminada (cuando crecían  $\geq 3$  microorganismos) o positivo con la respectiva identificación y recuento bacteriano. Como criterio de inclusión para el estudio comparativo, se consideró positivo el crecimiento en urocultivo si el recuento bacteriano era  $\geq 10^3$  UFC/mL.

Además, se registraron en la base de datos el resto de parámetros que analiza el citómetro UF-5000: bacterias, leucocitos, levaduras, hematíes y células epiteliales.

**Análisis de datos y análisis estadístico.** Para determinar el rendimiento analítico del parámetro BACT-info del UF-5000 se siguieron las recomendaciones del protocolo nº 76 de la SEIMC sobre "Estudios de evaluación del rendimiento analítico y clínico de productos sanitarios para diagnóstico *in vitro*" [10]. Se evaluó el *flag* BACT-info del citómetro UF-5000 llevando a cabo un análisis de concordancia respecto al método de referencia, el urocultivo. Para este análisis, se calcularon los valores de sensibilidad (S), especificidad (E), valores predictivos positivo (VPP) y negativo (VPN).

Asimismo, se obtuvo el coeficiente Kappa de Cohen, índice que resulta de utilidad para evaluar la concordancia entre dos técnicas cuyo resultado es categórico [11]. Se interpreta mediante la siguiente clasificación: < 0,2 mal acuerdo; 0,21 – 0,40 acuerdo regular; 0,41 – 0,60 acuerdo moderado; 0,61 – 0,80 acuerdo bueno; 0,81 – 1,00 acuerdo muy bueno.

El análisis de datos y estadístico se realizó mediante el paquete estadístico R versión 4.0.3 (2020-10-10).

**Consideraciones éticas.** A pesar de que el resultado del parámetro BACT-info no se incluyó en el informe clínico para el médico solicitante del urocultivo, se solicitó aprobación al Comité de Ética del Hospital Universitario Basurto para la realización de este estudio, que lo aprobó con el código 75.22 CEIHUB.

## RESULTADOS

Durante el período de estudio se evaluaron mediante el citómetro de flujo UF-5000 un total de 449 muestras de orina, en las que los resultados del parámetro BACT-info fueron: gramnegativo (n = 362; 80,6 %), grampositivo (n = 70; 15,6 %), y gram pos/neg (n = 17; 3,8%).

De las 449 orinas analizadas, en el 89,3% (n = 401) el urocultivo fue positivo según los criterios establecidos en este estudio ( $\geq 10^3$  UFC/mL). El recuento bacteriano fue  $\geq 10^3$  UFC/mL en 1 muestra (0,2%),  $10^4$ - $10^5$  UFC/mL en 42 muestras (10,5%), sin embargo, en la mayoría de orinas, 358 (89,3%), el crecimiento fue igual o superior a  $10^5$  UFC/mL.

**Tabla 1** Resultados del urocultivo en las muestras con la alerta BACT-info de gramnegativo (n=362).

Microorganismo en urocultivo	n	%
<i>E. coli</i>	264	72,9
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	40	11
<i>Proteus mirabilis</i>	12	3,3
<i>Citrobacter koseri</i>	7	1,9
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	4	1,1
Otros bacilos gramnegativos	13	3,6
Crecimiento de 2 microorganismos gramnegativos	10	2,8
Crecimiento mixto (1 gramnegativo + 1 grampositivo)	3	0,8
Negativo	3	0,8
Orina contaminada	6	1,6
TOTAL	362	100

**Tabla 2** Resultados del urocultivo en las muestras con la alerta BACT-info de grampositivo (n=70).

Microorganismo en urocultivo	n	%
<i>Enterococcus faecalis</i>	11	15,7
<i>Aerococcus urinae</i>	3	4,3
<i>Enterococcus faecium</i>	1	1,4
Otros grampositivos	11	15,7
Crecimiento de > 1 microorganismo	3	4,3
Crecimiento de gramnegativo	6	8,6
Negativo	15	21,4
Orina contaminada	20	28,6
TOTAL	70	100

Se compararon los resultados del *flag* BACT-info con el tipo de morfología bacteriana obtenido en urocultivo, lo que se refleja en las Tablas 1 y 2.

En el caso del *flag* gramnegativo (n = 362), de las 367 orinas en las que creció en el urocultivo una bacteria gramnegativa, el porcentaje de concordancia de la alerta gramnegativo fue del 95,4%, lo que se traduce en 350 orinas concordantes.

De forma desglosada por microorganismo, tal y como se refleja en la Tabla 1, la alerta gramnegativo se correspondía en el urocultivo, en su mayoría, con bacterias del orden Enterobacterales: *E. coli* (72,9%), *K. pneumoniae* (11%), *P. mirabilis* (3,3%), *C. koseri* (1,9%); y en una pequeña proporción a bacterias gramnegativas no fermentadoras como *P. aeruginosa* (1,1%). Únicamente en el 0,8% de las muestras alertadas como gramnegativo no se obtuvo crecimiento en urocultivo, y sólo el 1,6% de las mismas fueron consideradas contaminadas al crecer 3 o más microorganismos diferentes.

**Tabla 3** Resultados del análisis de concordancia del parámetro BACT-info versus urocultivo (no se realizó el análisis del flag gram pos/neg por el pequeño tamaño muestral, n = 17).

Parámetro BACT-info	VP	VN	FP	FN	S (%)	E (%)	VPP (%)	VPN (%)	$\kappa$
Gramnegativo (n=362)	350	71	12	16	95,6	85,6	96,7	81,6	0,80
Grampositivo (n=70)	26	378	44	1	96,3	89,6	37,1	99,7	0,49

Abreviaturas: verdaderos positivos (VP), verdaderos negativos (VN), falsos positivos (FP), falsos negativos (FN).

Por otra parte, en el caso del *flag* de grampositivo (n = 70), de las 27 orinas en las que creció en el urocultivo y fue valorable un microorganismo grampositivo, el porcentaje de concordancia de la alerta de grampositivo fue del 96,3%.

Sin embargo, tal y como se muestra en la Tabla 2, de las 70 muestras en las que la alerta era grampositivo, sólo en 26 orinas creció una bacteria grampositiva valorable clínicamente en el urocultivo, siendo *E. faecalis* el microorganismo con mayor número de aislamientos (15,7%). En un 62,8% (44/70) de las orinas analizadas en el estudio con *flag* grampositivo, las muestras fueron consideradas o bien negativas (n = 20), contaminadas (n = 15), se obtuvo crecimiento puro de un microorganismo gramnegativo (n = 6) o creció más de un microorganismo y uno de ellos era gramnegativo (n = 3).

Respecto al *flag* gram pos/neg (n = 17), en la mayor parte de las muestras creció una bacteria gramnegativa que fue informada (n = 10). El resto de muestras resultaron: contaminadas (n = 3), crecieron levaduras del género *Candida* spp. (n = 2), no se detectó crecimiento (n = 1) o creció un microorganismo grampositivo con significado clínico (n = 1).

Para realizar el análisis de concordancia entre el parámetro BACT-info y el gold standard (urocultivo) se calcularon los porcentajes de S, E, VPP, VPN, y el coeficiente Kappa de Cohen ( $\kappa$ ) (Tabla 3).

La exactitud diagnóstica para el *flag* gramnegativo fue del 93,7% y del 90% en el caso del *flag* grampositivo.

## DISCUSIÓN

Clásicamente se ha utilizado la tinción Gram manual para la diferenciación rápida entre bacterias grampositivas y gramnegativas en las muestras de orina y guiar así el tratamiento antibiótico, método que ha demostrado una sensibilidad y especificidad superior al 90% cuando se utiliza para detectar la bacteriuria [12]. Presenta como inconvenientes ser un método laborioso y requerir mucho tiempo debido principalmente al elevado número de muestras de orina que se reciben diariamente en los Servicios de Microbiología. Por este motivo, son necesarios métodos de cribado rápidos, automatizados y fiables, como los citómetros de flujo.

Anteriormente al UF-5000, el citómetro de flujo UF-1000i (Sysmex) clasificaba las bacterias como bacilos o cocos/mixtos, no como bacterias grampositivas o gramnegativas. Los estudios previos que examinaban la eficacia del citómetro UF-1000i para

diferenciar los bacilos de los cocos/crecimientos mixtos sugerían que el rendimiento del UF-1000 en la clasificación bacteriana era limitado y no era suficiente para su uso clínico ya que, aunque para los bacilos la concordancia era alta, no conseguía diferenciar los cocos del crecimiento mixto. [3,13] Además, en un estudio nacional llevado a cabo por Jiménez-Guerra et al, donde evaluaban el software BACT-Morph incorporado en el modelo UF-1000, y los parámetros de fluorescencia B\_FSC y B\_FLH, observaron que BACT-Morph predecía correctamente los bacilos, sin embargo, para los cocos era necesario calcular el ratio B\_FSC/B\_FLH. [14]

El nuevo modelo de citómetro de flujo UF-5000 se ha desarrollado para superar las limitaciones en la clasificación de bacterias gramnegativas y grampositivas de modelos previos. El parámetro BACT-info del UF-5000, que aporta información sobre la morfología de las bacterias presentes en la muestra de orina, aún no ha sido evaluado a nivel nacional. Sin embargo, sí que existen varios trabajos publicados desde 2018 a nivel internacional en los que se ha evaluado el nuevo *flag* Gram incorporado en UF-5000, trabajos cuyos resultados se resumen en la Tabla 4.

Según nuestros resultados, los valores de sensibilidad y valor predictivo positivo para el *flag* gramnegativo son superiores al 95%, valor umbral de sensibilidad analítica recomendado para evaluar una técnica de diagnóstico in vitro según el protocolo SEIMC nº76 de la Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica [10]. Estos resultados óptimos para bacterias gramnegativas están en línea con estudios previos como el llevado a cabo por Rosa et al en 2018 en el que obtuvieron una concordancia del 99,8% para el *flag* gramnegativo.[2]

Por el contrario, en nuestro estudio, el *flag* gram positivo a pesar de demostrar una sensibilidad del 96,3%, presentaba un VPP relativamente bajo (37,1%). Estos resultados coinciden con algunos estudios anteriores en los que se evaluaba el parámetro BACT-info reflejados en la Tabla 4, como por ejemplo el publicado recientemente por Wang et al, en el que obtuvieron un VPP para bacteriuria por gramnegativos del 93% mientras que para grampositivos el VPP bajaba a sólo el 18%. [15]

Una de las hipótesis principales, que también apuntaron autores como Kim et al, para explicar la diferencia en los valores predictivos positivos entre bacterias gramnegativas y grampositivas, sería la interpretación del significado clínico de las bacterias incluidas en el estudio. La proporción de bacterias gramnegativas consideradas verdaderos uropatógenos es muy

**Tabla 4** Evaluación del flag BACT-info del citómetro Sysmex UF-5000 en trabajos publicados.

Autor/año [referencia]	Población diana	Nº de muestras	Recuento urocultivo (UFC/ml)	Flag BACT-info (n)	S/E (%)	VPP/VPN (%)	Concordancia (%)	$\kappa$
De Rosa et al. 2018 [2]	Población general	2719 > 1211 (BACT >58/ $\mu$ L)	$10^5$	Gramnegativo (493)	81,6/95,9	95,8/81,7	474/475 (99,8)	-
Kim et al. 2018 [5]	Población general	1430 > 1285 (excluyendo polimicrobianas)	$10^3$	Gramnegativo (incluye gram pos/neg) (250)	69,5/94,6	78,4/91,7	89,1	-
				Grampositivo (incluye gram pos/neg) (179)	24,2/92,3	65,9/66,5	66,5	
		1430 > 260 (excluyendo polimicrobianas)	$10^5$	Gramnegativo (incluye gram pos/neg) (173)	91,7/90	95,4/82,8	81,2	-
				Grampositivo (incluye gram pos/neg) (101)	81,3/80	64,4/90,6	80,4	-
Ren et al. 2018 [16]	Adultos $\geq$ 16 años	566 > 93 (urocultivo positivo excluyendo contaminadas y <i>Candida</i> spp.)	$10^4$	Gramnegativo (50) Grampositivo (19) Gram pos/neg (14)	-	-	63/93 (67,7)	0,775
Enko et al. 2020 [6]	Población general	344 > 98 (urocultivo positivo)	$10^5$	Gramnegativo (25)	-	-	25/40 (62,5)	0,78
				Grampositivo (26)	-	-	26/44 (59,1)	0,40
				Gram pos/neg (2)	-	-	2/14 (14,3)	-
Yang et al. 2021 [3]	Mujeres 20-80 años	102 (con 2 microorganismos: orina contaminada)	$10^3$	Gramnegativo (56)	80/88,2	-	-	0,46
				Grampositivo (19)	70/86,5	-	-	
				Gram pos/neg (6)	4,5/94,9	-	-	
Chun et al. 2022 [17]	Población General (Urgencias)	383 (269 sin antibiótico en las 2 semanas previas)	$10^4$	Gramnegativo o grampositivo (129)	-	-	59%	-
				Gram pos/neg (69)	-	-	-	-
				No clasificado (185)	-	-	65,4% (sin antibiótico)	-
Wang et al. 2023 [15]	Adultos $\geq$ 18 años	671 > 158 (BACT > 1367/ $\mu$ L)	$10^4$	Gramnegativo (114)	81/70	93	-	-
				Grampositivo (39)	70/78	18	-	-
				No clasificado (5)	-	-	-	-

alta en nuestro estudio, sin embargo, la mayoría de bacterias grampositivas aisladas en urocultivo pertenecen a flora contaminante cutánea/perineal (*Staphylococcus* spp., *Streptococcus* spp., *Corynebacterium* spp.) o bacterias como *Lactobacillus* spp. procedentes de la flora vaginal, incluyendo a estas muestras en la categoría de orina contaminada o negativa según el recuento en urocultivo. [5]

Otro motivo que podría explicar por qué el rendimiento del citómetro es subóptimo para discriminar las bacterias grampositivas, es el que corroboran autores como Ren et al. [16] Estos autores señalan que las bacterias grampositivas contienen una

capa más gruesa de peptidoglicano en la pared celular que las bacterias gramnegativas, presentando mayor resistencia al estrés químico y mecánico, lo que afectaría a la avidéz del tinte fluorescente que tiñe los ácidos nucleicos en el citómetro UF-5000.

Nuestro estudio a pesar de ser prospectivo, presenta algunas limitaciones, principalmente su diseño monocéntrico y un tamaño muestral relativamente pequeño, por lo que son necesarios estudios multicéntricos con tamaños muestrales más amplios para confirmar nuestros hallazgos. Además, debido a que la mayor proporción de muestras contenían bacterias gramnegativas, el escaso número de muestras con bacterias



grampositivas hace necesario incluir mayor número de casos de ITU por microorganismos grampositivos.

Como conclusión final, a la vista de nuestros resultados, recomendamos informar al clínico peticionario el *flag* gram-negativo ya que la correlación con el urocultivo es muy alta y de este modo orientamos la terapia antibiótica empírica. Sin embargo, en el caso del *flag* grampositivo no consideramos prudente incluirlo en el informe, si no esperar al resultado del urocultivo, ya que es necesaria la interpretación microbiológica del valor patógeno del microorganismo grampositivo aislado en urocultivo.

## FINANCIACIÓN

Los autores declaran no haber recibido financiación para la realización de este estudio.

## CONFLICTO DE INTERESES

Los autores declaran no tener ningún conflicto de intereses.

## BIBLIOGRAFÍA

- Zboromyrska Y, de Cueto M, Alonso-Tarrés C, Sánchez-Hellín V. 14b. Diagnóstico microbiológico de las infecciones del tracto urinario. SEIMC. 2019
- De Rosa R, Grosso S, Lorenzi G, Bruschetta G, Camporese A. Evaluation of the new Sysmex UF-5000 fluorescence flow cytometry analyser for ruling out bacterial urinary tract infection and for prediction of Gram negative bacteria in urine cultures. Clin Chim Acta. 2018; 484: 171-178. doi: 10.1016/j.cca.2018.05.047
- Yang SS, Yang C, Chen Y, Chang S. A performance comparison of the fully automated urine particle analyzer UF-5000 with UF-1000i and Gram staining in predicting bacterial growth patterns in women with uncomplicated urinary tract infections. BMC Urology. 2021; 21(1), 1-6. <https://doi.org/10.1186/s12894-021-00791-x>
- Schmiemann G, Kniehl E, Gebhardt K, Matejczyk MM, Hummers-Pradier E. The diagnosis of urinary tract infection. Dtsch Arztebl Int. 2010; 107(21): 361-367. doi: 10.3238/arztebl.2010.0361.
- Kim SY, Park Y, Kim H, Kim J, Koo SH, Kwon GC. Rapid screening of urinary tract infection and discrimination of Gram-positive and Gram-negative bacteria by automated flow cytometric analysis using Sysmex UF-5000. J Clin Microbiol. 2018; 56 (8): 1-14. doi: 10.1128/JCM.02004-17
- Enko D, Stelzer I, Böckl M, Schnedl WJ, Meinitzer A, Herrmann M, et al. Comparison of the reliability of Gram-negative and Gram-positive *flags* of the Sysmex UF-5000 with manual Gram stain and urine culture results. CCLM. 2020; 59(3): 619-624. doi: 10.1515/cclm-2020-1263
- Alenkaer LK, Pedersen L, Szecsi PB, Bjerrum PJ. Evaluation of the Sysmex UF-5000 fluorescence flow cytometer as a screening platform for ruling out urinary tract infections in elderly patients presenting at the Emergency Department. Scand J Clin Lab. 2021; 81(5): 379-384. doi: 10.1080/00365513.2021.1929441
- Gilboe HM, Reiakvam OM, Aasen L, Tjade T, Bjerner J, Ranheim TE, et al. Rapid diagnosis and reduced workload for urinary tract infection using flow cytometry combined with direct antibiotic susceptibility testing. PloS ONE. 2021; 16(17): 1-16. doi: 10.1371/journal.pone.0254064.
- Urrutikoetxea M, Angulo I, Lozano E, Nieto MC, Ugalde E, Díaz JL. Evaluación del citómetro UF-1000i® como método de cribado en infecciones del tracto urinario (ITUs) en un hospital terciario. Comunicación nº 0826. XXIII Congreso de la Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica, Madrid, 2019.
- García-Fernández S, Vergara-Gómez A, Sánchez-Díaz AM, Albert Vicent E. 76. Estudios de evaluación del rendimiento analítico y clínico de productos sanitarios para diagnóstico in vitro. SEIMC. 2022.
- Abraira V. El índice kappa. SEMERGEN-Medicina de Familia. 2001; 27 (5): 247-249. doi: 10.1016/S1138-3593(01)73955-X.
- Wiwantit V, Udomsantisuk N, Boonchalermvichian C. Diagnostic value and cost utility analysis for urine Gram stain and urine microscopic examination as screening tests for urinary tract infection. Urol Res. 2005; 33, 220-222. <https://doi.org/10.1007/s00240-004-0457-z>
- Geerts N, Jansz AR, Boonen KJ, Wijn RP, Koldewijn EL, Boer AK, et al. Urine flow cytometry can rule out urinary tract infection, but cannot identify bacterial morphologies correctly. Clin Chim Acta. 2015; 448:86-90. doi: 10.1016/j.cca.2015.06.020.
- Jiménez-Guerra G, Heras-Cañas V, Valera-Arcas MD, Rodríguez-Grangér J, Navarro JM, et al. Comparison between urine culture profile and morphology classification using fluorescence parameters of the sysmex UF-1000i urine flow cytometer. J Appl Microbiol. 2017; 122(2):473-480. doi: 10.1111/jam.13354
- Wang H, Han F-F, Wen J-X, Yan Z, Han Y-Q, Hu Z-D, et al. Accuracy of the Sysmex UF-5000 analyzer for urinary tract infection screening and pathogen classification. PLoS ONE. 2023; 18(2): e0281118. doi: 10.1371/journal.pone.0281118
- Ren C, Wu J, Jin M, Wang X, Cao H. Rapidly discriminating culture-negative urine specimens from patients with suspected urinary tract infections by UF-5000. Bioanalysis. 2018; 1;10(22):1833-1840. doi: 10.4155/bio-2018-0175
- Chun TTS, Ruan X, Ng SL, Wong HL, Ho BSH, Tsang CF, et al. The diagnostic value of rapid urine test platform UF-5000 for suspected urinary tract infection at the emergency department. Front Cell Infect Microbiol. 2022; 12: 936854. doi:10.3389/fcimb.2022.936854.