

Validez de la tinción de Gram en el diagnóstico de infecciones del tracto urinario en pacientes pediátricos

J.A. PÉREZ CÁCERES¹, H. TOLEDO¹, A. PULIDO¹, E. CIORATA¹, Á. HURTADO², C. CABEZAS², J.A. LEPE¹

¹Servicio de Microbiología, UCEIMP; ²Unidad de Gestión Clínica de Urgencias Pediátricas. Hospital Universitario Virgen del Rocío. Sevilla.

RESUMEN

Introducción. El diagnóstico de la infección del tracto urinario (ITU) en lactantes sin control de la micción sigue siendo controvertido, a pesar de la disponibilidad de múltiples métodos diagnósticos, como la tira reactiva (TR), el sedimento urinario, la citometría de flujo y la tinción de Gram. Aunque la tinción de Gram se utiliza habitualmente, existen pocos estudios que evalúen su efectividad en el diagnóstico clínico de la ITU.

Objetivos. Evaluar la validez de la tinción de Gram, tanto de manera independiente como en combinación con los resultados de la TR, en el diagnóstico de la ITU.

Materiales y métodos. Se analizaron muestras de orina de 510 pacientes pediátricos con sospecha de ITU atendidos en el Servicio de Emergencias Pediátricas, mediante urocultivo y tinción de Gram. Además, a 397 pacientes se les realizó una TR. La edad de los pacientes varió entre 3 meses y 17 años, con 427 niños menores de 3 meses y 83 mayores de 3 meses.

Resultados. De los cultivos realizados, 154 fueron positivos, 335 negativos y 21 contaminados. La tinción de Gram presentó una sensibilidad del 90,3% (IC95: 84,2-94,3%) y una especificidad del 93,1% (IC95: 89,7-95,5%). El cociente de probabilidad negativo combinado entre la tinción de Gram y la TR fue de 0,003, con una probabilidad post-prueba negativa del 0,1% en el escenario de fiebre sin foco.

Conclusiones. La tinción de Gram, especialmente cuando se combina con la TR, es la prueba diagnóstica

más eficaz para la ITU en situaciones de urgencia, debido a sus altos valores de concordancia con el urocultivo y su cociente de probabilidad positivo. Una tinción de Gram negativa por sí sola no descarta la ITU, pero la combinación de una TR negativa y un Gram negativo permite excluir la infección en el entorno de emergencia.

Palabras clave: Infección del tracto urinario; Bacteriuria; Tinción de Gram.

UTILITY OF GRAM STAINING IN THE DIAGNOSIS OF URINARY TRACT INFECTIONS IN PEDIATRIC PATIENTS

ABSTRACT

Introduction. The diagnosis of urinary tract infection (UTI) in infants without bladder control remains controversial, despite the availability of multiple diagnostic methods, such as the dipstick (DS), urinary sediment, flow cytometry, and Gram staining. Although Gram staining is commonly used, few studies have evaluated its effectiveness in the clinical diagnosis of UTI.

Objectives. To assess the validity of Gram staining, both independently and in combination with the results of the urine dipstick, for diagnosing UTI.

Materials and methods. Urine samples from 510 pediatric patients with suspected UTI, treated at the Pediatric Emergency Service, were analyzed using urine culture and Gram staining. Additionally, 397 of these patients under-

Correspondencia: hector.toledo.sspa@juntadeandalucia.es (Héctor Toledo)

© 2025 Sociedad de Pediatría de Asturias, Cantabria, Castilla y León

Este es un artículo de acceso abierto distribuido bajo los términos de la licencia Reconocimiento-No Comercial de Creative Commons (<https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/deed.es>), la cual permite su uso, distribución y reproducción por cualquier medio para fines no comerciales, siempre que se cite el trabajo original.

<https://doi.org/10.63788/dhvvqe39>

went dipstick testing. Patient ages ranged from 3 months to 17 years, with 427 children under 3 months and 83 over 3 months.

Results. Of the cultures, 154 were positive, 335 negative, and 21 contaminated. The sensitivity of Gram staining was 90.3% (95% CI: 84.2-94.3%) and its specificity was 93.1% (95% CI: 89.7-95.5%). The combined negative likelihood ratio for Gram staining and dipstick testing was 0.003, with a post-test negative probability of 0.1% in the fever without focus scenario.

Conclusions. Gram staining, especially when combined with the dipstick test, is the most effective diagnostic tool for UTI in emergency settings, due to its high concordance with urine culture and its positive likelihood ratio. A negative Gram stain alone does not rule out UTI, but the combination of a negative dipstick and negative Gram stain allows for the exclusion of UTI in the emergency department.

Keywords: Urinary tract infection; Bacteriuria; Gram staining.

INTRODUCCIÓN

La infección del tracto urinario (ITU) es una de las infecciones más comunes en los niños, especialmente en los lactantes sin control de la micción que puede derivar, entre el 5 y el 10% de los casos, en una bacteriemia asociada⁽¹⁻³⁾. Normalmente, la infección es causada por bacterias que se originan en la flora fecal, siendo *Escherichia coli* la principal culpable a cualquier edad⁽⁴⁻⁶⁾.

Es necesario un diagnóstico de sospecha preciso y rápido para iniciar un tratamiento empírico temprano, reduciendo así las complicaciones graves⁽⁴⁾. La tira reactiva de orina (TR) es el método más utilizado universalmente, mientras que la tinción de Gram de la orina sin centrifugación es menos utilizada y controvertida porque depende de la experiencia del microbiólogo y de los recursos y personal del hospital para su ejecución urgente. Además, incluso cuando los resultados son fiables, no siempre se traducen en una optimización del tratamiento antimicrobiano en la práctica clínica, lo que lleva a algunos autores a no recomendar su inclusión en los protocolos de diagnóstico⁽⁷⁾.

No hay consenso entre los expertos sobre el uso rutinario de la tinción de Gram en lactantes sin control de la micción. La prueba ha sido recomendada por el Instituto Nacional para la Excelencia en la Salud y la Atención del Reino Unido durante mucho tiempo pero no por la Academia Americana de Pediatría (AAP)⁽⁸⁻¹⁰⁾. La guía de práctica clínica española⁽¹¹⁾ recomienda su realización solo en niños menores de

dos años o sin control de la micción y solo cuando se ha obtenido un resultado positivo en la TR. Se ha especulado que podría sustituir a otras pruebas de diagnóstico rápido de ITU e incluso utilizarse como prueba en sustitución del urocultivo⁽¹²⁾ al ser una de las pocas pruebas de urgencia con capacidad de guiar el tratamiento; y durante los años 80 y 90 la tinción de Gram fue una técnica muy usada⁽¹³⁻¹⁵⁾. Por el contrario, algunos otros autores desaconsejan el uso de la tinción de Gram por considerarla una prueba con muchos falsos positivos (FP)⁽⁷⁾. Además, publicaciones recientes^(10,11,16) cuestionan su eficacia cuando ya se encuentran disponibles otros métodos de diagnóstico rápido como la TR y/o el sedimento urinario. Recientemente, un metaanálisis sobre pruebas rápidas para ITU⁽¹²⁾ que revisó 95 estudios clínicos con 95.703 niños menores de 18 años encontró la tinción de Gram más precisa que la TR.

Una de las limitaciones más evidentes respecto al uso de la tinción de Gram es que habida cuenta de que la orina no es un fluido estéril, resulta difícil fijar con precisión a partir de cuántas bacterias visualizadas en la tinción puede considerarse una muestra como positiva. Actualmente no existe un consenso respecto a este tema y muchas de las guías diagnósticas simplemente obvian este punto, dejando al libre criterio del microbiólogo la valoración de la muestra.

El objetivo de nuestro estudio es establecer la sensibilidad, especificidad y otros parámetros estadísticos tanto de la tinción de Gram como de la TR, para determinar su validez en el diagnóstico clínico.

MATERIALES Y MÉTODOS

En el estudio se incluyeron retrospectivamente muestras de orina de pacientes con sospecha de ITU procedentes de la sala de Emergencias Pediátricas de nuestro hospital. Se incluyeron todos los niños menores de 3 meses y aquellos mayores en los que existía algún tipo de patología urológica previa (nefropatías y malformaciones). Las muestras se recibieron entre mayo de 2021 y noviembre de 2022 en el Servicio de Urgencias de Pediatría del Hospital Virgen del Rocío, de Sevilla, y fueron procesadas en el laboratorio del mismo hospital. En los pacientes menores de 2 años la muestra se obtuvo mediante cateterismo uretral, mientras que en los niños mayores predominó la recolección de orina por micción espontánea, si bien resulta imposible precisar en cuántos se recogió orina de micción media y en cuántos mediante sondaje, ya que es una información que no siempre llega indicada en la petición de laboratorio y no siempre se recoge en la historia clínica. A efectos de este estudio se consideraron todas las muestras de pacientes mayores de 2

TABLA I. Resultados de cultivos expresados en UFC/ml y observaciones de tinción de Gram expresadas en bacterias observadas/campo de microscopía. El experimento se realizó por triplicado y la tabla muestra el rango obtenido en las tres repeticiones.

<i>Escherichia coli</i>		
Diluciones	Recuento de placas	Tinción de Gram (1000x)
Solución original (0,5 McFarland)	> 10 ⁶ UFC/ml	> 100 bacterias/campo
1/10	2×10 ⁵ - 5×10 ⁵ UFC/ml	10-20 bacterias/campo
1/100	3×10 ⁴ - 7×10 ⁴ UFC/ml	1-5 bacterias/campo
1/1.000	8.000 - 13.000 UFC/ml	1 bacteria/20-25 campos
1/10.000	1.000 - 3.000 UFC/ml	< 1 bacteria/50 campos
<i>Enterococcus faecalis</i>		
Diluciones	Recuento de placas	Tinción de Gram (1000x)
Solución original (0,5 McFarland)	> 10 ⁶ UFC/ml	50 cadenas/campo
1/10	3×10 ⁵ - 5×10 ⁵ UFC/ml	10-15 cadenas/campo
1/100	6×10 ⁴ - 9×10 ⁴ UFC/ml	1-3 cadenas/campo
1/1.000	10.000 - 15.000 UFC/ml	1 cadena/8-10 campos
1/10.000	900 - 2.500 UFC/ml	1 cadena/25 campos

años como muestras de orina media. No se incluyeron en el estudio muestras tomadas mediante bolsas de recolección por el alto riesgo de contaminación de las muestras tomadas por este método.

La TR se realizó utilizando la tira de orina COMBURTest®, de Roche Diagnostics. La tira se sumergió en orina (aproximadamente 1 segundo), el exceso de orina se drenó en el borde del recipiente y se tomaron lecturas visuales después de una espera de 60 segundos (60-120 segundos para la zona de prueba de leucocitos). Los colores de reacción de las zonas de prueba se compararon con la escala de colores de la etiqueta. La TR se consideró positiva si la prueba de nitritos era positiva y/o la esterasa leucocitaria arrojaba un resultado de mayor o igual a 50 leucocitos/μl.

La tinción de Gram se realizó utilizando orina no centrifugada. Se utilizó una pipeta para depositar 50 μl de orina sobre un portaobjetos de vidrio, se dejó secar y posteriormente se fijó con metanol antes de teñirla. La tinción de Gram se consideró positiva cuando se observaba un número de microorganismos que superaban el umbral de positividad fijado en este mismo estudio.

Para definir el umbral de positividad de la tinción de Gram y establecer una correlación entre tinción y cultivo se prepararon diluciones seriadas de microorganismos conocidos y se realizaron tinciones de Gram y cultivos. Considerando los criterios de la AAP, que fija el conteo para considerar un cultivo positivo en 5×10⁴ unidades formadoras de colonia por mililitro (UFC/ml), en muestras tomadas por sondaje, el límite de detección en la tinción de Gram quedó en la

dilución 1:100, lo que correspondería aproximadamente a observar un bacilo gramnegativo por campo de microscopía o una cadena de enterococos/estreptococos por campo de microscopía (tabla I). En las muestras de micción media, el umbral fue de aproximadamente 10 bacterias por campo de microscopía para bacilos gramnegativos y 3 cadenas por campo para estreptococos (tabla I).

Todas las muestras obtenidas se cultivaron en agar cromogénico Chromagar Orientation®, de Becton Dickinson, durante 24 horas. Para evaluar un urocultivo positivo se siguieron los criterios de 2021 de la AAP, fijando el valor en 50.000 UFC/ml para muestras de cateterismo y 100.000 UFC/ml para orina de micción media⁽⁹⁾. Se consideraron cultivos contaminados todos aquellos en los que hubiera crecimiento de 2 o más especies de bacterias sin que existiera un predominio evidente de una de ellas o aquellos en los que ninguna de las especies de bacterias recuperadas fuera patogénica.

Para realizar los análisis estadísticos se emplearon estadísticas descriptivas, utilizando tablas representando los valores absolutos y relativos de las variables cualitativas, así como medidas de tendencia central, de posición y de variabilidad de las variables cuantitativas.

Se realizó un análisis de validez para evaluar de manera exhaustiva la capacidad predictiva de una prueba diagnóstica, ayudando a determinar su validez en la práctica clínica a través de varias metodologías estadísticas: sensibilidad y especificidad, cocientes de probabilidad positivo (CPP) y negativo (CPN), y cálculo de intervalos de confianza (IC) para las métricas de rendimiento con el fin de evaluar la validez

TABLA II. Resultados de la tinción de Gram y la TR en 510 y 397 muestras, respectivamente.

Prueba	Resultado	Cultivo positivo (N = 154)	Cultivo negativo (N = 335)	Cultivo contaminado (N = 21)	Total (N = 510)
TR (N = 397)	Positivo (174)	122 (VP) (70,1%)	46 (FP) (26,4%)	6 (3,4%)	174
	Negativo (223)	7 (FN) 3,1%	206 (VN) (92,4%)	10 (4,5%)	223
Tinción de Gram (N = 510)	Positivo (175)	139 (VP) (79,4%)	23 (FP) 13,1%	13 (7,4%)	175
	Negativo (335)	15 (FN) (4,5%)	312 (VN) 93,1%	8 (2,4%)	335
TR y Gram ⁽¹⁾ (N = 300)	Ambos positivos	105 (VP) (93%)	4 (FP) (4,3%)	4 (3,5%)	113
	Ambos negativos	0 (FN) (0%)	183 (VN) (97,9%)	4 (2,1%)	187

⁽¹⁾La combinación TR y Gram hace referencia a aquellas muestras que tenían ambas pruebas coincidentes (300 vs 97 con resultado discordante).

TR: tira reactiva; FP: falso positivo; FN: falso negativo; VP: verdadero positivo; VN: verdadero negativo.

de las estimaciones. Para el cálculo de la probabilidad post-prueba, se estimó un valor de probabilidad pre-prueba de 0,07, de acuerdo con Saikh et al.⁽¹⁷⁾.

Este estudio, al ser un estudio observacional y retrospectivo, no ha requerido aprobación por parte del Comité de ética de nuestro centro hospitalario.

RESULTADOS

En el estudio se incluyeron 510 muestras de orina de niños entre 0 y 13 años. Del total de pacientes estudiados, solo 83 eran niños mayores de 3 meses (rango 3 meses-13 años, edad mediana 6 años) y, de ellos, solo 46 eran mayores de 2 años. El 66% del total eran mujeres. A todas las muestras se le realizó tinción de Gram al llegar al Servicio de Microbiología.

De las 510 muestras de orina recibidas, 154 (30,2%) resultaron positivas en el cultivo y 335 negativas. En la tabla II se indica la correspondencia de ambas técnicas (tinción de Gram y TR), así como la combinación de ambas con el cultivo.

De 223 pacientes con TR negativa, 7 fueron falsos negativos (FN) (3,1%). Por el contrario, 46 TR positivas tuvieron posteriormente cultivos negativos (FP) (26,4%), aunque el 70% de ellos tuvieron valores en la tira de orina inferiores a 500 leucocitos/ μ l.

Se reportaron 21 muestras como cultivos contaminados. En la tinción de Gram se observó flora mixta en 5 ocasiones, bacilos gramnegativos en 9 casos, cocos grampositivos en 3 casos y en el resto no se observó nada en la tinción.

En 23 muestras reportadas como cultivos negativos hubo pequeños recuentos de un solo tipo de microorganismo, principalmente *Escherichia coli* y *Enterococcus faecalis*, y siempre por debajo de 50.000 UFC/ml.

Los resultados de sensibilidad, especificidad y otros parámetros estadísticos se muestran en la tabla III, donde se aprecia que la tinción de Gram tiene algo menos de sensibilidad que la TR, pero es más específica, y que la combinación de ambas pruebas, cuando son negativas, alcanza unos valores de especificidad muy elevados y una probabilidad post-prueba del 0,1%.

Respecto a la tinción de Gram, hubo 23 falsos positivos (13,1%), aunque a 4 de ellos aún se les diagnosticó ITU según su presentación clínica. En estos cuatro casos se observaron bacilos gramnegativos y tuvieron una TR positiva con más de 500 leucocitos/ μ l. En otros 12 casos se observaron bacilos gramnegativos; en 2, cocos grampositivos; y en 3 de ellos, flora mixta. En ninguno de estos casos se alcanzó un recuento en el cultivo suficientemente elevado para considerarlo positivo.

Las bacterias aisladas fueron principalmente *Escherichia coli* (50,6%), seguida de *Klebsiella pneumoniae* (16,5%), *Enterococcus faecalis* (6,7%), *Proteus mirabilis* (4,1%), *Pseudomonas aeruginosa* (3,26%), *Enterobacter cloacae* (2,8%) y *Klebsiella aerogenes* (1,4%).

DISCUSIÓN

Como se ha comentado en la introducción, existe una cierta controversia acerca de la validez de la tinción de Gram en el diagnóstico de ITU en lactantes sin control de la micción. A favor de considerarla una prueba fundamentalmente útil, se pueden argumentar dos motivos:

1. La antibioterapia empírica de elección en lactantes menores de 3 meses con sospecha de ITU de vías altas aguda que requieren ingreso es ampicilina combinada con gentamicina intravenosa^(11,18). En estos pacientes

TABLA III. Resultados de las diferentes pruebas rápidas realizadas, así como combinaciones entre ellas.

Prueba	Sensibilidad (IC del 95%)	Especificidad (IC del 95%)	CPP (IC del 95%)	CPN (IC del 95%)	Probabilidad Post-prueba + (IC del 95%)	Probabilidad Post-prueba - (IC del 95%)
TR	94,6 % (88,7-97,6)	81,7 % (76,3-86,2)	5,2 (3,9-6,7)	0,07 (0,03-0,01)	0,28 (0,23-0,34)	0,005 (0-0,01)
Gram	90,3 % (84,2-94,3)	93,1 % (89,7-95,5)	13,2 (8,8-19,6)	0,1 (0,06-0,17)	0,5 (0,4-0,6)	0,01 (0-0,014)
TR y Gram ⁽¹⁾	100 % (99,9-100)	97,9 % (94,3-99,3)	46,8 (17,3-123,3)	0,003 (0-0,005)	0,78 (0,57-0,90)	0,001 (0-0,004)

Los IC del 95% se muestran entre paréntesis. El cálculo de las probabilidades post-prueba se ha realizado asumiendo una probabilidad pre-prueba del 0,07. Los cultivos contaminados no han sido considerados.

⁽¹⁾La combinación TR y Gram hace referencia a aquellas muestras que tenían ambas pruebas coincidentes. Aunque el N total es de 397 muestras, solo hay coincidencia en los resultados de ambas pruebas en 300 de ellas. El VPP se calcula cuando ambas pruebas son positivas y el VPN si ambas pruebas son negativas.

TR: tira reactiva; CPP: cociente de probabilidad positivo; CPN: cociente de probabilidad negativo; VPP: valor predictivo positivo; VPN: valor predictivo negativo; IC: intervalo de confianza.

la tinción de Gram permite optimizar el tratamiento, ya que podríamos retirar la ampicilina en caso de observar bacilos gramnegativos en la orina.

- Los lactantes de dos a tres meses de edad con ITU que no cumplan criterios de gravedad analíticos o clínicos pueden ser tratados de forma ambulatoria en su domicilio^(11,18-20). En estos casos, el hallazgo de bacilos gramnegativos en orina reforzaría el diagnóstico de ITU por bacterias comunes y, por tanto, la alta probabilidad de curación con tratamiento ambulatorio.

Por el contrario, algunos otros autores desaconsejan el uso de la tinción de Gram, siendo Cantey et al.⁽⁷⁾ el más citado. En su estudio obtuvieron resultados pobres en especificidad, desviándose significativamente de los resultados habituales en otros estudios, teniendo concretamente una tasa de falsos positivos del 66%. Si bien el principal motivo que argumentan en contra de esta técnica es que, en su hospital, el tratamiento no se alteraba independientemente del informe aportado. En nuestra opinión, es comprensible que los médicos ignoren el resultado de la tinción de Gram si hay una tasa de falsos positivos del 66%. En nuestro estudio, en cambio, hemos demostrado que, definiendo un umbral de positividad adecuado, se obtienen valores de sensibilidad y especificidad superiores al 90%. Las diferencias de resultados tan grandes entre nuestro estudio y el de Cantey pueden ser explicadas, en nuestra opinión, por la indefinición a la hora de considerar una tinción como positiva, ya que el umbral de positividad considerado para el cultivo es el mismo (5×10^4). Este es un problema habitual en la práctica totalidad de los estudios que hemos consultado. Por ejemplo, Taniguchi et al.⁽²⁰⁾ mencionan como criterio

de positividad la observación de “varios” microorganismos sin especificar más. Algunos no brindan información y otros aceptan solo > 1 bacteria/campo⁽²¹⁻²³⁾. La principal novedad de este estudio es que para lograr un estándar sólido hemos establecido equivalencias que nos permiten determinar el número de campos a observar. Si se observan más campos, se corre el riesgo de ver microorganismos que luego tengan recuentos bajos en el cultivo y, por tanto, serán negativos. En cambio, si se observan menos campos, podemos pasar por alto recuentos cercanos a 50.000 UFC/ml. Esto explica, en nuestra opinión, nuestra elevada sensibilidad y especificidad, así como nuestro escaso número de falsos negativos (4,5%), inferior a la mayoría de las publicaciones (por ejemplo, Burillo et al.⁽²¹⁾ informa el 10% de falsos negativos).

Otra posible causa que puede explicar las grandes diferencias obtenidas entre distintos estudios tiene que ver con los propios estándares de positividad del urocultivo como la técnica de referencia. En este estudio hemos seguido los criterios de la AAP, que establece 50.000 UFC/ml para definir bacteriuria significativa en muestras de orina obtenidas por cateterismo en niños menores de dos años⁽¹⁶⁾. Sin embargo, este criterio es controvertido. Tzimenatos et al.⁽²⁴⁾ proponen reducirlo a 10.000 UFC/ml, al igual que lo hace la Sociedad Italiana de Nefrología Pediátrica⁽²⁵⁾, la Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica (SEIMC)⁽²²⁾ o la guía de práctica clínica española⁽¹¹⁾. Esta incertidumbre en los puntos de corte se debe a la falta de una referencia definitiva para definir la ITU como señalamos en un estudio previo⁽²⁶⁾, ya que diversos recuentos bacterianos también pueden expresar contaminación de la flora local o bacteriuria asintomática. El abandono paulatino del estándar clásico de 100.000 UFC/ml⁽⁸⁾ se deriva de estudios como el de Schroe-

der et al. sobre bacteriemias relacionadas con infecciones urinarias en niños menores de 3 meses⁽²⁷⁾, en el que hasta el 7% de estas bacteriurias positivas tuvieron recuentos en cultivo de 10.000 a 50.000 UFC/ml; o como el estudio de Swerkensson et al.⁽²⁸⁾ de 430 punciones suprapúbicas, donde el 12% de las muestras positivas tuvieron recuentos de 10.000 a 50.000 UFC/ml.

Por todo esto, creemos que nuestro estudio arroja los siguientes hallazgos:

Primero, demostramos la validez de la tinción de Gram de muestras de orina en términos de probabilidad post-prueba y de CPP.

En segundo lugar, la tinción de Gram en orina sin centrifugación no podría sustituir a otras pruebas rápidas, como proponen Williams et al.⁽¹²⁾, debido a su tasa de falsos positivos superior al 10% y porque es necesario considerar parámetros adicionales proporcionados por el análisis de orina, ausentes en la tinción de Gram. Además, no es fácil generalizar la tinción de Gram en la práctica para sustituir otras pruebas al no ser una prueba realizable a la cabecera del paciente, y este es su principal inconveniente. Necesita ser transportado al laboratorio y requiere de equipamiento para su ejecución.

Aún menos probable es que estas pruebas sirvan para evitar el cultivo, como proponen otros autores^(12,29,30), ya que la tasa de falsos negativos no es cero, sino del 4,5% en nuestro caso (9% en el metaanálisis de 95.703 casos de Williams et al.⁽¹²⁾). Según esto, se pasarían por alto 45 niños con ITU por cada 1.000, una cifra difícil de aceptar.

No es sensato prescindir de la tinción de Gram y basar el diagnóstico solo en los resultados de la TR, ya que aunque los valores de sensibilidad son similares, la especificidad de esta es inferior a la de la tinción de Gram y la probabilidad post-prueba positiva es mucho más baja (0,28 vs 0,50). Estos resultados concuerdan con los obtenidos en el metaanálisis de Williams et al.⁽¹²⁾, donde la sensibilidad de la tinción de Gram fue del 91% y la especificidad del 96% mientras que para la prueba de esterasa leucocitaria en TR fueron del 79% y 87% respectivamente, y del 49% y 98% para la prueba de nitritos.

También hemos comprobado que, aunque hay errores en el diagnóstico positivo de una forma u otra, son pocos los errores en establecer el negativo, sobre todo si se utilizan los dos parámetros 'TR y Gram', llegando a una especificidad del 97,9% y a una probabilidad post-prueba negativa del 0,1%. Creemos, por tanto, que la principal utilidad de la tinción de Gram es poder descartar con seguridad una ITU cuando el resultado es negativo y coincidente con el de la TR. En este sentido, la reciente guía española de práctica clínica⁽¹¹⁾ plantea un algoritmo que descarta la ITU si la tinción de

Gram o la TR son negativas, aún si no hay coincidencia entre ambas pruebas. Con los datos de nuestro estudio, creemos que, aunque esta situación reduce la probabilidad de un urocultivo positivo, la especificidad de ambas técnicas por separado no lo descarta, por lo que recomendaríamos esperar al resultado del cultivo.

Hay que tener en cuenta que, aunque obtener al menos un resultado positivo de estas dos pruebas rápidas (TR o Gram) podría considerarse útil, ya que el 100% de las ITU han dado positivo en al menos una de estas dos pruebas, consideramos que la capacidad de este resultado para guiar el tratamiento es bastante limitada debido a que el déficit de especificidad lleva a mantener el tratamiento protocolizado en la mayoría de los casos.

Respecto a las limitaciones de nuestro estudio, debemos señalar que, al haber sido realizado de forma retrospectiva, no hemos podido recabar información suficiente sobre el impacto real de la realización urgente de tinción de Gram en el tratamiento de los pacientes, ya que en muchos casos el informe final no indica claramente esta información. Así, podría ocurrir que, pese a la validez diagnóstica de la técnica, esta no tenga un impacto real en cuanto a reducción de tratamientos inadecuados o tiempos de resolución de las urgencias.

También debido a su carácter retrospectivo, no a todas las muestras se les realizó TR. Por ello, tampoco hemos incluido muestras con TR pero sin tinción de Gram.

Una limitación del estudio es la elección del punto de corte para considerar un cultivo positivo. Como se ha comentado, se ha elegido el propuesto por la AAP. Lógicamente, el haber elegido un punto de corte diferente para el cultivo podría arrojar resultados diferentes, especialmente en la determinación del umbral de positividad de la tinción de Gram. Es importante que cada laboratorio diagnóstico elija cuidadosamente los puntos de corte para el urocultivo que desea usar y establezca una correspondencia con la tinción de Gram siguiendo una metodología similar a la que hemos usado en este trabajo. Por otro lado, como se aprecia en la [tabla I](#), ninguna de las diluciones realizadas incluye en su rango el valor de 10^5 UFC/ml en el cultivo, correspondiente al umbral de positividad de las muestras tomadas por micción espontánea. En nuestro análisis de resultados hemos optado por tomar la opción más conservadora, y establecer el umbral de positividad para la tinción de Gram en la dilución inmediatamente posterior, cuyo rango de detección arroja los resultados más cercanos a este valor ($3 \times 10^4 - 7 \times 10^4$ UFC/ml para bacilos gramnegativos y $6 \times 10^4 - 9 \times 10^4$ UFC/ml para cocos grampositivos). Lo mismo sucede en el caso de *E. faecalis*: aunque el punto de corte para el recuento en placa (situado en 5×10^4) no se encuentra dentro de ninguno de los

rangos obtenidos, se optó por usar el que más se acercaba, correspondiente a la dilución 1/100 y a 1-3 cadenas/campo. La adopción de este criterio aumenta la sensibilidad y disminuye la especificidad de la técnica, algo que consideramos aceptable en este caso ya que entendemos que el impacto clínico de un falso positivo es menos dañino para el paciente que el de un falso negativo.

Por último, para el cálculo de las probabilidades post-prueba se ha usado el valor de probabilidad pre-prueba definido por Saikh et al.⁽¹⁷⁾ para ITU en lactantes con fiebre sin foco, cuyos resultados coinciden con los de O'Brien et al.⁽³¹⁾. Al ser este un estudio realizado de forma retrospectiva, solo se han incluido muestras de pacientes en los que se consideró la ITU dentro del diagnóstico diferencial, lo que podría haber sesgado esta probabilidad pre-prueba al haberse hecho una selección positiva de los pacientes que tenían más probabilidades de tener una ITU.

CONCLUSIONES

La tinción de Gram de orina en pacientes pediátricos tiene más validez que la TR para un diagnóstico rápido. La combinación de ambas pruebas negativas descarta casi al 100% la presencia de ITU. Su mayor utilidad, por lo tanto, radica en indicar una muy baja probabilidad de ITU en pacientes pediátricos cuando se emplea junto con la TR y en contribuir a guiar el tratamiento y el manejo de estos pacientes.

CONFLICTOS DE INTERÉS

Los autores declaran no tener conflictos de intereses.

BIBLIOGRAFÍA

- Pantell RH, Newman TB, Bernzweig J, Bergman DA, Takayama JI, Segal M, et al. Management and outcomes of care of fever in early infancy. *JAMA*. 2004; 291(10): 1203-12.
- Hsiao AL, Chen L, Baker MD. Incidence and predictors of serious bacterial infections among 57- to 180-day-old infants. *Pediatrics*. 2006; 117(5): 1695-701.
- Roman HK, Chang PW, Schroeder AR. Diagnosis and management of bacteremic urinary tract infection in infants. *Hosp Pediatr*. 2015; 5(1): 1-8.
- Gupta K, Trautner BW. Infecciones de vías urinarias, pielonefritis y prostatitis. En: Loscalzo J, Fauci A, Kasper D, Hauser S, Longo D, Jameson JL, editors. *Harrison Principios de Medicina Interna*, 21th ed [Internet]. New York, NY: McGraw-Hill Education; 2022.
- Sobel JD, Brown P. Urinary tract infections. En: Bennett JE, Dolin R, Blaser MJ. *Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases*. 2014.
- Foxman B, Brown P. Epidemiology of urinary tract infections: transmission and risk factors, incidence, and costs. *Am J Med*. 2002; 113 Suppl 1A: 5S-13S.
- Cantey JB, Gaviria-Agudelo C, TeKippe EME, Doern CD. Lack of clinical utility of urine Gram stain for suspected urinary tract infection in pediatric patients. *J Clin Microbiol*. 2015; 53(4): 1282-5.
- Roberts KB, Wald ER. The diagnosis of UTI: Colony count criteria revisited. *Pediatrics*. 2018; 141(2): e20173239.
- Mattoo TK, Shaikh N, Nelson CP. Contemporary management of urinary tract infection in children. *Pediatrics*. 2022; 150(4): e2022059259.
- NICE Clinical Guidelines (2007). Urinary tract infection in under 16s: diagnosis and management. National Institute for Health and Care Excellence: Clinical Guidelines London: National Institute for Health and Care Excellence (NICE); 2018.
- González Rodríguez JD, Fraga Rodríguez GM, García Vera CJ, Gómez Fraile A, Martín Sánchez JI, Mengual Gil JM, et al. Update of the Spanish clinical practice guideline for urinary tract infection in infants and children. Summary of recommendations for diagnosis, treatment and follow-up. *An Pediatr*. 2024 101(2): 132-44.
- Williams GJ, Macaskill P, Chan SF, Turner RM, Hodson E, Craig JC. Absolute and relative accuracy of rapid urine tests for urinary tract infection in children: a meta-analysis. *Lancet Infect Dis*. 2010; 10(4): 240-50.
- Lockhart GR, Lewander WJ, Cimini DM, Josephson SL, Linakis JG. Use of urinary Gram stain for detection of urinary tract infection in infants. *Ann Emerg Med*. 1995; 25(1): 31-5.
- Goswitz JJ, Willard KE, Eastep SJ, Shanholtzer CJ, Olson ML, Pinnell M, et al. Utility of slide centrifuge gram's stain versus quantitative culture for diagnosis of urinary tract infection. *Am J Clin Pathol*. 1993; 99(2): 132-6.
- Benito Fernández J, García Ribes A, Trebolazabala Quirante N, Mintegi Raso S, Vázquez Ronco MA, Urrea Zalbidegoitia E. Tinción de Gram y tira reactiva como métodos diagnósticos de la infección del tracto urinario del lactante con fiebre. *An Pediatr*. 2000; 53(6): 561-6.
- Roberts KB, Downs SM, Finnell SME, Hellerstein S, Shortliffe LD, Wald ER, et al. Reaffirmation of AAP clinical practice guideline: The diagnosis and management of the initial urinary tract infection in febrile infants and young children 2-24 months of age. *Pediatrics*. 2016; 138(6): e20163026.
- Shaikh N, Morone NE, Bost JE, Farrell MH. Prevalence of urinary tract infection in childhood: a meta-analysis. *Pediatr Infect Dis J*. 2008; 27(4): 302-8.
- Piñeiro Pérez R, Cilleruelo Ortega MJ, Ares Álvarez J, Baquero-Artigao F, Silva Rico JC, Velasco Zúñiga R, et al. Recomendaciones sobre el diagnóstico y tratamiento de la infección urinaria. *An Pediatr*. 2019; 90(6): 400.e1-e9.
- Síndrome febril sin foco. Fiebre de origen desconocido. Fiebre recurrente - *Manuales Clínicos Hospital Universitario Virgen del*

- Rocio [Internet]. [citado 2024 Feb 3]. Disponible en: <https://manualclinico.hospitaluvrocio.es/urgencias-de-pediatria/infecologia/sindrome-febril-sin-foco-fiebre-de-origen-desconocido-fiebre-recurrente/>
20. Taniguchi T, Tsuha S, Shiiki S, Narita M. Point-of-care urine Gram stain led to narrower-spectrum antimicrobial selection for febrile urinary tract infection in adolescents and adults. *BMC Infect Dis.* 2022; 22(1): 198.
 21. Burillo A, Rodríguez-Sánchez B, Ramiro A, Cercenado E, Rodríguez-Créixems M, Bouza E. Gram-stain plus MALDI-TOF MS (Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization-Time of Flight Mass Spectrometry) for a rapid diagnosis of urinary tract infection. *PLoS One.* 2014; 9(1): e86915.
 22. Procedimientos en Microbiología Clínica (número 14b, 2ª edición 2019). *Enferm Infecc Microbiol Clin.* 2019; 37(10): 685.
 23. Kuijper EJ, Van Der Meer J, De Jong MD, Speelman P, Dankert J. Usefulness of Gram stain for diagnosis of lower respiratory tract infection or urinary tract infection and as an aid in guiding treatment. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 2003; 22(4): 228-34.
 24. Tzimenatos L, Mahajan P, Dayan PS, Vitale M, Linakis JG, Blumberg S, et al. Accuracy of the urinalysis for urinary tract infections in febrile infants 60 days and younger. *Pediatrics.* 2018; 141(2): e20173068.
 25. Ammenti A, Alberici I, Brugnara M, Chimenz R, Guarino S, La Manna A, et al. Updated Italian recommendations for the diagnosis, treatment and follow-up of the first febrile urinary tract infection in young children. *Acta Paediatr.* 2020; 109(2): 236-47.
 26. Toledo H, Punzón SG, Martín-Gutiérrez G, Pérez JA, Lepe JA. Usefulness of UF-5000 automatic screening system in UTI diagnosis. *Braz J Microbiol.* 2023; 54(3): 1803-1808.
 27. Schroeder AR, Chang PW, Shen MW, Biondi EA, Greenhow TL. Diagnostic accuracy of the urinalysis for urinary tract infection in infants <3 months of age. *Pediatrics.* 2015; 135(6): 965-71.
 28. Swerkersson S, Jodal U, Åhrén C, Sixt R, Stokland E, Hansson S. Urinary tract infection in infants: the significance of low bacterial count. *Pediatr Nephrol.* 2016; 31(2): 239-45.
 29. Huicho L, Campos-Sanchez M, Alamo C. Metaanalysis of urine screening tests for determining the risk of urinary tract infection in children. *Pediatr Infect Dis J.* 2002; 21(1): 1-11, 88.
 30. Gorelick MH, Shaw KN. Screening tests for urinary tract infection in children: A meta-analysis. *Pediatrics.* 1999; 104(5): e54.
 31. O'Brien K, Edwards A, Hood K, Butler CC. Prevalence of urinary tract infection in acutely unwell children in general practice: a prospective study with systematic urine sampling. *Br J Gen Pract.* 2013; 63(607): e156-64.