

Bacteriurias

(Comparación entre el uso de 2, 3, 5 Cloruro de Trifenil Tetrazolio y un método cuantitativo de dilución para Bacteriurias)

Elías Alice Madriz*

INTRODUCCION

Hace varios años se sustituyen los métodos lentos para detectar bacteriurias, por otros más rápidos y baratos. Estas pruebas son fáciles de usar y se aplican a grandes poblaciones, se usan en oficinas médicas y para encuestas¹. Este trabajo compara la acción del indicador Cloruro de Trifenil Tetrazolio (CTT) Merck con el método cuantitativo de dilución, al detectar bacteriurias en un laboratorio²⁻⁴⁻⁵. Se espera encontrar una relación congruente en más del 90% de las muestras comparadas, aunque no se sabía si el porcentaje subiría a más de 95. Se desea observar, asimismo, el comportamiento del CTT en presencia de cantidades de proteína. Para la prueba se utilizó tabletas comerciales de CTT que se añadían a muestras de orina que estaban en tubo. Se utilizó en cada caso un control sin tableta. El método de referencia fue el de dilución de orina, en el cual se utilizan diluciones decimales hasta alcanzar el intervalo de conteo de 30.000-300.000 col/ml. De aquí se toman dos cantidades medidas y se siembra una en placa de agar sangre y otra en eosina azul de metileno. Luego se efectúa la identificación y el recuento³. Los resultados para cada prueba se anotan separadamente. El trabajo se efectuó en un Hospital de la Caja Costarricense de Seguro Social, donde llegaban muestras indiscriminadas en sexo y edad. La duración del trabajo fue de tres meses.

MATERIAL Y METODOS

El método cuantitativo contra el cual se comparó el CTT consiste en añadir 0.1 ml de orina agitada a 9.9 ml de agua destilada. Se toma seguidamente 0.1 ml y se siembra en agar sangre. Igual cantidad se siembra en un plato de eosina azul de metileno. Se cuentan únicamente las placas que posean de 30 a 300 colonias bacterianas. El factor de dilución es 1.000. Los platos se incubaron 12 hrs. a 36.5°C. Para efectuar la prueba con CTT se toman dos tubos

con 2 ml de orina. Sólo a un tubo se le añade la tableta. El otro elimina la reacción de color inespecífica. La incubación es de 6 hrs. a 36.5°C. Durante la reacción de CTT a formazán, las trazas de color rojo se consideran positivas y se debe utilizar un espejo cóncavo para el examen de los tubos. El CTT es una sal incolora que forma un precipitado rojo de trifenil formazán en condiciones reductoras, indicando así reacción positiva. La ausencia de precipitado denota negatividad de la prueba. Esta propiedad se correlaciona con la herencia de 100.000 o más bacterias por ml o menos de 100.000 bacterias por ml en cada muestra. El CTT es soluble en agua, alcohol, acetona y cloroforma e insoluble en éter. El trifenil formazán es soluble en alcohol y acetona e insoluble en agua⁵. Cada muestra original fue investigada con una tirilla por presencia de sangre, glucosa, proteínas y pH. Ames. Se ha confirmado que solo las bacterias con metabolismo activo, reducen el CTT a formazán. Las bacterias gram negativas son más sensibles al CTT que las gram positivas⁵.

RESULTADOS

Los resultados de las pruebas comparadas entre CTT y el método cuantitativo se detallan en el cuadro No. 1.

CUADRO No. 1

Datos Observados entre las Pruebas Comparadas entre CTT y el Método Cuantitativo de Dilución para Orinas en un Hospital de la C.C.S.S. en 1974

		CTT		Σ
		Positivo	Negativo	
Método de Dilución	Negativo	158	212	370
	Positivo	188	18	206
	Σ	346	230	576
Datos Esperados				
		Positivo	Negativo	
Negativo		222.26	147.74	
Positivo		123.74	82.26	

Prueba de chi cuadrado = 130.00

* Subjefe de Laboratorio, Hospital Turrialba, C.C.S.S.

Se observa del mismo cuadro anterior que la probabilidad de encontrar por azar un valor igual o mayor a $\chi^2 = 130.00$ es menor de 0.005. Esto expresa de acuerdo a los resultados que no existe relación entre los dos métodos que se comparan. Se deduce que la prueba de CTT no muestra una relación satisfactoria con el método cuantitativo de dilución. Los resultados del efecto de proteína sobre la prueba de CTT aparecen en el cuadro No. 2.

CUADRO No. 2

Datos Observados de Prueba de CTT en Presencia de Proteína en Orinas en un Hospital de la C.C.S.S. en 1974

	Datos Observados		Σ
	Positivo	Negativo	
0	200	135	335
Trazas	118	76	194
30	19	13	32
100	4	4	8
300	5	2	7
Σ	346	230	576

Datos Esperados	
Positivo	Negativo
201.2	133.8
116.5	77.4
19.2	12.8
4.8	3.2
4.2	2.8

El resultado de la prueba de chi cuadrado $\chi^2 = 3.29$.

Esta prueba anterior nos señala que el contenido de proteína no influye en el resultado de la lectura, ya que la proporción de positivos a negativos con CTT se conserva prácticamente estable para los diferentes niveles de proteína.

DISCUSION

En este estudio se utilizó muestras de pacientes de dentro y fuera del hospital, así, varios métodos se utilizaron para coleccionar orina. Algunos de los resultados anómalos se obtuvieron con muestras inadecuadas. La contaminación de orinas por lactobacilos vaginales, en parte asume las 158 orinas de resultado negativo con el método cuantitativo y positivo con CTT. Esto se debe a que el lactobacilo crece pobremente sobre medios de cultivo y son capaces de reducir el CTT. Otra razón son mezclas bacterianas que se demuestran como contaminación. La frecuencia con los datos positivos en 605 orinas produce un resultado de 88%. Otras frecuencias muestran los siguientes resultados con más 100.000 bacterias/ml.

Bulger & Kirby (1963)	79
Chard & Cole (1963)	97.8
Cuthbert (1967)	91
Deutch & Jeperson (1964)	90.5
Fairley & Barnackugh (1966)	56
Guze & Kalamanson (1963)	65
Hinton & Van der Horven (1965)	70.5
Hnatko (1964)	97.2
Kincaid - Smith et. al. (1964)	86
Kinkerton et. al. (1965)	99.6
Purres & Jaworski (1965)	92.5
Sleigh (1965)	76
Simmons & Williams (1962)	94
Steers & Jackson (1963)	60
Wallace (1965)	84
Williams & Simmons (1963)	90
Simmons & Williams (1967)	80 ⁵

Simmons y Williams sugieren posibles razones para los resultados que obtienen algunos investigadores: 1. El pH inicial y la osmolaridad de la orina. 2. Variaciones en el color del reactivo al obtenerse de varias fuentes. 3. Diferencias en la naturaleza de las muestras examinadas. Los datos anteriores implican que los resultados son desfavorables para aceptar esta prueba como presuntiva para bacteriurias. Del cuadro No. 2 se observa que la proteína no afecta el desarrollo de la prueba. La glucosa carece de efecto sobre la reacción. Los agentes activos antimicrobianos contra el organismo, bloquean la prueba.

CONCLUSIONES

Una de las desventajas del CTT y que la diferencia de otras pruebas, es que no permite subcultivo de colonias aisladas. El CTT tiene la ventaja de mantener sus propiedades en almacenamiento prolongado. El conteo cuantitativo es un método adecuado y seguro, para distinguir contaminación urinaria de infección verdadera, pero consume tiempo y no se adapta fácilmente como prueba rápida para todos los pacientes. Con resultados tan diferentes y con conclusiones conflictivas es difícil mostrar el valor real de esta prueba, la apariencia es que, en manos apropiadas y con pruebas comparativas preliminares puede ser de valor como prueba presuntiva, en encuestas. El uso de nuevas preparaciones comerciales deben reducir algunas de las variables inherentes.

RESUMEN

Se comparó el 2, 3, 5 CTT contra el método cuantitativo de dilución para determinar bacteriurias y así poder sustituir el método

cuantitativo en encuestas y abundantes volúmenes de trabajo. El resultado por bacteriurias en 605 orinas fue de 88% a favor del CTT. Este resultado es inaceptable al medir la prueba estadísticamente. El indicador CTT posee ventajas como prueba presuntiva. Los resultados en este trabajo se acercan bastante a la demanda por una prueba simple que la haga ser de elección en diagnóstico de bacteriurias.

SUMMARY

A comparison was made between 2, 3, 5 TTC against a quantitative method to determine significant bacteriuria. This was done in order to substitute the quantitative method for the 2, 3, 5, TTC test in surveys or wide volumes of work. The positive result in 605 urine was 88% which favoured the TTC. The result of the statistic for the test, is not acceptable. The presence of protein does not interfere with the results. The TTC indicator have advantages as a screening test. The result of this work gives an approach for a simple test that can be of preference in the diagnosis of bacteriurias.

BIBLIOGRAFIA

1. BATES B., J. MULINARE. Physicians use and opinion of screening test in ambulatory practice. *J.A.M.A.* 214 (12):2173-2180. 1970.
2. CRAIG W. A., C. M. KUNIN, DEGROOT J. Evaluation of new urinary tract infection screening devices. *Appl. Microbiol.* 26 (2):196-261. 1973.
3. FRANKEL S., S. REITMAN, SONNENWIRTH A.C. *Gradwohl's Clinical Laboratory Methods and Diagnosis*. 7th Ed. Vol. 2. The C. V. Mosby Co. P. 1415-1416. 1970.
4. SIMMONS N. A., J. D. WILLIAMS. A simple test for significant bacteriuria. *Lancet* 1377-1378. 1962.
5. PEGRAM R. G. The microbiological uses of 2, 3, 5 triphenyl tetrazolium chloride. *J. Med. Lab. Technol.* 26: 175-198. 1969.