

El test T.T.C. como prueba de pesquisa de infección urinaria

DRES.: JOSE MIGUEL CELEDON G. *, ABDALLA HARUM M. **, EDUARDO DONOSO M. ***, SRA. MARIA ELIANA BUSTOS ****.

El diagnóstico de la infección de las vías urinarias tiene gran relevancia en pediatría, ya que cada vez se conoce más ampliamente la relación existente entre la infección del tracto urinario (ITU) y la enfermedad renal grave, que puede evolucionar hacia una pielonefritis crónica. C. M. Kunin ha demostrado la importancia de las infecciones urinarias asintomáticas en la edad pre-escolar y escolar (1.2).

La ITU es un problema diagnóstico difícil, que debe resolver el pediatra, particularmente en los lactantes, en que los síntomas son referidos como cuadros febriles, diarreas, vómitos, retraso pondero-estatural y sólo en la edad pre-escolar y escolar son referidos al tracto urinario como disuria, polaquiuria, hematuria (3.4).

El diagnóstico de la ITU se puede sospechar por la clínica, pero hoy existe consenso, que es indispensable la confirmación diagnóstica con el estudio bacteriológico de orina con identificación y cuantificación del germen patógeno. Sin embargo, este examen bacteriológico no se adapta fácilmente al trabajo de rutina en la pesquisa de bacteriurias en grandes poblaciones. Es por ello que se han ideado distintos métodos de pesquisa de bacteriurias, como el test del Trifenil Tetrazolium Cloruro (TTC), (9); el test del Nitrito (5, 8), el sedimento urinario (6, 10, 7), Uricult y otras pruebas que son métodos de orientación en la pesquisa de la infección urinaria.

Wundt demostró que la actividad metabólica de algunas bacterias, especialmente Gram negativas, era capaz de reducir el 2, 3, 5, Trifenil Tetrazolium Cloruro a Trifenil Formazán, convirtiéndolo de un compuesto soluble e incoloro en una sustancia insoluble de color rojo (11).

Simmons y Williams encontraron en un 94% correlación entre el test TTC positivo y recuentos bacterianos en orina sobre 10^5 col/ml (9); posteriormente Ingram y Wade encontraron un 82,4% de correlación entre el TTC y el urocultivo (6).

El presente estudio, tiene como objetivo precisar el valor del test TTC en la orientación diagnóstica de infección urinaria en pediatría, estudiando la sensibilidad y especificidad de este "Screening Test" comparándolo con la identificación y recuento de colonias en la orina. También se estudia el valor del sedimento urinario en el diagnóstico de la ITU.

MATERIAL Y METODO. Se estudiaron 305 niños hospitalizados en el Servicio de Pediatría y controlados ambulatoriamente en el Departamento de Nefrourología del Hospital L. Calvo Mackenna. En todos estos pacientes se sospechaba el diagnóstico de ITU por el cuadro clínico y/o por sedimentos urinarios alterados, por lo cual se les solicitó estudio bacteriológico de la orina.

La distribución por edades de los 305 pacientes da un 48,1% para lactantes (147) y un 51,9% para pre-escolares y escolares (158); la distribución por sexo da un 64,2% de mujeres (196) y un 35,8% de hombres (104). En el 76% de los niños estudiados, las muestras se obtuvieron por recolección miccional tomadas previo aseo genital con suero fisiológico y en el 24% por punción vesical suprapúbica.

El reactivo de Trifenil Tetrazolium Cloruro (TTC) se preparó disolviendo 250 mg del reactivo puro en 33 ml de una solución de fosfato ácido saturado ($\text{Na}_2 \text{HPO}_4$). Esta solución stock se esterilizó por filtración Seitz, controlándose su esterilidad con cultivo, el que fue negativo. La solución de trabajo se preparó disolviendo 4 ml de la solución stock en 100 ml de la solución de

* Becado Residente Hosp. L. Calvo Mackenna.
** Jefe Servicio Lactantes "A". Hosp. L. Calvo Mackenna.
*** Jefe Laboratorio Bacteriología. Hosp. L. Calvo Mackenna.
**** Tecnólogo Médico. Hosp. L. Calvo Mackenna.

fosfato ácido saturado. A esta solución de trabajo se le realizaron controles periódicos de esterilidad (cada 7 días) los que fueron negativos. Ambas soluciones se guardaban en la oscuridad y la de trabajo se renovó cada 15 días.

El test TTC se realizó agregando 0,5 ml de la solución de trabajo a 2 ml de orina, incubándolo a 37° C. durante 4 horas, después de lo cual, el resultado era leído por una sola persona, para uniformar criterios. El test TTC positivo consiste en un precipitado rojo. Para cada muestra de orina se realizó simultáneamente estudio bacteriológico con identificación y cuantificación del tipo de gérmenes.

El estudio del sedimento urinario se realizó previamente al urocultivo y se usó orina centrifugada a 2.500 R. P. M. por 10 minutos. La observación al microscopio se hizo bajo aumento mayor (520) recorriendo entre 10 y 20 campos. Se consideró piuria significativa sobre 5 leucocitos o glóbulos de pus por C M A. (Regular cantidad; abundantes y en placas).

RESULTADOS. De las 305 muestras estudiadas, obtuvimos en el estudio bacteriológico, bacteriurias significativas (recuentos sobre 10^5 col/ml) en 47 casos. En los restantes 258 casos, el urocultivo dio recuentos bajo 10^5 col/ml, o al aislar las especies bacterianas se obtenían cultivos polimicrobianos sugerentes de contaminación de la muestra de orina. Si tomamos los 47 casos, con estudio bacteriológico que confirmó la ITU, el Test TTC dio resultados positivos en 37 casos y en 10 resultados negativos. Esto significa que la sensibilidad del test TTC (El porcentaje de verdaderos positivos entre los casos de ITU) es de 78,7%. (37/47). Entre las 258 muestras de orina con estudio bacteriológico negativo (recuentos bajo 10^5 col/ml o especies aisladas que corresponden a contaminaciones de la muestra) obtuvimos 254

T A B L A 1

CLASIFICACION DE 305 MUESTRAS DE ORINA SEGUN EL RECUENTO DE COLONIAS, LA ESPECIE MICROBIANA Y EL TEST T. T. C.

Urocultivo	Test T.T.C.		Total
	Positivos	Negativos	
Positivos			
Recuento Bacteriano > 10^5 /ml	37	10	47
Negativos			
Recuento Bacteriano < 10^5 col/ml. y especies de contaminación	4	254	258
T o t a l	41	264	305

T A B L A 2

CLASIFICACION DE 200 MUESTRAS DE ORINA SEGUN EL RECUENTO DE COLONIAS, LA ESPECIE MICROBIANA Y EL SEDIMENTO URINARIO

Urocultivo	Sedimento Urinario		Total
	Piuria sig-nificativa *	Piuria no signif. **	
Positivos			
Recuento Bacteriano > 10^5 col/ml.	29	7	36
Negativos			
Recuento Bacteriano < 10^5 col/ml. y especies de contaminación	77	87	164
T o t a l	106	94	200

* Piuria significativa = + 5 Leucocitos x CMA

** Piuria no significativa = menos 5 leucocitos x CMA.

T A B L A 3

CLASIFICACION DE 246 MUESTRAS DE ORINA CON BACTERIURIAS PURAS, SEGUN RECUENTO DE COLONIAS Y RESULTADO DEL T. T. C.

Recuento Bacteriano (col/ml.)	Test T. T. C.		Total
	Positivos	Negativos	
0	1	183	184
1 a 10^4	0	9	9
10^4 a 10^5	0	6	6
Sobre 10^5	37	10	47
T o t a l	38	208	246

test TTC negativos y 4 test TTC positivos. Esto nos da una especificidad del test TTC (el porcentaje de verdaderos negativos entre los casos sin ITU) de 98,4% (254/258) (tabla 1).

En la tabla N° 2 podemos observar el significado de la piuria en el sedimento urinario en relación al recuento bacteriano. Se revisan 200 sedimentos urinarios, de las 305 muestras a las cuales se les realizó el test TTC. Estos sedimentos fueron realizados previamente al urocultivo y su clasificación en relación al recuento bacteriano nos da un índice de sensibilidad del 80% (29/36) y una especificidad del 53% (87/164).

En la tabla N° 3 podemos apreciar que en los cultivos en que se aisló un solo tipo de bacterias, en los recuentos bajo 10^5 col/ml hay en todos los casos —con una sola excepción— resultados negativos del test TTC; lo que revela una alta especificidad del TTC. (pocos falsos positivos).

T A B L A 4

CLASIFICACION DE 59 MUESTRAS DE ORINA SEGUN EL RECuento DE COLONIAS, ESPECIE MICROBIANA Y T. T. C.

Especie Bacteriana aislada	R E C U E N T O B A C T E R I A N O (col/ml)						Total	
	1 a TTC +	10 ⁴ TTC —	10 ⁴ TTC +	a 10 ⁵ TTC —	Sobre TTC +	10 ⁵ TTC —	TTC +	TTC —
Polimicrobiano	0	14	0	14	0	11	0	39
Mixto con Proteus	0	2	0	2	3	13	3	17
T o t a l	0	16	0	16	3	24	3	56

En la tabla N° 4 observamos la relación existente entre el test TTC y la especie bacteriana aislada. Vemos que en los casos en que se sospecha contaminación de la muestra de orina (59), hay 56 TTC negativos y 3 TTC positivos. Los tres TTC positivos correspondieron a incontables col/ml (más de 10⁵ col/ml.) con identificación de especies bacterianas mixtas con proteus.

Los gérmenes aislados en los casos de ITU, con bacteriurias sobre 10⁵ col/ml. se observan en la tabla N° 5.

DISCUSION. El estudio bacteriológico de orina es el único método seguro que nos permite diagnosticar la infección urinaria, pero debido al tiempo que se requiere y a los recursos que consume, no es un método que se adapte a la búsqueda sistemática de bacteriurias en grandes poblaciones.

La revisión de las publicaciones existentes, nos mostró que las pruebas más útiles en la detección de bacteriuria son el Uricult (4), la prueba del Nitrito (8), el examen microscópico del

sedimento urinario (7, 12), el test TTC (5, 6, 11, 9) y la tinción Gram (4).

Como se puede apreciar en el presente estudio se obtuvo un índice de sensibilidad del test TTC de 78,7% y un índice de especificidad de 98,4%. Para el sedimento urinario obtuvimos una sensibilidad (porcentaje de verdaderos positivos entre los pacientes con ITU) de 80% y una especificidad (porcentaje de verdaderos negativos entre los pacientes sin ITU) de 53%.

Para el análisis de nuestros resultados es necesario considerar los siguientes aspectos:

1.— El índice de mayor significación para valorar un "Screening test", que está destinado a la pesquisa en grandes poblaciones de enfermos, es el valor predictivo de un test Positivo y Negativo. (13, 14, 16).

El valor predictivo de un Test Positivo (VPTP) es el porcentaje de veces que un Test TTC positivo (o piuria significativa) detecta a un paciente con ITU, que en nuestra experiencia da para el TTC un 90,2% (37/41) y para el sedimento urinario un 26,7% (29/106). Esto significa que en el caso del test TTC hay pocos falsos positivos del test (9,8%) y que la piuria tiene en un alto porcentaje (73,3%) falsos positivos. Esto es así a pesar de tener el sedimento una sensibilidad de un 80% y el TTC de un 78,7%.

El valor predictivo de un test Negativo (VPTN) es el porcentaje de veces que un Test TTC Negativo (o piuria no significativa) detecta a un paciente sin ITU. Para el TTC obtuvimos un VPTN de 96,2% (254/264) y para el sedimento urinario de 92,5% (87/94) lo que nos revela que en ambos métodos hay pocos falsos negativos en la pesquisa de ITU.

—En el trabajo ya citado de Zilleruelo y cols., se encuentra una sensibilidad y especificidad del

T A B L A 5

CLASIFICACION DE 47 MUESTRAS DE ORINA CON BACTERIURIAS SIGNIFICATIVAS (SOBRE 100.000 COL/ML.) SEGUN GERMEN AISLADO Y T. T. C.

Especie bacteriana aislada	TTC Positivos	TTC Negativos	Total
Escherichia Coli	29	10	39
Proteus sp.	3	0	3
Klebsiela Enterobater	3	0	3
E. Coli-Klebsiela E.	1	0	1
E. Coli-Proteus sp.	1	0	1
T o t a l	37	10	47

sedimento urinario similar a la muestra, pero con VPT Positivo mayores que los nuestros, lo cual puede ser explicado principalmente por la técnica de obtención de la muestra de orina hecha por personal con mayor adiestramiento y experiencia y porque el estudio microscópico del sedimento urinario es difícil y requiere uniformidad de criterios para la identificación de los glóbulos blancos y su cuantificación.

2.— Nos parece importante destacar que en los casos de sospecha de contaminación de la muestra de orina (por la forma de recolección y/o manejo de la muestra) encontramos que el TTC nos revela en todas las bacteriurias bajo 10^5 col/ml., resultados negativos y en sólo 3 casos, en que se aisló Mixto con *Proteus* y el recuento dio incontables col/ml. (más de 10^6 col/ml.), dio TTC positivo.

Este resultado es significativo, ya que de los 305 casos, en un 19,3% el estudio bacteriológico dio cultivos sugerentes de contaminación y en estos casos el TTC muestra una especificidad alta para distinguir las bacteriurias que corresponden a contaminación de las bacteriurias verdaderas y significativas de infección urinaria.

Las bacterias Gram negativas son las principales responsables de las ITU, y el TTC muestra en un alto porcentaje resultados positivos en los recuentos sobre 10^5 col/ml. de bacterias Gram Negativas. En las muestras contaminadas frecuentemente se encuentran *Streptococcus faecalis*, lactobacilli de la vagina, *Pseudomonas* que no indican ITU, sino que contaminación de la orina por la forma de recolección y/o manejo de la muestra, y son informados como cultivos polimicrobianos o mixtos con proteus.

Un hallazgo importante de nuestra experiencia es que aparentemente estas bacterias de contaminación no reducen el TTC, ya que de los 59 casos de cultivos Polimicrobianos o Mixtos con *Proteus* 56 dieron TTC negativos y 3 TTC positivos. De estos últimos el recuento dio incontables col/ml y se aisló mixto con proteus. Estos resultados pueden ser explicados por la presencia del proteus en la orina, que podría ser el responsable de la reducción del TTC.

Esta hipótesis ya había sido planteada por Joseph Pagano y colaboradores (15) al demostrar la utilidad del TTC como medio de diagnóstico diferencial de diferentes especies de *Candida*.

3.— Hubo un caso en que el recuento de colonias dio 0 col/ml. y el TTC fue positivo. La explicación puede estar en que al realizar el test se hubiera contaminado con gérmenes ambientales, ya que hubieron 184 muestras de orina con recuentos de 0 col/ml. de los cuales 183 fueron TTC negativos y 1 TTC positivo.

CONCLUSIONES. 1.— El TTC puede ser un examen de gran utilidad para la pesquisa de bacteriurias significativas de ITU.

2.— El TTC demostró un índice de sensibilidad de 78,72% con un valor predictivo del TTC positivo de 90,24% y del TTC negativo de 96,21%. El sedimento urinario reveló un VPTP de 26,7% con una especificidad del 53%.

3.— El valor del TTC como prueba de orientación diagnóstica es alto ya que es de fácil manejo y técnica, de bajo costo y de ejecución rápida.

4.— El TTC en ningún caso reemplaza al examen bacteriológico de orina, sino que orienta para solicitar este examen en los casos en que se tenga un TTC positivo, para confirmar el diagnóstico de ITU. Si el TTC es negativo, con un 96,2% de confianza podemos predecir que el cultivo de orina será negativo.

RESUMEN

Se estudia el TTC comparándolo con el cultivo y recuento de colonias en 305 exámenes de orina de niños hospitalizados y controlados ambulatoriamente del Hospital L. Calvo Mackenna. Se analiza la sensibilidad y especificidad del Test TTC comparándolo con el estudio bacteriológico de orina en la orientación diagnóstica de la ITU en grandes poblaciones. Se analiza la importancia de este Test por ser rápido, de fácil ejecución, de bajo costo. Presenta altos índices de sensibilidad (78,7%) y valor predictivo del Test Positivo (90,2%) y del Test negativo (96,2%). Para el sedimento Urinario se encontró una sensibilidad de 80% y una especificidad del 53% lo que nos revela un bajo valor Predictivo del Sedimento positivo (26,7%). Se concluye que el Test TTC es un "Screening Test" de gran utilidad en la pesquisa de bacteriurias en grandes poblaciones.

SUMMARY

Sensitivity and specificity of Trifenil Tetrazolium Chloride Test (T.T.C.) were compared with those of urine culture-bacterial count and Urine Sediment in 305 samples of urine of children admitted to Hosp. L. Calvo Mackenna.

It was appreciated that T.T.C. rendered high indexes of sensitivity and predictive value when correlated to bacterial count. Conversely, Urine Sediment was a poor test in terms of sensitivity and specificity.

It was concluded that T.T.C. is a useful aid for screening urinary tract infections in large group of patients.

AGRADECIMIENTOS

Queremos agradecer la colaboración prestada por el Departamento de Salubridad de la Universidad de Chile y especialmente a la señora Julia Jaude, Estadístico-Matemático, quien nos realizó las valoraciones estadísticas de nuestros resultados y el Departamento de Microbiología de la Universidad Católica por intermedio del Dr. Manuel Rodríguez, quien nos facilitó el reactivo TTC.

REFERENCIAS

- 1.— *Kunin C. M. y Halmagyi N. E.* Urinary Tract infections in school children II. Characterization of invading organism. *New Eng. J. Med.* 266-1297, 1962.
- 2.— *Kunin C. M.* Infecciones Urinarias. Ediciones Torrey S. A., 1974.
- 3.— *Puga F. y cols.* Infecciones Urinarias en el niño. *Revista Chilena de Pediatría* 44: 145-51, 1973.
- 4.— *Zilleruelo C.* Diagnóstico de Infección Urinaria en Pediatría. *Revista Chilena de Pediatría.* 44, 6: 553-555, 1973.
- 5.— *Sacks T. G. y Abramson J. H.* Screening Test for Bacteriuria. A validity study. *J. Amer. Med. Ass.* 201, 1: 79 a 82, 1967.
- 6.— *Ingram G. B. P. y Wade W. G.* A comparison of screening methods for the detection of significant bacteriuria. *J. Irish Med. Ass.* 59, 352: 118 a 120, 1966.
- 7.— *Zilleruelo y cols.* Correlación entre el sedimento urinario y el cultivo y recuento de colonias bacterianas. *Revista Chilena de Pediatría*, 44, 2: 138 a 142, 1973.
- 8.— *Randolph and Morris.* Screening of Bacteriuria. *Journal of Pediatrics.* 84, 2, 1974.
- 9.— *Simmons N. A. and Williams J. D.* Method for detection of significant bacteriuria. *Lancet*, 30 de June, 1962.
- 10.— *Leigh D. A. and Williams J. D.* Method for detection of significant bacteriuria in large group of patients. *J. Clin. Path.* 17, 498, 1964.
- 11.— *Wundt W.* *Dtsch. Med. Wechr.* 75, 1471, 1950.
- 12.— *Pryles C. y cols.* Laboratory diagnosis of UTI. *Pediatrics Clinics of N. A.* 18: 233, 1971.
- 13.— *Bennett B. M.* On Comparison of sensitivity, specificity and predictive value of a number of diagnostic procedures, *The Biometrics Society* 28, 3, 1972.
- 14.— *Vecchio T.* Predictive Value of a single diagnostic test in unselected populations. *The New Eng. J. of Med.* 274, 21.
- 15.— *Pagano et cols.* Diagnostic Medium for differentiation of Species of *Candida*. *Antibiotic Annuals* 1957-1958, 137.
- 16.— *Pediatrics Clinics of N. A.* Febrero 1974. Pág. 123.