

Eficacia de dos métodos semiautomáticos para la exclusión de bacteriuria

David Velasco, Emilia Gil, Pilar García y Antonio Guerrero

Servicio de Microbiología. Complejo Hospitalario Juan Canalejo. La Coruña.

FUNDAMENTO. Un método de detección rápido y fiable de bacteriuria permitiría excluir la presencia de microorganismos en la orina el mismo día en que se obtiene la muestra.

OBJETIVO. Se han evaluado dos métodos semiautomáticos para el cribado de bacteriuria y se ha tomado el cultivo semicuantitativo como método de referencia.

MATERIAL Y MÉTODO. Se diseñó un estudio prospectivo de muestras de orina procedentes de pacientes con sospecha de infección urinaria. Uno de ellos se basó en bioluminiscencia, mediante la que se detecta la presencia de ATP liberado por la célula bacteriana (Utiscreen-Coral Biomedical). El otro método semiautomático utiliza una técnica de nefelometría (Uroquick). Los resultados de cada uno de los métodos semiautomáticos se compararon con el cultivo semicuantitativo. Se consideró infección del tracto urinario (equivalente a bacteriuria significativa) cuando las muestras ofrecieron un recuento $> 10^4$ UFC/ml de uno o 2 microorganismos. Los cultivos con recuento < 5.000 UFC/ml o bien con tres o más microorganismos fueron clasificados como no representativos de bacteriuria significativa. El sistema nefelométrico permite obtener resultados a tiempos distintos. Las muestras fueron divididas en 2 grupos para comparar ambas situaciones.

RESULTADOS. Se consideraron 1.090 orinas recibidas consecutivamente. En el caso del sistema bioluminiscente se prolongó el estudio hasta 1.565 muestras separadas en dos períodos distintos. Los valores obtenidos fueron: a) bioluminiscencia: datos globales, sensibilidad (S) = 94,4%; especificidad (E) = 72,8%; valor predictivo positivo (VPP) = 46,2% y valor predictivo negativo (VPN) = 98,2%; sólo hospitalizados, S = 97,5%; E = 77,3%; VPP = 61,2% y VPN = 98,8%; y b) nefelometría: 195 min, S = 96,7%; E = 88,8%; VPP = 67,9% y VPN = 99,1%; 235 min, S = 95,5%; E = 81,0%; VPP = 58,7% y VPN = 98,4%.

CONCLUSIÓN. El valor predictivo negativo de ambos métodos en las condiciones utilizadas permitiría su empleo para la exclusión de bacteriuria.

Palabras clave: Bacteriuria. Cribado. Métodos semiautomáticos.

Efficacy of two semiautomatic methods for bacteriuria detection

BACKGROUND. A quick and reliable method for detecting bacteriuria would allow to exclude the presence of microorganisms in the urine on the same day the sample is obtained.

OBJECTIVES. Two semiautomatic methods have been evaluated for bacteriuria screening, taking the semiquantitative culture as reference method.

MATERIAL AND METHOD. A prospective study of urine samples from patients suspected of having a urinary infection was designed. One method is based on bioluminescence that detects the presence of ATP liberated by the bacterial cell (Utiscreen-Coral Biomedical). The other semiautomatic method uses a nephelometry technique (Uro-quick). The results of each semiautomatic method were compared with the semiquantitative culture. Samples presenting counts $> 10^4$ UFC/ml of one or two microorganisms were considered as having urinary-tract infection (equivalent to significant bacteriuria). Cultures with counts $< 5,000$ UFC/ml or containing three or more microorganisms were classified as non-representative of significant bacteriuria. The nephelometric system allows to obtain results at two different times. Samples were divided into two groups to compare both situations.

RESULTS. 1,090 urine samples, received consecutively, were considered. In the case of the bioluminescence system, the study was prolonged to 1,565 samples. The values obtained were: a) bioluminescence: general data, sensibility (S) = 94.4%; specificity (E) = 72.8%; positive predictive value (PPV) = 46.2% and negative predictive value (NPV) = 98.2%; hospitalized patients only, S = 97.5%; E = 77.3%; PPV = 61.2% and NPV = 98.8%; and b) nephelometry: 195 min, S = 96.7%; E = 88.8%; PPV = 67.9% and NPV = 99.1%; 235 min, S = 95.5%; E = 81.0%; PPV = 58.7% and NPV = 98.4%.

CONCLUSION. A negative predictive value from both methods under these conditions would allow them to be used in medical centers for the exclusion of bacteriuria.

Key words: Bacteriuria. Screening. Semiautomatic methods.

Correspondencia: Dr. David Velasco.
Servicio de Microbiología. Complejo Hospitalario Juan Canalejo.
Xubias de Arriba, 84.
15006 A Coruña.
Correo electrónico: Davidvelasco@canalejo.org

Manuscrito recibido el 12-02-2001; aceptado el 11-07-2001.

Introducción

La detección de bacteriuria es una de las solicitudes más frecuentes en los laboratorios de microbiología. Muchos de los cultivos realizados ofrecen resultados negativos o bien éstos son interpretados como contaminaciones. El establecimiento de un sistema de cribado rápido y seguro permitiría reducir el tiempo de respuesta y el trabajo. Existen varios tipos de sistemas de cribado de bacteriuria^{1,2}. Entre estos métodos se encuentra uno basado en la bioluminiscencia que detecta la presencia de ATP liberado por la célula bacteriana y otro que utiliza una técnica de nefelometría o de dispersión de luz láser. La utilización de estos métodos en un laboratorio de microbiología permitiría excluir la presencia de bacteriuria horas después de obtenida la muestra.

Se han evaluado estos 2 métodos de cribado (uno de bioluminiscencia y otro de nefelometría) tomando como referencia el cultivo semicuantitativo en placa para conocer especialmente el valor predictivo negativo de los mismos.

Material y método

Se diseñó un estudio prospectivo para calcular los falsos positivos, falsos negativos, la sensibilidad, la especificidad, el valor predictivo positivo y el valor predictivo negativo de un método basado en bioluminiscencia mediante el que se detecta la presencia de ATP liberado por la célula bacteriana (UtiScreen-Coral Biomedical distribuido por Francisco Soria Melguizo S.A.)³ y de otro sistema que utiliza una técnica de nefelometría o de dispersión de luz láser (equipo Uro-quick de Becton Dickinson)⁴.

Se estudiaron 1.090 orinas recibidas de manera consecutiva en el caso del sistema nefelométrico y 1.565 orinas separadas cronológicamente en 2 periodos para el sistema bioluminiscente (las primeras 1.090 orinas coincidieron con las analizadas por el sistema nefelométrico). Las orinas procedentes de los diversos centros fueron transportadas al laboratorio en una nevera portátil y se procesaron en la misma mañana. Las muestras de enfermos hospitalizados que se recogían fuera del horario de recepción de muestras se conservaban en una nevera a 4 °C hasta el momento de su siembra.

Como método de referencia se empleó el cultivo semicuantitativo en placa utilizando un asa calibrada de 0,01 ml de orina homogeneizada en placas de agar sangre y agar MacConkey, que se incubaron durante 24 h a 37 °C, y se observaron el número y tipo de colonias presentes. Se emplearon los métodos de identificación estándar de bacterias aerobias. Según el resultado del cultivo, las muestras fueron clasificadas en tres categorías. Se consideraron como representativos de infección urinaria los cultivos con recuentos superiores a 10⁴ unidades formadoras de colonias (UFC)/ml de uno o 2 microorganismos. Por otra parte, fueron clasificados como muestras no representativas de infección urinaria las que ofrecían recuentos menores de 5.000 UFC/ml o con tres o más microorganismos distintos. Por último, las muestras con recuentos intermedios no fueron valoradas.

Método semiautomático de bioluminiscencia

Este sistema se basa en la medición del valor de ATP de origen bacteriano de la muestra. La cantidad de ATP proporciona una estimación del número de bacterias presentes en la orina. Previamente es necesario eliminar el ATP perteneciente a las células somáticas de la orina para que éste no produzca una sobrestimación en el grado de bacteriuria. Con posterioridad las bacterias son lisadas y su ATP reacciona con los reactivos luciferina y luciferasa para formar oxiluciferina junto con radiación bioluminiscente, que se recoge en un luminómetro fotomultiplicador. La intensidad de luz es proporcional a la concentración de ATP y, por tanto, al grado de bacteriuria. La lectura se realiza en un tiempo aproximado de 45 min. Si la emisión de luz supera un umbral, el sistema considera la muestra como positiva. Dicho umbral o punto de corte puede fijarse en el valor que se desee.

En este estudio, y con el fin de obtener buenos resultados en el valor predictivo negativo (VPN), se situó el umbral en un punto bajo, que corresponde al 1% de emisión del calibrador. El sistema admite hasta 160 muestras de una sola vez.

Por otro lado, este método fue evaluado seleccionando las muestras procedentes de pacientes ingresados en el hospital.

Método semiautomático nefelométrico

Mediante este sistema de dispersión de luz láser o técnicas de nefelometría se detecta el aumento de turbidez producido por el crecimiento de las bacterias presentes en la orina por medio de dos rayos láser polarizados.

La muestra de orina es introducida en un tubo con caldo de cultivo que se incubaba a 37 °C y se agita continuamente para mantener una turbidez homogénea. Las señales obtenidas por la dispersión de la luz se traducen a curvas de crecimiento y se correlacionan con el número de microorganismos viables por mililitro.

El tiempo invertido en el proceso varía según las UFC por mililitro presentes en la orina. Si partimos de inóculos pequeños se requieren periodos más prolongados de incubación para detectar la presencia de microorganismos en la orina. Con el fin de obtener buenos valores predictivos negativos, las muestras fueron incubadas durante tiempos prolongados: 578 orinas durante 195 min y 513 durante 235 min.

Para ambos métodos se han calculado la sensibilidad (S), la especificidad (E), el valor predictivo positivo (VPP), el valor predictivo negativo (VPN) y la *odds ratio* (OR).

Resultados

En el sistema basado en bioluminiscencia se incluyeron 1.565 orinas, de las que 298 fueron clasificadas en el cultivo como no valorables a efectos de predicción de infección urinaria. El 40,8% (517) de las orinas restantes rindieron cultivo positivo. En el caso del método nefelométrico, no fueron valoradas 222 orinas, 111 de ellas en cada uno de los 2 tiempos de incubación. El porcentaje de orinas con cultivo positivo fue del 28,0% (131) en el grupo de 195 min de incubación y del 35,5% (143) en el grupo de 235 min de incubación.

En la tabla 1 se expone el número de verdaderos positivos (VP), verdaderos negativos (VN), falsos positivos (FP), falsos negativos (FN) y muestras no válidas (NV), así

TABLA 1. Resultados de la evaluación de las pruebas

	Totales	VP	VN	FP	FN	NV	S	E	VPP	VPN	OR
Bioluminiscencia	1.565	239	745	278	14	298	94,4	72,8	46,2	98,2	45
Bioluminiscencia sólo hospitalares	344	79	171	50	2	44	97,5	77,3	61,2	98,8	135
Nefelometría 195 minutos	578	89	333	42	3	111	96,7	88,8	67,9	99,1	202
Nefelometría 235 minutos	513	84	255	59	4	111	95,5	81,0	58,7	98,4	90

VP: verdaderos positivos; VN: verdaderos negativos; FP: falsos positivos; FN: falsos negativos; S: sensibilidad; E: especificidad; VPP: valor predictivo positivo; VPN: valor predictivo negativo; OR: *odds ratio*.

TABLA 2. Microorganismos detectados por el sistema bioluminiscente y por cultivo semicuantitativo

	Estreptococo	Bacilo gramnegativo	Estafilococo	Totales
Bioluminiscencia	26 (10,3%)	203 (80,8%)	22 (8,7%)	251
Cultivo	32 (12,0%)	209 (78,8%)	24 (9,0%)	265
FN	6 (42,8%)	6 (42,8%)	2 (14,4%)	14

FN: falsos negativos.

como los valores de sensibilidad, especificidad, VPP y VPN expresados en porcentaje, y los valores de OR obtenidos de la población con y sin bacteriuria.

La distribución por tipo de microorganismo aislado en el cultivo de las orinas clasificadas como positivas por el sistema Utiscreen se expone en la tabla 2.

Discusión

El principal objetivo de un sistema de cribado de bacteriuria sería obtener y transmitir a los clínicos el resultado negativo en el mismo día de recepción de la muestra. Se evita así el cultivo de las orinas negativas, lo que repercute en un ahorro de tiempo y trabajo, especialmente considerable cuando el número de muestras es alto. Sin embargo, las técnicas semiautomáticas de cribado de bacteriuria deben asegurar una buena sensibilidad, aun a costa de perder especificidad, cuando se emplean para evitar el cultivo de las orinas negativas. Los 2 métodos analizados, Utiscreen y Uroquick, obtuvieron resultados muy satisfactorios en el cribado de bacteriuria en cuanto a la sensibilidad, especificidad, VPN y VPP. Las OR en las condiciones empleadas oscilaron entre 45 y 202, lo que apoya validez de las técnicas. Ambos sistemas son fiables, de fácil manejo y no presentan especial dificultad para ser introducidos en la rutina de trabajo del laboratorio. Es posible incluso conectarlos informáticamente con el sistema de transmisión de informes microbiológicos, de modo que la emisión de datos sea inmediata tras su validación.

Los valores de sensibilidad, especificidad, VPP y VPN obtenidos no difieren sustancialmente de los encontrados en estudios anteriores⁵⁻⁸. En el sistema nefelométrico cabe destacar que la prolongación del tiempo de incubación de 195 a 235 min no se refleja en un aumento significativo en los valores de sensibilidad y VPN, lo cual sugiere que 195 min son suficientes.

La principal diferencia entre los dos métodos es la velocidad de lectura. El sistema basado en la bioluminiscencia es capaz de procesar un máximo de 160 orinas en aproximadamente 50 minutos, mientras que el sistema nefelométrico requiere unas 3 h. Esta diferencia resulta especialmente importante cuando las orinas procedentes de centros periféricos sean recibidas ya avanzada la jornada laboral, y cuando las muestras positivas deban ser sembradas con posterioridad al cribado. Este factor negativo de los métodos basados en la turbidez se compensaría con la ventaja de tener la capacidad de diferenciar orinas positivas de orinas colonizadas o contaminadas, lo que se reflejaría en una mayor especificidad.

Una de las ventajas de los métodos semiautomáticos de cribado de bacteriuria es la posibilidad de ajustar el umbral de detección del aparato, el porcentaje de emisión de luz del calibrador en el método luminiscente y el tiempo de incubación en el método nefelométrico. Así, un umbral demasiado bajo permite obtener un VPN excelente pero con un alto número de falsos positivos, de modo que muy pocas orinas serán descartadas como negativas y el sistema de cribado no será rentable. Por el contrario, un punto de corte muy alto evita el cultivo de muchas orinas pero disminuye el VPN del sistema, y pueden perderse muestras representativas de infección urinaria.

A pesar de que las condiciones de ambos sistemas se establecieron para asegurar excelentes valores de sensibilidad y VPN, el número de orinas descartadas es lo suficientemente elevado como para hacer rentable la inclusión del sistema de cribado. Además, siempre cabe la posibilidad de variar las condiciones de sensibilidad del sistema en muestras que sean consideradas más importantes, como las procedentes de enfermos hospitalizados. En nuestra experiencia, los valores de sensibilidad y VPN del sistema bioluminiscente tras restringir a la población a los pacientes ingresados apenas se diferencian de los obtenidos en la población general.

En cuanto al tipo de microorganismo no detectado por el sistema bioluminiscente, es notoria la fuerte desproporción entre bacterias grampositivas y gramnegativas. Si se considera que, en nuestro estudio, casi el 80% de los aislamientos corresponde a bacterias gramnegativas, se observa una mayor dificultad del sistema para detectar la bacteriuria causada por microorganismos grampositivos que por gramnegativos. Desconocemos cuál es la causa de esa mayor dificultad, aunque es posible que se deba a la mayor resistencia de la pared de estafilococos y estreptococos a la acción de las enzimas líticas, lo que se traduce en una menor liberación de ATP y, por tanto, en un descenso de la señal.

En la organización del trabajo microbiológico podría mantenerse el urocultivo en las situaciones clínicas que se consideren especiales y agilizar el resultado de una gran proporción de orinas. En conclusión, cuando el número de muestras de orina es elevado, la inclusión de un sistema semiautomático de cribado de bacteriuria permite ofrecer el resultado negativo de manera más rápida sin perder fiabilidad.

Agradecimiento

Los reactivos y el equipamiento necesarios para la realización de este estudio fueron amablemente aportados por Francisco Soria Melguizo S.A. y Becton Dickinson.

Bibliografía

1. Alonso MI. Estudio comparativo para la detección de bacteriuria. *Rev Esp Microbiol Clin* 1989;4:581-4.
2. Bixler-Forell E, Bertram MA, Bruckner DA. Clinical evaluation of three rapid methods for the detection of significant bacteriuria. *J Clin Microbiol* 1985;22:62-7.
3. Thore A, Lundin A, Ansehn S. Fierfly luciferase ATP assay as a screening method for bacteriuria. *J Clin Microbiol* 1983;17:218-24.
4. Riva R, Carcheri M, Lacitignola G, Pastorino I, Vigarello A, Zanin C, et al. Impiego del sistema computerizzato Uro-quick per il rilevamento rapido di infezioni del tratto urinario [resumen V094] AMCLI 1993. Domus de Maria. Cagliari: XII Congresso Nazionale Associazione Microbiologi Clinici Italiani.
5. Milagro A, Moles B, Seoane A, Navascués J, Blasco M, García-Moya JB. UTIscreen frente a UROQUICK: dos sistemas semiautomáticos de detección de bacteriuria. *Enferm Infecc Microbiol Clin* 1999;17:398-400.