

Procedimientos en Microbiología Clínica

Recomendaciones de la Sociedad Española de Enfermedades
Infecciosas y Microbiología Clínica

Editores: Emilia Cercenado y Rafael Cantón

14a

**Diagnóstico microbiológico
de las infecciones del tracto
urinario**

2 0 1 0

Coordinadora: Antonia Andreu Domingo

Autores: Antonia Andreu Domingo
Juana Cacho
Amparo Coira Nieto
José Antonio Lepe Jiménez



ISBN-978-84-614-3491-6

INDICE DEL DOCUMENTO CIENTÍFICO

1. Introducción

2. Consideraciones clínicas

- 2.1 Síndromes clínicos
 - 2.1.1 Cistitis
 - 2.1.2 Pielonefritis aguda
 - 2.1.3 Bacteriuria asintomática
 - 2.1.4 Infecciones urinarias recurrentes
 - 2.1.5 Infecciones urinarias en el varón
 - 2.1.6 Infecciones urinarias en la infancia
- 2.2 Etiología
- 2.3 Resistencia antimicrobiana de los patógenos urinarios
- 2.4 Patogenia
 - 2.4.1 Factores predisponentes de infección urinaria
 - 2.4.2 *Escherichia coli*. Filogenia y virulencia
 - 2.4.3 Microbiota fecal. Dinámica de las poblaciones de *Escherichia coli*
 - 2.4.4 Infecciones urinarias recurrentes
 - 2.4.5 Infecciones urinarias en el paciente sondado
 - 2.4.6 Microbiota vaginal normal. Papel protector de *Lactobacillus* spp.

3. Recogida de muestras

- 3.1 Recogida de la orina por micción media espontánea
- 3.2 Recogida de la orina por sondaje vesical
- 3.3 Recogida de la orina en pacientes con sonda permanente
- 3.4 Recogida de la orina en bolsa adhesiva
- 3.5 Recogida de la orina por punción suprapúbica
- 3.6 Recogida de la orina en situaciones especiales

4. Transporte y conservación de la muestra

5. Manejo de la muestra en su recepción en el laboratorio de microbiología

6. Procesamiento de la muestra

- 6.1 Detección de la bacteriuria por microscopía
- 6.2 Detección de la bacteriuria basada en la actividad de la nitrato reductasa
- 6.3 Detección de piuria por microscopía
- 6.4 Detección de piuria mediante pruebas que detectan esterasa leucocitaria
- 6.5 Detección simultánea de la actividad de la nitrato reductasa y esterasa leucocitaria
- 6.6 Detección de bacteriuria o bacteriuria y piuria mediante sistemas automáticos
- 6.7 Detección de bacteriuria mediante métodos moleculares
- 6.8 Detección de bacteriuria mediante el cultivo de la orina
 - 6.8.1 Medios de cultivo
 - 6.8.2 Inoculación de los medios
 - 6.8.3 Condiciones de incubación de los cultivos
 - 6.8.4 Lectura de los cultivos
 - 6.8.5 Criterios para interpretación de resultados
- 6.9 Estudio de la resistencia antimicrobiana

7. Información de resultados

8. Procedimientos adicionales a realizar en situaciones especiales

- 8.1 Prostatitis, epididimitis y orquitis
 - 8.1.1 Prostatitis
 - 8.1.1.1 Prostatitis bacteriana aguda
 - 8.1.1.2 Prostatitis bacteriana crónica
 - 8.1.2 Epididimitis
 - 8.1.3 Orquitis
- 8.2 Infección urinaria por micoplasmas y clamidias
- 8.3 Infección urinaria por micobacterias
- 8.4 Otras infecciones que pueden diagnosticarse en el examen de orina
 - 8.4.1 Leptospirosis
 - 8.4.2 Esquistosomiasis
- 8.5 Infecciones víricas
 - 8.5.1 Adenovirus
 - 8.5.2 Citomegalovirus
 - 8.5.3 Polioma virus
- 8.6 Utilidad de la orina en el diagnóstico de las neumonías: detección de antígeno de *Streptococcus pneumoniae* y *Legionella pneumophila*

9. Bibliografía

INDICE DE LOS DOCUMENTOS TECNICOS

- 1. PNT-UR-01 Procesamiento microbiológico de la orina**
- 2. PNT-UR-02 Estudio de sensibilidad en los aislamientos de origen urinario**
- 3. PNT-UR-03 Diagnóstico microbiológico de la prostatitis bacteriana crónica**

Procedimientos en Microbiología Clínica

Recomendaciones de la Sociedad Española de Enfermedades
Infecciosas y Microbiología Clínica

Editores: Emilia Cercenado y Rafael Cantón

14a. DIAGNÓSTICO MICROBIOLÓGICO DE LAS INFECCIONES DEL TRACTO URINARIO. 2010

Coordinador: Antonia Andreu Domingo

Autores: Antonia Andreu Domingo
Juana Cacho
Amparo Coira Nieto
José Antonio Lepe Jiménez

1. INTRODUCCIÓN

El diagnóstico microbiológico de la infección urinaria (IU) es uno de los estudios que se realizan con más frecuencia en los laboratorios de microbiología, tanto los que atienden al ámbito hospitalario como al ámbito comunitario. El término IU engloba una serie de entidades distintas, por lo que para su diagnóstico debe tenerse en cuenta no solamente el tipo de entidad, sino también el método de recogida de la orina empleado y los elementos formes contenidos en la misma. Así pues, no es lo mismo realizar el diagnóstico microbiológico de una pielonefritis no complicada en una mujer joven, que el de una IU en un niño sin control de esfínteres, en un portador de sonda permanente de larga duración o en una prostatitis crónica.

El diagnóstico microbiológico de la IU debe realizarse en todos los casos, excepto en las cistitis no complicadas de las mujeres jóvenes, que dada la predecibilidad de los agentes etiológicos que la producen y su sensibilidad antimicrobiana, basta con confirmarla mediante el estudio de los elementos formes de la orina.

La infección urinaria se define como la presencia de microorganismos patógenos en las vías urinarias. Las IU se clasifican, según su localización anatómica, en bajas, que incluyen uretritis, cistitis y prostatitis y en altas o pielonefritis (PA) que incluyen el absceso renal. La bacteriuria asintomática (BA) se define como la presencia de más de 100.000 ufc/mL en dos muestras de orina en ausencia de sintomatología clínica. Una IU se considera complicada cuando afecta a enfermos con anomalías anatómicas o funcionales del tracto urinario, instrumentación del mismo, portadores de sonda vesical, insuficiencia renal crónica (IRC), diabetes, inmunodepresión o con microorganismos multirresistentes. Estos factores condicionan la gravedad de la infección, una mayor incidencia de complicaciones y/o una mayor dificultad terapéutica.

La IU sigue siendo una de las entidades infecciosas más frecuentes en nuestro medio, aunque su incidencia ha ido cambiando en la última década. Así, según el Estudio de Prevalencia de las Infecciones Nosocomiales en España (EPINE), la prevalencia de la infección urinaria nosocomial de origen comunitaria aumentó de manera significativa de un 2,02% en 1991 a un 2,38% en 2003 (OR= 1,008 [1,004–1,012]; $p < 0,00$), probablemente debido al aumento de la esperanza de vida, lo que a su vez aumenta la población susceptible. Por el contrario, durante este periodo descendió significativamente la prevalencia parcial de la IU nosocomial, desde un 2,68% en 1990 a un 1,56% en 2003 (OR= 0,968 (0,964 – 0,972); $p < 0,00$), manteniéndose estable desde esta fecha. Este descenso puede atribuirse fundamentalmente a la adopción de medidas profilácticas, especialmente a la menor utilización de sondas urinarias y a la sustitución de circuitos abiertos por cerrados

En la mujer, la incidencia de cistitis aguda en jóvenes sexualmente activas es de 0,5 a 0,7 episodios/año, por lo que en España se estima un mínimo de 3.819.100 episodios anuales en mujeres

de edades comprendidas entre los 20 y 44 años. Si un 25% de los episodios agudos desarrollan recurrencias, el número de IU recurrentes en esta población sería de 954.775. Para este mismo periodo de edad se estima una incidencia de pielonefritis aguda de 18 casos por 10.000 mujeres, de las que el 7% precisaran hospitalización. Los cambios anatomofisiológicos inducidos por la menopausia conllevan un aumento de las IU, a la vez que estas se tornan cada vez más asintomáticas. Se calcula que presentan IU con muy poca sintomatología o BA el 10-15% de mujeres entre los 65 y 70 años, cifra que va aumentando hasta el 15-20% en mujeres mayores de 80 años, al 30-40% en ancianas hospitalizadas o ingresadas en instituciones geriátricas y prácticamente al 100% de portadoras de sonda urinaria permanente.

En el varón tanto la BA como la IU sintomática son poco comunes, estimándose una incidencia anual de 5-8 episodios por 10.000 varones de menos de 65 años. Aunque el varón joven y de mediana edad puede presentar espontáneamente una IU (sobre todo en homosexuales, pacientes infectados por el VIH y en no circuncidados), casi siempre ésta se relaciona con una anomalía urológica o con una prostatitis crónica subyacente. A partir de los 50 años la prevalencia aumenta progresivamente en relación a la obstrucción causada por la patología prostática y/o las manipulaciones urológicas.

La BA, como se ha descrito, es muy frecuente en el anciano, especialmente en mujeres, y su prevalencia aumenta con la edad. Es también muy frecuente en pacientes portadores de sonda permanente. El papel de la *diabetes mellitus* y la incontinencia urinaria en la prevalencia de BA está poco claro, puesto que no todos los estudios existentes correlacionan estas patologías. La BA es la IU más frecuente en la embarazada, con una prevalencia que oscila entre el 2 y 11%; sin tratamiento un 20-40% de las gestantes con BA desarrollan una PA.

2. CONSIDERACIONES CLÍNICAS

2.1 SÍNDROMES CLÍNICOS

2.1.1 Cistitis. Se caracteriza por la presencia de disuria, polaquiuria y micción imperiosa (síndrome miccional), a menudo acompañados de dolor suprapúbico, orina maloliente y hematuria. En la mujer y especialmente en los ancianos es relativamente frecuente la incontinencia urinaria. La presencia de fiebre, dolor lumbar o puñopercusión positiva indican pielonefritis. Alrededor del 30% de los pacientes con cistitis padecen infección silente del parénquima renal, siendo especialmente frecuente en varones y en mujeres embarazadas, menores de 5 años, con IU durante el último mes, con clínica de más de una semana de evolución, inmunodepresión, diabetes, insuficiencia renal, anomalía anatómica o funcional de la vía urinaria o infección urinaria por *Proteus* spp.

En la mujer con síndrome miccional puede plantearse el diagnóstico diferencial de la cistitis con uretritis infecciosa o traumática y con vaginitis. En el varón joven o de mediana edad con síndrome miccional y ausencia de patología urológica o

manipulación de la vía urinaria, se debe descartar una uretritis, especialmente si existe supuración uretral, o una prostatitis, si la infección es recurrente.

El síndrome uretral agudo en mujeres, fue un término acuñado en 1980, y que se caracteriza por la presencia de síndrome miccional, con cultivos cuantitativos de chorro medio de orina $<10^5$ ufc/mL y piuria. No se trata exclusivamente de la infección de la uretra anterior ya que en estas mujeres la bacteria esta también presente en la vejiga urinaria en muestras obtenidas por punción suprapúbica.

2.1.2 Pielonefritis aguda. Cursa con fiebre elevada, escalofríos, dolor lumbar y puñopercusión positiva, asociados habitualmente a síndrome miccional y con menor frecuencia a náuseas y vómitos. En el recién nacido y en el anciano los síntomas no son tan característicos y el motivo de consulta puede ser deterioro del estado general, confusión, síntomas abdominales o respiratorios o descompensación de una diabetes. Suele cursar con leucocitosis con desviación a la izquierda y bacteriemia en el 20-30% de los pacientes. Aproximadamente una tercera parte de los casos con bacteriemia presentaran shock séptico.

Si el paciente presenta inicialmente dolor cólico lumbar y horas o días después fiebre con o sin síndrome miccional, debe sospecharse obstrucción urinaria que secundariamente se ha infectado. Esta situación requiere ecografía urgente y drenaje inmediato si se confirma la obstrucción, ya que de lo contrario, puede complicarse con shock séptico, pionefrosis, absceso renal o perinefrítico.

Si en una pielonefritis aguda (PA) no ha cedido la fiebre a las 48-72 horas de la instauración de la antibioticoterapia adecuada, mediante técnicas de imagen debe descartarse la presencia de una pielonefritis abscesificada, un absceso renal o perirrenal, necrosis papilar u obstrucción del tracto urinario.

2.1.3 Bacteriuria asintomática. Se acompaña de piuria en el 30% de mujeres jóvenes sanas, el 25-50% de las embarazadas, el 78% de las diabéticas y en el 90% de los ancianos. El significado clínico de la presencia de leucocituria asociado a bacteriuria asintomática (BA) es desconocido. Recuentos muy elevados pueden persistir durante años sin que el paciente desarrolle síntomas urinarios.

En el anciano, la presencia de BA se relacionó inicialmente con un aumento de la mortalidad, aunque posteriormente se comprobó que esta estaba condicionada por la presencia de patologías de base más graves. La mitad de las BA tratadas con antibióticos recurren antes de los 6 meses, lo cual condiciona múltiples pautas terapéuticas y la posible selección de microorganismos resistentes. La BA puede causar complicaciones graves en niños menores de 5 años especialmente si presentan reflujo vesicouretral (sepsis, insuficiencia renal), en enfermos sometidos a manipulación de la vía urinaria (riesgo de bacteriemia del 25-80%), en el trasplantado renal (riesgo de sepsis y fallo del injerto, sobre todo si se asocia a complicaciones urológicas) y en neutropénicos (riesgo de sepsis).

En la embarazada, la BA no tratada deriva en un 20-40% de los casos en pielonefritis, que a su vez duplica el riesgo de partos prematuros y aumenta en un 50% el de recién nacidos de bajo peso. Por otro lado, la erradicación de la BA reduce en el 80-90% la incidencia de IU sintomática y por tanto disminuye el riesgo de sus complicaciones.

Por todo ello, la detección sistemática de la BA tiene dos indicaciones claras: antes de la cirugía urológica y en la semana 16 del embarazo. También se recomienda su detección en los primeros 6 meses post-trasplante renal.

2.1.4 Infecciones urinarias recurrentes. Se clasifican en recidivas y reinfecciones. Las recidivas son debidas a la persistencia de la cepa original en el foco de infección. Representan el 20% de las recurrencias, ocurren en general en las primeras semanas tras la aparente curación y la persistencia del microorganismo en general es debida a un tratamiento antibiótico inadecuado o demasiado corto, a la existencia de una anomalía genitourinaria, o al acantonamiento de las bacterias en un lugar inaccesible para el antibiótico (litiasis renal o prostatitis crónica). Las reinfecciones son nuevas infecciones causadas o bien por la misma cepa o bien por una cepa distinta. Todos los factores que complican la IU predisponen a la reinfección. Por ello son especialmente frecuentes en mujeres postmenopáusicas, en portadores de sonda permanente, varones con adenoma de próstata, etc. Además, padecen reinfecciones aproximadamente un 20% de las mujeres jóvenes que presentan un primer episodio de cistitis. Su perfil es el de una mujer sana, sin ninguna anomalía del tracto urinario, que presenta cistitis sintomáticas que cursan a brotes, es decir periodos con episodios frecuentes, seguidos de periodos silentes.

2.1.5 Infecciones urinarias en el varón. En varones, la IU debería ser considerada como indicador de una anomalía urológica subyacente y practicarse una evaluación urológica. Ante un varón con fiebre, leucocituria y sin anomalías en la vía urinaria, la pielonefritis aguda y sobre todo, por su frecuencia, la prostatitis, deben ser consideradas. La presencia de dolor prostático o en flanco renal posee una sensibilidad y especificidad muy baja para localizar la infección, por lo que la gammagrafía con leucocitos marcados parece ser una mejor herramienta. La localización topográfica es importante puesto que de ella dependerá la duración del tratamiento. Una IU recurrente, con recurrencias en cortos intervalos de tiempo y por la misma cepa, sugiere un foco bacteriano, siendo el más frecuente la prostatitis crónica.

2.1.6 Infecciones urinarias en la infancia. La IU es un problema frecuente e importante en la infancia. En niños menores de dos años la mayoría de IU cursan con fiebre y por tanto se asume que se trata de pielonefritis, aunque con frecuencia se hace difícil la distinción entre esta y la cistitis. Los niños mayores de esta edad suelen presentar síntomas urinarios, aunque no tan comúnmente como los adultos. Hasta los 5 años de edad pero de manera especial hasta los 2, la consecuencia más grave y frecuente de la

pielonefritis son las cicatrices renales. La mayoría desaparecen con el tiempo o no tienen consecuencias, pero un 20-30% de pacientes desarrollan cuando son adultos hipertensión y disfunción renal.

La prevalencia de BA a los 10 meses de edad es de un 2,5% en niños y de un 0,9% en niñas, disminuyendo después del año en varones pero no en niñas. Se estima que un 5-10% de niñas presentan al menos un episodio de BA antes de los 10 años; en la mayoría desaparece espontáneamente o cambia el microorganismo, pero en otras persiste durante meses. Al contrario de lo que sucede en la embarazada, en niños con tractos urinarios normales la BA no supone riesgo para el desarrollo de pielonefritis ni de cicatrices renales, por lo que no se recomienda su despistaje sistemático. Se estima que en niños menores de dos años con fiebre la prevalencia de IU es aproximadamente del 7%, aunque esta varía con la edad y el sexo y en niños entre 2 y 19 años con síntomas urinarios y/o fiebre es del 7,8% (95% CI 6,6-8,9). La prevalencia es máxima en varones menores de 1 año y en niñas menores de 4, presentando estas últimas tasas de 2 a 4 veces mayores que la de los niños. Los niños no circuncidados con fiebre presentan una prevalencia de IU de 4 a 8 veces superior a la de los circuncidados.

El reflujo vesicoureteral (RVU) es la anomalía urológica más frecuente en la infancia. Los niños con RVU presentan elevado riesgo de IU recurrente. Se cree que el RVU constituye el mayor factor de riesgo para desarrollar pielonefritis y cicatrices renales, sin embargo esta asociación no ha sido demostrada en algunos estudios.

2.2 ETIOLOGÍA

La etiología de la IU no es lineal, sino que varía dependiendo del tipo de infección, de la existencia o no de factores predisponentes, de los tratamientos antimicrobianos previos, y del ámbito de adquisición, es decir comunitario o nosocomial. La gran mayoría de episodios están producidos por microorganismos que provienen del colon y por tanto la microbiota fecal del paciente condiciona en gran medida la etiología de la IU. El resto de IU tienen una etiología exógena, por microorganismos introducidos en las vías urinarias durante su manipulación. La PA de origen hematógeno es rara, y suele estar producida por *Staphylococcus aureus* y levaduras.

La cistitis y la pielonefritis en la mujer joven sin factores de riesgo y en la embarazada están producidas casi exclusivamente por *Escherichia coli* (Tabla 1). Aunque *E. coli* sigue siendo el agente más frecuente en las IU complicadas, otros microorganismos como *Enterococcus* spp o *Proteus* spp, adquieren un mayor protagonismo. En el sondado, el espectro es similar al de la IU complicada, aunque *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus* spp. y levaduras son relativamente frecuentes. En este estudio, el 1% de las IU no complicadas fueron polimicrobianas, porcentaje que aumentó al 14% en las IU complicadas y al 30% en IU asociada a sondas.

Los cocos grampositivos juegan un papel menor, *Staphylococcus saprophyticus* causa cistitis en mujeres jóvenes sexualmente activas y el resto de los estafilococos en pacientes con instrumentalización urinaria, especialmente sondas permanentes. Las IU por levaduras se observan en portadores de sondas permanentes y/o con antibioticoterapia previa. Los estreptococos del grupo B se aíslan en pacientes con patología subyacente (cirrosis, neoplasias), y en gestantes en las que con frecuencia su aislamiento indica una colonización vaginal más que una IU. *Corynebacterium urealyticum* (CDC grupo D2) causa cistitis incrustantes por cristales de estruvita en pacientes sometidos a cirugía urológica. Los adenovirus, especialmente el tipo 11 y el virus BK pueden causar cistitis hemorrágica en niños y en los pacientes hematológicos, respectivamente. Los anaerobios raramente son patógenos urinarios; su aislamiento indica la presencia de una fístula enterovesical. La patogenicidad de *Ureaplasma urealyticum*, *Mycoplasma hominis* y *Gardnerella vaginalis* es discutible, por lo que su aislamiento debe ser valorado minuciosamente.

En mujeres jóvenes sexualmente activas con síndrome uretral agudo, piuria y orina estéril debe investigarse *Chlamydia trachomatis*, *Neisseria gonorrhoeae* y virus herpes simplex (VHS). Asimismo en pacientes adultos con piuria y orina estéril debe investigarse a *Mycobacterium tuberculosis*.

Si la etiología se contempla desde el ámbito comunitario, en el estudio "Etiología de la infección urinaria baja adquirida en la comunidad y resistencia de *Escherichia coli* a los antimicrobianos de primera línea. Estudio nacional multicéntrico", realizado entre febrero y junio del 2006, en el que se estudiaron orinas procedentes de pacientes de ambos sexos y todas las edades, con sospecha clínica y confirmación microbiológica de infección complicada o no complicada del tracto urinario bajo, adquirida en la comunidad, los agentes etiológicos más frecuentes fueron: *E. coli* 71%, *Klebsiella* spp 6,8%, *Proteus* spp 6,6% y *Enterococcus* spp 5,5%, como puede observarse en la tabla 2.

2.3 RESISTENCIA ANTIMICROBIANA DE LOS PATÓGENOS URINARIOS

La resistencia a los antibióticos es un problema de gran importancia en la infección urinaria, ya que incrementa tanto su morbilidad como los costes que genera. El desarrollo de resistencias en los patógenos urinarios es constante y diverso según las zonas, dependiendo en gran medida del consumo de antimicrobianos. Debe tenerse en cuenta que los datos de sensibilidad publicados sobre uropatógenos pueden sobredimensionar los porcentajes de resistencias, ya que se realizan en base a infecciones en las que se solicita cultivo, correspondientes fundamentalmente a infecciones complicadas o resistentes al tratamiento.

Tabla 1. Agentes etiológicos de la infección urinaria.

	CISTITIS NO COMPLICADA n = 105	PIELONEFRITIS NO COMPLICADA n = 105	IU COMPLICADA n = 104	IU ASOCIADA A SONDAS n = 100
<i>E. coli</i>	86%	90%	51%	34%
<i>Klebsiella</i> spp	3%	1%	11%	9%
<i>Citrobacter</i> spp <i>Enterobacter</i> spp <i>Serratia</i> spp	1%	2%	5%	6%
<i>Proteus</i> spp <i>Morganella</i> spp <i>Providencia</i> spp	5%	2%	13%	15%
<i>Pseudomonas</i> spp		1%	8%	19%
<i>A. baumannii</i>			1%	1%
Estreptococo grupo D	2%	1%	20%	19%
Estreptococo grupo B	1%			
<i>S. aureus</i>				4%
<i>S. epidermidis</i>		2%		5%
<i>S. saprophyticus</i>	4%	1%		
Levaduras			1%	18%
Polimicrobiano (≥ 2 microorganismos)	1%	1%	14%	30%

Datos procedentes del Hospital Vall d'Hebron, Barcelona.

Tabla 2. Agentes etiológicos de 3.055 infecciones urinarias bajas adquiridas en la comunidad. Estudio realizado en 15 laboratorios ubicados en 9 Comunidades Autónomas de España.

	Número de aislamientos	(%)
<i>Escherichia coli</i>	2199	(70,8)
<i>Klebsiella</i> spp	211	(6,8)
<i>Citrobacter</i> spp	31	(1,1)
<i>Enterobacter</i> spp	54	(1,8)
<i>Serratia</i> spp	5	(0,2)
<i>Morganella morganii</i>	25	(0,8)
<i>Proteus mirabilis</i>	198	(6,4)
<i>Proteus</i> spp	6	(0,2)
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	45	(1,4)
Otros bacilos gramnegativos	5	(0,2)
Total	2782	(89,6)
<i>Staphylococcus aureus</i>	18	(0,6)
<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	34	(1,1)
<i>Staphylococcus coagulasa</i> (-)	13	(0,4)
<i>Enterococcus</i> spp	171	(5,5)
<i>Streptococcus agalactiae</i>	78	(2,5)
<i>Streptococcus</i> spp	9	(0,3)
Total	323	(10,4)

En las infecciones urinarias es de especial importancia el conocimiento de los mecanismos y las tasas de resistencia en *E. coli*, microorganismo responsable de una amplia mayoría de las infecciones urinarias. En España, en los estudios realizados en la última década (tabla 3), se encontraron tasas elevadas de resistencia (por encima del 10-20%, considerado según diversos autores valores límites que desaconsejan la utilización como terapia empírica) a amoxicilina,

cotrimoxazol y quinolonas. Los porcentajes de resistencia de *E. coli* a la ampicilina fueron muy elevados (superiores al 60%), superando el 36% en todas las comunidades autónomas, en todos los grupos de edad y en ambos sexos (tabla 3). La resistencia al cotrimoxazol se estimó en un 32%, cifra ligeramente inferior a la de un estudio previo en 2000 (33,8%). La resistencia global de *E. coli* a ciprofloxacino fue elevada (23,9%) y con importantes diferencias geográficas: desde el 12,9% hasta el

37,3%; es importante señalar el impacto que la edad y el sexo tienen en la tasa de resistencias a las fluoroquinolonas, con porcentajes significativamente más elevados en pacientes mayores y tasas de resistencia inferiores en mujeres. El porcentaje de cepas resistentes al ácido nalidíxico, superior al 30% y con variaciones inter-territoriales entre el 20 y el 50%, es un dato de gran importancia, ya que esta resistencia detecta mutaciones primarias en las topoisomerasas, primer paso en la resistencia a fluoroquinolonas, que se produce tras mutaciones sucesivas.

Tanto para la nitrofurantoína como la fosfomicina, dos antibióticos de uso terapéutico específico en infecciones urinarias, las tasas de resistencia fueron bajas: la nitrofurantoína con un 3,8% y pocas variaciones entre las comunidades autónomas (excepto Asturias con un 13,0%). Los porcentajes de resistencia a la fosfomicina fueron incluso inferiores (1,7%), aunque habían aumentado de forma significativa desde el 2000 (0,9%); no se observaron diferencias valorables en relación con el sexo, la edad o la distribución geográfica de los pacientes.

La amoxicilina-ácido clavulánico y las cefalosporinas de segunda y tercera generación presentaron porcentajes de resistencia inferiores al 10%. La utilización masiva de amoxicilina-ácido clavulánico en infecciones de la comunidad condiciona que debemos estar muy atentos al desarrollo de resistencias a este antibiótico. Se han descrito varios mecanismos en *E. coli*: problemas de permeabilidad, producción de β -lactamasas de espectro extendido (BLEE), hiperproducción de su β -lactamasa cromosómica de clase C o de enzimas plasmídicas de amplio espectro (TEM-1 y SHV-1, ampliamente distribuidas en esta especie, en la que son responsables de la resistencia a

aminopenicilinas) o la presencia de enzimas plasmídicas que condicionan resistencia a inhibidores, y que pueden ser de clase C (AmpC), de clase D (OXA) o de clase A (IRT), enzimas éstas últimas derivadas de TEM-1 o con menor frecuencia de SHV-1, en las que las mutaciones puntuales determinan resistencia a los inhibidores normalmente activos frente a esta clase enzimática (ácido clavulánico o tazobactam).

La resistencia a cefalosporinas de amplio espectro en *E. coli* se debe fundamentalmente a la producción de BLEE; este mecanismo de resistencia, en general de codificación plasmídica, se ha identificado en los últimos años en un número creciente de cepas, incluso de origen comunitario. Su prevalencia en cepas de *E. coli* uropatógenos en nuestro país (2006), se estableció en el 5,2%, con importantes variaciones geográficas (del 0,8 al 18,4%). Las BLEE condicionan un serio problema terapéutico ya que confieren resistencia a todos los β -lactámicos, excepto cefamicinas y carbapenemas. Además, los plásmidos que las codifican contienen con frecuencia genes de resistencia para otras familias de antimicrobianos, encontrándose un alto porcentaje de resistencias cruzadas con cotrimoxazol y quinolonas. En estas cepas con BLEE la resistencia a amoxicilina-ácido clavulánico es variable, y algunas presentan bajas CMIs; en este caso, dados sus altos niveles en orina, puede utilizarse este antibiótico en cistitis no complicadas. En los últimos años han comenzado a describirse cepas portadoras de β -lactamasas de codificación plasmídica que condicionan resistencia también a cefamicinas y/o carbapenemas: AmpC y carbapenemasas; es necesario reconocer este tipo de cepas, dado su potencial epidemiológico y su peligrosidad en la limitación de las opciones terapéuticas.

Tabla 3. Porcentajes de resistencia de los aislados de *Escherichia coli* (total nacional y rango entre comunidades autónomas) en 2006 y su comparación con los porcentajes de resistencia observados en el 2000.

	2006		Rango entre comunidades autónomas	2000	
	Resistentes / total estudiadas	%		Resistentes / total estudiadas	%
Fosfomicina	38/2189	1,7	0,7 – 4,4	7/745	0,9
Ampicilina	860/1418	60,7	36,8 - 67,3	283/531	53,3
Amox-clavul.	178/2189	8,1	4,4 – 18,3	50/747	6,7
Cefixima	83/1119	6,9	1,1 - 20,3	10/590	1,7
Cefurox. axet.	189/2116	8,9	1,5 - 19,9		
Cotrimoxazol	702/2192	32,0	23,0 - 37,3	252/746	33,8
Nitrofurantoína	81/2163	3,8	1,5 – 13,0		
Ác. nalidíxico	448/1299	34,5	19,9 – 49,3		
Ciprofloxacino	460/1925	23,9	12,9 – 37,3	135/ 747	18,1

Abreviaturas utilizadas: Amox-clavul. (amoxicilina-ácido clavulánico); Cefurox.axet (cefuroxima axetilo); Ác.nalidíxico (ácido nalidíxico)

La menor incidencia de otras especies condiciona el que existan pocos datos de resistencias en cepas exclusivamente de origen urinario. En un estudio multicéntrico realizado en Brasil y varios estados europeos, incluido España, entre 2003 y 2006 en mujeres con cistitis no complicadas, se encontraron pocos problemas de

resistencia en *S. saprophyticus*, con resistencia natural a fosfomicina y resistencia adquirida únicamente a la ampicilina en un 36% y a cotrimoxazol en el 10% de las cepas. En cuanto a otras enterobacterias, comparando con los datos de *E. coli*, las cepas de *Klebsiella pneumoniae* (intrínsecamente resistentes a amoxicilina)

presentaban porcentajes de resistencia superiores para nitrofurantoína, fosfomicina y cefalosporinas (5,6% de cepas productoras de BLEE, frente al 1,7% en *E. coli*); en *P. mirabilis* se encontraron niveles de resistencia inferiores frente a β -lactámicos y superiores frente a otras familias antibióticas.

Las crecientes tasas de resistencia que muestran los patógenos urinarios representan un grave problema, que debe paliarse con una elección racional de los tratamientos antimicrobianos empíricos (basada en el conocimiento de los datos epidemiológicos locales) y con una vigilancia exhaustiva de la aparición de nuevos mecanismos de resistencia y de resistencias de bajo nivel.

2.4 PATOGENIA

En condiciones normales, la orina y las vías urinarias son estériles, mientras que la uretra distal está colonizada por microbiota cutánea y vaginal: corynebacterias, estreptococos, estafilococos, lactobacilos, etc., pudiendo en ocasiones y de forma transitoria, albergar a *E. coli* u otros bacilos gramnegativos. Previamente a un episodio de IU se produce una colonización vaginal y periuretral persistente a partir de microorganismos que provienen del colon. Desde estas localizaciones un pequeño número de bacterias ascienden a la vejiga y más excepcionalmente a la pelvis y al parénquima renal. Estas bacterias son eliminadas por el flujo y las propiedades antibacterianas de la orina y en menor medida por la presencia de IgA secretora y los escasos leucocitos polimorfonucleares presentes en la superficie vesical. Si dichas bacterias no pueden ser eliminadas, se inicia o bien una colonización (adhesión del microorganismo al uroepitelio, su reproducción y eliminación por orina) o bien una infección (implica lesión del epitelio vesical), dependiendo presumiblemente del equilibrio entre la virulencia de la bacteria, el tamaño del inóculo, los mecanismos defensivos locales y la presencia o no de alteraciones anatómicas o funcionales del tracto urinario.

2.4.1 Factores predisponentes de infección urinaria. Los factores de riesgo asociados a la infección del tracto urinario son cambiantes dependiendo fundamentalmente de la edad, los hábitos sexuales y las condiciones fisiológicas y anatómicas del mismo. En el intervalo de edad comprendido entre los 15 y los 50 años, los principales factores son el coito, el uso de diafragma y/o espermicida, la antibioterapia previa, madre con infecciones de repetición, antecedentes de IU en la infancia y el fenotipo no secretor, que genéticamente determina que la mucosa urinaria sea más susceptible a la adherencia de las enterobacterias. Entre los 50 y los 70 años los factores predisponentes comprenden la depleción estrogénica, la cirugía urogenital, la incontinencia urinaria, el cistocele, el residuo postmiccional, el estatus no secretor y la historia previa de IU. A partir de los 70 años, la incontinencia urinaria, la sonda permanente, la cirugía urogenital, el deterioro del

estado mental y el tratamiento con antimicrobianos son los factores predisponentes más frecuentes.

2.4.2 *Escherichia coli*. Filogenia y virulencia. La filogenia y la virulencia de un microorganismo condicionan en gran medida su potencial para establecer una infección. No todas las cepas de *E. coli* poseen la misma capacidad para infectar el aparato urinario. En *E. coli* se han identificado 4 grupos filogenéticos a los que se denomina A, B1, B2 y D. Las cepas comensales derivan en su mayoría de los grupos A y B1 y poseen muy pocos factores de virulencia. Estas cepas constituyen el núcleo de la microbiota fecal, están adaptadas a una pacífica convivencia con el huésped, no producen enfermedad intestinal y solo causan infección extraintestinal cuando existen factores favorecedores. Las cepas de *E. coli* patógenas extraintestinales (ExPEC), entre las que se incluyen los uropatógenos, derivan principalmente del grupo B2 y en menor medida del D y albergan genes que codifican factores extraintestinales de virulencia. Las infecciones que producen pueden afectar a casi todos los órganos y localizaciones anatómicas, excepto el tracto intestinal. Los aislados de *E. coli* del grupo B2 producen el 69% de las cistitis, el 67% de las pielonefritis y el 72% de las sepsis urinarias. Estos ExPEC uropatógenos son tanto más virulentos cuanto más factores de virulencia concurren en ellos. De los conocidos actualmente, los más importantes son los que figuran en la tabla 4. Los genes responsables de los factores de virulencia se encuentran en el cromosoma bacteriano agrupados en fragmentos de ADN muy particulares denominados "islas de patogenicidad" o PAI. Estas PAI poseen un gran tamaño (entre 20-200 kb) y un contenido G+C y un *codon usage* distinto al resto del ADN de la bacteria. En *E. coli* se han descrito 7 PAI, cada una codificando distintos factores, aunque algunos pueden coincidir en más de una PAI. Una misma cepa de *E. coli* puede albergar diversas PAI.

2.4.3 Microbiota fecal. Dinámica de las poblaciones de *Escherichia coli*. Dado que la gran mayoría de episodios de IU están producidos por microorganismos que provienen del colon, la flora fecal del paciente condiciona en gran medida la etiología de la IU. En las heces de personas sanas coexisten una media de 3 clones distintos de *E. coli*, con un rango de 1 a 9. Predominan los *E. coli* de los grupos filogenéticos A (33%) y D (31%), seguidos por el B1 (19%) y B2 (17%).

Sin embargo el 36% de mujeres albergan al menos un clon B2, los cuales suelen comportarse como los clones dominantes y exhiben un gran potencial virulento. Aproximadamente en el 90% de mujeres con cistitis no complicada producida por *E. coli*, el clon urinario está presente en las heces ya sea solo o acompañado de otros clones.

Tabla 4. Principales factores de virulencia de *E. coli*

Adhesinas:	Fimbriadas	fimbrias P: alelos I, II y III fimbria tipo 1 fimbria F1C fimbria S
	No fimbriadas (adhesinas X)	adhesina del antígeno Dr adhesina AFA I y AFA III adhesina M
Toxinas:	Hemolisina Factor citotóxico necrotizante Toxina citoletal distensiva	
Sistemas de captación de hierro (sideróforos):	Aerobactina Yersiniabactina	
Invasinas:	Invasina del endotelio cerebral	
Mecanismos evasores de las defensas del huésped:	Cápsula	K1, K2, K13, K5,
	Antígenos O	O6, O4, O1, O2, O18, O83, O7
	Resistencia al suero: proteína TraT, plásmido Col V	

En las heces de estas mujeres la prevalencia de poblaciones es distinta a la de las mujeres sanas, predominando el grupo A (38%), seguido del B2 (33%), D (16%) y B1 (13%), pero lo más llamativo es que la proporción de mujeres que albergan un clon B2 se incrementa hasta un 71%, asociándose a abundancia, dominancia, pauciclinalidad y gran virulencia. Todo ello sugiere que la colonización fecal por *E. coli* B2 puede promover la abundancia del mismo y la pauciclinalidad y ello contribuir a las posteriores etapas de la patogénesis de la IU.

2.4.4 Infecciones urinarias recurrentes. Las mujeres jóvenes y sin factores de riesgo que sufren recurrencias poseen con gran frecuencia el serotipo no secretor de grupos sanguíneos y expresan, en las membranas de sus células epiteliales, dos únicos glicolípidos: sialosil-galglóbósido (SGG) y disialosil-galglóbósido (DSGG), que no son expresados por las mujeres secretoras y que actúan como receptores de *E. coli* uropatógenos. En estas mujeres la mayoría de recurrencias están producidas por la misma cepa de *E. coli*. Entre episodios esta cepa podría acantonarse o bien en el intestino, ya que en estos periodos con frecuencia se encuentra la cepa re infectante en heces o bien en el interior de las células superficiales de la vejiga donde crearían biofilms o *pods*, que contendrían bacterias bañadas en una matriz rica en polisacáridos y rodeadas por una envoltura de uroplactina.

En mujeres posmenopáusicas, la falta de estrógenos predispone a las IU recurrentes. Se ha demostrado que en ellas la administración de estradiol disminuye de manera significativa el número de episodios de IU, a la vez que aumenta la población vaginal de *Lactobacillus* spp. y disminuye la de enterobacterias.

2.4.5 Infecciones urinarias en el paciente sondado. En el paciente sondado los microorganismos pueden entrar en el aparato urinario durante la inserción de la sonda, lo que

ocurre en el 1% en personas sanas y en el 30% en ancianos, o mientras el paciente esta sondado. En este último caso los microorganismos ascienden por vía intraluminal, siendo más frecuente en hombres y en circuitos abiertos o por vía extraluminal, siendo más frecuente en mujeres y en circuitos cerrados. La bacteriuria aumenta proporcionalmente al tiempo del sondaje, y los agentes etiológicos de la IU varían ligeramente según se trate del sexo masculino o femenino, debido a que el reservorio en la mujer es su microbiota fecal, mientras que en el hombre es la microbiota ambiental. Muchas de las características tanto etiológicas como patogénicas de la IU en el paciente sondado se deben a que los microorganismos construyen alrededor de la sonda un biofilm, intra y/o extraluminal, en el que posteriormente quedan secuestrados.

2.4.6 Microbiota vaginal normal. Papel protector de *Lactobacillus* spp. El uso de probióticos para el control de la IU y para reestablecer la ecología vaginal está ganando aceptación como una alternativa a la terapia antibiótica convencional.

Todas las situaciones en las que existe una alteración de la microbiota vaginal normal consistente en una disminución de la población de *Lactobacillus* spp. y un aumento de la de *E. coli* y otros uropatógenos (menopausia, vaginosis bacteriana, utilización del espermicida nonoxinol-9 u otros, antibioticoterapia, etc.), se relacionan con un aumento de la frecuencia de IU. Ello enfatiza el importante papel que juega *Lactobacillus* spp. como árbitro del ecosistema vaginal y en la prevención de la IU.

Lactobacillus spp. protege a la vagina frente a la colonización por uropatógenos fundamentalmente porque interfiere la adherencia de los mismos al epitelio vaginal al bloquear sus receptores y porque inhibe su multiplicación mediante la producción y excreción H₂O₂, ácido láctico y bacteriocinas. No todas las cepas de *Lactobacillus* spp. expresan estas

propiedades con la misma intensidad, sino que existen enormes diferencias entre especies e incluso entre cepas de una misma especie. Algunos lactobacilos se adhieren ávidamente a las células del epitelio vaginal, otros bloquean eficientemente la adherencia al mismo de los uropatógenos y otros inhiben su crecimiento, siendo estas propiedades independientes y acumulativas en una determinada cepa. Además, una misma cepa de *Lactobacillus* spp. puede exhibir diferentes capacidades bloqueantes e inhibitoras frente a distintos uropatógenos.

De todo ello se deduce que para que un probiótico sea eficaz debe estar constituido por cepas de *Lactobacillus* spp. que expresen estas propiedades. Hasta hoy han sido realizados muy pocos ensayos clínicos con cepas bien caracterizadas y todavía no se han llegado a resultados concluyentes.

3. RECOGIDA DE MUESTRAS

La orina en la vejiga es un líquido estéril. Sin embargo, es fácil su contaminación durante la micción a través de la uretra con microbiota del periné, uretra o vagina. Por ello es muy importante dar instrucciones claras al paciente para realizar una recogida adecuada de la muestra:

- Siempre que sea posible recoger la primera orina de la mañana, para que permanezca en la vejiga toda la noche o al menos 4 horas. Esta medida disminuye el número de falsos negativos.
- No se debe forzar la ingesta de líquidos para que el paciente realice la micción. Una toma excesiva de líquidos diluye la orina y disminuye el recuento de colonias por mL.

3.1 RECOGIDA DE LA ORINA POR MICCIÓN MEDIA ESPONTÁNEA

Aunque clásicamente se ha insistido en la importancia de realizar una limpieza exhaustiva de los genitales externos antes de la recogida de la orina, se ha demostrado que en mujeres, con o sin síntomas de infección urinaria, este lavado no disminuye la contaminación de la muestra. También se ha comprobado que la limpieza de los genitales masculinos no mejora la detección de bacteriuria.

Por ello, se deben dar al paciente las siguientes instrucciones:

- Las mujeres deben mantener los labios mayores separados mientras comienzan la micción. Deben desechar la primera parte de la micción (orina uretral) y recoger la micción media sin interrumpir el flujo de la orina, colocando el recipiente de forma adecuada para la recogida de la muestra. La recogida de la orina por micción media debe evitarse durante la menstruación.
- Los varones deben mantener el prepucio retraído mientras comienzan la micción. Al igual que las mujeres, deben desechar la primera parte de la micción y recoger la micción media sin interrumpir el flujo de la orina, colocando el recipiente de forma adecuada.

- La recogida de orina se debe realizar en un recipiente de plástico estéril, de boca ancha, sin fugas y el paciente debe cerrarlo correctamente. Nunca se debe recoger la orina de un recipiente, orinal o similar, donde el paciente haya realizado la micción previamente.

3.2 RECOGIDA DE LA ORINA POR SONDAJE VESICAL

En algunas ocasiones, sobre todo en niños, es necesario realizar un sondaje vesical para la recogida de orina. En estos casos, la técnica debe ser realizada por personal entrenado y con métodos asépticos para evitar el riesgo de introducir microorganismos en la vejiga. Una vez introducida la sonda, desechar los 15-30 mL iniciales de orina y recoger el flujo siguiente. La orina se recogerá en un tubo de plástico estéril o en un recipiente estéril de boca ancha.

3.3 RECOGIDA DE LA ORINA EN PACIENTES CON SONDA PERMANENTE

Desinfectar el cono de la sonda con etanol al 70%, recoger asépticamente 5-10 mL de orina utilizando una aguja y jeringuilla y transferirla a un tubo o recipiente estéril. Una forma alternativa es utilizar un colector de Vacutainer con aguja para recoger la muestra directamente en un tubo de vacío sin anticoagulante. Nunca se debe recoger orina de la bolsa de la sonda. El cultivo de la punta de la sonda debe ser rechazado; si se acepta, los resultados deben ser interpretados como control microbiológico de la microbiota uretral y no es posible realizar una cuantificación.

3.4 RECOGIDA DE LA ORINA EN BOLSA ADHESIVA

Este tipo de recogida de orina se utiliza sobre todo en niños pequeños, cuando se quiere descartar una infección urinaria, antes de utilizar métodos más agresivos. Para muchos autores sólo tiene valor para descartar cultivos negativos, ya que con este método, los cultivos positivos son de difícil interpretación y es necesario confirmarlos utilizando otros métodos de recogida, como el sondaje vesical o la punción suprapúbica.

Se debe realizar un lavado cuidadoso de los genitales y el área perineal, especialmente en los varones la zona del balano, una vez que se ha retraído el prepucio. Después se coloca la bolsa de plástico o colector estéril para la recogida de la orina. Si la micción no se ha realizado en una hora, se repiten las indicaciones anteriores colocando una nueva bolsa. Una vez obtenida la orina hay que cortar la bolsa por la esquina de abajo y transferirla a un recipiente estéril o alternativamente, y para evitar posibles contaminaciones por la manipulación, introducirla en un recipiente de boca ancha y enviarla rápidamente al laboratorio.

3.5 RECOGIDA DE LA ORINA POR PUNCIÓN SUPRAPÚBICA

Este método es el preferible para el diagnóstico de certeza de infección urinaria en niños pequeños, cuando los resultados de los cultivos de orina obtenidos por otros métodos son de difícil interpretación o cuando se sospechan como causa de infección bacterias anaerobias.

Este método siempre debe realizarlo personal entrenado. Antes de realizar la punción se debe asegurar de que la vejiga esté llena y se pueda palpar, después desinfectar la zona de la piel de forma correcta, proceder a la realización de la punción y aspiración con una aguja o jeringuilla. Transferir la orina a un tubo estéril.

3.6 RECOGIDA DE LA ORINA EN SITUACIONES ESPECIALES

En determinadas circunstancias, debido a situaciones clínico-quirúrgicas del paciente o a la necesidad de realizar un diagnóstico etiológico de una determinada entidad clínica, la muestra de orina debe ser recogida de forma especial.

- Prostatitis. El diagnóstico de la prostatitis bacteriana se confirma con cultivos cuantitativos y comparativos de diferentes fracciones de la orina y la secreción prostática o semen. Para ello se puede realizar el test de Meares y Stamey o el de Nickel, que serán comentados en la sección de prostatitis.
- Conducto ileal. Se debe quitar el dispositivo externo y limpiar el estoma con etanol al 70%, seguido de povidona yodada y eliminar ésta limpiando de nuevo con alcohol. Una vez limpio el estoma, introducir una sonda doble más allá de la fascia y recoger la orina. Transferir la orina a un tubo estéril.

4. TRANSPORTE Y CONSERVACIÓN DE LA MUESTRA

El transporte de las orinas al laboratorio debe realizarse lo antes posible. Si no pueden ser enviadas al laboratorio en las 2 primeras horas de su recogida, pueden conservarse en nevera hasta 24 horas, pero nunca se deben congelar.

Si las muestras no pueden ser conservadas en nevera y el transporte al laboratorio se retrasa más de 2 horas se deben utilizar tubos de transporte con conservantes, por ejemplo tubos con 0,5 mL de ácido bórico con glicerol o con ácido bórico sódico liofilizado. Los tubos deben ir rellenos con al menos 3 mL de orina para evitar un efecto inhibitor en los microorganismos. Existen en el comercio unos equipos de recogida de orina, que consisten en un recipiente de boca ancha con un dispositivo de vacío en la tapa para el llenado del tubo con conservante. No se deben utilizar tubos con conservante si la muestra se va a procesar para cultivo de micobacterias, virus, hongos o para detección de parásitos.

Una vez procesadas las muestras, pueden conservarse en nevera un máximo de 48 horas para

realizar, en caso que sea necesario, posibles confirmaciones de los resultados.

5. MANEJO DE LA MUESTRA EN SU RECEPCIÓN EN EL LABORATORIO DE MICROBIOLOGÍA

Las muestras de orina que llegan al laboratorio deben cumplir con las normas establecidas para la aceptación de muestras. Las orinas deben estar bien identificadas, acompañadas de su volante en papel o de su petición de solicitud electrónica, perfectamente cumplimentados. Además se debe comunicar al laboratorio el método de recogida de la orina y cualquier otra información que sea imprescindible para la interpretación de los resultados.

6. PROCESAMIENTO DE LA MUESTRA

El diagnóstico microbiológico de la IU no siempre es fácil, por lo que debe sustentarse en tres pilares: 1) El urocultivo, que permite cuantificar e identificar los agentes causales y estudiar su sensibilidad a los antibióticos. Además, en crecimientos polimicrobianos, permite discernir si se trata de una mezcla de bacterias propias de la microbiota periuretral y vaginal, que indican mala recogida de la muestra, o de un predominio de bacilos gramnegativos propios de la IU complicada. 2) El examen de los elementos formes de la orina, que informa de la presencia de leucocitos polimorfonucleares que traducen daño tisular y/o presencia de células del epitelio escamoso y microorganismos de la microbiota periuretral y vaginal que indican malas condiciones en la recogida de la orina. 3) La sintomatología clínica, mucho más sensible y específica en jóvenes sin factores predisponentes que en ancianos. Actualmente en muchos centros, el diagnóstico y el motivo de la solicitud del urocultivo pueden ser captados de la historia informatizada.

Sin embargo, en laboratorios con un alto número de muestras es imposible el cultivo de cada una de ellas. Se hace difícil de precisar lo que se considera un alto número de muestras y depende en gran parte de las condiciones de cada laboratorio. Una cifra indicativa podría ser por encima de las 100-150 muestras diarias. En estas instituciones se impone descartar las orinas con bacteriuria no significativa o negativas mediante sistemas automatizados y cultivar solo aquellas positivas.

Entre los sistemas automatizados existen los que exclusivamente detectan bacteriuria y los que detectan simultáneamente bacterias, leucocitos, hematíes, células y otros elementos. Se debería entender por orina negativa y que por tanto no precisa de cultivo posterior, aquella que carece de bacteriuria y de leucocituria. Consecuentemente o bien hay que utilizar un sistema que mida ambos parámetros o dos sistemas que se complementen.

Desgraciadamente, el diagnóstico microbiológico de la IU es una prueba que en muchas ocasiones escapa del ámbito propiamente dicho de las unidades de microbiología, integrándose en plataformas de laboratorio general o con pruebas de diagnóstico inmediato (*point of care*) por parte de los

clínicos. Estos enfoques, que a primera vista podrían parecer adecuados desde el punto de vista de la eficiencia, adolecen en muchas ocasiones de una falta de rigor en base a los criterios de interpretación y/o fiabilidad de las pruebas utilizadas.

Actualmente existen una amplia variedad de métodos con capacidad de detectar bacteriuria y/o piuria, que se exponen a continuación.

6.1. DETECCIÓN DE LA BACTERIURIA POR MICROSCOPIA

La bacteriuria se puede detectar mediante microscopía usando observación en fresco o mediante tinción de Gram, es ésta última la técnica más implantada. La tinción de Gram de la orina sin centrifugar suministra información inmediata sobre la naturaleza de la infección y consecuentemente sirve de guía al clínico a la hora de seleccionar el tratamiento empírico. Sin embargo, esta importante ventaja va acompañada de inconvenientes, principalmente su baja sensibilidad para concentraciones por debajo de 10^5 ufc/mL, que la invalida en el diagnóstico de la IU no complicada donde recuentos entre 10^2 y 10^4 ufc/mL pueden ser frecuentes y la circunscribe casi exclusivamente a pacientes con sospecha de pielonefritis aguda donde es muy importante el conocimiento de la naturaleza del microorganismo infectante y cabe esperar concentraciones bacterianas altas.

Técnicamente, la tinción de Gram es un método simple, un volumen de entre 0,01 y 0,05 mL se extiende en un portaobjetos de vidrio, se seca al aire, se tiñe y se examina mediante objetivo de inmersión ($\times 1000$). Si se observan al menos una bacteria por campo en la preparación, su concentración en orina debe ser de entre 10^4 y 10^5 ufc/mL. Sin embargo, no es una técnica bien estandarizada y existen diferentes criterios para considerar la prueba como positiva. Debido a lo anteriormente expuesto, no existe uniformidad en la literatura respecto a su utilidad. En adultos donde el valor de la bacteriuria puede ser controvertido, el valor de la tinción de Gram es poco útil y en general no se considera una prueba adecuada por su baja sensibilidad en población general. Sin embargo, probablemente es útil en el diagnóstico de la IU sintomática en gestantes y niños menores de 5 años donde el valor de la bacteriuria es poco discutible, en menores de tres meses con síndrome febril, donde la sintomatología urinaria es inexistente o difícil de detectar y en general en la sospecha de pielonefritis. En el caso particular de los lactantes menores de tres meses es donde la técnica ha sido más extensamente evaluada encontrándose que la presencia de al menos una bacteria en la orina no centrifugada teñida por Gram ofrece la mejor combinación de sensibilidad (93%) y porcentaje de falsos positivos (5%) a la hora de predecir la positividad del cultivo.

6.2 DETECCIÓN DE LA BACTERIURIA BASADA EN LA ACTIVIDAD DE LA NITRATO REDUCTASA

La bacteriuria se puede detectar cuando las bacterias presentes en la orina son capaces de reducir los nitratos a nitritos. Su capacidad está limitada a la presencia de microorganismos pertenecientes a la familia *Enterobacteriaceae*, pero no es útil en casos de infección por *Pseudomonas* spp, *Enterococcus* spp. o *S. saprophyticus*, los cuales no producen nitrato reductasa.

La presencia de nitritos es altamente específica de bacteriuria (96,6-97,5%) con un valor predictivo positivo del 94% pero su sensibilidad es baja (0-44%) en base a lo comentado anteriormente. Además, la prueba requiere orina de primera hora de la mañana, ya que al menos son necesarias cuatro horas de permanencia de la orina en la vejiga para obtener niveles detectables.

6.3 DETECCIÓN DE PIURIA POR MICROSCOPIA

La piuria puede ser detectada y cuantificada microscópicamente mediante recuento en una cámara cuentaglobulos, tinción de Gram o microscopía directa a partir de muestras centrifugadas o no centrifugadas. Sin embargo, el método de referencia para la cuantificación de la piuria es la medida de la tasa de excreción leucocitaria que generalmente no es una técnica que se pueda aplicar al estudio rutinario (es necesaria orina de 24 horas). Existe una buena correlación entre la tasa de excreción leucocitaria y la presencia de bacteriuria, tasas de $\geq 4 \times 10^5$ leucocitos/hora tienen una sensibilidad del 95% y una especificidad del 100% respecto a la presencia de bacteriuria significativa. Como desde el punto de vista del trabajo de rutina es una prueba poco adecuada, generalmente se sustituye por el recuento en cámara cuentaglobulos, donde se observa que al menos 10 leucocitos/mm³ se correlacionan con estas tasas de excreción. Además, en cámara cuentaglobulos recuentos de 10^5 ufc/mL en pacientes con infección del tracto urinario sintomática se correlacionan con al menos 10 leucocitos/mm³. Esta correlación también ha sido estudiada en otras situaciones demostrando que en muestras obtenidas por punción suprapúbica o cateterización en mujeres con disuria, recuentos $\geq 10^5$ ufc/mL se correlacionaban con al menos 8 leucocitos/mm³. Sin embargo, en la práctica diaria el recuento está restringido al de los leucocitos en el sedimento de la orina centrifugada el cual, al no estar estandarizado, es difícil de correlacionar con el nivel de bacteriuria. Además, debido a que los leucocitos se deterioran con facilidad si la muestra no se conserva adecuadamente, parece que su utilidad principal es su empleo en infección grave, principalmente pielonefritis donde la presencia de cilindros leucocitarios pueden ser de ayuda al diagnóstico.

6.4 DETECCIÓN DE PIURIA MEDIANTE PRUEBAS QUE DETECTAN ESTERASA LEUCOCITARIA

Debido a las razones expuestas, la mayoría de los laboratorios usan pruebas rápidas de leucocito esterasa como marcador subrogado del recuento de leucocitos. Los leucocitos humanos producen al menos 10 proteínas con actividad esterolítica, estas proteínas reaccionan con ésteres substratos produciendo derivados alcohol y ácidos, los cuales reaccionan con otros compuestos presentes en la tira produciendo una reacción colorimétrica cuantificable en base a la cantidad de esterasa. Su ventaja principal es la capacidad de detectar en la orina tanto esterases provenientes de leucocitos intactos como esterases libres presentes después de la lisis celular por una mala conservación de la muestra. Sin embargo las prueba de la esterasa leucocitaria puede arrojar falsos positivos en muestras contaminadas por flujo vaginal o *Trichomonas vaginalis*, los cuales pueden actuar como fuentes de esterases. Además en muestras con elevada densidad o niveles altos de glucosa, proteínas, ácido ascórbico o ácido oxálico también pueden producirse interferencias en la prueba y arrojar resultados falsos positivos. Adicionalmente, antibióticos del grupo de las cefalosporinas y tetraciclinas pueden interferir con la prueba. Aspecto importante a destacar, es el efecto del ácido bórico empleado como conservador en muchos sistemas de transporte de orina y que también puede interferir en la reacción. En base a lo anterior las pruebas de esterasa leucocitaria tienen en general baja sensibilidad y especificidad, bajo valor predictivo positivo, aunque su valor predictivo negativo es alto.

6.5 DETECCIÓN SIMULTÁNEA DE LA ACTIVIDAD DE LA NITRATO REDUCTASA Y ESTERASA LEUCOCITARIA

Muchos sistemas comerciales son capaces de detectar simultáneamente nitritos y esterasa leucocitaria, como indicadores de la presencia de bacteriuria y piuria. Existen numerosas evaluaciones sobre la capacidad de ambas pruebas en simultáneo a la hora de detectar una infección del tracto urinario, pero en conjunto son poco comparables por la poca homogeneidad de los estudios. En general se puede deducir que cuando se evalúan simultáneamente mejora la capacidad de detectar una infección del tracto urinario, sobre todo cuando la bacteriuria es importante. La detección simultánea de nitritos y esterasa leucocitaria sirve principalmente para descartar una bacteriuria en base a un resultado negativo, ya que sensibilidad es baja, pero su especificidad alta, con alto valor predictivo negativo.

6.6 DETECCIÓN DE BACTERIURIA O BACTERIURIA Y PIURIA MEDIANTE SISTEMAS AUTOMÁTICOS

Existen en el mercado diferentes sistemas que permiten cribar rápidamente las orinas con bacteriuria y/o piuria significativa y seleccionarlas para realizar un cultivo convencional. El sistema Iris IQ200 asocia la citometría de flujo a un sistema de

captura de imágenes digitales y posterior reconocimiento mediante un *software* basado en redes neuronales. El sistema Sysmex UF-1000 también utiliza la citometría de flujo clasificando las partículas presentes en la orina en función de su intensidad de fluorescencia previa tinción con dos colorantes: fenantridina con apetencia por los ácidos nucleicos, y carbocianina con afinidad por los fosfolípidos de las membranas celulares y las mitocondrias, impedancia eléctrica y ángulo de dispersión tras incidencia de un haz de luz láser. Este sistema emplea un canal separado para el recuento de bacterias. El sistema automático Cellenium 160US utiliza sondas fluorescentes altamente específicas capaces de unirse a bacterias, levaduras y leucocitos acoplado a un sistema de análisis computerizado de imagen, con un umbral de detección de bacterias de 10^4 ufc/mL. El sistema Coral UTI Screen se fundamenta en la capacidad del ATP bacteriano en presencia del sistema enzimático luciferin-luciferasa de emitir luz, cuya intensidad es proporcional a la cantidad de ATP y en consecuencia a la concentración de bacterias en la orina.

Las evaluaciones de estos sistemas en general demuestran su utilidad para el cribado. El sistema Iris IQ200 presenta una sensibilidad del 68%, una especificidad del 80%, un valor predictivo positivo del 60% y un valor predictivo negativo del 86% respecto al cultivo convencional. El sistema UF1000i, empleando un punto de corte de 125 bacterias/ μ L, presenta una sensibilidad del 87% (IC 95%, 78-94%), una especificidad del 79% (IC 95%, 71-86%), un valor predictivo positivo del 72% (IC 95%, 61-80%) y un valor predictivo negativo del 92% (IC 95%, 84-96%) respecto al cultivo convencional con punto de corte 100.000 ufc/mL. Empleando adicionalmente un punto de corte de 40 leucocitos/ μ L la sensibilidad respecto al cultivo convencional (punto de corte 100.000 ufc/mL) es del 99% (IC 95%, 88-100%), la especificidad del 77% (IC 95%, 61-88%), el valor predictivo positivo del 82% (IC 95%, 67-91%) y el valor predictivo negativo del 98% (IC 95%, 84-99%). El sistema Cellenium 160US, comparado también con el cultivo convencional, muestra una sensibilidad del 89,5%, una especificidad del 94,4%, un valor predictivo positivo del 81% y un valor predictivo negativo del 97,1%. El sistema Coral UTI Screen cuando se compara con el cultivo presenta una sensibilidad del 86% (IC 95%, 80,6-91,2%), una especificidad del 75,5%, un valor predictivo positivo del 45% y un valor predictivo negativo del 95,9%.

En general y en base a las evaluaciones anteriores se puede deducir que la sensibilidad y especificidad de los distintos sistemas automáticos dependen del punto de corte empleado para discriminar bacteriuria significativa y este aspecto debe ser localmente determinado en base a la población a estudiar. Algunos sistemas como el UF-1000i permiten la utilización de distintos puntos de corte simultáneos si el sistema se conecta a una base de datos local que suministre información sobre la edad y procedencia del paciente. En general, estos sistemas tienen un umbral de linealidad de entre 1.000 y 10.000

bacterias/mL, aceptable para la mayoría de las situaciones. Un aspecto a considerar es la poca capacidad de estos sistemas de discriminar orinas contaminadas, aunque suministran gráficas de lectura que podrían ayudar a determinar la naturaleza del microorganismo y orientar la etiología. Dado el buen valor predictivo negativo de estos sistemas, su utilidad principal es la discriminación entre las orinas negativas y las consideradas positivas y el envío de estas últimas a cultivo convencional (aproximadamente el 30-40% de las recibidas).

6.7 DETECCIÓN DE BACTERIURIA MEDIANTE MÉTODOS MOLECULARES

Actualmente han aparecido en el mercado sistemas comerciales capaces de detectar los principales microorganismos causantes de infección urinaria mediante métodos moleculares. La plataforma Seegene UTI ACE Detection asocia una PCR multiplex a un sistema de hibridación en fase sólida capaz de detectar los 6 principales uropatógenos (*E. coli* uropatógeno, *Proteus mirabilis*, *K. pneumoniae*, *S. saprophyticus*, *P. aeruginosa* y *Enterococcus faecalis*). Actualmente existen pocas evaluaciones de este sistema en la práctica diaria.

6.8 DETECCIÓN DE BACTERIURIA MEDIANTE EL CULTIVO DE LA ORINA

El cultivo de orina sigue siendo la técnica imprescindible y de elección para el diagnóstico de la infección del tracto urinario, no solo porque ayuda a documentar la infección sino porque es necesario para identificar el microorganismo infectante (aspecto importante en los episodios recurrentes y en el conocimiento de la epidemiología de la infección) y su sensibilidad antibiótica (aspecto importante para la selección del tratamiento y para la realización de guías de terapia empírica a partir de datos acumulados).

Debe realizarse de forma semicuantitativa usando asas calibradas de 0,01 o 0,001 mL (dependiendo del nivel de recuento que sea necesario). Con este método se obtiene información sobre el número de ufc/mL del microorganismo presente en la muestra y además proporciona colonias bien aisladas para su identificación y pruebas de sensibilidad antibiótica. Otros métodos como la inoculación por inmersión mediante laminocultivos (*dipslides*), inoculación por tecnologías multipunto o por impregnación de tiras de papel de filtro estéril no se recomiendan para uso rutinario aunque podrían ser útiles en circunstancias determinadas y de acuerdo a protocolos locales. Ver PNT-UR-01 de este procedimiento.

6.8.1 Medios de cultivo. Los medios de cultivo empleados de forma rutinaria pueden ser de tres tipos: medios no selectivos asociados a medios selectivos de enterobacterias (agar sangre y agar MacConkey), medios diferenciales adaptados a la identificación de microorganismos causantes de infección urinaria como el CLED (medio cistina lactosa electrolito deficiente) y medios diferenciales no selectivos cromogénicos. Cada uno tiene ventajas

e inconvenientes y su utilización debe ser valorada por el microbiólogo. El empleo de un medio no selectivo como el agar sangre permite un buen crecimiento y discriminación de bacterias grampositivas y levaduras así como una mala diferenciación de bacterias gramnegativas. Debido a lo anterior, siempre se complementa con un agar selectivo MacConkey capaz de discriminar las bacterias gramnegativas según su capacidad de fermentar la lactosa y morfología. En ambos medios no se inhibe la formación de *swarming* por parte de *Proteus* spp. El agar CLED, proporciona una buena discriminación entre bacterias gramnegativas sobre la base de la fermentación de la lactosa y morfología, y debido a su baja concentración de electrolitos inhibe el *swarming* del *Proteus* spp, aunque el crecimiento de algunas bacterias grampositivas puede ser pobre (sobre todo *Streptococcus agalactiae* y algunos *Staphylococcus coagulasa* negativa). Los medios cromogénicos contienen mezclas de sustratos que producen distintos compuestos coloreados después de su degradación por enzimas bacterianas específicas del tipo β -glucosidasas o β -D-galactosidasas. Además contienen triptófano y fenilalanina capaces de detectar la presencia de triptófano desaminasa. Estos medios facilitan la identificación presuntiva de *E. coli* (β -galactosidasa), *Enterococcus* spp. (β -glucosidasa), grupo *Klebsiella-Enterobacter-Serratia* (β -glucosidasa), y grupo *Proteus-Morganella-Providencia* (triptófano desaminasa). Como regla general, y a excepción de *E. coli* cuya identificación se confirma inmediatamente con una prueba rápida de indol, la identificación de las otras especies bacterianas debe ser confirmada, de lo contrario especies como *E. cloacae* o *Citrobacter* spp podrían ser identificados como *E. coli*. Dado que *E. coli* representa un porcentaje muy alto de los aislamientos, los medios cromogénicos pueden obviar la identificación de más del 50% de los aislamientos urinarios.

Cuando se compara la siembra clásica sobre agar sangre y MacConkey con la efectuada en agar CLED o en distintas formulaciones de medios cromogénicos, los tres tipos tienen similar capacidad de crecimiento y recuperación de enterobacterias, aunque esta disminuye en las bacterias grampositivas (el crecimiento puede ser pobre) especialmente *Streptococcus agalactiae*, algunos *Staphylococcus coagulasa* negativa y levaduras. Adicionalmente, la capacidad de recuperación bacteriana de los medios cromogénicos puede diferir entre distintos preparados comerciales. Por otro lado, los medios cromogénicos tienen la ventaja de que los cultivos mixtos se detectan con facilidad.

6.8.2 Inoculación de los medios. Para obtener un recuento semicuantitativo la orina debe ser previamente homogeneizada (moviéndola con suavidad para evitar la formación de espuma). Se emplean asas de plástico o asas metálicas no ferrosas (níquel-cromo o platino) calibradas para contener 0,01 ó 0,001 mL de orina. Para la obtención del volumen adecuado es importante introducir el

asa inmediatamente por debajo de la superficie líquida y ascenderla verticalmente. Una vez tomada la muestra se lleva en todo su volumen a la superficie del agar haciendo una estría a través del centro. El inóculo se disemina en ángulos rectos respecto a la estría primaria; luego la placa se gira 90° y se disemina el inóculo hasta cubrir toda la superficie. Existe una variante de siembra, menos exacta para el recuento, pero implantada en muchas unidades de microbiología que consiste en realizar una estría en el centro de la placa y posterior diseminación perpendicular de ésta. Bajo ciertas circunstancias (sobre todo como control de calidad de la siembra), es aceptable sembrar una placa con asa de 0,01 mL y otra con asa de 0,001 mL y comparar los recuentos. Si bien las asas están calibradas para aportar el volumen indicado, la exactitud puede variar con un porcentaje de error de $\pm 50\%$. En particular con el asa de 0,001 mL, la toma de la muestra de forma vertical desde envases de boca estrecha puede aportar hasta un 50% del volumen indicado para el asa, sin embargo la toma horizontal con un ángulo de 45° desde envases de boca ancha puede aportar hasta un 150% del volumen indicado. En base a lo anterior, el microbiólogo debe estar al tanto de estos errores potenciales y según el envase en que se reciben las orinas formar a su personal técnico en la forma idónea de manejo de la muestra.

La siembra de más de una muestra de orina por placa no es un procedimiento aceptable por la posibilidad de contaminación y debe ser siempre evitado aunque existan guías que recogen este procedimiento.

6.8.3 Condiciones de incubación de los cultivos.

Los cultivos de orina deben ser incubados a 35-37°C en atmósfera aeróbica antes de ser interpretados. La mayoría de bacterias causantes de infección urinaria se pueden poner en evidencia en 18-24 horas, en este contexto no tiene sentido prolongar la incubación más allá de las 24 horas. En casos determinados, bacterias exigentes, deficientes o cultivo negativo o cuando se documenta la presencia de bacterias en la tinción de Gram podría ser necesario extender el periodo de incubación a las 48 horas.

6.8.4 Lectura de los cultivos. Las placas deben ser examinadas para su valoración después del tiempo adecuado de incubación (este aspecto es importante para orinas sembradas durante la tarde o noche).

-Cultivos sin crecimiento: si las placas no presentaran crecimiento después del tiempo adecuado de incubación, el cultivo debe considerarse como negativo, excepto: orinas obtenidas por punción suprapúbica, cuando se haya especificado cultivo de levaduras, ya que no todas crecen bien en 24 horas, sobre todo en pacientes inmunodeprimidos o cuando aparezcan colonias muy pequeñas. En todos estos casos se prolonga la incubación otras 24 o 48 horas.

-Cultivos con crecimiento: es importante discriminar entre especies con capacidad uropatógena (*Enterobacteriaceae*, *P. aeruginosa*, otros bacilos

gramnegativos, *Enterococcus* spp., estreptococos β -hemolíticos, levaduras, *S. aureus*, *S. saprophyticus*, etc., de aquellas especies que generalmente representan microbiota urogenital o cutánea (*Lactobacillus* spp, diferoides distintos de *C. urealyticum*, *Streptococcus* del grupo *viridans* distintos de *A. urinae* y *Bacillus* spp.) que no se considerarán valorables, aunque siempre debe considerarse en el contexto clínico del paciente.

Se deben valorar los posibles morfotipos presentes y realizar el recuento de colonias para cada una de las posibles especies, para ello debe multiplicarse el número de colonias por el factor de dilución empleado.

Volumen de asa empleado en la siembra	Recuento de colonias
0,001 mL	1 colonia = 10^3 ufc/mL (10^6 ufc/L)
0,01 mL	1 colonia = 10^2 ufc/mL (10^5 ufc/L)

Aunque el sistema internacional de unidades se ha implantado en muchas facetas de la microbiología clínica, no se emplea de modo habitual para valorar los recuentos de los urocultivos. De hecho la mayoría de los artículos utilizan la nomenclatura clásica para definir la bacteriuria significativa. A modo de ejemplo, 10^5 ufc/mL equivalen a 10^8 ufc/L, 10^4 ufc/mL a 10^7 ufc/L, etc y podría ser interesante su conocimiento en base a estandarizar los informes.

La causa principal de piuria y cultivos negativos es el tratamiento antibiótico previo. Ante pacientes sin antibioticoterapia previa, síntomas urinarios, piuria y orina estéril, puede indicarse la repetición del urocultivo inoculando un mayor volumen. Además puede indicarse investigación de micobacterias, *Chlamydia trachomatis* y *Neisseria gonorrhoeae*.

6.8.5 Criterios para interpretación de resultados.

Los criterios clásicos de interpretación descritos por Kass en los que se consideran significativos recuentos de $\geq 10^5$ ufc/mL pueden ser aplicados a la mayoría de las muestras en las que se solicita el cultivo. Sin embargo, en determinadas circunstancias se admite la existencia de IU con recuentos muy inferiores como son:

- En orinas obtenidas por punción suprapúbica o que proceden del riñón, cualquier recuento es indicativo de infección.
- En mujeres jóvenes con síndrome miccional y leucocituria, se considera significativo el hallazgo de $\geq 10^2$ ufc/mL.
- En varones en los que la obtención de orina es menos susceptible de contaminarse, son significativos recuentos de $\geq 10^3$ ufc/mL.
- En orinas obtenidas por sondaje vesical, se consideran significativos recuentos $\geq 10^3$ ufc/mL de cualquier microorganismo en cultivo puro.

En situaciones diferentes a las anteriormente descritas, un recuento $\leq 10^4$ ufc/mL se considera

como no significativo. Recuentos bajos ($\leq 10^4$ ufc/mL) de microorganismos normalmente encontrados en la piel o genitales externos o internos se consideran contaminantes.

Los cultivos de crecimiento mixto en pacientes con IU no complicada adquirida en la comunidad, probablemente indican contaminación de microbiota fecal y se pueden informar como "Flora mixta; posible contaminación. Sugerimos una recogida apropiada de la orina, con una entrega a tiempo al laboratorio, si existe una indicación clínica". Sin embargo, estos cultivos mixtos en pacientes sondados, hospitalizados o en pacientes mayores de >65 años deben ser valorados con cautela y en algunas ocasiones requieren contactar con el clínico para realizar una correcta interpretación. Ver PNT-UR-01 de este procedimiento.

6.9 ESTUDIO DE LA RESISTENCIA ANTIMICROBIANA

El estudio de la sensibilidad de los microorganismos a los antimicrobianos (antibiograma) es importante en la elección del tratamiento frente a un proceso infeccioso. Pueden utilizarse diferentes métodos, entre los que destacan, en el laboratorio de microbiología clínica, la difusión con discos y la microdilución. El método de difusión con disco (Kirby-Bauer) es un método cualitativo bien estandarizado que presenta las ventajas de una gran flexibilidad en la elección de los antibióticos estudiados, bajo coste y fácil realización; su principal problema es que la lectura e interpretación de los resultados es lenta, especialmente si se procesan un gran número de muestras, lo que en la actualidad se puede mejorar con la utilización de sistemas de lectura digital mediante ordenador. La aparición de sistemas automatizados o semiautomatizados ha incrementado el uso de las técnicas de microdilución, cuya principal ventaja es la de ofrecer valores cuantitativos, concentración mínima inhibitoria o CMI, y su inconveniente es la obligatoriedad de adaptarse al estudio del panel de antibióticos que decide el laboratorio fabricante. La elección del método en cada laboratorio depende de criterios organizativos, económicos, de versatilidad y de necesidad de determinar valores de CMI. Con cualquiera de las técnicas, la información que se genera se traduce en categorías clínicas (sensible, intermedio o resistente) que predicen la eficacia clínica de un antimicrobiano, siguiendo criterios establecidos por diferentes comités.

Clásicamente, el número antibióticos estudiados en las infecciones urinarias no complicadas era muy limitado. En la actualidad el incremento, tanto en las tasas de resistencia como en la diversidad de los mecanismos que las condicionan, hace aconsejable el estudio de un número suficiente de antimicrobianos, que incluya antibióticos de interés clínico (para determinar el tratamiento adecuado para el caso particular) y también otros antibióticos necesarios para una lectura interpretada del antibiograma, que permitan inferir los posibles mecanismos de resistencia. Ejemplo de este último

grupo serían, en gramnegativos, las asociaciones de cefalosporinas con inhibidores de β -lactamasas (para la identificación de los aislamientos con beta-lactamasas de espectro extendido –BLEE–), el aztreonam (útil en la detección de las metalo- β -lactamasas) o la cefoxitina para la detección de cepas productoras de β -lactamasas de tipo AmpC o con defectos en la permeabilidad; este último compuesto también se utiliza actualmente en la detección de cepas de estafilococo con resistencia a la meticilina. Con respecto a los antibióticos con utilidad clínica, en el antibiograma de patógenos urinarios deben incluirse antimicrobianos específicos para este tipo de infección (nitrofurantoína, fosfomicina y quinolonas de primera generación) y antibióticos de utilidad general en cualquier tipo de infección: β -lactámicos, aminoglucósidos, cotrimoxazol y fluoroquinolonas, seleccionados según el tipo de microorganismo (Ver PNT-UR-02 de este procedimiento). El estudio de un número elevado de antibióticos no implica que la información que deba transmitirse incluya todos ellos, sino solo aquellos con utilidad clínica y de modo selectivo y gradual, reservando la información sobre antibióticos de amplio espectro a los casos en que constituyan la única alternativa terapéutica.

En el antibiograma de difusión en disco es importante establecer un orden adecuado en la colocación de los antibióticos, especialmente en los β -lactámicos, que permita evidenciar interacciones entre ellos características de distintos mecanismos; por ejemplo la amoxicilina-ácido clavulánico al lado de cefalosporinas de tercera generación (C3G) para la identificación presuntiva de las BLEE o la cefoxitina o imipenem y las C3G para detectar la inducción de la resistencia condicionada por las enzimas AmpC.

Para los sistemas automáticos y semiautomáticos, se ha elaborado un consenso entre los grupos GEMARA (Grupo de Estudio de los Mecanismos de Acción y Resistencia a los Antimicrobianos) y MENSURA (Mesa Española de Normalización de la Sensibilidad y Resistencia a los Antimicrobianos), sobre las características y prestaciones generales mínimas que deben tener, y que son las siguientes:

1. Disponibilidad del resultado de la identificación de los microorganismos, necesaria para realizar la lectura interpretada del antibiograma y la inferencia de los mecanismos de resistencia.
2. Incorporación de una aplicación informática que interprete los valores de CMI obtenidos (o en su caso los halos de inhibición) y establezca las categorías clínicas, sensible, intermedio y resistente. El programa debe permitir aplicar diferentes criterios, incluyendo los recomendados por EUCAST (*European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing*), CLSI (*Clinical and Laboratory Standards Institute*).
3. Incorporación de sistemas expertos para la lectura interpretada del antibiograma.
4. Conexión bidireccional con el Sistema de Información del Laboratorio (SIL) para recibir datos necesarios para la gestión de los resultados, sobre todo con fines epidemiológicos y programas de control de infección, y para transmitir

los datos de sensibilidad. En este documento se propone también una selección de las concentraciones de antibióticos que deben estudiarse, y que deben incluir como mínimo las concentraciones críticas o puntos de corte utilizados para la definición de las categorías clínicas de sensible, intermedio y resistente establecidas por EUCAST, CLSI. Además, sería conveniente introducir alguna otra concentración, por debajo del punto de corte de la resistencia, para detectar cepas con CMI por encima de las habituales en las cepas salvajes, con el objetivo de facilitar la vigilancia epidemiológica y la detección de mecanismos de resistencia con bajo nivel de expresión.

En ocasiones, a pesar de todas estas premisas en el diseño del estudio de sensibilidad habitual, es necesario recurrir a pruebas fenotípicas específicas para la detección de algunos mecanismos de resistencia:

- Para la detección de las BLEE es necesario confirmar la sinergia entre el ácido clavulánico y las cefalosporinas de tercera generación, con la utilización de tiras de E-test (*E-test ESBL screen*), el estudio comparativo de los halos de inhibición de discos de C3G sin y con la adición de inhibidores o la prueba de sinergia en doble disco. Esta prueba presenta un alto grado de especificidad, excepto en cepas hiperproductoras de SHV-1 o de enzima cromosómica de clase A, como *K. oxytoca*, *C. koseri* o *P. vulgaris*, en los que puede haber resultados falsos positivos. En cuanto a su sensibilidad se puede incrementar con la inclusión de más de una C3G, con la inclusión de cefepima y aproximación de los discos a 2 cm (para una mejor detección en especies con β -lactamasa de clase C) o realizándola con un inóculo superior al habitual en los estudios de sensibilidad, en los casos de enzimas con bajo nivel de expresión fenotípica.
- Otras pruebas de sinergia útiles para la detección de mecanismos de resistencia son: la sinergia de carbapenemas con EDTA en las metalo- β -lactamasas o la de C3G con ácido borónico o cloxacilina para las AmpC. Excepto en unas pocas especies (*P. mirabilis* o *Klebsiella* spp.), el fenotipo de resistencia condicionado por una β -lactamasa de tipo AmpC plasmídica es indistinguible de la hiperproducción de la enzima cromosómica, la única diferencia fenotípica que ha sido descrita es el salto de colonias dentro de los halos de inhibición de las C3G y monobactamas en el caso de las enzimas plasmídicas.

La realización de antibiograma directamente de la orina sólo se recomienda si en la tinción de Gram realizado directamente de la orina se observa la presencia de un solo microorganismo con recuento significativo. En este caso, la lectura del antibiograma debe realizarlo un microbiólogo con experiencia, que pueda detectar cultivos mixtos. Este método no está estandarizado, pero aporta una

información rápida al clínico. Posteriormente se confirmará con una prueba de sensibilidad estándar.

7. INFORMACIÓN DE RESULTADOS

La información emitida por el laboratorio debe ser exacta y clara, no dando lugar a falsas interpretaciones. Debe contener los elementos necesarios que ayuden al clínico en la interpretación del resultado, es decir debe contener el resultado de la investigación de los elementos formes de la orina realizada mediante microscopía u otro sistema y el resultado del cultivo.

Si se utilizan sistemas de cribado para descartar las orinas negativas se informará del resultado obtenido por este sistema, y se añadirá que no procede el cultivo de la misma en términos similares a "Cultivo no indicado. Si los síntomas persisten o recurren, remitir nueva muestra indicando la necesidad del cultivo".

En el resto de orinas o cuando no se utilicen sistemas de cribado, se informará del número de leucocitos PMN y de hematíes por mL o por litro (y del rango de normalidad de los mismos) y de la presencia de células epiteliales. Opcionalmente se puede informar de otros elementos como bacterias, levaduras, etc. Aunque esta información puede causar confusión con los resultados del cultivo.

En cuanto al cultivo:

- Si no se observa crecimiento o este no es significativo se informará como "Cultivo negativo" o "Crecimiento no significativo".
- Si se observa un recuento significativo de un solo microorganismo se informará del mismo con la identificación de la bacteria y la sensibilidad a los antibióticos apropiados.
- En los cultivos mixtos en los que se valoren todos los morfotipos presentes en el medio de cultivo, se informará el recuento de cada microorganismo por separado, seguido de su identificación y sensibilidad.
- Los cultivos mixtos en los que no se valore ningún morfotipo, se informarán con el recuento en ufc/mL, seguido por alguna aclaración, como puede ser "Flora mixta; posible contaminación. Sugerimos una recogida apropiada de la orina, con una entrega a tiempo al laboratorio, si existe una indicación clínica" o como "Crecimiento no significativo".
- Si se observa sólo microbiota de la piel o urogenital se puede informar como "flora normal urogenital".

8. PROCEDIMIENTOS ADICIONALES A REALIZAR EN SITUACIONES ESPECIALES

8.1 PROSTATITIS, EPIDIDIMITIS Y ORQUITIS

Las infecciones de próstata, epidídimo y testículos son infecciones frecuentes, que plantean dificultades tanto en su diagnóstico como en su tratamiento. Los microorganismos infectantes suelen provenir del tracto urinario inferior infectado y por tanto suelen ser los causantes de las infecciones urinarias o las infecciones de transmisión sexual. Las orquitis suelen estar causadas por virus, que llegan por vía

hematógena. Es muy importante un correcto diagnóstico microbiológico para evitar recidivas, aunque este solo se alcanza en una minoría de los casos.

8.1.1 Prostatitis. Es la enfermedad urológica mas frecuente en varones menores de 50 años y la tercera (después de la hiperplasia benigna y el cáncer de próstata) en mayores de esta edad. Se estima que afecta a un 5-10% de varones. En 1995 los *National Institutes of Health* de EEUU propusieron una revisión de la clasificación de prostatitis de Stamey y Meares (1968) y Drach (1978), consistente en clasificarla en 4 categorías: prostatitis bacteriana aguda, prostatitis bacteriana crónica, síndrome de dolor pélvico crónico y prostatitis inflamatoria asintomática. Sólo a las 2 primeras entidades se les reconoce una etiología infecciosa. El síndrome de dolor pélvico crónico acompañado con frecuencia de molestias urinarias y/o eyaculatorias y con una próstata normal al tacto rectal se presenta en la gran mayoría de pacientes con síntomas prostáticos. Dentro de él se reconocen 2 subgrupos, uno inflamatorio (que equivaldría a la prostatitis crónica no bacteriana de la clasificación tradicional) y otro no inflamatorio (equivaldría a la prostatodinia). Se define como inflamatorio cuando se observan 10-15 PMN/campo en la secreción prostática o cuando esta o la orina postmasaje prostático presentan un recuento de leucocitos significativamente superior al de la orina premasaje, siempre con cultivos negativos. Se han sugerido varias causas, como el fallo en la detección de las bacterias responsables, etiología autoinmune, alérgica, disfunciones neuromusculares e incluso problemas psicológicos.

En ausencia de factores predisponentes, sólo los *E. coli* con alto potencial virulento son capaces de causar una prostatitis. Se ha demostrado que estos *E. coli* poseen una media de factores de virulencia superior a la media de los *E. coli* productores de pielonefritis. La mayoría son capsulados y producen hemolisina y CNF-1. Sin embargo poseen fimbrias P en menor proporción que los productores de pielonefritis (53% vs. 73%), lo que sugiere que estas fimbrias son menos importantes para producir la invasión de la próstata que la infección del parénquima renal.

8.1.1.1 Prostatitis bacteriana aguda. Suele debutar bruscamente con fiebre y escalofríos, acompañados de síntomas urinarios como disuria, polaquiuria y dolor perineal. El tacto rectal revela una próstata muy dolorosa, tensa e inflamada. En más del 80% de los casos *E. coli* es el agente causal, seguido de *Klebsiella* spp., *Proteus* spp. y otros uropatógenos. Cuando no ocurre de forma espontánea sino en pacientes intervenidos quirúrgicamente, portadores de sonda urinaria, etc. hay que considerar a *P. aeruginosa*, *S. aureus* y *Candida* spp. (especialmente en diabéticos). *N. gonorrhoeae* y *C. trachomatis* pueden ser causa de prostatitis aguda; en estos casos suele haber el

antecedente de uretritis y con frecuencia existe una orquiepididimitis concomitante.

El diagnóstico microbiológico se realiza mediante el cultivo del chorro medio de orina y un hemocultivo. El masaje prostático está contraindicado por el riesgo de provocar o intensificar la bacteriemia. Si se sospecha *N. gonorrhoeae* o *C. trachomatis* puede obtenerse secreción uretral o un primer chorro de orina. El procesamiento de estas muestras en el laboratorio de microbiología se detalla en el PNT-UR-03 de este procedimiento. Para evitar recidivas, se recomienda administrar tratamiento antibiótico durante 4-6 semanas cuando se trata de un uropatógeno, y durante 10 días en caso de un agente de transmisión sexual.

8.1.1.2 Prostatitis bacteriana crónica. Es una infección larvada y prolongada de la glándula prostática. Suele estar asociada o ser consecuencia de una prostatitis aguda no curada adecuadamente, de una infección urinaria, una uretritis o epididimitis. Puede manifestarse de forma continua o por episodios, entre los cuales el paciente esta asintomático y la palpación prostática suele ser normal. Los síntomas son más leves que en la prostatitis aguda y se caracterizan por dolor perineal o pélvico, dolor de espalda bajo, dolor testicular y molestias al orinar o al eyacular. En ocasiones hay hematuria, turbidez de la orina e incontinencia. A la exploración puede apreciarse una próstata hiperplásica y sensible, con zonas induradas e irregulares. Con frecuencia la única manifestación es una IU recurrente. *E. coli* es el agente etiológico más frecuente y causa aproximadamente el 75-80% de los episodios. Otros organismos, incluyendo otros bacilos gramnegativos, enterococos y *C. trachomatis* han sido asociados a infección crónica. Algunos microorganismos fastidiosos pueden jugar un importante papel, así *Ureaplasma urealyticum* se ha detectado en el 13% de pacientes. Raramente han sido involucrados hongos o *M. tuberculosis*.

Alrededor de un 30% de prostatitis crónicas recidivan, incluso tras tratamientos antibióticos adecuados. Estas recidivas generalmente están causadas por la misma cepa bacteriana que suele conservar su sensibilidad antibiótica inicial.

El diagnóstico microbiológico de la prostatitis crónica se basa en el test de Meares y Stamey, que consiste en la obtención de 4 muestras: a) el primer chorro de orina, que traducirá los microorganismos presentes en la microbiota de la uretra anterior; b) el chorro medio que refleja los microorganismos presentes en la vejiga; c) la secreción prostática emitida tras la realización de un masaje prostático por vía transrectal, donde los microorganismos presentes serán de origen prostático. La realización de este masaje supone muchos inconvenientes para el paciente y con frecuencia es difícil obtener secreción prostática. Algunos especialistas proponen sustituirla por semen obtenido por el propio paciente tras masturbación; y d) orina postmasaje,

emitida espontáneamente tras el masaje prostático o la masturbación; con frecuencia esta muestra suele obviarse. En la actualidad tiende a utilizarse el método simplificado de Nikel, que consiste en obtener dos muestras de orina, una premasaje y otra después de un masaje prostático vigoroso.

El procesamiento de estas muestras en el laboratorio de microbiología se detalla en el PNT-UR-03 de este procedimiento. La valoración de los resultados no siempre es clara, planteando a menudo muchas dudas. Se considera que existe una prostatitis cuando la cantidad de ufc/mL es diez veces superior en secreción prostática, semen o orina postmasaje que en primer o en el chorro medio de orina. Además el recuento de leucocitos debe también estar incrementado en las muestras posteriores al masaje o masturbación.

Cuando de las muestras previas al masaje se obtiene un crecimiento bacteriano abundante y significativo no es posible distinguir una cistitis simple de una cistitis asociada a prostatitis. Por ello antes de realizar un test de Stamey es aconsejable realizar un urocultivo convencional y si este es positivo, valorar la presencia de prostatitis basándose en la sintomatología clínica, el tacto rectal y otras exploraciones complementarias como urografía o ecografía.

8.1.2 Epididimitis. Se caracteriza por dolor e hinchazón escrotal, generalmente unilateral y sensibilidad aumentada, acompañadas con frecuencia de molestias urinarias, fiebre moderada y en ocasiones exudado uretral y molestias eyaculatorias. Suele ser un cuadro agudo, que puede afectar al testículo y acabar en una orquiepididimitis con hidrocele. Es frecuente la presencia de adenopatías inguinales. Es importante hacer el diagnóstico diferencial con la torsión testicular. Es especialmente frecuente en varones jóvenes, especialmente la causada por *N. gonorrhoeae* y *C. trachomatis*. En pacientes mayores la causa más frecuente son las enterobacterias y *Pseudomonas* spp. y excepcionalmente *M. tuberculosis*. El diagnóstico microbiológico es igual al de la prostatitis crónica. La duración del tratamiento será igual al de la prostatitis, debido a la frecuente asociación de estas dos entidades.

8.1.3 Orquitis. Se caracteriza por hinchazón del testículo, aumento de sensibilidad, dolor y sensación de pesadez, fiebre, síntomas urinarios y dolor eyaculatorio. A la exploración puede observarse aumento del tamaño testicular, adenopatías inguinales y próstata hiperplásica, además de uretritis cuando su origen es de transmisión sexual. Es una entidad menos frecuente que la prostatitis y la epididimitis, aunque a veces es una complicación de estas, en cuyo caso se trata de una orquiepididimitis.

La mayoría de orquitis son de etiología vírica. El virus más frecuente es el de la parotiditis, ya que el 20-30% de los varones postpuberales con paperas sufren esta complicación, seguido de lejos por el virus Coxsackie B. La llegada del virus a la gónada se produce por vía hematógena. En otras ocasiones

las orquitis están causadas por las clásicas bacterias de las vías urinarias como *E. coli*, *Klebsiella* spp., *P. aeruginosa*, etc. y con menor frecuencia por las adquiridas por contacto sexual como *N. gonorrhoeae* o *C. trachomatis*, que llegan a la gónada por vía retrograda desde el aparato urinario. Otros agentes etiológicos muy infrecuentes en nuestro medio son *Brucilla* spp., *M. tuberculosis* y *Wuchereria bancrofti*.

El diagnóstico microbiológico dependerá de la sospecha etiológica. Cuando se sospeche origen vírico puede realizarse cultivo celular o PCR en orina y exudado faríngeo y serología. Cuando se sospeche origen urinario o de transmisión sexual el diagnóstico microbiológico será igual al de la prostatitis crónica al que se añadirá un hemocultivo ante la presencia de fiebre.

8.2 INFECCIÓN URINARIA POR MICOPLASMAS Y CLAMIDIAS

Mycoplasma hominis puede recuperarse con frecuencia del tracto genital inferior de hombres y mujeres, pero se cree que no causa cistitis, epididimitis o prostatitis. *Ureaplasma urealyticum* puede ser causa de prostatitis crónica. *M. hominis* y *U. urealyticum* ocasionalmente pueden causar pielonefritis, aunque no está claro si pueden causar pielonefritis no complicada. Se estima que *M. hominis* puede ser responsable de un 5% de las pielonefritis agudas, sobre todo cuando ha habido instrumentación previa u obstrucción de las vías urinarias. El diagnóstico microbiológico se realiza mediante cultivo de las muestras en caldo U9B o similar y subcultivo en agar A7B o similar, o directamente en agar A7B o similar, medios en los que crecen tanto *M. hominis* como *U. urealyticum*. En caldo se incuba a 35-37°C y se aprecia el viraje del color a las 24-72 horas. Las placas se incuban en anaerobiosis durante 48-72 horas y su lectura se realiza en el microscopio óptico (x10) o con lupa. Las colonias de *M. hominis* adoptan la típica forma en "huevo frito", mientras que las de *U. urealyticum* son más pequeñas, granulares y de color marrón oscuro. También pueden utilizarse galerías comerciales, con medios líquidos y en las que simultáneamente se realiza el recuento semicuantitativo, la identificación y el estudio de la sensibilidad a los antimicrobianos de *M. hominis* y *U. urealyticum*.

C. trachomatis es causa del síndrome uretral agudo en mujeres, por lo que debe investigarse su presencia en mujeres jóvenes sexualmente activas con esta patología, piuria y orina estéril. *C. trachomatis* puede ser causa de prostatitis aguda, epididimitis y orquiepididimitis; en estos casos suele haber el antecedente de uretritis. Menos claro es si *C. trachomatis* es causa de prostatitis crónica, aunque algunos autores evidencian su presencia en tejido prostático a través de biopsia transrectal. Actualmente se considera a las técnicas de amplificación de ácidos nucleicos el patrón de referencia para el diagnóstico microbiológico de *C. trachomatis*, estimándoseles una sensibilidad del 88-90% y una especificidad del 95-98%. Existen técnicas de PCR en tiempo real capaces de emitir

resultados en 2-3 horas y detectar todas las genovariedades incluyendo las del linfogranuloma venéreo. Estas técnicas tienen la ventaja que pueden ser realizadas con orina y exudado vaginal, además de en el exudado endocervical y uretral. La realización de esta prueba en el frotis rectal no está aprobada por la *Food and Drug Administration* (FDA). Alternativamente pueden utilizarse técnicas de detección de antígenos; los métodos inmunoenzimáticos de última generación son los que poseen mayor eficacia diagnóstica.

8.3 INFECCIÓN URINARIA POR MICOBACTERIAS

La tuberculosis afecta a un tercio de la población mundial y constituye la segunda causa de muerte por enfermedad infecciosa en el mundo. La tuberculosis extrapulmonar supone un 20% de los cuadros clínicos; el tracto génito-urinario es una de las dianas fundamentales de la diseminación hematógna. La clínica de la tuberculosis urinaria es muy inespecífica, lo que frecuentemente retrasa su diagnóstico y condiciona un mayor número de complicaciones.

Para el diagnóstico de la tuberculosis urinaria se deben recoger muestras de orina a primera hora de la mañana, siguiendo las mismas precauciones que en la obtención de cualquier urocultivo. Es aconsejable recoger tres muestras, de al menos 40 mL, durante tres días consecutivos. Clásicamente el diagnóstico rápido se realiza por microscopía tras tinciones especiales para microorganismos ácido-alcohol resistentes. Existen dos tipos de tinciones: las que utilizan como colorante primario la fucsina fenicada (Ziehl-Neelsen o Kinyoun) y las tinciones con fluorocromos. El problema de estas técnicas, especialmente en muestras extra-pulmonares como la orina, es la falta de sensibilidad, ya que la concentración bacteriana necesaria para su positividad es elevada (10^4 - 10^5 bacterias/mL). El cultivo debe realizarse en medios especiales; los medios de cultivo pueden ser sólidos (con base de huevo o agar), bifásicos o líquidos. El principal inconveniente del cultivo es su lentitud, entre 6 y 8 semanas en el caso de los medios sólidos y una o dos semanas para los medios líquidos.

Las técnicas de amplificación de ácidos nucleicos constituyen una herramienta prometedora en el diagnóstico de la tuberculosis urinaria, tanto por su rapidez como por su sensibilidad, establecida entre el 50 y 100% por distintos autores. Se dispone en el mercado de distintas técnicas que difieren en la diana, el método de amplificación (isotérmica, PCR convencional, *nested*-PCR o PCR en tiempo real) y la forma de detección del fragmento amplificado (quimioluminiscencia, colorimetría o fluorimetría). Es necesario tener en cuenta, sin embargo, que el uso de este tipo de técnicas en el diagnóstico directo está aprobado por la FDA sólo para muestras respiratorias, y debe realizarse siempre como complemento de la metodología convencional (baciloscopia y cultivo).

8.4 OTRAS INFECCIONES QUE PUEDEN DIAGNOSTICARSE EN EL EXAMEN DE ORINA

La orina, por su fácil disponibilidad y alta concentración de microorganismos y/o de fragmentos de los mismos, es una muestra adecuada para el diagnóstico de un gran número de infecciones sistémicas, tanto bacterianas como víricas o parasitarias. Clásicamente el tipo de metodologías para el estudio de estos patógenos era la microscopía y el cultivo, pero en la actualidad se están imponiendo técnicas rápidas como la detección de antígenos o la amplificación de ácidos nucleicos.

8.4.1 Leptospirosis. La leptospirosis se considera un problema de salud pública emergente; en los últimos años se han descrito varios brotes de cierta relevancia en relación con catástrofes naturales. Se trata de una zoonosis causada por espiroquetas pertenecientes a distintas especies patógenas del género *Leptospira*. La infección en humanos se produce tras el contacto con animales portadores o con aguas contaminadas con la orina de los mismos; la puerta de entrada es a través de pequeñas abrasiones o cortes en la piel o por vía conjuntival. La mayoría de las infecciones por leptospira son subclínicas o de sintomatología leve con buena evolución, pero en una pequeña proporción pueden complicarse, cursando con sintomatología variable según los órganos afectados. El desarrollo de la enfermedad es bifásico, con una fase septicémica que dura aproximadamente una semana y una segunda fase inmune, con producción de anticuerpos y excreción de las leptospiros por la orina, por lo que el diagnóstico de leptospirosis en la orina debe hacerse pasada la primera semana.

Las leptospiros pueden visualizarse en orina por microscopía en campo oscuro, pero esta técnica es poco sensible, ya que es necesaria una concentración de al menos 10^4 leptospiros por mililitro. El cultivo debe realizarse de forma inmediata, ya que la acidez de la orina daña al microorganismo. El procesamiento debe iniciarse con la neutralización del pH con bicarbonato sódico, centrifugación ($1.500xg$ durante 30 minutos) y resuspensión del sedimento en un mililitro de tampón PBS, inoculándose 1-2 gotas de esta suspensión en medios de cultivo adecuados como el EMJH (Ellinghausen-McCullough-Johnson-Harris) (Difco) o PMNL-5 (Intergen); se trata de medios semisólidos con ácido oleico, albúmina, agar al 0,1% y 200 $\mu g/mL$ de 5-flúor-uracilo. La incubación de estos medios en botellas selladas debe realizarse a 28-30°C y semanalmente deben examinarse por microscopía en campo oscuro y no descartarse hasta pasadas 13 semanas; el crecimiento se aprecia en forma de banda (anillo de Dinger), situada unos milímetros por debajo de la superficie del medio. En caso de contaminación por otras bacterias, puede subcultivarse la muestra tras su filtrado a través de membranas con poros de 0,2 o 0,45 μm . Los principales inconvenientes del cultivo son su lentitud y laboriosidad, y la principal ventaja es que se dispone del microorganismo para su identificación, lo

que no tiene gran relevancia para el manejo clínico del paciente, pero sí valor epidemiológico. Se han desarrollado varias técnicas de amplificación de ácidos nucleicos para la detección de leptospiras, tanto PCR convencionales como en tiempo real. En los pocos métodos en los que la evaluación clínica ha sido suficiente, se ha descrito una mayor sensibilidad con respecto al cultivo, frente al que presentan el inconveniente de no discriminar entre las serovariedades.

8.4.2 Esquistosomiasis. En las regiones tropicales la esquistosomiasis constituye la segunda causa de morbilidad y mortalidad después de la malaria. La esquistosomiasis urinaria es una enfermedad parasitaria endémica producida por *Schistosoma haematobium*, parásito ampliamente distribuido por el continente africano y Oriente Medio. En nuestro medio esta parasitosis no es frecuente, aunque el flujo migratorio actual ha hecho que en los últimos tiempos cada vez sea más frecuente el diagnóstico de este tipo de patología.

La infección en el hombre se adquiere por vía cutánea. En la evolución clínica de la bilharziasis urinaria se diferencian varias fases: la inicial con manifestaciones cutáneas locales; una segunda fase de invasión o toxémica (entre cuatro y ocho semanas tras la infección) que puede ser asintomática o producir el *síndrome de Katayama* (fiebre, urticaria, cefaleas, artralgias, dolor abdominal, hepatoesplenomegalia y eosinofilia). En un estadio más avanzado, meses o años tras la exposición al parásito, aparecen los síntomas genitourinarios (fundamentalmente hematuria) correspondientes a la eliminación de los huevos en la orina. Las secuelas más importantes son la uropatía bilharziana (consecuencia de la respuesta inflamatoria granulomatosa a los huevos del parásito); las lesiones que aparecen con más frecuencia en este período son la esclerosis de la pared vesical y ureteral, puede también afectarse el tracto genital. El carcinoma vesical es otra de las posibles complicaciones.

La visualización de huevos en la orina es el método más sensible y específico para el diagnóstico de esquistosomiasis activa. Debe realizarse en orina concentrada por centrifugación (2000xg durante 2 minutos) o bien filtrar la orina a través de una membrana con poros de 12-20 μm y observar el filtro, que se colocará entre un porta y un cubreobjetos.

8.5 INFECCIONES VIRICAS

La orina es una muestra importante en el diagnóstico de un gran número de infecciones víricas, útil tanto para el cultivo de virus (convencional o *shell vial*) como para el diagnóstico molecular. La orina debe obtenerse del mismo modo que para el cultivo bacteriano, pero para el estudio de los virus debe ser previamente tratada, ya que contiene sustancias que pueden inhibir la amplificación de los ácidos nucleicos y que, tanto su pH ácido como la posibilidad de contaminación bacteriana, pueden inhibir el crecimiento vírico. Para aumentar la

rentabilidad del cultivo es aconsejable neutralizar el pH con bicarbonato sódico y eliminar las bacterias filtrando la muestra a través de membranas con poros de 0,2 μm . Las técnicas de amplificación de ácidos nucleicos deben realizarse previa extracción de los mismos mediante las técnicas habituales.

8.5.1 Adenovirus. Los adenovirus tradicionalmente se han relacionado con infecciones urinarias, respiratorias, oculares o gastrointestinales en la infancia. En los últimos años se han identificado como patógenos causantes de una alta morbilidad y mortalidad en pacientes inmunodeprimidos, especialmente en trasplantados y pacientes con SIDA; las manifestaciones clínicas de la infección por adenovirus en este grupo de pacientes son variadas; incluyen neumonía, hepatitis, colitis, pancreatitis, meningoencefalitis, cistitis hemorrágica y enfermedad diseminada. En estos dos últimos cuadros clínicos la orina es una muestra adecuada para el diagnóstico. El cultivo sigue siendo técnica de referencia, pero presenta el gran inconveniente de su lentitud en pacientes tan problemáticos. Las técnicas de amplificación del genoma vírico, por su rapidez, son muy útiles en el contexto de estos pacientes. Se han descrito técnicas de PCR tanto convencional como en tiempo real; su principal reto es la necesidad de seleccionar, para su amplificación, fragmentos comunes a distintos subtipos ya que se han descrito siete especies de adenovirus humanos, que incluyen 52 serotipos, y que presentan distintos tropismos; en el caso de la cistitis hemorrágica se han identificado adenovirus de la especie B y serotipos 7, 11, 34 y 35.

8.5.2 Citomegalovirus. El citomegalovirus (CMV) es la causa más frecuente de infección congénita en los países desarrollados y aparece entre un 0,3 y un 0,6% de los recién nacidos en Europa. El diagnóstico de la infección congénita en el recién nacido debe realizarse mediante el cultivo del virus en *shell vial* o mediante la identificación del genoma vírico por PCR en una muestra de orina recogida en las 2 primeras semanas de vida. El otro gran problema causado por CMV es la infección en pacientes inmunodeprimidos; en este contexto la detección del virus en la orina presenta un valor más limitado, ya que no siempre existe correlación con la viremia; el desarrollo de técnicas de PCR cuantitativas ha abierto mejores perspectivas en la utilidad del estudio de la orina en estos pacientes.

8.5.3 Poliomavirus. Los poliomavirus humanos (BK y JC) son endémicos, están presentes en una gran proporción de individuos sanos en todo el mundo. Normalmente la primoinfección tiene lugar en la infancia; los virus permanecen latentes en el tejido renal y pueden también detectarse en los linfocitos B. La enfermedad por estos virus se relaciona con situaciones de inmunosupresión celular grave como los trasplantes, el SIDA o las leucemias. El virus JC es el agente causal de la leucoencefalopatía multifocal progresiva, que se ha descrito fundamentalmente en pacientes con SIDA. El virus BK se relaciona con patología del tracto urinario en pacientes inmunodeprimidos tras trasplante renal. La

orina es una muestra adecuada para el estudio de ambos virus; tradicionalmente se realizó mediante cultivo celular, pero en la actualidad se aconseja utilizar la amplificación de ácidos nucleicos por PCR, dada la rapidez en el tiempo de respuesta, especialmente valorada en el manejo de las infecciones en inmunodeprimidos. Se han descrito numerosas técnicas de PCR, convencional y en tiempo real, con resultados en orina de hasta el 100% de sensibilidad para ambos virus y especificidades hasta del 97% en el JC y 89% para el BK.

8.6 UTILIDAD DE LA ORINA EN EL DIAGNÓSTICO DE LAS NEUMONÍAS: DETECCIÓN DE ANTÍGENO DE *Streptococcus pneumoniae* y *Legionella pneumophila*.

La orina es útil para el estudio de antígenos bacterianos debido a su elevada concentración en esta localización y a la falta de interferencias por otros anticuerpos. El método más utilizado, tanto en el diagnóstico de *S. pneumoniae* como *L. pneumophila*, es una inmunocromatografía en membrana (Binax®).

En *S. pneumoniae* el antígeno detectado es el polisacárido C, presente en la pared celular de todos los serotipos de neumococo. Esta prueba está indicada como complemento de las técnicas diagnósticas habituales para pacientes adultos, especialmente en aquellos que ya hayan recibido tratamiento antibiótico. En adultos con enfermedad neumocócica confirmada se han descrito valores de sensibilidad del 50- 80% y especificidad del 90-94%; los falsos positivos pueden deberse a que no discrimina portadores de infectados, a las reacciones cruzadas con algunos estreptococos α -hemolíticos o a la persistencia de la positividad semanas más tarde de la curación. En niños, con una alta tasa de portadores no infectados, la especificidad es más baja; para este grupo de edad se ha desarrollado un ELISA que detecta pneumolisina en orina y que, con respecto a la detección del polisacárido C es menos sensible, pero mejora los valores de especificidad.

La presencia de antígenos de *L. pneumophila* en orina puede detectarse desde el inicio de la enfermedad y persiste durante días e incluso semanas. La prueba de inmunocromatografía en membrana detecta únicamente *L. pneumophila* serogrupo 1, responsable de más del 90% de las legionelosis en nuestro entorno. La sensibilidad de la prueba varía entre el 56% en orina no tratada y el 96% en orina concentrada; en ambos casos la especificidad es alta, con valores superiores al 95%.

9. BIBLIOGRAFÍA

- 1.- Andreu A, Planells I, y Grupo Cooperativo Español para el estudio de la sensibilidad antimicrobiana de los patógenos urinarios. Etiología de la infección urinaria baja adquirida en la comunidad y resistencia de *Escherichia coli* a los antimicrobianos de primera línea. Estudio nacional multicéntrico. Med Clin (Barc) 2008; 130: 481-6.
- 2.- Armadans LI. Localización de las infecciones. Prevalencia de las infecciones en los hospitales españoles.

Estudio EPINE. Resultados de los estudios de 2004, 2005, 2006 y 2007 y evolución 1990-2007: 18 años. Medicina Preventiva 2008; XIV: 22 – 26.

- 3.- Cantón R, Alós JI, Baquero F, Calvo J, Campos J, Castillo J, Cercenado E, Domínguez MA, Liñares J, López-Cerezo L, Marco F, Mirelis B, Morosini MI, Navarro F, Oliver A, Pérez-Trallero E, Torres C, Martínez-Martínez L; Grupo de Consenso de Recomendaciones para Selección de Antimicrobianos y Concentraciones en Estudio de Sensibilidad in vitro con Sistemas Automáticos y Semiautomáticos. Enferm Infecc Microbiol Clin. 2007; 25:394-400.

- 4.- Clarridge J.E., J. R. Johnson, and M. T. Pezzlo. 1987. Cumitech 2B, Laboratory Diagnosis of Urinary Tract Infections. Coordinating ed., A. L. Weissfeld. American Society for Microbiology, Washington, D.C.

- 5.- Dalet F, Broseta E, De Cueto M, Santos M, De la Rosa M. La infección urinaria. Procedimientos en Microbiología Clínica 14. Recomendaciones de la Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica. 2003.

- 6.- Echevarría M. Adenoviruses in immunocompromised hosts. Clin Microbiol Rev. 2008; 21: 704-15.

- 7.- Health Protection Agency (2009). Investigation of urine. National Standard Method BSOP 41 Issue 7. http://www.hpa.org.uk/srmd/div_esl_su/pdf_bacteriology.htm.

- 8.- Isenberg H.D., ed. Clinical Microbiology Procedures Handbook. 2nd ed. 2004. American Society for Microbiology, Washington, DC.

- 9.- Isenberg H.D. 2003. Urine Cultures, in Clinical Microbiology Procedures Handbook, 2nd ed. Vol.1 ASM Press, Washington, D.C.

- 10.- Lifshitz E, Kramer L. Outpatient urine culture: does collection technique matter? Arch Intern Med 2000; 160:2537-2540.

- 11.- Lipsky BA, Ireton RC, Fihn SD, Hackett R, Berger RE. Diagnosis of bacteriuria in men: specimen collection and culture interpretation. J Infect Dis 1987; 155:223-227.

- 12.- Molinos L. Detection of antigens in urine. Arch Bronchoneumol 2006; 42:101-103.

- 13.- Pappas PG. Laboratory in the diagnosis and management of urinary tract infections. Med Clin N Amer 1991; 75: 313-325.

- 14.- Pigrau C, Andreu A. Infecciones Urinarias. En: Ausina V, Moreno S, editors. Tratado SEIMC de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica. 1 ed. Madrid: Editorial Medica Panamericana. 2006. pp. 1229-1240.

- 15.- Pigrau C, Horcajada JC, Cartón JA, Pujol M. Infección urinaria. Protocolos Clínicos IV. Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica. 2005.

- 16.- Rollinson D. A wake up call for urinary schistosomiasis: reconciling research effort with public health importance. Parasitology 2009; 136:1593-610.

- 17.- Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica. Infección del tracto urinario en la comunidad. Enferm Infecc Microbiol Clin 2005; 23 (supl. 4): 1-66.

- 18.- Thomson RB. Specimen Collection, transport, and processing: Bacteriology. En: Murray PR, Baron EJ, Jorgensen JH, Landry ML, and Pfaller MA, Eds. Manual of Clinical Microbiology. 9th ed. 2007. American Society for Microbiology. Washington, DC.

- 19.- Wilson ML, Gaido L. Laboratory diagnosis of urinary tract infections in adult patients. Clin Infect Dis. 2004; 38: 1150-1158.

- 20.- Wise GJ. Urinary tuberculosis: modern issues. Curr Urol Rep 2009; 10:313-318.

- 21.- Zorc JJ, Kiddoo DA, Shaw KN. Diagnosis and management of pediatric urinary tract infections. Clin Microbiol Rev. 2005; 18:417-22.

Servicio de Microbiología Hospital.....	Procesamiento microbiológico de la orina	PNT-UR-01	
		Edición N° 01	Página 2 de 5

1. PROPÓSITO Y ALCANCE

Definir los métodos utilizados para realizar el diagnóstico microbiológico de la infección urinaria. Este procedimiento es aplicable a todos los laboratorios de microbiología clínica que realicen diagnóstico microbiológico de la infección urinaria.

2. FUNDAMENTO

El estudio microbiológico de la infección del tracto urinario envuelve un sistema relativamente complejo, muy condicionado por el número de muestras que recibe cada laboratorio y por el tipo de pacientes que atiende. Este PNT se ha elaborado pensando en un laboratorio que reciba diariamente un elevado número de orinas, en el cual es imposible el cultivo de cada una de ellas y se impone un cribado para discriminar por métodos automatizados las muestras con bacteriuria no significativa, y por tanto consideradas como cultivo negativo, de aquellas positivas a las que debe practicarse posteriormente cultivo convencional.

En estos casos, el procesamiento microbiológico de la orina tiene dos objetivos: (i) detectar rápidamente las muestras negativas, lo que permite una gestión del tiempo de respuesta eficiente y (ii) suministrar información adecuada de las muestras positivas que incidan en el tratamiento del paciente.

El procesamiento microbiológico de la orina tiene que asentarse sobre dos pilares esenciales: la presencia de leucocitos y la presencia de bacteriuria. Por tanto, debe basarse en el examen de los elementos formes de la orina (microscopía o un método alternativo de medida de los componentes celulares) y el cultivo cuantitativo (y/o el empleo de sistemas alternativos que discriminen entre bacteriuria significativa y no significativa). Muchos de los sistemas actuales incluyen estos dos parámetros en conjunto. En estos sistemas la forma de documentar microbiológicamente la infección urinaria admite diferentes enfoques en función del tipo de muestra y la patología subyacente del paciente, por lo que se establecen puntos de corte de los recuentos bacterianos y de la piuria, con el propósito de diferenciar los cultivos significativos de aquellos considerados como negativos o contaminados.

El estudio microbiológico de la orina se realiza cuando existe sospecha de alguno de los siguientes síndromes: cistitis, pielonefritis, bacteriuria asintomática y menos frecuentemente en prostatitis aguda, absceso renal o sepsis de posible origen urológico. Los microorganismos más frecuentemente implicados en la infección urinaria no complicada son *Escherichia coli*, *Klebsiella* spp, otras enterobacterias y *Staphylococcus saprophyticus*. En infección urinaria complicada *Escherichia coli*, *Klebsiella* spp, *Proteus* spp y otras enterobacterias, *Pseudomonas aeruginosa* y *Enterococcus* spp.

3. DOCUMENTOS DE CONSULTA

- Sánchez C (Coordinador), Guerrero C, Sánchez C. Recogida, transporte y procesamiento general de las muestras. Procedimientos en Microbiología nº 1 a, 2ª edición. SEIMC. 2003. Disponible en:
<http://www.seimc.org/documentos/protocolos/microbiologia>

4. MUESTRAS

Las muestras para el cultivo de orina se pueden dividir en categorías en base a criterios clínicos y a la posibilidad de contaminación uretral.

- Muestras obtenidas por micción espontánea.
- Por sondaje vesical
- Por punción de sonda permanente
- En bolsas adhesivas infantiles
- Por punción suprapúbica
- Etc,

En el apartado 3 del documento científico de este procedimiento y en el procedimiento SEIMC 1a., Recogida, transporte y procesamiento general de muestras en el laboratorio de microbiología (2003) (PNT-RTP-01), se indican las directrices principales de la recogida y conservación de las muestras.

5. REACTIVOS Y PRODUCTOS

Para cada una de las técnicas descritas se indican en el apartado correspondiente a procesamiento en este PNT.

6. APARATOS Y MATERIALES

Para cada una de las técnicas descritas se indican en el apartado correspondiente a procesamiento en este PNT.

7. PROCESAMIENTO

7.1 MÉTODOS DE CRIBADO

7.1.2 Material. Existen diversos sistemas automáticos adecuados para este fin pero en la actualidad se pueden agrupar en dos tipos de tecnologías: citómetros de flujo y sistemas basados en la detección de ATP. En este PNT se considera el uso de un citómetro de flujo Sysmex UF-1000i.

Estos sistemas automáticos deben estar conectados de forma bidireccional con el sistema informático del laboratorio (SIL), de tal manera que importen del SIL datos del enfermo que permitan establecer distintos puntos de corte en función del tipo de muestra o de la patología del enfermo y que exporten al SIL los resultados que producen.

7.1.3. Selección del punto de corte de concentración bacteriana. Introducir en el sistema el punto de corte para recuento bacteriano y leucocitario capaz de discriminar entre orinas que van a ser consideradas negativas de aquellas que posteriormente van a ser destinadas a cultivo convencional:

-Generalmente 125 bacterias/ μ L se correlaciona adecuadamente con recuentos de 10^8 ufc/L (10^5 ufc/mL) en placa y 50 bacterias/ μ L se relaciona con recuentos del orden de 10^7 ufc/L (10^4 ufc/mL). Cada laboratorio, para discriminar la bacteriuria y dependiendo de sus criterios, deberá establecer los puntos de corte en función de estas cifras

-Adicionalmente se introduce un punto de corte de 40 leucocitos/ μ L que permite discriminar orinas con componente inflamatorio con independencia de su recuento bacteriano. Este dato deberá valorarse conjuntamente con el resultado del cultivo convencional.

Servicio de Microbiología Hospital.....	Procesamiento microbiológico de la orina	PNT-UR-01	
		Edición Nº 01	Página 3 de 5

7.1.4 Manejo de la muestra

- Agitar convenientemente los tubos de orina antes de introducirlos en el muestreador, este aspecto es crítico.
- Tener en cuenta el volumen de orina puesto a disposición del citómetro, ya que este aspira 0,8 mL en modo manual y 1,2 mL en modo automático.

7.1.5 Interpretación

- Recuentos por debajo de 50 ó 125 bacterias/ μ L y/o 40 leucocitos/ μ L, según el tipo de paciente estudiado y muestra, deberían ser considerados como no valorables y por tanto no se debe realizar cultivo.
- Recuentos por encima de 50 ó 125 bacterias/ μ L y/o 40 leucocitos/ μ L, indican posible positividad o contaminación y deberían ser valoradas mediante cultivo convencional.
- Adicionalmente y en pacientes individuales pueden estudiarse los diagramas de dispersión suministrados por el citómetro para valorar la presencia de levaduras en el canal de células y el tipo de bacteria (Gram positiva o negativa) en el canal de bacterias pudiéndose suministrar información preliminar al clínico.

7.1.6 Comentarios. Los recuentos bacterianos suministrados son lineales y valorables desde el rango de 10^2 - 10^3 bacterias/mL. Por tanto las muestras de orina obtenidas por punción suprapúbica no deberían ser estudiadas por este método.

7.2 CULTIVO SEMICUANTITATIVO

7.2.1 Introducción. El cultivo de orina sigue siendo la técnica imprescindible y de elección para el diagnóstico de la infección del tracto urinario, no solo porque ayuda a documentar la infección sino porque es necesario para identificar el microorganismo infectante (aspecto importante en los episodios recurrentes y en el conocimiento de la epidemiología de la infección) y su sensibilidad antibiótica (aspecto importante para la selección del tratamiento y para la realización de guías de terapia empírica a partir de datos acumulados).

7.2.2 Material. Placas de medios de cultivo:

- agar sangre de carnero
- agar MacConkey
- agar CLED
- agar cromogénico

Asas de cultivo estériles de 0,01 y/o 0,001 mL
Incubadora de aire 35-37°C

7.2.3 Método

- La orina debe ser inoculada en placas para obtener un recuento semicuantitativo, para ello debe ser bien homogeneizada (mover con suavidad para evitar la formación de espuma).
- La técnica de diseminación usada para la inoculación de las placas para recuentos semicuantitativos, emplea asas de plástico o asas metálicas no ferrosas (níquel-cromo o platino) calibradas para contener 0,01 ó 0,001 mL de orina. Para la obtención del volumen adecuado de orina es importante introducir el asa inmediatamente por debajo de la superficie líquida del envase que contiene la orina y moverla verticalmente.
- Una vez tomada la muestra se lleva en todo su volumen a la superficie del agar haciendo una estría a través del centro. El inóculo se disemina en ángulos rectos

respecto a la estría primaria; luego la placa se gira 90° y se disemina el inóculo hasta cubrir toda la superficie. Alternativamente se puede realizar una estría en el centro de la placa y posterior diseminación perpendicular a ésta

-Los cultivos deben ser incubados a 35-37°C en atmósfera aeróbica antes de ser interpretados.

-La mayoría de bacterias causantes de infección urinaria pueden ser puestas en evidencia por el cultivo en 18-24 horas, en este contexto no tiene sentido prolongar la incubación más allá de las 24 horas. En casos muy determinados, como bacterias exigentes, deficientes o cultivo negativo o cuando se documenta la presencia de bacterias en la tinción de Gram, podría ser necesario extender el periodo de incubación a las 48 horas.

7.2.4 Lectura de los cultivos. Las placas deben ser examinadas para su valoración después del tiempo adecuado de incubación.

-*Cultivos sin crecimiento:* Si las placas no presentaran crecimiento después 24 horas, considerar el cultivo como negativo, excepto en orinas obtenidas por punción suprapúbica o cuando se haya especificado cultivo de hongos o aparezcan colonias muy pequeñas, en los que se deberá extender la reincubación a 24 horas adicionales.

-*Cultivos con crecimiento:* Es importante discriminar entre especies con capacidad uropatógena (*Enterobacteriaceae*, *Pseudomonas aeruginosa* y otros bacilos Gram negativos, *Enterococcus* spp, estreptococos beta hemolíticos, levaduras, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus saprophyticus*. etc.) de aquellas especies que generalmente representan microbiota urogenital o cutánea (*Lactobacillus* spp, difteroides distintos de *C. urealyticum*, *Streptococcus* del grupo *viridans* distintos de *A. urinae* y *Bacillus* spp) que no se considerarán valorables.

Valorar los posibles tipos bacterianos presentes y realizar el recuento de colonias para cada una de las posibles especies, para ello multiplicar el número de colonias por el factor de dilución empleado.

7.2.5 Valoración de los cultivos. Los criterios clásicos de interpretación descritos por Kass en los que se consideran significativos recuentos de $\geq 10^5$ ufc/mL se pueden aplicar a la mayoría de las muestras en las que se solicita el cultivo. Sin embargo, en determinadas circunstancias se admite la existencia de IU con recuentos muy inferiores como son:

- En orinas obtenidas por punción suprapúbica o que proceden del riñón, cualquier recuento es indicativo de infección.
- En mujeres jóvenes con síndrome miccional y leucocituria, se considera significativo el hallazgo de $\geq 10^2$ ufc/mL.
- En varones en los que la obtención de orina es menos susceptible de contaminarse, son significativos recuentos de $\geq 10^3$ ufc/mL.
- En orinas obtenidas por sondaje vesical, se consideran significativos recuentos $\geq 10^3$ ufc/mL de cualquier microorganismo en cultivo puro.

Servicio de Microbiología Hospital.....	Procesamiento microbiológico de la orina	PNT-UR-01	
		Edición Nº 01	Página 4 de 5

En situaciones diferentes a las anteriormente descritas, un recuento $\leq 10^4$ ufc/mL se considera como no significativo. Recuentos bajos ($\leq 10^4$ ufc/mL) de microorganismos normalmente encontrados en la piel o genitales externos o internos se consideran contaminantes.

Los cultivos de crecimiento mixto en pacientes con IU no complicada adquirida en la comunidad, probablemente indican contaminación con microbiota fecal y se pueden informar como "Flora mixta; posible contaminación. Sugerimos una recogida apropiada de la orina, con una entrega a tiempo al laboratorio, si existe una indicación clínica". Sin embargo, estos cultivos mixtos en pacientes sondados, hospitalizados o con edad superior a 65 años deben ser valorados con cautela y en algunas ocasiones requieren contactar con el clínico para realizar una correcta interpretación.

7.3 MICROSCOPIA POR TINCION DE GRAM

La tinción de Gram es uno de los métodos más rápidos, confiables y económicos para valorar la bacteriuria a nivel de 10^5 ufc/mL. Se acepta que la presencia de uno o más microorganismos por campo visualizados con objetivo de inmersión tiene una sensibilidad del 85-95% cuando se correlaciona con un recuento de colonias de 10^5 ufc/mL. La tinción de Gram también permite evaluar la presencia de leucocitos. Una de sus mayores ventajas es que además suministra información sobre la naturaleza del agente etiológico.

7.3.1 Material

- Pipetas estériles capaces de dispensar entre 10 y 25 μ L
- Portaobjetos de vidrio con pocillos delimitados.
- Equipo para tinción de Gram.

7.3.2 Método

- Homogenizar la orina con suavidad para evitar la formación de espuma.
- Depositara 20 μ L de orina en el portaobjetos mediante pipeta estéril.
- Dejar secar y fijar con metanol.
- Teñir por el método de Gram.
- Observar al microscopio con objetivo de inmersión (x100) al menos 20 campos.

7.3.3 Interpretación. La observación de al menos 1 bacteria en el total de campos se considera un resultado positivo.

7.3.4 Informe de resultados. Si la visualización es negativa, informar como: "No se observan microorganismos".

Si se visualizan bacterias informar: "Presencia de bacilos o cocos Gram positivos o negativos".

7.3.5 Comentarios. La tinción de Gram de orina no es un método bien estandarizado y por tanto esta sujeto a variabilidad técnica. La tinción de Gram tiene una sensibilidad baja para detectar bacteriurias por debajo de 10^5 UFC/mL y por tanto sólo debería emplearse en pacientes sintomáticos donde cabría esperar recuentos bacterianos altos, principalmente en pielonefritis y en lactantes menores de tres meses con orina recogida por sondaje intermitente. Otra indicación sería como técnica urgente en caso de shock séptico, ya que permite

evaluar la presencia de bacilos o cocos gram positivos o gramnegativos y por tanto dirigir la antibioticoterapia empírica.

La tinción de Gram presenta el inconveniente de consumir mucho tiempo.

8. OBTENCIÓN, INTERPRETACIÓN Y EXPRESIÓN DE LOS RESULTADOS.

- Cuando el sistema automatizado de cribado da recuentos inferiores a los establecidos, informar del resultado de los mismos y añadir que no procede el cultivo convencional en términos similares a "Ausencia de bacteriuria significativa". o "Cultivo no indicado. Si los síntomas persisten o recurren, remitir nueva muestra indicando la necesidad del cultivo".

- Cuando el sistema automatizado de cribado da recuentos iguales o superiores a los establecidos, no informar hasta obtener el resultado del cultivo semicuantitativo convencional. Opcionalmente, se puede informar de forma preliminar del recuento bacteriano del presunto microorganismo presente en base a los diagramas de dispersión suministrados por el equipo. Cuando se tenga el resultado del cultivo convencional (preliminar o definitivo) se informará del número de leucocitos PMN y de hematíes por mL o por litro (y del rango de normalidad de los mismos) y de la presencia de células epiteliales (opcionalmente se puede informar de otros elementos como bacterias, levaduras, etc., aunque esta información puede causar confusión con los resultados del cultivo), así como de los resultados del cultivo:

- *No crecimiento o crecimiento no significativo:* Informar como: "Cultivo negativo" o "Crecimiento no significativo"
- *Crecimiento con recuentos significativos:* Informar como: recuento de ufc/mL, nombre del microorganismo(s) y sensibilidad antibiótica.

9. RESPONSABILIDADES

Deben estar descritas en el manual general de organización del Laboratorio de Microbiología y en las fichas de descripción de los puestos de trabajo.

El procedimiento deberá llevarse a cabo por personal técnico cualificado con un entrenamiento específico. La supervisión de las técnicas y de los resultados emitidos deberá realizarla el Facultativo Especialista Responsable de la Unidad del Laboratorio de Microbiología que los emite.

10. ANOTACIONES AL PROCEDIMIENTO

Todo el personal del laboratorio de microbiología deberá conocer las normas generales de seguridad e higiene. Estas recomendaciones deberán estar recogidas en un documento establecido por el Laboratorio de Microbiología.

11. LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

Los sistemas automáticos para la detección de bacteriuria tienen una sensibilidad, especificidad, valor predictivo positivo y negativo que puede variar con el sistema y punto de corte empleado, este

Servicio de Microbiología Hospital.....	Procesamiento microbiológico de la orina	PNT-UR-01	
		Edición N° 01	Página 5 de 5

aspecto debe ser conocido y valorado por el microbiólogo.

No existe un consenso específico de valoración de los recuentos bacterianos en la orina, por tanto los resultados deberían ser considerados dentro del contexto clínico del paciente.

12. BIBLIOGRAFÍA

1. Isenberg H.D., ed. Clinical Microbiology Procedures Handbook. 2nd ed. 2004. American Society for Microbiology, Washington, DC.
2. Murray P.R., E.J. Baron, J.H. Joergensen, M.A. Pfaller, and R.H. Tenenbaum, ed. Manual of Clinical Microbiology. 8th ed. 2003. American Society for Microbiology. Washington, DC.

Servicio de Microbiología Hospital.....	Estudio de sensibilidad en los aislamientos de origen urinario	PNT-UR-02	
		Edición N° 01	Página 2 de 7

1. PROPÓSITO Y ALCANCE

Definir los métodos utilizados para realizar el estudio de sensibilidad en los aislamientos de origen urinario.

Este procedimiento es aplicable a todos los laboratorios de microbiología clínica que realicen diagnóstico microbiológico de la infección urinaria.

2. FUNDAMENTO

El estudio de la sensibilidad de los microorganismos a los antimicrobianos (antibiograma), tiene como objetivo evaluar la actividad *in vitro* de un antibiótico frente a un microorganismo determinado. La información que se genera en un antibiograma se traduce en categorías clínicas:

•Sensible: implica que una infección causada por esta cepa puede ser tratada apropiadamente con la dosis de antibiótico recomendada para esta especie y tipo de infección.

•Intermedio: incluye los aislamientos con unos valores de Concentración Inhibitoria Mínima (CIM o CMI) cercanos a los niveles del antibiótico en sangre o en tejidos y para los que la respuesta podría ser menor que la de las cepas sensibles. Esta categoría implica eficacia clínica en los lugares donde el antibiótico se concentra (orina y antibióticos β -lactámicos) o cuando se puede aumentar la dosis de antibiótico (β -lactámico). También se incluye en esta categoría una zona "tampón" para evitar los pequeños factores técnicos que puedan causar discrepancias en la interpretación.

•Resistente: incluye las cepas que no son inhibidas por las concentraciones de antibióticos que se pueden alcanzar en sangre después de una dosis normal, o bien cuando una cepa posee un mecanismo de resistencia específico.

Las pruebas de sensibilidad pueden ser cualitativas o cuantitativas. La cuantificación de la actividad *in vitro* de los antimicrobianos se realiza mediante la determinación del crecimiento del microorganismo en presencia de concentraciones crecientes del antimicrobiano, que se encuentra diluido en un medio de cultivo que puede ser sólido o líquido; una variante del sistema clásico de dilución en medio líquido es la técnica de microdilución, que se realiza en placas de microtitulación con pocillos de fondo en U. En estas pruebas se determina el valor de la concentración mínima del antimicrobiano que inhibe el crecimiento del microorganismo (CIM).

El antibiograma disco-placa es una técnica cualitativa que consiste en depositar, en la superficie de agar de una placa de Petri previamente inoculada con el microorganismo a estudiar, discos o pastillas impregnados con diferentes antibióticos, que difunden al agar al ponerse en contacto con su superficie húmeda; esta difusión del antibiótico es radial, formándose un gradiente de concentración a partir del disco. Transcurridas 18-24 horas de incubación los discos aparecen rodeados por una zona de inhibición cuyo tamaño se relaciona (inversamente) con la CIM.

En el presente documento se recogen los métodos básicos más utilizados para el estudio de la sensibilidad en los uropatógenos (técnicas de difusión

y microdilución), así como los criterios para su interpretación y control.

3. DOCUMENTOS DE CONSULTA

- Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). 2010. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing: twentieth informational supplement. M100-S20. Vol. 30; n° 1. (Se utilizará el documento vigente correspondiente).

4. MUESTRAS

Tipos

Cepas de enterobacterias, bacilos gram-negativos no fermentadores, estafilococos, estreptococos, enterococos, y bacilos gram-positivos aislados en muestras urinarias.

Para la realización del antibiograma la cepa debe proceder, preferentemente, de un cultivo puro de no más de 18-24 horas de incubación; en el caso de que procedan de cultivos mixtos se rechazarán aquellas en las que no se pueda garantizar que las colonias se vayan a recoger de forma aislada, para evitar que el antibiograma se contamine.

Volumen mínimo

La cantidad mínima de cepa necesaria para poder realizar una suspensión bacteriana con una turbidez adecuada según el estándar MacFarland.

5. REACTIVOS Y PRODUCTOS

Para cada una de las técnicas descritas se indican en el apartado correspondiente a procesamiento en este PNT.

6. APARATOS Y MATERIALES

Para cada una de las técnicas descritas se indican en el apartado correspondiente a procesamiento en este PNT.

7. PROCESAMIENTO

7.1. TÉCNICAS DE DIFUSIÓN

7.1.1. Material necesario

- Estufa de 37°C aerobia
- Estufa de 37°C de CO₂
- Nevera
- Tubos con suero fisiológico (0,85 g de NaCl en 100 ml de agua destilada estéril)
- Asas estériles
- Escobillones estériles
- Pipetas Pasteur estériles
- Medios de cultivo. Generalmente se utilizan medios con base de agar Mueller-Hinton; en la Tabla 1 se describen los medios adecuados según el tipo de microorganismo a estudiar. Deben almacenarse a 2-8°C.
- Discos o pastillas de antibióticos. Deben conservarse en condiciones adecuadas para evitar su deterioro, que se produce fundamentalmente por exceso de humedad o fluctuaciones frecuentes de temperatura. La temperatura de conservación depende del soporte del antibiótico (discos de papel o pastillas) y del propio antimicrobiano.

Servicio de Microbiología Hospital.....	Estudio de sensibilidad en los aislamientos de origen urinario	PNT-UR-02	
		Edición N° 01	Página 3 de 7

Consultar las condiciones aconsejadas en cada caso por la empresa suministradora.

- Dispensador de antibióticos / pinzas.

7.1.2. Procedimiento operativo

- **Preparación del inóculo bacteriano:** Realizar una suspensión del microorganismo en un tubo con suero salino fisiológico (ssf), hasta conseguir una turbidez correspondiente al estándar MacFarland deseado (Tabla 1).
- **Siembra:** Introducir un escobillón dentro de la suspensión y al retirarlo rotar varias veces contra la pared del tubo, con la finalidad de eliminar el exceso de inóculo. Inocular completamente las placas de Mueller-Hinton, para ello debe deslizarse el escobillón por la superficie del agar tres veces, en tres direcciones distintas, y por último pasarlo por la periferia del agar, para conseguir una siembra uniforme.
- La siembra de las placas puede también realizarse por inundación: se vierte el contenido de la suspensión bacteriana sobre la placa, extendiéndolo por toda la superficie de la misma; se elimina el exceso de líquido inclinando las placas y recogiendo con una pipeta Pasteur.
- Antes de la siembra es necesario eliminar el agua de condensación de las placas de cultivo, para lo que puede ser necesario su secado en estufa (a temperatura no superior a 45°C un tiempo máximo de 15 minutos).
- Dejar secar la superficie inoculada durante 10 minutos.
- Depositar los discos con dispensador semiautomático o pinzas. El número recomendable de discos por placa depende de su medida. La selección de los antibióticos a estudiar depende fundamentalmente del tipo de microorganismo (Tabla 2). En el antibiograma inicial la elección de los antibióticos que deben incluirse está en función de la política antibiótica del centro y de sus tasas de resistencia; en cualquier caso es necesario estudiar en cada familia antibiótica el número suficiente de compuestos que permita detectar los principales mecanismos de resistencia. En los β -lactámicos es conveniente colocar los discos en posiciones que permitan evidenciar interacciones entre antibióticos: cefalosporinas de tercera generación contiguas a amoxicilina-clavulánico (para la detección de beta-lactamasas de espectro extendido –BLEE-), y a imipenem o cefoxitina (para la detección de enzimas cromosómicas inducibles en gramnegativos).
- Dejar la placa 10-20 minutos a temperatura ambiente para permitir la difusión del antibiótico.
- Incubar en estufa a 35-37°C durante 18-24 horas. Las atmósferas de incubación se detallan en la Tabla 1.
- **Lectura de los resultados:** La lectura de los halos de inhibición se realiza con la ayuda de un pie de rey o una regla. Pueden también utilizarse sistemas automatizados de lectura.

7.1.3. Controles de calidad

Cada lote nuevo de placas debe estudiarse con cepas patrón de sensibilidad conocida. El CLSI recomienda utilizar las cepas *E. coli* ATCC 25922 y *S. aureus* ATCC 25923 en el caso del agar Mueller-Hinton y *S. pneumoniae* ATCC 49619 para las placas de Mueller-Hinton con sangre. Los resultados deben comprobarse con los valores admitidos por el CLSI.

Las cepas se pueden mantener durante 2-4 semanas a 4-8°C en tubos con agar de soja tripticasa; para almacenamiento a largo plazo se deben mantener liofilizadas o congeladas.

7.1.4. Limitaciones del procedimiento

Existen diversos factores que pueden influir en el antibiograma por la técnica de difusión y dar lugar a un resultado erróneo:

- Inóculo incorrecto
- Problemas en el medio de cultivo: espesor del agar, alteraciones en su pH o su contenido en timidina e iones como calcio o magnesio.
- Deterioro del antibiótico por problemas de fabricación o de conservación.

7.1.5. Pruebas especiales

Sinergia en doble disco (SDD). Esta prueba se realiza cuando el patrón de resistencia de la cepa (enterobacteria u otro bacilo gramnegativo) es compatible con la presencia de una β -lactamasa de espectro extendido (BLEE). Para la preparación del inóculo y siembra de la placa se sigue el procedimiento indicado en la técnica simple de difusión (Apartado 7.1.2.); es conveniente utilizar un inóculo más denso para poder detectar cepas con baja expresión de la resistencia. Se coloca un disco de amoxicilina-ácido clavulánico en el centro de la placa y a 1 ó 2 cm del centro de este disco (2 cuando la cepa sea sensible a este antibiótico y 1 cuando sea intermedia o resistente), se colocan los discos de cefotaxima, ceftazidima, cefepima y aztreonam. Se incuban a 35-37°C durante 18-24 horas en atmósfera aerobia. La prueba se considera positiva cuando se observa ampliación del halo de inhibición en cualquiera de estos antibióticos.

Variantes de la SDD:

Sinergia entre imipenem y EDTA: esta prueba se realiza en cepas presumiblemente productoras de una metalo- β -lactamasa. Se coloca un disco de imipenem con carga de 10 μ g y, a una distancia de 10 mm entre los bordes, un disco sin antibiótico sobre el que se aplican 10 μ l de una solución de EDTA 0,5 M.

Sinergia entre cefalosporinas de 3ª generación y cloxacilina: se realiza en cepas presumiblemente productoras de enzimas AmpC. Se coloca un disco con cloxacilina en el centro de la placa y a 2-2,5 cm del mismo, discos de ceftazidima y cefotaxima.

En ambos casos la preparación del inóculo, siembra de la placa, incubación y lectura del resultado se realizan del mismo modo que en la SDD convencional.

Estudio comparativo de los halos de inhibición. Se trata de ensayos con la misma base teórica y utilidad de las SDD. Se realiza un estudio de difusión siguiendo el procedimiento habitual en términos de preparación de inóculo, siembra y condiciones de incubación (Apartado

Servicio de Microbiología Hospital.....	Estudio de sensibilidad en los aislamientos de origen urinario	PNT-UR-02	
		Edición N° 01	Página 4 de 7

7.1.2). Se utilizan discos de antibióticos sin y con inhibidores y se realiza una lectura comparativa de sus halos de inhibición, considerándose positiva cuando el halo es 5 mm superior en los discos con inhibidor. Para las cepas presumiblemente productoras de BLEE los discos utilizados son cefotaxima, ceftazidima y cefepima, sin y con ácido clavulánico. En el caso de las enzimas AmpC la combinación en los discos es con ácido borónico y para la detección de las metalo-betalactamasas se comparan los halos de imipenem e imipenem con EDTA. En todos los casos debe considerarse positivo un aumento del halo de 5 mm para cualquiera de los antimicrobianos en presencia del inhibidor.

Prueba de Hodge modificada. Esta prueba se realiza cuando el patrón de resistencia de la cepa es compatible con la producción de una carbapenemasa. Se prepara un inóculo, siguiendo los métodos convencionales, de la cepa de colección *E. coli* ATCC 25922, con la que se inocula totalmente una placa de agar Mueller-Hinton; una vez seca se coloca un disco de ertapenem o imipenem en el centro de la placa y se inocula la cepa a estudio, haciendo (con un asa de siembra) estrías radiales desde el borde del disco hacia la periferia. Se incuba a 35-37°C durante 18-24 horas en atmósfera aerobia. La prueba se considera positiva cuando se observa distorsión en el halo de inhibición del *E. coli* en las zonas próximas a la siembra de la cepa problema. En cepas presumiblemente productoras de β -lactamasas de tipo AmpC, se puede utilizar esta misma prueba de Hodge, sustituyendo el disco de imipenem por un disco de ceftioxitina de 30 μ g.

Estudio de cribado de la sensibilidad a vancomicina. Se realiza en placas de BHI con 6 μ g/ml de vancomicina. Se prepara una suspensión equivalente a la escala del 0,5 MacFarland de la cepa. Se siembra la placa con un asa calibrada de 10 μ l. Se incuba durante 24 horas a 37°C. La presencia de más de 1 colonia o una ligera película de crecimiento, es un indicador presuntivo de sensibilidad disminuida a la vancomicina.

7.2. TÉCNICAS DE MICRODILUCIÓN

7.2.1. Procedimiento operativo. Existen diversos métodos comerciales de microdilución para la determinación de las CIM en aislamientos de origen urinario, aprobados para su utilización en diagnóstico. Para la preparación del inóculo, siembra y selección de condiciones de incubación se recomienda seguir los protocolos y las indicaciones que proporcionan las compañías fabricantes.

La lectura de las técnicas de microdilución genera valores de CIM, que se define como la menor concentración de antimicrobiano que a simple vista inhibe el crecimiento del microorganismo estudiado; puede realizarse de forma manual o mediante sistemas automatizados; la lectura manual de los resultados se facilita tomando como referencia el crecimiento observado en el pocillo de control de crecimiento; para observar el crecimiento de los pocillos se debe comprobar que la parte inferior de la placa de titulación esté limpia y seca.

7.2.2. Controles de calidad. Cada lote de placas de microdilución debe controlarse con cepas de referencia; las aconsejadas por el CLSI son las siguientes:

- *Staphylococcus aureus* ATCC 29213: para antimicrobianos usados frente a grampositivos.
- *Enterococcus faecalis* ATCC 29212: para antimicrobianos usados frente a grampositivos y para control de trimetoprim/sulfametoxazol.
- *Escherichia coli* ATCC 25922: control de antimicrobianos usados frente a bacilos gramnegativos.
- *Escherichia coli* ATCC 35218: para las combinaciones de β -lactámicos e inhibidores de β -lactamasas.
- *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853: control de antimicrobianos usados frente a gramnegativos, en particular aminoglucósidos.

Es conveniente en las técnicas de microdilución controlar la pureza del inóculo, realizando una siembra del mismo en una placa de agar sangre.

7.2.3. Limitaciones del procedimiento. Puede producirse un resultado erróneo por problemas de deterioro de los antibióticos, relacionados con deficiencias en la fabricación o fallos en la conservación de las microplacas. Pueden también deberse a problemas de inoculación; en este tipo de técnicas es necesario estar especialmente atento a las contaminaciones, en ocasiones difícilmente detectables a simple vista.

8. INTERPRETACIÓN Y EXPRESIÓN DE LOS RESULTADOS.

8.1. TÉCNICAS DE DIFUSIÓN

La interpretación en las categorías sensible, resistente e intermedio se hace siguiendo los puntos de corte y las recomendaciones del documento CLSI 2010, y realizando las modificaciones condicionadas por la demostración de un mecanismo de resistencia conocido, procedimiento que recibe el nombre de lectura interpretada del antibiograma.

8.2. MICRODILUCIÓN

La interpretación de los valores de la CIM puede realizarse siguiendo los puntos de corte establecidos por el CLSI o EUCAST. En los sistemas semiautomáticos o automáticos esta traducción la realiza el propio sistema, aplicando los criterios que previamente se le hayan definido. Debe realizarse una lectura interpretada de los resultados del antibiograma (en la actualidad ya incorporada en la mayoría de los programas informáticos que acompañan a los sistemas automatizados) y modificar categorías clínicas en función del reconocimiento del mecanismo de resistencia.

Tanto en las técnicas cuantitativas como cualitativas debe repetirse el estudio de sensibilidad en caso de aparición de un fenotipo de resistencia imposible, y deben confirmarse los casos de multiresistencia o de resistencias inusuales.

La información de los resultados del estudio de sensibilidad debe realizarse de un modo selectivo y

Servicio de Microbiología Hospital.....	Estudio de sensibilidad en los aislamientos de origen urinario	PNT-UR-02	
		Edición Nº 01	Página 5 de 7

secuenciado, en función de las resistencias, del cuadro clínico del paciente y de la política antibiótica del centro. De cada familia de antimicrobianos con utilidad en el tratamiento de la infección urinaria debe restringirse inicialmente la información a los de menor espectro, ampliando a otros de mayor espectro en caso de resistencias en los primeros. En niños debe restringirse la información de los resultados de las quinolonas.

9. RESPONSABILIDADES

Deben estar descritas en el manual general de organización del laboratorio y en las fichas de descripción de los puestos de trabajo.

El procedimiento deberá llevarse a cabo por personal técnico cualificado con un entrenamiento específico. La supervisión de la técnica y de los resultados emitidos deberá realizarla el Facultativo Especialista Responsable de la Unidad del Laboratorio de Microbiología que los emite.

10. ANOTACIONES AL PROCEDIMIENTO

Todo el personal del laboratorio de microbiología deberá conocer las normas generales de seguridad e higiene. Estas recomendaciones deberán estar recogidas en un documento establecido por el laboratorio de Microbiología.

Las pruebas están basadas en distintos principios técnicos que han ido evolucionando con el tiempo y en base a las recomendaciones nacionales e internacionales.

11. LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

Las indicadas para cada uno de los procedimientos anteriormente descritos.

12. BIBLIOGRAFÍA

1. Baquero F, Martínez-Beltrán J, Cantón R. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 1998; 16: 85-92.
2. Clinical and Laboratory Standards Institute. *Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing*. twentieth informational supplement. 2010. CLSI document M100-S20. Vol. 30; nº 1.
3. Comité de l'Antibiogramme de la Societe Francaise de Microbiologie. *Recommandations* 2010. (<http://www.sfm.asso.fr>).
4. EUCAST (European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing). *Clinical breakpoints-bacteria*. (<http://www.eucast.org>).

ANEXO:

Tabla 1. Condiciones de inóculo e incubación en función del microorganismo a estudiar.

Microorganismos	Medio de dilución*	Mac Farland	Medio de cultivo	Atmósfera de incubación
Bacilos gramnegativos (enterobacterias)	SSF 0,85 %	0,5	Mueller Hinton	O ₂
Bacilos gramnegativos no fermentadores	SSF 0,85 %	0,5	Mueller Hinton	O ₂
Estafilococos	SSF 0,85 %	0,5	Mueller Hinton	O ₂
Enterococos	SSF 0,85 %	0,5	Mueller Hinton	O ₂
Estreptococos	SSF 0,85 %	0,5	Mueller Hinton + 5% de sangre de carnero	5-7% de CO ₂
Bacilos grampositivos	SSF 0,85 %	1	Mueller Hinton + 5% de sangre de carnero	5-7% de CO ₂

*SSF: solución salina fisiológica

Servicio de Microbiología Hospital.....	Estudio de sensibilidad en los aislamientos de origen urinario	PNT-UR-02	
		Edición Nº 01	Página 7 de 7

Tabla 2. Antibióticos para la determinación de la sensibilidad de los principales microorganismos uropatógenos. En el antibiograma inicial la elección de los antibióticos que deben incluirse estará condicionada por las características del centro (tasas de resistencia y política antibiótica).

Claves de interpretación de los grupos de antibióticos:

0. No utilizados en clínica pero útiles para la detección de mecanismos de resistencia
1. De utilidad clínica. Deben informarse de modo selectivo y secuenciado. En negrita los que se aconseja informar de modo sistemático.

	Enterobacterias	<i>P. aeruginosa</i>	<i>Enterococcus</i> spp.	<i>Staphylococcus</i> spp.
1	Ampicilina Amoxicilina-clavulánico Cefalotina/Cefazolina Cefuroxima Cefoxitina ¹ Cefotaxima Ceftazidima ² Cefepima Aztreonam Piperacilina-tazobactam Imipenem Ertapenem Gentamicina Tobramicina Kanamicina ³ Amikacina Ácido pipemídico ⁴ o Ácido Nalidíxico ⁵ Norfloxacino Ciprofloxacino Cotrimoxazol Fosfomicina ⁴ Nitrofurantoína	Ceftazidima Aztreonam Cefepime Piperacilina-tazobactam Imipenem Meropenem Gentamicina Tobramicina Amikacina Ciprofloxacino Colistina	Ampicilina Ciprofloxacino o Levofloxacino Vancomicina ⁶ Teicoplanina Fosfomicina ⁴ Nitrofurantoína Daptomicina ⁷ Linezolid	Penicilina ⁸ Oxacilina Amoxicilina-ácido clavulánico Gentamicina Ciprofloxacino Cotrimoxazol Vancomicina ⁶ Teicoplanina Fosfomicina ⁴ Nitrofurantoína Daptomicina ⁷ Linezolid
0	Cefotaxima-ácido clavulánico ² Ceftazidima-ácido clavulánico ² Cefepima-ácido clavulánico ²			Cefoxitina ⁹ Novobiocina ¹⁰

¹ Útil en la discriminación de mecanismos de resistencia.

² Facilita la detección de BLEE

³ Facilita la detección de enzimas modificantes que afectan a amikacina.

⁴ Para la interpretación de los resultados consultar las recomendaciones de EUCAST o del Comité del Antibiograma de la Sociedad Francesa de Microbiología (CA-SFM).

⁵ Detecta mutaciones primarias en las topoisomerasas, primer paso en la resistencia a fluoroquinolonas y permite inferir la sensibilidad a otras quinolonas no fluoradas.

⁶ La resistencia a vancomicina es de difícil detección en el método de difusión. Se recomienda la determinación de la CIM en cepas con halos de tamaño cercano a los puntos de corte de resistencia o la utilización de placas de cribado.

⁷ Válida únicamente la determinación de CIM.

⁸ En cepas sensibles *in vitro*, es necesario descartar la producción de β-lactamasa.

⁹ Incluir para la detección de resistencia a meticilina en estafilococos.

¹⁰ Facilita la identificación de *Staphylococcus saprophyticus*.

Servicio de Microbiología Hospital.....	Diagnóstico microbiológico de la prostatitis bacteriana crónica	PNT-UR-03	
		Edición N° 01	Página 2 de 4

1. PROPÓSITO Y ALCANCE

Definir los métodos utilizados para realizar el diagnóstico microbiológico de la prostatitis bacteriana crónica.

Este procedimiento es aplicable a todos los laboratorios de microbiología clínica que realicen diagnóstico microbiológico de la prostatitis bacteriana crónica o envíen muestras a laboratorios de referencia.

2. FUNDAMENTO

La prostatitis bacteriana crónica es una entidad frecuente en varones y de difícil diagnóstico y tratamiento. Con frecuencia se producen fracasos terapéuticos o recidivas, especialmente cuando la elección del antibiótico o la duración del tratamiento no son los adecuados.

El diagnóstico microbiológico de la prostatitis bacteriana crónica es complejo dada la inaccesibilidad de la próstata y la alta posibilidad de que la secreción prostática se contamine con la microbiota uretral y periuretral. Esta es la razón por la que se emplea el test de Meares y Stamey o el test simplificado de Nikel, que se basan en la comparación de los resultados obtenidos con diferentes fracciones de orina, secreción prostática y/o semen.

La obtención de alguna de estas muestras, en especial la secreción prostática por masaje prostático transrectal requiere ser practicada por un especialista con experiencia y es dolorosa para el paciente e incómoda tanto para el paciente como para el clínico que la practica.

El diagnóstico de prostatitis crónica requiere la demostración de inflamación prostática, para lo que es necesario el recuento y comparación de leucocitos en las distintas muestras obtenidas. El diagnóstico se confirma con cultivos cuantitativos de las mismas muestras.

Para el cultivo cuantitativo es imprescindible utilizar los métodos y medios adecuados que permitan la detección de todos los agentes etiológicos implicados en la prostatitis crónica, es decir tanto *E. coli*, que es el agente más frecuente como otros bacilos gramnegativos, enterococos, *Ureaplasma urealyticum*, *Mycoplasma hominis* y *Chlamydia trachomatis*. En caso de sospecha de tuberculosis se investigará la presencia de *Mycobacterium tuberculosis*. Además se aconseja investigar la presencia de *Neisseria gonorrhoeae* y *Trichomonas vaginalis* que aunque no han sido implicadas en prostatitis crónicas, al ser agentes productores de uretritis requieren del diagnóstico diferencial.

3. DOCUMENTOS DE CONSULTA

- Sánchez C (Coordinador), Guerrero C, Sánchez C. Recogida, transporte y procesamiento general de las muestras. Procedimientos en Microbiología n° 1 a, 2ª edición. SEIMC. 2003. Disponible en: <http://www.seimc.org/documentos/protocolos/microbiologia>

- Loza E (Coordinador). Alomar P, Bernal A, Harto A, Pérez JL, Picazo JJ, Sarazá LL. Seguridad en el laboratorio de microbiología clínica. Procedimientos

en Microbiología n° 10, 1ª edición. SEIMC. 2000.

Disponible en:

<http://www.seimc.org/documentos/protocolos/microbiologia>

4. MUESTRAS

Se recomienda una abstinencia sexual de 3 a 5 días, antes de la realización de estos tests. Si las muestras se recogen en la consulta del urólogo se recomienda hacerlo de 3-5 horas después de la última micción. Si la secreción prostática es sustituida por el semen y es el propio paciente quien recoge las muestras en su domicilio es conveniente que lo haga a primera hora de la mañana, antes de miccionar.

En cualquier caso, antes de iniciar la recogida de las muestras, se retrae el prepucio manteniéndolo retraído durante toda la maniobra y se realiza una limpieza meticulosa del glande con agua y jabón no desinfectante. Cuando sea el enfermo quien se recoja las muestras, antes de iniciar la recogida debe proceder a una limpieza de manos.

Para la realización del test de Meares y Stamey las muestras adecuadas son:

- Primer chorro de orina: en un contenedor de plástico estéril de boca ancha, identificado como 1, se recogen los primeros 5-10 ml de orina emitida espontáneamente.
- Chorro medio de orina: en otro contenedor identificado como 2, se recogen 15-25 ml del chorro medio de la orina.
- Secreción prostática: el especialista realiza un masaje prostático transrectal y las secreciones emitidas se recogen en otro contenedor estéril identificado como 3.
- Semen: dado los inconvenientes que suponen para el paciente la realización del masaje prostático y la gran dificultad de conseguir la secreción, con frecuencia se sustituye por semen obtenido por el propio paciente tras masturbación, que lo recogerá en el contenedor identificado como 3.
- Orina postmasaje: en un cuarto contenedor estéril identificado como 4, se recogen los primeros 5-10 ml de orina emitida espontáneamente tras el masaje prostático o la masturbación. Con frecuencia esta muestra suele obviarse.

Para la realización del test de Nikel las muestras adecuadas son:

- Orina premasaje prostático: en un contenedor de plástico estéril de boca ancha identificado como 1, se recogen los primeros 5-10 ml de orina emitida espontáneamente.
- Orina postmasaje prostático: tras un vigoroso masaje prostático realizado por vía transrectal por un especialista, en un contenedor estéril identificado como 2, se recogen los primeros 5-10 ml de orina emitida espontáneamente.

Servicio de Microbiología Hospital.....	Diagnóstico microbiológico de la prostatitis bacteriana crónica	PNT-UR-03	
		Edición N° 01	Página 3 de 4

Se admite que el test de Nikel es una alternativa razonable al de Meares y Stamey cuando no puede obtenerse secreción prostática. Algunos autores demuestran que da una información similar en el 96-98% de los casos.

Las muestras deben ser remitidas al laboratorio de microbiología en el menor tiempo posible.

5. REACTIVOS Y PRODUCTOS

- Los medios de cultivo y indicados en el apartado de procesamiento de este PNT.
- Sistema de detección de antígeno de *C. trachomatis*.

6. APARATOS Y MATERIALES

- Cámara de Neubauer para recuento de leucocitos.
- Centrífuga de sobremesa
- Microscopio
- Estufa de cultivo
- Portas y cubres
- Sobres generadores de CO₂ y de anaerobiosis

7. PROCESAMIENTO

Se debe realizar el recuento de los elementos formes, especialmente de los leucocitos PMN, de cada una de las muestras. Este recuento debería ser practicado por el mismo método en todas las muestras. El más preciso sería efectuar el recuento con una cámara de Neubauer tanto de la secreción prostática como de las muestras de orina sin centrifugar.

Algunos autores recomiendan centrifugar 5 ml del primer chorro, chorro medio y orina postmasaje a 1500 rpm durante 5 minutos y observar el sedimento en el microscopio (x400), juntamente con una gota de la secreción prostática.

Cada una de las muestras fraccionadas se siembra en los siguientes medios:

- agar sangre
- agar Mac Conkey
- agar A7B o similar destinado al aislamiento de *Ureaplasma urealyticum* o micoplasmas en general

En pacientes con riesgo de una infección de transmisión sexual, el primer chorro de orina se sembrará también en:

- agar Thayer-Martin, Martin-Lewis o New York City.
- caldo de Diamond o Roiron, para el aislamiento de *Trichomonas vaginalis*

Para la detección de *Chlamydia trachomatis* se emplea una técnica de PCR en tiempo real y si no es posible una técnica de detección de antígeno.

El agar sangre, agar Mac Conkey, agar A7B y agar Thayer-Martin se siembran con 100 µl (asa calibrada de 0,01 ml) de cada muestra, que permite la detección de 10² ufc/ml. El agar sangre y el agar Thayer-Martin se incuban a 35°-37°C con un 5% de CO₂ y la lectura se efectúa a las 24 y 48 horas. El

agar Mac Conkey se incuba a 35°-37°C y se lee a las 24 horas. El agar A7B se incuba en anaerobiosis y su lectura se realiza en el microscopio óptico (x10) a las 48 horas.

Para la detección de *C. trachomatis* y *T. vaginalis* el primer chorro de orina se centrifuga previamente a 3500xg durante 5 minutos. El caldo de Diamond se incuba a 35°-37 °C y la lectura se efectúa a las 48 horas.

8. OBTENCIÓN, INTERPRETACIÓN Y EXPRESIÓN DE LOS RESULTADOS

Los resultados se expresan en términos cuantitativos.

Se considera que existe inflamación de la glándula prostática cuando hay un número ≥ 10 PMN/campo (x400) en secreción prostática, orina postmasaje o semen o cuando el número de PMN en estas localizaciones es superior al observado en el primer chorro o en el chorro medio de orina.

Se considera que la infección es de origen prostático cuando hay ausencia de patógenos en el primer chorro y en el chorro medio de orina y presencia en secreción prostática, orina postmasaje o semen, o cuando el patógeno está presente en secreción prostática, orina postmasaje o semen en cantidades al menos un logaritmo superior que las observadas en primer chorro de orina o chorro medio

Un cuantitativo en primer chorro de orina superior al obtenido en la secreción prostática o en la orina postmasaje se traducirá en una uretritis.

9. RESPONSABILIDADES

Deben estar descritas en el manual general de organización del Laboratorio de Microbiología y en las fichas de descripción de los puestos de trabajo.

El procedimiento deberá llevarse a cabo por personal técnico cualificado con un entrenamiento específico. La supervisión de la técnica y de los resultados emitidos deberá realizarla el Facultativo Especialista Responsable de la Unidad del Laboratorio de Microbiología que los emite.

10. ANOTACIONES AL PROCEDIMIENTO

Todo el personal del laboratorio de microbiología deberá conocer las normas generales de seguridad e higiene. Estas recomendaciones deberán estar recogidas en un documento establecido por el laboratorio de Microbiología.

Las pruebas están basadas en distintos principios técnicos que han ido evolucionando con el tiempo, la experiencia adquirida y las recomendaciones nacionales e internacionales. A pesar de los avances logrados en la clasificación de las prostatitis y en los métodos diagnósticos, la valoración de los resultados no siempre es clara y debe ser realizada por un microbiólogo experto en el tema.

Servicio de Microbiología Hospital.....	Diagnóstico microbiológico de la prostatitis bacteriana crónica	PNT-UR-03	
		Edición N° 01	Página 4 de 4

11. LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

Tanto el test de Meares y Stamey como el test de Nikel tienen una baja sensibilidad para diagnosticar la prostatitis crónica bacteriana. Sólo en aproximadamente un 14% de las prostatitis crónicas bacterianas se demuestra una etiología bacteriana concreta, mientras que la especulación etiológica constituye alrededor del 94% de casos restantes.

Cuando de las muestras previas al masaje se obtiene un crecimiento bacteriano abundante y significativo no es posible distinguir una cistitis simple de una cistitis asociada a prostatitis crónica. Por ello antes de realizar un test de Stamey es aconsejable realizar un urocultivo convencional y si este es positivo, valorar la presencia de prostatitis basándose en la sintomatología clínica, el tacto rectal y otras exploraciones complementarias como la urografía o la ecografía.

12. BIBLIOGRAFÍA

1. Nickel JC, Shoskes D, Wang Y, Alexander RB, Fowler JE, Zeitlin S, O'Leary MP, Pontari MA, Schaeffer AJ, Landis JR, Nyberg L, Kusek JW, Propert KJ, and Chronic Prostatitis Collaborative Research Network Study Group. How does the pre-massage and post-massage 2-glass test compare to the Meares-Stamey 4-glass test in men with chronic prostatitis/chronic pelvic pain syndrome?. J Urol 2006; 176: 119-124.
2. García-Arenzana JM, López García JA. Prostatitis, epididimitis y orquitis. En: Ausina V, Moreno S, editors. Tratado SEIMC de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica. 1ª ed. Madrid 2006. Editorial Médica Panamericana; pp: 1241-1248.