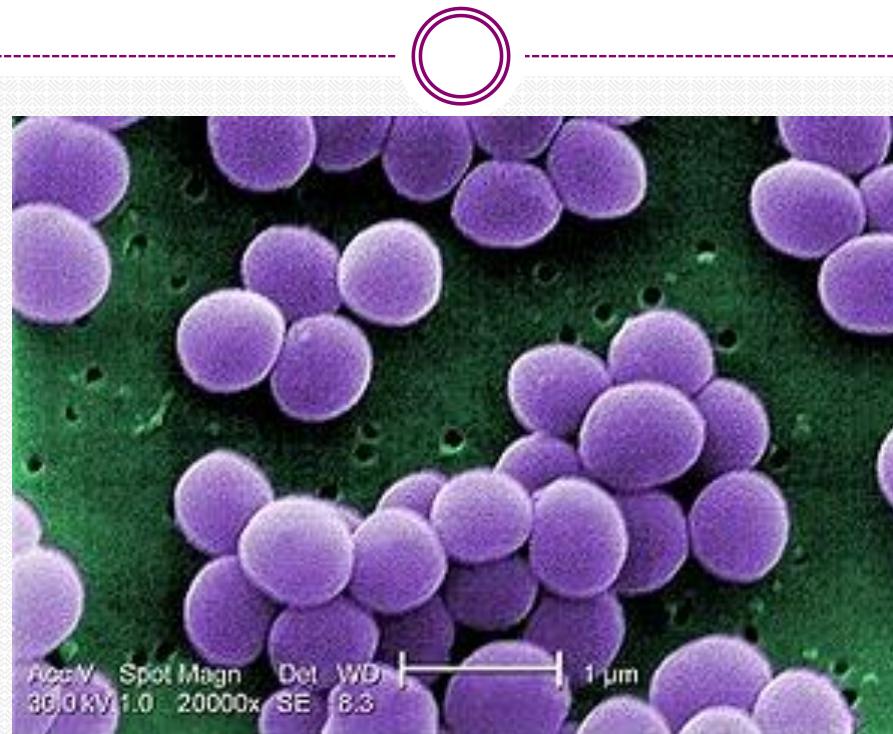


DIAGNÓSTICO DE LAS INFECCIONES URINARIAS BACTERIANAS



S. aureus

CARMEN M CABRERA
MICROBIOLOGÍA

- Es uno de los estudios más frecuentes en los laboratorios de microbiología, tanto en el ámbito comunitario como en el hospitalario.
- Según el último Estudio de Prevalencia de las Infecciones Nosocomiales en España (**EPINE**), las ITUs representan el 20% del total. Y de ellas 80-90% se asocian a catéteres uretrales.
- Definición de ITU: “*presencia de microorganismos patógenos en las vías urinarias con alteración funcional*”.
- A la hora de establecer el diagnóstico se ha de tener en cuenta el **tipo de IU, el método de recogida de la muestra, y los elementos formes contenidos en la misma (estudio del sedimento)**.

ITU en la Mujer



- La incidencia de **cistitis aguda** se sitúa entre 0.5 a 0.7 episodios/año entre los 20-44 años de edad. De ellos un 25% desarrollan recurrencias.
- Entre los 20-44 años, hay 18 casos de **pielonefritis aguda** (PA)/10.000 ♀, solamente el 7% necesitarán hospitalización.
- Los cambios que conlleva la menopausia, aumentan la incidencia de ITUs, fundamentalmente las asintomáticas:
BA (Bacteriuria asintomática) “>100.000 ufc/ml en 2 muestras de orina en ausencia de sintomatología clínica”.
- 10-15% de ♀ entre 65-70 años presentan BA; y el 20% en mayores de 80 años.

ITU en el Varón



- Tanto la **BA** como la **U sintomática** son poco frecuentes, con un incidencia anual de 5-8 episodios/10.000 varones < 65 años.
- Cuando aparecen en la mayoría de los casos es por la presencia de una **anomalía urológica** o **una prostatitis crónica.**
- La incidencia de las ITUs aumenta a partir de los 50 años, al aumentar progresivamente la obstrucción urinaria causada por la patología prostática.
- La presencia de una ITU en un varón se debe de considerar como un **indicador de anomalía urológica.**

Bacteriuria asintomática (BA)



- Se acompaña de Piuria en el 30% de mujeres jóvenes, 25-50% de las embarazadas; en el 78% de los diabéticos; y en el 90% de los ancianos.
- En la **mujer embarazada** la BA es la IU más frecuente, con una prevalencia del 2-11%; sin tratamiento un 20-40% de las gestantes desarrollarán Pielonefritis aguda (PA) (duplica el riesgo de partos prematuros y niños con bajo peso).
- En el **trasplantado renal**, la BA produce riesgo de sepsis y fallo del injerto.

Bacteriuria asintomática (BA)



- Protocolos de detección de BA en:
 - *en la semana 16 de gestación.*
 - *en los primeros 6 meses post-trasplante renal.*
 - *antes de la cirugía urológica (riesgo de bacteriemia).*

ETIOLOGÍA

	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	1%	2%	5%	6%
<i>Serratia</i> spp				
<i>Proteus</i> spp				
<i>Morganella</i> spp	5%	2%	13%	15%
<i>Providencia</i> spp				
<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%

Infecciones urinarias bajas adquiridas en la comunidad. Estudio realizado en 15 laboratorios de 9 Comunidades Autónomas (3055 IU)

	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)

Patogenia de la IU



- ***En condiciones normales, la orina y las vías urinarias son estériles.*** Sin embargo la uretra distal está colonizada por microbiota cutánea y vaginal.
 - Lactobacillus spp.
 - ✖ Corinebacterias no urealíticas.
 - Estreptocos del grupo viridans, y algunos estafilococos coagulasa (-).
- Previamente a una IU se produce una **colonización (adherencia) del epitelio vaginal y periuretral a partir de bacterias del colon (E. coli).** La infección implica una lesión del uroepitelio.
- **FACTORES que predisponen a IU:** alteración de la flora vaginal normal (disminución de lactobacilos en la menopausia, o vaginosis bacteriana); empleo previo de antibióticos; relaciones sexuales; uso de espermicidas; diafragma; sondas vesicales; cirugía urogenital; etc.

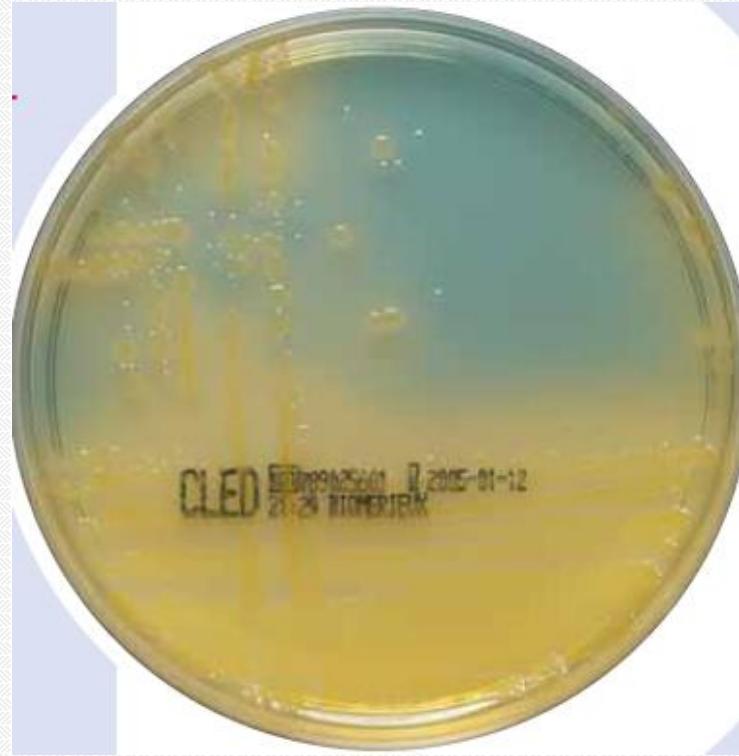
- Las principales cepas de *E.coli* uropatógenas pertenecen al grupo **B2**: 70% producen cistitis; 67% pielonefritis; y el 72% de las sepsis urinarias. Son cepas que presentan varios factores de virulencia cromosómicos (**fimbrias; toxinas; sideróforos; Ag K; y Ag O**).
- A diferencia de las cepas de ***E. coli* comensales (grupo A y B1)** que tienen muy pocos factores de virulencia.
- Los ***Lactobacillus spp.*** protegen de la colonización por uropatógenos, al inhibir la adherencia al epitelio vaginal mediante el bloqueo de sus receptores. Igualmente impiden la división bacteriana al producir al medio: H_2O_2 , ácido láctico, y bacteriocinas.
- Consumo de probióticos como alternativa a los antibióticos convencionales para la prevención de las ITUs, al restablecer la ecología vaginal.

Pruebas microbiológicas para el diagnóstico de una ITU



- Urocultivo (CLED, Mac Conkey).
- Pruebas rápidas de identificación.
- Paneles de identificación- antibiograma Combo MicroScan.

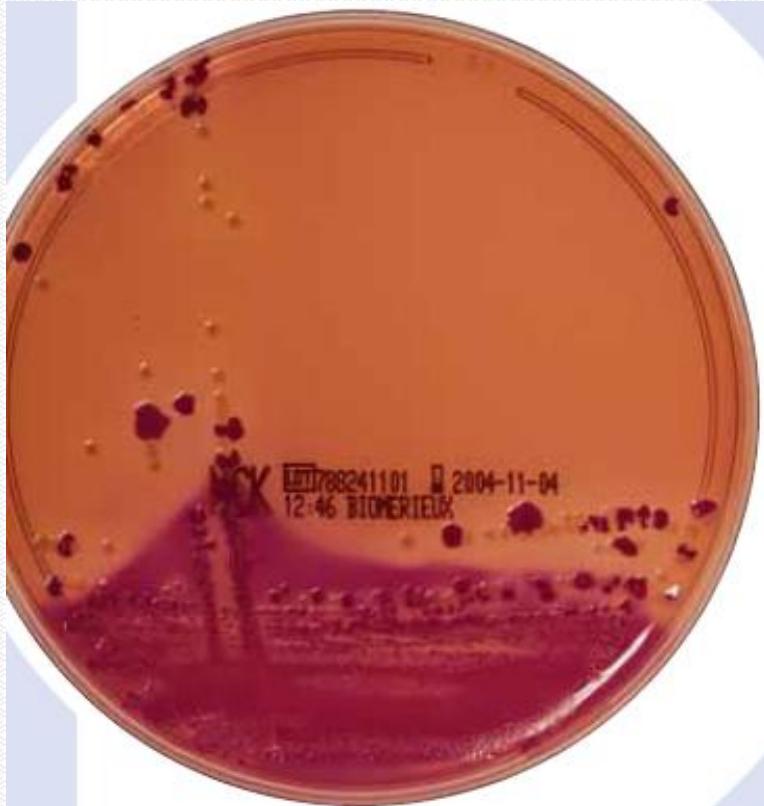
CLED (*Cistina LACTOSA Electrolito Deficiente*)



Incubación a 35-37°C durante 18 horas
en atmósfera aerobia

- Es un medio de cultivo **diferencial**, que permite el crecimiento de uropatógenos: *gram-negativos*, *gram-positivos*, y *levaduras*.
- Recuento semi-cuantitativo (**ufc/ml**).
- 10 µl de orina (asa de siembra calibrada): método del recuento.
- N° ufc/ml= n° colonias x 100

Mac Conkey (sales biliares y cristal violeta)



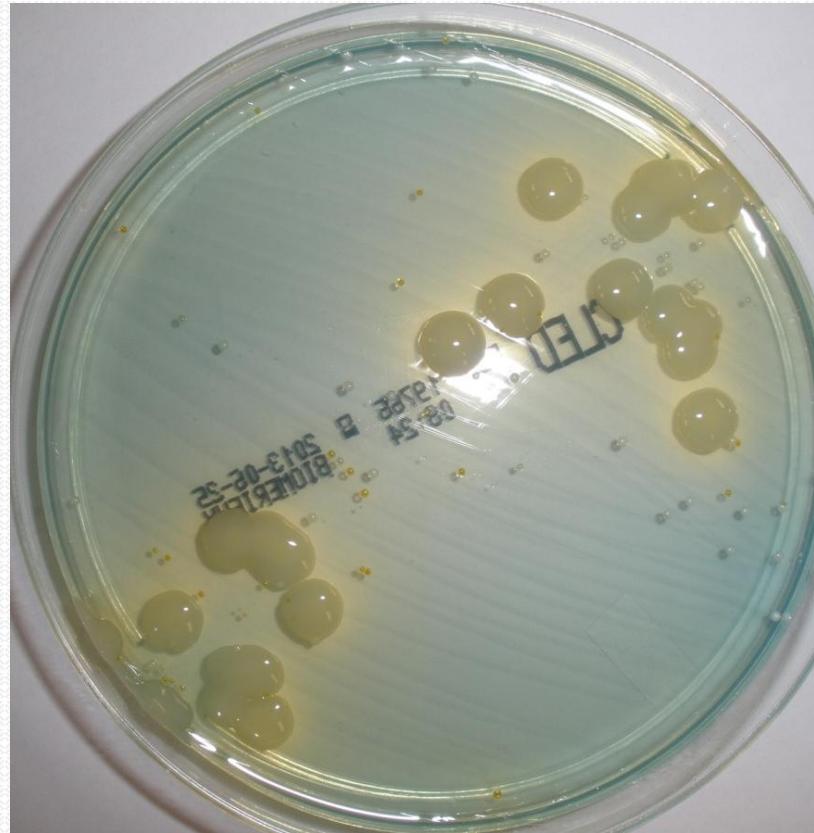
E. coli (lactosa +)
P. mirabilis (lactosa -)

- Es un medio **selectivo y diferencial** para Enterobacterias, y bacilos gram-negativos No fermentadores.
- Siembra en aislamiento.
- **Colonias lactosa (+):** rosa a rojas (fermentadoras).
- **Colonias lactosa (-):** incoloras.

Lectura de los cultivos:



Cultivo Negativo



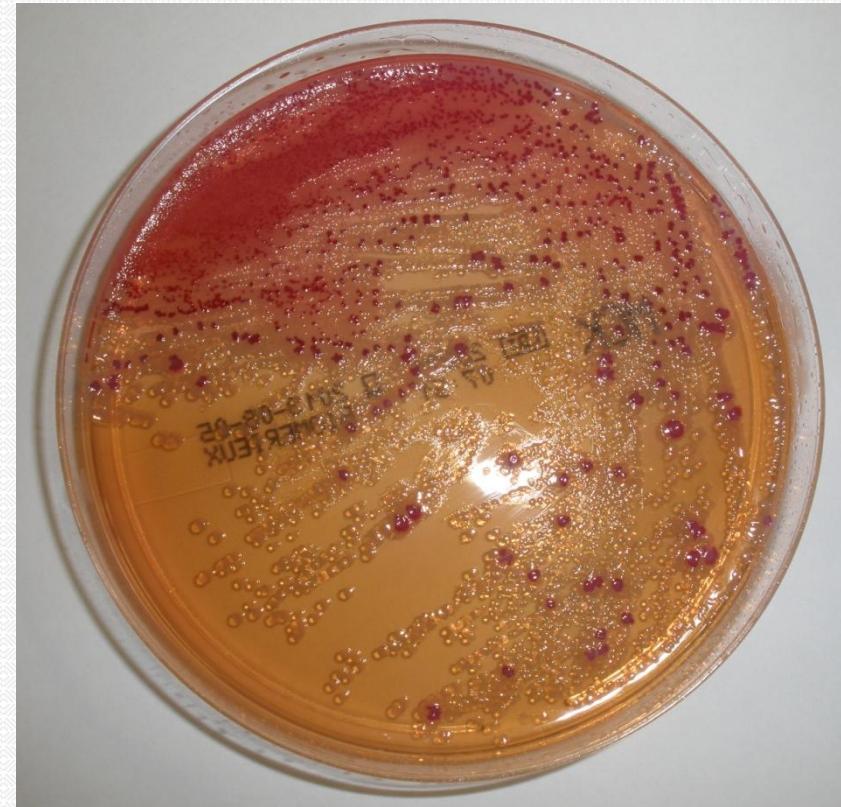
Cultivo Positivo (>100.000 ufc/ml)



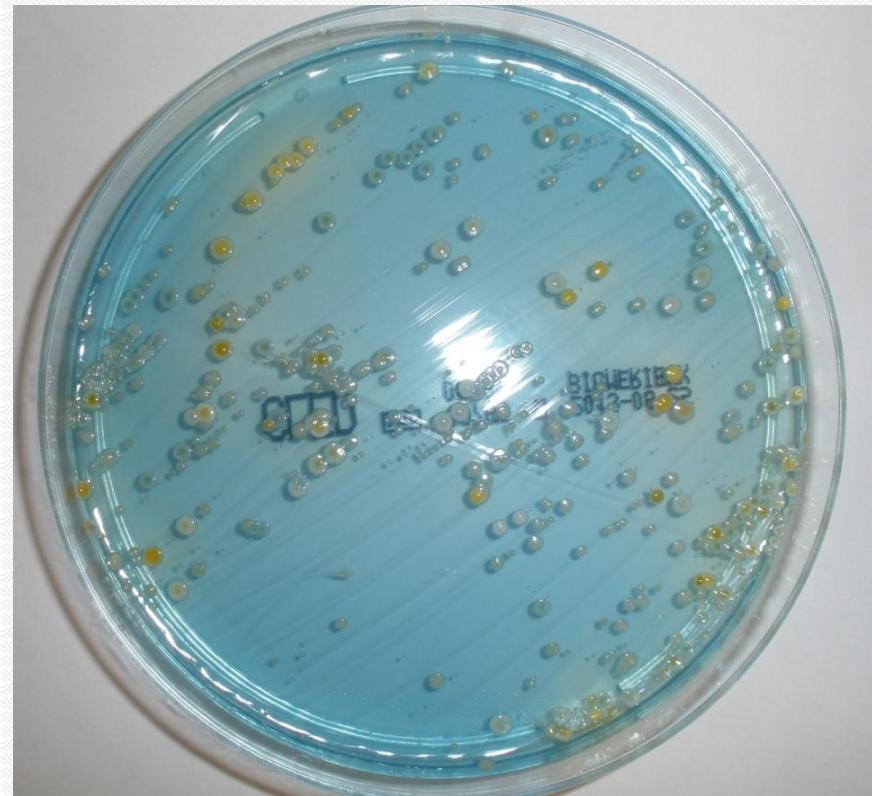
CLED



Mac Conkey



- **Cultivo contaminado:**
 >10.000 ufc/ml con 3 o más tipos diferentes de colonias.
- *Indica una mala recogida de la muestra y la presencia de flora fecal contaminante.*
- Comentario “**Orina contaminada, remitir nueva muestra recogida en condiciones estériles**” (ya que no se puede descartar una infección urinaria positiva).



Situaciones especiales de recuento



- >100.000 ufc/ml se consideran recuentos significativos de ITU.
- En orina obtenidas por punción vesical suprapública o por nefrostomía, **cualquier recuento es indicativo de infección.**
- En orinas obtenidas por sondaje vesical, se consideran recuentos significativos $\geq 10^3$ ufc/ml de **cualquier microorganismo en cultivo puro.**
- **Niños, y varones** >10.000 ufc/ml se considera ITU positiva.

Pruebas rápidas de identificación



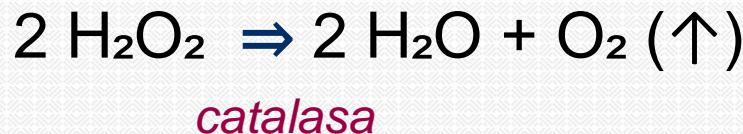
- 1) **Citocromo-oxidasa.** Identificación de Enterobacterias (gram -) citocromo-oxidasa negativas, de bacilos gram-negativos aerobios: citocromo-oxidasa positivos (*Pseudomonas spp*).
 - Tiras de papel absorbente que contienen **2 reactivos: N,N,dimetil-fenilendiamina** y **α -naftol**. La enzima citocromo-oxidasa en presencia de O₂ forma un **compuesto azul brillante (azul indofenol)**.



Pruebas rápidas de identificación



2) Catalasa. Identificación de cocos gram-positivos (crecen exclusivamente en CLED).



- ✓ ***Staphylococcus spp.*** Catalasa +
- ✓ ***Streptococcus spp.*** Catalasa -

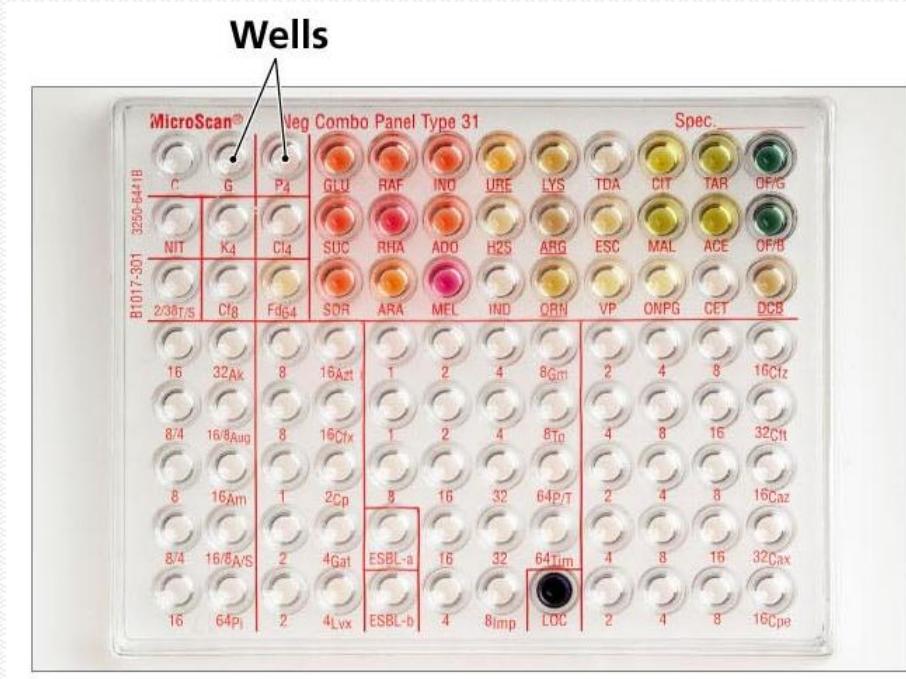


Paneles de identificación-antibiograma combo (MicroScan)



- **Paneles para gram-negativos:** identificación a nivel de especie de aerobios, y anaerobios facultativos. Y sensibilidad (CMI) a antibióticos.
- **Paneles para gram-positivos:** aerobios facultativos de rápido; Y crecimiento a antibióticos.

Pase de las colonias a las placas de crecimiento



Identificación fenotípica

Sensibilidad a antibióticos

Placas de cultivo de 96 pocillos en U

Preparación del inoculo



- **Técnica de turbidez estandarizada** (se recomienda para todos los bacilos aerobios gram-, colonias mucosas):
 - Se toca en la superficie de la colonia aislada con el asa estéril, en 1-2 ml de suero salino y se homogeniza la suspensión. Se ha de conseguir una turbidez de **0.5 de la escala McFarland (Turbidímetro)**.
 - Se transfieren **100 µl de suspensión 0.5 McFarland** a un tubo de **25 ml de agua para inoculo con PLURONIC**.
 - Los pocillos se cargan con la suspensión bacteriana



Turbidímetro

Sistema Prompt:

A) Varilla de inoculación



B) Botella con líquido de dilución



Pruebas bioquímicas de identificación (gram -)



- **Fermentación de azúcares** (glucosa, sacarosa, sorbitol, rafinosa, arabionsa, etc). La fermentación de un tipo de azúcar produce una ácido, la disminución del pH se pone de manifiesto porque vira el color del indicador de rojo fenol (**Positivo**: color amarillo o naranja).
- **Prueba de la urea**: detección de la enzima ureasa, que produce CO₂ y amoniaco. El aumento del pH, se detecta por el indicador rojo fenol (**Positivo**: magenta a rosa).
- **Prueba del SH₂ (sulfuro de hidrógeno)**: a partir del tiosulfito de sodio se genera SH₂ (gas) que reacciona con los iones férricos del medio para producir un precipitado negro.
- **Indol**: metabolismo del Trp (enzima: triptofanasa). **Positivo**: color púrpura, cuando el indol reacciona con el reactivo de Kovak.
- **Otras**: nitratos; descarboxilación de diaminoácidos (Lys, Arg, Orn); hidrólisis de esculina; Voges-Proskauer (VP), etc.



- Las placas combo, se incuban como mínimo 16 a 20 horas a 35°C en el MicroScan (incubador sin CO₂).
- Lectura de los paneles se hace automáticamente, las pruebas bioquímicas se identifica el color mediante **colorimetría**.
- **Lectura de los pocillos con antibióticos se hace por la turbidez (crecimiento).** Cuando una determinada concentración de antibiótico inhibe el crecimiento No hay turbidez en el pocillo. **CMI= a la concentración a la cual ya no hay turbidez.**

INFORME DE RESULTADOS



- N° de ufc/ml.
- Especie de bacteria.
- Antibiograma

ENTEROBACTERIAS	
Ampicilina	S
Amoxicilina-clavulánico	S
Gentamicina	I
A. Nalidíxico	R
Fosfomicina	S

* BLEE

* A. Nalidixico Resistente