

27
27



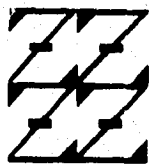
Universidad Nacional Autónoma de México

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
ZARAGOZA

DIAGNOSTICO RAPIDO DE INFECCIONES EN VIAS URINARIAS POR EL METODO SEMICUANTITATIVO EN FASE LIQUIDA

T E S I S
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE
QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO
P R E S E N T A :
MA. GUADALUPE HERRERA GALBAN

U N A M
F E S
Z A R A G O Z A



LO HUBIERO E J I
DE NUESTRA DEPLECION

ASESORES:
QBP JAVIER ZAVALA GONZALEZ
QBP MARIA LUISA DELGADO BRISEÑO
QFB JOSE PONCE GUERRERO

MEXICO, D. F.

1996.

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

51
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32
33
34
35
36
37
38
39
40
41
42
43
44
45
46
47
48
49
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60
61
62
63
64
65
66
67
68
69
70
71
72
73
74
75
76
77
78
79
80
81
82
83
84
85
86
87
88
89
90
91
92
93
94
95
96
97
98
99
100

**Esta tesis fue realizada en el laboratorio
clínico del Hospital General Regional de
Zona no. 25 "General Ignacio Zaragoza"**

JURADO

PRESIDENTE:

QFB JOSE PONCE GUERRERO

VOCAL:

QBP JAVIER ZAVALA GONZALEZ

SECRETARIO:

QFB JUAN FRANCISCO SANCHEZ RUIZ

SUPLENTE:

QBP MARIA LUISA DELGADO BRISEÑO

SUPLENTE:

QFB MARIA DEL PILAR CEDILLO MARTINEZ

DEDICATORIAS.

A mis padres.

Sr. Gregorio Herrera Martínez
Sra. Concepción Galván Rangel

Con eterno agradecimiento, por mi existencia, por su apoyo y amor en cada momento de mi vida.

A mis hermanos.

A todos y cada uno con cariño y agradecimiento.

A mi hermana Inés por su apoyo incondicional en todo momento.

A mi suegra Liz.

Por ser el motor que impulsa mi vida y mi mayor alegría.

A mi esposo el QBP. Edvino Jimenez Guayana

Por todo su apoyo, comprensión, y su amor durante todo este tiempo.

A mis amigas.

Martha, Rocio, Yola, Marú, Tere, Patys, Magda, Angeles, Ana. Por todos los momentos compartidos durante la carrera.

A mis asesores:

Q.B.P. Ma. Lúcia Delgado Briesño

Q.B.P. Javier Zavala González

Q.F.B. José Ponce Guerrero

**Por su apoyo y tiempo dedicado en
la elaboración de este trabajo.**

AGRADECIMIENTOS:

A la Química Nidia de Leiza D. Jefe del Laboratorio Clínico del HRZ No. 25.

Al personal del Laboratorio Clínico del HRZ No. 25 por su amistad y apoyo.

A la Química Gina Chacón por su valiosa colaboración en la Parte escrita de esta tesis.

Al H. Jurado:

**QBP. Javier Zavala González.
QFB. José Ponce Guerrero,
QBP. Ma. Luisa Delgado Briceño.
QFB. Juan Francisco Sánchez Ruiz.
QBP. Ma. del Pilar Cedillo Martínez.**

A quienes agradezco su valiosa orientación en la realización de este trabajo.

Con especial agradecimiento y estimación al Químico José Ponce Guerrero, por su amistad y atinadas observaciones en la realización de este trabajo.

**A los laboratorios Bigaux Diagnóstica
que con su valiosa colaboración
hicieron posible el desarrollo de esta
tesis y muy especialmente al Dr. Rubén
de la Cruz González por todas sus
atenciones.**

INDICE

I.	RESUMEN	1
II.	INTRODUCCION	3
III.	FUNDAMENTO	4
IV.	PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	6
V.	OBJETIVOS	7
VI.	HIPOTESIS	7
VII.	GENERALIDADES	8
	1. AGENTES ETIOLÓGICOS BACTERIANOS	8
	2. PATOGENIA	9
	2.1. VIA ASCENDENTE	9
	2.2. VIA HEMATOGENA	9
	2.3. VIA LINFÁTICA	10
	2.4. FACTORES PREDISPONENTES	10
	2.5. MECANISMOS DE DEFENSA DEL HUESPED	10
	3. SINTOMATOLOGIA	10
	4. DIAGNOSTICO	11
	4.1. CULTIVO DE ORINA	12
	5. TRATAMIENTO	13
VIII.	MATERIAL Y EQUIPO	15
	1. MATERIAL	15
	2. APARATOS	15
	3. REACTIVOS	15
	4. PRUEBAS ESPECIALES	16
	5. PRUEBAS BIOQUÍMICAS	16
	6. MEDIOS DE CULTIVO	16

IX. DISEÑO DE LA INVESTIGACION	17
1. CRITERIOS DE INCLUSION	17
2. CRITERIOS DE EXCLUSION	17
3. VARIABLES	17
3.1. METODO TRADICIONAL	17
3.2. METODO SEMICUANTITATIVO	17
3.3. METODO EN FASE LIQUIDA CL-25	18
X. METODOLOGIA	18
1. UROCULTIVO TRADICIONAL	18
2. UROCULTIVO SEMICUANTITATIVO	22
3. UROCULTIVO EN FASE LIQUIDA CL-25	23
XI. DISEÑO ESTADISTICO	25
1. TERMINOS ESTADISTICOS	25
2. FORMULAS ESTADISTICAS APLICADAS	28
XII. RESULTADOS	27
XIII. DISCUSION DE RESULTADOS	43
XIV. CONCLUSIONES	48
V. BIBLIOGRAFIA	81

RESUMEN

Dado que las infecciones en vías urinarias presentan una elevada frecuencia, este trabajo tiene como propósito el estudio de un método diagnóstico para el urocultivo en fase líquida, para el diagnóstico rápido de infecciones en vías urinarias, así como también para la identificación del uropatógeno responsable de dichas infecciones.

En el se analizaron y compararon los métodos de urocultivo tradicional y comercial respecto al método de urocultivo en fase líquida, el cual presenta una valiosa ayuda para el diagnóstico temprano de las infecciones del tracto urinario. De dicho método se hace hincapié, respecto de las grandes ventajas que puede proporcionar al ofrecer al paciente un diagnóstico rápido y oportuno de la enfermedad. Dicho trabajo nos introduce también al conocimiento de los métodos diagnósticos para el cultivo de orina, estos métodos incluyen desde los más comúnmente empleados en el laboratorio clínico hasta los métodos que utilizan equipos mucho más sofisticados para detectar casos sospechosos de infecciones del tracto urinario.

Abarca también algunos aspectos importantes en relación a los problemas que presenta la población en general con infección de vías urinarias, los gastos tan elevados que representa para el estado, su elevada incidencia día con día, y finalmente si dicho padecimiento no se detecta y maneja oportunamente tiene como consecuencia una elevada mortalidad.

Se llevó a cabo un estudio de tipo prospectivo, observacional, transversal y comparativo cuyo fin es determinar la calidad diagnóstica, sensibilidad y rapidez del método en fase líquida CL-25.

Se trabajaron 100 muestras de orina de pacientes con diagnóstico probable de IVU en el laboratorio clínico del HRZ No. 25 "General Ignacio Zaragoza" bajo los siguientes criterios de inclusión:

- Orinas tomadas de una población en general.
- Orinas de pacientes que lleguen al laboratorio clínico con diagnóstico probable de IVU.
- Orinas turbias o no que resulten positivas a los siguientes parámetros: nitritos y leucocitos.

Dichas muestras se trabajaron simultáneamente en los 3 métodos de urocultivo: urocultivo tradicional, semicuantitativo y en fase líquida CL-25 cuyos resultados fueron los siguientes:

1. Tabla de contingencia estadística. El análisis estadístico se llevó a cabo integrando una tabla de contingencia estadística para determinar la sensibilidad, calidad diagnóstica y especificidad (ver pag 30).
2. Gráficas de correlación entre los tres métodos de urocultivo estudiados, en las cuales se observa cómo el método de urocultivo en fase líquida CL-25 tiene un coeficiente de correlación de 90858.33 cuyo valor nos indica la importancia que tiene el método para utilizarse como método diagnóstico.

3. Curvas de calibración para que cada uno de los microorganismos aislados, que relacionan la D.O. contra No. de UFC/ml de orina.

4. Frecuencia de microorganismo aislados de 100 muestras de orina:

- 37% para E. coli
- 12% para Proteus sp
- 7% para Klebsiella sp
- 3% para Enterobacter sp
- 2% para Pseudomonas sp
- 2% para Candida sp
- 1% para Staphylococcus sp
- 34% restante corresponde a muestras contaminadas

5. La figura 9 corresponde al % de aislamiento de los microorganismo aislados causantes de IVU. Donde se observa que E. coli es aisló en mayor proporción, lo cual concuerda con lo que reporta la bibliografía.

Las conclusiones a las que llegamos en nuestro estudio fueron las siguientes:

El medio en fase líquida CL-25 es el método de elección para el diagnóstico temprano y eficaz de IVU, ya que ofrece múltiples ventajas respecto a otros métodos de urocultivo y aún del método tradicional.

Encontramos que nuestro medio es confiable para aquellos microorganismo que se encuentran causando con mayor frecuencia IVU como son E. coli, Klebsiella sp, Proteus sp.

Las ventajas que el método ofrece son:

- Identificación del uropatógeno responsable de la infección en un tiempo máximo de 14 hrs.
- Menor costo del material y equipo empleados.
- La técnica puede llevarse a cabo en lugares donde son insuficientes los recursos materiales y humanos.
- Fácil manejo de la técnica y equipo empleados.
- Proporciona al paciente una terapéutica rápida y eficaz en menor tiempo del que se ocupa con los otros métodos.

INTRODUCCION

Las infecciones de vías urinarias son los padecimientos bacterianos más frecuentes en la práctica clínica diaria, constituyen un problema frecuente. Su importancia radica en que son responsables de una elevada incidencia de morbilidad que causa numerosos trastornos (8, 29, 32).

Dichas infecciones constituyen un significativo problema de salud pública no sólo por su alta incidencia y morbilidad sino también por los costos financieros asociados con procedimientos diagnósticos y terapéuticos, incluyendo los gastos tan elevados que ocasionan la estancia de los pacientes a nivel de hospital. Cuando dicho padecimiento no se detecta y maneja oportunamente, la enfermedad puede cronificarse y evolucionar hasta una insuficiencia renal e incluso llevar hasta la muerte (8, 12, 18, 26, 29, 30, 32).

Por su frecuencia ocupa sin lugar a dudas el tercer lugar después de las infecciones digestivas y respiratorias, además se ubica entre las primeras veinte causas de morbilidad de la consulta general y como la primera de la consulta especializada de Urología (9, 29). La mortalidad cruda reportada para pacientes con infección de vías urinarias es hasta el momento de 13% (18, 30).

Por lo tanto, para evitar que este padecimiento tenga un desenlace fatal es importante y muy necesario realizar un diagnóstico temprano de la infección de vías urinarias.

FUNDAMENTO

En 1955, Kase aportó la técnica de urocultivo y los criterios para establecer el diagnóstico de infecciones de vías urinarias. La cual sigue practicándose comúnmente hasta nuestros días. Kase introdujo el término de bacteriuria significativa, definió que cifras de 10^5 o más UFC/ml de orina era una prueba significativa de infección. Este criterio ha sido modificado para incluir criterios cuantitativos separados, que se aplican a distintos tipos de pacientes, ya que en ciertas circunstancias la presencia de 10^2 UFC/ml de orina es significativa.

Existen diversos factores durante el diagnóstico que son causa de baja cuenta de colonias aún cuando la infección sea activa.

- a) Flujo urinario aumentado.
- b) pH urinario.
- c) Terapia antimicrobiana actual o reciente.
- d) Organismos de lento crecimiento.
- e) Técnicas de cultivo inadecuadas.
- f) Infección crónica.
- g) Orina obtenida directamente de ureter o vejiga.
- h) Cateterización.
- i) Dilución de la orina por una elevada ingesta de líquidos.
- j) Obstrucción urinaria.
- k) Casos de pielonefritis adquirida por diseminación hematógena.

Sin embargo esta técnica de urocultivo no siempre puede aplicarse debido al costo del material y equipo que se requiere, particularmente en los laboratorios de primer nivel de atención y áreas rurales (1, 8, 9).

Establecer un diagnóstico de infecciones en vías urinarias en el laboratorio clínico, implica la correcta detección del agente causal en cualquier parte del tracto urinario; para ello existen diversos exámenes de laboratorio, además de los síntomas clínicos que se presentan como hipotermia, vómito, dolor lumbar, astenia, disuria, urgencia urinaria, tenesmo vesical, dolor suprapúbico, frecuencia miccional y nicturia. Dichos exámenes de laboratorio incluyen: el examen general de orina (EGO), la detección de piuria (10 ó más leucocitos/ mm^2 de orina), y la presencia de bacterias (aislamiento de 10^5 o más UFC/ml de orina).

El EGO contempla el estudio macro y microscópico en la evaluación del paciente con IVU. Este examen incluye la descripción del color, determinación de osmolaridad, medición de pH, glucosa, proteínas, cetona, sangre, bilirrubina, nitritos, esterases de leucocitos, mediante el uso de la tira reactiva que se ve alterada por la presencia de patógenos.

Se ha ganado mucha experiencia en los últimos años con el método semicuantitativo del cual se han sacado varias versiones en cuanto a confiabilidad y facilidad en el manejo (1, 6, 23, 38).

Dicho método se basa en el empleo de una placa de plástico barata y desechable que tiene una pequeña cantidad de medio de cultivo no selectivo. La inculación se practica introduciendo la placa que contiene el medio de cultivo en la muestra de orina. El inóculo depositado está en función de la superficie del medio. Mediante correlación con otras técnicas más precisas se han obtenido directrices de

interpretación que permiten determinar si el número de bacterias es superior o inferior a los 10^5 o más UFC/ml de orina.

Una nueva alternativa para el diagnóstico de infecciones en vías urinarias, es el estudio del método de urocultivo en fase líquida, el cual nos permite reducir el tiempo en el cual se logra identificar al uropatógeno responsable de la infección, con una frecuencia de 80% para E. coli y el 20% restante para otros uropatógenos como son Klebsiella sp, Proteus sp, Enterobacter sp, Pseudomonas aeruginosa, entre otros.

El medio tiene adicionado un juego doble de colorantes complementarios (rojo de fenol y azul de timol) los cuales permiten que vare de color por cambio de pH sea más franco, con esto es posible detectar el tipo de bacteria presente dependiendo de su metabolismo. Además su contenido en lactosa, permite distinguir a los gérmenes que fermentan este azúcar, tales como E. coli y Klebsiella sp.

Al producirse la fermentación de la lactosa, se liberan metabolitos ácidos. Este descenso de pH hace virar el indicador, obteniéndose, cambios de color dependiendo del microorganismo presente, los cuales destacan sobre el color del propio medio.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

El diagnóstico de infecciones en vías urinarias habitualmente se confirma con base en los resultados de una o más pruebas diagnósticas de laboratorio disponibles. Tradicionalmente el uroanálisis completo consiste en una prueba macroscópica fisicoquímica y la lectura del sedimento al microscopio. La prueba macroscópica incluye la evaluación del color, turbiedad, gravedad específica y la prueba con reactivos químicos y por otro lado la prueba microscópica (urocultivo tradicional), la cual se practica ampliamente en los laboratorios clínicos con algunas desventajas, ya que es un procedimiento costoso, consume tiempo, requiere de labor intensa y habitualmente no le proporciona al clínico información específica antes del inicio del tratamiento (12, 15, 18, 33).

Las infecciones de vías urinarias alcanzan altas cifras de morbilidad y mortalidad y consumen grandes cantidades del presupuesto federal, incluyendo los gastos tan elevados que ocasiona la estancia de los pacientes a nivel de hospital. Por ello técnicas más eficientes y más rápidas para el cultivo de orina son alternativas importantes que pueden contribuir a solucionar el problema; ya que permiten identificar rápidamente el agente etiológico causante de estos padecimientos (12, 13, 18, 29, 30).

Se han diseñado sistemas comerciales de detección inicial para identificar casos sospechosos de vías urinarias; como el método semicuantitativo pero este método de ninguna manera proporciona un valor del número de UFC/ml de orina (23, 38), y al cual le confieren un 95% de confiabilidad.

Ante dicho problema, el método de urocultivo en fase líquida, tiene como propósito principal establecer un diagnóstico rápido de infección en vías urinarias, evaluando su sensibilidad en comparación con los métodos tradicional y comercial. El método tiene además un valor económico muy bajo y la ventaja de ser fácilmente manejable (18, 23, 26). Este método consiste en el empleo de un tubo de vidrio que contiene un volumen de medio de cultivo líquido, en el cual se inócula una cantidad conocida de orina. Posteriormente a la incubación (37°C /10-14 hrs.). Se mide la turbidez (D.O.) de la muestra y por medio de curvas de calibración se determina el número de UFC/ml de orina.

El medio actúa por cambio de pH con el consecuente viraje del indicador.

El medio está adicionado de componentes que permiten hacerlo altamente sensible, además de que permite conocer de forma presuntiva el agente causal de la infección, al cual por métodos de turbidimetría y curvas de crecimiento bacteriano podrá ser fácilmente cuantificable.

OBJETIVOS

- Establecer un diagnóstico rápido del uropatógeno responsable de la infección de vías urinarias.
- Valorar la sensibilidad del medio de cultivo en fase líquida, respecto de los métodos tradicional y comercial.
- Valorar el papel de diagnóstico rápido como prueba confirmatoria de infección en vías urinarias.

HIPOTESIS

Considerando que el método de urocultivo tradicional es el que se practica comúnmente en los laboratorios clínicos para establecer un diagnóstico de infección en vías urinarias; ya que ofrece la posibilidad de establecer un diagnóstico confiable; suponemos que el método de diagnóstico rápido en fase líquida ofrece mayores ventajas respecto al método tradicional, principalmente por el menor tiempo en el que se detecta el agente causal de la infección, por su bajo valor económico, por su elevada sensibilidad y por su fácil manejo.

GENERALIDADES

El tracto urinario está formado por los riñones, los uréteres, la vejiga y la uretra. Normalmente las vías urinarias en el ser humano son estériles excepto la uretra que abarca una microflora residente que coloniza su epitelio de transición que consiste en estafilococos coagulasa negativa, Streptococcus viridans y no hemolíticos, lactobacilos, difteroides (Corynebacterium sp), Neisseria sp no patógenas, bacilos aerobios gramnegativos transitorios (incluyendo Enterobacteriaceae) cocos anaerobios, Propionibacterium sp, cocos y bacilos gramnegativos anaerobios, Mycobacterium sp, comensales y ocasionalmente levaduras (4, 5, 32).

AGENTES ETIOLÓGICOS BACTERIANOS

Las infecciones de vías urinarias pueden confinarse a la uretra, vejiga o riñones; el grado de infección está determinado por el tamaño del inóculo bacteriano, la resistencia del huésped o factores de defensa y los factores de virulencia de la cepa infectante (18).

Las bacterias son los agentes responsables de la mayor parte de las infecciones de vías urinarias, aunque también son ocasionadas algunas veces por hongos y virus (1, 4, 13, 18).

La mayor parte de las infecciones son causadas por bacilos gramnegativos aerobios y anaerobios facultativos, que habitualmente se originan en la flora intestinal. Otros patógenos como el Streptococo del grupo B, Staphylococcus epidermidis y Candida albicans, se originan en la flora vaginal o en la piel del periné en la mujer (18).

E. coli se aísla en más del 80% de los casos de infecciones en pacientes ambulatorios, especialmente en el grupo de mujeres jóvenes sin patología urológica; Proteus mirabilis, Klebsiella pneumoniae, Enterobacter sp, así como otras enterobacterias y Pseudomonas aeruginosa en menor proporción suelen ir asociadas a infecciones urinarias complicadas. Entre las bacterias grampositivas las más frecuentes son el Streptococcus faecalis y Streptococcus saprophyticus.

La infección urinaria por hongos es poco frecuente y cuando se presenta el cuadro es característico en la infancia produciendo cistitis hemorrágica por adenovirus.

En pacientes hospitalizados E. coli es causa del 50% de los casos mientras que el 50% restante es provocado por Klebsiella sp, Enterobacter sp, Citrobacter sp, Serratia sp, Pseudomonas aeruginosa, Providencia sp, Enterococcus sp y Staphylococcus epidermidis (18).

PATOGENIA

Los microorganismos pueden llegar al aparato urinario por distintas vías: vía ascendente, vía hematológica y vía linfática.

Vía ascendente.

Existen pruebas clínicas experimentales de que el ascenso de microorganismos a través de la uretra a partir de las fuentes externas es la ruta más usual para infecciones de vías urinarias (8, 12, 18, 22).

La secuencia de eventos que producen infección del tracto urinario en mujeres está bien entendida: organismos coliformes localizados en el área perianal colonizan el introito vaginal y meato uretral; asciende a través de la uretra causando infección que va desde uretritis hasta pielonefritis (12, 35, 36). Lo anterior no es tan claro en hombres ya que existe una considerable distancia entre el meato uretral y el ano, además la uretra masculina es más larga y las propiedades antibacterianas de las secreciones prostáticas son barreras eficaces contra la invasión por esta vía; lo anterior lleva a que la infección por vía ascendente sea menos probable.

Entre los problemas más comúnmente encontrados, están la presencia de cuerpos extraños (catéteres, cálculos), obstrucción del cuello vesical, tumores vesicales, y estrechez uretral; con frecuencia las bacterias son introducidas por instrumentación urológica. Otros como la elevada presión intraluminal o la sobredistensión en una porción del tracto urinario; rara vez enfermedades sistémicas que producen compromiso inmunológico (diabetes o granulocitopenia) constituyen factores predisponentes para la bacteriuria (12, 24).

Vía hematógena.

La vía hematógena se explica como componente secundario a una fase bacterémica como localización en parenquima renal, es el mecanismo habitual en el recién nacido durante episodios septicémicos en individuos mayores con infecciones sistémicas graves y en pacientes inmunocomprometidos (1, 18).

La infección hematógena del tracto urinario se restringe a pocos patógenos como Staphylococcus aureus, Candida sp, Salmonella sp y Mycobacterium tuberculosis que causan infección primaria en cualquier parte del cuerpo.

Los microorganismos pueden diseminarse a nivel renal y ser eliminados por la orina (8).

La infección urinaria con cepas de Salmonella, y Mycobacterium tuberculosis, Schistosoma haematobium o por Histoplasma duboisii aparece como un fenómeno derivado de una infección localizada en otra parte del organismo en la que la penetración de microorganismos a las vías urinarias se produce a través de la corriente sanguínea. La excreción urinaria de Salmonella puede dar lugar a signos clínicos de infección urinaria.

En la infección tuberculosa los microorganismos producen focos de infección en los uréteres y la vejiga (12, 18, 32).

Los virus llegan al aparato urinario por vía sanguínea en enfermedades víricas como el sarampión, paperas, rubéola o el citomegalovirus.

Via linfática.

Esta vía aún persiste en controversia, ya que se había sugerido una comunicación linfática entre el tracto superior e inferior, donde actuaría como vía de infección del parénquima renal, sin embargo estos trabajos no fueron confirmados adecuadamente en el hombre y experimentalmente (18, 32).

Factores predisponentes.

- Alimentación vegetariana (es alcalinizante).
- Masturbación sexual.
- Aumento en la actividad sexual.
- Embarazos frecuentes.
- Edad.
- Diabetes mellitus.
- Litiasis.
- Instrumentación meato-cisto-uretral.
- Hipertrofia prostática (9, 18, 34, 35).

Mecanismos de defensa del huésped

- Osmolaridad de la orina
- Concentración uréica urinaria
- Concentración de ácidos orgánicos
- pH bajo
- Presencia de anticuerpos (IgA e IgG)
- Fagocitosis por migración de la mucosa vesical
- Peristaltismo uretral
- Flujo continuo de la orina con vaciamiento completo y espontáneo de la vejiga durante la micción.

SINTOMATOLOGIA

Las manifestaciones clínicas son muy variadas y se encuentran influenciadas por la edad del paciente.

La sintomatología clínica clásica es hipertermia, dolor lumbar, vómito, anorexia, astenia, adinamia, disuria, hematuria, urgencia urinaria, tenesmo vesical, dolor suprapúbico, frecuencia miccional y nicturia (26).

La infección urinaria crónica es difícil de definir, las recaídas o reinfecciones pueden o no ser sintomáticas, por definición se considera un proceso con pocos datos clínicos y que se hace evidente por manifestaciones de infección renal, o bien se comprueba por alteraciones de laboratorio (9, 11, 26).

DIAGNOSTICO

El diagnóstico de una infección urinaria se hace en base a las manifestaciones clínicas y al hallazgo de leucocitos y bacterias en la orina. El diagnóstico bacteriológico depende de métodos adecuados de colecta, del estudio microscópico y del cultivo de orina (6, 15, 29).

Para confirmar el diagnóstico en la infección urinaria se han utilizado diversos métodos, los cuales incluyen desde preparaciones de orina centrifugadas o sin centrifugar; hasta cultivos y estudios con inmunofluorescencia (9, 18).

El análisis general de orina debe incluir la descripción del color, medición de osmolaridad, pH, glucosa, proteínas, cetonas, sangre, bilirrubina. Estas mediciones se realizan mediante una tira reactiva cuya interpretación y resultados se dan en un minuto. Esta parte del urianálisis se ha convertido en una prueba barata y fácil de practicar (15, 18, 33).

El estudio del sedimento urinario para detectar la presencia de bacterias o piuria (definida como 10 ó más leucocitos por campo de alto poder en orina centrifugada) en muestras obtenidas de mitad de micción, sugiere altamente la probabilidad de infección (12, 18).

Una de las pruebas de laboratorio más importantes y fácilmente disponible en los casos con sospecha de infección del tracto urinario es la detección de piuria. El mejor método de medir la piuria es la determinación de la tasa de excreción urinaria de leucocitos (método difícil y poco práctico). Una excreción de 400 mil leucocitos/hr o mayor correlación con infección urinaria sintomática (18).

La medición de piuria con métodos rápidos para determinar la presencia de esteras de leucocitos en orina, ahorra muchos de los problemas que se encuentran durante el examen de rutina del sedimento urinario en busca de leucocitos y de su número.

El aislamiento de cantidades significativas de bacterias en una muestra de orina, tomada por método estéril, es el parámetro con el que se comparan los otros métodos para determinar la bacteriuria. Entre estos se incluyen el examen microscópico y las pruebas rápidas, como el de nitritos, la cual se realiza por el método de la tira reactiva (15, 18).

La mayor parte de los estudios se basan en el aislamiento de 10^5 ó más UFC/ml de orina como el estándar de comparación (4, 18, 26).

CULTIVO DE ORINA

El cultivo de orina es el método que más se utiliza para establecer la presencia y cantidad de bacterias en orina.

Los cultivos estándar de orina en la mayor parte de los laboratorios se realizan en muestras de mitad de chorro reunidas en tubos estériles, previo aseo de los genitales externos antes de la obtención de la muestra (5, 18, 29).

Una vez recogida la muestra debe presentarse inmediatamente y si no es posible, se conserva en refrigeración a 4°C para evitar la multiplicación bacteriana: un máximo de 24 horas (5, 31).

Después de la siembra en medios apropiados se requieren aproximadamente 18-24 horas de incubación para obtener un recuento adecuado de colonias. El desarrollo de 100 000 ó más bacterias por ml de orina es indicativo de una infección urinaria. Posteriormente, se necesitan de 12 a 24 horas para la identificación del microorganismo y para realizar las pruebas de susceptibilidad a antibióticos (5, 18, 26).

Actualmente hay varios sistemas de cultivos automatizados, los cuales son muy rápidos pero muy costosos, tiene una elevada sensibilidad (95 a 98%) con la desventaja que son menos sensibles en la detección de infecciones con pocas colonias; por ello son de uso limitado.

Existen también otros métodos para la localización de infecciones del tracto urinario como son:

- Bacterias recubiertas con anticuerpos (ACB). Se emplea para tratar de determinar si un paciente sufre infección en la vejiga (cistitis) o una infección del tejido renal (pielonefritis) mediante el empleo de una técnica no invasora (22, 34, 35, 36).

- Microglobulina B-2 urinaria. Es un método de localización indirecto. La producción diaria de la proteína es constante; se filtra en el glomérulo y es reabsorbida casi completamente en los túbulos renales del riñón sano. En presencia de daño tubular la concentración urinaria de esta proteína es incrementada.

- Capacidad máxima de concentración urinaria. Fue uno de los primeros métodos para determinar la presencia de la infección del tracto urinario superior. La prueba consistía en privar al paciente de agua durante 16 horas. En fecha más reciente, se ha utilizado DTVP (derivado sintético de la hormona antidiurética) intranasal para medir la capacidad de concentración urinaria en los niños en quienes la prueba de privación de agua puede ser peligrosa.

Dichos métodos anteriormente mencionados, ofrecen utilidad y rapidez pero requieren de equipo sofisticado para su interpretación; por ello son poco atractivos para muchos clínicos. Por ello otros métodos de detección rápida y poco costosos son alternativas importantes (4, 18).

En el comercio existen diversos estuches de detección inicial para cuantificar casos sospechosos de infección en vías urinarias; uno de ellos consiste en el empleo de una placa de plástico barata y desechable que contiene una pequeña cantidad de medio de cultivo no selectivo. Dicha placa simplemente se sumerge en la muestra de orina, se

saca, se introduce nuevamente en el recipiente estéril y se incuba a 35°C durante 18 a 24 horas; antes de hacer el recuento de colonias en forma rápida y aproximada comparando la proliferación en la almohadilla con una guía para el tipo apropiado del medio de agar (sistema usado en la consulta privada por los médicos) (16, 34)

El método quizá más preciso y más laborioso, consiste en preparar placas de agar de tipo clásico, las mayores dificultades de esta técnica dependen del tiempo y de los materiales necesarios para practicarla. Además la precisión del recuento de colonias es demasiado estricta para las necesidades del clínico (2, 3, 15)

TRATAMIENTO

El objetivo del tratamiento es erradicar las bacterias del tracto urinario y así mejorar los síntomas, prevenir el daño renal y reducir la probabilidad de diseminar infecciones en otros sitios.

Los pacientes con bacteriuria asintomática no complicada no precisan tratamiento, excepto en pacientes que tengan alto riesgo de desarrollar infección sintomática, principalmente mujeres embarazadas, y aquellos con factores predisponentes como diabetes mellitus, riñones poliquísticos, anomalías anatómicas o neurológicas, paciente inmunosuprimidos o quienes van a ser sometidos a instrumentación urológica (8, 12).

En pacientes sintomáticas; cerca del 80% de los primeros episodios especialmente en mujeres sexualmente activas son producidos por *E. coli*. Se puede administrar tratamiento con dosis única de trimetoprim-sulfametoxazol 320/1600 mg o sulfisoxazol 2 gr o amoxicilina 3 gr (12, 22, 34, 35, 36).

La uretritis y la cistitis son mejor tratadas con antimicrobianos que alcancen buenas concentraciones en la orina, como las sulfas o la nitrofurantoina (22, 24).

En prostatitis bacteriana aguda puede ser necesario el uso de antibióticos parenterales. La mayoría de los antibióticos alcanzan buenas concentraciones en la glándula inflamada por lo que son efectivas las penicilinas, cefalosporinas, aminoglucósidos y quinolonas (12, 18).

En la prostatitis crónica, los cálculos prostáticos pueden ser nido de la infección y en muchos casos ser necesaria la remoción quirúrgica del cálculo infectado para lograr la curación; con trimetoprim-sulfametoxazol en dosis de 160/800 mgr dos veces al día durante doce semanas o más, se han demostrado los mejores resultados, pero en ocasiones la cura sólo se logra después de prostatectomía total (12, 34).

La pielonefritis subclínica puede presentarse especialmente en mujeres, requieren tratamiento con antibiótico que alcance buenas concentraciones tisulares por lo que se puede utilizar por vía oral: trimetoprim-sulfametoxazol, nitrofurantoina, quinolona o cefalosporinas de primera generación durante 7 a 10 días (12, 34, 35, 36).

Cuando se presenta pielonefritis aguda con síntomas sistémicos, se recomienda hospitalización y tratamiento parenteral con cefalosporinas de primera generación, aminoglucósidos o quinolonas (12, 17, 35, 36).

Drogas como aztreonam o cefalosporinas de segunda y tercera generación se reservan para indicaciones específicas. Si la infección es recurrente debe determinarse la causa de la resistencia y obtener la terapia de acuerdo a la sensibilidad en el antibiograma.

Reinfecciones producidas por diferentes microorganismos, requieren evaluación urológica y después de erradicar la bacteriuria probablemente se deber usar profilaxis antimicrobiana (12).

En mujeres con pielonefritis o cistitis recurrente que tengan secreciones vaginales anormales se recomienda el uso de nitrofurantoina o trimetoprim-sulfametoxazol en forma profiláctica post-coito (12, 22, 34, 35, 36).

Pielonefritis crónica. Debe considerarse como una nefropatía crónica resultante de la infección bacteriana persistente en el riñón. Antes de iniciar cualquier tratamiento, se deben agotar todos los recursos paraclinicos que descarten la presencia de anomalía estructural de vías urinarias, el siguiente paso es establecer cualquier agente dominante de la infección, para lo cual se realizan urocultivos seriados con sensibilidad antimicrobiana, posteriormente definir el plan general de manejo desde exploración hasta preparación quirúrgica, en esas condiciones se requiere esterilizar previamente la orina, lo cual se logra con una ampicilina, cefalosporina o aminoglucósido. Posteriormente el proceso quirúrgico se administra por un lapso de uno a tres meses en dosis cada 12 horas algún sulfamídico, trimetoprim-sulfá, nitrofuranos o en adultos excepto embarazadas cinoxacina (9, 35, 36).

La pielonefritis enfisematosa es una forma severa de pielonefritis y puede ocurrir en pacientes con enfermedad de base como diabetes; tiene una mortalidad cercana al 50% y el tratamiento antibiótico sin drenaje no es suficiente.

La pielonefritis xantogranulomatosa es una rara enfermedad en la que el riñón llega a estar infiltrado por un material granulomatoso. Se requiere nefrectomía parcial o total cuando el riñón se encuentra extensamente comprometido (34).

COMPLICACIONES

Un proceso infeccioso del sistema urinario, es capaz de tener progresión silenciosa hacia una lesión renal y ser evidente con diferentes grados de insuficiencia renal, las complicaciones más frecuentes son la hipertensión y la insuficiencia renal (9).

MATERIAL Y EQUIPO

MATERIAL

	cantidad
- Tubos de ensaye con tapón de rosca (PYREX)	10
- Tubos de ensaye de 13 x 100 (PYREX)	100
- Pipetas graduadas de 1, 5 y 10 ml (PYREX)	30
- Vasos de precipitados de 100 y 250 ml (PYREX)	3
- Espátula	1
- Algodón (paquete con 200 gr)	2
- Portaobjetos	1
- Asa bacteriológica recta	1
- Asas calibradas (0.01 ml)	2
- Papel indicador de pH (Labstix)	1
- Caja de Petri (PYREX)	20
- Matraz volumétrico de 100 ml (PYREX)	1
- Tiras reactivas para uso visual (Bili-Labstix) (frasco)	2
- Mechero Fisher	1
- Sistema comercial para cultivo (Cultortn)	100
- Papel parafilm "M"	1
- Celdillas para espectrofotómetro redondas 12 x 15 (PYREX)	2
- Gradilla metálica para 60 tubos	2
- Marcador lápiz diamante	1
- Aceite de inmersión	1
- Frasco colector estéril	10

APARATOS

- Balanza analítica (Mettler DR-426)	1
- Microscopio (Karl Zeiss A-501)	1
- Incubadora (J.M. Ortiz S.I.C. D.G.E. 774)	1
- Espectrofotómetro (Sequoia-Turner modelo 340)	1
- Centrifuga Solbat J-12	1

REACTIVOS

1. Formulación del medio de cultivo ¹ CL-25 (g/l)	250 ml
Peptona de carne	7.0
Peptona de caseína	7.0
Lactosa	7.0
Urea	16.0
Rojo de fenol	0.024
Azul de timol	0.1
Agua destilada	1 L
pH final	7.4

¹La materia prima utilizada en la formulación del medio es de la marca SIGMA.

2. Tinción de Gram (SIGMA)
 - Cristal violeta
 - Lugol
 - Alcohol-cetona
 - Safranina
 - Agua común
3. Reactivo para Oxidasa 1% (Bigaux)
4. Peróxido de hidrógeno 3% (SIGMA)
5. Plasma normal humano
6. Reactivo de Kovacs (SIGMA)

PRUEBAS ESPECIALES

7. Coagulasa (plasma humano normal, una colonia de un cultivo de agar sangre de 24 hrs. de incubación)
8. Oxidasa (monoclorhidrato de p-aminodimetilanilina al 1%)
9. Catalasa (peróxido de hidrógeno 3%)

10. PRUEBAS BIOQUÍMICAS

- Citrato de Simmons
 - Súrnico (urea-sacarosa)
 - Malonato
 - Kligler
 - Agar de hierro y lisina (LIA)
 - MIO
 - Rojo de metilo
 - Voges Proskauer
- (19, 24)

11. MEDIOS DE CULTIVO

- Agar sangre de camero al 5%
 - Agar de Mac Conkey
- (19, 24)
- Comercial (Cultorin) (Bigaux Diagnostica)
- (14, 22)

12. Acido sulfúrico al 1% P/V 250 ml
13. Cloruro de bario al 1% P/V 15 ml

DISÑO DE INVESTIGACION

Se llevó a cabo un estudio de tipo prospectivo, transversal y comparativo, cuya finalidad es determinar la calidad diagnóstica, sensibilidad y rapidez del método de urocultivo en fase líquida.

Se trabajaron 100 muestras de orina de pacientes con diagnóstico probable de IVU en el laboratorio clínico del HRZ No. 25 'Gral. Ignacio Zaragoza' se utilizaron muestras de orina de pacientes internos y externos bajo los siguientes criterios de inclusión y de exclusión.

Criterios de inclusión.

- Orinas tomadas de una población en general.
- Orinas de pacientes que lleguen al laboratorio con diagnóstico probable de IVU.
- Orinas turbias o no que resulten positivas a cualquiera de los siguientes parámetros:
 - Nitritos
 - Actividad esteática de leucocitos

Criterios de exclusión

- Orinas turbias o no, que no presentaron reacción a la tira reactiva en ninguno de los 2 parámetros (Nitritos, leucocitos).
- Orinas negativas a leucocitos y bacterias en el sedimento urinario.

Variables

- Método Tradicional.

Positivo. Cuando el conteo colonial es $>100,000$ UFC/ml de orina.

Negativo. Cuando el conteo colonial es menor que $100,000$ UFC/ml de orina.

Contaminación. Cuando aparece más de un tipo de microorganismo en la muestra.

- Método semicuantitativo.

Positivo. Si el conteo colonial es mayor que $100,000$ UFC/ml de orina y además el medio de cultivo presenta cambio en la coloración, específica para cada microorganismo la cual ha sido establecida por la casa comercial de acuerdo a lo siguiente:

COLORACION	MICROORGANISMO(S)
Amarillo	<u>B. coli</u>
Naranja	<u>Klebsiella</u> sp <u>Staphylococcus</u> sp <u>Streptococcus</u> sp
Magenta	<u>Proteus</u> sp <u>Pseudomonas</u> sp

Método en fase líquida CL-25

Positivo: Si el conteo colonial es mayor que 100 000 UFC/ml de orina al interpolar en la curva estándar para ese género bacteriano y si además corresponde el cambio de coloración del medio al que hemos establecido, el cual es el siguiente:

COLORACION	MICROORGANISMO(S)	FUNDAMENTO
Amarillo	<u>E. coli</u>	Los gérmenes que fermentan la lactosa <u>E. coli</u> , <u>Klebsiella</u> sp, liberan metabolitos ácidos, con lo cual disminuye el pH haciendo virar el indicador con el consiguiente cambio de color del medio de cultivo
Naranja	<u>Klebsiella</u> sp <u>Streptococcus</u> sp <u>Staphylococcus</u> sp	
Morado	<u>Proteus</u> sp <u>Morganella morganii</u> <u>Klebsiella</u> sp	
Vino	<u>Staphylococcus aureus</u> <u>Pseudomonas</u> sp	
Original (rojo ladrillo)	<u>Candida</u> sp <u>Enterobacter</u> sp	

-Negativo: Si el conteo colonial menor que 10 000 UFC/ml de orina y además si el cambio de coloración del medio líquido no corresponde al que se ha establecido en nuestro estudio.

-Contaminación: Cuando existe un cambio de coloración en el medio de cultivo que no corresponde al patrón de colores establecido.

METODOLOGIA

A) Toma de la muestra.

- El paciente no debe tomar antimicrobianos mínimo 8 días antes.
- La muestra debe ser la primera orina de la mañana.
- Instruir al paciente que realice un aseo escrupuloso con agua y jabón de genitales externos.
- Desechar la primera parte de la orina y recolectar la micción media, tapando el frasco inmediatamente (frasco estéril).
- En niños se coloca una bolsa recolectora (dispositivo de machuca) previo aseo de genitales externos.
- Es conveniente en niños practicar urocultivos en serie de 3, uno diario.
- La muestra se debe sembrar inmediatamente o refrigerarla máximo dos horas.

B) Examen microscópico.

- Centrifugar 5 ml de orina a 1500 rpm/5 min.
- Desechar el sobrenadante.
- Colocar el sedimento entre porta y cubreobjetos.
- Leer al microscopio con objetivo seco fuerte.

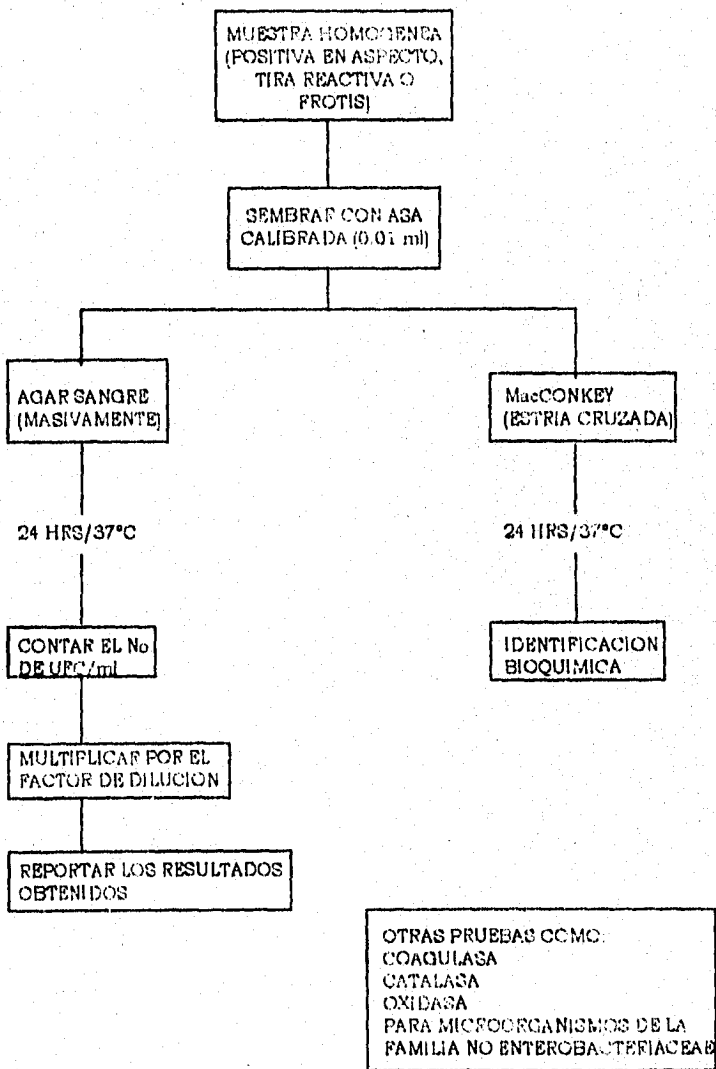
C) Se trabajarán las muestras de orina por triplicado, y en forma simultánea comparando los diferentes métodos de urocultivo, los cuales son los siguientes: Urocultivo tradicional, Urocultivo semicuantitativo y urocultivo en fase líquida.

UROCULTIVO TRADICIONAL

1. Quemar el asa pasándola por la llama (para descargar 0.01 ml) dejar que se enfríe, apoyándola en posición invertida sin tocar ninguna superficie.
2. Mezclar la orina cuidadosamente y destapar el recipiente.
3. Insertar el asa verticalmente en la muestra para que la orina se adhiera al arco.
4. Diseminar la orina cargada en el asa sobre la superficie de la placa con agar sangre de camero al 5% (por estria cerrada).
5. Sin quemar el asa, insertarla nuevamente en la orina en forma vertical para inocular la placa con agar MacConkey (por estria cruzada).
6. Incubar las placas durante 18-24 hrs. a 35-37°C en aerobiosis.
7. Contar el no. de UFC/ml de orina tomando en cuenta el factor de dilución.
8. Las placas en las que no hubo crecimiento o solo desarrollaron colonias muy pequeñas deben ser incubadas 24 hrs. más antes de desecharlas ya que el tratamiento con antimicrobianos o cualquier otro factor puede retardar el crecimiento inicial.

9. Del crecimiento en agar MacConkey seleccionar una colonia para realizar, frotis, tinción de Gram y siembre en pruebas bioquímicas (Kligler, LIA, MIO, Citrato de Simmons, Surraco, Malonato, FM y VP).
10. En caso de identificar microorganismos tales como Staphylococcus sp o Streptococcus sp, realizar pruebas especiales como catalasa, coagulasa.
11. En caso de identificación de Candida sp realizar la prueba de tubo germinativo.

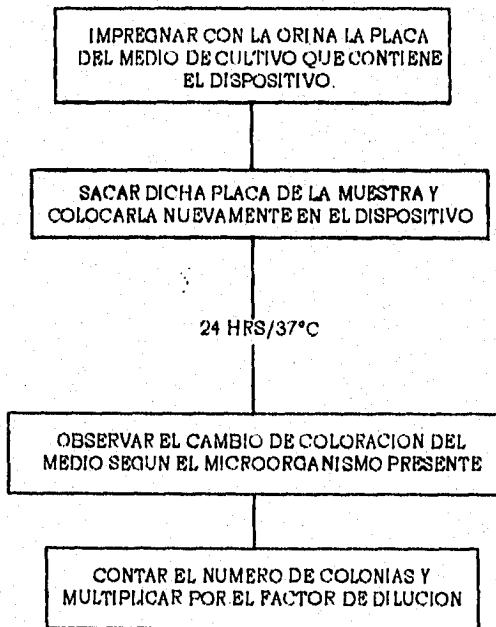
UROCULTIVO TRADICIONAL



UROCULTIVO SEMICUANTITATIVO

1. Quitar el tapón del frasco comercial del urocultivo (cultorin)
2. Impregnar con la orina homogeneizada la placa del medio de cultivo que contiene el frasco.
3. Sacar la placa de la muestra y colocarla nuevamente en el dispositivo.
4. Incubar durante 24 horas a 37°C.
5. Observar el cambio de coloración del medio.
6. Realizar el recuento del número de UFC/ml de orina y multiplicar por el factor de dilución.

UROCULTIVO SEMICUANTITATIVO



UROCULTIVO EN FASE LIQUIDA

1. Quitar el tapón de algodón al tubo que contiene el medio en fase líquida.
2. Inocular 0.1 ml de orina con pipeta estéril a 25 ml del medio CL-25.
3. Incubar a 37°C durante un periodo de 10-14 horas.
4. Observar el cambio de coloración del medio, según el microorganismo presente.
5. Realizar una dilución 1:5 en celdillas redondas para espectrofotómetro de la siguiente manera:

A 0.6 ml del cultivo obtenido adicionar 2.4 ml de agua destilada para obtener un volumen total de 3.0 ml.

6. Medir la turbidez de la muestra en el espectrofotómetro, según los siguientes datos:

Leer a 440 nm para:

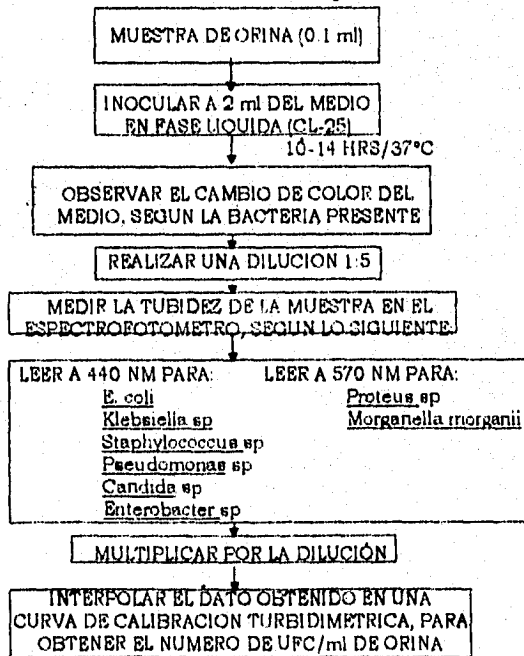
E. coli
Klebsiella sp
Staphylococcus sp
Pseudomonas sp
Candida sp
Enterobacter sp

Leer a 570 nm para:

Proteus sp
Morganella morganii

7. Multiplicar por la dilución hecha.
8. Interpolar el dato obtenido en una curva de calibración turbidimétrica específica para el microorganismo identificado, para obtener el número de UFC/ml.

UROCULTIVO EN FASE LIQUIDA



CURVAS DE CALIBRACION TURBIDIMETRICAS

1. Hacer una suspensión bacteriana en matras erlenmeyer de 250 ml, de un cultivo bacteriano (cepa control) en 100 ml de medio de cultivo en fase líquida CL-25.
2. Tomar la D.O. inicial en el espectrofotómetro ($t=0$).
 t =tiempo
3. Incubar la suspensión a 37°C durante 20 minutos.
4. Realizar en forma simultánea los pasos A y B que se indican a continuación:
 - A) Tomar 0.6 ml de suspensión con pipeta graduada y transferir dicho volumen a una celdilla redonda para espectrofotómetro adicionando 2.4 ml de agua destilada, mezclar y leer la D.O. de la muestra en el aparato a una longitud de onda de 440 ó 570 nm de acuerdo al microorganismo que se está trabajando.
 - B) Con el asa calibrada inocular la superficie de una placa con agar sangre de carnero al 5% en forma masiva.
5. Realizar los 4 últimos pasos a intervalos de 20 min. hasta obtener una serie de datos para graficar la D.O. en función del tiempo de generación (curva de crecimiento bacteriano).
6. Las cajas inoculadas del paso B se incuban a 37°C durante 24 horas.
7. Contar el No. de UFC/ml de orina tomando en cuenta el factor de dilución.
8. Graficar con este dato la D.O. obtenida del paso 5 en función del No. de UFC/ml de orina para obtener la curva de calibración turbidimétrica.

NOTAS:

- Todos los pasos que se indican se realizan en condiciones de esterilidad.
- Para cada curva de calibración, se siguen los mismos pasos (1 a 9), únicamente se cambia el microorganismo.

DISEÑO ESTADISTICO

En medicina una de las inquietudes más comunes es la evaluación de las pruebas de laboratorio; es primordial conocer la importancia que se debe dar a cada resultado de cada examen, misma que varía en función de la calidad de la prueba. Para valorar el método en fase líquida para el análisis microbiológico de muestras de orina enfocado al diagnóstico clínico, se determinó la eficacia de esta prueba, mediante la evaluación de la sensibilidad y especificidad.

En función del tipo de estudio que se realizó, los resultados obtenidos fueron sometidos a un análisis estadístico propuesto en el Teorema de Bayes (tabla no. 1).

TERMINOS ESTADISTICOS

Sensibilidad nosológica. Es la probabilidad de que la prueba resulte positiva cuando el individuo realmente tiene la enfermedad.

$P(+|E)$ = Probabilidad (P), de que la prueba sea positiva (+), dado (/), que el individuo tiene la enfermedad (E).

TABLA No. 1

TABLA DE CONTINGENCIA ESTADISTICA
(teorema de Bayes)

PRUEBA DE DIAGNOSTICO	PRUEBA DE REFERENCIA		
	+ E	- E	TOTAL
+	A	B	A + B
-	C	D	C + D
TOTAL	A + C	B + D	A + B + C + D

A= No. de casos verdaderos positivos
B= No. de casos falsos positivos
C= No. de casos falsos negativos
D= No. de casos verdaderos negativos

Fuente: Mendes I, 1990.

Especificidad nosológica. Es la probabilidad de que la prueba sea negativa cuando el individuo realmente no tiene la enfermedad.

$P(-/E) =$ Probabilidad (P), de que la prueba sea negativa (-), dado (E), que el individuo no tiene la enfermedad

Valor predictivo positivo o sensibilidad diagnóstica. Si la prueba es positiva, que probabilidad hay de que el individuo realmente tenga la enfermedad.

$P(E/+)$ = Probabilidad (P), de que el individuo este enfermo (E), dado (+), que la prueba es positiva (+)

Valor predictivo negativo o especificidad diagnóstica. Si la prueba es negativa que probabilidad hay de que el individuo no tenga la enfermedad.

$P(E/-)$ = Probabilidad (P), de que el individuo este enfermo (E), dado (-), que la prueba es negativa (-).

Fórmulas estadísticas aplicadas

$$\text{Sensibilidad nosológica} = P(+/E) = \frac{A}{A+C}$$

$$\text{Especificidad nosológica} = P(-/E) = \frac{D}{B+D}$$

$$\text{Valor predictivo positivo} = P(E/+) = \frac{A}{A+B}$$

$$\text{Valor predictivo negativo} = P(E/-) = \frac{D}{C+D}$$

$$\text{Índice de falsos positivos} = P(+/E) = \frac{B}{A+B}$$

$$\text{Índice de falsos negativos} = P(-/E) = \frac{C}{C+D}$$

$$\text{Potencia diagnóstica} = PD = \frac{A+B}{A+B+C+D}$$

RESULTADOS

RESULTADOS

A continuación se presenta el orden en que aparecen los resultados obtenidos.

1. Cuadro que asocia el número de UFC/ml de orina para cada método de urocultivo.
2. Tabla de contingencia estadística.
3. Datos estadísticos de la regresión lineal.
4. Gráficas de correlación entre los tres métodos de urocultivo.
5. Curvas de calibración turbidimétricas.
6. frecuencia de microorganismos causantes de IVU que fueron encontrados, de las 100 muestras de orinas trabajadas.
7. Figura 9 que corresponde al % de aislamiento de los microorganismos causantes de IVU.

Se estudiarón 100 muestras de orina de las cuales, sólo el 66% resultó de interés para nuestro estudio. Encontramos que la mayor frecuencia de infección en vías urinarias corresponde a E. coli (37%) y el 29% restante corresponde a otros microorganismos como Proteus sp., Klebsiella sp., Pseudomonas sp., entre otros.

Observamos que el método de la tira reactiva, así como el análisis microscópico de orina son métodos inespecíficos y sólo se utilizaron como una herramienta para detectar cantidades de bacterias no cuantificables en las muestras, es decir, se usaron como tamiz para efectuar un urocultivo posterior.

A continuación se presenta el siguiente cuadro que relaciona el no. de UFC/ml de orina para cada método de urocultivo.

DATOS OBTENIDOS DEL NUMERO DE UFC/ML DE ORINA POR CADA METODO DE UROCULTIVO

N	METODOS		
	T	C	FL
1	15	10	63
2	100	0	100
3	0	0	0
4	0	0	0
5	100	100	100
6	100	100	100
7	0	7	0
8	100	100	100
9	0	0	0
10	0	0	0
11	10	10	65
12	0	0	0
13	0	0	0
14	5	3	33
15	20	30	45
16	100	100	100
17	0.002	0.002	0
18	0.002	0.002	0
19	100	100	100
20	100	100	100
21	0.003	0.002	0
22	100	100	100
23	100	100	100
24	100	100	100
25	100	100	100
26	100	100	100
27	0	10	10
28	0	2	10
29	100	20	100
30	100	35	100
31	0	0	0
32	100	28	13
33	40	30	40
34	100	100	100
35	0	0	0
36	0	0	0
37	0	20	0
38	0	0	0
39	100	50	100
40	100	100	100
41	100	100	100
42	100	100	100
43	100	100	100
44	100	100	100
45	0	0	100
46	60	20	0
47	20	12	100
48	20	10	10
49	100	100	100
50	0.002	0	0

NP= NUMERO
DE MUESTRA
DE ORINA

T= METODO
TRADICIONAL

C= METODO
COMERCIAL

FL= METODO
EN FASE LIQ.
CLAS

N	METODOS		
	T	C	FL
51	0	0	0
52	100	100	100
53	100	0	0
54	20	12	88
55	100	100	100
56	20	17	70
57	100	100	100
58	0	0	0
59	20	0	0
60	100	100	65
61	0	0	0
62	100	100	30
63	100	100	100
64	100	100	100
65	100	40	100
66	0	0	0
67	0	0	0
68	100	25	30
69	0	0	0
70	30	100	15
71	0	0.002	0
72	100	50	70
73	100	100	100
74	100	100	100
75	100	100	100
76	100	100	100
77	100	100	90
78	100	100	100
79	0	0	0
80	30	100	100
81	100	100	20
82	100	100	100
83	100	0	100
84	100	30	100
85	100	40	100
86	100	100	100
87	100	100	100
88	0	0	0
89	0	0	0
90	100	100	100
91	0	0.002	0.002
92	80	100	85
93	100	100	100
94	100	100	100
95	0	0	0
96	100	100	100
97	100	100	90
98	100	100	100
99	0.002	0	0
100	0.002	0.002	0.002

TABLA DE CONTINGENCIA ESTADISTICA

El análisis estadístico se llevó a cabo integrando una tabla de contingencia estadística para determinar la sensibilidad, calidad diagnóstica y específica.

METODO	TRADICIONAL	SEMICUANTITATIVO	FASE LIQUIDA
A	52	41	42
B	0	2	3
C	0	11	10
D	48	46	45
S (%)	100	78.81	80.76
E (%)	100	95.33	90.75
VPP (%)	100	95.34	93.33
VPN (%)	100	80.70	81.81
IFP	0	0.045	0.006
IFN	0	0.1629	0.1618
PD (%)	100	87	87

- A VERDADEROS POSITIVOS
- B FALSOS POSITIVOS
- C FALSOS NEGATIVOS
- D VERDADEROS NEGATIVOS
- S SENSIBILIDAD
- E ESPECIFICIDAD
- VPP VALOR PREDICTIVO POSITIVO
- VPN VALOR PREDICTIVO NEGATIVO
- IFP INDICE DE FALSOS POSITIVOS
- IFN INDICE DE FALSOS NEGATIVOS
- PD POTENCIA DIAGNOSTICA

DATOS ESTADÍSTICOS DE LA REGRESIÓN LINEAL

A continuación se presentan los datos estadísticos de la regresión lineal y las gráficas (1, 2, 3) en las cuales se observa la correlación que guarda el unocultivo en fase líquida CL-25 con respecto de los métodos de unocultivo semicuantitativo (comercial) y tradicional

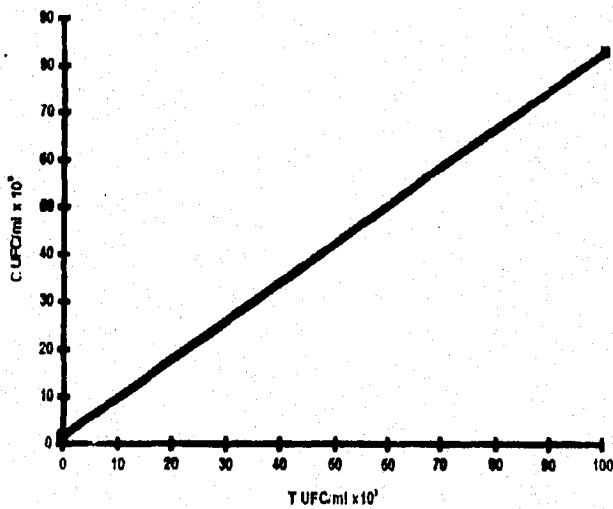
METODO TRADICIONAL RESPECTO DEL METODO COMERCIAL

$n = 100$
 $\Sigma x^2 = 5.5915 \times 10^{11}$
 $\Sigma x = 5820015$
 $\Sigma y^2 = 4.56157 \times 10^{11}$
 $\Sigma y = 4919012$
 $\Sigma xy = 4.66785 \times 10^{11}$
 $\bar{x} = 58200.15$
 $x_{c_n} = 46949.36145$
 $x_{c_{n-1}} = 17185.98366$
 $\bar{y} = 49190.12$
 $y_{c_n} = 46280.68814$
 $y_{c_{n-1}} = 46513.8417$
 $A = 1532.039122$
 $B = 0.8188652586$
 $r = 0.8306963994$
 $r^2 = 0.690056503$
 $P_1 = (0, 1532.039122)$
 $P_2 = (100000, 83418.5649)$

METODO TRADICIONAL RESPECTO EN FASE LIQUIDA

$n = 100$
 $\Sigma x^2 = 5.3925 \times 10^{11}$
 $\Sigma x = 5630019$
 $\Sigma y^2 = 5.22276 \times 10^{11}$
 $\Sigma y = 5582004$
 $\Sigma xy = 4.9249 \times 10^{11}$
 $\bar{x} = 56300.19$
 $y_{c_n} = 47146.45911$
 $y_{c_{n-1}} = 47383.9742$
 $\bar{y} = 55820.04$
 $y_{c_n} = 45900.79665$
 $y_{c_{n-1}} = 46132.0364$
 $A = 10678.82025$
 $B = 0.8017951582$
 $r = 0.8235543409$
 $r^2 = 0.678241$
 $P_1 = (0, 10678.821)$
 $P_2 = (100000, 90858.33)$

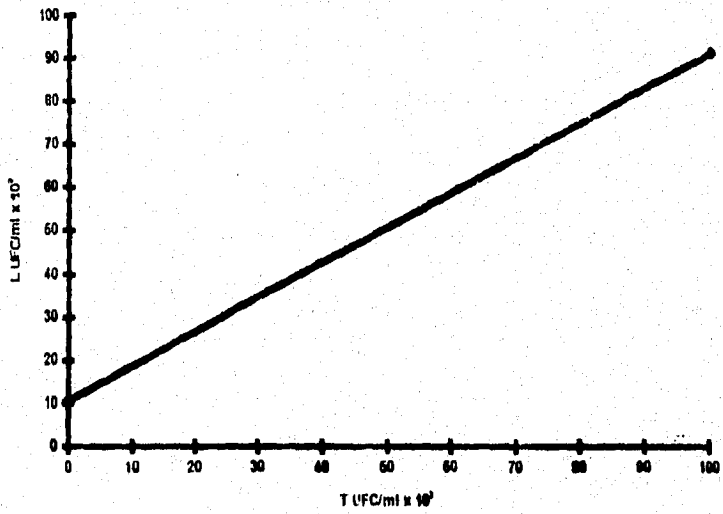
ANALISIS DE CORRELACION DEL METODO TRADICIONAL CON
RESPECTO AL METODO COMERCIAL



T: METODO TRADICIONAL
C: METODO COMERCIAL
r = 0.8306963994

GRAFICA No. 1

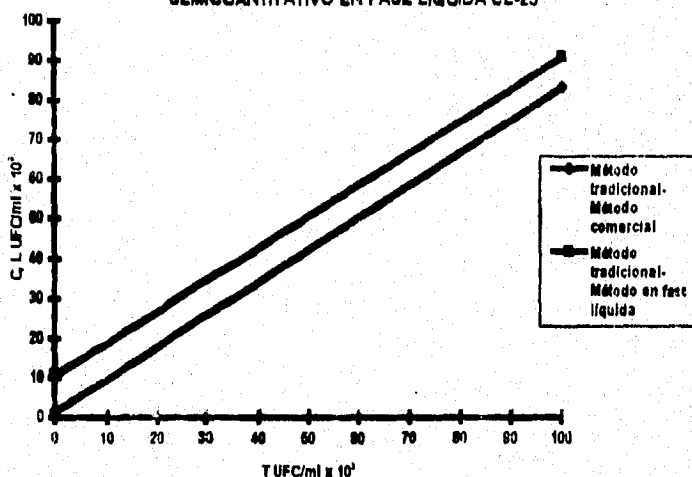
ANALISIS DE CORRELACION DEL METODO TRADICIONAL CON
RESPECTO AL METODO EN FASE LIQUIDA CL-25



T: METODO TRADICIONAL
L: METODO EN FASE LIQUIDA CL-25
r = 0.3235543909

GRAFICA No. 2

ANALISIS DE CORRELACION DE LOS METODOS DE UROCULTIVO
 TRADICIONAL, SEMICUANTITATIVO COMERCIAL Y
 SEMICUANTITATIVO EN FASE LIQUIDA CL-25



METODO TRADICIONAL - METODO COMERCIAL
 $r^1 = 0.8306983994$

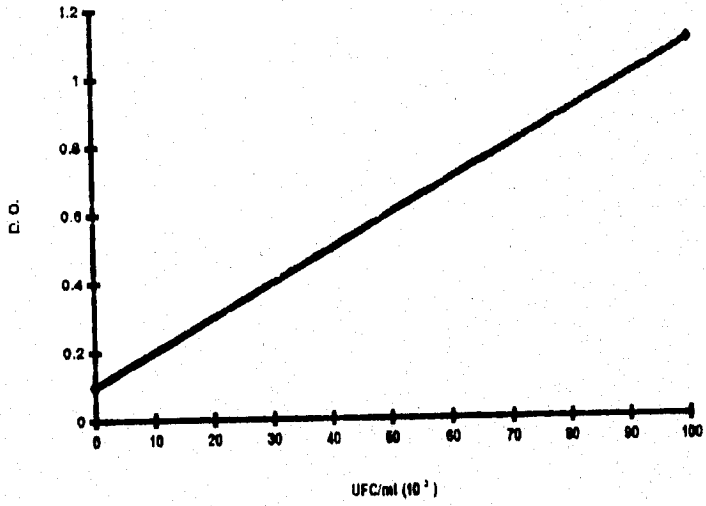
METODO TRADICIONAL - METODO EN FASE LIQUIDA
 $r^2 = 0.8235543909$

GRAFICA No. 3

CURVAS DE CALIBRACION TURBIDIMETRICAS

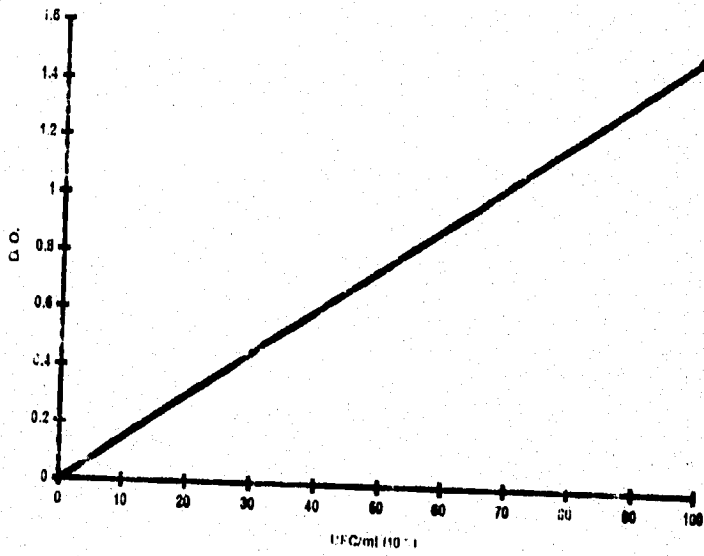
Las siguientes curvas de calibración turbidimétricas nos indican la D.O. a la cual es posible conocer el número de UFC/ml de orina de acuerdo al dato obtenido de la turbidez de la muestra y al microorganismo presente. Y además determinar cuando se tienen más de 100,000 UFC/ml de orina y por lo tanto una IVU (Gráficas 4, 5, 6, 7 y 8).

Escherichia coli



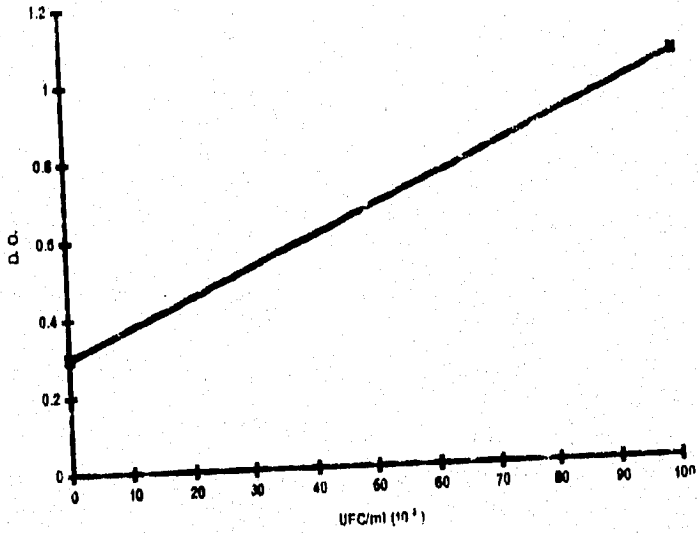
GRAFICA No. 4

Klebsiella sp



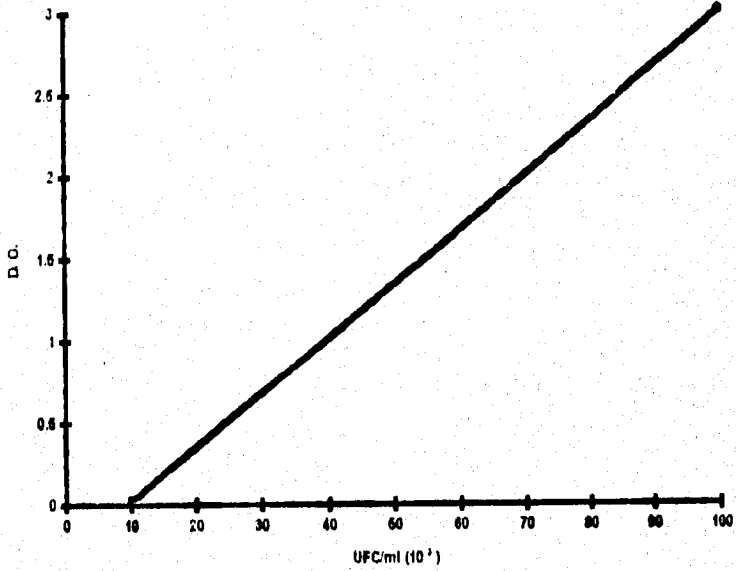
GRAFICA No. 5

Proteus sp



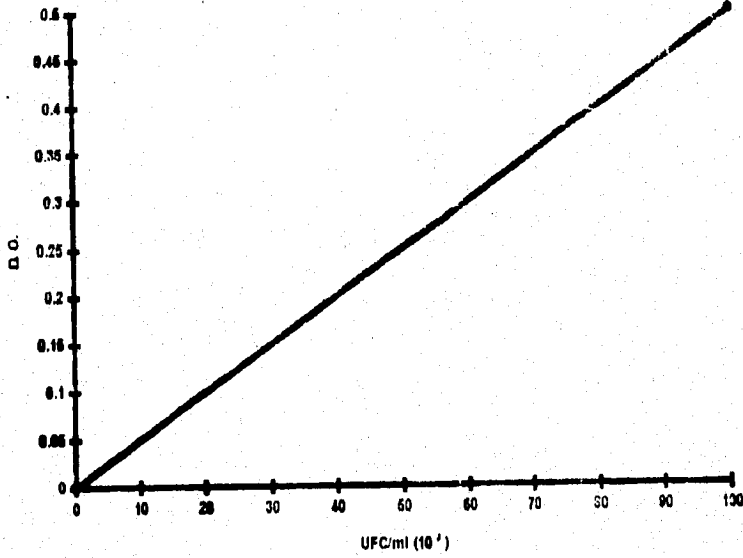
GRAFICA No. 6

Staphylococcus aureus



GRAFICA No. 7

Pseudomonas aeruginosa



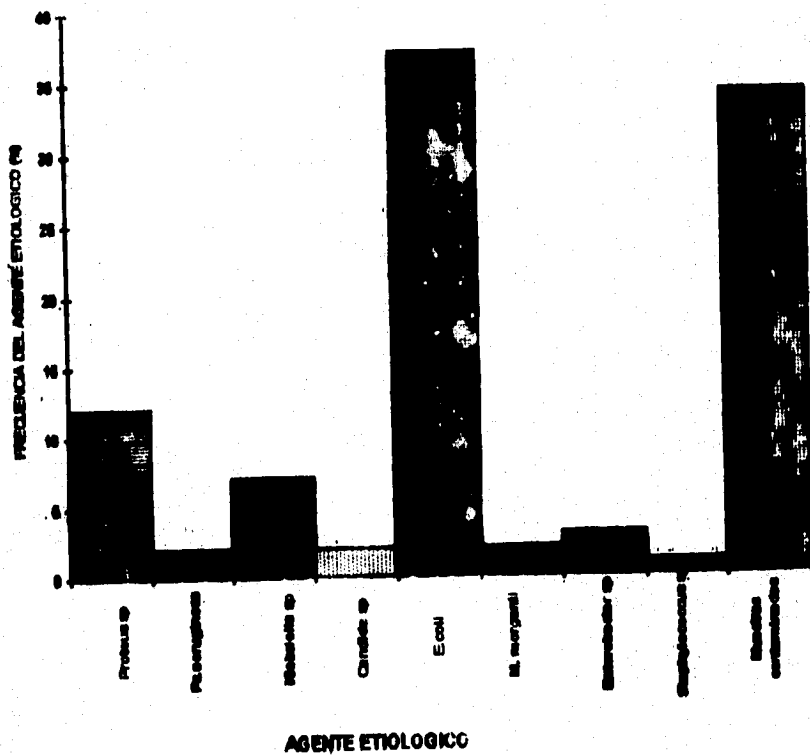
GRAFICA No. 8

GRAFICA 9

La siguiente gráfica corresponde al porcentaje de aislamiento de los microorganismos causantes de IVU, de los cuales tenemos:

- 37 % para E. coli
- 12 % para Proteus sp
- 7 % para Klebsiella sp
- 3 % para Enterobacter sp
- 2 % para Pseudomonas sp
- 2 % para Candida sp
- 2 % para Morganella morganii
- 1 % para Staphylococcus sp
- 34% restantes corresponden a muestras contaminadas

PORCENTAJE DE AISLAMIENTO DE LOS MICROORGANISMOS CAUSANTES DE I.V.U.



GRAFICA No. 8

ANALISIS DE RESULTADOS

ANÁLISIS DE RESULTADOS

De acuerdo a los valores de sensibilidad y especificidad obtenidos para el medio en fase líquida CL-25, tomando como referencia los medios de cultivo de uso tradicional, puede establecerse que el medio en estudio proporciona mayor poder de resolución que el cultivo de orina en los medios comerciales de acuerdo a los resultados que se muestran en la tabla de contingencia en cuanto a sensibilidad y especificidad cuyos valores resultaron ser de 80.76% y 93.75% respectivamente, los cuales apoyan el uso del medio en fase líquida CL-25 para utilizarlo como método de urocultivo en el diagnóstico microbiológico.

El método de urocultivo tradicional es el método que se utiliza actualmente como opción para obtener resultados más confiables en el urocultivo por lo tanto se ha tomado como parámetro de referencia para el estudio de el método en fase líquida (medio CL-25) y es por ello que se tomó con un 100% de confiabilidad.

SENSIBILIDAD. Para evaluar éste parámetro se probó el medio CL-25 con diferentes cepas bacterianas, específicamente E. coli, Klebsiella sp y Proteus sp, y se comprobó que el medio CL-25 es capaz de detectar cantidades mínimas de bacterias presentes en la muestra (1×10^7 UFC/ml de orina).

La sensibilidad del medio en estudio, resultó ser del 80.76%, por lo que consideramos a este valor elevado y por lo tanto al método en estudio con una sensibilidad aceptable para ser utilizado como método diagnóstico.

CONFIABILIDAD

Se probó la confiabilidad de nuestro medio mezclando diferentes bacterias para observar, primeramente el comportamiento de dicho medio en casos de infección de vías urinarias por más de un germen patógeno; éstas infecciones mixtas aunque son poco frecuentes llegan a presentarse, en raras ocasiones. En segundo término para establecer criterios de contaminación bacteriana y por lo tanto en estos casos pedir nueva muestra al paciente para comprobar si el resultado del urocultivo es debido a la IVU de mixto o si se trata de una contaminación bacteriana.

La confiabilidad del medio CL-25 resultó de un 87% por lo que consideramos a este valor elevado, el cual puede decir que la técnica que se ha utilizado es confiable, para ser utilizado en clínicas y por lo tanto proporcionar al paciente una terapéutica más temprana que la que se da con el urocultivo tradicional.

REPRODUCIBILIDAD

Al probar 10 cepas diferentes de cada uno de los siguientes géneros bacterianos: E. coli, Candida sp, Proteus sp, Klebsiella sp y Pseudomona sp, se observó que el comportamiento de cada género es de forma similar en cada uno de los métodos de urocultivo, esto es, que las bacterias del mismo género al ser inoculadas en los tres métodos desarrollan su metabolismo en forma habitual, es por ello que comprobamos que el método en fase líquida es muy reproducible, ya que además los resultados obtenidos en cada vez que se utilizó el método con muestras de orina resultaron de acuerdo a lo que se esperaba, es decir similar en los 3 diferentes métodos de urocultivo.

Además de comprobar estos 3 métodos de urocultivo, podemos mencionar al uso de otro, que aunque es cualitativo también presenta una valiosa ayuda en la detección de gérmenes en muestras de orina; nos referimos a la tira reactiva, la cual es

utilizó solamente como una herramienta para asegurar la positividad (presencia de bacterias) de las muestras. En este caso no recurrimos a su análisis estadístico debido a que no se contempló su estudio dentro de esta investigación, pero aún así, observamos la existencia de falsos positivos en algunas determinaciones.

ESPECIFICIDAD

En cuanto a la especificidad, ésta resultó con un valor de 93.75% por lo que éste valor nos indica que la calidad diagnóstica de este nuevo método de urinario es muy buena.

Tomando en consideración que tanto la sensibilidad como la confiabilidad y la especificidad resultaron con valores elevados, hemos considerado que el método puede utilizarse como un método de diagnóstico clínico para la identificación de gérmenes en vías urinarias responsables de la infección.

CONCLUSIONES

De acuerdo a los resultados obtenidos durante la parte experimental de nuestro estudio, podemos concluir lo siguiente:

El medio en fase líquida CL-25 es el método de elección para el diagnóstico temprano y eficaz de IVU ya que ofrece múltiples ventajas respecto a otros métodos de urocultivo. Dicho medio es confiable para aquellos microorganismos que se encuentran causando con mayor frecuencia IVU como lo son E. coli, Proteus sp y Klebsiella sp.

El método en estudio ofrece diversas ventajas con respecto a otros métodos de urocultivo como son:

- Identificación del uropatógeno responsable de la infección en un tiempo máximo de 14 horas.

- Menor costo del material y equipo empleado.

- La técnica puede llevarse a cabo en lugares donde no se tiene los medios necesarios para realizarse un urocultivo tradicional, por ejemplo hospitales de escasos recursos y en áreas rurales, así como en el consultorio del médico.

- La técnica y equipo empleado son de fácil manejo.

- Proporcionar al paciente con IVU, una terapéutica eficaz en un menor tiempo posible y por lo tanto abatir así los costos de estancia hospitalaria de los mismos, además de disminuir el elevado índice de morbilidad y mortalidad causado por este padecimiento.

ANEXOS

TRASCENDENCIA ECONOMICO-SOCIAL

Las infecciones de vías urinarias alcanzan altas cifras de morbilidad y mortalidad y consumen grandes cantidades del presupuesto federal, incluyendo los gastos tan elevados que ocasiona la estancia de los pacientes a nivel de hospital. El uso del medio en fase líquida CL-25 proporciona al paciente un diagnóstico y tratamiento mucho más temprano que los métodos de urocultivo habituales.

El costo reciente del urocultivo cuantitativo en laboratorios privados a la fecha tiene un valor aproximado a 7 salarios mínimos, el del urocultivo semicuantitativo en fase líquida CL-25 tiene un costo de una 12a. parte de un salario mínimo por cada determinación. Con esto se lograría la utilización de éste nuevo método de muy bajo costo para la identificación oportuna, rápida y eficaz del uropatógeno responsable de la infección en vías urinarias.

PRUEBAS BIOQUIMICAS UTILIZADAS

Las pruebas bioquímicas utilizadas fueron las siguientes

Citrato de Simmons

PRINCIPIO

Capacidad del microorganismo de utilizar citrato como única fuente de carbono para el metabolismo provocando alcalinidad en el medio.

En las bacterias el deudoblamiento del citrato comprende un sistema enzimático en la intervención de la coenzima A llamada citritasa o citrato deamolasa. La enzima requiere un catión bivalente para su actividad, que es suministrado por el magnesio o el manganeso.

Los productos obtenidos del metabolismo del citrato dependen del pH del medio. Si el pH aumenta (alcalino) se producen más acetato y formato con disminución de la producción de lactato y CO₂. Por encima de pH 7.0 no hay producción de lactato y los productos son:

Citrato -----> CO₂ + ácido fórmico + 2 ácido acético

Con pH ácido, el acetimetilcarbinol (acetoina) y el lactato son los principales productos de la utilización del citrato.

El medio utilizado para la fermentación del citrato contiene también sales de amonio inorgánicas (como fuente de nitrógeno), las cuales se deudoblan con la consiguiente alcalinidad.

Indicador de pH:

Azul de bromotimol.

Inoculación:

Estriación en el pico de flauta.

Interpretación:

Positivo. Crecimiento con color azul intenso en el pico de flauta.

Negativo. Sin crecimiento ni cambio de coloración (verde).

Sarrosos (urea-sacarosa)

PRINCIPIO

Detectar la presencia de enzimas que participan en la fermentación de sacarosa e hidrólisis de la urea.

Inoculación:

Se realiza por inoculación directa en el tubo de prueba.

Indicador de pH:

Rojo de fenol.

FERMENTACION DE SACAROSA.

Sacarosa. Determinar la capacidad de un organismo de fermentar (degradar) un carbohidrato específico incorporado a un medio básico, produciendo ácido, o ácido con gas visible.

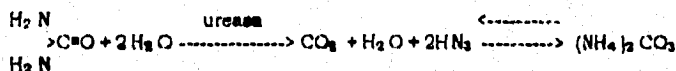
Interpretación:

Positivo: color amarillo.

Negativo: No hay cambio de coloración.

PRODUCCION DE LA ENZIMA UREASA.

Ureasa. Determinar la capacidad de un organismo de desdoblar la urea, formando 2 moléculas de amoníaco por acción de la enzima ureasa.



Esta actividad enzimática es característica de todas las especies de Proteus y se usa para diferenciar los organismos Proteus rápidamente positivos de otros miembros de las enterobacterias.

La ureasa es una enzima microbiana vinculada con la descomposición de los compuestos orgánicos.

Interpretación.

Positiva: color morado (hidrólisis de urea).

Negativa: sin cambio de color.

Malonato

PRINCIPIO

Determinar la capacidad de un organismo de utilizar el malonato de sodio como única fuente de carbono con la consiguiente alcalinidad del medio.

El malonato es un inhibidor enzimático de la enzima succinato dehidrogenasa que interfiere en la oxidación del ácido succínico en ácido fumárico, inhibiendo la acción catalítica de la enzima succinato-dehidrogenasa. El resultado final es que el microorganismo es incapaz de crecer y reproducirse a menos que pueda utilizar el malonato de sodio como única fuente de carbono.

La utilización de malonato de sodio libera sodio:



Inoculación:

Caldo: Inoculación directa en el tubo de prueba.

Agar: Inoculación por estría en el pico de llauta.

Indicador de pH:

Azul de bromotimol.

Interpretación:

Positiva: Color azul

Negativa: Verde (sin alteración) o amarillo (debida al ácido por la fermentación de la glucosa).

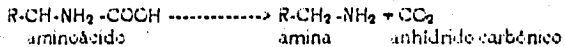
Agar con lisina y hierro (LIA)

PRINCIPIO

Se basa en la descarboxilación y desaminación de la lisina, formación de sulfuros y fermentación de la glucosa.

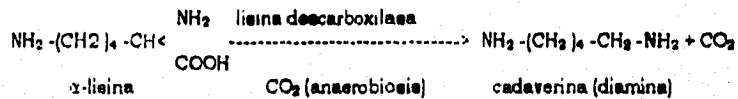
Descarboxilación. Las pruebas de las descarboxilasas se emplean fundamentalmente para determinar grupos bacterianos entre las enterobacterias.

La descarboxilación es el proceso por el cual las bacterias que poseen enzimas descarboxilases específicas son capaces de atacar a los aminoácidos en su grupo carboxilo (-COOH) dando una amina o diamina y anhídrido carbónico.



Estas descarboxilases son enzimas adaptativas o inducidas, son formadas por un microorganismo solamente cultivadas en un medio ácido en presencia de un sustrato específico, y los productos de la descarboxilación provocan una desviación del pH hacia la alcalinidad. El proceso es irreversible, no oxidativo y requiere una coenzima común, el fosfato de piridoxal.

El aminoácido α -lisina sufre la descarboxilación para dar cadaverina (diamina) y CO_2 por acción de la enzima específica lisina descarboxilasa.



Inoculación:

Se realiza por picadura y astra en la superficie del tubo.

Indicador de pH:

Púrpura de bromocresol y rojo de cresol.

Desaminación de la lisina. Proceso que comprende la descomposición del grupo amino (NH_2) de un aminoácido.

PRODUCCION DE H_2S .

Determinar si se ha liberado H_2S por acción enzimática, de los aminoácidos que contiene S produciendo una reacción visible color negro. La peptona, la cisteína y el tiosulfato son fuentes de azufre, pero las diferentes especies utilizan distintos compuestos o aminoácidos que contiene azufre para producir H_2S . La enzima responsable de esta actividad es la cisteinasa.

Interpretación.

Positiva:

- Extremo superior púrpura (descarboxilación de la lisina)
- Pico de flauta amarillo (fermentación de la glucosa)
- Producción de gran cantidad de H_2S (precipitado) en el extremo superior
- Color rojo pardo en el fondo y pico de flauta del tubo o solo en el pico de flauta (desaminación de la lisina).

Todo el tubo vira a amarillo por la fermentación de la glucosa, después el pico de flauta (aeróbico) revierte a púrpura por la desaminación de peptona.

Si la lisina es descarboxilada, el extremo inferior del tubo (anaeróbico) también revierte a púrpura (alcalino).

Se lee:

Superficie inclinada (alcalina, ácido, neutro)

Fondo (alcalino, ácido, neutro)

H₂S

Agar hierro de Kligler (AHIK)

PRINCIPIO

Determinar la capacidad de un organismo de atacar un carbohidrato específico incorporado en un medio de crecimiento básico, con producción o no de gases y producción de H₂S.

Inoculación:

Por picadura y estría en la superficie del tubo.

Indicador de pH:

Rojo de fenol.

El medio Kligler contiene 2 carbohidratos que son la lactosa 1% y la glucosa 0.1%. La fermentación se produce aeróbicamente (pico de flauta) o anaeróbicamente (capa inferior).

REACCION DE FERMENTACION DE LA GLUCOSA.

Algunos microorganismos fermentan ambos carbohidratos, otros ninguno. La fermentación se produce aeróbicamente (pico de flauta) o anaeróbicamente (capa inferior).

En el pico de flauta la glucosa es catabolizada inicialmente por medio del ciclo anaeróbico de Embden Meyerhof utilizado tanto por aerobios como por anaerobios para dar el intermediario (ácido pirúvico) que a su vez es degradado por el ciclo de Krebs, por los aerobios o anaerobios facultativos para dar CO₂, H₂O, y energía.

Lactosa -----> Glucosa + Galactosa
Glucosa -----> CO₂ + H₂O + Energía

En el fondo del cultivo existen condiciones anaerobias por las cuales la glucosa es metabolizada a través del ciclo de E. Meyerhof en ATP y ácido pirúvico que luego es convertido en diversos productos finales estables (ácido láctico y otros ácidos orgánicos, aldehídos, alcoholes, CO₂, hidrógeno y energía).

Glucosa -----> ácidos orgánicos, aldehídos, alcoholes
CO₂, H₂O, ATP

1) Fermentación de glucosa (K/A).

Organismos capaces de fermentar glucosa y no fermentan lactosa.

Pico de flauta alcalino (rojo). Indica que se ha producido la degradación aeróbica de la glucosa.

Después de 18-24 horas de incubación la baja concentración de glucosa (0.1%) ha sido consumida por completo y el organismo comienza a utilizar las peptonas del medio para su crecimiento.

El catabolismo de las peptonas libera amoníaco produciendo pH alcalino con el rojo de fenol.

- En el fondo del tubo (color amarillo) indica degradación anaeróbica de la glucosa, se forman productos ácidos dando un pH ácido.

Interpretación:

Positiva: Color amarillo en el fondo del tubo.

Negativa: Color naranja o rojo en el fondo del tubo.

2) Fermentación de lactosa y glucosa (A/A).

Algunos microorganismos tienen la capacidad de fermentar ambos carbohidratos en busca de elementos nutritivos dando una reacción ácido/ácido después de 18-24 horas de incubación.

Interpretación:

Positiva: Color amarillo en el pico de flauta.

Color amarillo en el fondo del tubo.

Negativa: Color naranja o rojo en el pico de flauta.

3) No fermentación de la lactosa ni de la glucosa (K/K ó K/sin cambio).

Algunas bacterias no fermentan ningún carbohidrato, obtienen sus nutrientes de las peptonas del medio.

Un microorganismo cuya reacción es (K/K) degrada la peptona tanto aeróbica como anaeróbicamente.

Un microorganismo cuya reacción es K/sin cambio degrada la peptona sólo aeróbicamente de ahí que solo el pico de flauta muestra el cambio de color (rojo).

PRODUCCION DE H₂S.

PRINCIPIO:

Determinar si se ha liberado H₂S por acción enzimática, de los aminoácidos que contienen azufre produciendo una reacción visible color negro.

La peptona, la cisteína y el tiosulfato son fuentes de azufre, pero las diferentes especies utilizan distintos compuestos o aminoácidos, que contienen azufre para producir H₂S. La enzima responsable de esta actividad es la cisteinasa. Cuando un organismo presenta esta enzima y se encuentra en anaerobiosis, reduce por hidrogenación el azufre presente en las peptonas o los aminoácidos produciendo H₂S.

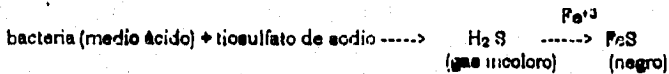
Los indicadores de H₂S son una sal, citrato férrico de amonio y una sustancia química, tiosulfato de sodio.

1a. etapa. La bacteria reacciona con el tiosulfato de sodio por medio de una reacción de reducción que da un sulfuro y un sulfato. Para reducirse el tiosulfato es necesario un medio ácido en la capa superior del medio KIA. Para proporcionar esta acidez se encuentran 2 carbohidratos.

El H₂S es un gas incoloro y por lo tanto hace falta un 2º indicador para detectar visiblemente su producción.

2a. Etapa. El H₂S reacciona con una sal pesada, citrato férrico de amonio para producir un precipitado negro insoluble, sulfuro ferroso. Se determina la producción de H₂S cuando el gas entra en contacto con ciertos metales (plomo, hierro o bismuto) y forma con ellos sulfuros.

El H₂S puede ser producido por la reducción de una fuente de S inorgánico como el tiosulfato (S₂O₃²⁻) o la reducción de azufre orgánico proporcionado por el R₁-SH del aminoácido cisteína de la peptona.



PRODUCCION DE GAS:

La producción de gas (CO₂ e hidrógeno) se manifiesta por el desdoblamiento del medio; una sola burbuja de gas, desplazamiento total del medio del fondo del tubo dejando un área clara o una ligera muesca del medio en el costado del tubo.

MIO

PRINCIPIO

Medio útil para determinar características tales como movilidad, producción de indol y producción de ornitina descarboxilasa que presentan algunos microorganismos.

Movilidad. Determinar si un organismo es móvil o inmóvil. Las bacterias tienen movilidad por medio de sus flagelos que se encuentran principalmente entre los bacilos aunque algunas formas de cocos son móviles. Los flagelos son de naturaleza proteica pueden desnaturalizarse si el microorganismo se somete a calor intenso.

Interpretación.

Positivo. Migración de la línea de siembra y difusión en el medio provocando turbiedad. Pueden mostrar crecimiento en estrías vellosas.

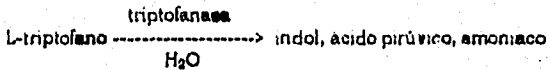
Negativo. Crecimiento bacteriano acentuado siguiendo la línea de siembra, el medio circundante se mantiene claro.

Indol

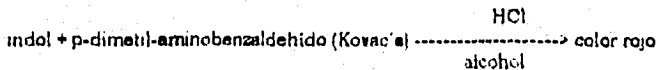
PRINCIPIO

Determinar la capacidad de un organismo de desdoblar el indol del aminoácido triptófano, que puede ser oxidado por ciertas bacterias para formar 3 metabolitos principales: indol, escatol (metilindol) e indolacético. Diversas enzimas intracelulares que intervienen en este proceso reciben el nombre colectivo de "triptofanasa" lo que indica un sistema completo de enzimas vinculadas con la producción de indol.

La degradación del triptófano libera indol, ácido pirúvico amoníaco y energía.



El indol puede detectarse por un reactivo que posee una combinación química que produzca un color definido, (reactivo de Kovac's o Ehrlich para dar un color rojo en la capa alcohólica por formación de una quinona colorida.



Interpretación:

Positiva: Formación de un anillo rojo en la superficie del tubo después de agregar unas gotas del reactivo.

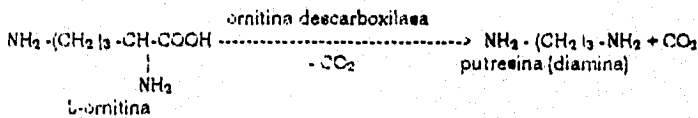
Negativa: No hay formación de anillo rojo.

Producción de ornitina

PRINCIPIO

Detectar la capacidad de ciertos microorganismos de descarboxilar la ornitina.

La L-ornitina es descarboxilada por la ornitina descarboxilasa, enzima inducida específica, para dar una diamina y anhídrido carbónico.



Interpretación:

Positiva: Color púrpura en todo el tubo.

Negativa: Color amarillo paja en el tubo.

Prueba de Voges-Proskauer

PRINCIPIO

Determinar la capacidad de un organismo de producir un producto final neutro, el acetilmetilcarbinol (acetoina) a partir de la fermentación de glucosa.

Los fermentadores de ácidos mixtos pueden ser divididos en 2 grupos: los que producen ácidos, pero no 2,3 butanediol y los que producen 2,3 butanediol como principales productos terminales, estos microorganismos son conocidos como los VP(+). Sin embargo la respuesta de VP se basa en la detección de acetoina.

La glucosa es metabolizada en ácido pirúvico intermediario clave en la glucólisis. A partir de este producto la bacteria puede seguir varios caminos, uno de ellos es la producción de acetoina por la descarboxilación de dos moléculas de ácido pirúvico, o bien por la oxidación del 2,3 butanediol en presencia de 2,3 butanediol deshidrogenasa.

Tanto la acetoina como el 2,3 butanediol son productos neutros de la fermentación de la glucosa. La acetoina puede ser metabolizada por uno de dos medios: la reducción a 2,3 butanediol o por oxidación de un diacetilo que a su vez puede ser metabolizado.

La producción de 2,3 butanediol provoca un aumento de la producción de anhídrido carbónico, con la producción de menos ácidos y la acumulación de acetilina, en presencia de oxígeno atmosférico y alcali, los productos finales neutros son oxidados en diacetilo con pH alcalino, que es el reactante para el color producido en la reacción. El α -naltol actúa como intensificador de color.

El pH de 7.5 es importante para que se lleve a cabo la respuesta de Voges-Proskauer.

Interpretación

Positivo: Color rojo intenso en la superficie que va generalizándose (después de 10 min.).

Negativo: Amarillo o cobrizo.

Prueba de rojo de metilo

PRINCIPIO

Comprobar la capacidad de un organismo y producir y mantener estables los productos terminales ácidos de la fermentación de la glucosa y vencer la capacidad amortiguadora del sistema.

Inoculación:

Se inocula directamente en el tubo de prueba.

Reactivos reveladores:

Rojo de metilo pH 4.0

La prueba del rojo de metilo, se basa en el empleo de un indicador de pH, rojo de metilo, para determinar la concentración de iones hidrógeno (pH) presente cuando un organismo fermenta la glucosa. La concentración de hidrogeniones depende de la relación gaseosa (CO_2 y H_2) que a su vez es un índice de los diferentes ciclos del metabolismo de la glucosa que muestran diversos organismos.

La prueba de RM es cuantitativa para la producción de ácido y requiere organismos positivos que produzcan ácidos fuertes (láctico, acético, fórmico) a partir de glucosa, por la vía de la fermentación ácido-mixta.

Las bacterias que siguen principalmente la vía de la fermentación ácido-mixta, producen a menudo suficiente ácido como para mantener el pH por debajo de 4.4 (límite ácido de viraje del color del indicador rojo de metilo) contra el sistema estabilizador del pH del medio.

Interpretación.

Positiva. Color rojo (presencia de ácido pH 4.4)

Negativo. Color amarillo.

ESTA TESIS NO DEBE
SALIR DE LA BIBLIOTECA

Prueba de la oxidasa

PRINCIPIO

La prueba de la oxidasa esta basada en la producción bacteriana de una enzima autocromo oxidasa que cuando se encuentra en presencia de oxígeno atmosférico, nitrobenzotetrazolol y un reactivo oxidasa, oxidan al reactivo para formar un compuesto coloreado, indofenol.

Interpretación.

Positivo. Las colonias se ponen negras o rosas.

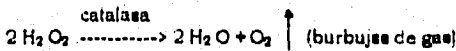
Negativo. No hay cambio de color o ligeramente rosa por los reactivos.

Prueba de la catalasa

PRINCIPIO

Detectar la presencia de la enzima catalasa en ciertos microorganismos.

Enzima catalasa. El peróxido de hidrógeno es producido por todas las cepas estafilocócicas y es convertido en H₂O y oxígeno por la acción de la catalasa.



Interpretación

Positiva. Formación de burbujas al adicionar el peróxido de hidrógeno.

Negativa. No hay formación de burbujas.

La catalasa es una hemoproteína; el grupo prostético esta formado por 4 átomos de hierro trivalente por molécula que retiene su estado oxidado durante la actividad enzimática.

El peróxido de hidrógeno se forma como un producto terminal oxidativo de la descomposición aeróbica de los azúcares, la flavoproteína reducida reacciona directamente con el oxígeno gaseoso por medio de la reducción de electrones para formar peróxido de hidrógeno. El peróxido de hidrógeno, si se deja acumular, es tóxico para las bacterias y provoca su muerte, la catalasa descompone el peróxido de hidrógeno en 2 moléculas de agua y oxígeno.

Prueba de la coagulasa.

PRINCIPIO

Coagulasa. Estas enzimas, que están unidas a la célula o son solubles, hacen que coagule el plasma al activar los pasos finales de la cascada de la coagulación a través de mecanismos que difieren de los fisiológicos humanos.

La coagulasa es una enzima proteica de composición química desconocida con actividad semejante a la protrombina, capaz de transformar el fibrinógeno en fibrina, provocando la formación de un coágulo visible en un sistema analítico adecuado. Se cree que la coagulasa funciona in vivo produciendo una barrera en el sitio de la infección estafilocócica.

Interpretación:

Positiva: Formación de un coágulo visible.

Negativa: No hay formación de coágulo.

BIBLIOGRAFIA

1. Aceves Rosa G.A., El urocultivo semicuantitativo: una opción para el diagnóstico temprano de IVU causados por uropatógenos diferentes a *E. coli*, Tesis profesional, FES Zaragoza UNAM, 1993.
2. Agullar J., Infecciones intrahospitalarias de vías urinarias, *Rev. Tiempo de hospital*, 1991, 2:14-16.
3. Arzaga Pérez MO, Utilidad y funcionamiento de las tiras reactivas en el laboratorio de análisis clínicos, Tesis profesional, ENEP Zaragoza UNAM, 1985.
4. Bailey-Scott, Diagnóstico Microbiológico, Panamericana México, 1986, pp 1183-1199.
5. Balowa A. Manual of Clinical Microbiology, 5a.,1991, pp 23-24.
6. Braude A.I., Enfermedades infecciosas, Vol II, Panamericana, Buenos Aires, 1984, pp 417-430.
7. Brock T.D., Biología de los microorganismos, 2a., Omega, Barcelona 1978, pp 263-275.
8. Buzón L.M., Infecciones urinarias, *Rev. Infectología*, 1989, IV(1):2543-2547.
9. Calderón J.B., Conceptos clínicos de infectología, Méndez Editores, México, 1986, pp 263-275.
10. Corlett R.C., Infección de vías urinarias, *Rev. mundo médico*, 1986, XIII(147):59-69.
11. Egidio de los Ríos, Principales síntomas de enfermedad renal y grandes síntomas en patología renal, *Rev. Medicina*, 1987, 28(2):56-75.
12. Gamarra H.G., Infección urinaria, *Rev. UIS salud*, 1990, 18(2):71-75.
13. González Saldaña N., Infectología clínica pediátrica, 4a., Trilla, México 1988, pp 432-450.
14. Hardin y G.K.M., Urinary Tract Infection Localization in women, *J.A.M.A.*, 1978, 240:1147-1158.
15. Hight R.S., Prueba macroscópica fisicoquímica para el monitoreo en uroanálisis, *Bioquímica*, 1989, 14(1):22-25.
16. Hoepfich P.D., Tratado de Enfermedades infecciosas, Salvat editores, Barcelona, 1982, pp 156, 157.
17. Holloway J.W., Rytel, Manual de enfermedades infecciosas: Infección de vías urinarias, Interamericana, México, 1986, pp 158-168.
18. Kaye D., Clínicas Médicas de Norteamérica: Infecciones de vías urinarias, Vol. 2, Interamericana, México, 1991, pp 319-332 y 511-530.

19. Kiely B, Rees J.P.R., Sex differences in urinary tract infections in childrens, *J. Medicine*, 1984, 77 384-387
20. Koneman, E.W., *Diagnóstico Microbiológico*, Panamericana, México, 1983, pp 24-26 y 152-235.
21. Lawrence R.M., Current therapy of urinary tract infections and pyelonephritis. *Seminars Nephrol*, 1986.
22. Leiner S, Maya M. Cistitis y su tratamiento. *Rev infectologia*, 1993, 13(1) 32-39
23. Lennette-Balows, *Manual de microbiología Clínica*, 4a., Médica Panamericana, Buenos Aires, 1987, pp 114-115.
24. Lipaky B., Urinary Tract infections in men, *An Intern Med.*, 1989, 110:138-150.
25. Mac FADDIN, *Pruebas bioquímicas para la identificación de bacterias de importancia clínica*, Panamericana, México, 1980, pp 14-282-
26. Maskell P., *Infección de las vías urinarias*, Científica PLM, México, 1985, pp 9-29, 32-35 y 41-48.
27. Mendoza Nuñez, V.M., El urocultivo semicuantitativo una opción para el diagnóstico de infecciones de vías urinarias en el primer nivel de atención médica. *Memorias del III Congreso Nacional de atención primaria a la salud*, 24-34, 1991.
28. Navarro Pierra R., *Introducción a la Bioestadística, Análisis de variables binarias*, McGrawHill, México, 1988, pp 65-78.
29. Pelczar M.J., *Microbiología*, McGrawHill, 2a , México, 1984, pp 105-108.
30. Ortiz Q P., *Infecciones de vías urinarias*, *Rev. Pac. Med.*, 1980, 23(3):36-44.
31. Ponce de León R.S., *Infecciones intrahospitalarias y calidad de la atención médica ¿Es posible ahorrar en salud?*, *Salud Pública*, 1991, 33(1):3-8.
32. Romero R., *Exploración, formas especiales y procesos de transmisión sexual*, *Rev. Urología*, 1986, 4: 135-142.
33. Rutz A.J., *Utilidad de la tira reactiva como tamiz del sedimento urinario*, *Bioquímica*, 1990, 15(1):31-34.
34. Safran, Siegel, *Pyelonephritis in adult women: inpatient versus outpatient therapy*, *Am. J. Med.*, 1989, 85:793-798.
35. Scott M., Tenner, *Pielonefritis aguda*, *Rev. Medicina de posgrado*, 1993, 2(7):52-61.
36. Truck M., *Urinary Tract infections*, *Hosp. Pract.*, 1980, 15:49.
37. Villalpando Romo, *Estudio clínico de sensibilidad y especificidad del urocultivo semicuantitativo. Tesis profesional*, ENBP Zaragoza UNAM, 1991.
38. Volk A.W., *Microbiología Médica*, 3a., Interamericana, México, 1988, pp 573-577.