



198  
UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA  
DE MÉXICO

FACULTAD DE QUÍMICA

**PRINCIPALES FACTORES DE VIRULENCIA  
DE *Escherichia coli* UROPATÓGENA**

TRABAJO MONOGRAFICO DE  
ACTUALIZACIÓN  
QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:  
**QUÍMICA FARMACÉUTICA**  
**B I Ó L O G A**  
P R E S E N T A :  
NATALIA SALDIVAR SÁNCHEZ

México, D.F.

2002.

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN



EXAMENES PROFESIONALES  
FACULTAD DE QUÍMICA



Universidad Nacional  
Autónoma de México



**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.

## JURADO ASIGNADO

Presidente	Prof. Raúl Garza Velasco
Vocal	Profra. María Guadalupe Tsuzuki Reyes
Secretario	Profra. Ruth Edith Martín Fuentes
1er. Suplente	Prof. Rolando Salvador García Gómez
2º. Suplente	Profra. Norma Trejo Medina

Sitio donde se desarrolló el tema:

Bibliotecas de la Facultad de Química, Medicina, Investigaciones Biomédicas y SSA.

Asesor

  
Q. F. B. Raúl Garza Velasco

Sustentante

  
Natalia Saldivar Sánchez

## **AGRADECIMIENTOS**

A mi mamá por la paciencia, apoyo y comprensión, pero sobre todo por el amor y el ejemplo que siempre me ha brindado.

A mi papá por el amor que siempre me ha demostrado (muy a su manera), y porque siempre me ha apoyado en todo.

A mi hermano porque ha sabido ser mi amigo, mi consejero y mi guía en los momentos más difíciles de mi vida; por saber cuáles son las palabras de aliento y cariño que más he necesitado y que aprecio infinitamente.

A mis abuelitos por siempre estar pendientes de mí y demostrarme su amor en cada uno de los detalles que tienen conmigo.

Especialmente a Jorge, quien por más de cuatro años y medio me ha entregado su amor, apoyo, comprensión y motivación para seguir adelante en cada momento que lo he necesitado. Soy muy afortunada por haberlo conocido y por tenerlo a mi lado.

**A mis amigos: Aracely, Janette, Ivonne, Jenny, Pamela, Rosario, Silvia, Angeles, Iván, Mirén, Karen, Christian H., Mauricio C. y César A. por compartir conmigo momentos, sentimientos y palabras muy especiales, cada uno de ellos en distintas etapas de mi vida.**

**A todos y cada uno de mis compañeros de la Facultad, porque de todos tuve algo importante que aprender.**

**A todos mis profesores de la Facultad de Química, especialmente a Guadalupe Tsuzuki, Rosa Lorenia, Socorro Alpizar, Francis Navarro y Adriana Mejía, quienes independientemente de lo académico, me ayudaron a crecer y a madurar como persona. Muy especialmente a Raúl Garza por la paciencia, dedicación y comprensión que me brindó siempre.**

**A la familia Rosas por el cariño y las atenciones que me han brindado desde que los conocí.**

**Al Dr. Jaime López por ayudarme profesionalmente a seguir adelante en cada situación que pareciera imposible, y por demostrar que es un profesional en su especialidad.**

## **DEDICATORIA**

A mi abuelita Gloria por ser una mamá para mí, por haberme educado y haber dedicado muchos años de su vida a cuidarme. Por ser el mayor ejemplo de muchísimas virtudes y principios en mi vida. Por seguir alegrando y aligerando mis días.

¡¡¡Muchas gracias por el gran amor que siempre me has dado!!!

**INDICE**

Página

<b>INTRODUCCIÓN.....</b>	<b>1</b>
<b>OBJETIVOS.....</b>	<b>2</b>
<b>I. Las infecciones del tracto urinario (UTI's)</b>	
i. Etiología.....	3
ii. Patogenia.....	9
iii. Anatomía patológica y manifestaciones clínicas.....	12
<b>II. Principales factores de virulencia de <i>Escherichia coli</i> uropatógena (UPEC)</b>	
i. Adhesinas.....	29
ii. Lipopolisacáridos.....	46
iii. Polisacárido capsular.....	53
iv. Hemolisinas.....	53
v. Sideróforos.....	57
<b>III. Diagnóstico y tratamiento</b>	
i. Diagnóstico de laboratorio.....	70
A. Métodos bioquímicos.....	71
B. Juegos de reactivos bacteriológicos.....	74
C. Métodos automatizados.....	75

	Página
D. Reacción en cadena de la polimerasa (PCR).....	83
ii. Tratamiento.....	92
iii. Prevención.....	96
<b>CONCLUSIONES.....</b>	<b>99</b>
<b>BIBLIOGRAFIA.....</b>	<b>102</b>

## INTRODUCCIÓN

Sin lugar a dudas, las infecciones urinarias figuran entre las entidades clínicas asociadas a un mayor número de consultas médicas y constituyen un conjunto de padecimientos con etiologías, patogenias y localización diversas ( 51, 90, 11, 21, 67).

En cuanto a sus principales agentes causales, destaca muy claramente *E. coli*, especie que debido a los malos hábitos higiénicos del individuo, se desplaza desde el tracto gastrointestinal hasta el urinario (28, 85, 97); además en mujeres adultas jóvenes, el 10 al 30 % de los casos se asocia a *Staphylococcus saprophyticus* (93). De cualquier manera, en los procesos agudos suele encontrarse un patógeno único mientras que, en los crónicos, pueden detectarse a dos o más especies (97).

Tocante a su localización, las infecciones urinarias se dividen en uretritis, cistitis, pielonefritis y prostatitis, aunque es común encontrar que la uropatología está presente en más de una región anatómica del tracto urinario (32, 51,85, 97).

Evidentemente, la pielonefritis representa la afección urinaria más grave, ya que al margen de que puede fungir como origen de graves septicemias, la falta de tratamientos oportunos y adecuados puede conducir a la pérdida de la función renal (28, 51, 97).

El presente trabajo aborda las principales temáticas actuales relacionadas con las cepas uropatógenas de *E. coli*, incluyendo la referente a sus principales factores de virulencia y las implicadas en la patología y el diagnóstico de laboratorio de las frecuentes enfermedades urinarias ocasionadas por dicho microorganismo.

## **OBJETIVOS**

- Describir el origen y evolución de las más relevantes afecciones debidas a clonas uropatógenas de *Escherichia coli*, mencionando los aspectos sobresalientes en cuanto al diagnóstico de laboratorio y a la terapéutica correspondiente.
- Señalar los principales factores de virulencia de este microorganismo, subrayando sus respectivos papeles en las infecciones urinarias y asociándolos a los elementos genéticos que codifican para su producción.

## I. LAS INFECCIONES DEL TRACTO URINARIO

### i. Etiología

Dependiendo de la población estudiada y de la fuente que se consulta, puede establecerse que *E. coli* es el agente causal de más del 90 % de las infecciones urinarias extranosocomiales no complicadas (susceptibles de ceder a la acción de una amplia variedad de antibióticos administrados por vía oral); la cifra restante implica a otras bacterias, virus, parásitos y a otras etiologías (TABLA 1)(32, 61, 67, 85, 93).

Tabla 1. Etiología de los padecimientos de vías urinarias \* (51).

Urethritis	Cistitis	Pielonefritis
<i>E. coli</i>	<i>E. coli</i>	<i>E. coli</i>
Enterobacterias	<i>Proteus</i>	<i>Proteus</i>
<i>Staphylococcus</i>	<i>Klebsiella</i>	<i>Klebsiella</i>
Masturbación	<i>Pseudomonas</i>	<i>Pseudomonas</i>
Traumatismo	<i>Staphylococcus</i>	<i>Staphylococcus</i>
Jabón	<i>Streptococcus</i>	<i>Candida</i>
Medicamentos	<i>H. influenzae</i>	<i>Enterobacter</i>
Alergia	<i>Candida</i>	<i>Enterococcus</i>
Eritema multiforme	Adenovirus tipo II	Bacterias anaerobias
Otras	Fármacos (ciclofosfamida, metenamina)	Otras

\* La tabla no incluye afecciones de transmisión sexual.

Por su parte, las infecciones urinarias adquiridas dentro de los hospitales, son causadas frecuentemente por patógenos más resistentes, y suelen requerir de antibióticos administrados por vía parenteral (51, 97).

Las infecciones del tracto urinario (UTI's) constituyen una de las principales causas de consulta y hospitalización en pacientes de cualquier edad; por lo regular, entre los lactantes y recién nacidos son más comunes en los varones pero, en edades posteriores, predominan en las mujeres, alcanzando cifras de 10 a 15 % entre las mayores de 60 años y de 4 a 10 % en las embarazadas (51, 67, 85, 90).

Aunque existen más de 150 cepas de *E. coli*, la mayor parte de las infecciones urinarias son ocasionadas por sólo 5 serotipos: O1, O4, O6, O18 y O75. La adherencia bacteriana es mediada por las fimbrias o *pili*, llegando a existir cierta interrelación entre la clase fimbrial y el tipo de infección; por ejemplo, las cepas de *E. coli* que poseen fimbrias P causan pielonefritis en vías urinarias que no presentan patologías previas, mientras que las clonas de la misma especie carentes de fimbrias P sólo provocan dicha enfermedad cuando ocurre reflujo vesicoureteral (32, 93, 96, 97).

**UTI's adquiridas en la comunidad.** A diferencia de las infecciones urinarias que se contraen dentro de los hospitales, las adquiridas en la comunidad son causadas principalmente por cepas uropatógenas de *E. coli* (> 80% de los casos). *Klebsiella sp*, *Proteus sp*, *Enterobacter sp*, *Pseudomonas sp* y otras enterobacterias que afectan en forma predominante a niñas menores de 10 años y a mujeres de 20 a 40 años de edad (32, 55, 57, 67, 93).

En otras palabras, los varones son afectados en mucho menor grado por esta clase de patologías, dado que la distancia entre el recto y la parte externa de la uretra es mayor que en las mujeres y, además, la apertura uretral femenina se localiza prácticamente dentro de la vagina –una región húmeda y colonizada por microorganismos de la flora habitual-, en tanto que la uretra masculina es mucho más larga (14, 57, 85).

Evidentemente, no todas las mujeres manifiestan la misma predisposición a contraer UTI's, ya que también gravitan factores de índole genético; análogamente, en los niños influyen las anomalías parcialmente obstructivas que originan la acumulación de orina en ciertas áreas (85, 90).

Al parecer, las pacientes que padecen infecciones urinarias recurrentes presentan una mayor densidad de los receptores superficiales mucosos que

fungen como sitios de adherencia para las bacterias, e inclusive, es probable que ciertas glicoproteínas superficiales de la vejiga (conocidos como antígenos de Lewis) ejerzan algún efecto protector, cubriendo a los receptores de las adhesinas bacterianas, por lo que mujeres poco productoras de este compuesto resultan más susceptibles (85, 92, 97).

Otros factores promotores de UTI's son la propia actividad sexual -la lubricación mecánica de la uretra durante el coito puede facilitar el ingreso de microorganismos a la uretra-, así como el uso de diafragmas y espermicidas (85, 97).

Las infecciones urinarias adquiridas en la comunidad se deben en su inmensa mayoría a procesos ascendentes, dado que el agente causal primero se establece en uretra (uretritis) y después en la vejiga (cistitis), originando síntomas tales como sensación de ardor al orinar; eventualmente, la patología continúa avanzando hasta los riñones, en donde origina una pielonefritis que comúnmente se acompaña por una intensa destrucción tisular, fiebre y dolor de espalda, existiendo el riesgo potencial de que ocurra una septicemia (32, 51, 85, 97).

**UTI's de origen intrahospitalario.** Las UTI's adquiridas dentro de los hospitales y asilos usualmente se asocian al uso de catéteres urinarios; de hecho, aproximadamente el 50 % de los pacientes en quienes se ha implantado una sonda por más de 5 días desarrolla infecciones en la vejiga y, en varios casos, el retiro del dispositivo es seguido por la distribución de las bacterias, lo que origina que el proceso no se manifieste sintomático (28, 57, 85, 90).

Por lo regular, aunque las bacterias alcancen la vejiga y crezcan en las áreas donde se acumula la orina, generalmente no logran permanecer una vez que el flujo normal de orina se reestablece. Sin embargo, algunos individuos desarrollan infecciones del tracto urinario, algunas de las cuales pasan inadvertidas, especialmente cuando se trata de pacientes en estado de coma, seniles o que reciben terapias contra el dolor (28, 85).

Otros factores de riesgo para los pacientes hospitalizados son las obstrucciones u otras anomalías del tracto urinario y la incontinencia fecal. En este sentido, es preciso tomar en cuenta que las UTI's suelen fungir como el origen de septicemia en los internos y que, una vez invadido el torrente sanguíneo, cualquier órgano puede ser afectado posteriormente, lo que incluye la posibilidad de que ocurran neumonías, meningitis y otras patologías graves. Por obvio, en los pacientes inmunodeprimidos es aún más probable que la infección urinaria progrese hasta invasión sistémica.

Cabe señalar que no todas las UTI's aparecen por vía ascendente, ya que las bacterias causantes de septicemias originadas por otra clase de patologías (por ejemplo, previa neumonía) pueden establecerse en los riñones e inducir padecimientos renales y, posteriormente, en vejiga y uretra. En este caso, se alude a infecciones urinarias de origen hematógeno, las cuales son menos frecuentes que las exógenas ascendentes y, mientras en estas últimas los microorganismos predominantes son los bacilos Gram negativos, en aquéllas destacan las bacterias Gram positivas, tales como *Staphylococcus aureus* (14, 32, 51, 85, 97).

En cuanto a la bacteriuria asintomática (ABU), los estudios revelan cifras que van desde 0.1 % en los niños hasta 2 % en las niñas escolares y 5 % en los individuos hospitalizados; sin embargo, la interpretación de estos datos debe considerar el método de recolección de la orina: micción media, cateterismos o punción suprapúbica, pues las cuentas son mayores en el primero y menores en el último, debido a que en éste existen menos posibilidades de obtenerse muestras contaminadas (1, 28, 85, 87).

Si bien no se han descrito factores geográficos ni estacionales asociados a los padecimientos urinarios de origen microbiano, es claro que, por su frecuencia y gravedad, estos destacan entre las principales infecciones intrahospitalarias de

los adultos; dicha afirmación se desprende de la utilización de métodos invasivos de exploración (vía sondas, catéteres, etc.), de que los agentes etiológicos más comunes son resistentes a los medicamentos antimicrobianos y del infortunado crecimiento de la población de pacientes inmunodeprimidos (28, 85, 90).

## **ii. Patogenia**

Con excepción de la porción inferior de la uretra, en condiciones de salud las vías urinarias son estériles, merced a una serie de mecanismos de defensa entre los que figuran el libre flujo de la orina en todo el tracto y el completo vaciamiento de la vejiga. En tal contexto, las infecciones urinarias casi siempre son poco graves y fácilmente controlables, siempre que no incidan otros factores que compliquen la enfermedad (67, 85).

Lógicamente, las alteraciones anatómicas o funcionales en las vías urinarias, así como el vaciamiento incompleto de la vejiga, el reflujo vesicouretral y los cuerpos extraños (como los cálculos y las sondas), representan importantes factores que promueven la infección (36, 90, 97).

Por su parte, numerosos estudios experimentales han demostrado la trascendencia de diversos factores de virulencia entre los microorganismos que ocasionan las infecciones urinarias, destacando los *pili*, que promueven la adherencia bacteriana a las células epiteliales, el antígeno K de las cepas

virulentas de *E. coli*, correspondiente a un polisacárido capsular que parece ser determinante para que el bacilo invada el sistema urinario, e inclusive, el lipopolisacárido (LPS) de las bacterias Gram negativas, que induce severas reacciones inflamatorias locales y facilita el ascenso de los agentes causales al provocar que disminuya la peristalsis ureteral.

Así mismo, se ha detectado un sorprendente tropismo renal de algunos serotipos de *E. coli*, el cual aparenta ser definitivo en la patogénesis de la pielonefritis (32, 83, 85, 93).

La vía de acceso hematógena representa la ruta de adquisición de las UTI's, tanto en los recién nacidos que experimentan episodios septicémicos, como en los individuos mayores con infecciones sistémicas graves y en los pacientes inmunodeprimidos. Evidentemente, la vía ascendente es la de mayor frecuencia: en las mujeres, porque la vulva y el orificio vaginal contienen numerosas bacterias en condiciones de salud –sobre todo cuando no se tienen hábitos higiénicos adecuados– y, en el varón, porque también existen microorganismos en el prepucio. Sin embargo, el intestino constituye el principal reservorio de bacterias causantes de infecciones urinarias, entre las que destaca *E. coli*; de hecho, se ha encontrado al mismo serotipo en la orina y en las heces de los pacientes. Así mismo, la uretra distal suele estar colonizada por microorganismos entéricos y perineales, los cuales pueden penetrar hasta la vejiga.

aunque, frecuentemente, en condiciones de funcionamiento normal, son eliminados con eficacia (28, 39, 51).

Además de los inadecuados hábitos de higiene, del vaciamiento incompleto de la vejiga, de la obstrucción del flujo urinario y de la exploración con sondas y catéteres, otros factores que correlacionan con la aparición de las UTI's, son: la disminución en la acidez de la orina, la hiperosmolaridad renal, los traumatismos, el ayuno prolongado, el reflujo vesicouretral, la litiasis, la disfunción vesical neurogénica, la diabetes, etc (61, 97, 99).

**Factores predisponentes asociados a la vejiga y a las vías superiores.**

Evidentemente, los mecanismos intrínsecos de defensa en la vejiga urinaria incluyen: el total vaciamiento vesical en cada micción, una capa protectora de glucosaminoglicano que obstaculiza la adherencia bacteriana y las propiedades antimicrobianas de la orina (osmolaridad alta y pH's extremos). Lógicamente, la presencia de reflujo vesicouretral, la disminución del flujo sanguíneo renal o la enfermedad renal intrínseca, incrementan las probabilidades de que la afección se extienda hasta las vías superiores (28, 51, 97 ).

**Factores específicos de la mujer.** Si bien la corta uretra femenina facilita el ascenso de microorganismos desde el introito hasta el interior de la vejiga, algunas pacientes son más propensas que otras de adquirir UTI's; por ejemplo,

se ha demostrado que la mucosa genitourinaria de las mujeres que padecen de infecciones reinicidentes presenta una mayor concentración de receptores para las adhesinas bacterianas; así mismo, las mujeres cuyas secreciones mucosas carecen de fucosiltransferasa ("no secretoras") evidencian mayor predisposición, ya que ello se traduce en una menor expresión de los antígenos A, B y H de grupo sanguíneo, los cuales suelen enmascarar a diversos receptores de las adhesinas bacterianas (44, 85, 87).

**Factores específicos en el varón.** En cuanto al varón, se observa una mayor incidencia de UTI's en los individuos no circuncidados, la superficie mucosa del prepucio muestra propensión a la colonización por agentes que poseen fimbrias P –como ocurre en el introito femenino- y la prostatitis es más frecuente en quienes emiten secreciones prostáticas con bajos niveles de zinc, ya que éste representa un agente antibacteriano que impide la infección ascendente (85, 91, 97).

### **iii. Anatomía patológica y manifestaciones clínicas**

En la uretritis y la cistitis, los cambios frecuentemente se circunscriben a las mucosas, son agudos y de tipo inflamatorio, con dilatación capilar, aumento de la permeabilidad, infiltración de leucocitos y, en ciertas ocasiones, con hemorragias (51, 61, 90).

En la pielonefritis aguda, las lesiones son más extensas y, al margen de la afectación de las mucosas uretrales y pielocaliciales, se presenta edema en la médula renal e infiltración de polimorfonucleares (PMN's), factores que pueden conducir a la formación de abscesos, así como a la dilatación de los túbulos, los cuales aglutinan leucocitos, bacterias y restos celulares (1, 11, 51).

En la pielonefritis crónica, los infiltrados son predominantemente de linfocitos y células plasmáticas, ocurre fibrosis intersticial y periglomerular, e inclusive, cuando la enfermedad avanza, se reduce el tamaño renal, se forman cicatrices irregulares que retraen los cálices y los deforman, disminuye el grosor del parénquima, los glomérulos se hialinizan y los túbulos se atrofian y se dilatan (51, 97).

Las complicaciones más frecuentes son la anemia, la detención del crecimiento y la insuficiencia renal. Cuando esta última es aguda -por pielonefritis graves de evolución rápida-, por lo general responde positivamente al tratamiento con antibióticos; sin embargo, la insuficiencia renal es predominantemente crónica, se observa en pacientes diagnosticados y tratados en forma tardía, o bien, en individuos con padecimientos o malformación de las vías urinarias, los cuales impiden la curación de la pielonefritis o propician recaídas frecuentes (28, 32, 51, 90).

Una frecuente alteración funcional de la pielonefritis reside en la disminución de la capacidad para concentrar la orina, lo que se traduce en densidad urinaria baja, defecto casi siempre moderado que excepcionalmente evoluciona a diabetes insípida resistente a la hormona antidiurética (51, 65).

Finalmente, otras disfunciones asociadas a esta enfermedad consisten en la reducción del filtrado glomerular y del flujo renal plasmático, así como en la gran pérdida de sodio en la orina; por tales motivos, los pacientes implicados casi no presentan edema, disminución en la excreción de amonio ni acidosis metabólica sistémica (63, 72, 90).

- **Uretritis crónica**

La uretritis crónica es uno de los problemas urológicos más frecuentes en las mujeres. La uretra distal suele albergar agentes patógenos, y el riesgo de infección se puede incrementar por inserción de catéteres permanentes, mediante la diseminación de las infecciones localizadas originalmente en vagina o cuello uterino, o bien, a través de las relaciones sexuales con parejas infectadas (1, 28, 51).

La inflamación de la uretra también puede deberse a traumatismos asociados a las relaciones sexuales o al parto, en particular cuando existe la estenosis de la uretra, ya sea congénita o posterior al parto (95).

Los principales datos clínicos de la uretritis son: mucosa uretral enrojecida y muy sensible, a menudo estenótica; con frecuencia se observan áreas granulares y, en las porciones distales al cuello de la vejiga, se pueden notar masas polipoides (40, 51).

Así mismo, sus síntomas semejan a los de la cistitis, incluyendo el ardor al orinar, polaquiuria y nicturia. En la uretra pueden aparecer molestias al caminar y, entre los signos más frecuentes, destacan el enrojecimiento e hipersensibilidad del meato y de la uretra a la palpación vaginal; por lo general, no existe un exudado uretral detectable con facilidad (51, 95).

En la uretritis, es significativa la piuria y una leucocituria mayor o igual a 10 leucocitos/mm<sup>3</sup> (90, 93, 97).

En algunas pacientes, pueden manifestarse diversas bacterias en los cultivos provenientes de los lavados uretrales y de las muestras recolectadas del introito. Debido a la estenosis uretral, es frecuente encontrar resistencia para colocar las sondas o catéteres. La panendoscopia revela enrojecimiento y aspecto granuloso de la mucosa y, en las porciones proximales de la uretra, suelen observarse pólipos inflamatorios. La cistoscopia puede mostrar enrojecimiento del trigono (trigonítis). La diferencia entre uretritis y cistitis depende del estudio bacteriológico de la orina y la panendoscopia evidencia la lesión uretral; sin

embargo, es preciso considerar la posibilidad de que ambas entidades clínicas se encuentren presentes (51, 97).

El tratamiento indicado para la estenosis uretral se basa en dilataciones graduales de la uretra -lo cual causa algunas contracturas- o la uretrotomía interna. Para infecciones bacterianas ascendentes, Bruce y cols (1973) propusieron la aplicación local de un antiséptico en el introito (por ejemplo hexaclorofeno o crema de clorohexidina), a fin de evitar que las bacterias del perineo, vagina y vulva puedan reinfestar la uretra (1, 28, 97).

- **Cistitis aguda**

La cistitis aguda es una infección sintomática de la vejiga, cuya vía de adquisición es predominantemente ascendente a través de la uretra; sus principales signos y síntomas son: polaquiuria, urgencia, disuria, enuresis, dolor abdominal suprapúbico, inflamación del tracto urinario inferior, micción frecuente y fiebre generalmente no muy elevada. Las mujeres pueden mostrar una hematuria macroscópica y los síntomas con frecuencia aparecen después del coito, pero no hay toxicidad sistémica. El examen físico puede producir sensibilidad suprapúbica a la presión, pero el examen frecuentemente es poco significativo (14, 51, 97).

El análisis de la orina muestra piuria y bacteriuria, así como grados variables de hematuria. El grado de piuria y bacteriuria no correlaciona necesariamente con la

intensidad de los síntomas y el urocultivo suele ser positivo, aunque para el diagnóstico no es esencial la aparición de  $10^5$  UFC/mL (3, 31, 39).

Sólo se requieren imágenes radiográficas de seguimiento cuando se sospechan pielonefritis, infecciones reinicidentes o anomalías anatómicas. Evidentemente, no existen parámetros bacterianos que permitan diferenciar entre las cepas "cistitogénicas" de *E. coli* y las que ocasionan pielonefritis. No obstante, al parecer los individuos propensos a contraer cistitis acumulan células características del proceso inflamatorio (por ejemplo, mastocitos y neutrófilos) en la mucosa de la vejiga (51, 97).

La cistitis aguda no se acompaña por sustancias reactivas de fase aguda o citocinas en el suero; de cualquier manera, existe piuria y los niveles de las interleucinas IL-6 y IL-8 pueden ser elevados en orina (93, 97).

En la mujer, comúnmente pueden diferenciarse las vulvovaginitis o la enfermedad inflamatoria pélvica, mediante examen pélvico y análisis de orina. Las niñas pueden mostrar irritación vulvar o uretral por detergentes o baños de burbujas; en el varón, la uretritis y la prostatitis se diferencian por medio de un examen físico en el que se comprueban la aparición de secreciones uretrales y la sensibilidad prostática a la presión; además, la cistitis es menos frecuente, pero

suele implicar procesos patológicos con formación de cálculos, prostatitis y retención urinaria crónica, todo lo cual requiere de estudios adicionales (1, 17, 28).

Las causas no infecciosas que originan síntomas similares a los de la cistitis incluyen irradiación pélvica, quimioterapia (ciclofosfamida), carcinoma vesical, cistitis intersticial, así como trastornos psicossomáticos y funcionales de la micción (28, 97).

En la mujer, la cistitis no complicada puede combatirse con un régimen antimicrobiano de corto plazo, el cual consiste en dosis única o 1 a 3 días de tratamiento. En este sentido, el trimetoprim-sulfametoxazol o la cefalexina son eficaces; por otra parte, como la cistitis no complicada es poco común en el varón, se requiere aclarar el problema subyacente con estudios apropiados (39, 97).

Por lo general, las infecciones responden con rapidez a la terapéutica y la falta de resultados exitosos sugiere resistencia al medicamento seleccionado o anomalías anatómicas que requieren estudios adicionales (1, 28, 51).

- **Pielonefritis aguda**

La pielonefritis aguda corresponde a una infección inflamatoria ubicada en el parénquima y la pelvícula renal, debida en la mayoría de los casos a un subgrupo de *E. coli* que integra la flora habitual del intestino humano y cuyo origen es exógeno-ascendente, excepto cuando el agente etiológico es *Staphylococcus aureus*.

Los signos y síntomas implicados varían dependiendo de la edad del paciente, aunque predominan la fiebre, escalofríos, dolor lumbar y abdominal, pérdida de peso, malestar general, sensación de micción irritante y mal olor de la orina. Otras características relativamente frecuentes son náuseas, vómito y diarrea (46, 51, 97).

Tanto en el recién nacido como durante los primeros meses de vida, predomina el estado de choque y la diversificación de los focos infecciosos, mientras que en el lactante suelen ocurrir retrasos en el crecimiento y el síndrome febril prolongado sin causa aparente. Por tales motivos, se recomienda analizar la posibilidad de infección urinaria en todos los enfermos que experimenten fiebre prolongada, rezago del crecimiento, dolor lumbar, anemia de causa desconocida, enuresis o cualquier trastorno de la micción (1, 3, 97).

En cuanto a los datos de laboratorio, figuran la leucocitosis en las biometrías hemáticas, piuria (leucocitos en orina), bacteriuria, diversos grados de hematuria, cilindros leucocitarios (97), altos niveles séricos de proteína C reactiva (CRP), una velocidad de sedimentación eritrocitaria (ESR) elevada y los urocultivos manifiestan abundante crecimiento del agente etiológico; así mismo, en el suero y la orina aparecen elevadas concentraciones de citocinas y de IgA, e inclusive, en cerca del 30 % de los pacientes con pielonefritis aguda, las bacterias invaden el torrente sanguíneo y ocasionan graves septicemias (51, 93, 96).

En las pielonefritis complicadas, los ultrasonidos renales pueden evidenciar hidronefrosis asociadas a la formación de cálculos o a otras fuentes de obstrucción. En el varón, el diagnóstico diferencial incluye a la epididimitis, prostatitis y pielonefritis agudas, para lo cual son particularmente útiles los exámenes físicos y la localización del dolor (28, 97).

Las infecciones intensas o complicadas requieren que el paciente sea internado y que inmediatamente se proceda a obtener muestras de sangre y orina –para cultivo y antibiogramas-, antes de iniciar la terapéutica con ampicilina intravenosa y un aminoglucósido, en lo que se obtienen los resultados de las pruebas de susceptibilidad (1, 51, 52).

En los pacientes externos, los tratamientos pueden iniciar con trimetoprim-sulfametoxazol y quinolonas, y ajustarse posteriormente con base en los antibiogramas (28, 39, 90, 97).

Si bien la fiebre puede persistir hasta por 72 h, la falta de respuesta requiere de imágenes radiográficas (ultrasonido) para excluir la posibilidad de complicaciones o la presencia de factores que puedan generar la necesidad de intervenciones quirúrgicas urgentes. La retención de orina suele obligar a drenajes con sondas, mientras que las obstrucciones ureterales conducen a drenajes mediante nefrostomías (51, 97).

En pacientes hospitalizados, los antibióticos intravenosos se mantienen hasta que transcurren 24 h después de desaparecer la fiebre, y la antibiótico-terapia correspondiente continúa mediante dosis orales hasta completar 3 semanas. El seguimiento de la condición del paciente incluye la periódica realización de urocultivos (1, 28, 97).

Por lo regular, la pielonefritis aguda es de buen pronóstico cuando se diagnostica y se trata eficaz y oportunamente; lógicamente, la enfermedad renal subyacente y la avanzada edad del paciente se traducen en expectativas menos favorables (51, 90, 97).

- **Prostatitis bacteriana aguda**

La prostatitis bacteriana aguda suele ser ocasionada por bacilos Gram negativos, en especial por *E. coli* y *Pseudomonas* y, menos comúnmente, por microorganismos Gram positivos tales como *Enterococcus*. Las rutas más comunes de infección incluyen el ascenso del proceso patológico a partir de la uretra y el reflujo de orina infectada hacia los conductos prostáticos, ya que las vías linfática y hematogena son muy poco frecuentes (17, 39, 61).

Entre sus diversos signos y síntomas, son comunes las molestias perineales y sacras, el dolor suprapúbico, la fiebre y la micción irritante son comunes; sin lugar a dudas, algunas de sus principales complicaciones inciden en diversos grados de obstrucción -al inflamarse la próstata en forma aguda-, la cual conduce a retención urinaria con fiebre alta y una próstata muy sensible al tacto (28, 51). En este sentido, la auscultación debe realizarse con sumo cuidado ya que, además, las manipulaciones vigorosas y el propio masaje prostático pueden desencadenar septicemias (17, 97).

Respecto a los datos de laboratorio, las biometrías hemáticas muestran leucocitosis y los análisis de orina se asocian a piuria, bacteriuria y diversos grados de hematuria; así mismo, los urocultivos resultan muy frecuentemente positivos (51, 72, 87).

La prostatitis debe diferenciarse de la pielonefritis y epididimitis agudas, tanto a partir de la localización del dolor como a través de exámenes físicos; además, en ocasiones sugiere enfermedad diverticular, lo cual se resuelve mediante la revisión de la historia clínica y los análisis de orina. La retención urinaria por crecimiento prostático -benigno o maligno- suele detectarse efectuando un tacto rectal (4, 97).

En cuanto a su tratamiento, generalmente se requiere hospitalizar al paciente para administrarle ampicilina y un aminoglucósido por vía parenteral, en tanto se obtienen los datos relacionados con las pruebas de susceptibilidad. Evidentemente, 24 a 48 h después de haber desaparecido la fiebre, el régimen se modifica por los antibióticos orales apropiados, hasta completar 4 a 6 semanas. Los fármacos orales más eficaces incluyen al trimetoprim-sulfametoxazol y a las quinolonas (19, 90, 97).

En caso de retención urinaria está contraindicada la inserción de sondas o las maniobras con instrumentos de ingreso uretral, por lo que frecuentemente es necesario el empleo de sondas suprapúbicas transcutáneas. Por obvio, una vez completado el tratamiento, deben practicarse periódicamente cultivos de orina y exámenes de secreción prostática, todo ello para poder asegurar la erradicación de la enfermedad (3, 15, 28).

- **Prostatitis bacteriana crónica**

Si bien la prostatitis bacteriana crónica puede aparecer a partir de una prostatitis bacteriana aguda, lo cierto es que numerosos pacientes suelen no contar con antecedentes de infección aguda. De cualquier manera, ambas comparten los agentes etiológicos y las rutas de infección antes mencionadas.

Las manifestaciones clínicas de la prostatitis crónica son variables: algunos pacientes son asintomáticos, aunque en su mayor parte experimentan micción irritante, dolor perineal y en la porción baja de la espalda, y la próstata se puede sentir normal, pastosa o indurada. Por lo regular, los enfermos implicados cuentan con un historial de infecciones urinarias (17, 97).

Los análisis de orina aparecen normales, excepto cuando ocurre una cistitis secundaria, las secreciones prostáticas muestran un aumento de leucocitos, especialmente de macrófagos que contienen lípidos, aunque esto se observa en ciertos procesos inflamatorios y no representa una característica exclusiva de prostatitis. Por ello, es necesario realizar cultivos de las secreciones prostáticas y de tres muestras de orina para establecer el diagnóstico correspondiente (17, 51).

Aunque la obtención de imágenes suele no ser de mayor utilidad, ocasionalmente las radiografías pélvicas o el ultrasonido transrectal pueden mostrar la existencia de cálculos prostáticos (51, 97).

La cistitis y la uretritis crónica pueden sugerir una prostatitis crónica, aunque los cultivos de orina fraccionada ubican la región infectada; además, las enfermedades anales suelen compartir algunos de los síntomas con la prostatitis, pero el examen físico permite establecer la distinción (17, 28).

En realidad, pocos agentes antimicrobianos alcanzan concentraciones intraprostáticas terapéuticas en ausencia de inflamación aguda. El trimetoprim difunde hacia el interior de la próstata y el trimetoprim-sulfametoxazol se relaciona con los mejores índices de curación; otros agentes eficaces son la carbenicilina, eritromicina, cefalexina y más recientemente las quinolonas (97).

La duración óptima del tratamiento continúa siendo controversial: varía entre 6 y 12 semanas, y puede complementarse con antiinflamatorios (indometacina, ibuprofen, etc.) y baños de asiento calientes, lo cual puede aportar cierto alivio sintomático (17, 51).

La prostatitis bacteriana crónica es difícil de curar, pero sus síntomas y tendencia a causar infecciones reincidentes de las vías urinarias se puede controlar mediante terapéutica antibiótica. Por otra parte, la bacteriuria se asocia a enfermedad aguda, como las descritas anteriormente (17, 87, 97).

Por reinfección se entiende la adquisición de nuevos patógenos, en tanto que el término recaída implica persistencia del agente causal, debido a resistencia bacteriana a la terapéutica, incumplimiento de las recomendaciones médicas, infecciones mixtas por microorganismos con susceptibilidades diferentes, insuficiencia renal o la emergencia de resistencia en agentes infecciosos inicialmente susceptibles (1, 28, 51).

La bacteriuria asintomática (ABU) se detecta generalmente por monitoreo constante, porque no está acompañada por ninguno de los síntomas que caracterizan a la pielonefritis y la cistitis aguda.

Los pacientes con bacteriuria asintomática, pueden presentar signos de inflamación local en el tracto urinario, pero la magnitud no es suficiente para que se conviertan en pacientes sintomáticos. Los resultados de laboratorio de la bacteriuria asintomática varían. Los pacientes pueden tener bajos niveles de respuesta de citocinas y leucocitos en orina, o pueden no tener respuesta alguna a la infección (11, 39, 93).

En estudios de pielonefritis aguda o bacteriuria asintomática, los niveles de IL-8 se encontraron elevados en la orina de pacientes con piuria (17, 87, 93, 97).

El estado de bacteriuria asintomática puede ser consecuencia de atenuación bacteriana por parte del huésped o una condición primaria en la cual, las

bacterias de baja virulencia colonizan el tracto urinario sin lograr la activación suficiente de la respuesta del huésped, como para que se presenten los síntomas (11, 63, 87).

Los factores bacterianos que explican esta colonización, los defectos en el huésped que permiten que ocurra y el origen de la nula respuesta de los pacientes colonizados, son desconocidos (14, 93).

## II. PRINCIPALES FACTORES DE VIRULENCIA DE UPEC

Las infecciones del tracto urinario inician generalmente con la colonización de la uretra por especies de *E. coli* que provienen del colon; es decir, la presencia y acumulación de alguna especie uropatógena en la mucosa colónica incrementan la probabilidad de que ocurra una infección uretral, e inclusive, frecuentemente representan la explicación de las patologías urinarias recurrentes: cuando el agente causal no es eliminado del colon y de los tractos vaginal y urinario, puede reinfectar las vías urinarias (32, 85, 97).

Ello significa que la colonización de la vagina, especialmente en cuanto al área que rodea a la apertura uretral, también representa una fuente de infección en el origen de las UTI's. Evidentemente, los principales espacios del tracto vaginal están ocupados por la microflora residente, sobre todo por lactobacilos (14), pero cualquier desequilibrio puede predisponer a la colonización del tracto vaginal por *E. coli* u otros microorganismos patógenos; por ejemplo, la correlación entre el uso de espermicidas y la aparición de las infecciones urinarias se basa en que el nonoxinol-9 (el ingrediente activo de los espermicidas) inhibe el crecimiento de los lactobacilos, lo que ayuda a crear un ambiente favorable para la colonización vaginal por cepas uropatógenas (85).

### **i. Adhesinas**

La adherencia está mediada por interacciones específicas entre los componentes de la superficie bacteriana (adhesinas) y los receptores ubicados en las células del hospedero. En *E. coli* uropatógena, dichos factores de adhesión existen en forma de organelos filamentosos distribuidos radialmente en la superficie, conocidos como *pili* o fimbrias, o bien, como simples proteínas de membrana externa (adhesinas no fimbriales) (85, 67, 93, 96).

Los *pili* de *E. coli* uropatógena corresponden a lectinas (proteínas de unión a carbohidratos) que reconocen diversos glicoconjugados como sus receptores en los tejidos del hospedero: las asociadas a fimbrias P se unen a epítopes glicolipídicos en tanto que, las lectinas relacionadas con las fimbrias S, lo hacen a glicoconjugados que presentan residuos de ácido siálico y, las fimbrias tipo 1, a los residuos de manosa de diversas proteínas (Tamm-Horsfall, IgA secretoria y fibronectina, entre otras) (67, 93).

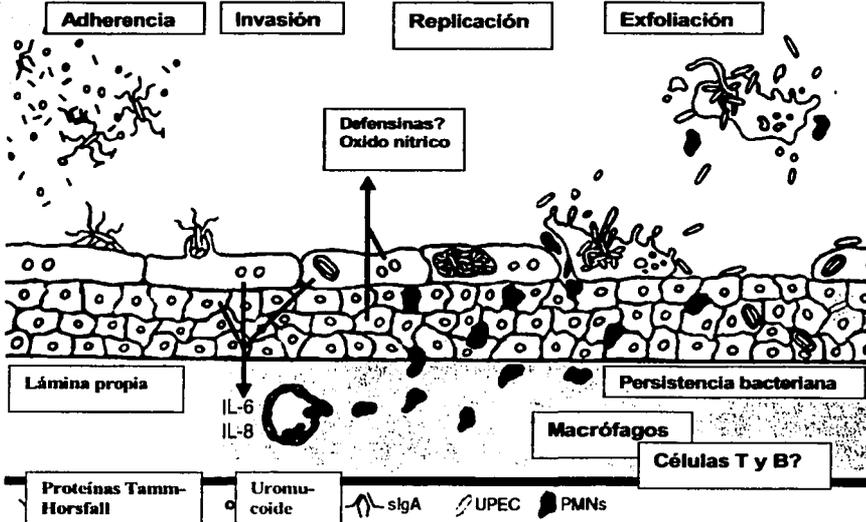
Lógicamente, una de las defensas más importantes del tracto urinario consiste en el efecto mecánico de lavado que ejerce la orina ya que, merced a él, las bacterias que no se adhieren, son desplazadas hacia el exterior de la vejiga y la uretra, antes de que puedan multiplicarse (51, 97).

En tal sentido, uno de los más relevantes aspectos de los microorganismos uropatógenos consiste en su habilidad de adherirse estrechamente a la mucosa de la vejiga, con la finalidad de permanecer en ésta; además, las bacterias adherentes se ubican muy cercanas a las células de la mucosa, quedando en una posición más ventajosa para provocar la respuesta inflamatoria, en comparación con los microorganismos que crecen en el lumen vesical (67, 85).

La Figura 1 esquematiza los mecanismos que ocurren en la vejiga cuando el agente causal se establece en la mucosa.

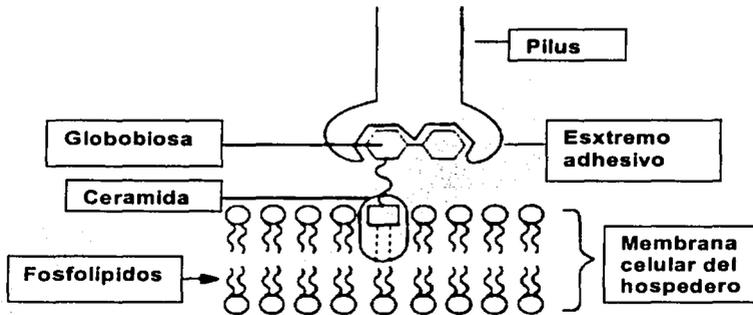
De acuerdo con dicha figura, se han llevado a cabo muy diversos e interesantes estudios sobre adhesinas de *E. coli* uropatógena, los cuales han logrado establecer que si bien los *pili* tipo 1 contribuyen a la colonización primaria del tracto vaginal y, en menor grado, a colonización de la vejiga, en realidad las adhesinas más trascendentales son los *pili* P, sobre todo en lo tocante a cepas que ocasionan patologías renales (67, 85).

De hecho, la denominación "P" tiene su origen en que las clonas que presentan fimbrias P son causa frecuente de pielonefritis aguda y que los receptores glicolipídicos implicados son reconocidos tanto por los antígenos P de los grupos sanguíneos como por dichas fimbrias P (16, 18, 93).



**Figura 1.** Relación entre las defensas innatas del hospedero y las cepas UPEC, dentro de la vejiga (67).

Evidentemente, los diferentes tipos antigénicos de *pili* P reconocen la misma clase de receptor:  $\alpha$ -D-Gal-(1,4)- $\beta$ -D-Gal (denominada globobiosia; Figura 2) y a las repeticiones de este disacárido unidos a moléculas de ceramida (26, 32, 66, 85).



**Figura 2.** Estructura del receptor glicolípido para *pili P*. La ceramida sujeta a la membrana y el carbohidrato presente, que está unido por el *pili P*, es globobiosa. Los *pili P* también se une a multímeros de globobiosa.

Entre las principales observaciones destinadas a demostrar que la globobiosa es el eficaz receptor de los *pili P* en las células epiteliales, figuran las siguientes (37, 85, 93):

1. La adherencia se inhibe cuando las cepas de *E. coli* son previamente tratadas con tales glicolípidos.
2. Estos últimos funcionan como receptores cuando se emplean para cubrir superficies inertes o células carentes de receptores para fimbrias P.

3. La adherencia es dependiente del grupo sanguíneo P<sup>1</sup>.

La organización del organelo fimbrial se ha logrado determinar a través de los diversos estudios realizados sobre las secuencias del DNA cromosómico que codifican para la síntesis correspondiente. Los genes involucrados en la producción y ensamble de los *pili* P se denominan *pap* (*pili* asociados a pielonefritis) y, en tal contexto, *papA* codifica para el mayor número de subunidades de fimbriolina, en tanto que *papE*, *papF*, y *papG* lo hacen para el fragmento específico que interactúa directamente con el receptor (85, 92).

De hecho, el complejo PapE-PapG se localiza en la punta de la fimbria y PapF es la porción que actúa como adaptador-iniciador encargado de incorporar a PapE-PapG en el extremo fimbrial. Otros papeles que desempeñan las proteínas Pap en el proceso, son (50, 83):

- PapC forma un poro a través del cual se ensambla el *pili*.
- PapD actúa como chaperona de las proteínas y complejos que participan en el ensamble de las distintas subunidades.
- PapH concreta el ensamble fimbrial y apoya la sujeción de la fimbria.
- PapJ, facilita la unión de las subunidades PapA en la estructura del *pili*.

---

<sup>1</sup> Las células de individuos pertenecientes al grupo sanguíneo P (quienes carecen de glicoseries de glicolípidos) no interactúan con cepas de *E. coli* productoras de fimbrias P.

- PapK corresponde a una proteína similar a la pilina, localizada en el extremo del *pili*.
- PapB y PapI son proteínas regulatorias involucradas en la transcripción de *papA*.

La actividad del receptor de los diferentes miembros de las globoseries de glicolípidos varía con el subtipo de fimbria P (85, 93).

Las fimbrias P representan toda una familia de adhesinas que, si bien reconocen como receptores a numerosas globoseries de glicolípidos, cada uno de sus miembros puede diferir del resto en cuanto al epitopo de su mayor afinidad (50,67, 83).

Por ejemplo, las adhesinas G (provenientes del gen *papG*) predominan en las cepas virulentas de *E. coli* que ocasionan pielonefritis aguda y, aunque reconocen a la mayoría de las globoseries, muestran una mayor afinidad por la globotetraosilceramida. Así mismo, el principal receptor de las adhesinas G del tipo prsGJ96 es la N-acetil-galactosamina con uniones  $\alpha$  hacia la globoserie correspondiente; esta fimbria sólo parece relacionarse con cepas clínicas aisladas de individuos con cistitis aguda (27, 50, 67, 93).

Recientemente, numerosos estudios sobre la adherencia de *E. coli* uropatógenas se han llevado a cabo, tanto en células humanas provenientes de regiones anatómicas ajenas al tracto urinario, como en células exfoliadas encontradas en la orina humana (85, 67).

Lógicamente, es más probable que las células exfoliadas del tracto urinario representen un mejor modelo para efectuar estudios de adherencia; no obstante, aquéllas consisten en una mezcla heterogénea de células provenientes principalmente del tracto urinario inferior y, por lo tanto, los resultados obtenidos pueden no resultar muy representativos de lo que ocurre en el tracto urinario superior. Particularmente en el riñón, los glicolípidos y glicoproteínas que fungen como receptores de las adhesinas de *E. coli*, no se encuentran distribuidos homogéneamente (72, 91, 93).

En tal virtud, un mejor sistema de estudio es el referente a secciones de tejido congelado, ya que se mantienen su morfología, polarización y ubicación celular. De esta manera, las bacterias marcadas con fluorocromos se incuban junto con las secciones congeladas y, posteriormente, se determina su ubicación mediante microscopía de fluorescencia (31, 85).

Esta metodología ha permitido establecer que los sitios de unión para los *pili* P se distribuyen en los diversos tipos celulares localizados en vejiga y riñón; ello

explica la presencia de dichas adhesinas en los microorganismos uropatógenos y permite revelar los diferentes tipos de unión de un agente causal a los tejidos del tracto urinario, sobre todo cuando se trata de bacterias capaces de ascender desde la uretra hasta el riñón (85, 67).

En algunos estudios recientes se ha comparado *in vitro* la adherencia a células uroepiteliales entre cepas de *E. coli* provenientes de pacientes con diferentes clases de UTI's, encontrándose que las clonas adherentes se aíslan a partir del 80 % de los individuos con pielonefritis aguda, del 40 al 50 % con cistitis aguda y del 20 % con bacteriuria asintomática (51, 97).

Además, las cepas de *E. coli* que presentan fimbrias P predominan en enfermos con pielonefritis aguda, especialmente en niños y mujeres sin desórdenes o predisposición del tracto urinario, así como en personas con urosepsis. En contraste, las fimbrias P sólo se expresan en una minoría de las cepas asociadas a bacteriuria asintomática y cistitis aguda (21, 28, 97).

Estudios de hibridación basados en el uso de sondas específicas relacionadas con diferentes genes *pap*, han demostrado que las cepas *pap*-positivas son más frecuentes en la ocurrencia de la pielonefritis aguda, e inclusive, los análisis por Southern blot han revelado que dichos agentes causales poseen 2 a 3 copias de los genes *pap* en turno, lo cual resulta raro en otros microorganismos (9, 30, 31).

Sin embargo, los genes *pap* también son frecuentes en cepas asociadas a bacteriuria asintomática (y obviamente escasos en aislamientos fecales provenientes de portadores sanos), lo que sugiere que aquellos caracterizan a las cepas de *E. coli* que causan UTI's, sin considerar la clase y gravedad de la patología; de hecho, se afirma que las clonas implicadas en casos de bacteriuria sintomática expresan fimbrias P durante los primeros estadios de la infección y sólo cuando el reto de colonización lo requiera (32, 34, 37).

Otros trabajos realizados con sondas asociadas a las tres clases de adhesina G que se conocen actualmente: *papGIA2*, *papGJ96* y *prsGJ96*, han aportado información adicional (50, 93):

- Las secuencias *papGJ96* son raras y no hibridan con otros aislamientos clínicos.
- La sonda *papGIA2* hibrida con la mayoría de las cepas relacionadas con pielonefritis y septicemia.
- La sonda *prsGJ96* hibrida con 36 % de las cepas implicadas en cistitis aguda, con 15 % de las asociadas a pielonefritis aguda y 14 % de ABU.

De acuerdo con lo anterior, sondas específicas de las adhesinas G parecen diferenciar subgrupos relevantes de clonas de *E. coli* poseedoras de fimbrias P.

Cabe señalar que las fimbrias P desempeñan importantes papeles en la patogénesis de las infecciones urinarias, funciones que se ponen de manifiesto desde la colonización bacteriana del colon, la translocación de los agentes causales hacia el tracto urinario, la permanencia y la inducción del proceso inflamatorio en esta región anatómica (37, 51, 97).

Los receptores para las fimbrias P y tipo 1 se expresan regularmente en líneas celulares epiteliales del colon humano y en células provenientes de especímenes quirúrgicos, razón por la cual ambas clases fimbriales de *E. coli* se adhieren *in vitro* a las células mencionadas (10, 34).

En un estudio prospectivo de la flora fecal de niños propensos a adquirir UTI's, se comprobó que dichas cepas son más persistentes que otras, en lo referente a su permanencia en el colon del paciente (1, 11, 34).

Si bien la mayoría de los niños con UTI's contienen cepas pap-positivas y pap-negativas en la flora intestinal, según ciertos estudios las primeras coinciden con las provenientes del tracto urinario, en tanto que las segundas sólo se detectan en la orina de los enfermos en cuyas muestras fecales no se manifiesta la presencia de cepas pap-positivas.

Es decir, las cepas pap-negativas también son capaces de colonizar el tracto urinario, aunque las pap-positivas son agentes uropatógenos notablemente más frecuentes, a condición de que se encuentren colonizando el intestino del paciente (20, 28, 72).

Por lo que se refiere a la persistencia de las cepas uropatógenas en el tracto urinario, trabajos realizados en modelos animales han demostrado que las cepas de *E. coli* poseedoras de fimbrias P suelen permanecer en los riñones y vejiga, durante lapsos radicalmente mayores que las pap-negativas (28, 93, 93).

Sin embargo, una bacteriuria persistente también se asocia a individuos con bacteriuria asintomática quienes, en caso de no ser tratados o de recibir terapias inadecuadas, pueden quedar como portadores de la cepa implicada hasta por varios años. De hecho, también las cepas que no expresan fimbrias P pueden persistir en el tracto urinario: pacientes con desórdenes vesicales fueron infectados artificialmente con una cepa no virulenta de *E. coli* –carente de factores de adherencia- y con una transformante de esta última que expresaba fimbrias P (J96) o fimbrias tipo 1, encontrándose que los isógenos que poseían alguna de ambas adhesinas fueron eliminados más rápidamente del tracto urinario que la cepa no patógena, la cual sólo fue erradicada hasta que se intensificó la respuesta inflamatoria provocada por las anteriores (10, 26, 30).

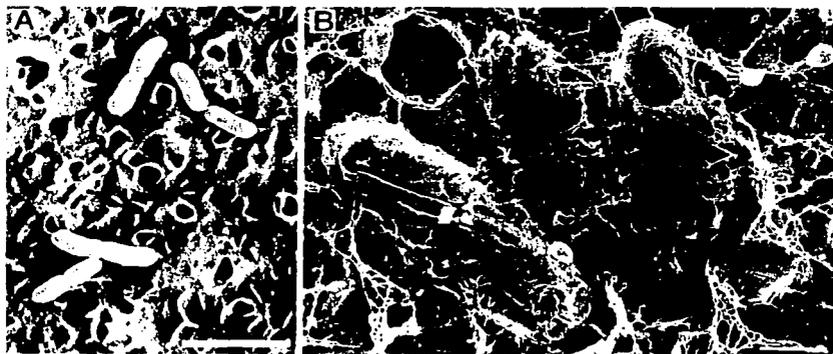
Finalmente, diversas evidencias indican que las fimbrias P incrementan la respuesta inflamatoria en el tracto urinario. En estudios acerca del papel de la adherencia bacteriana en la aparición de citocinas se compararon cepas recombinantes de *E. coli* que expresaban diferentes tipos de fimbrias. Las fimbrias P y S aisladas, con o sin el dominio de unión al receptor se utilizaron como estimulantes. Las bacterias adherentes pap-positivas, estimularon más la secreción celular de IL-6 que las cepas pap-negativas (67, 83, 93).

En forma complementaria, el previo tratamiento de las líneas celulares uroepiteliales con PDMP, un inhibidor de la glicosilación en la ceramidas, originó la reducción en la expresión del receptor y, por ende, disminuyó la adherencia bacteriana y la activación de citocinas (58, 93).

### **Fimbrias tipo 1**

Las adhesinas fimbriales tipo 1 reconocen a los receptores que contienen manosa, razón por la cual aquéllas también se conocen como fimbrias manosa-sensibles (93, 14, 67, 73). Dichos receptores se encuentran presentes en una gran variedad de células de diversas especies, si bien las fimbrias tipo 1 se unen alternativamente a epitopos de manosa ubicados en varias glicoproteínas excretadas, tales como la de Tamm- Horsefall y la IgA (figuras 3 y 4).

Esto último es importante desde dos perspectivas contrarias: cuando tales sustancias recubren a las células epiteliales, fungen como receptores y promueven la colonización bacteriana; no obstante, si "navegan" en forma libre contribuyen a la eliminación de las cepas con fimbrias tipo 1, previniendo la infección (83, 93).



**Figura 3.** Adherencia bacteriana - mediada por *pili* tipo 1- al epitelio de la vejiga. Microscopía electrónica, (A) 3 $\mu$ m; microscopía electrónica de alta resolución (B) 0.5 $\mu$ m (67).



**Figura 4.** Internalización de UPEC poseedoras de *pili* tipo 1 en células superficiales. La microscopía electrónica de alta resolución revela la presencia de *E. coli* con *pili* tipo 1, aparentemente siendo al momento de ser englobada por las células hospederas (F y G).

Las imágenes se obtuvieron de vejigas de ratones C57BL/6, después de 1 h de ser infectados con UPEC; (A y B) 1μ, (C- G) 0.5μ. (67)

Las fimbrias tipo 1 tienen su origen en el grupo de genes *pil* o *fim*, nueve de los cuales codifican para proteínas estructurales y regulatorias: *fimA* produce la subunidad proteica del *pili* y se expresa independientemente de que ocurra la síntesis del fragmento adhesivo codificado por *fimH*. Sin embargo, ambos productos, el asociado a *fimA* y a *fimH*, son indispensables para dar lugar al fenotipo adhesivo (67, 88, 93).

Las secuencias fim que codifican para las fimbrias tipo 1 se encuentran en la mayoría de los aislamientos clínicos, se trate de cepas virulentas o no virulentas; no obstante, se carece de información sobre alguna relación entre la síntesis bacteriana de fimbrias tipo 1 y la severidad de la infección (8, 9, 37).

De acuerdo con trabajos efectuados en modelos experimentales de UTI's, las fimbrias tipo 1 podrían contribuir a la persistencia de *E. coli* en el tracto urinario. De hecho, la adición de  $\alpha$ -metil-D-manósido (un análogo del receptor de FimH) al inóculo de *E. coli* con fimbrias tipo 1, se traduce en una reducción significativa de la bacteriuria en ratones; análogamente, anticuerpos anti-fimbria tipo 1 previenen la pielonefritis en un modelo murino (93).



**Figura 5.** Arquitectura del *pili* tipo 1 y estructura cristalina de la adhesina FimH (izq). La microscopía electrónica de alta resolución revela la estructura del *pili* tipo 1; en el extremo se indica la adhesina FimH (der). FimH posee dos dominios; el de adhesina presenta una zona – indicada por la flecha – en donde se acopla la D- manosa (67).

### Otra clasificación de adhesinas

Por lo que respecta a otras adhesinas de *E. coli* uropatógena, figuran las que se clasifican dentro de la familia Dr<sup>2</sup> (67, 71, 85, 93): Dr, Dr-II, F1845, AFA-I y AFA-III, las dos últimas de las cuales son adhesinas afimbriales. Todos los miembros de dicha familia se unen de manera similar al receptor natural del factor desacelerador (DAF), proteína que se expresa en la mayoría de las células humanas y que consiste en dominios con repeticiones cortas de 60 aminoácidos y una región rica en serina/treonina, seguida de un dominio carboxi- terminal.

<sup>2</sup> La familia Dr se asocia a las UTI's recurrentes.

El DAF protege a las células del daño mediado por el complemento, previniendo la formación de C3 convertasas (27, 49, 89, 104).

### **Importancia de la adherencia en los agentes uropatógenos**

Si bien aún persisten numerosas dudas acerca de los factores de virulencia de las cepas uropatógenas de *E. coli*, una característica ampliamente reconocida como trascendental consiste en la capacidad de las cepas de *E. coli* uropatógenas para adherirse a las células mucosas (20, 37, 45).

Una de las preguntas que se repiten entre los investigadores es en relación con la posibilidad de que ciertas bacterias crezcan rápidamente en la orina de la vejiga, aún cuando no cuenten con la capacidad de adherencia. A tal respecto, Gordon y Riley realizaron simulaciones matemáticas acerca del llenado y vaciamiento de la vejiga, las cuales sugirieron que las cepas bacterianas con tiempos de generación de 50 minutos o menores en la orina, pueden mantenerse por sí mismas sin adherirse a la mucosa vesical (29).

Los mismos autores estudiaron cepas de *E. coli* aisladas de pacientes con UTI's y encontraron que muchas de ellas mostraban tiempos de duplicación de 50 a 60

minutos en orina; además, observaron que las cepas potencialmente uropatógenas que se aislaban del colon u otras zonas anatómicas ajenas al tracto urinario, se reproducían más lentamente en la orina. Así mismo, la fase lag de los agentes uropatógenos que se inoculaban en orina, resultaba mucho menor que la de otras cepas clínicas (74, 67).

Estudios como los antes mencionados plantean la probabilidad de que diversos factores incidan en la patogenicidad de las uropatías infecciosas, aunque ninguno ha podido descalificar la demostrada relevancia de la adherencia en el origen y la evolución del proceso (52, 85).

## **ii. Lipopolisacáridos**

En general, el lipopolisacárido (LPS) de las bacterias Gram negativas consiste en un polisacárido, una región central y el lípido A que sujeta la molécula a la membrana externa de la célula microbiana. Además, dicho LPS define en buena parte la superficie bacteriana, ya que la pérdida del polisacárido aumenta la hidrofobicidad e induce una morfología rugosa de la colonia implicada, cuyos miembros son susceptibles de ser lisados por acción del complemento y se autoaglutinan al suspenderse en amortiguadores y algunas sustancias tales como la acriflavina (23, 85, 93).

A este respecto, es importante tomar en cuenta que los aislamientos clínicos de *E. coli* muestran variaciones en cuanto al LPS, con estadios intermedios entre los fenotipos liso y rugoso, y que el lípido A representa la región con propiedades tóxicas, inflamatógenas e inmunomoduladoras (37, 98).

De hecho, algunos síntomas de las septicemias ocasionadas por microorganismos Gram negativos pueden ser reproducidos administrando LPS libres o lípido A, ya que los LPS se unen a algunas clases celulares del hospedero que presentan el receptor CD-14 y las estimulan intensamente provocando severas respuestas inflamatorias (92, 93).

En otras palabras, la fase aguda de las infecciones sintomáticas del tracto urinario es ocasionada, en buena parte, por los LPS liberados por las bacterias adheridas a la superficie mucosa (12, 93, 96).

**Origen de las citocinas urinarias.** Una mucosa urinaria no infectada se encuentra integrada por células epiteliales que secretan citocinas al ser estimuladas. En tal sentido, las líneas celulares epiteliales y las células del tracto urinario humano producen dichas citocinas cuando interactúan con bacterias: *E. coli* uropatógena estimula la síntesis de novo de las interleucinas IL-1 $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6 e IL-8, aunque no la del factor de necrosis tumoral (TNF- $\alpha$ ) (93, 98).

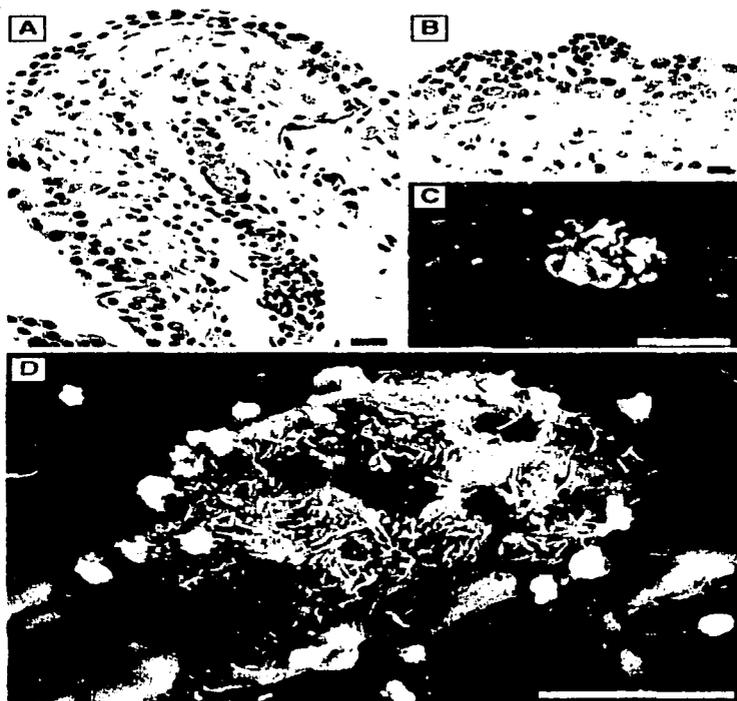
Las células epiteliales representan una fuente de citocinas durante los primeros estadios de la infección y la concentración de tales sustancias influye en la subsecuente activación de las respuestas inflamatoria e inmune. El nivel de citocinas epiteliales depende de las características de cada agente uropatógeno, e inclusive, la adherencia mediada por fimbrias P y tipo 1 incrementa la concentración (67, 96).

Cabe subrayar que si bien los LPS participan en la liberación de citocinas, lo hacen a través de otros mecanismos y células del hospedero. Por sí solos, los LPS representan un pobre estimulador de las respuestas asociadas a citocinas provenientes de las células epiteliales, habida cuenta de que éstas carecen de los receptores CD-14 (3, 70).

La infiltración de PMN's, linfocitos T y otras células que intervienen en la respuesta inflamatoria, ocurre subsecuentemente a la interacción primaria entre las bacterias y la mucosa. Lógicamente, dichas clases de células del hospedero pueden ser activadas tanto por los microorganismos como por citocinas epiteliales: por ejemplo, las bacterias estimulan a los PMN's para que secreten IL-8 y, a los linfocitos, para que estos excreten citocinas inmuno-regulatorias, las cuales a su vez modifican la respuesta de las células epiteliales hacia el patógeno. Las citocinas inflamatorias tales como la IL-1 y el TNF inducen la liberación de IL-6 e IL-8 a partir del epitelio urinario (67, 93).

**Mecanismos de infiltración de neutrófilos en el tracto urinario.** La piuria representa uno de los signos clásicos de las UTI's: durante el proceso uropatológico, la infiltración de neutrófilos involucra la generación de un gradiente quimiotáctico a partir del epitelio del tracto urinario y, por ende, la adherencia de los neutrófilos a la pared endotelial de los vasos sanguíneos, su extravasación por diapedesis y su desplazamiento hasta la barrera epitelial (figura 6). Las células epiteliales participan en la acumulación de neutrófilos, debido a la secreción de sustancias quimioatrayentes para PMN's (IL- 8) y expresando moléculas de adhesión (ICAM- 1) que intervienen en la trans migración de los neutrófilos (2, 84, 93, 99).

Algunos serotipos O:K:H de *E. coli* predominan en los casos de pielonefritis aguda, aunque ello no se reproduce en la bacteriuria asintomática. Dichos serotipos son, el O1K1H7 y O1K1H-, O4K12H1 o O4K12H-, O6K2HN, O7K1H-, O16K1H6, O18K5H- y O75K5H5 o O75K5H-. Es decir, los 8 antígenos O que comprenden hasta el 80 % de las *E. coli* pielonefriticas, son: O1, O2, O4, O6, O7, O16, O18 y O75 (37, 93).



**Figura 6.** Infiltración de neutrófilos en el urotelio como respuesta a la infección. (A) 20  $\mu\text{m}$ ; secciones de vejigas de ratones C57BL/6 después de 6 h de haber sido infectados con UPEC poseedoras de *pili* tipo 1 y teñidas con hematoxilina y eosina, muestran a los PMN's (pequeñas células teñidas oscuramente) migrando de los vasos sanguíneos al urotelio. (B) 10  $\mu\text{m}$ . Los PMN's parecen agregarse debajo de la superficie luminal de la vejiga y se observan por microscopía electrónica de barrido, emergiendo en la vecindad de bacterias adheridas a la superficie de células uroteliales nuevas e inmaduras (C) 50  $\mu\text{m}$ . Los PMN's se encontraron asociados a las células infectadas en proceso de exfoliación (D) 30  $\mu\text{m}$  (67).

**Endotoxici dad.** Existen claras evidencias de que los LPS y los *pili* P actúan sinérgicamente para provocar la respuesta inflamatoria (3): las bacterias estimulan a las células epiteliales y otras células para que liberen citocinas y factores proinflamatorios; la distribución sistémica de ciertas citocinas tales como la IL- 6 originan fiebre y promueven la activación de la respuesta de fase aguda, e inclusive, algunas citocinas quimiotácticas como la IL-8 atraen a los PMN's hacia la superficie mucosa, previo a que inicie el establecimiento del estado inmune contra el agente infeccioso (2, 67, 93).

Inicialmente, se encontró a la IL- 6 en la orina de niños cuyas UTI's cursaban con fiebre, pero no en los pacientes pediátricos con bacteriuria asintomática ni en quienes las temperaturas febriles eran originadas por patologías ajenas al tracto urinario.

De hecho, los mayores niveles séricos y urinarios de IL-6 se detectaron en niños con daño renal, así como en la orina de adultos con pielonefritis aguda o bacteriuria sintomática. Por su parte, se observó que la IL-8 sólo es excretada en la orina durante las primeras horas de la uropatía (1, 3, 39).

El papel de los LPS se ha evidenciado a través de estudios en los que se utilizan modelos murinos LPS-NR (por *LPS-nonresponder*), los cuales no experimentan respuesta inflamatoria alguna contra dichas moléculas endotóxicas: la inoculación de bacterias en la vejiga de estos animales no desencadena

procesos inflamatorios que pudieran proponer la participación de otros factores ajenos a los LPS. Además, los ratones LPS-NR no eliminan a las bacterias infectantes, como sí lo hacen los normales, lo cual apoya la afirmación de que la respuesta inflamatoria realmente tiene efectos benéficos para el enfermo, a pesar de que es la principal responsable de los severos síntomas de las UTI's (67, 85, 93, 99).

**Evasión de los anticuerpos y del complemento.** Numerosas cepas uropatógenas presentan cápsula, e inclusive, son resistentes a la acción bactericida del suero, sobre todo las que ocasionan patologías renales y/o septicemias originadas a partir de UTI's (93, 96).

En particular, es claro que las bacterias adheridas a la mucosa vesical y las que ya han infectado el riñón son las que suelen quedar expuestas a los componentes activos del complemento, a los cuales neutralizan parcial o mayoritariamente, a través de: a) su material capsular -el cual impide la libre difusión de C3b, B, D, properdina, etc. hacia la superficie microbiana-; y b) sus LPS, a los que se les han comprobado dos efectos; el primero, consiste en la adsorción de ácido siálico elaborado por el hospedero, con lo cual parte de la célula bacteriana queda enmascarada y, el segundo, radica en la formación de cadenas largas de AgO (relativamente distanciadas de las proteínas de

membrana externa) que dan lugar a la formación del MAC lejos de las regiones susceptibles de ser afectadas por esta molécula lítica (37, 47, 69).

### iii. Polisacárido capsular

Las cápsulas de polisacáridos representan factores de virulencia clásicos en bacterias tales como *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae* y *Neisseria meningitidis*; al parecer, su mayor contribución hacia el microorganismo consiste en la restricción del acceso del complemento y de los fagocitos, lo cual también se ha propuesto para *E. coli* uropatógena.

Las mutantes capsuladas presentan la significativa ventaja de interferir la fagocitosis *in vitro* y de persistir *in vivo* en los riñones; de hecho, los antígenos K1, K2, K5, K12 y K13 o K51 son los predominantes entre las cepas clínicas asociadas a pielonefritis aguda. Sin lugar a dudas, la cápsula incrementa la resistencia de *E. coli* a los factores participantes en el proceso inflamatorio (2, 37, 93).

### iv. Hemolisinas

Las hemolisinas son productos de genes cromosómicos o plasmídicos y corresponden a proteínas citotóxicas que se caracterizan por su capacidad para lisar eritrocitos y algunas otras células del hospedero.

En concreto, al parecer los genes cromosómicos que codifican para la síntesis de hemolisinas predominan en las cepas de *E. coli* que ocasionan infecciones extraintestinales; por el contrario, los aislamientos de *E. coli* provenientes de fuentes veterinarias suelen contener a dichos genes en plásmidos grandes. Al margen de lo anterior, los genes cromosómicos o extracromosómicos asociados a hemolisinas suelen presentar un alto grado de homología (69, 96).

En *E. coli* O6:K15, el gen asociado a la hemolisina se localiza en un fragmento de 50 Kb adyacente a los que codifican para fimbrias específicas, ácido siálico y resistencia sérica. La hemolisina resulta tóxica *in vitro* para eritrocitos, PMN's y monocitos, e inclusive, la  $\alpha$ - hemolisina de *E. coli* puede dañar a las células tubulares aisladas del riñón (7, 13, 93).

Por otra parte, se ha demostrado que la hemolisina también contribuye a la virulencia en los modelos de infección intraperitoneal, pero aún se desconoce en qué fase del proceso ascendente es activa (85, 96).

La presencia de hemolisina no influye en cuanto a la persistencia bacteriana en los riñones y la vejiga, pero intensifica el daño epitelial que se requiere para que la enfermedad se propague a todo el tracto urinario, al grado de que predomina en las clonas pielonefriticas. Los estudios epidemiológicos revelan una relación

directa entre la pielonefritis aguda debida a cepas de *E. coli* productoras de hemolisina y bajos niveles de hemoglobina en sangre (69, 83).

En general, persisten dos teorías que explican cómo es que la colonización de la vejiga se traduce en una severa respuesta inflamatoria, principal responsable de los síntomas implicados en las UTI's: la primera de ellas alude a la estimulación del proceso inflamatorio vía las endotoxinas (LPS), en tanto que la segunda hace referencia a la producción de exotoxinas por parte de los microorganismos uropatógenos (85, 93, 96).

Por lo que respecta a la producción de exotoxinas, algunas cepas uropatógenas de *E. coli* producen al menos una de ellas, denominada originalmente hemolisina, ya que lisa eritrocitos y algunas células del hospedero (37, 93).

Esta sustancia extracelular, conocida como HlyA, pertenece a una familia de toxinas del tipo RTX, denominación que alude a la presencia de un segmento de 9 aminoácidos compartidos que se repiten a lo largo de la estructura (RTX = repeticiones en la toxina). Cabe señalar que no todas las proteínas de esta familia lisan eritrocitos ya que, por ejemplo, la citotoxina de *E. coli* enteroagregativa (EaggEC) y algunas otras pertenecen a las toxinas RTX sin actividad hemolítica (37, 69).

La HlyA y la mayor parte de las toxinas RTX actúan provocando la generación de poros en la membrana celular eucariote, en presencia de iones  $Ca^{2+}$ ; éstos se unen a la toxina, concretamente a la región que contiene las repeticiones en tandem de los 9 aminoácidos. Los elevados niveles de toxina lisan las células hospederas, en virtud de que se forman innumerables poros que promueven la liberación de componentes citoplásmicos esenciales (proceso que en el riñón se traduce en daños severos), e inclusive, las bajas concentraciones que no resultan suficientes para ocasionar una lisis evidente, sí ejercen algunas otras acciones de relevancia, tales como la estimulación de la liberación de citocinas y la excreción de iones superóxido por parte de las células renales (85, 93).

Cuando se inyectan en la cavidad peritoneal de ratones, las cepas de *E. coli* no productoras de hemolisina resultan mucho menos virulentas que las uropatógenas. De hecho, las clonas productoras de *pili P* y HlyA colonizan la vejiga y los riñones de ratones empleados para analizar el ascenso progresivo de las UTI's, antes de ocasionarle la muerte al 65 % del lote correspondiente; por el contrario, las cepas con *pili P* incapaces de sintetizar HlyA sólo colonizan el tracto urinario, sin ocasionar daño renal ni la muerte de los animales (69, 85).

De acuerdo con dichas observaciones, se ha sugerido que la HlyA podría generar y/o regular las lesiones renales dado que, además, se ha demostrado

que ciertas cepas de *Proteus* que afectan intensamente al riñón, también liberan una hemolisina muy similar a la HlyA (37, 69, 85, 93).

#### **v. Sideróforos**

Otro importante rasgo de virulencia de las cepas uropatógenas de *E. coli* consiste en la capacidad para procurarse hierro. Como cualquier otro microorganismo, *E. coli* requiere de dicho metal para llevar a cabo su metabolismo aeróbico y, por ende, para multiplicarse (72).

Sin embargo, dado que dentro del organismo del hospedero, la mayor parte del hierro se encuentra ligado a hemoglobina y a diversas proteínas acarreadoras (lactoferrina, transferrina, ferritina, etc.), las moléculas implicadas en la tarea de obtener el metal son ampliamente aceptadas como factores de virulencia ya que, sin ellas, no ocurrirían la reproducción bacteriana ni la enfermedad (83, 93).

Hasta el momento, las moléculas reconocidas como encargadas de la procuración del hierro en *E. coli* corresponden a dos sideróforos superficiales (también conocidos como proteínas de batalla): el hidroxamato de aerobactina y el catecol enteroquelina, de los cuales aún se desconocen sus respectivas contribuciones cuantitativas y las fases del proceso infectivo en las que cada una participa (72, 93).

Sin embargo, se ha demostrado que los aislamientos clínicos provenientes de pacientes con septicemia y/o pielonefritis aguda producen mayor cantidad de aerobactina que los asociados a otras UTI's y, desde luego, que los relacionados con ABU (72, 83, 93).

### **Organización y regulación de los genes de virulencia**

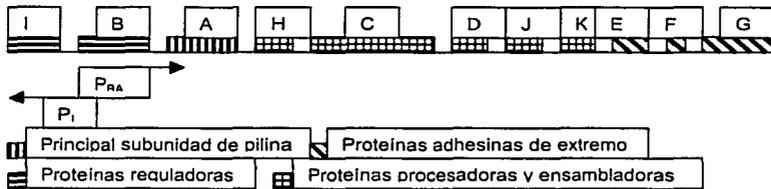
Si bien la producción de *pili* P ocurre a una temperatura máxima de 37°C, otros factores tales como el crecimiento en medios sólidos y la presencia de glucosa también afectan la elaboración de dichas adhesinas. Evidentemente, las bacterias deben contar con algún mecanismo para reconocer si están en el colon, el tracto vaginal, la vejiga o el riñón; empero dichas señales y las proteínas reguladoras implicadas aún no han sido identificadas (93, 104).

Adicionalmente, la regulación de los genes que codifican para la síntesis de los diversos *pili*, no sólo permite a las bacterias adaptarse a diferentes ambientes y superficies mucosas sino que, además, representa el origen de una de las estrategias más eficaces para que el agente patógeno pueda evadir la acción de los anticuerpos: generalmente, las cepas uropatógenas de *E. coli* elaboran varias clases de adhesinas, ya sea recombinando genes de distintos tipos de fimbrias o de diferentes serotipos de un mismo *pili*; de esa manera, al interrumpir la

producción de ciertos *pili* y promover la síntesis de otro(s), se provoca la inactivación de los anticuerpos<sup>3</sup> dirigidos contra los primeros ( 72, 93).

El análisis de los serotipos de *E. coli* ha permitido observar que las cepas extraintestinales expresan una limitada cantidad de combinaciones de antígenos O:K:H., las cuales presentan una cierta organización de factores de virulencia que contribuye a la aparición de los diferentes estadios de una uropatía (67, 72, 85, 93).

Los genes que codifican para la síntesis de los *pili* P se encuentran agrupados en el cromosoma bacteriano, tal como lo indica la figura 7 (85).



**Figura 7.** Arreglo de genes de *pili* P (*pap*) en el cromosoma de *E. coli*. G es la proteína del extremo que se une a la globobiosia; A es la subunidad eje del *pili*.

<sup>3</sup>En el caso de los agentes uropatógenos, los anticuerpos que la bacteria evade pertenecen sobre todo a la clase IgA, ya que ésta es la que predomina en las mucosas, incluida la del tracto urinario.

Dicha agrupación contiene genes asociados a la subunidad mayor (*papA*), a las moléculas adhesivas específicas ubicadas en la punta del *pili* (*papE,F,G*), a las proteínas procesadoras y de ensamblaje (*papC,D,H,J,K*) y a las que regulan el proceso global de síntesis (*papB,I*).

Cabe señalar que los genes *pap* se transcriben a partir de un promotor único ( $P_{BA}$ ) y que su regulación es relativamente compleja, ya que su expresión se modifica obedeciendo a diversas señales ambientales que terminan controlando un clásico mecanismo de variación de fase (de "encendido"/"apagado"), el cual se refleja en la promoción o represión génicas (54, 103).

La expresión de los genes *pap* cambia en respuesta a la temperatura, a los niveles de glucosa en el medio y a las concentraciones de ciertos aminoácidos.

Por su parte, el gen *hlyA* de las cepas uropatógenas de *E. coli* se localiza en un grupo de genes, entre los cuales algunos codifican para el sistema de secreción proteica tipo III, encargado del ensamble y la excreción de la HlyA hacia el medio extracelular (54, 85, 104).

Además, los genes asociados a la síntesis y ensamble de los *pili* suelen encontrarse ubicados cerca de los que codifican para la producción y excreción de la HlyA. Las regiones que contienen a ambas clases de genes son conocidas

actualmente como "bloques de genes de virulencia" y una misma cepa de *E. coli* puede presentar más de uno de ellos (8, 10, 93).

Por último, el hecho frecuente de que los genes de virulencia estén agrupados y rodeados por segmentos repetidos de DNA, plantea la hipótesis de que los bloques implicados residan en transposones o en algún otro tipo de elemento móvil (54, 85, 103).

#### **Estructura de las poblaciones de *E. coli*.**

En las bacterias inciden dos procesos diferentes, responsables de la introducción de nuevas variantes en la población, que representan un prerrequisito para que ocurran los cambios evolutivos; dichos factores consisten en las mutaciones y la inmigración de genes provenientes de otras clonas, seguida por una recombinación (62, 96).

Una estructura clonal (de población) es resultado de que cada célula dé lugar a progenie genéticamente idéntica o muy similar. En tal sentido, las poblaciones persisten como series de linajes independientes o clonas. Si bien las recombinaciones pueden ser inducidas *in vitro* bajo ciertas condiciones de laboratorio, las poblaciones naturales de *E. coli* suelen presentar una clásica estructura clonal con muy baja velocidad de recombinación (98, 102).

La primera evidencia de la existencia de clonas entre las poblaciones de *E. coli* se desprendió del estudio de serotipos y biotipos.

Sjöstedt observó una coaparición no azarosa de ciertos antígenos de superficie de *E. coli* y, posteriormente, Orskov y cols continuaron el análisis hasta demostrar que los tres antígenos serotíficantes: O (LPS), K (polisacárido capsular) y H (antígeno flagelar), realmente se encontraban asociados (no aparecían al azar) y que ciertos biotipos se expresaban consistentemente en los aislamientos que evidenciaban ciertos marcadores de serotipo (43, 57, 93, 96).

Sin lugar a dudas, la capacidad para causar enfermedad puede residir en una característica única, como en el caso de una toxina o de algún importante factor de invasión. Consecuentemente, la adquisición de dicha propiedad mediante recombinación, transformaría en virulentas a ciertas cepas no uropatógenas de *E. coli*.

Sin embargo, dado que los eventos recombinantes son raros en *E. coli*, es claro que, en el tracto urinario, los cambios en la virulencia deben ser más cuantitativos (aditivos) que cualitativos.

Dado que las clonas difieren en varias características, la asociación epidemiológica de cada una a la uropatología implicada, representa únicamente

un indicador y no una evidencia del papel de sus propiedades específicas en la patogénesis correspondiente (20, 56, 93).

**Islas de patogenicidad de UPEC.** A principios de la década de los 80, fueron descubiertas las islas de patogenicidad (PAI's) y ello ocurrió precisamente mediante estudios realizados en las cepas de E. coli uropatógena (UPEC) 536 y J96 (8, 33, 94): éstas contenían distintos bloques de DNA que incluían genes de virulencia debidamente acoplados (35, 38, 59).

Más recientemente, se identificó otra PAI en la cepa CFT073 de E.coli , lo que ha demostrado que las tres comparten los siguientes criterios típicos (30, 32, 45):

1. Ocupan largas regiones genómicas del DNA (>20 kb).
2. Contienen por lo menos un gen de virulencia.
3. Están insertadas entre o cerca de genes de tRNA.
4. Contienen repeticiones directas y secuencias de movilidad.
5. Muestran un contenido de G+C diferente al del resto del DNA (el original de la bacteria en turno).

Los nuevos descubrimientos de múltiples PAI's en las cepas UPEC han obligado a diseñar una nomenclatura uniforme: Las PAI's se nombran cronológicamente con números romanos, seguidos de la designación de la cepa en que se detectó, en forma de subíndice.

La cepa UPEC 536 (O6: K15: H31) fue aislada a partir de un paciente con pielonefritis aguda (7) y representa una de las cepas que producen varios factores de virulencia incluyendo dos alfa-hemolisinas (*hly*), tres diferentes tipos de adhesinas fimbriales (fimbrias P, S y tipo 1 –*prf*, *sfa*, y *fim*, respectivamente-, los sideróforos conocidos como enterobactina (*ent*) y yersiniabactina (*ybt*) y los factores que confieren resistencia sérica (32, 56, 67).

Goebel y cols analizaron inicialmente las secuencias que flanquean al gen *hly* de esta cepa y observaron que se encuentran situadas en regiones cromosómicas largas e inestables, a las que llamaron "islas de hemolisina" (35, 48, 56).

Estudios posteriores revelaron la presencia de genes de virulencia adicionales en una de estas regiones, llamados a la postre *prf*, por lo que el nombre de PAI's sustituyó al de "islas de hemolisina" (20, 33).

En el genoma de UPEC 536 existen por lo menos cuatro PAI's, cuyos respectivos tamaños fluctúan entre 25 y 190 kb. Mientras las PAI's I<sub>536</sub> y II<sub>536</sub> contienen los genes *hly* y *prf*, la III<sub>536</sub> codifica para la adhesina fimbrial S (9) y la IV<sub>536</sub> incluye a los genes *fyuA*, así como a *irp1* hasta *irp5*, todos lo cuales codifican para el sistema yersiniabactina (*ybt*) especializado en la captura de hierro.

La designación (ybt) se debe a que los genes mencionados fueron detectados originalmente en el genoma de diferentes especies de *Yersinia*, en donde se localiza la llamada "isla de alta patogenicidad" (HPI) de este género (13, 20, 22, 96).

Por su parte, la cepa UPEC J96 (O4:K6) fue aislada de un paciente con pielonefritis aguda y se caracteriza por poseer varios grupos de genes de virulencia, incluyendo los que codifican para: dos alfa-hemolisinas (hlyI y hlyII), factor necrosante citotóxico CNF1 (cnf1), dos tipos de fimbrias P (pap y prs), fimbrias F1C (foc) y tipo 1 (fim), así como los elementos asociados a resistencia sérica (8, 41, 62, 67).

Estudios relacionados han demostrado que las secuencias de hly, pap y prs se encuentran unidas (59, 102) y que por lo menos dos de ellas se localizan en el cromosoma de la cepa J96: la PAI I<sub>J96</sub> y la II<sub>J96</sub> (consultar la tabla 2).

**Tabla 2.** Principales características de las PAIs detectadas en cepas UPEC.

Cepa	Nombre de la PAI	Factores de virulencia codificados
536	I <sub>536</sub>	Alfa-hemolisina
536	II <sub>536</sub>	Alfa-hemolisina, fimbrias P (Prf)
536	III <sub>536</sub>	Fimbrias S
536	IV <sub>536</sub>	Ybt
J96	I <sub>J96</sub>	Alfa-hemolisina, fimbrias P (Pap)
J96	II <sub>J96</sub>	Alfa-hemolisina, fimbrias P (Prs), CNF1
CFT073	I <sub>CFT073</sub>	Alfa-hemolisina, fimbrias P (Pap)

La PAI I<sub>J96</sub> codifica para los determinantes de virulencia hlyI y pap y la II<sub>J96</sub> contiene a los genes hlyII, prs y cnf1, los cuales se encuentran unidos estrechamente. En general, las PAIs de la cepa J96 están relacionadas con genes del tRNA: la I<sub>J96</sub> con el pheV y la II<sub>J96</sub> con el pheR de la clona K-12.

Por último, la cepa *E. coli* CFT073 se aisló a partir de la sangre y orina de una mujer con pielonefritis aguda y posee los genes de virulencia hly, así como dos operones pap, sfa y fim (30, 65, 86).

**Genes contenidos en PAI's de UPEC.** Los genes que codifican para la hemolisina y las fimbrias P representan los factores de virulencia mejor estudiados en UPEC. En la cepa 536, la determinante sfa, que codifica para las fimbrias S, está localizada en la PAI III<sub>536</sub>; cabe agregar que hasta ahora se han aislado nueve fragmentos PCR específicos para esta clona, cuyos análisis han revelado la presencia de nuevos genes (33, 45, 62, 94).

En contraste, aún no se han logrado localizar otras determinantes que codifican para importantes factores de virulencia, tales como cápsulas o aerobactina; de hecho, sólo se sabe que los genes asociados a esta última (aer), se ubican en el cromosoma bacteriano (101).

**Elementos regulatorios.** Los genes de virulencia suelen no expresarse constitutivamente, sino en respuesta a diversas señales o modificaciones originadas en el nicho ecológico del que forma parte el microorganismo, independientemente de que aquél se encuentre fuera o dentro del hospedero. Dicha afirmación, desde luego, también resulta cierta para los genes localizados en las PAIs, buena parte de los cuales está comúnmente relacionada con funciones regulatorias.

Por otra parte, la expresión de los factores de virulencia ubicados en las PAIs de UPEC, tales como las fimbrias S y P, así como la alfa-hemolisina, también está influenciada por moléculas reguladoras cuyos genes son cromosómicos y pueden formar parte de PAIs (20, 32, 56).

Es importante señalar que las PAIs de las cepas UPEC, frecuentemente están flanqueadas por genes tRNA, los cuales suelen ser utilizados como sitios de inserción de bacteriófagos (82). Además, los genes de la integrasa de los bacteriófagos y otras secuencias adicionales bacteriófago- específicas se han encontrado en las PAIs de UPEC (10, 30, 94); de hecho, secuencias del bacteriófago P4 se han identificado consistentemente en *E. coli* 536, J96 y CFT073. (9, 30, 80).

**Implicaciones de las PAI's de UPEC en la evolución.** Tres diferentes categorías de factores de virulencia están codificadas por las PAIs de UPEC: factores de adherencia, toxinas y sistemas de procuración de hierro. En tal contexto, aún no se han logrado esclarecer las causas o características que transforman a una cepa común de *E. coli* en UPEC, si bien la teoría más aceptada es la que establece que las UPEC's representan variantes de *E. coli* adaptadas específicamente para ciertos animales o para el intestino humano.

Evidentemente, los genes que codifican para los diferentes factores de virulencia de las cepas UPEC están localizados en el cromosoma bacteriano, en tanto que, en las clonas diarreagénicas (ECET, ECEP, ECEH, ECEA, ECEI, etc.), la mayoría de las determinantes de patogenicidad reside en plásmidos y/o bacteriófagos (20, 68, 100).

La producción de CNF1 reside en el cromosoma, pero los que codifican para el sistema aerobactina son de localización plasmídica y cromosómica. En todo caso, las PAI's de UPEC o al menos partes de ellas aparentan proceder de plásmidos.

Al margen de ello, las secuencias originadas en plásmidos, sumadas a las provenientes de fagos, como los genes que codifican para la integrasa, contribuye al reciente concepto de estructuras "mosaico" (88).

*Escherichia coli* uropatógena

De hecho, las PAIs de UPEC son excelentes ejemplos de la evolución de los genomas procariotes en microorganismos virulentos y no patógenos (20, 32, 56).

### **III. DIAGNÓSTICO Y TRATAMIENTO**

#### **i. Diagnóstico de laboratorio**

El diagnóstico de las infecciones urinarias debe establecerse por lo menos en tres áreas o niveles:

1. Diagnóstico sindromático.
2. Diagnóstico etiológico.
3. Diagnóstico de malformación o defecto de vías urinarias o de riñón.

En cuanto al primero, la identificación de uretritis o cistitis es relativamente fácil, pues los síntomas son evidentes y característicos. Sin embargo, es difícil diferenciar con certeza entre ambos padecimientos, ya que frecuentemente se combinan (uretricitis) o provocan manifestaciones clínicas muy similares. Es necesario practicar exámenes generales de orina y urocultivos, además de aplicar a los enfermos cuidadosos interrogatorios sobre los antecedentes de infecciones urinarias previas, traumatismos, masturbación, hábitos de higiene y actividad sexual (15, 51).

Resulta útil la microscopía directa para detectar bacteriuria en orina no centrifugada y teñida al Gram: la demostración de por lo menos un microorganismo por campo de inmersión correlaciona en 90 % con los urocultivos en los que se observan  $10^5$  UFC/mL (51, 52).

Existen varios métodos de análisis para llevar a cabo la detección de bacteriuria y piuria, entre lo cuales destacan los químicos, los automatizados y los juegos de reactivos bacteriológicos. Los dos primeros tienen la ventaja de proporcionar resultados rápidos, en tanto que algunos juegos de reactivos bacteriológicos resultan más accesibles para el laboratorio clínico común.

A pesar de que la mayoría de dichos métodos suele ser confiable para registrar bacteriuria a niveles  $>10^5$  UFC/mL o mayores, es conveniente tomar en cuenta que la presencia del agente etiológico puede pasar inadvertida en ciertos pacientes afectados por microorganismos de lento desarrollo o incapaces de crecer in vitro, o bien, cuando el patógeno da lugar a cuentas menores a  $10^5$  UFC/mL (51, 90, 93).

#### **A. Métodos bioquímicos**

Los métodos más usados para llevar a cabo la detección de bacteriuria y piuria incluyen las pruebas de la catalasa, glucosa oxidasa, nitritos (prueba Griess) y estearasa leucocitaria.

De cualquier modo, no se deben realizar solas, porque carecen de especificidad, sensibilidad y valores predictivos necesarios en los procedimientos analíticos. La gran mayoría de estas pruebas se basan en el empleo de tiras reactivas, por lo cual son poco costosas, rápidas y fáciles de realizar.

Las pruebas del nitrito y de la glucosa oxidasa requieren que la orina se incube por lo menos 4 h en la vejiga, preferentemente durante la noche, para reducir la probabilidad de resultados falsos negativos; ello no siempre resulta posible, especialmente cuando se trata de pacientes no hospitalizados. Por otra parte, también pueden ocurrir resultados falsos positivos en algunas de las pruebas químicas, debido a que células hospederas suelen contener la enzima que se analiza (14, 60).

#### Prueba del nitrito

Los microorganismos Gram negativos, los cuales predominan entre los agentes etiológicos de las UTI's, son capaces de reducir los nitratos, por lo que la detección de nitritos es indicativa de bacteriuria. No obstante, es preciso considerar a las siguientes limitaciones: la incubación de la orina en la vejiga es necesaria; es preferible emplear la primera muestra de la mañana; algunos microorganismos como los enterococos y levaduras no reducen nitratos; así mismo, el ácido ascórbico, las cantidades anómalas de urobilinógeno y un pH urinario menor de 6.0 pueden dar lugar a resultados falsos negativos (14, 42, 60).

La obsolescencia de esta técnica se debe principalmente a que su alta especificidad de 90 a 100 % contrasta marcadamente con una muy variable sensibilidad de 35 a 80 % y a la frecuencia de sus resultados falsos negativos, a causa de la ausencia de nitratos en la dieta, o bien, debido a niveles insuficientes de nitrato urinario, asociados a la administración de diuréticos (51, 90).

#### Estearasa leucocitaria

La prueba química más confiable es quizá la de la estearasa leucocitaria; ésta se encuentra disponible en tiras reactivas, sus resultados se obtienen en 2 minutos y adicionalmente, correlacionan con la presencia de piuria significativa ( $\geq 10$  leucocitos/  $\text{mm}^3$ ); esto último es importante porque realizar la determinación de piuria mediante el uso del microscopio suele ser lento y tedioso (14, 53, 60).

La combinación de los resultados de las dos pruebas, incrementa la sensibilidad en la detección de las UTI's. Otras pruebas menos confiables que se emplean con cierta frecuencia, son:

#### Prueba de la catalasa.

La mayoría de las bacterias que ocasionan UTI's son catalasa positiva; de esta manera, cuando una orina que contiene bacterias se mezcla con peróxido de hidrógeno, ocurre la liberación de oxígeno. Sin embargo, es preciso tomar en

cuenta que la enzima catalasa también es producida por los leucocitos, eritrocitos y células renales, razón por la cual por sí sola no es específica para diagnosticar bacteriuria.

#### Prueba de la glucosa oxidasa

Puesto que es completamente normal que la orina contenga glucosa, la patológica presencia de bacterias en la orina correlaciona con la disminución del azúcar. Resultados falsos negativos pueden ocurrir en pacientes diabéticos: la muy alta concentración de glucosa en la orina hace prácticamente imposible que las bacterias la metabolicen de manera notable.

Evidentemente, la estandarización del método requiere de que se analice la primera orina de la mañana.

#### **B. Juegos de reactivos bacteriológicos**

Los juegos de reactivos de cultivos bacteriológicos son sencillos de utilizar y relativamente baratos; su empleo es adecuado cuando se retrasa el transporte de las muestras al laboratorio y/o no se dispone de refrigeración. A pesar de que esta clase de técnicas no permite efectuar la cuantificación de las colonias, generalmente pueden efectuarse correlaciones tendientes a estimar las cifras (6, 14, 90).

Estos juegos de reactivos consisten en portaobjetos para observar a inmersión y placas con agar; puesto que corresponden a métodos de cultivo, requieren incubación durante la noche para detectar bacteriuria. El agar viene colocado, ya sea en una paleta o en la superficie del dispositivo y algunos de los medios implicados vienen adicionados de inhibidores que sustentan la diferenciación entre los microorganismos Gram- negativos y Gram- positivos (60).

Sin embargo estas pruebas analíticas no son definitivas, por lo que químico y médico deben tomar en cuenta la posibilidad de complementarlas mediante la realización de urocultivos cuantitativos clásicos y de pruebas de susceptibilidad a los antibióticos (6, 14, 60).

### **C. Métodos automatizados**

Como consecuencia del desarrollo y utilidad de la automatización en el laboratorio clínico, se encuentran disponibles varios instrumentos analíticos que llevan a cabo la detección de bacteriuria. Estos métodos se basan en los principios de bioluminiscencia, análisis electroquímico, impedimento eléctrico, filtración colorimétrica, nefelometría laser, microcalorimetría, fotometría y radiometría; en tal sentido, los equipos permiten eliminar rápidamente las muestras negativas (lo que sólo requiere entre 2 minutos y 13 horas) y los resultados pueden compararse con los obtenidos mediante los cultivos estándar en placa (77, 78).

El análisis electroquímico utiliza dos electrodos, el de referencia y uno de platino, los cuales se sumergen en la muestra de orina. La presencia de bacterias viables se detecta con base en un cambio del voltaje.

La técnica fundamentada en impedimento eléctrico, consiste en la medición de la resistencia al flujo de la corriente que pasa a través de la orina y lo que se registra es un aumento en el impedimento, originado por el crecimiento y metabolismo de los microorganismos presentes (39, 40).

En cuanto a la nefelometría laser, se aplica el laser como fuente de luz: el grado de dispersión de ésta última da lugar a un incremento en el voltaje, congruente con la multiplicación bacteriana.

Por su parte, la microcalorimetría es aplicable a la detección de bacteriuria, ya que los microorganismos generan calor durante sus procesos metabólicos.

Finalmente, en la radiometría se registra la liberación de  $^{14}\text{CO}_2$ , a partir de sustratos marcados con  $^{14}\text{C}$  utilizados por las bacterias de la orina; por obvio, estos métodos son muy costosos e inaccesibles para la mayoría de los laboratorios clínicos (14, 98).

Los métodos de rutina pueden dividirse en tres grupos, tomando como base el tiempo requerido para efectuarlos, así como sus respectivos fundamentos:

**Fotométricos.** Al menos 3 sistemas utilizan el principio de dispersión de luz para efectuar la detección de bacteriuria: el Autobac (Organon Técnica, Morris Plains, N. J.), AutoMicrobic (Vitek Systems, Inc., Hazelwood, Mo.) y Advantage (Abbott Laboratories, North Chicago, Ill.).

Dichos sistemas requieren de que los microorganismos desarrollen para generar resultados positivos. El segundo de ellos también efectúa la identificación presuntiva del uropatógeno (61).

La orina se coloca en un caldo de cultivo y se incuba durante un lapso que fluctúa entre los 30 minutos y 13 horas; las lecturas se realizan a regulares intervalos de tiempo, registrándose cualquier cambio en la transmisión de la luz.

Los cambios en la turbiedad son indicativos de resultados positivos y los tiempos de incubación dependen de cada sistema, si bien todos ellos diferencian confiablemente las muestras positivas de las negativas, consumen menos tiempo y son relativamente menos costosos (14, 61, 78).

**Bioluminiscencia.** Los dos principales sistemas que se basan en este principio, son: el Lumac (3M, St. Paul, Minn.) y el Monolight 500 (Analytical Luminiscence Laboratory, Inc., San Diego, Calif.). El método consiste en agregar a la orina ATPasa y algunos reactivos que provocan la liberación de ATP de las células somáticas; éste es defosforilado por la enzima y después de 15 a 30 minutos de

incubación - dependiendo del sistema utilizado - se agrega a la mezcla un segundo reactivo encargado de liberar ATP de las células bacterianas, seguido de la adición de luciferin- luciferasa. La luz emitida por el ATP bacteriano se mide en un biocontador y se reporta como "unidades de luz relativa" (RLU, por sus siglas en inglés).

Los dos sistemas permiten detectar bacteriuria con exactitud y precisión: concentraciones de  $10^5$  UFC/mL o mayores son registradas en 15 a 30 minutos, si bien los análisis son más costosos que los efectuados mediante métodos fotométricos (4, 14, 57).

**Filtración colorimétrica.** El sistema Bac- T (Marion Laboratories, Inc., Kansas City, Mo.) representa un recurso relativamente confiable para efectuar la detección de bacteriuria y piuria en 2 minutos, por medio de filtración colorimétrica (77, 79).

Este sistema se basa en la detección de las bacterias en la orina, sin que exista la necesidad de que aquéllas crezcan. La muestra se filtra y se le agrega safranina: si contiene bacterias, éstas se quedan en el papel filtro originando la aparición de una coloración rosa. La lectura se realiza de manera visual o por medio de una tarjeta de referencia, lo que simplifica la interpretación en los casos de que el color sea muy tenue (61, 79).

Incuestionablemente, la principal ventaja de los métodos de análisis que detectan bacteriuria reside en la capacidad para definir y descartar rápidamente las muestras negativas.

Sin embargo, debido a que la mayoría de los métodos tienen una sensibilidad de  $10^5$  UFC/mL, la determinación de piuria -relacionada con bacteriuria- ayuda a detectar muestras positivas con cantidades de bacterias menores de  $10^5$  UFC/mL (51, 97).

Si la prueba para bacteriuria es negativa, pero la de piuria es positiva, las cuentas menores de  $10^5$  UFC/mL pueden ser significativas en los pacientes sintomáticos.

Evidentemente, los cultivos de rutina se realizan para detectar a los agentes etiológicos más comunes; no obstante, cuando el urocultivo es negativo y el paciente continúa presentando los síntomas, se deben intentar cultivos de microorganismos tales como *C. trachomatis*, *N. gonorrhoeae* y *Ureaplasma urealyticum* (14, 61, 96).

De acuerdo con lo anterior, incuestionablemente, el urocultivo representa la mejor herramienta del laboratorio clínico, ya que permite establecer el diagnóstico definitivo, identificar el microorganismo y precisar el tratamiento.

El urocultivo cuantitativo asociado a las muestras recolectadas por media micción, constituye el estudio estándar: por lo general, 100,000 UFC/mL de una bacteria, relacionadas con un individuo sintomático, establece la existencia de una infección urinaria con una certeza de 80% a 85%; las cuentas menores pueden indicar contaminación de la orina, interpretación que también se le da al hallazgo de dos o más microorganismos en la superficie de los medios sólidos (14, 51, 90, 97).

En los niños pequeños suele ser necesario tomar la muestra a través de sondas pequeñas y delgadas que se introducen en la uretra, e inclusive, en los lactantes, la recolección puede requerir de una punción suprapúbica, ya que el uso de las bolsas que se adhieren a los genitales, a menudo se asocian a contaminaciones por otros microorganismos. El cateterismo se relaciona con bacteriurias patológicas al observarse cuentas mayores a 1,000 UFC/mL de un solo microorganismo, en tanto que cualquier cifra es significativa cuando el método de obtención del espécimen es el de punción suprapúbica (14, 28, 90).

En los niños, cuando la orina se recolecta de manera natural, es preciso llevar a cabo un previo y cuidadoso aseo de los genitales y no emitir diagnósticos definitivos de infección urinaria sino hasta después de haber obtenido dos urocultivos positivos con más de 100,000 UFC/mL del mismo microorganismo.

Por obvio, las muestras deben procesarse antes de que transcurran 40 a 60 minutos después de recolectadas, a menos que se coloquen en el refrigerador por un máximo de 24 h (14); de otra manera, las cuentas observadas pueden resultar mayores que las reales y se relacionan con resultados falsos positivos (43, 95).

La leucocituria, como la proteinuria, constituye un dato importante, pero ambas llegan a ser negativas, aún en casos comprobados de infección urinaria. Por el contrario, a veces se presenta hematuria, lo cual sugiere malformaciones en las vías urinarias y, desde luego, la presencia de cilindros leucocitarios revela que la infección es grave, lo cual a veces también se asocia a incrementos de la urea sérica, aún cuando no ocurra insuficiencia renal (por deshidratación e hiperazoemia prerrenal); en este sentido, si también se eleva la creatinina y existe acidosis metabólica, es muy probable que se trate de daño renal. Por último, en las biometrías hemáticas frecuentemente aparecen leucocitosis con neutrofilia (4, 51).

La localización del sitio en el que reside la infección urinaria es muy importante, ya que las infecciones de las vías altas son la causa fundamental de insuficiencia renal crónica; por ello, se han propuesto varias técnicas de laboratorio, pero todas son muy refinadas y no aplicables a la clínica, destacando la cateterización ureteral, el lavado vesical (14) y la detección de bacterias cubiertas con

anticuerpos (BCA), prueba que posee una sensibilidad de 83 % y que se ha aplicado en diversos estudios epidemiológicos (4, 51).

En mujeres adultas, el método que ha redituado los mejores resultados para ubicar la posición del proceso infeccioso consiste en el tratamiento con dosis única: cuando la respuesta de la paciente es exitosa, se concluye que la afección se localizaba en las vías urinarias bajas; sin embargo, el análisis correspondiente implica un seguimiento estrecho y adecuado de la enferma, lo que se traduce en más consultas y exámenes de laboratorio, ya que es indispensable efectuar una evaluación integral de cada caso (51, 97, 99).

Por otra parte, dado que resulta muy probable la coexistencia de pielonefritis y las malformaciones o defectos renales (o en el resto de las vías urinarias), en los pacientes sospechosos de padecer pielonefritis son muy útiles la urografía excretora y el cistograma miccional; este último ayuda a identificar la existencia de reflujo vesicoureteral y la estenosis de la uretra, en tanto que la urografía excretora debe practicarse a todos los pacientes menores de 6 años. De hecho, ambos estudios se practican a mujeres mayores de seis años, sólo cuando se trata de recaídas o de respuestas poco satisfactorias a la terapéutica inicial.

La ecografía renal también representa un procedimiento útil para precisar el diagnóstico de alteraciones o malformaciones renales y pielocaliciales, y cuenta con la ventaja de que corresponde a una técnica no invasiva, que puede suplir a

la urografía excretora en la parte inicial del estudio de los pacientes implicados (51, 81).

#### **D. REACCION EN CADENA DE LA POLIMERASA (PCR)**

Si bien la identificación tradicional de los agentes infecciosos responsables de diversas enfermedades bacterianas, se lleva a cabo mediante cultivos de laboratorio, la PCR constituye un método molecular que permite el reconocimiento de secuencias específicas de DNA o RNA. Evidentemente, desde hace más de 20 años, se han venido utilizando técnicas moleculares tales como el Southern- blot del DNA y el Northern- blot del RNA; pero sin embargo, la PCR ha enriquecido la práctica diagnóstica molecular en todo el mundo: una vez recolectada y preparada la muestra, ocurre en su seno la rápida multiplicación (amplificación) del DNA perteneciente al agente etiológico y los millones de copias obtenidos incrementan la sensibilidad de cualquier técnica que se elija para llevar a cabo la detección correspondiente (23, 31, 98).

La PCR no constituye un método diagnóstico por sí misma: en una muestra clínica, el proceso basado en el reconocimiento del DNA del agente causal para su detección, consta de tres pasos:

1. Procesamiento de la muestra
2. Amplificación del DNA por PCR

### 3. Identificación del DNA amplificado

La técnica de PCR es relativamente fácil de llevar a cabo; sólo se necesita un tubo de reacción, algunos reactivos y de una temperatura controlada por ciclos. Una vez efectuada la amplificación, la procedencia del DNA "blanco" se establece mediante diferentes métodos: desde una electroforesis en gel de agarosa hasta ensayos inmunogenéticos que emplean sondas marcadas. El método se ha automatizado y sólo requiere de la adición de una "mezcla estándar" al tubo de reacción correspondiente. Es eficaz en cualquier tipo de muestras clínicas: biopsias, sangre y sus derivados, semen, secreciones uretrales y vaginales, expectoraciones, aspirados transtraqueales, materia fecal, orina y los líquidos cefalorraquídeo (LCR), sinovial, pleural, peritoneal y amniótico, entre otros (23, 31, 64, 75).

1) Procesamiento de la muestra clínica. Este se realiza con el fin de lisar a la bacteria y lograr la extracción del material genético bacteriano. Los procedimientos que implican muestras de orina, son (23, 31):

- Lisis bacteriana por congelamiento- descongelamiento (de 5° a 20°C)
- Lisis bacteriana por congelamiento-ebullición (de 5° a 94°C) y su almacenamiento posterior a -20°C.
- Ebullición con Chelex 100; con éste se logra estabilizar al DNA.
- Extracción con una mezcla fenol: cloroformo y precipitación con etanol.

- Extracción salina y precipitación con etanol.

Aunque no es indispensable que la muestra se encuentre altamente purificada, los dos últimos métodos antes señalados son muy útiles para eliminar impurezas biológicas del DNA.

2) Amplificación de la muestra por PCR. Este proceso se lleva a cabo con base en la acción de alguna DNA polimerasa, que cataliza la formación del enlace fosfodiéster entre el 3'- OH en el extremo creciente de la cadena de DNA a elongar (el iniciador) y el grupo 5'- PO<sub>4</sub> del desoxirribonucleótido trifosfato (dNTP) entrante. La elección de cada nucleótido a incorporar está determinada por el DNA molde, al que el iniciador se ha unido previamente por complementariedad de bases (9, 92, 98).

La amplificación del DNA se logra mediante ciclos repetidos de PCR, cada uno de los cuales presenta tres etapas distintas de temperatura<sup>4</sup> (23, 98):

- A. Desnaturalización del DNA molde para separar las hebras de DNA - entre 94° y 96°C -.
- B. Alineamiento de los iniciadores (*primers*) al molde - entre 42° y 60°C -.

---

<sup>4</sup> Cada etapa dura apenas entre uno y algunos minutos, por lo cual casi resulta indispensable que el laboratorio cuente con un termociclador; éste permite programar las temperaturas y la duración de los diversos periodos, para todo el proceso.

C. Extensión (elongación) de los iniciadores por la DNA polimerasa – entre 60° y 72°C-.

La amplificación involucra la participación de dos iniciadores (*primers* o cebadores), que se hibridan (se unen por complementariedad de bases) a cadenas opuestas del segmento "blanco". La reacción concluye cuando la cantidad de enzima se reduce hasta niveles insuficientes (por la inactivación térmica ocurrida después de cada paso de desnaturalización), pero también gravita el hecho de que la efectividad del alineamiento de los iniciadores va decreciendo paulatinamente (al irse disminuyendo su concentración e incrementando en forma exponencial el número de secuencias "blanco"), generalmente a los 30 o 40 ciclos de amplificación (23, 31, 64, 98).

Los principales componentes de la PCR y sus características, se enumeran a continuación (23, 31, 69):

1. Secuencia "blanco": 150 a 500 pares de bases (pb).
2. Iniciadores (*primers*): 15 a 25pb, composición semejante, deben tener similares temperaturas de fusión ( $T_f$ ), y no ser complementarios entre sí; se emplean en concentraciones de 0.1 a 0.5  $\mu$ M.

3. *Taq* DNA polimerasa I (*Taq* pol I): temperatura óptima de 70° a 80°C,  $V_{m\acute{a}x}$  próxima a los 180 nucleótidos/segundo/molécula de enzima (nt/s); concentración de 1.0 a 2.5 U.
4. Desoxirribonucleótidos trifosfatados libres (dNTPs): se utilizan dATP, dGTP, dCTP y dTTP, cada uno en una concentración de 200  $\mu$ M.
5.  $Mg^{2+}$ : componente secundario que contribuye al alineamiento de los iniciadores, a la  $T_f$  del DNA y a la actividad de la *Taq* pol I; la proporción óptima es entre 0.5 y 4.0 mM
6. Solución amortiguadora Tris- Cl: pH 8.3 a 8.9, en concentración de 10 a 50 mM. Su función es la de incrementar la especificidad y el rendimiento de los productos de amplificación.

Cuando el DNA molde se encuentra mezclado con numerosas estructuras secundarias, es oportuno incorporar urea, formamida o dimetilsulfóxido al 1 a 10%; de otro modo, la adición de albúmina o glicerol incrementa el rendimiento de la reacción de amplificación cuando se trata de fragmentos de DNA molde mayores de 2.5 kpb (69, 98).

Para llevar a cabo la detección de UPEC debe buscarse la amplificación de los genes que codifican para los diversos factores de virulencia, a través de iniciadores específicos. Las secuencias de los iniciadores se pueden determinar

en el laboratorio o basándose en programas de computación, que identifican las características conocidas y predictivas de los iniciadores (tabla 3) (23, 44).

La subunidad más importante de las fimbrias P, es la PapA. Esta determinante antigénica presenta polimorfismos de importancia epidemiológica e inmunoterapéutica. Se han reconocido 11 variantes de *papA*: F7- 1, F7- 2, y F8 a F16. Los antígenos F son marcadores para los correspondientes alelos del gen *papA*. La secuencia de nucleótidos de las variantes F7- 1, F7- 2, F9, F11, F12, y F13, fueron obtenidas de la base de datos Gene Bank y, las de F8, F10, F14, F15 y F16, se determinaron experimentalmente; *papA* se amplificó a partir de las siguientes cepas control: AM1727/pANN921, C1960- 79, C1023- 79, C1805- 79 y C83- 83; para lo cual se utilizaron los iniciadores 5'-CTGAGAATTCAGGTTGAAATTCGC- 3' (3' → 5') y 5'-ATGATGAATTCGGTTATTGCCGGTGCGG- 3' (5' → 3'). Por su parte, Ff (5'-GGCAGTGGTGTCTTTTGGTG- 3') es un iniciador universal utilizado para determinar la compatibilidad y distribución de los tamaños de los productos originados a partir de iniciadores 5' → 3' (44).

**Tabla 3.** Iniciadores para la detección de UPEC\* (16, 44).

Iniciador	Secuencia de oligonucleótidos (5' → 3')	Pb del producto
F15r	GCTACATTCTTGCCACTTGC	455
F13r	GGGTATTAGCATCACCTTCGGAG	400
F14r	GCAGCATATCTTTATTGTTCCC	320
F11r	GGCCAGTAAAGATAATTGAACC	277
F9r	AAGGCCCGTTGACGTTTT	416
F7- 1r	TTTACCCGTTTTCCACTCG	375
F8	GTACCACCTACAGCACTTGG	251
F12/15r	AATTCTTGGGCGTTGAGGATCCA	179
F12r	CCCATCGACAAGACTTGACA	393
F10r	CTCCTCATTATGACCAGAAACCCT	312
F16r	GTTCCCGCTTTATTACCAGC	239
F7- 2r	TTTGGGTTGACTTTCCCATC	183

\*Todas las muestras fueron detectadas por la técnica de electroforesis en gel de agarosa al 3%, teñidas con bromuro de etidio.

3) Identificación del DNA amplificado. Una de las principales decisiones de quienes emplean la PCR consiste en seleccionar un método adecuado para detectar el producto amplificado dado que, entre los que se encuentran disponibles, existen diferencias muy significativas en términos de sensibilidad, especificidad, confiabilidad, dificultad y costo (23, 98).

Como el producto primario de la PCR es una molécula dúplex de DNA lineal, de longitud y secuencia definidas, el método de detección ideal debe permitir una determinación precisa del tamaño y de la pureza del producto amplificado. En este sentido, existen técnicas que se basan en el uso de simples geles de agarosa hasta las que contemplan la secuenciación del DNA. Tres de las técnicas empleadas con mayor frecuencia son las siguientes (31, 69):

**Electroforesis en geles de agarosa o poliacrilamida.** El corrimiento electroforético de los productos de la PCR aporta resultados relativamente confiables. El procesamiento simultáneo de marcadores de peso molecular y de controles positivos provenientes de microorganismos caracterizados con anterioridad, permite realizar las comparaciones correspondientes y, establecer la procedencia del DNA amplificado por PCR (23, 31, 98).

**Southern blot.** Esta metodología representa una herramienta muy efectiva para establecer el origen del DNA presente en una muestra clínica. Una vez que se ha llevado a cabo la separación de los productos de la PCR -mediante electroforesis en gel-, se puede identificar un fragmento específico del DNA, previa transferencia de los diversos segmentos a una membrana de nylon o nitrocelulosa. Posteriormente, la secuencia "blanco" se identifica vía su hibridación con una sonda marcada con algún elemento radioactivo, como digoxigenina o biotina- avidina conjugada con peroxidasa (98).

Después del lavado de la membrana, las dobles cadenas de DNA (constituidas por la sonda marcada y el DNA "problema"), permanecerán unidas a dicho soporte, en tanto que las moléculas monocatenarias se habrán eliminado. El revelado correspondiente se logra mediante la exposición de la membrana a una película de rayos- X (23, 98).

**PCR por fragmentos polimórficos de restricción con longitudes variables (RFLP).** Esta metodología resulta útil para el estudio de variaciones en pequeñas regiones del DNA, tales como las de genes individuales. Esta variabilidad puede ser demostrada cuando el DNA cromosómico es purificado y se fragmenta en varios segmentos, vía la acción de endonucleasas de restricción (9, 23, 98).

Una vez digerido el DNA, los fragmentos<sup>5</sup> se separan mediante electroforesis en gel de agarosa, con el fin de distinguir las diferencias entre conjuntos de bandas de distintas cepas. Cuando dichas diferencias son muy pequeñas, se puede recurrir al análisis por Southern blot (23, 31, 98).

## ii. Tratamiento

El tratamiento de las UTI's es fundamentalmente antimicrobiano y, por lo general, la elección de los antibióticos, su vía de administración y su dosificación, toman en cuenta si el proceso patológico obedece a alguna de las siguientes cuatro circunstancias:

- Infecciones agudas no complicadas.
- Infecciones graves.
- Infecciones refractarias.
- Infecciones recurrentes.

La terapia de las infecciones agudas no complicadas considera que la mayoría de los casos se debe a *E. coli* y que existe una gran variedad de antibióticos y bacteriostáticos que se eliminan a través del riñón y alcanzan concentraciones muy elevadas en la orina. Por obvio, debe elegirse entre los menos tóxicos y los más efectivos, basándose en el conocimiento de la frecuencia asociada a las

---

<sup>5</sup> Los diferentes tamaños de los fragmentos obtenidos (origen de la denominación de "polimorfismo") dependen de la ubicación y cantidad de las secuencias que funcionan como sitios de reconocimiento para la(s) enzima(s) utilizada(s).

cepas resistentes, elemento fundamental que varía significativamente entre los diversos grupos de la población.

De acuerdo con estudios realizados durante 1982-1985 en el Hospital de Pediatría, CMN, IMSS, el antimicrobiano de primera elección debe ser la nitrofurantoína y, el de segunda, el ácido nalidíxico (consultar la tabla 4) (51).

**Tabla 4.** Resistencia a los antimicrobianos de las enterobacterias aisladas a partir de urocultivos realizados por el método de dilución en placa (51).

Antimicrobiano	Valor de corte (µg/mL)	Porcentaje de resistencia			
		E. coli <sup>a</sup> 1600	Klebsiella <sup>b</sup> 577	Proteus <sup>c</sup> 652	Enterobacter <sup>d</sup> 67
Ampicilina <sup>e</sup>	128	65.1	71.7	43.4	58.2
Gentamicina	64	7.4	24.0	7.0	20.8
Amikacina	128	0.8	0.8	0.4	1.5
TMP/SMZ <sup>e</sup>	128	42.9	62.7	36.9	52.2
Nitrofurantoína	256	4.2	13.5	14.5	5.9
Ácido nalidíxico	64	11.9	13.3	13.4	13.4

**CLAVES:** a = 1,600 cepas probadas; b = 577 cepas probadas; c = 652 cepas probadas; d = 67 cepas probadas; e = la resistencia hacia ampicilina y TMP-SMZ resultó muy elevada; sin embargo, ambos son muy recomendados y utilizados en otras comunidades ajenas al Hospital de Pediatría del CMN.

Los antimicrobianos suelen administrarse a dosis terapéuticas durante siete a 10 días, si bien en mujeres adultas con diagnóstico claro de infección urinaria baja sólo se aplican por 3 días (28, 51, 90).

En los niños, los regímenes terapéuticos suelen no variar, independientemente de que padezcan uretritis, cistitis o pielonefritis; empero, a 48 h de iniciados, debe valorarse clínicamente la respuesta del paciente.

Por lo regular, es recomendable efectuar un nuevo urocultivo 5 a 7 días de finalizado el tratamiento y, en el caso de que aún haya desarrollo de bacterias, es necesario instituir otro esquema terapéutico, considerando al microorganismo identificado y los resultados del antibiograma correspondiente.

Generalmente, los síntomas deben desaparecer en un máximo de cuatro días. No obstante, tomando en cuenta el riesgo de recaída asociado a las UTI's, los pacientes se deben valorar clínicamente y mediante urocultivos, particularmente cuando se trata de pielonefritis y de cistitis, desde los 30 días posteriores a la desaparición de los signos y síntomas, así como 3, 6 y 12 meses después (5, 51, 63).

Ante las infecciones urinarias graves (con fiebre elevada, escalofríos, malestar general, dolor en los costados, náuseas y vómito), el enfermo debe ser hospitalizado para recibir antibióticos por vía parenteral, seleccionándose más frecuentemente un aminoglucósido, administrado en las dosis usuales durante un lapso de 10 días; en los casos de insuficiencia renal, el aminoglucósido debe prescribirse con horarios ajustados a las cifras de creatinina sérica, o bien, es

aún más adecuado utilizar un antibiótico no nefrotóxico, tal como las quinolonas (en los adultos), el aztreonam o las cefalosporinas (exceptuando a la cefaloridina que también es nefrotóxica). Lógicamente, los urocultivos deben resultar negativos antes de finalizar el esquema terapéutico elegido (5, 51, 57).

Otros antibióticos recomendados en el tratamiento de las UTI's se enumeran en la tabla 6 (51, 25).

Por infección refractaria se conoce al proceso en el que no hay mejoría evidente a las 48 h de iniciado el tratamiento, o bien, en el que los síntomas persisten durante más de cuatro días. En estos casos, el antibiótico utilizado debe ser sustituido por otro, considerando los resultados del urocultivo inicial y del realizado a 2 días de que empezó el régimen al que el paciente no respondió adecuadamente. El seguimiento del enfermo coincide con las medidas mencionadas con anterioridad (51, 97).

Finalmente, en las infecciones recurrentes, es decir, cuando aparece un nuevo episodio después de haberse resuelto el previo, es necesario investigar más detalladamente las causas. En algunos casos se detecta alguna alteración subyacente, fundamentalmente ciertas malformaciones de las vías urinarias o disfunciones vesicales, pero con frecuencia no se logran hallazgos definitivos y debe procederse a buscar los motivos en factores tales como la higiene

incorrecta de los genitales y del periné, estreñimiento crónico, patrones acostumbrados (raros) de micción, pobre ingesta de líquidos, uso de ropa ajustada (promotora de acumulación de humedad en el periné y otras regiones), etc (15, 51, 99).

De cualquier forma, las recaídas deben tratarse como las infecciones iniciales aunque, una vez que se logra erradicar la reinfección, algunos autores sugieren administrar algún otro fármaco antimicrobiano con fines profilácticos. Lógicamente, esto último implica el riesgo de que otras recaídas posteriores involucren cepas resistentes, por lo que diferentes grupos se oponen a la prescripción profiláctica de antimicrobianos y prefieren que se practique un seguimiento clínico estrecho a los pacientes, hasta que se logre establecer la causa de las recidivas y su posible solución.

### **iii. Prevención**

En principio, la prevención debe establecerse con base en una higiene adecuada de los genitales y del periné, tratando adecuadamente la vulvovaginitis y practicando circuncisión cuando está indicada. En los sujetos con infecciones urinarias, además del tratamiento de la infección, debe pensarse en la prevención de insuficiencia renal, mediante una vigilancia rigurosa y prolongada, ya que dicha complicación es la que suele causar la muerte en este tipo de pacientes (17, 21, 28).

Es necesario insistir en la importancia del diagnóstico y de la corrección de las malformaciones o defectos del aparato urinario.

En niños con reflujo vesicoureteral, se recomienda profilaxis hasta la edad de 6 a 8 años o hasta que el reflujo se resuelva. Las mujeres que tienen más de tres episodios de cistitis por año se consideran candidatas para profilaxis. Antes de instituir el tratamiento se justifica un examen urológico minucioso para excluir cualquier anomalía anatómica (cálculos, reflujo, fistulas, etc.) (3, 51, 81, 97, 99).

**Tabla 5.** Antibióticos recomendados para instituir el tratamiento de las UTI's, considerando la edad, enfermedad y condición del paciente (1, 19, 39, 51, 99) .

Niños	Adultos
<b>Pielonefritis con septicemia</b>	<b>Pielonefritis en pacientes hospitalizados</b>
Ampicilina + aminoglucósido. Se puede utilizar una cefalosporina de tercera generación, aztreonam, inhibidores de betalactamasa.	Aminoglucósido (gentamicina, amikacina) o trimetoprim-sulfametoxazol, o aztreonam (pacientes con alergia a penicilinas o con daño renal) o cefalosporinas de tercera generación.
<b>Cistitis o pielonefritis en resolución</b>	<b>Cistitis</b> (se puede dar terapia sólo por tres días)
Trimetoprim + sulfametoxazol, amoxicilina, cefalexina, ácido nalidíxico, nitrofurantoína o inhibidores de betalactamasa.	Trimetoprim-sulfametoxazol, nitrofurantoína, sulfisoxazol, amoxicilina, cefalexina, o quinolonas (ciprofloxacina, norfloxacina, etc.) o amoxicilina-clavulanato.

**Tabla 6.** Dosis de los antibióticos más utilizados en la terapéutica de las UTI's.

Antibiótico	Niños (mg/Kg/día)	Adultos
TMP-SMX	6-12, c/12h	160/800 mg c/12h
Ampicilina	75-100, c/6h	500 mg c/6h
Amoxicilina	40, c/8h	500 mg c/8h
Cefalexina	50, c/8h	500 mg c/6h
Ácido nalidíxico	55, c/6h	1g c/6h
Nitrofurantoina	5-7, c/6h	100 mg c/12h
Cefotaxima	100-150, c/6h	½ mg c/4- 12H
Ceftriaxona	50-100, c/12- 24h	0.5/2 mg c/12- 24h
Aztreonam	90-120, c/6- 8h	0.5/2 mg c/6- 12h
Amoxicilina-clavulanato	40, c/6h	500 mg c/8h
Amikacina	15-20, c/8h	5 mg c/8h 1.5 g/día dosis máxima
Gentamicina	7.5, c/8h	1- 1.7 mg/Kg, c/8h 5 mg/Kg dosis máxima
Sulfisoxazol	120-150, c/6h	500 mg c/6h
Ciprofloxacina	Aún no aprobada	250/750 mg c/12h via oral
Norfloxacina	No aprobada	200/400 mg c/12h

Cabe destacar que sólo algunos agentes antimicrobianos son eficaces para llevar a cabo la profilaxis y que, para que resulten exitosos, los antibióticos seleccionados deben eliminar a las bacterias uropatógenas de los reservorios fecal o introital, sin promover resistencia bacteriana (5, 24, 25, 51, 97 ).

Los tres agentes antimicrobianos que se emplean más comúnmente con fines profilácticos son el trimetoprim-sulfametoxazol (40 mg/ 200 mg), la nitrofurantoina (100 mg) y la cefalexina (250 mg), durante lapsos de 6 a 12 meses (57, 97).

## **CONCLUSIONES**

1. El estudio de las interacciones iniciales entre los microorganismos invasores y los elementos innatos del sistema inmune, proporcionará en breve las herramientas necesarias para entender la patogénesis de la infección; ello se traducirá en mejores medidas preventivas y terapéuticas contra las uropatías infecciosas.
2. Las cepas UPEC afectan a todos los sectores de la población, por lo que las prácticas preventivas de higiene deben ser utilizadas por toda la población. Además, los pacientes que presentan malformaciones del tracto urinario deben someterse a pruebas diagnósticas completas y, en su caso, ser convenientemente tratados de acuerdo con sus respectivas condiciones físicas y fisioanatómicas.
3. En relación con los factores de virulencia de las cepas UPEC:
  - Las fimbrias P son las adhesinas más importantes, que forman parte de cepas de *E. coli* responsables de ocasionar patologías renales – principalmente pielonefritis aguda–, por la capacidad que confieren al microorganismo para permanecer largos periodos en los riñones y vejiga.

- El polisacárido capsular es un factor de virulencia clásico que contribuye, junto con los *pili* P, a incrementar la resistencia de *E. coli* a los factores que participan en el proceso inflamatorio.
  - A pesar de que las hemolisinas –predominantes en clonas pielonefriticas– no influyen en la persistencia de *E. coli* en el tracto urinario, intensifican el daño epitelial requerido para que la enfermedad se extienda a todo el tracto urinario.
  - Los sideróforos son indispensables en la reproducción bacteriana y en el desarrollo de la enfermedad, principalmente de la pielonefritis aguda, posterior o simultánea al episodio de septicemia.
4. Actualmente existe una alarmante resistencia microbiana a los antibióticos, la cual obliga a establecer una estrecha comunicación médico-paciente para tratar exitosamente las uropatías y, en general, cualquier enfermedad de origen bacteriano.
5. Resulta indispensable desarrollar nuevos antibióticos no tóxicos, económicos, seguros y eficaces, para seleccionar otros regímenes terapéuticos efectivos destinados a curar las numerosas UTI's.

6. En los últimos años se han desarrollado métodos moleculares muy confiables, con los cuales se identifica con exactitud a un sinnúmero de patógenos. Es deseable que las técnicas implicadas se vayan incorporando gradualmente a los laboratorios clínicos, con el objeto de agilizar el diagnóstico y, por ende, el tratamiento adecuado.

## BIBLIOGRAFÍA

1. Anonymous. The management of urinary tract infection in children. Drug Ther. Bull. 1997; 35: 65-69.
2. Agace W. W, Hedges S. R, Ceska M, Svanborg C.: Interleukin- 8 and the neutrophil response to mucosal Gram- negative infection, J. Clin. Invest., 1993; 92 (2): 780- 785.
3. Agarwal S.: Vesicoureteral reflux and urinary tract infections, Current Opinion in Urology, 2000; 10 (6): 587- 592.
4. Balcells A.: La clínica y el laboratorio, 16ª ed., España, Ediciones Científicas y Técnicas, 1993; pp. 38- 45.
5. Baraff L, Bass J. W, Fleisher G. R, Klein J. O, McCracken G. H, Powell K. R, Schringer D. L.: Practice Guideline for the management of infants and children 0 to 36 months of age with fever without source, Pediatrics, 1993; 92 (1): 1- 12.
6. Bartlett R. C, Treiber N.: Clinical significance of mixed bacterial cultures of urine, Am. J. Clin. Pathol., 1984; 82: 319- 322.
7. Berger H, Hacker J, Juarez A, Hughes C, and Goebel W. Cloning of the chromosomal determinants encoding hemolysin production and mannose-resistant hemaagglutination in *Escherichia coli*. J. Bacteriol., 1982; 152: 1241-1247.
8. Blum G, Falbo V, Caprioli A, Hacker J. Gene clusters encoding the cytotoxic necrotizing factor type 1, Prs- fimbriae and  $\alpha$ - hemolysin from the pathogenicity island II of the uropathogenic *Escherichia coli* strain J96. FEMS Microbiol. Lett., 1995; 126: 189- 196.
9. Blum G, Ott M, Lischewski A, Ritter A, Imrich H, Tschäpe H, and Hacker J.: Excision of large DNA regions termed pathogenicity islands from tRNA-specific loci in the chromosome of an *Escherichia coli* wild- type pathogen. Infect. Immun., 1996; 62: 606- 614.
10. Blum- Oehler G, Dobrindt U, Weiß N, Janke B, Schubert S, Rakin A, Heesemann J, Marre R, and Hacker J.: Pathogenicity islands of uropathogenic *Escherichia coli*: Implications for the evolution of virulence, Zentbl. Bakteriol. Suppl, 1998; 29: 380- 386.

11. Burgos P. R, Jaimes C. M, Dávila F. E, Miranda P. A.: Infecciones urinarias y extrahospitalarias en medicina interna, Rev. Inst. Med. "Sucre", 1998; LXIII (112- 113): 43- 54.
12. Bjorling D. E, Jacobsen H. E, Blum J. R, Shih A, Beckman M, Wang Z. Y, Uehling D. T.: Intravesical *Escherichia coli* lipopolyssacharide stimulates and increase in bladder nerve growth factor, Bju. International, 2001; 87 (7): 697-702.
13. Carniel E, Guilvout I, Prentice H. Characterization of a large chromosomal "high- pathogenicity island" in biotype 1B *Yersinia enterocolitica*. J. Bacteriol., 1994; 178: 6743- 6751.
14. Clarridge J. E, Pezzlo M. T, and Vosti K. L.: Laboratory diagnosis of urinary tract infections, USA, Coordinating ed., American Society for Microbiology, 1987; 1- 13.
15. Curran E.: Reducing the risk of healthcare- acquired infection, Nursing Standard, 2001; 16 (1): 45- 52.
16. Denich K, Blyn L. B, Criu A, Braaten B. A, Hardy J, Low D. A, O'Hanley P. D.: DNA sequences of three papA genes from uropathogenic *Escherichia coli* strains: evidence of structural and serological conservation, Infect. Immun., 1991; 59 (11): 3849- 3858.
17. Domingue G. J, and Hellstrom W.: Prostatitis, Clinical Microbiology Reviews, 1998; 11 (4): 604- 613.
18. Elo J, Tallgren L. G, Vaisanen V, Korhoen T. K, Suenson S. B. and Makela P. H.: Association of P and other fimbriae with clinical pyelonephritis in children, Scand. J. Urol., 1985; 19: 281.
19. Ernst M. E, Ernst E. J, Klepser M. E.: Levofloxacin and trovafloxacin: The next generation of fluoroquinolones?, American Journal of Health- System Pharmacy, 1997; 54 (22): 2569- 2584.
20. Falkow S.: Invasion and intracellular sorting of bacteria: Searching for bacterial genes expressed during host/ pathogen interactions, J. Clin. Invest., 1997; 100 (12): 57- 61.
21. Fernández D. R.: Infección urinaria y embarazo. Consideraciones generales, An. Med. Asoc. Med. Hosp. ABC, 1995; 40 (2): 73- 76.

22. Fetherston J, Schuetze P, Perry R. Loss of the pigmentation phenotype in *Yersinia pestis* is due to the spontaneous deletion of 102 kb of chromosomal DNA which is flanked by a repetitive element. *Mol. Microbiol.*, 1992; 6: 2693-2704.
23. Garza R, López M, Saavedra M. R.: La reacción en cadena de la polimerasa y su aplicación al diagnóstico de laboratorio de las enfermedades infecciosas, Educación química 9 [2], México, UNAM, 1998; pp. 94- 102.
24. Gillenwater JY, Clark MM.: Tentative direct antimicrobial susceptibility testing in urine. *J Urol.* 1996; 156: 149- 153.
25. Gilman A, Rall T. W, Nies A. S, and Taylor P.: Las bases farmacológicas de la terapéutica, 8ª ed., USA, Editorial Médica Panamericana, 1991; pp. 1026-1027.
26. Goetz G. S, Mahmood A, Hultgren S. J, Engle M. J, Dodson K, and Alpers D. H.: Binding of Pili from Uropathogenic *Escherichia coli* to Membranes Secreted by Human Colonocytes and Enterocytes, *Infect. Immun.*, 1999; 67 (11): 6161- 6163.
27. Goluszko P, Selvarangan R, Popov V, Pham T, Wen J.W, Singhal J.: Decay-accelerating factor and cytoskeleton redistribution pattern in HeLa cells infected with recombinant *Escherichia coli* strains expressing Dr family of adhesins, *Infection and Immunity*, 1999; 67 (8): 3989- 3997.
28. Gomolin IH, McCue JD. Urinary tract infection in the elderly patient. *Infect Urol* 2000; 13 (5A): s7- s13.
29. Gordon D. M, Riley M. A. A theoretical and experimental analysis of bacterial growth in the bladder. *Mol. Microbiol.*, 1992; 6: 555- 562.
30. Guyer D. M, Kao J, and Mobley H.: Genomic Analysis of a Pathogenicity Island in Uropathogenic *Escherichia coli* CFT073: Distribution of Homologous Sequences among Isolates from Patients with Pyelonephritis, Cystitis, and CatheterAssociated Bacteriuria and from Fecal Samples, *Infect. Immun.*, 1998; 66 (9): 4411- 4417.
31. Guzmán M. B.: ECET y ECEP: Hallazgos recientes sobre sus factores de virulencia y los métodos que sustentan su detección en el laboratorio, Trabajo monográfico de actualización para obtener el título de Química Farmacéutica Bióloga, Facultad de Química, UNAM, 2000; pp. 84- 98.

32. Hacker J, Blum- Oehler G, Janke B, Nagy G, and Goebel W.: Pathogenicity Islands of Extraintestinal *Escherichia coli*. Pathogenicity islands and Other Mobile Virulence Elements. American Society for Microbiology. Washington, D.C, 1999.
33. Hacker J, Bender L, Ott M, Wingender J, Lund B, Marre R, and Goebel W.: Deletions of chromosomal regions coding for fimbriae and hemolysins occur in vivo and in vitro in various extraintestinal *Escherichia coli* isolates. *Microb. Pathog.*, 1990; 8: 213- 225.
34. Hacker J, Blum- Oehler G, Mühldorfer I, and Tschäpe H.: Pathogenicity islands of virulent bacteria: structure, function and impact on microbial evolution. *Mol. Microbiol.*, 1997; 23: 1089- 1097.
35. Hacker J, Knapp S, Goebel W. Spontaneous deletions and flanking regions of the chromosomal inherited hemolysin determinant of an *Escherichia coli* O6 strain. *J. Bacteriol.* 154: 1145- 1152. 1983.
36. Harrison.: Principio de medicina interna, 12ª ed., USA, Editorial McGraw- Hill, 1992; pp. 441- 443.
37. Hedlund M, Wachtler C, Johansson E, Somerville J. E, Darveau R, Svanborg C.: P fimbriae- dependent, lipopolysaccharide- independent activation of epithelial cytokine responses, *Mol. Microbiol.*, 1999; 33 (4): 693- 703.
38. High N. J, Hales B. A, Jann K. and Boulnois G. J.: A block of urovirulence genes encoding multiple fimbriae and hemolysin in *Escherichia coli* O4: K12: H<sup>r</sup>, *Infect. Immun.*, 1988; 56: 513- 517.
39. Hooton T. M, Stamm W. E.: Diagnosis and treatment of uncomplicated urinary tract infection, *Infect. Dis. Clin. North. Am.*, 1997;11(3):551-581.
40. [http:// urology. medscape.com](http://urology.medscape.com)
41. Hull R. A, Gill R. E, Hsu P, Minshew B. H, and Falkow S.: Construction and expression of recombinant plasmids encoding type 1 or D- mannose- resistant pili from a urinary tract infection *Escherichia coli* isolate. *Infect. Immun.* 1981; 33: 933- 938.
42. James G. P, Paul K. L, and Fuller J. B.: Urinary nitrite and urinary tract infection, *Am. J. Clin. Pathol.*, 1978; 70: 671- 678.
43. Jawetz E, Melnick J. L, Adelberg E. A.: Microbiología médica, 14ª ed., USA, Editorial El Manual Moderno, 1992; pp. 229- 230.

44. Johnson J. R, Stell A. L, Scheutz F, O'Bryan T. T, Russo T. A, Carlino U. B, Fasching C, Kavle J, Van Dijk L, and Gaastra W.: Analysis of the F Antigen-specific papA alleles of extraintestinal pathogenic *Escherichia coli* using a novel multiplex PCR- based assay, *Infection and Immunity*, 2000; 68 (3): 1587- 1599.
45. Kao J, Stucker D. M, Warren W and Mobley L. T. Pathogenicity island sequences of pyelonephritogenic *Escherichia coli* CFT073 are associated with virulent uropathogenic strains. *Infect. Immun.* 1997; 65: 2812- 2820.
46. Kenji M, Akito T, Shingo Y, Osamu Y.: Virulence characteristics and DNA fingerprints of *Escherichia coli* isolated from women with acute uncomplicated pyelonephritis, *J. Urol.*, 1997; 158 (6): 2329- 2332.
47. Khalil A, Tullus K, Bartfai T, Kakhiet M, Jaremko G, Brauner A.: Renal cytokine responses in acute *Escherichia coli* pyelonephritis in IL- 6- deficient mice, *Clin. And Exp. Immun.*, 2000; 122 (2): 200- 206.
48. Knapp S, Hacker J, Jarchau T, Goebel W. Large unstable inserts in the chromosome affect virulence properties of uropathogenic *Escherichia coli* strain 536. *J. Bacteriol.* 1986; 168: 22- 30.
49. Korhonen T. K, Virkola R, Westerlund B, Holthofer H. and Parkkinen J.: Tissue tropism of *Escherichia coli* adhesins in human extraintestinal infections, *Curr. Top. Microbiol. Immunol.*, 1990; 151: 115.
50. Kuehn M. J, Ogg D. J, Kihlberg J, Slonim L. M, Flemmer K, Bergfors T. and Hultgren S. J.: Structural basis of pilus subunit by the PaPD chaperone, *Science*, 1993; 262: 1234.
51. Kumate J, et al. *Manual de Infectología Clínica*. 15ª edición. Mendez editores. México, 1998.
52. Kunin C. M, Van Arsdale White L, Tony H. H.: A reassessment of the importance of "Low- Count" bacteriuria in young women with acute urinary symptoms, *Ann. Intern. Med.*, 1993; 119 (6): 454- 460.
53. Kusumi R. K, Grover P. G, and Kunin C. M.: Rapid detection of pyuria by leukocyte esterase activity, *J. Am. Med. Assoc.*, 1981; 245: 1653- 1655.

54. Landraud L, Gauthier M, Fosse P.: Frequency of *Escherichia coli* strains producing the cytotoxic necrotizing factor (CNF1) in nosocomial urinary tract infections, Letters in Applied Microbiology, 2000; 30 (3): 213- 216.
55. Latham R. H. and Stamm W. E.: Role of fimbriated *Escherichia coli* in urinary tract infections in adult women: Correlations with localization studies, J. Infect. Dis., 1984; 149: 835.
56. Leathart J. B. S, Gally D. L.: Regulation of type 1 fimbrial expression in uropathogenic *Escherichia coli*: Heterogeneity of expression through sequence changes in the fim switch region, Mol. Microbiol., 1998; 28 (2): 371- 381.
57. Levinson.: Microbiología e inmunología médicas. Evaluación y repaso, USA, Editorial El Manual Moderno, 1989; pp. 140- 144.
58. Lin X, Fuks Z, Kolesnick R.: Ceramide mediates radiation- induced death of endothelium, Crit. Care Med., 2000; 28 (4): 87- 93.
59. Low D, David V, Lark D, et al. Gene clusters governing the production of hemolysin and mannose- resistant hemaagglutination are closely linked in *Escherichia coli* serotype O4 and O6 isolates from urinary tract infections. Infect. Immun. 1984; 43: 353- 358.
60. Mac Faddin J.: " Enterobacteriaceae y otras bacterias intestinales" en Pruebas Bioquímicas para la identificación de Bacterias de Importancia Médica, Ed. Médica Panamericana. México, 1991; pp. 258- 274.
61. Melnick.: Microbiología médica, USA, El Manual Moderno, 1996; pp. 254.
62. Melkerson- Watson L, Rode C. K, Zhang L, Foxman B, Bloch C. A.: Integrated Genomic Map from Uropathogenic *Escherichia coli* J96, Infection and Immunity, 2000; 68 (10): 5933- 5942.
63. Millar LK, Cox SM. Urinary tract infections complicating pregnancy. Infect. Obstet. 1997; 11: 13- 26.
64. Mullisk F. F, Gibbs R. A.: The polymerase chain reaction, Maple Press Company. USA, 1994; pp. 410.
65. Mobley H, Green D, et al. Pyelonephritogenic *Escherichia coli* and killing of cultured human renal proximal tubular epithelial cells: role of hemolysin in some strains. Infect. Immun. 1990; 58: 1281- 1289.

66. Mobley H, Jarvis K. G, Elwood J. P, Whittle D. I, Lockatell C. V, Russell R. G, Johnson D. E, Donnenberg M. S. and Warren J. W.: Isogenic P- fimbrial deletion mutants of pyelonephritogenic *Escherichia coli*: The role of alpha Gal (1- 4) beta Gal binding in virulence of a wild- type strain, *Molec. Microbiol.*, 1993; 10: 143.
67. Mulvey M. A, Schilling J. D, Martinez J. J, and Hultgren S. J.: Bad bugs and beleaguered bladders: Interplay between uropathogenic *Escherichia coli* and innate host defenses, *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 2000; 97 (16): 8829- 8835.
68. Mühldorfer I, and Hacker J.: Genetic aspects of *Escherichia coli* virulence, *Microb. Pathog*, 1994; 16: 171- 181.
69. Natanson C, Hoffman W. D, Suffredini A. F, Eichacker P. Q, Danner R. L.: Selected treatment strategies for septic shock based on proposed mechanisms of pathogenesis, *Ann. Int. Med.*, 1994; 120 (9): 771- 783.
70. Ninan G. K, Jutley R. S, Eremin O.: Urinary cytokines as markers of reflux nephropathy, *J. Urol.*, 1999; 162 (5): 1739.
71. Nowicki B, Labigne A, Moseley S, Hull R, Hull S. and Moulds J.: The Dr hemagglutinin, afimbrial adhesins AFAI and AFA III, and F1845 fimbriae of uropathogenic and diarrhea- associated *Escherichia coli* belong to a family of hemagglutinins with Dr receptor recognition, *Infect. Immun.*, 1990; 58: 279.
72. Oelschlaeger T. A, Dobrindt U, Hacker J.: Virulence factors of uropathogens, *Current Opinión in Urology*, 2002; 12 (1): 33- 38.
73. Ofek I, Mirelman D. and Sharon N.: Adherence of *E. coli* to human mucosal cells mediated by mannose receptors, *Nature*, 1979; 265: 623.
74. O' Grady F, Cattell W. R.: Kinetics of urinary tract infection. II. The bladder, *Br. J. Urol.*, 1966; 38: 156- 162.
75. Oksenberg J. R, Panzara M. A, Steinman L.: The polymerase chain reaction and the analysis of the T cell receptor repertoire, 2<sup>nd</sup> ed., R. Glandes Company. USA, 1994; pp. 15- 21.
76. Patel R, Paya CV. Infections in solid- organ transplant recipients. *Clin. Microbiol. Rev.*, 1997; 10: 86- 124.

77. Pezzlo M. T.: Automated methods for detection of bacteriuria, Am. J. Med., 1983; 75: 71- 78.
78. Pezzlo M. T.: Detection of bacteriuria by automated methods, Lab. Med., 1984; 15: 539- 543.
79. Pezzlo M. T, Wetkowski M. A, Peterson E. M, and de la Maza L. M.: Detection of bacteriuria and pyuria within two minutes, J. Clin. Microbiol., 1985; 21: 578- 581.
80. Pierson L. S, and Kahn M. L.: Integration of satellite bacteriophage P4 in *Escherichia coli* DNA sequences of the phage and host regions involved in site- specific recombination, J. Mol. Biol, 1987; 196: 487- 496.
81. Parekh D. J, Pope J. C, Adams M. C, Brock J. W.: Outcome of sibling vesicoureteral reflux, J. Urol., 2002; 167 (1): 283- 284.
82. Reiter W, Palm P and Yeats S. Transfer RNA genes frequently serve as integration sites for prokariotic genetic elements. Nucleic Acids Res. 1989; 17: 1907- 1914.
83. Roberts J.: Tropism in bacterial infections: Urinary tract infections, J. Urol., 1996; 156 (5): 1552- 1559.
84. Rojas M. W. Inmunología. 7ª ed. Corporación para Investigaciones Biológicas. México, 1988.
85. Salyers A.A, and Whitt DD. Bacterial pathogenesis. A molecular Approach. ASM Press. Washington, D.C., 1994.
86. Schaechter M.: *Escherichia coli* and Salmonella 2000: the View From Here, Microbiol. Mol. Biol. Rev., 2001; 65: 119- 130.
87. Schaeffer A.: Infection and inflammation of the genitourinary tract, J. Urol., 2001; 166 (4): 1591- 1595.
88. Schubert S, Rakin A, Karch H, Carniel E, and Heesemann J.: Prevalence of the "high- pathogenicity island" of *Yersinia* species among *Escherichia coli* strains that are pathogenic to humans, Infect. Immun., 1998; 66: 480- 485.
89. Selvarangan R, Goluszko P, Popov V, Shingal J, Pham T, Lublin D.M, Nowicki S, Nowicky B.: Role of decay- accelerating factor domains and anchorage in internalization of Dr- fimbriated *Escherichia coli*, Infection and Immunity, 2000; 68 (3): 1391- 1399.

90. Smyth E, O'Connell N. Complicated urinary tract infection. *Current Opinion in Infectious Diseases*. Ireland 1998, 11: 63- 66.
91. Stamey T. A, Timothy M, Millar M. and Mihara G.: Recurrent urinary infections in adult women. The role of introital enterobacteria. *Calif. Med.*, 1971; 115: 1.
92. Stapleton A. E, Stroud M. R, Hakomori S. I, and Stamm W. E.: The Globoseries Glycosphingolipid Sialosyl Galactosyl Globoside Is Found in Urinary Tract Tissues and Is a Preferred Binding Receptor In Vitro for Uropathogenic *Escherichia coli* Expressing *pap*-Encoded Adhesins, *Infect. Immun.*, 1998; 66 (8): 3856- 3861.
93. Svanborg C, Godaly G. Bacterial virulence in urinary tract infection. *Infectious Disease Clinics of North America*. Volume 11, Number 3, Sweden, September 1997.
94. Swenson D. L, Bukanov N. O, Berg D. E, Welch R. A. Two pathogenicity islands in uropathogenic *Escherichia coli* J96: cosmid cloning and sample sequencing. *Infect. Immun.* 1996; 64: 3736- 3743.
95. Tanagho E. A, McAninch J. W.: *Urología general de Smith*, 10ª ed., USA, Editorial El Manual Moderno, 1993; pp. 635- 636.
96. Tay.: *Microbiología y parasitología médicas*, México, Mendez editores, 1995; pp. 230- 236.
97. Tierney, L, et al. *Diagnóstico clínico y tratamiento*. 32ª edición. Manual moderno. México, 1997.
98. Voet D, Voet J.: *Biochemistry*, 2ª ed., John Wiley & Sons, Inc. USA, 1995; pp. 904- 906.
99. Wagenlehner F, Naber K. G.: Uncomplicated urinary tract infections in women, *Current Opinion in urology*, 2001; 11 (1): 49- 53.
100. Walker- Smith J. A.: Post- infective diarrhoea, *Current Opinion in Infectious Diseases*, 2001; 14 (5): 567- 571.
101. Waters V. L, and Crosa J. H.: Colicin V virulence plasmids, *Microbiol. Rev.* 1991; 55: 437- 450.

102. Welch R, Hull R, Falkow S. Molecular cloning and physical characterization of a chromosomal hemolysin from *Escherichia coli*, *Infect. Immun.* 1983; 42: 178-186.
103. Xia Y, Forsman K, Jass J, Uhlin B. E.: Oligomeric interaction of the PapB transcriptional regulator with the upstream activating region of pili adhesin gene promoters in *Escherichia coli*, *Mol. Microbiol.*, 1998; 30 83): 513- 523.
104. Zhang I, Foxman B, Tallman P, Cladera E, Le Bouguenec C, and Marrs C.F.: Distribution of drb genes coding for Dr binding adhesins among uropathogenic and fecal *Escherichia coli* isolates and identification of new subtypes, *Infect Immun*, 1997; 65 (6): 2011- 2018.