

DEPARTAMENTO DE MICROBIOLOGÍA

UNIVERSIDAD DE GRANADA

SERVICIO DE MICROBIOLOGÍA

H.U.VIRGEN DE LAS NIEVES



ugr

**Universidad
de Granada**

TESIS DOCTORAL

**Nuevas aportaciones microbiológicas al diagnóstico y
tratamiento de las infecciones del tracto urinario.**

(New microbiological contributions to the diagnosis
and treatment of urinary tract infections)

PROGRAMA DE DOCTORADO EN MEDICINA CLÍNICA Y SALUD PÚBLICA

GEMMA JIMÉNEZ GUERRA, 2018

Editor: Universidad de Granada. Tesis Doctorales
Autor: Gemma Jiménez Guerra
ISBN: 978-84-1306-075-0
URI: <http://hdl.handle.net/10481/54734>

Nuevas aportaciones microbiológicas al diagnóstico y tratamiento de las infecciones del tracto urinario.

Nuevas aportaciones microbiológicas al diagnóstico y tratamiento de las infecciones del tracto urinario.

Nuevas aportaciones microbiológicas al diagnóstico y tratamiento de las infecciones del tracto urinario.

Nuevas aportaciones microbiológicas al diagnóstico y tratamiento de las infecciones del tracto urinario.

Resumen

INTRODUCCIÓN

Hasta el 10% de las visitas a atención primaria se deben a infecciones del tracto urinario (ITU), aunque esta patología suele ser de carácter leve, supone un gran impacto sanitario debido al elevado consumo de antibióticos, que no siempre se utilizan de la forma más adecuada, favoreciendo la aparición de resistencias, como las mediadas por enzimas betalactamasas de espectro extendido (BLEE) o de tipo AmpC, que complican el tratamiento y pueden aumentar la morbilidad y mortalidad. La mayoría de episodios de ITU ocurre en mujeres premenopáusicas sin factores de riesgo y cuyo uropatógeno principal es *E. coli*, con una alta probabilidad de recurrencia en los siguientes 6 meses, lo cual se incrementa si se establece un tratamiento antibiótico inadecuado. La mayoría de los patógenos: enterobacterias, enterococos y *Staphylococcus saprophyticus* son bien conocidos y su epidemiología está bien estudiada, sin embargo, existen microorganismos pertenecientes a la flora genital o periuretral, que bajo condiciones de susceptibilidad especial del paciente pueden dar lugar a infecciones con un diagnóstico más complejo. Aún es más complicado cuando la ITU ocurre dentro del contexto de una infección nosocomial, donde microorganismos *per se* muy resistentes como *Acinetobacter baumannii* o *Pseudomonas aeruginosa* suelen ser causa frecuente de ITU, acumulando cada vez más mecanismos de resistencia, o bien la aparición de candiduria, cuya interpretación es compleja, cuyo tratamiento depende en gran parte de la especie implicada, y si el tratamiento es inadecuado aumenta la mortalidad, sobre todo en servicios como las unidades de pacientes críticos.

MÉTODOS

En este proyecto se llevó a cabo, a partir de la práctica diaria de procesamientos de orina para su cultivo, la comparación del diagnóstico convencional, con los valores de fluorescencia de la citometría de flujo, para la identificación presuntiva del uropatógeno. Además, se diseñó y se validó un test rápido de detección de cefotaximasas, que se basa en el cambio de pH por la degradación del antibiótico. Por otro lado, para conocer mejor la situación epidemiológica actual de nuestro entorno, se estudiaron la prevalencia y perfiles de resistencia de los uropatógenos de más difícil tratamiento, como los portadores de BLEE, AmpC, las candidas o los bacilo gramnegativos no fermentadores, así como de otros uropatógenos menos frecuentes que afectan a pacientes con factores predisponentes, mediante la presentación de series de casos.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los estudios de predicción de la morfología del uropatógeno mediante los valores de fluorescencia por el citómetro fueron capaces de distinguir entre bacilos gramnegativos y cocos grampositivos de forma aproximada, pues los valores de especificidad obtenidos fueron bajos. El test colorimétrico PROBADO, basado en el pH, que detectaba cefotaximasas, resultó útil para la detección de estas enzimas presentes en las enterobacterias de nuestro medio, sobre todo cuando se trataron de betalactamasas de espectro extendido, ya que los fenotipos BLEE en *E. coli* y *K. pneumoniae* son los más prevalentes. En cuanto a los pacientes hospitalizados, no es aconsejable a día de hoy seguir utilizando los carbapenemes o piperacilina/tazobactam como tratamiento empírico para la ITU causada por *P. aeruginosa*, relacionándose la aparición de resistencias con un aumento del consumo intrahospitalario de piperacilina/tazobactam. En el urocultivo de pacientes hospitalizados ha de considerarse la posible presencia de candiduria, más prevalente en los pacientes procedentes de los Servicios de Medicina Interna, portadores de sonda urinaria y con una edad superior a los 65 años. En pacientes ancianos con patología urológica de base no debemos olvidar que ciertos microorganismos poco frecuentes, como *Lactobacillus spp.*, *Aerococcus spp.* o estreptococos del grupo *bovis* pueden ser responsables de ITU.

CONCLUSIÓN GLOBAL

Es necesario seguir realizando estudios de este tipo a diferentes niveles poblacionales, para frenar la dispersión global de las resistencias antibióticas desde una de las infecciones más frecuentes y que suele tratarse de forma empírica, la infección del tracto urinario.

Nuevas aportaciones microbiológicas al diagnóstico y tratamiento de las infecciones del tracto urinario.

Nuevas aportaciones microbiológicas al diagnóstico y tratamiento de las infecciones del tracto urinario.

Abstract

INTRODUCTION

Up to 10% of visits to primary care are due to urinary tract infections (UTI), although this pathology is usually mild, it is considered a major health impact due to the high consumption of antibiotics, which are not always used in the more adequate way, favoring the appearance of resistance, such as extended-spectrum beta-lactamase or AmpC-type enzymes, which complicates treatment and may increase morbidity and mortality. Most episodes of UTI occur in premenopausal women without risk factors and whose primary uropathogen is *E. coli*, with a high probability of recurrence in the following 6 months, which increases if an inappropriate antibiotic treatment is established. Most of the pathogens, such *Enterobacteriaceae*, enterococci and *Staphylococcus saprophyticus* are well known and their epidemiology is deeply studied, however, there are some microorganisms belonging to the genital or periurethral flora that under conditions of special susceptibility conditions can permit infections with complex diagnosis. It's even more complicated when UTI occurs within the context of a nosocomial infection, where highly resistant microorganisms such as *Acinetobacter baumannii* or *Pseudomonas aeruginosa* frequently cause UTI, accumulating more and more resistance mechanisms, or the appearance of candiduria, whose interpretation is complex, and its treatment depends largely on the species involved, and if the treatment is inadequate, those increases mortality, especially in services such as critical patient units.

METHODS

In this project, the comparison of the conventional diagnosis with the fluorescence values of the flow cytometry for its presumptive identification of the uropathogen was carried out from the daily practice of processing urine for its culture. In addition, a rapid detection test for cefotaximases detection was designed based on the pH change due to the degradation of the antibiotic and was validated. On the other hand, to better understand the current epidemiological situation in our environment, we studied the prevalence and resistance profiles of uropathogens that are more difficult to treat, such as carriers of ESBL, AmpC, non-fermenting gram-negative bacilli, as well as other less frequent uropathogens that affect patients with predisposing factors through the presentation of series of cases.

RESULTS AND DISCUSSION

The prediction studies of the morphology of the uropathogen by the cytometer fluorescence values were able to distinguish between gram-negative bacilli and gram-positive cocci in an approximate way, since the specificity values obtained were low. The colorimetric test based on pH, which detected cefotaximases, was useful for the detection of these enzymes present in the enterobacteria of our environment, especially in the case of extended-spectrum beta-lactamases, since the BLEE phenotypes in *E. coli* and *K. pneumoniae* are prevalent. As for hospitalized patients, it is not recommended today to continue using carbapenems or piperacillin / tazobactam as an empirical treatment for UTI caused by *P. aeruginosa*, due to the appearance of resistance with an increase of inpatient consumption of piperacillin / tazobactam. In the urine culture of hospitalized patients the possible presence of candiduria should be considered, more prevalent in patients coming from the Internal Medicine Services, urinary catheter carriers and with an age over 65 years. In elderly patients with underlying urological diseases, we must not forget that certain rare microorganisms, such as *Lactobacillus* spp., *Aerococcus* spp. or *bovis* group streptococci may be responsible for UTI.

GLOBAL CONCLUSION

It is necessary to continue carrying out studies of this type at different population levels to curb the global dispersión of antibiotic resistance from one of the most frequent infections, and that is usually treated empirically, the urinary tract infection.

Nuevas aportaciones microbiológicas al diagnóstico y tratamiento de las infecciones del tracto urinario.

Contenido

1. INTRODUCCIÓN	17
1.1. Epidemiología de las ITU	17
1.2. Etiología de las ITU	18
1.3. Resistencia antibiótica	21
Sensibilidad en <i>Escherichia coli</i> , el principal uropatógeno	22
Las betalactamasas	23
1.4. Historia de la emergencia de las BLEE. Irrupción de la resistencia a betalactámicos	27
Reservorio	29
Co-resistencia	29
Betalactamasas AmpC	30
Métodos de detección de enterobacterias productoras de betalactamasas BLEE	32
Tratamiento de las infecciones por bacterias productoras de BLEE	34
Prevención y control de infecciones por enterobacterias BLEE	36
1.5. Diagnóstico microbiológico de ITU	37
Cribado por métodos químicos	40
Cribado mediante citometría de flujo	40
Sistemas automatizados para la identificación y estudio de sensibilidad	43
Nuevos métodos de identificación microbiana	43
1.6. Clasificación de las ITU	46
Algunas definiciones previas	46
ITU nosocomial e ITU en pacientes sondados	49
ITU por microorganismos poco frecuentes	55
2. OBJETIVOS	59
2.1. General	59
2.2. Específicos	59

Nuevas aportaciones microbiológicas al diagnóstico y tratamiento de las infecciones del tracto urinario.	
3. MATERIAL Y MÉTODOS	61
3.1. Elección de muestras	61
Periodos de estudio	62
Elección de uropatógenos de baja prevalencia	64
3.2. Cribado mediante citometría	65
3.3. Cultivo y antibiograma	66
Agentes antimicrobianos en paneles y tarjetas.	70
Antibiogramas para microorganismos especiales.	75
Identificación indeterminada de microorganismos	76
3.4. Prueba de la beta-lactamasa basada en el cambio de pH	77
3.5. Recuperación de datos (fluorescencia y BACT Morph)	79
3.6. Análisis estadístico	80
La fluorescencia por citometría de flujo.	80
Prueba de detección de cefotaximasas basada en el cambio de pH.	81
<i>E. coli</i> BLEE y <i>K. pneumoniae</i> BLEE.	81
<i>Acinetobacter baumannii</i> y <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .	81
3.7. Declaración de conflicto de intereses y aprobación por el comité de ética	83
4. RESULTADOS	85
4.1. Resultados de la fluorescencia por citometría de flujo	85
Datos sociodemográficos y resultados del urocultivo.	85
Rentabilidad diagnóstica de la aplicación predictora de morfología de uropatógenos.	86
Análisis de la morfología según las fluorescencias FSC y FLH.	90
4.2. Prueba de detección de cefotaximasas basada en el cambio de pH	94
4.3. Resultados de la prevalencia de <i>Escherichia coli</i> BLEE y <i>Klebsiella</i> spp. BLEE	97
4.4. Resultados de la prevalencia de microorganismos con AmpC.	101
4.5. Candidurias.	110
4.6. <i>Acinetobacter baumannii</i> y <i>Pseudomonas aeruginosa</i>.	113

Nuevas aportaciones microbiológicas al diagnóstico y tratamiento de las infecciones del tracto urinario.

4.7. Uropatógenos de baja prevalencia: <i>Aerococcus</i> spp, <i>Lactobacillus</i> spp. y <i>Streptococcus</i> del grupo <i>bovis</i>.	118
<i>Streptococcus</i> del grupo <i>bovis</i>	118
<i>Aerococcus</i> spp. y <i>Lactobacillus</i> spp.	121
5. DISCUSIÓN	123
5.1. La fluorescencia por citometría de flujo	123
5.2. El test de detección de cefotaximasas basado en el cambio de pH	127
5.3. <i>Escherichia coli</i> BLEE y <i>Klebsiella</i> spp. BLEE	132
5.4. Los microorganismos con AmpC.	137
5.5. Las candidurias	142
5.6. <i>Acinetobacter baumannii</i> y <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	147
5.7. Los uropatógenos de baja prevalencia	150
<i>Aerococcus</i> spp. y <i>Lactobacillus</i> spp.	151
Estreptococos del grupo <i>bovis</i> .	156
6. CONCLUSIONES	159
ANEXOS	163
Publicaciones relacionadas	163
LISTADO DE ABREVIATURAS	165
BIBLIOGRAFÍA	169

Nuevas aportaciones microbiológicas al diagnóstico y tratamiento de las infecciones del tracto urinario.

Nuevas aportaciones microbiológicas al diagnóstico y tratamiento de las infecciones del tracto urinario.

Gracias a los que han estado todo este tiempo ahí,
allanándome el camino, o al menos no poniendo más guijarros.

El camino sigue y sigue
desde la puerta.
El camino ha ido muy lejos,
y si es posible he de seguirlo
recorriéndolo con pie fatigado
hasta llegar a un camino más ancho
donde se encuentran senderos y cursos.
¿Y de ahí a dónde iré?
No podría decirlo.

JRR Tolkien

Nuevas aportaciones microbiológicas al diagnóstico y tratamiento de las infecciones del tracto urinario.

1. INTRODUCCIÓN

1.1. Epidemiología de las ITU

Hasta un tercio de las visitas al médico de atención primaria se deben a procesos infecciosos, correspondiendo en torno a un 10% de estos procesos a infecciones del tracto urinario (ITU). Esta patología, aunque generalmente de carácter leve, tiene un gran impacto sanitario, debido, entre otros aspectos, al elevado consumo de antibióticos. El grupo poblacional con mayor prevalencia de ITU no complicada son las mujeres pre-menopáusicas. En este grupo, ocurren de 0,5 a 0,7 episodios/año, de modo que en España se estima que hay casi 4 millones de episodios anuales, siendo las recurrencias casi de un 25%. Cuando en el primer episodio el microorganismo implicado es *Escherichia coli*, existe una mayor probabilidad de recurrencia en los siguientes 6 meses [1].

Existen menos estudios acerca de la ITU sintomática en pacientes de edad avanzada. Los factores de riesgo en esta población son propiamente la edad avanzada, la dependencia para las actividades de la vida diaria, las patologías de base (fundamentalmente la diabetes mellitus DMII), la instrumentación y sondaje urinario, y cualquier obstrucción anatómica o funcional que dificulte el vaciado de la vejiga. Hasta el 10% de los hombres y el 20% de las mujeres mayores de 65 años tiene una bacteriuria asintomática crónica, siendo en este grupo etario mucho más prevalente que la ITU sintomática [2].

En el sexo masculino, por definición, la ITU se considera como complicada. En los hombres la prevalencia de bacteriuria sintomática es baja aumentando con la edad debido a la patología prostática y el aumento de portadores de sondaje urinario.

1.2. Etiología de las ITU

La etiología de la ITU depende de la localización de la infección, de los factores predisponentes, del uso de antibióticos previos, así como del lugar en el que se adquiere (nosocomial o comunitaria). Los principales microorganismos son aquellos que provienen de la microbiota fecal del afectado [3]. El resto de las ITU son de etiología exógena, debido a la introducción de microorganismos en las vías urinarias durante su manipulación. La cistitis y la pielonefritis en las mujeres jóvenes sin factores de riesgo, también en embarazadas, son producidas casi de forma exclusiva por *E. coli*, con adquisición en los últimos años de mayor protagonismo por parte de *Proteus* spp. y *Enterococcus* spp. en las ITU complicadas [4].

En los individuos sondados, la etiología es muy similar a la ITU complicada, con presencia frecuente además de *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus* spp., *Serratia* spp. y levaduras [5], procedentes de la flora fecal endógena modificada por la presión antibiótica. En presencia de alteraciones estructurales y funcionales no es infrecuente aislar más de un microorganismo en el urocultivo.

Tradicionalmente se ha considerado que la orina y las vías urinarias han de ser estériles en condiciones normales, pero realmente la uretra distal esta colonizada por microbiota cutánea (también vaginal) que contiene microorganismos como *Corynebacterium* spp., *Streptococcus* spp., *Staphylococcus* spp., *Lactobacillus* spp., etc. Debido a su cercanía puede albergar de forma transitoria bacilos gramnegativos, como *E. coli*, procedentes de la flora fecal. Antes de que ocurra una ITU se produce la colonización periuretral por microorganismos procedentes del colon, entonces una pequeña parte de estas bacterias ascienden a la vejiga y, a veces, hasta la pelvis renal. Estas bacterias suelen ser eliminadas por el flujo miccional, la presencia de Inmunoglobulina A de secreción en la orina y citoquinas.

Nuevas aportaciones microbiológicas al diagnóstico y tratamiento de las infecciones del tracto urinario.

La longitud de la uretra y el chorro miccional también funcionan como mecanismo de defensa innato, pero en el paciente que porta sonda se impide el completo vaciamiento quedando una cierta cantidad de orina residual.

Además, el tracto urinario secreta inhibidores de la adhesión bacteriana como la proteína de Tamm-Horsfall y diversos mucopolisacáridos (Tabla 1). En la superficie del urotelio encontramos también algunos leucocitos polimorfonucleares. La osmolaridad de la orina, su pH, la concentración de urea y de ácidos orgánicos también son factores que colaboran en la eliminación bacteriana. Si finalmente estas bacterias no son eliminadas, se produce bien una colonización permanente o bien una infección, que implica la lesión del epitelio vesical. Se ha demostrado que previamente a un episodio de ITU por *E. coli* presente en la flora fecal, aumenta la prevalencia de colonización periuretral, así como la prevalencia de bacteriuria y de piuria [6].

Los factores de riesgo para la ITU cambian dependiendo de la edad, los hábitos sexuales y las condiciones fisiológicas y anatómicas del tracto urinario. Entre los 15-50 años tienen mayor importancia como factores de riesgo el coito, el uso de dispositivos anticonceptivos, el uso previo de antibióticos, los antecedentes de ITU en la infancia y la presencia de una mucosa urinaria de fenotipo no secretor (que da lugar a mayor susceptibilidad para la adherencia de enterobacterias).

Entre los 50-70 años los factores a destacar son los cambios hormonales, la cirugía urogenital, la incontinencia urinaria, las alteraciones anatómicas del tracto urinario, el fenotipo no secretor y los antecedentes de ITU. En mayores de 70 años los que destacan son la presencia de dispositivos, la cirugía urogenital, el deterioro de las facultades mentales, los tratamientos antibióticos y la institucionalización. *E. coli* sigue siendo el principal uropatógeno en el anciano no institucionalizado [7-9].

Nuevas aportaciones microbiológicas al diagnóstico y tratamiento de las infecciones del tracto urinario.

Tabla 1. Mecanismos de defensa del tracto urinario [6].

<i>Órganos y Material Biológicos</i>	<i>Mecanismos defensivos del huésped</i>
<i>Orina</i>	Osmolaridad pH Urea Ácidos orgánicos
<i>Micción</i>	Flujo urinario Vaciado sin residuo
<i>Vagina</i>	pH Inmunoglobulinas
<i>Próstata</i>	Inmunoglobulinas
<i>Vejiga urinaria</i>	Inmunoglobulinas Proteína de Tamm-Horsfall Actividad antimicrobiana de la mucosa Leucocitos polimorfonucleares
<i>Riñones</i>	Osmolaridad Complemento Fagocitosis

1.3. Resistencia antibiótica

Existen dos tipos de resistencia, la natural y la adquirida. La resistencia natural es la constitutiva de la bacteria, la propia de “cepas salvajes”, que se debe, por ejemplo a las diferencia en composición de membrana entre grampositivos y gramnegativos, lo que hace que algunos antibióticos no tengan una diana en la que ejercer su efecto [10]. El origen de la resistencia adquirida es principalmente genético, se debe a mutaciones que permiten el cambio de alguna cualidad que afecta a la actividad del antibiótico de forma directa, o bien a su diana. En cuanto a la resistencia adquirida, es también muy importante la transferencia de material genético entre bacterias, sobre todo gramnegativas, en las que ocurre con facilidad. La forma más eficaz es la propagación de la información genética mediante plásmidos (o factores R).

El desarrollo de resistencias antibióticas adquiridas en los uropatógenos, principalmente enterobacterias, es constante y de gran diversidad, dependiendo, en gran medida, del consumo de antimicrobianos de la zona geográfica y supone un problema de salud pública a nivel mundial. Los datos de porcentajes de resistencias en uropatógenos podrían estar sobrestimados, ya que se estudian en aquellas ITU en las que se ha pedido el cultivo, que por lo general se corresponden a infecciones más complicadas o que son resistentes al tratamiento empírico. En este tipo de infecciones, como en otras, la aparición de resistencias aumenta los costes y morbilidad.

Un conocimiento amplio de los patrones de sensibilidad de los diferentes uropatógenos presentes en el área es de gran importancia para realizar un abordaje empírico adecuado de la ITU. Es recomendable establecer una vigilancia periódica de los patrones de sensibilidad e informar a los clínicos de los posibles cambios en las tasas de resistencia. De esta manera, los clínicos pueden optimizar la terapia empírica en cuanto a eficacia clínica e impacto ecológico (resistencias).

Nuevas aportaciones microbiológicas al diagnóstico y tratamiento de las infecciones del tracto urinario.

Sensibilidad en *Escherichia coli*, el principal uropatógeno

Las tasas de resistencia antibiótica sufren importantes variaciones según transcurren los años, por lo que la antibioterapia empírica de ITU requiere una actualización constante en cuanto al perfil de sensibilidad de los principales uropatógenos del área implicada, sobre todo de *E. coli*, que es el principal agente etiológico de ITU (Tabla 2) [11]. En los estudios realizados en España, se muestra una alta prevalencia, más del 50%; de resistencia de *E. coli* a las aminopenicilinas, desaconsejándose por tanto su uso como terapia empírica. En cuanto al trimetoprim/sulfametoxazol, se encontraron tasas de resistencia del 20-35%, siendo también no válido como tratamiento empírico.

Desde principios de la década de los 90 se ha observado un aumento creciente de la resistencia de los uropatógenos, sobre todo de *E. coli*, a las fluorquinolonas, en cuanto a éstas se pueden observar diferencias significativas según el sexo, la edad y el tratamiento previo.

Tabla 2. Especies bacterianas más frecuentemente aisladas [4, 12, 13].

<i>Género o especie</i>	<i>Andreu y cols .[13] Total</i>	<i>ARES 2.008 Global</i>	<i>ARES 2.009 España</i>
Gramnegativos			
<i>E. coli</i>	70,8 %	70,6 %	79,2 %
<i>Klebsiella spp.</i>	6,8 %	3,5 %	2,3 %
<i>P. mirabilis</i>	6,4 %	3,5 %	4,3 %
<i>Enterobacter spp.</i>	1,8 %	3,3 %	2,5 %
Grampositivos			
<i>Enterococcus spp.</i>	5,5 %	6,0 %	3,2 %
<i>SGB</i>	2,5 %	1,5 %	1,8 %
<i>S. saprophyticus</i>	1,1 %	0,0 %	4,5 %

Antibióticos que parecen demostrar todavía una buena sensibilidad in vitro para *E. coli* son la amoxicilina/ ac. clavulánico, cefuroxima, cefixima y nitrofurantoína. La fosfomicina es un antibiótico de uso oral con excelente actividad in vitro, cuyo uso está limitado al tratamiento de ITU de vías bajas no complicadas en mujeres pre-menopáusicas.

Nuevas aportaciones microbiológicas al diagnóstico y tratamiento de las infecciones del tracto urinario.

En España, en un estudio realizado en la última época se observó que *E. coli* presentaba porcentajes de resistencia inferiores al 10% para cefalosporinas de segunda y tercera generación [14].

Las betalactamasas

El principal mecanismo de resistencia a los betalactámicos en los bacilos gramnegativos es la producción de betalactamasas, enzimas capaces de hidrolizar el anillo betalactámico, y de las que se tiene constancia desde los años sesenta tras su descripción en cepas de *E. coli*, probablemente derivadas de las proteínas fijadoras de penicilina (PBP) con las que tienen analogía secuencial y estructural [15].

Las betalactamasas son enzimas de aproximadamente 29 kDa que hidrolizan el enlace amida del anillo betalactámico, produciendo compuestos sin actividad antimicrobiana. La codificación de las betalactamasas puede ser cromosómica o plasmídica, y su expresión puede ser inducible o constitutiva. Según el tipo de betalactamasa del que se trate, en el sitio activo de ésta habrá residuos de serina o zinc, que son imprescindibles para la ruptura del enlace amínico del anillo betalactámico por formación de un complejo acil-enzima [16, 17].

Clasificación de las betalactamasas

En 1.989, Bush, Jacoby y Madeiros [18] establecieron la clasificación que sigue teniendo vigor en la actualidad (Tabla 3). Esta clasificación las divide en 4 grupos funcionales, integrando propiedades bioquímicas, de estructura molecular y la secuencia nucleotídica.

Nuevas aportaciones microbiológicas al diagnóstico y tratamiento de las infecciones del tracto urinario.

Tabla 3: Clasificación de las betalactamasas de Bush, Jacoby y Madeiros de 1989.

GRUPO	CLASE	SUBSTRATO	CODIFICACIÓN	ENZIMAS
1	C	Cefalosporinas	Cromosómica	AmpC
			Plasmídica	MIR-1, MOX-1, FOX-1
2A	A	Penicilinas	Cromosómica / Plasmídica	A-D de <i>S. aureus</i>
2B	A	Penicilinas Cefalosporinas 1G	Plasmídica	TEM-1, TEM-2, SHV-1
2BE	A	Penicilinas Cefalosporinas 1-3G Monobactames	Plasmídica	TEM-3-29, 43, 44, 50-52 SHV-2-10 y 12
			Cromosómica	SHV-1, K1
2BR	A	Penicilinas Inh.de betalactamasas	Plasmídica	TEM-30-42 y 45
2C	A	Penicilinas	Plasmídica	PSE-1,3 y 4
2D	D	Penicilinas Cloxacilina	Plasmídica	OXA-1-10
2DE	D	Penicilinas Cloxacilina Cefalosporinas 1-3G	Plasmídica	OXA-11-21
			Cromosómica	Cefuroximasa
2E	A	Cefalosporinas 1-3G	Cromosómica	Cefuroximasa
2F	A	Penicilinas Cefalosporinas 1-3G Carbapenemes	Cromosómica	NMC-A IMI-1
			Cromosómica/ Plasmídica	CcrA
3	B	Penicilinas Cefalosporinas 1-3G Carbapenemes	Cromosómica	L-1
			Plasmídica	IMP-1
4		Penicilinas	Cromosómica	Nd
			Plasmídica	SAR-2

Nuevas aportaciones microbiológicas al diagnóstico y tratamiento de las infecciones del tracto urinario.

Los grupos de betalactamasas

Grupo 1:

Se trata de betalactamasas cefalosporinasas, es decir, que hidrolizan cefalosporinas, y no se inhiben por el ácido clavulánico. Según su secuencia de aminoácidos pertenecen a la clase C, y en su centro activo presentan un residuo de serina. Dentro de ellas se incluyen:

- Betalactamasas cromosómicas constitutivas AmpC de *E. coli*.
- Betalactamasas cromosómicas inducibles AmpC de *P. aeruginosa* y enterobacterias como *Enterobacter* spp., *Citrobacter* spp., *Serratia* spp., *Morganella* spp. y *Providencia* spp.
- Betalactamasas plasmídicas (MIR-1, MOX-1 y FOX-1) presentes en *P. aeruginosa*, *E. coli* y *Klebsiella pneumoniae*, que se formaron por la incorporación de genes cromosómicos *ampC* en plásmidos.

Grupo 2:

En este grupo se incluyen betalactamasas que se inhiben por el ácido clavulánico, que según su secuencia de aminoácidos pueden pertenecer a las clase A o a las clase D, todas presentan un residuo de serina en su centro activo. Entre ellas se incluyen:

- Penicilinasas cromosómicas y plasmídicas de grampositivos como *Staphylococcus* spp., *Bacillus* spp., *Streptomyces* spp., *Enterococcus* spp., etcétera.
- Betalactamasas plasmídicas clásicas de enterobacterias: TEM-1, TEM-2, SHV-1.
- Betalactamasas plasmídicas de espectro extendido (BLEE) de las enterobacterias, que han surgido por modificación del centro activo de las betalactamasas plasmídicas clásicas de enterobacterias. También se las conoce como oximino-betalactamasas.

Nuevas aportaciones microbiológicas al diagnóstico y tratamiento de las infecciones del tracto urinario.

- Betalactamasas derivadas de TEM con resistencia a los inhibidores de betalactamasas en enterobacterias, también conocidas como las IRT.
- Betalactamasas cromosómicas constitutivas de *K. pneumoniae* y *K. oxytoca* (SHV-1, K1).
- Betalactamasas cromosómicas inducibles de *Proteus vulgaris* que degradan cefuroxima.
- Oxacilinasas plasmídicas de *P. aeruginosa*.
- Oxacilinasas plasmídicas de espectro extendido de *P. aeruginosa* y de *Acinetobacter* spp. que han surgido por cambios en el centro activo de OXA-1 hasta OXA-10.
- Carbapenemasas cromosómicas de *E. cloacae*, *S. marcescens* y *P. aeruginosa*.

Grupo 3:

Se trata de betalactamasas que hidrolizan penicilinas, cefalosporinas y carbapenemes y no se inhiben por el ácido clavulánico, pertenecen a la clase B. En su centro activo poseen zinc, y es por ello que se las denomina metalo-betalactamasas. A este grupo pertenecen:

- Betalactamasas cromosómicas de *Stenotrophomonas maltophilia*.
- Betalactamasas plasmídicas IMP de *P. aeruginosa*, *S. marcescens* y *K. pneumoniae*.

Grupo 4:

Se trata de penicilinasas que no se inhiben por el ácido clavulánico y cuya caracterización molecular aún está por determinar.

1.4. Historia de la emergencia de las BLEE. Irrupción de la resistencia a betalactámicos

En Alemania, durante el año 1.983, se empezaron a detectar las que se denominaron betalactamasas de espectro extendido (BLEE) que producen resistencia frente a penicilinas, oximino-cefalosporinas (cefotaxima, ceftriaxona, ceftazidima, cefepime) y monobactámicos (aztreonam), pero no producen resistencia frente a cefamicinas (cefoxitina) ni frente a carbapenemes. Además, este tipo de betalactamasas son inhibidas por el ácido clavulánico. Generalmente son codificadas por un plásmido, lo cual facilita su diseminación.

En España la presencia de BLEE no fue detectada hasta el año 1988, aunque mediante la observación de estudios retrospectivos se identificaron aislados previos compatibles fenotípicamente con BLEE. El grado de hidrólisis de los antibióticos afectados por las bacterias productoras de BLEE depende del tipo que se trate, así como de su nivel de producción, por eso in vitro pueden aparecer como sensibles para alguno de los antibióticos. Las BLEE TEM y SHV afectan más a la ceftazidima y menos a la cefotaxima, mientras que las CTX-M son potentes cefotaximasas, algunas de ellas presentando altos niveles de hidrólisis tanto para cefotaxima como para ceftazidima.

Hasta el día de hoy se han documentados diversas epidemias por microorganismos productores de BLEE en España, la primera, entre los años 1988 y 1990, incluía aislados productores de BLEE de las especies *Klebsiella pneumoniae*, *Klebsiella oxytoca*, *Escherichia coli* y *Serratia marcescens*, presentando además todos estos resistencias a varios grupos de antibióticos diferentes.

Los proyectos GEIH-BLEE 2.000 y 2.006 (Grupos de estudio de la infección hospitalaria) de la Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica (SEIMC) surgieron a causa de la carencia de datos acerca de la epidemiología de las enterobacterias productoras de BLEE en España.

Nuevas aportaciones microbiológicas al diagnóstico y tratamiento de las infecciones del tracto urinario.

Se trató de estudios multicéntricos de todas las áreas geográficas del país para establecer la prevalencia real de los dos principales gramnegativos productores de BLEE que son *E. coli* y *K. pneumoniae*. Los datos extraídos del proyecto GEIH-BLEE 2000 establecieron una prevalencia global en España de *E. coli* y *K. pneumoniae* productoras de BLEE del 0,5 y 2,7%, respectivamente.

Previamente a estos estudios, la producción de BLEE se consideraba un problema casi exclusivamente nosocomial de pacientes con diversos factores de riesgo. Pero en el estudio del año 2000, los datos acerca de *E. coli* BLEE indicaban que este ya se aislaba principalmente en muestras de orina extrahospitalarias (51%) de personas de todas las edades (de 0 a 93 años), mientras que para *K. pneumoniae* BLEE hasta el 93% de los aislamientos procedían de muestras intrahospitalarias, con lo que para éste sí era indicativo de un problema nosocomial, que sobre todo afectaba a los servicios de UCI.

En el proyecto GEIH-BLEE 2006, la frecuencia global de producción de BLEE en *E. coli* y *K. pneumoniae* fue del 4,04% y del 5,04% respectivamente, lo que supone que los aislados de *E. coli* y *K. pneumoniae* se multiplicaron por 8 y por 2 respectivamente en 6 años.

Por estos datos se considera que *K. pneumoniae* productora de BLEE tiene un comportamiento epidémico por la presencia de pocos clones que se diseminan, mientras que *E. coli* productor de BLEE tiene un comportamiento alodémico por la presencia policlonal de distribución uniforme.

De forma general, dentro de Europa, la prevalencia de resistencia a cefalosporinas de tercera generación, que se debe entre el 80% y el 100% de los casos a la producción de BLEE, es mayor en los países del sur y el este, tanto para *E. coli* como para *K. pneumoniae* [19].

Nuevas aportaciones microbiológicas al diagnóstico y tratamiento de las infecciones del tracto urinario.

Reservorio

En la comunidad hay portadores de *E. coli* BLEE formando parte de su flora fecal, pero la epidemiología y la forma de transmisión a partir de ésta actualmente sigue siendo muy poco conocida, por lo que resulta muy complejo establecer medidas de control que realmente sean eficaces. De forma general, el tracto digestivo es un importante reservorio de microorganismos productores de BLEE. También se encuentran como reservorios endógenos de importancia la orofaringe y las heridas colonizadas. La principal forma de transmisión de estos microorganismos multirresistentes es el contacto con las manos del personal sanitario, pero también son de importancia en el ambiente hospitalario los fómites: termómetros, geles y jabones líquidos, sondas de oxigenoterapia, etc.

Co-resistencia

La codificación de las betalactamasas además de cromosómica, puede ser plasmídica, por transposones o por integrones, lo que hace que frecuentemente se asocie con otros determinantes genéticos de resistencia transferibles. Estos determinantes suelen conferir resistencia a cotrimoxazol, los aminoglucósidos, las tetraciclinas u otros antibióticos [20].

En concreto, las cepas productoras de BLEE plasmídica frecuentemente se asocian a resistencia también para las fluorquinolonas, por la codificación conjunta en los plásmidos de genes para BLEE, así como genes para resistencia a otros antibióticos. Algunos estudios demuestran que hasta el 55% de los aislados productores de BLEE son resistentes a las fluorquinolonas [21, 22]. Sería importante la identificación de los factores de riesgo asociados a esta resistencia conjunta a las fluorquinolonas para poder preservar la acción de estos antibióticos frente a organismos productores de BLEE y así reducir la dependencia del uso de pautas con carbapenemes, y consecuentemente la presión antibiótica que da lugar a la resistencia a estos últimos [20, 21].

Nuevas aportaciones microbiológicas al diagnóstico y tratamiento de las infecciones del tracto urinario.

La relación entre la institucionalización prolongada y la presencia de microorganismos BLEE con co-resistencia a las fluorquinolonas se explicaría por la transferencia horizontal [23]. Es por tanto muy frecuente que las enterobacterias productoras de BLEE sean realmente bacterias multirresistentes.

La resistencia a los diferentes aminoglucósidos se asocia de forma significativa con la resistencia a fluorquinolonas en microorganismos BLEE, y esto pudiera ser debido a que el uso de antibioterapia con aminoglucósidos se asocia a alteraciones de la permeabilidad de membrana que puede influir en la aparición de resistencias frente a fluorquinolonas.

Una de las infecciones más frecuentes en la que encontramos microorganismos productores tanto de AmpC como de BLEE son las ITU, que presentarán características clínicas indistinguibles de las causadas por cepas salvajes más sensibles [24].

Betalactamasas AmpC

Prácticamente todos los gramnegativos sintetizan una betalactamasa cromosómica Amp C en una mínima cantidad que por tanto no les proporciona un fenotipo de resistencia. Estas enzimas, las AmpC, se caracterizan por su espectro de hidrólisis y su perfil de inhibición, hidrolizan cefalosporinas de primera y segunda generación, incluyendo cefamicinas (cefexitina y cefotetán), y algo menos, las cefalosporinas de tercera generación. Son muy poco eficientes hidrolizando las cefalosporinas de cuarta generación y los carbapenemes, mostrándose por tanto sensibles [25].

Este tipo de betalactamasas no son inhibidas por el ácido clavulánico, ni por sulbactam ni tazobactam; sí se inhiben por la acción de la cloxacilina, el aztreonam, y el ácido borónico junto con sus derivados.

Nuevas aportaciones microbiológicas al diagnóstico y tratamiento de las infecciones del tracto urinario.

La producción de AmpC cromosómica puede ser constitutiva o inducible [26], como en *Enterobacter cloacae*, *Morganella morganii* y *P. aeruginosa*. El grado de inducción depende del tipo de inductor, dándose en máximo grado cuando se usan inductores fuertes como la ceftaxima y los carbapenemes. En ellas también se puede dar el fenómeno de desrepresión, que aumenta la cantidad de betalactamasa. La desrepresión es un fenómeno irreversible (a diferencia de la inducción, que es reversible), no desaparece en ausencia de antibiótico, y participa en la selección de mutantes desreprimidos de forma estable que sintetizan grandes cantidades de AmpC. Con el fenómeno de desrepresión se expresa resistencia también a las cefalosporinas de tercera generación. El fenómeno de desrepresión puede dar lugar a un fracaso terapéutico en la clínica durante el transcurso de un tratamiento con betalactámicos.

Mientras las cefalosporinas de tercera generación son inductores débiles y buenos selectores de la desrepresión. Los carbapenemes, las cefamicinas, y los inhibidores de las betalactamasas son potentes inductores, y sin embargo, tienen poca capacidad de selección de mutantes desreprimidos. El carácter inducible de las AmpC se puede detectar fácilmente mediante técnicas de difusión [27].

Pero también hay betalactamasas de tipo AmpC codificadas por genes plasmídicos que se describen principalmente en *Klebsiella* spp., *P. mirabilis*, *E. coli* o *Salmonella enterica*. Están presentes por todo el mundo, pero con prevalencia variable, que de forma general suele ser baja, aunque realmente es posible que su prevalencia esté subestimada debido a la falta de consenso con respecto a una metodología para su detección [28].

Epidemiológicamente las AmpC plasmídicas tienen mucha más relevancia que las cromosómicas por su capacidad de movilización, pudiéndose transferir a cepas del ambiente nosocomial como comunitario. Aunque la prevalencia de este tipo de betalactamasa es muy pequeña, no debe ser desdeñada [28].

Métodos de detección de enterobacterias productoras de betalactamasas BLEE

La detección de BLEE plasmídicas se puede hacer por métodos moleculares, costosos y que requieren personal experimentado, o por métodos fenotípicos, más sencillos y económicos, en los que debemos sospechar de su presencia cuando haya un patrón de resistencia a betalactámicos diferente del fenotipo salvaje del aislado, con disminución de la resistencia a amoxicilina/ác. clavulánico y a cefalosporinas de tercera generación. En caso de que simultáneamente la cepa presenta otros mecanismos de resistencia a betalactámicos como la producción de BLEE, la sospecha de AmpC por pruebas fenotípicas se dificulta, pero existe un marcador fenotípico muy útil y usado para distinguir entre BLEE y AmpC, que es la cefoxitina, pues la gran mayoría de los aislados AmpC son resistentes a ésta, mientras que los BLEE son sensibles.

La detección en los laboratorios de los microorganismos productores de BLEE se hace principalmente por dos razones. La primera es la existencia de fracasos terapéuticos cuando se ha instaurado un tratamiento con cefalosporinas en una infección grave, aun cuando la bacteria aislada es aparentemente sensible a esas cefalosporinas usadas. La segunda razón es porque la presencia de microorganismos productores de BLEE supone un grave problema en cuanto al control de la infección, y sin embargo, una rápida intervención suele ser muy eficaz en la desaparición del brote.

Métodos fenotípicos y de difusión.

La resistencia mediante BLEE es un mecanismo de resistencia difícil de detectar en los laboratorios, ya que las diferencias en los perfiles de sustrato entre los diferentes tipos y el posible efecto inóculo hacen que las bacterias que la poseen puedan aparecer como falsamente sensibles a cefalosporinas [29].

Nuevas aportaciones microbiológicas al diagnóstico y tratamiento de las infecciones del tracto urinario.

El *National Commitee for Clinical Laboratory Standadrs* (NCCLS) estableció normas para la detección de enzimas BLEE en *E. coli*, *K. pneumoniae* y *K. oxytoca*, basándose en unos puntos de corte que indican la disminución de sensibilidad a los fármacos que hidrolizan, y estableció un método de confirmación basado en la inhibición de las BLEE por el ácido clavulánico.

Las técnicas fenotípicas de detección usan un inhibidor de las betalactamasas, como es el ácido clavulánico, en combinación con una oximino-cefalosporina, como son la cefotaxima o la ceftazidima. El ácido clavulánico inhibe a la BLEE y reduce el nivel de resistencia a la cefalosporina.

En 1.988 [30], se describió un método de detección de BLEE mediante difusión con disco. Pero aunque muchas BLEE se pueden detectar por este método, algunos resultados positivos realmente se deben a la presencia de AmpC. Basadas también en la detección basada en la difusión de antibióticos, las tiras de E-test diseñadas para la detección de microorganismos productores de BLEE se encuentran divididas en dos gradientes, una mitad tiene una concentración decreciente de ceftazidima y la otra, concentraciones decrecientes de ceftazidima junto con ác. clavulánico en una concentración fija. También hay tiras similares con cefotaxima en lugar de ceftazidima.

Métodos automatizados

Actualmente es la norma en los laboratorios de Microbiología Clínica el uso de métodos comerciales automatizados de microdilución en caldo para realizar el estudio de la sensibilidad antibiótica de los microorganismos aislados. Estos sistemas preparan diluciones del antibiótico en progresión geométrica en base 2 y tras la incubación y crecimiento del microorganismo se realiza la lectura y se determina que concentración corresponde a la CMI. El software de estos sistemas, por lo general permite la detección de las bacterias productoras de BLEE, pero no de otro tipo de betalactamasas como las AmpC.

Nuevas aportaciones microbiológicas al diagnóstico y tratamiento de las infecciones del tracto urinario.

Otros métodos fenotípicos

Como se ha comentado, las pruebas fenotípicas principalmente se basan en la característica inhibición de estas enzimas por el ácido clavulánico. Pero todas estas técnicas requieren mucho tiempo, al menos 48 horas, desde la llegada de la muestra al laboratorio [31]. Por ello se han buscado nuevos métodos para acortar este tiempo de detección, como medios de cultivo cromogénicos que dan la identificación presuntiva de las productoras de BLEE [32].

También existen técnicas más novedosas que identifican la hidrólisis del anillo betalactámico de la cefalosporina, lo cual produce acidificación y por tanto un cambio de color usando un indicador de pH [33].

Métodos bioquímicos y moleculares para la caracterización de BLEE

Tras la detección de una BLEE en un aislado clínico de una enterobacteria puede ser importante su caracterización. Para ello los laboratorios de Microbiología pueden poseer diferentes técnicas de identificación bioquímica y molecular basadas en características propias de la betalactamasa como proteína y en los genes responsables de su codificación. Estos métodos se aplican una vez detectada la presencia de BLEE mediante un método fenotípico.

Tratamiento de las infecciones por bacterias productoras de BLEE

Los únicos betalactámicos que mantienen actividad frente a enterobacterias productoras de BLEE son las cefamicinas como la cefoxitina, los carbapenemes y las combinaciones de betalactámicos con inhibidores de betalactamasas.

Las cefamicinas son activas, pero sin embargo estos antibióticos desarrollan fácilmente resistencia por alteraciones en la permeabilidad y por eso no se recomienda su uso [22, 34].

Nuevas aportaciones microbiológicas al diagnóstico y tratamiento de las infecciones del tracto urinario.

En los casos en los que la cefoxitina se ha usado como tratamiento, la infección ha reaparecido con resistencia frente a este antibiótico, debido a la selección de mutantes resistentes por alteraciones de permeabilidad.

Otra opción posible es el tratamiento mediante combinaciones de penicilinas con inhibidores de las betalactamasas. Existe un estudio multicéntrico en el que se observó que la actividad *in vitro* de la amoxicilina/ac. clavulánico y de la piperacilina/tazobactam son superiores a la de la amoxicilina/sulbactam en *E. coli* BLEE y *K. pneumoniae* BLEE [35]. Sin embargo, otro estudio sugiere que la producción de BLEE reduce notablemente la efectividad de estas combinaciones de penicilina/inhibidor [36]. Se aconseja por tanto no usar estos antibióticos de forma empírica hasta haber obtenido el antibiograma completo, reservando su uso para las infecciones con sensibilidad *in vitro*.

El uso de cefalosporinas de tercera generación en el tratamiento de infecciones por enterobacterias productoras de BLEE se desaconseja, aún con sensibilidad *in vitro*, ya que se han descrito fracasos terapéuticos [37].

Los carbapenemes son los antibióticos de elección frente a las enterobacterias productoras de BLEE y AmpC. Pero el uso de carbapenemes debe de ser valorado con precaución ya que se ha descrito el aumento de la resistencia a carbapenemes en *Acinetobacter baumannii* y *P. aeruginosa* en hospitales donde se han usado extensamente. El uso abusivo de este grupo de antibióticos ha dado lugar a brotes de infecciones en los servicios de UCI por *K. pneumoniae* tanto productora de BLEE como de carbapenemasas. También se ha demostrado que en aislamientos de *K. pneumoniae* BLEE o AmpC plasmídica, la ausencia de ciertas porinas contribuye a la resistencia los carbapenemes [22].

En cuanto los antibióticos no betalactámicos para el tratamiento de infecciones de enterobacterias BLEE hay que tener en cuenta las co-resistencias, sobre todo a los aminoglucósidos y a las fluorquinolonas.

Prevención y control de infecciones por enterobacterias BLEE

Las medidas de prevención y control de las infecciones por enterobacterias productoras de BLEE están en consonancia con los factores de riesgo y factores epidemiológicos que favorecen su desarrollo y diseminación. En ocasiones, estas bacterias se presentan de forma epidémica afectando rápidamente a los pacientes que acaban de ingresar, y en otras ocasiones se seleccionan tras muchos días de estancia y tratamiento antibiótico. Algunas bacterias están presentes en el momento que el paciente ingresa, mientras que otras se adquieren en el transcurso de la estancia.

La observación de un agrupamiento de casos o de un brote epidémico requiere la puesta en marcha de un sistema de aislamiento de pacientes y de medidas preventivas que eviten su diseminación entre los ingresados (aislamiento de contacto) [24, 38]. La eficacia de estas medidas depende de la rapidez de instauración del aislamiento, pendiente a su vez de la rápida identificación bacteriana [39].

La presión antibiótica, especialmente debida al uso de cefalosporinas, se ha asociado como factor desencadenante de brotes epidémicos por *K. pneumoniae* BLEE así como del mantenimiento de situaciones de endemia elevada [24]. Es por ello que habrá que evitar el uso de cefalosporinas en la comunidad así como los picos de consumo en los hospitales [40].

1.5. Diagnóstico microbiológico de ITU

Podemos encontrar bacterias en orina por contaminación de la muestra procedente de la flora uretral distal o de la flora del periné, por tanto la presencia por sí sola de bacterias en orina no puede considerarse diagnóstica de ITU. La mayoría de las ITU se acompañan además de piuria como respuesta a la invasión tisular, con lo que se puede considerar un indicador fiable. El urocultivo es la técnica de referencia para el diagnóstico de ITU, que permite la cuantificación mediante la siembra semicuantitativa y el uso de asas calibradas [41]. Hoy día ya no se puede considerar como cifra umbral el clásico número de 100.000 unidades formadoras de colonias (UFC) /ml, ni descartar cifras tales como 1.000 UFC/ml, para la valoración de bacteriuria significativa, pues dependiendo de la obtención de la muestra o de la patología subyacente habrá que individualizar su significado real. Teóricamente, cada UFC obtenida en cultivo representa una bacteria viable en la muestra, pero cuando se trata de bacterias que se organizan en agregados como cadenas o racimos, el número de UFC observado es inferior al que presenta la muestra. El cultivo nos permite identificar el microorganismo así como ver su sensibilidad antibiótica, ambas cosas importantes para conocer la epidemiología de la infección, adecuar la terapia y realizar guías de tratamiento empírico.

El transporte de las orinas al laboratorio debe hacerse con la mayor prontitud, si esto no es posible tras las 2 primeras horas tras su recogida pueden conservarse en frío hasta 24h. Pero además, si las muestras no pueden ser conservadas en frío tras un retraso de más de 2h, la orina deberá pasarse a un tubo con conservante, como es el ácido bórico sódico liofilizado.

De forma rutinaria se pueden usar diferentes tipos de cultivo, como la combinación de medios no selectivos junto con medios selectivos para enterobacterias, los medios diferenciales adaptados a la identificación específica de uropatógenos y los medios cromogénicos [42].

Nuevas aportaciones microbiológicas al diagnóstico y tratamiento de las infecciones del tracto urinario.

Una ventaja de los medios cromogénicos es la identificación presuntiva de grupos de microorganismos y de microorganismos concretos como *E. coli*, pues contienen mezclas de sustratos que tras ser degradados por las enzimas bacterianas producen compuestos coloreados que le dan color a las diferentes colonias bacterianas.

El principal inconveniente del urocultivo es la gran dependencia que tiene de las condiciones de recogida de la muestra (con precauciones dirigidas a evitar la contaminación) y del transporte y conservación hasta su procesamiento. La muestra obtenida con mayor frecuencia es la orina de micción media, debido a la facilidad de toma. La concentración de bacterias es mayor en la primera orina de la mañana, y es por tanto el mejor momento para la obtención de muestra. Así mismo, la sensibilidad para la detección de nitritos también es mayor en ese momento.

A veces para la recogida de la orina es necesario sondar al paciente, como ocurre en niños pequeños, pacientes inmovilizados o con alteraciones neurológicas, en estas ocasiones la recogida de la muestra debe hacerse en condiciones de asepsia y por personal entrenado evitando introducir microorganismos en la vejiga, y produciendo por tanto una ITU iatrogénica. Hay pacientes que, por diversa patología urogenital de base, son portadores de sondaje permanente, en ellos también se recogerá la orina en condiciones de asepsia.

La obtención de orina por punción suprapúbica permite obtener una muestra de orina sin riesgo de contaminaciones, siendo la técnica de elección en pacientes en los que no es posible obtener una muestra libre de microorganismos contaminantes. En niños es muy útil y más fácil de realizar, y siempre se hace bajo control ecográfico.

Nuevas aportaciones microbiológicas al diagnóstico y tratamiento de las infecciones del tracto urinario.

Como el diagnóstico microbiológico de la ITU no siempre es sencillo, debe sustentarse en:

- 1) El urocultivo, para cuantificar e identificar los agentes etiológicos y probar su sensibilidad [41].
- 2) El examen microscópico de los elementos formes en la orina, en el que podemos obtener información de linfocitos polimorfonucleares, células epiteliales y otros elementos como cilindros.
- 3) La sintomatología. Basándose en la realización de una anamnesis adecuada se puede llegar a un diagnóstico certero de la cistitis no complicada en mujeres premenopáusicas sin factores de riesgo, teniendo en cuenta la presencia de síndrome miccional (disuria, polaquiuria y urgencia miccional) con ausencia de exudado vaginal purulento o irritación [43].

La realización de urocultivo se recomienda en los siguientes supuestos:

- Sospecha de pielonefritis aguda.
- Sintomatología no resuelta o recurrente transcurridas 2 semanas tras finalizar el tratamiento antibiótico.
- Mujeres con sintomatología atípica.
- Hombres.
- Mujeres embarazadas.

Nuevas aportaciones microbiológicas al diagnóstico y tratamiento de las infecciones del tracto urinario.

Cribado por métodos químicos

Los métodos químicos están basados en reacciones químicas que el microorganismo produce frente a sustratos urinarios o sustratos específicos que cambian de color por acción de enzimas bacterianas. Las pruebas enzimáticas más utilizadas son la detección de nitritos, que mide de forma directa la presencia de enterobacterias y la esterasa leucocitaria, que indica la presencia de piuria. También suelen añadirse reactivos para el pH y la hemoglobina. Estas pruebas enzimáticas vienen comercializadas en tiras reactivas que se utilizan introduciéndolas en la orina y extrayéndolas de forma rápida, con un tiempo de lectura menor a 2 minutos. Como ventajas, estas tiras presentan su fácil manejo, su rapidez y su precio económico, por el contrario, tienen una sensibilidad muy variable, en general inferior al 80%.

Cribado mediante citometría de flujo

En los laboratorios que reciben un gran número de muestras es poco factible realizar el cultivo de todas las muestras de orina que llegan [44]. En estos casos se ha impuesto el despistaje de orinas con bacteriuria negativa o no significativa mediante sistemas automatizados, y cultivar sólo aquellas que pasen el despistaje con bacteriuria y/o piuria positivas [45-48].

El sistema Sysmex UF-1000 es un citómetro de flujo por fluorescencia que se basa en la tecnología de láser diodo en conjunto con la conductometría hidrodinámica. Clasifica las partículas presentes en la orina en función de la intensidad de fluorescencia previa tinción con dos colorantes: fenantridina, que tiene apetencia por los ácidos nucleicos, y carbocianina, con apetencia por los fosfolípidos de las membranas celulares y mitocondrias. Este citómetro contabiliza bacterias, levaduras y leucocitos además de realizar el análisis de clasificación.

Además, este sistema tiene un canal separado, específico para bacterias, que previene la interferencia con los eritrocitos, lo cual permite una mejor identificación de las muestras negativas [49].

Nuevas aportaciones microbiológicas al diagnóstico y tratamiento de las infecciones del tracto urinario.

En estos sistemas automatizados, la sensibilidad y la especificidad dependen de los diferentes puntos de corte que se utilizados, que deben ser determinados teniendo en cuenta la epidemiología de la población local a estudiar.

Un despistaje para las muestras negativas requiere una alta sensibilidad para reducir todo lo posible los falsos negativos. Con ellos se obtienen buenos valores predictivos negativos, por lo que su principal utilidad es la discriminación entre orinas negativas y positivas, realizando el cultivo de estas últimas, que suele abarcar al 30-40% del total de muestras recibidas [47].

Pero también se debe tener en cuenta la limitada capacidad de distinguir orinas contaminadas que tiene este tipo de sistemas y que también puede dar falsos positivos por detección de bacterias inviables en orina tras iniciar el tratamiento antibiótico [50].

Fundamento

Los tubos de orina recibidos en el laboratorio, sin ninguna manipulación, pueden situarse en la gradilla de muestras del citómetro previa apertura. Automáticamente, 1,2 ml de la muestra serán aspirados para su análisis, se dividirán en dos alícuotas diferentes y se mezclaran con los reactivos a una cifra de dilución fijada. Posteriormente se añadirán los dos colorantes de polimetina (fenantridina y carbocianina) en cámaras con pH y temperaturas ajustadas para que el proceso se de en condiciones óptimas.

Según el tipo de grupos metilo y las ramificaciones de estas, el espectro de absorción de las polimetinas puede cambiar. La longitud de onda del láser del instrumento es de 635nm, luz roja visible. Tras la incidencia de la luz láser sobre las partículas teñidas a su paso por el canal de flujo, estas emiten luz infrarroja cercana (más de 660 nm de longitud de onda) se lee en el rango de la luz roja visible (Figura 1).

Nuevas aportaciones microbiológicas al diagnóstico y tratamiento de las infecciones del tracto urinario.

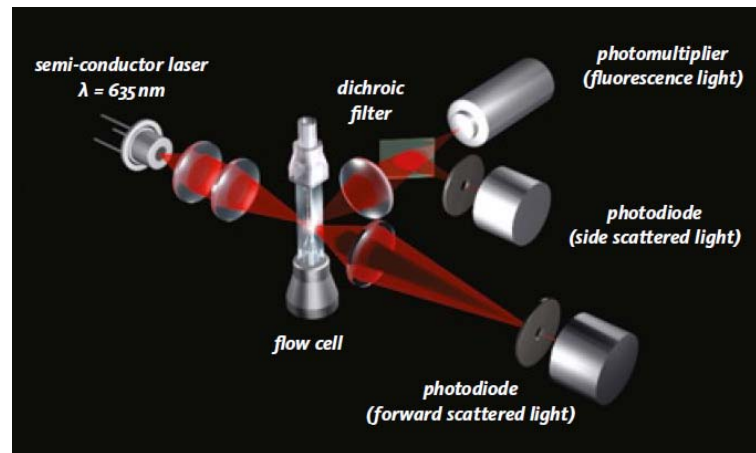


Figura 1: Esquema de detección de partículas mediante citometría de flujo por fluorescencia.

Las partículas pasan de una en una por el canal de flujo alineadas y a alta velocidad, y los valores de “*forward scattered light*” y “*side scattered light*” son registrados de forma simultánea, así como la intensidad de incidencia de la luz láser. La dispersión incidente “*forward scattered light, FSC*” es aquella que proporciona información sobre el tamaño de la partícula, y la dispersión en ángulo “*side scattered light, SSC*”, proporciona información acerca de la superficie y la complejidad de la partícula. La intensidad de la fluorescencia ofrece información del contenido en ácidos nucleicos de cada partícula “*fluorescent light scatter, FLH*”. Para realizar el análisis de orina y general información adicional al respecto, se analizan unas 65.000 partículas por muestra.

Combinando toda esta información el citómetro clasifica y hace un recuento de bacterias, leucocitos, levaduras, eritrocitos, y otros tipos de células y artefactos; y se generan los histogramas biparamétricos (*dot plot*) en los que se representan todos estos ítems agrupados en diferentes zonas. Los resultados del análisis por citometría se pueden consultar en pantalla antes de transcurrir 2 minutos, con lo cual, las muestras negativas, que son la mayoría de las recibidas en el laboratorio, pueden ser transmitidas de forma inmediata al sistema informático del laboratorio (SIL) y validadas por el facultativo.

Sistemas automatizados para la identificación y estudio de sensibilidad

Existen diversos equipos automatizados (MICROSCAN, VITEK2...) que permiten obtener la identificación y realizar el estudio de sensibilidad de las bacterias y hongos aislados en cultivo. Todos ellos tienen un funcionamiento básico parecido, y los resultados se obtienen antes de transcurridas 24h desde el inicio del proceso.

Básicamente, en todos ellos la identificación bacteriana y el perfil de sensibilidad se realizan en paralelo, y para ello los sistemas poseen unos paneles de reactivos con diversos sustratos en los que se realizan las pruebas bioquímicas y de sensibilidad. Todos ellos incorporan un software “experto” que mediante la aplicación de una serie de algoritmos programados, siguiendo recomendaciones del CLSI o del EUCAST, facilitan el reconocimiento de los aislados identificados, así como advirtiéndolo de resultados improbables e interpretan las CMI obtenidas mediante microdilución.

Nuevos métodos de identificación microbiana

Los métodos convencionales de identificación microbiológica engloban el cultivo, la microscopía y las pruebas bioquímicas. Estos métodos tienen la ventaja de ser precisos y reproducibles para la mayoría de los patógenos clásicos, sin embargo son tiempo dependientes y necesitan personal experimentado para la correcta interpretación de los resultados.

La espectrometría de masas es también reproducible y fácil de llevar a cabo [51] y puede complementar o incluso en ocasiones substituir la identificación mediante métodos bioquímicos en el laboratorio clínico, sobre todo para patógenos emergentes donde la identificación mediante pruebas bioquímicas puede llegar a ser muy compleja. Sólo se necesita una pequeña cantidad del microorganismo a estudiar que seguidamente se procesa de forma rápida y fácil.

Nuevas aportaciones microbiológicas al diagnóstico y tratamiento de las infecciones del tracto urinario.

En los últimos años ha supuesto una revolución en la identificación bacteriana la espectrometría de masas “*Matrix-assisted laser desorption ionization – Time of flight*”, conocida como “MALDI-TOF”, con esta tecnología obtenemos un espectro característico de la especie a identificar en pocos minutos [52, 53].

La espectrometría de masas consiste en la separación e identificación de las moléculas según su masa y carga, basándose en la posibilidad de desviar un flujo de iones mediante un campo eléctrico o magnético, siendo las trayectorias proporcionales a las características de carga y masa; para ello, las moléculas de la muestra dada han de ser transformados en iones en fase gaseosa.

El espectrómetro de masas siempre tiene una fuente de ionización que permite el paso a estado gaseoso de la muestra, así como la ionización de las moléculas, un analizador que permite la separación de iones según su masa/carga (m/Z), un detector para la detección de iones y que a su vez proporciona una señal eléctrica equivalente al número de iones, y un sistema informático que se encarga del procesamiento de la señal, visualización de espectros y su análisis.

Los datos almacenados se procesan para su visualización en forma de espectro, en el que cada pico se corresponde con una molécula diferente (Figura 2). En el eje de ordenadas se representa la intensidad relativa de la señal, y en el eje de abscisas se indica el peso molecular.

El espectro característico obtenido se compara con bases de datos de espectros de referencia y el resultado se informa según la similaridad de los picos generados [54].

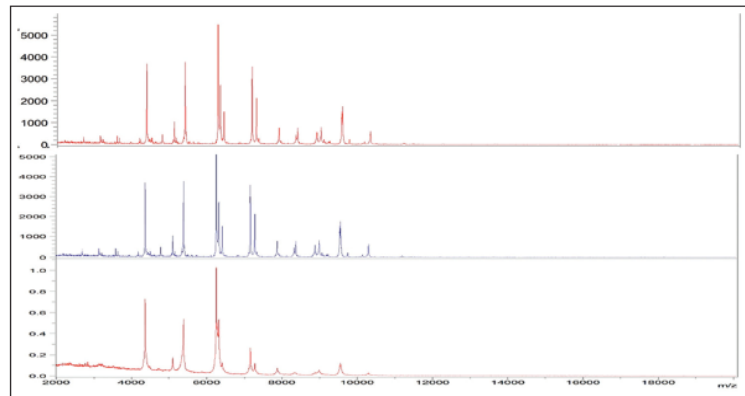
Nuevas aportaciones microbiológicas al diagnóstico y tratamiento de las infecciones del tracto urinario.

Figura 2: Espectros obtenidos mediante MALDI-TOF de diferentes aislados de *E. coli*.

1.6. Clasificación de las ITU

Algunas definiciones previas

La ITU viene definida por la presencia de microorganismos patógenos en cualquier punto de las vías urinarias. Tradicionalmente las ITUs se han clasificado según la sintomatología, los datos analíticos y los hallazgos microbiológicos. Pero de forma práctica se clasifican en ITUs no complicadas y complicadas, así como a partir del nivel anatómico en el que se establecen. En cuanto a la clasificación anatómica, las ITUs bajas incluirían la uretritis, la cistitis y la prostatitis, mientras que las altas serían la pielonefritis, con el riñón directamente implicado. La bacteriuria asintomática es la presencia de más de 100.000 UFC/ml en dos muestras de orina seriadas en ausencia de síntomas [31].

Las ITUs no complicadas engloban la cistitis aguda y la pielonefritis aguda en mujeres sin alteraciones funcionales ni estructurales en el tracto urinario y sin patología subyacente, de modo que a excepción del episodio actual serían pacientes sanas [55]. Realizando una anamnesis adecuada se puede llegar a un diagnóstico certero de la cistitis no complicada en mujeres premenopáicas sin factores de riesgo, teniendo en cuenta la presencia de síndrome miccional (disuria, polaquiuria y urgencia miccional) con ausencia de exudado vaginal purulento o irritación.

Durante el embarazo es frecuente la aparición de episodios de ITU y de bacteriuria asintomática, cuya importancia radica en que entre el 20% y el 40% [56] de las embarazadas con estos cuadros desarrollaran pielonefritis si no reciben tratamiento adecuado. A todas las embarazadas se recomienda el despistaje de bacteriuria asintomática durante el primer trimestre.

Nuevas aportaciones microbiológicas al diagnóstico y tratamiento de las infecciones del tracto urinario.

Se considera que una ITU es complicada cuando afecta a individuos con alteraciones anatómicas o funcionales del tracto urinario, son portadores de sondas o catéteres, han sido recientemente sometidos a instrumentalización o padecen enfermedades con insuficiencia renal o diabetes. Se tiende a considerar toda ITU en pacientes masculinos como complicada. Todos estos factores condicionan una mayor gravedad de la infección, con mayor incidencia de complicaciones o un manejo terapéutico de mayor complejidad [57].

La ITU complicada puede asociarse o no a un síndrome miccional, o a síntomas de pielonefritis aguda como dolor en el flanco o fiebre, pero también puede manifestarse de forma más compleja como una sepsis de origen urinario, un síndrome obstructivo o desequilibrios de la propia patología de base. En estos pacientes la realización de urocultivo es fundamental debido a la mayor prevalencia de patógenos poco frecuentes como BGN no fermentadores, grampositivos, o levaduras, cuyo antibiograma normalmente no se ajusta a la terapia empírica recomendada en otros y cuya duración ha de ser más prolongada [58]. Para evitar la aparición de reinfecciones o recurrencias es necesario realizar un urocultivo tras completar el tratamiento antibiótico, al menos una semana después [59].

Los factores que sugieren un potencial episodio de ITU complicada se resumen en la tabla 4.

Nuevas aportaciones microbiológicas al diagnóstico y tratamiento de las infecciones del tracto urinario.

Tabla 4. Factores de riesgo de ITU complicada.

<p>Alteraciones del flujo urinario</p>	<p>ORGÁNICAS:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Reflujo vesico-ureteral. • Instrumentación: <ul style="list-style-type: none"> • Diagnóstica: Cateterismos urinarios. • Terapéutica: Cirugía endoscópica. • Obstrucción: <ul style="list-style-type: none"> • Tramo urinario inferior: HBP, cáncer prostático, estenosis uretral. • Tramos urinarios superiores: Litiasis, tumores, compresión extrínseca. <p>FUNCIONALES:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Embarazo. • Disfunción vesical: Vejiga neurógena, inestabilidad vesical, insuficiencia urinaria. <p>ESTRUCTURALES:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Malformaciones: valvas uretrales, estenosis unión pieloureteral, uréter ectópico, mega-uréter. • Tras intervención sobre vías urinarias: derivaciones urinarias quirúrgicas. • Complicaciones quirúrgicas: fistulas, obstrucciones yatrogénicas.
<p>Entornos clínicos predisponentes</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Diabetes mellitus. • Inmunodepresión. • Sexo masculino. • Hospitalización / Institucionalización. • Neoplasia del tracto urinario. • Insuficiencia renal. • ITU nosocomial. • ITU peri-operatoria. • Lesiones por radioterapia o quimioterapia del urotelio. • Fracaso terapéutico.
<p>Dispositivos en la vía urinaria</p>	<p>EXTERNOS: Sondas uretrales, cistotomías suprapúbicas, nefrostomías percutáneas.</p> <p>INTERNOS: Catéter tipo doble-J, dispositivos intrauretrales o intraureterales.</p>

Nuevas aportaciones microbiológicas al diagnóstico y tratamiento de las infecciones del tracto urinario.

ITU nosocomial e ITU en pacientes sondados

La ITU nosocomial se relaciona con la presencia de sonda urinaria en más del 80% de las ocasiones, y el resto se asocia con manipulaciones del aparato genitourinario tales como la cirugía. La ITU relacionada con el sondaje urinario es aquella que ocurre mientras este está insertado o en las 72h posteriores a su retirada [60]. Entre un 15 y un 25 % de los pacientes ingresados son portadores de sonda urinaria, ascendiendo al 85% en los pacientes de UCI. En los pacientes comunitarios esta cifra no supera en 0,07%. Durante el 2011, las ITU supusieron el 20,6% de todas las infecciones nosocomiales [4, 61-64].

Los microorganismos pueden alcanzar la vejiga mediante 3 mecanismos en los pacientes sondados. En el primero de ellos, los microorganismos entran durante la inserción de la sonda (hasta un 30% en ancianos), siendo el principal mecanismo de infección durante el cateterismo único e intermitente.

Los otros dos mecanismos se dan cuando los microorganismos penetran mientras la sonda está insertada, y pueden hacerlo por vía intraluminal (más frecuente en hombres y en circuitos abiertos) o por vía extraluminal (más frecuente en mujeres y en circuitos cerrados). La vía extraluminal supone dos tercios de las ITU asociadas a sondaje urinario, y los microorganismos proceden de la propia flora intestinal de paciente, que han colonizado el periné y ascienden por el espacio que queda entre la sonda y la uretra, y es por ello que ocurre con más frecuencia en la mujer, cuya uretra es más corta y ancha [65].

Las ITU en pacientes sondados son consideradas un problema de salud pública, por su elevada frecuencia y por su morbilidad, ya que son una de las principales causas de bacteriemia nosocomial, tanto en hospitales como en centros de institucionalización. Los portadores de sondaje urinario suponen un importante reservorio de microorganismos multirresistentes incluyendo enterobacterias productoras de BLEE, que dificultan el tratamiento empírico de la ITU.

Nuevas aportaciones microbiológicas al diagnóstico y tratamiento de las infecciones del tracto urinario.

Hasta el 20% de los ancianos institucionalizados son portadores de sonda urinaria, superando el 35% en las personas con incontinencia urinaria de esta misma población [66]. En ellos la ITU es una causa frecuente de fiebre que aumenta el riesgo de bacteriemia hasta 60 veces. En estos pacientes la etiología de la ITU así como el patrón de resistencias de los uropatógenos tiende a parecerse más a la de los pacientes ingresados.

Consideramos que un paciente tiene una sonda urinaria permanente cuando esta lleva insertada más de 30 días, para un tiempo menor consideramos que se trata de un sondaje transitorio. La bacteriuria asociada a la sonda urinaria se refiere a la presencia de un recuento significativo de bacterias en urocultivo, en ausencia de sintomatología, y es la forma más frecuente de ITU en el paciente portador de sonda. En aquellos pacientes con una sonda conectada a un sistema de drenaje cerrado el riesgo de bacteriuria de más de 100.000 UFC/ml es de 3-10% al día, y tras 30 días de sondaje prácticamente todos los pacientes presentarán bacteriuria intensa, la mayoría de las veces, asintomática.

Otros factores de riesgo asociados con la bacteriuria por catéter son el sexo femenino, edad superior a 50 años, el ingreso en urología o traumatología, enfermedad subyacente grave, la insuficiencia renal, la diabetes mellitus, los sistemas de drenaje abiertos y que el tubo que conecta la sonda con la bolsa quede por encima del nivel vesical.

Aunque sólo el 4% de los pacientes sondados con bacteriuria desarrollan bacteriemia, esta se verá favorecida por presencia de obstrucciones en el tracto urinario, infecciones por *Serratia* spp., sexo masculino, diabetes mellitus, neoplasia subyacente, inmunosupresión y hospitalización de larga duración [64].

En España hay incidencia de pacientes con lesiones medulares de 17 casos/millón al año, de los cuales, hasta el 15% serán portadores de sonda urinaria en los 5 años posteriores, muchos de ellos de forma intermitente.

Nuevas aportaciones microbiológicas al diagnóstico y tratamiento de las infecciones del tracto urinario.

La incidencia de ITU en estos pacientes con cateterización intermitente está en torno a 4 episodios por 1.000 días de sondaje, y paradójicamente, en ellos el riesgo aumenta con la menor frecuencia de inserción de sonda [61].

Biopelículas

Los materiales más frecuentes para la fabricación de las sondas urinarias son el látex siliconado o la silicona pura, y aunque son más resistentes a la adhesión que los de goma o látex, aun así las bacterias y levaduras pueden adherirse y formar biopelículas (o *biofilms*).

En primer lugar, cuando se inserta una sonda conectada a un sistema de drenaje cerrado, la superficie externa del catéter y la orina son colonizadas por bacterias del meato uretral, como enterococos, levaduras y *Staphylococcus* spp. Los pacientes con un sondaje vesical prolongado están frecuentemente colonizados, en su periné e introito, por organismos potencialmente más patógenos debido a diversas circunstancias como la edad avanzada, enfermedad crónica subyacente, incontinencia fecal, pH elevado o la exposición a antibióticos.

Pero la entrada de microorganismos por vía intraluminal también es posible, y parece ser utilizada con la misma frecuencia que la externa por bacilos gramnegativos. El acceso a la luz del catéter puede ocurrir tras la apertura del sistema cerrado de drenaje o por la contaminación de la orina en la bolsa. Cuando los microorganismos patógenos han alcanzado la vejiga, estos tardan unos 7 días en formar una biopelícula, cuyos componentes más frecuentes son *P. aeruginosa*, *E. faecalis*, *E. coli*, *P. mirabilis*, *K. pneumoniae* y *C. albicans*.

Nuevas aportaciones microbiológicas al diagnóstico y tratamiento de las infecciones del tracto urinario.

Las biopelículas son muy resistentes a la acción bactericida de los antibióticos, suponiendo un reservorio desde el cual ocurre una inoculación constante de la orina vesical y que se han implicado directamente en la obstrucción de catéteres, sobre todo cuando contienen bacterias productoras de ureasa, como las especies de *Proteae*, *S. epidermidis*, *S. aureus*, *Corynebacterium urealyticum* y *Ureaplasma urealyticum*. También algunas cepas de *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa* y *S. marcescens* son productoras de ureasa. La infección por estos microorganismos da lugar a la formación de cálculos de estruvita-apatita que obstruyen finalmente el catéter insertado.

En el interior de las biopelículas el crecimiento bacteriano es lento, debido probablemente a la falta de oxígeno y nutrientes, y es por ello que las bacterias se vuelven más antibioticorresistentes, ya sea por difícil penetración del antibiótico o por el estado de la bacteria en fase estacionaria que hace que los antibióticos, como por ejemplo los betalactámicos, que actúan sobre la formación de la pared no sean activos [60]. Es por ello, que las biopelículas en la superficie de sondas urinarias supone un nicho difícil de erradicar y que actúa como fuente de inoculación constante de la orina.

Etiología de la ITU en pacientes sondados

Está demostrado que el recambio de la sonda es eficaz en la prevención de las recidivas de las ITU sintomáticas en pacientes tratados con antibiótico. Con la retirada de una sonda permanente y la inserción de una nueva, se produce bacteriemia en más del 10% de las ocasiones, con microorganismos implicados como enterococos, *S. epidermidis* y otros grampositivos de la flora uretral. Es por ello que se considera que la bacteriemia se debe de lesiones preexistentes en la mucosa de vejiga o uretra. Si el procedimiento no es traumático, estos episodios serán asintomáticos, considerándose el recambio como una maniobra segura.

Nuevas aportaciones microbiológicas al diagnóstico y tratamiento de las infecciones del tracto urinario.

E. coli sigue siendo el uropatógeno más frecuentemente aislado en los pacientes portadores de sondaje urinario, pero en esta población no supera el 40%. La candiduria tiene una frecuencia de entre el 3% y el 20%, con especial importancia en los pacientes hospitalizados, y entre ellos los ingresados en UCI, también los pacientes diabéticos o sometidos a múltiples tratamientos antibióticos.

La mayoría de los urocultivos obtenidos de catéteres con menos de 30 días de inserción son monomicrobianos, sin embargo, en aquellos pacientes con sondaje permanente la flora presente en la orina es polimicrobiana en al menos $\frac{3}{4}$ partes de los casos, con presencia de entre 2 y 6 microorganismos diferentes, y además en grandes recuentos y cambiante. Además, esta microbiota alberga con frecuencia especies con un perfil de sensibilidad más resistente a diversos antibióticos, constituyendo un reservorio de cepas resistentes de microorganismos comunes en la flora normal tales como *S. aureus* [41, 61].

En los pacientes con sonda permanente, sobre todo en los que han sido sometidos a tratamientos antibióticos múltiples, es bastante frecuente el aislamiento de bacilos gramnegativos multirresistentes, como *Acinetobacter* spp. o *P. aeruginosa*, y en nuestro país especialmente por microorganismos BLEE, sobre todo *E. coli*. Algunos estudios muestran una prevalencia de microorganismos BLEE en un 15% de los pacientes sondados de cualquier origen [67].

Se ha demostrado que en los pacientes con bacteriuria asintomática recidivante por el mismo microorganismo tras haberse realizado cambios de la sonda, el reservorio se encuentra dentro del propio tracto urinario, ya que algunos microorganismos son capaces de sobrevivir dentro de las células epiteliales donde también pueden formar biopelículas.

Nuevas aportaciones microbiológicas al diagnóstico y tratamiento de las infecciones del tracto urinario.

Clínica en portadores de sonda urinaria

La clínica de ITU en pacientes portadores de sonda urinaria es muy inespecífica. La fiebre, que puede ser poco elevada, sin síndrome miccional es la forma más común de presentación. En ancianos las manifestaciones de una posible ITU pueden ser alteraciones de la conciencia, anorexia o decaimiento, siendo poco frecuentes los síntomas de localización como dolor lumbar o hipogástrico. Los pacientes con lesión medular tendrán espasticidad, diaforesis y malestar general durante la ITU [60].

La presencia de síndrome miccional o molestias en el pene o vagina son muy frecuentes en el paciente portador de sonda urinaria sin ITU a causa de la propia irritación que produce el dispositivo, hasta en el 60% de los casos. Tanto la piuria como la bacteriuria por sí solas carecen de significación clínica en los pacientes sondados, ya que son dos situaciones muy frecuentes. De forma inversa, la ausencia de piuria tampoco descarta la infección, pues en orina alcalina los leucocitos pueden destruirse con la centrifugación, o bien puede estar ocurriendo una ITU a causa de un grampositivo o *Candida* spp. [68].

En estos pacientes la mayoría de los autores están de acuerdo en confirmar el diagnóstico de ITU asociada a catéter mediante un urocultivo antes de iniciar el tratamiento antibiótico, ya que la presencia o ausencia de piuria aclara poco la situación. En pacientes con sonda permanente se recomienda realizar el recambio de la sonda previamente al urocultivo para evitar la contaminación por otros microorganismos presentes en la biopelícula. Aunque habitualmente el recuento es de más de 100.000 UFC/ml, un recuento de 1.000 UFC/ml del uropatógeno se considera significativa para ITU [62, 66].

ITU por microorganismos poco frecuentes

Aunque de forma general la etiología de la ITU está bien establecida, puede variar por diversos factores como la edad avanzada, la presencia de enfermedades subyacentes como la diabetes, la exposición a la instrumentalización de las vías urinarias como el sondaje o el uso de antibióticos u hospitalización previa (Tabla 5). Los patógenos habituales son bien conocidos, pero en aquellos pocos frecuentes, el papel que desempeñan está poco estudiado.

Tabla 5. Factores de riesgo de ITU dependientes del hospedador.

Población	Factores de riesgo
<i>Mujeres premenopáusicas</i>	Relaciones sexuales y frecuencia. Uso de espermicidas y diafragma. ITU previa. Predisposición genética: fenotipo no secretor. Primer episodio de ITU antes de los 15 años. Administración reciente de antibióticos. Embarazo.
<i>Mujeres postmenopáusicas</i>	Insuficiencia urinaria. Cistocele. Historia de ITU en el período premenopáusico. Vaginitis atrófica.
<i>Hombres</i>	Anomalía anatómica. Disminución de la actividad bactericida prostática.
<i>Pacientes sondados</i>	Duración del sondaje Colonización uretral. Instrumentalización del tracto urinario previa. Incorrecciones en el cuidado de la sonda.
<i>Mayores de 65 años</i>	Edad. Lugar de residencia (institucionalizado o no). Estado de salud. Tratamiento antibiótico previo.

Nuevas aportaciones microbiológicas al diagnóstico y tratamiento de las infecciones del tracto urinario.

Muchos de estos microorganismos menos frecuentes causantes de ITU son bacterias grampositivas como estreptococos, lactobacilos u otros cocos grampositivos como *Aerococcus* spp.

Streptococcus bovis es uno de estos microorganismos poco frecuentes que se ha relacionado en los últimos años con ITU. Se trata de cocos grampositivos anaerobios facultativos que representan cerca del 10% de la microbiota gastrointestinal. *S. bovis* comprende un conjunto de especies relacionadas genéticamente que se clasifican según sus diferencias bioquímicas.

El biotipo I es fermentador de manitol, el biotipo II/1 no fermenta manitol y es beta-glucouronidasa negativo, y finalmente el biotipo II/2 es beta-glucouronidasa positivo y también fermenta manitol. Estos biotipos se conocen como *S. gallolyticus* subsp. *gallolyticus*, *S. infantarius* subsp. *infantarius* (o *S. lutetiensis*) y *S. gallolyticus* subsp. *pasteurianus*, respectivamente.

La importancia de la correcta validación clínica de este grupo de microorganismos reside en la fuerte asociación que existe entre *S. bovis* con cuadros de gravedad como bacteriemia, endocarditis, cáncer colorrectal, peritonitis en pacientes dializados, infecciones biliares y meningitis, entre otros. Aunque *S. bovis* pueda ser poco frecuente en el urocultivo, debido a su presencia en pacientes con enfermedad subyacente, se requieren estudios patogénicos que demuestren la verdadera capacidad de este grupo de bacterias para producir ITU.

Otro microorganismo que está surgiendo como patógeno humano emergente es *Aerococcus* spp. [69, 70]. El género *Aerococcus* fue descrito por primera vez en 1953 por Williams (*A. viridans*) [71] como cocos grampositivos anaerobios facultativos, que se agrupan en racimos, catalasa negativos y alfa-hemolíticos.

Nuevas aportaciones microbiológicas al diagnóstico y tratamiento de las infecciones del tracto urinario.

En los siguientes años, se publicaron casos de infecciones en humanos producidas por organismos *aerococcus-like* dando lugar a la descripción de las nuevas especies. El género comprende siete especies distintas y entre ellas, las que pueden resultar patógenas para el hombre son: *A. christensenii*, *A. sanguinicola*, *A. urinae*, *A. urinaehominis* y *A. viridans*. *A. sanguinicola* se ha aislado de muestras de sangre y orina produciendo casos de sepsis urinaria y endocarditis. *Aerococcus urinae* se ha implicado en infección del tracto urinario, endocarditis, bacteriemia, espondilodiscitis e infecciones de heridas obstétricas [72-75], entre otros.

Hasta la llegada de la espectrometría de masas los métodos fenotípicos comerciales ofrecían sólo identificación de la especie *Aerococcus viridans* [76] o eran identificados erróneamente como *Gemella* spp. o *Leuconostoc* spp. [77-79]. *A. urinaehominis* sólo se ha relacionado con ITU. *A. viridans* raramente causa infecciones en humanos pero se ha descrito en casos de meningitis, endocarditis, bacteriemia, infecciones urinarias, espondilodiscitis e infección de heridas.

Las colonias alfa-hemolíticas de *Aerococcus* spp. pueden confundirse a simple vista con colonias de estreptococos del grupo *viridans* o de *Lactobacillus* spp. [71], confundiéndose con microorganismos presentes en la microbiota regional [78]. Con la tecnología MALDI-TOF es posible su identificación a nivel de género e incluso se pueden identificar como especie *A. urinae* y *A. sanguinicola*.

El género *Lactobacillus* spp. está formado por bacilos grampositivos anaerobios aerotolerantes donde la mayoría de sus miembros dan lugar a fermentación láctica. Frecuentemente se consideran contaminantes pues forman parte de la microbiota normal orofaríngea, gastrointestinal y vaginal y por ello la prevalencia real de las infecciones en las que se implican está infraestimada. Aunque *Lactobacillus* spp. generalmente se ha considerado como un género de microorganismos de baja virulencia, se ha implicado en casos de bacteriemia, endocarditis, corioamnionitis y abscesos.

Nuevas aportaciones microbiológicas al diagnóstico y tratamiento de las infecciones del tracto urinario.

Las ITUs en las que se ha implicado *Lactobacillus* spp. como patógeno responsable son cada vez más frecuentes, sobre todo en mujeres de edad avanzada. Ya que estos microorganismos no reducen nitrato a nitrito, la ITU pasa desapercibida en el despistaje mediante tiras reactivas.

Sin embargo, el uso de medios cromogénicos en los urocultivos permite la identificación presuntiva de crecimiento monomicrobiano de *Lactobacillus* spp. La identificación por espectrometría de masas a partir de colonias provenientes de medios cromogénicos parece difícil, de ahí que se realice un subcultivo previo de la colonia a un medio de agar sangre para su crecimiento y posterior identificación.

Lactobacillus spp. son frecuentemente empleados en probióticos, sin embargo, aún no se ha demostrado definitivamente un aumento de los casos de infecciones por *Lactobacillus* spp. debido al uso común de estos productos.

2. OBJETIVOS

2.1. General

Realizar nuevas aportaciones que ayuden al diagnóstico rápido de ITU y a la detección de los principales mecanismos de resistencia de los microorganismos implicados; con especial aplicación en el ámbito hospitalario, frente a infecciones por microorganismos potencialmente patógenos, en enfermos especialmente vulnerables.

2.2. Específicos

- Determinar la capacidad de la aplicación BACT-Morph y de los valores de fluorescencia del citómetro UF-1000i para predecir la morfología de microorganismos causantes de ITU, en comparación con el cultivo estándar.
- Conocer la etiología infecciosa y la sensibilidad a los antimicrobianos en la ITU, con especial atención a las enterobacterias BLEE, bacilos gramnegativos no fermentadores de glucosa multirresistentes, estreptococos del Grupo *bovis*, *Lactobacillus* spp., *Aerococcus* spp. y levaduras.
- Diseñar un método de cribado rápido que permita una identificación precoz de las enterobacterias BLEE.

Nuevas aportaciones microbiológicas al diagnóstico y tratamiento de las infecciones del tracto urinario.

3. MATERIAL Y MÉTODOS

3.1. Elección de muestras

Se obtuvieron de pacientes atendidos en Centros de Atención Primaria de área norte de Granada, Santa Fe y la Zona Básica de Salud de Alcalá la Real (Jaén) o en los hospitales del Complejo Hospitalario Universitario Virgen de las Nieves de Granada: Hospital Materno-Infantil, Hospital de Neurotraumatología y Hospital General de Especialidades. Se trata de un complejo de hospitales de referencia de Andalucía Oriental, que atiende a una población de alrededor de 400.000 habitantes, con alrededor de 900 camas. En sus servicios de urgencias se atienden a más de 1000 pacientes al día, con casi 380.000 consultas de urgencias al año.

Se utilizaron las muestras clínicas de orina, con petición expresa de urocultivo, para despistaje de ITU, obtenidas mediante:

- Técnica de micción media.
- Instrumentación, tal como sonda permanente, sondaje provisional, catéter de nefrostomía o bolsa colectora pediátrica.

No se usaron orinas enviadas a microbiología para otro tipo de estudios (viroológicos, parasitológicos, de antigenuria, etc).

Todas ellas habían sido recogidas en contenedor estéril de boca ancha con tapón de rosca o tubo con conservante ácido bórico (Vacutainer®; Becton Dickinson, NJ, EE.UU.). Las muestras se procesaron dentro de las 24 h tras su recepción; en caso de no poder procesarse inmediatamente, se conservaron refrigeradas siguiendo el procedimiento previamente publicado [80].

Nuevas aportaciones microbiológicas al diagnóstico y tratamiento de las infecciones del tracto urinario.**Periodos de estudio**

Aunque todo el estudio forma parte del mismo proyecto, por subdividirse en varias temáticas, se contemplan diferentes subperiodos de estudio. En la tabla 6 se detallan de forma pormenorizada el tipo y los periodos de estudio según el objetivo propuesto: la validación de métodos que predigan la morfología de los uropatógenos implicados, sobre todo enterobacterias, los principales mecanismos de resistencia y su epidemiología en nuestro área, la epidemiología de los uropatógenos nosocomiales con amplio perfil de resistencias y por último, descubrir los uropatógenos de baja prevalencia que circulan por nuestro área y que merecen nuestra atención.

Nuevas aportaciones microbiológicas al diagnóstico y tratamiento de las infecciones del tracto urinario.

Tabla 6: Diferentes periodos de estudio recogidos para los objetivos de este trabajo.

Objetivos	Tipo de estudio	Edad de pacientes	Procedencia del urocultivo	Periodo
Predicción de morfología y resistencia				
Predicción de morfología por citometría de flujo	Prospectivo	Todas las edades	Intra y extrahospitalarios	Noviembre 2014
Prueba de cambio de pH	Prospectivo	Todas las edades	Intra y extrahospitalarios	Noviembre 2014
Epidemiología de los mecanismos de resistencia				
BLEE: <i>E. coli</i> y <i>K. pneumoniae</i>	Retrospectivo	Todas las edades	Intra y extrahospitalarios	Enero 2012 a mayo 2016
AmpC	Retrospectivo	Todas las edades	Intra y extrahospitalarios	Enero 2006 a diciembre 2016
Patógenos nosocomiales				
<i>A.baumannii</i> y <i>P. aeruginosa</i>	Retrospectivo	Todas las edades	Intra y extrahospitalarios	Enero 2013 a diciembre 2016
<i>Candida</i> spp.	Retrospectivo	Adultos	Intrahospitalarios	Enero 2011 a diciembre 2015
Uropatógenos de baja prevalencia				
Estreptococos del grupo <i>bovis</i>	Retrospectivo, serie de casos.	Todas las edades.	Intra y extrahospitalarios	Enero 2012 a diciembre 2015
<i>Lactobacillus delbrueckii</i>	Prospectivo, caso.	NP	NP	2016
<i>Aerococcus sanguinicola</i>	Prospectivo, casos.	NP	NP	2016

Nuevas aportaciones microbiológicas al diagnóstico y tratamiento de las infecciones del tracto urinario.

Elección de uropatógenos de baja prevalencia

Durante el año 2016, a partir del SIL consultamos los episodios previos de ITU de los pacientes con urocultivo solicitado, para detectar las ITU de repetición con uropatógeno desconocido. Utilizando la tecnología de espectrometría de masas MALDI-TOF, identificamos el uropatógeno que de otra forma podría haber pasado inadvertido o informado presencia de microbiota genital. Es por ello, que a partir de entonces en nuestro laboratorio del HUVN, aportamos diversos casos clínicos de ITU por uropatógenos poco conocidos u oportunistas.

Con respecto a los estreptococos del grupo *bovis*, aunque existen numerosas referencias bibliográficas sobre su presencia en urocultivos en diversos estudios, su implicación no está totalmente establecida, es por ello que se elige un largo periodo de tiempo, desde enero de 2012 a diciembre de 2015, para tener una casuística que permita obtener resultados más concluyentes.

3.2. Cribado mediante citometría

Las muestras, con un volumen mínimo de 3 ml para que hubiese cantidad suficiente para su análisis y evitar el efecto inhibitor bacteriano [81], se analizaron con el citómetro, *Sysmex UF-1000i analyzer* (Sysmex Corporation, Japón) para hacer el despistaje de ITU. Las muestras de orina fueron aspiradas por el citómetro (1,2 ml por aspiración automática) y ya dentro de él, teñidas en dos canales diferentes con 2 tintes de fluorescencia distintos en cada uno: fenantridina y carbocianina.

En función de los valores obtenidos para cada muestra de orina para las diferentes partículas (FLH, FSC y SSC) realizó la clasificación y recuento de bacterias, levaduras y leucocitos según su posición en los “*dot plot*”.

Se consideraron como muestras susceptibles de cultivo aquellas que cumplían alguno de los siguientes criterios de posible ITU [45-47, 82, 83]:

- Recuento mayor de 40 leucocitos por microlitro [84].
- Recuento mayor de 150 bacterias por microlitro.
- Recuento mayor de 100 levaduras por microlitro.

3.3. Cultivo y antibiograma

Las orinas susceptibles de cultivo se inocularon en medio cromogénico para bacterias (CHROMagar Orientation, Becton Dickinson, Franklin Lakes, NJ, EEUU) y se incubaron a 37°C, al menos durante 18h [42]. Las orinas procedentes del servicio de nefrología también se cultivaron además en agar sangre (BD Columbia Agar 5% *sheep blood*, Becton Dickinson, Franklin Lakes, NJ, EEUU) en atmósfera enriquecida con CO₂ a 37°C al menos 18 horas y las procedentes de mujeres gestantes además en medio agar Granada, en condiciones de anaerobiosis, también al menos durante 18 horas a 37°C. Aquellas muestras que tenían positivo el criterio para levaduras se sembraron, además, en medio cromogénico para levaduras (CHROMagar Candida, Becton Dickinson, Franklin Lakes, NJ, EEUU).

La siembra se realizó con asa calibrada de 1 microlitro en todos los casos excepto en las siguientes situaciones, que se hizo con asa calibrada de 10 microlitros:

- En casos necesarios de corregir el factor de dilución:
 - o Orinas de sondaje vesical provisional
- Siembra en medios no cromogénicos:
 - o Siembra en agar sangre de pacientes de Nefrología.

En todos los medios, la mitad de la placa se sembró en cuadrícula y la otra mitad en aislamiento, para poder realizar de forma adecuada el recuento [41]. El crecimiento en las placas de agar se comprobaba al menos 18 horas después de la siembra, para obtener el recuento y una aproximación diagnóstica mediante la visualización de las colonias en las diferentes placas.

En el medio cromogénico, en general, las colonias de *E. coli* aparecían de color rosa oscuro, el grupo KES (*Klebsiella*, *Enterobacter* y *Serratia*) y *Citrobacter* spp aparecían de color azul oscuro metálico, las colonias de *Proteus* spp de color marrón rodeadas de un gran halo, las colonias de *Pseudomonas* spp aparecían verdosas translúcidas, *Enterococcus* spp aparecían de color azul turquesa

Nuevas aportaciones microbiológicas al diagnóstico y tratamiento de las infecciones del tracto urinario.

con un pequeño halo, *S. aureus* como colonias doradas pequeñas y opacas, *S. saprophyticus* como colonias rosas pequeñas y opacas, y finalmente las levaduras, como colonias blancas cremosas [42].

La identificación total o presuntiva del microorganismo, y la susceptibilidad de los aislados en los cultivos se realizó según los siguientes supuestos:

- En caso de haber aislado un solo uropatógeno en recuentos de más de 100.000 UFC/ml [10.000 para orinas de sondaje provisional] se realizó la identificación a nivel de especie y antibiograma mediante paneles para MicroScan (Beckman Coulter Inc, EEUU), siendo PC31 (Pos Combo Type 31 Panel) para *Staphylococcus* spp., PC32 (Pos Combo Type 32 Panel) para *Enterococcus* spp., NC52 (Neg/Urine Combo Type 52 Panel) para enterobacterias y NC54 (Neg Combo Type 54 Panel) para bacilos gramnegativos (BGN) no fermentadores. Con recuentos entre 10.000 y 100.000 UFC/ml (1.000 y 10.000 en orina de sondaje provisional) se procedió igual que antes cuando se aisló un solo uropatógeno.
- En caso de haber aislado dos uropatógenos diferentes con recuentos mayores a 100.000 UFC/ml (más de 10.000 para orinas de sondaje) para cada uno de ellos se realizó también identificación a nivel de especie y antibiograma. Si ambos se encontraban en un recuento entre 10.000 y 100.000 UFC/ml (1.000 y 10.000 en orina de sondaje provisional) se procedió a la identificación presuntiva de ambos, generalmente a nivel de género. Mientras que si uno se encontraba en el mayor recuento y otro en el menor, el primero se identificó a nivel de especie y se testó su sensibilidad antibiótica, mientras que el de menor recuento sólo se identificó de forma presuntiva.

Nuevas aportaciones microbiológicas al diagnóstico y tratamiento de las infecciones del tracto urinario.

- En levaduras, el crecimiento se valoró interpretando la presencia de colonias verdes, en el medio cromogénico para levaduras, como *Candida albicans*, y colonias de cualquier otro color como “*Candida no-albicans*”. Para *C. albicans* no se realizó antifungigrama debido a su baja tasa de resistencias. Para aquellos otros aislamientos de *Candida* spp., tanto la identificación de especie como su sensibilidad a los antifúngicos se realizó mediante tarjetas de VITEK 2 para levaduras (tarjetas YST y AST-YSO7; bioMérieux) (Figuras 3 y 4). Las tarjetas identifican las siguientes especies de *Candida* spp.:

<i>C. albicans.</i>	<i>C. boidinii.</i>	<i>C. catenulata.</i>
<i>C. coliculosa.</i>	<i>C. dubliniensis.</i>	<i>C. famata.</i>
<i>C. freyschussii.</i>	<i>C. glabrata.</i>	<i>C. guilliermondii.</i>
<i>C. haemulonii.</i>	<i>C. inconspicua.</i>	<i>C. intermedia.</i>
<i>C. kefyr.</i>	<i>C. krusei.</i>	<i>C. lambica.</i>
<i>C. lipolytica.</i>	<i>C. lusitaniae.</i>	<i>C. magnolia.</i>
<i>C. norvegensis.</i>	<i>C. parapsilosis.</i>	<i>C. pelliculosa.</i>
<i>C. pulcherrima.</i>	<i>C. rugosa.</i>	<i>C. sake.</i>
<i>C. sphaerica.</i>	<i>C. tropicalis.</i>	<i>C. utilis.</i>
<i>C. zeylanoides.</i>		

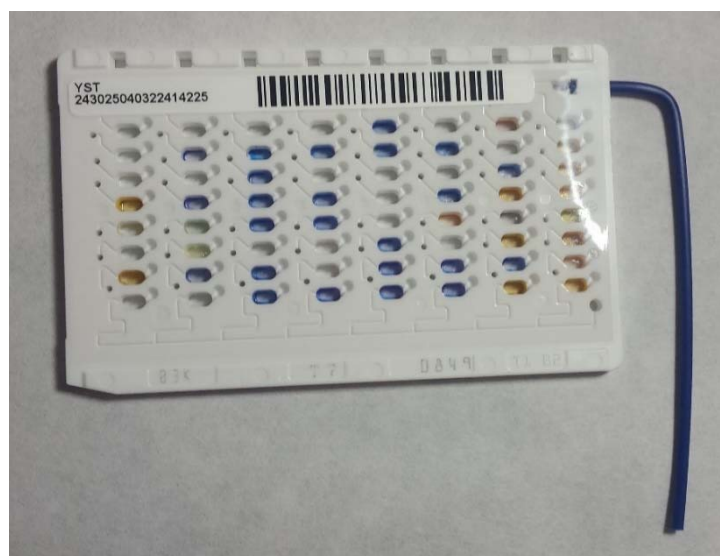


Figura 3: Tarjeta YST para VITEK 2.

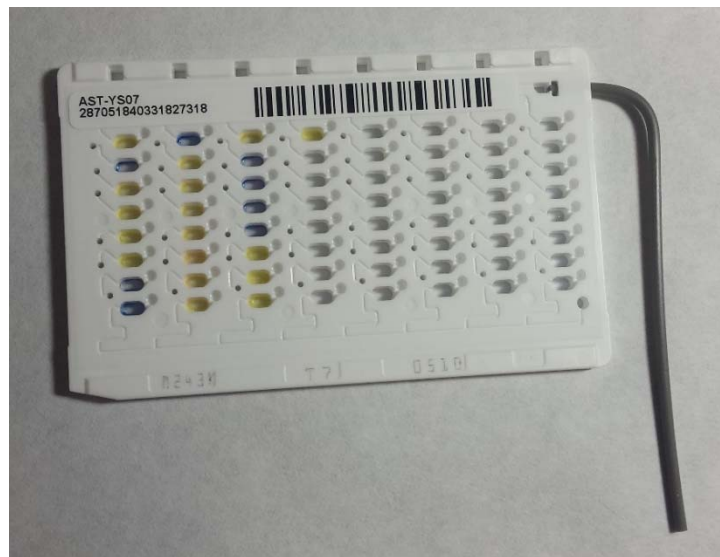
Nuevas aportaciones microbiológicas al diagnóstico y tratamiento de las infecciones del tracto urinario.

Figura 4: Tarjeta AST-YSO7 para VITEK 2.

- Si en las placas se aislaron más de dos uropatógenos, o uno u dos uropatógenos acompañados de biota epitelial urogenital en recuento al menos igual a ellos, el cultivo se consideró como cultivo mixto, probablemente contaminado, solicitando una nueva muestra para urocultivo.
- Otros resultados incluyeron cuando sólo creció biota epitelial urogenital, y también, por supuesto, cultivos negativos, siendo estos todos los que tenían un crecimiento en recuento menor a 10.000 UFC/ml (1.000 para orinas de sondaje provisional).
- En los cultivos realizados en agar sangre al 5%, se tuvo en cuenta el crecimiento en recuento significativo (más de 100.000 UFC/ml) o en cultivo puro tanto de microorganismos piogénicos, como de bacterias exigentes que difícilmente crecen en el medio cromogénico.

Nuevas aportaciones microbiológicas al diagnóstico y tratamiento de las infecciones del tracto urinario.

Agentes antimicrobianos en paneles y tarjetas.

Los perfiles de sensibilidad a antimicrobianos se hicieron mediante técnicas de microdilución automatizada, principalmente, ya fuese mediante MicroScan para las diferentes bacterias, y mediante VITEK 2 para las diferentes levaduras. Para ello fue necesario la utilización de paneles y tarjetas, respectivamente, comercializados. Las tarjetas AST-YSO7 para levaduras incluyen varias concentraciones de CMI (Tabla 7). Las CMI de las tarjetas AST-YSO7 fueron interpretadas según las recomendaciones del EUCAST.

Tabla 7: Antifúngicos y las CMI incluidas en la tarjeta AST-YSO7. Valores numéricos expresado en µg/ml.

Antifúngico	Código	Concentraciones
<i>Anfotericina B</i>	AB	1, 4, 16, 32
<i>Caspofungina</i>	CAS	1, 4, 8
<i>Fluconazol</i>	FLU	1, 4, 8, 16
<i>Flucitosina</i>	FCT	4, 8, 16, 64
<i>Micafungina</i>	MCF	0,006, 0,25, 1, 4
<i>Voriconazol</i>	VRC	0,5, 1, 4, 8

En las siguientes tablas se exponen los antibióticos que se incluyen los diferentes paneles de MicroScan y de ellos, los que en nuestro laboratorio, se informan al clínico, así como las concentraciones estudiadas (Tablas 8 – 11). Estos paneles incluyen también CMI e interpretación.

Nuevas aportaciones microbiológicas al diagnóstico y tratamiento de las infecciones del tracto urinario.

Tabla 8: Antibióticos, incluidos y no incluidos en el informe, y sus diluciones en el panel NC52.

<i>Antibiótico</i>	<i>Aparición en informe clínico.</i>	<i>Concentraciones estudiadas</i>
<i>Ampicilina</i>	Sí	8 - 16
<i>Amoxicilina/ Ác. Clavulánico</i>	Sí	8/4 - 16/8
<i>Piperacilina/ Tazobactam</i>	No	8 - 64
<i>Cefalotina</i>	No	8 - 16
<i>Cafazolina</i>	No	8 - 16
<i>Cefuroxima</i>	Sí	4 - 16
<i>Cefoxitina</i>	No	8 - 16
<i>Cefotaxima</i>	Sí	1 - 32
<i>Cefotaxima/ Ác. Clavulánico</i>	No	0,5/4 - 4/4
<i>Ceftazidima</i>	No	1 - 16
<i>Ceftazidima/ Ác. Clavulánico</i>	No	0,25/4 - 2/4
<i>Cefepime</i>	Sí	8 - 16
<i>Imipenem</i>	Sí	1 - 8
<i>Ertapenem</i>	No	1
<i>Gentamicina</i>	Sí	2 - 8
<i>Tobramicina</i>	No	2 - 8
<i>Ác. Nalidíxico</i>	No	16
<i>Norfloxacino</i>	No	0,5 - 8
<i>Ciprofloxacino</i>	Sí	0,5 - 2
<i>Nitrofurantoína</i>	Sí	32 - 64
<i>Fosfomicina</i>	Sí	16 - 64
<i>Trimetoprim- Sulfametoxazol</i>	Sí	2/38 - 4/76

Nuevas aportaciones microbiológicas al diagnóstico y tratamiento de las infecciones del tracto urinario.

Tabla 9: Antibióticos, incluidos y no incluidos en el informe, y sus diluciones en el panel NC54.

<i>Antibiótico</i>	<i>Aparición en informe clínico</i>	<i>Concentraciones estudiadas</i>
<i>Ampicilina/Sulbactam</i>	No	4/2 – 16/8
<i>Ticarcilina</i>	No	16 – 64
<i>Ceftazidima</i>	Sí	1 - 32
<i>Cefepime</i>	Sí	1 - 16
<i>Imipenem</i>	Sí	1 - 8
<i>Meropenem</i>	Sí	1 - 8
<i>Aztreonam</i>	No	1 – 16
<i>Gentamicina</i>	Sí	1 – 8
<i>Tobramicina</i>	Sí	2 – 8
<i>Amicacina</i>	Sí	8- 32
<i>Ciprofloxacino</i>	Sí	0,5 - 2
<i>Levofloxacino</i>	No	1 – 4
<i>Fosfomicina</i>	No	16 - 64
<i>Trimetoprim-Sulfametoxazol</i>	No	2 /38
<i>Colistina</i>	Sí	2 – 4
<i>Minociclina</i>	No	4 – 8
<i>Tigeciclina</i>	No	0,5 – 2
<i>Piperacilina/Tazobactam</i>	No	8 - 64

Nuevas aportaciones microbiológicas al diagnóstico y tratamiento de las infecciones del tracto urinario.

Tabla 10: Antibióticos, incluidos y no incluidos en el informe, y sus diluciones en el panel PC31.

<i>Antibiótico</i>	<i>Aparición en informe clínico</i>	<i>Concentraciones estudiadas</i>
<i>Penicilina</i>	No	0,03 – 0,25
<i>Oxacilina</i>	Sí	0,25 - 2
<i>Cribado cefoxitina</i>	No	
<i>Amoxicilina/ Ac. clavulánico</i>	No	4/2
<i>Eritromicina</i>	No	0,5 - 4
<i>Clindamicina</i>	No	0,25 - 2
<i>Gentamicina</i>	Sí	1 - 8
<i>Tobramicina</i>	No	1 - 8
<i>Amicacina</i>	No	8 - 32
<i>Vancomicina</i>	Sí	0,5 - 16
<i>Teicoplanina</i>	Sí	1 - 16
<i>Mupirocina</i>	No	4 - 256
<i>Ac. Fusídico</i>	No	2 - 16
<i>Ciprofloxacino</i>	No	1 - 2
<i>Levofloxacino</i>	Sí	1 - 4
<i>Nitrofurantoína</i>	Sí	32 - 64
<i>Fosfomicina</i>	Sí	32 - 64
<i>Trimetoprim- Sulfametoxazol</i>	Sí	1/19 – 4/76
<i>Daptomicina</i>	No	1 - 4
<i>Linezolid</i>	No	2 - 4
<i>Rifampicina</i>	No	0,5 - 2
<i>Tetraciclina</i>	No	1 - 8

Nuevas aportaciones microbiológicas al diagnóstico y tratamiento de las infecciones del tracto urinario.

Tabla 11: Antibióticos, incluidos y no incluidos en el informe, y sus diluciones en el panel PC32.

<i>Antibiótico</i>	<i>Aparición en informe clínico</i>	<i>Concentraciones estudiadas</i>
<i>Penicilina</i>	No	0,03 - 8
<i>Oxacilina</i>	No	0,25 - 2
<i>Ampicilina</i>	Sí	1 - 8
<i>Eritromicina</i>	No	0,25 - 4
<i>Clindamicina</i>	No	0,25 - 2
<i>Gentamicina</i>	No	1 - 8
<i>Vancomicina</i>	Sí	1 - 16
<i>Teicoplanina</i>	Sí	1 - 16
<i>Ciprofloxacino</i>	No	0,5 - 2
<i>Levofloxacino</i>	No	1 - 4
<i>Nitrofurantoina</i>	Sí	32 - 64
<i>Fosfomicina</i>	Sí	32 - 64
<i>Trimetoprim-Sulfametoxazol</i>	No	1/19 - 4/76
<i>Daptomicina</i>	No	0,5 - 4
<i>Linezolid</i>	No	1 - 4
<i>Synercid</i>	No	0,5 - 2
<i>Tetraciclina</i>	No	1 - 4

Con los paneles para enterobacterias de tipo NC52 la presencia de BLEE se detectó cuando la CMI disminuía 4 diluciones para la cefotaxima o la ceftazidima acompañadas del inhibidor ácido clavulánico con respecto su presencia exclusiva [85]. La sensibilidad a los diferentes antibióticos en los paneles de MicroScan se interpretó según los criterios del CLSI [85].

Nuevas aportaciones microbiológicas al diagnóstico y tratamiento de las infecciones del tracto urinario.

Antibiogramas para microorganismos especiales.

Acinetobacter baumannii

Para la sensibilidad a imipenem, meropenem y colistina en *Acinetobacter baumannii*, se realizaron E-test (Liofilchem, Italia) de estos antibióticos en medio Müller-Hinton (Becton Dickinson, NJ, EEUU) con inoculación en la placa de una suspensión de la bacteria al 0,5 McFarland, incubándose al menos 18h en atmósfera aerobia a 37°C e interpretándose la elipse según los puntos de corte del CLSI [85].

Lactobacillus spp.

Para las especies de *Lactobacillus* spp. aisladas en cultivo puro, el antibiograma se realizó mediante la técnica disco-placa en medio Müller-Hinton Sangre de cordero al 5% con un inóculo del 0,5 McFarland, incluyendo discos de los siguientes antibióticos: fosfomicina, ciprofloxacino y amoxicilina / ac. clavulánico. La incubación se realizó durante al menos 18h en atmósfera aerobia a 37°C rica en CO₂. La interpretación de los halos se realizó según los criterios del CLSI [85].

Aerococcus spp.

Para las especies de *Aerococcus* spp. aisladas en cultivo puro, el antibiograma se realizó mediante E-test en medio Müller-Hinton sangre de cordero al 5% con un inóculo del 0,5 McFarland, incluyendo tiras antibióticas para ciprofloxacino, cefotaxima, meropenem, penicilina, tetraciclina y vancomicina. La incubación se realizó durante al menos 18h en atmósfera aerobia a 37°C rica en CO₂. La interpretación de los puntos de corte de la elipse se realizó según los criterios del CLSI [85].

Nuevas aportaciones microbiológicas al diagnóstico y tratamiento de las infecciones del tracto urinario.

Estreptococos del grupo *bovis*.

Aunque para este grupo de bacterias tanto la identificación como el antibiograma se realizó mediante el sistema automatizado MicroScan Walkaway, la clasificación de los aislados en sensible, intermedio o resistente para levofloxacino, linezolid y daptomicina se realizó usando los puntos de corte epidemiológicos (ECOFF) del EUCAST, ya que no existen puntos de corte clínicos.

Identificación indeterminada de microorganismos

Ya que tanto el sistema VITEK 2 como MicroScan identifican mediante pruebas bioquímicas, cuando ofrecen un resultado lo expresan junto con un porcentaje de probabilidad. En ocasiones MicroScan ofrece varias identificaciones posibles con bajo porcentaje de posibilidad y VITEK 2 indica junto al porcentaje que se trata de una identificación poco probable, en tales casos de identificación indeterminada, la identificación definitiva se realizó mediante espectrometría de masas escogiendo como resultado válido aquel con un *score* de al menos a 1,7 [86-89].

Las colonias obtenidas por aislamiento se aplicaron directamente sobre uno de los pocillos de la placa de acero MSP 96 MALDI (Bruker Daltonics, Bremen, Alemania), y tras su secado, en el mismo pocillo se aplicaba 2 μ l de matriz HCCA, y se volvía a dejar a secar antes de introducir la placa en la cámara de vacío para realizar el análisis. Para las levaduras, por la complejidad de su pared celular, fue necesario echar en el pocillo, tras la muestra seca 2 μ l de ácido fórmico al 70%, y posteriormente los 2 μ l de HCCA.

3.4. Prueba de la beta-lactamasa basada en el cambio de pH

Se diseñó un test manual para la detección de enzimas capaces de degradar la cefotaxima por cambio en el pH. Para ello se preparó una solución que contenía 50 ml de reactivo de extracción de proteínas bacterianas (B-PER, Thermo Scientific, Rockford, EEUU), 50 ml de una solución de indicador de pH de rojo fenol en agua destilada, a una concentración final de 0,0125%, y 150 mg de cefotaxima (Sigma Aldrich Química S.A, Tres Cantos, Madrid, España), con una concentración final 1,5 mg/l, con un pH de 7,8. Se preparó además una solución similar, pero sin la adición de cefotaxima, para utilizarla como control.

Se transfirieron alícuotas de 200 μ l de las soluciones control y con cefotaxima a tubos *Eppendorf*, que se congelaron a -80°C . Diariamente se descongelaban los tubos necesarios para realizar el test.

En esta prueba se mide la actividad degradativa de diferentes enzimas, ya que tras la hidrólisis del anillo betalactámico, la cefotaxima se transforma en una forma carboxílica, con lo que desciende el pH de la solución y el rojo fenol vira a amarillo.

Las enterobacterias ensayadas provenían del cultivo rutinario de las muestras de orina en medio cromogénico. De cada aislamiento, se tomaron con asa calibrada (Copan Italia Spa, Brescia, Italia) de 1 μ l al menos 3 colonias bien aisladas. Estas se resuspendieron en la solución del test, tanto en el tubo prueba con cefotaxima, como en el tubo control sin cefotaxima, y se mezclaron brevemente mediante vórtex para su homogenización. Tras una incubación a 37°C durante 60 min, 2 observadores independientes evaluaron el cambio de color respecto del tubo control y consideraron el viraje de la solución a color amarillo como resultado positivo, la presencia de color rojo como negativo y la aparición de color naranja como indeterminado. Solo se consideraron los resultados si hubo acuerdo entre los observadores. Los datos del viraje de color fueron tomados de forma manual por uno de los dos observadores.

Nuevas aportaciones microbiológicas al diagnóstico y tratamiento de las infecciones del tracto urinario.

De forma simultánea a esta prueba, y para utilizarlo como comparador de referencia, los aislados se identificaron a nivel de especie mediante pruebas bioquímicas y se evaluó su sensibilidad antibiótica con el sistema de microdilución automatizado MicroScan, empleando los paneles de tipo NC52. Adicionalmente, el software de este equipo indica que existe un fenotipo BLEE cuando la CMI de cefotaxima o ceftazidima junto con el inhibidor ác. clavulánico es 4 o más veces menor que la CMI de dichos antibióticos sin el inhibidor.

Aquellos aislamientos resistentes a cefotaxima o ceftazidima, sin inhibición con el ác. clavulánico, se ensayaron con E-test de cefotaxima/ceftazidima/cefepime con ác. clavulánico en agar Müller-Hinton, sin y con presencia de cloxacilina, para descartar la presencia de fenotipo BLEE enmascarado por la presencia de AmpC.

3.5. Recuperación de datos (fluorescencia y BACT Morph)

La información referente al análisis realizado por citómetro se recuperó también posteriormente ya que iba siendo almacenada por el sistema informático de este instrumento. Se recogió información acerca de la edad, sexo, servicio o centro de salud de procedencia, leucocitos por microlitro, UFC por microlitro, positividad presuntiva de la muestra, así como los valores de las fluorescencias totales y fluorescencias en el canal exclusivo para bacterias.

El citómetro además posee la aplicación BACT Morph que da una identificación presuntiva de la morfología bacteriana en las muestras de orina a partir de la combinación de datos obtenidos y reflejados en los histogramas biparamétricos o de puntos (*scatter plot*) que se corresponden con la fluorescencia FSC frente a la FLH. De modo que clasifica las bacterias detectadas por el citómetro en las categoría *Bacilos* y *Cocos/Mezcla*, de forma que una línea recta que cruza el centro de la nube de puntos obtenida en el análisis de la muestra y su ángulo con respecto al eje x determina la clasificación de las bacterias como *Bacilos* ($<30^\circ$) o como *Cocos/Mezcla* ($>30^\circ$).

3.6. Análisis estadístico

Para las diferentes pruebas estadísticas en los distintos estudios se usó el paquete estadístico IBM SPSS Statistics v 19 (IBM inc, Chicago, IL, EEUU).

La fluorescencia por citometría de flujo.

Para el estudio de la citometría de flujo se realizó una estadística descriptiva tanto de las variables sociodemográficas como de la fluorescencia obtenida en el canal específico para bacterias. Se calculó la sensibilidad, especificidad y valores predictivos negativo y positivo para la correcta clasificación de bacilos por la aplicación predictora de morfología bacteriana.

Las posibles diferencias en FSC y FLH entre bacilos y cocos según el urocultivo, se analizaron mediante el test de U Mann-Whitney, debido a la asimetría de datos. Se realizó un análisis de área bajo la curva (AUC) *Receiver Operating Characteristics* (ROC) para valorar la correcta clasificación de la morfología según urocultivo en función de FSC y FLH del canal específico de bacterias.

Se valoró el impacto de las muestras contaminadas o con crecimiento de microbiota urogenital realizando los análisis, en primer lugar sobre el total de las muestras, y luego excluyendo las anteriores muestras. Así mismo, se valoró la influencia de la cantidad de bacterias en la muestra origen realizando los análisis con un recuento de 0, 30, 50 y 150 UFC/ μ l.

Nuevas aportaciones microbiológicas al diagnóstico y tratamiento de las infecciones del tracto urinario.**Prueba de detección de cefotaximasas basada en el cambio de pH.**

Para el estudio de validación del test de detección de cefotaximasas basado en el cambio de pH, las variables cuantitativas se describieron como la frecuencia de distribución de cada una de las categorías. Se calcularon los valores de sensibilidad, especificidad, valor predictivo positivo y valor predictivo negativo para el estudio de rentabilidad de esta prueba “*in house*” cuando se obtuvo viraje al amarillo, con un intervalo de confianza del 95%, en cada diferente consideración.

***E. coli* BLEE y *K. pneumoniae* BLEE.**

Para realizar el estudio de los fenotipos BLEE en *E. coli* y *K. pneumoniae* a lo largo del periodo, se recogieron los datos de resistencia a los antibióticos: ciprofloxacino, tobramicina, fosfomicina, nitrofurantoína, cotrimoxazol, cefoxitina, imipenem y ertapenem. Para contrastar la existencia de diferencias en los porcentajes de sensibilidad en los diferentes años se usó el estadístico Chi² de Pearson, cuyo valor p se ajustó mediante el método de Bonferroni para comparaciones múltiples, con un nivel de significación de p 0.05. Se evitó a duplicidad de aislamientos y muestras para un intervalo inferior a 30 días.

***Acinetobacter baumannii* y *Pseudomonas aeruginosa*.**

Las variables categóricas se expresaron como frecuencias de distribución. El test Chi² para la tendencia lineal o test exacto de Fisher se usó para analizar el desarrollo de sensibilidad en *A. baumannii* y *P. aeruginosa* cuando los casos fueron suficientes. El análisis de regresión logística se usó para el estudio de las tendencias en la sensibilidad antibiótica a lo largo del periodo. Las odds ratio e intervalos de confianza del 95% se calcularon para la estimación del riesgo de cambio en la sensibilidad antibiótica por cada año.

Nuevas aportaciones microbiológicas al diagnóstico y tratamiento de las infecciones del tracto urinario.

El coeficiente de correlación de Spearman, con un intervalo de confianza de 95%, se usó para determinar la relación entre el consumo de imipenem, meropenem y piperacilina/tazobactam y los cambios en la sensibilidad de los aislados obtenidos de muestras de pacientes hospitalizados.

En todos los demás estudios se realizó una estadística descriptiva de las variables sociodemográficas, los aislamientos, sensibilidad antibiótica, etcétera...

3.7. Declaración de conflicto de intereses y aprobación por el comité de ética

Todo el protocolo del estudio se llevó a cabo con arreglo a la Declaración de Helsinki. Se trató en todo momento de un estudio no intervencionista, sin investigación adicional a los procedimientos microbiológicos rutinarios. El material biológico se utilizó sólo para el diagnóstico estándar de ITU, siguiendo las prescripciones de los médicos solicitantes. No se realizó, por tanto, muestreo adicional ni modificación de los protocolos de rutina. Se hicieron los análisis de datos utilizando bases de datos anónimas. Por tanto, la aprobación fue considerada innecesaria según las pautas de nuestro país. La entidad que concedió el permiso para acceder y utilizar los datos fue la «Unidad de Gestión Clínica de Microbiología Clínica del Hospital Virgen de las Nieves de Granada, España».

Nuevas aportaciones microbiológicas al diagnóstico y tratamiento de las infecciones del tracto urinario.

4. RESULTADOS

4.1. Resultados de la fluorescencia por citometría de flujo

Datos sociodemográficos y resultados del urocultivo.

Se estudiaron un total de 1924 muestras, 1479 (76,9%) pertenecientes a mujeres, con una media de edad de 44 años (desde los 3 meses a los 98 años), 438 (22,8%) de procedencia masculina, con una media de edad de 57 años (desde los 2 meses a los 93 años). En 7 (0,4%) muestras se desconoce el sexo del paciente. 11 de las muestras provenían de mujeres embarazadas (0,6%), por lo que también fueron usadas para hacer el despistaje de presencia de SGB.

Un total de 1217 (63,3%) de muestras de orina reunían al menos un criterio para la realización de su cultivo, obteniéndose a partir de los cultivos los siguientes resultados:

- 593 (48,7%) cultivos negativos.
- 394 (32,4%) cultivos positivos.
- 70 (5,8%) cultivos presuntivos.
- 80 (6,6%) cultivo mixto (más de 2 microorganismos).
- 79 (6,5%) biota epitelial urogenital.
- 1 (0,1%) no consta resultado.

De modo que un total de 623 (51,2%) muestras evaluadas con crecimiento en el cultivo fueron elegibles para evaluar la capacidad de la aplicación predictora de morfología del uropatógeno (BACT Morph) y de la fluorescencia generada en el canal específico de bacterias.

Nuevas aportaciones microbiológicas al diagnóstico y tratamiento de las infecciones del tracto urinario.**Rentabilidad diagnóstica de la aplicación predictora de morfología de uropatógenos.**

Para la evaluación de la rentabilidad diagnóstica se analizaron los datos, teniendo en cuenta que se consideraba como verdadero positivo “*Bacilos*” la presencia exclusiva de bacilos gramnegativos o bien estos acompañados de otro microorganismo de diferente morfología pero en menor recuento. Todos los demás resultados posibles en urocultivo que implicaban crecimiento de algún microorganismo se consideraban en la categoría “*No bacilos*”. En la tabla 12 se exponen los resultados obtenidos en urocultivo según los diferentes puntos de corte establecidos para el citómetro, y en las tablas 13 y 14, su rentabilidad en el diagnóstico. No se observaron diferencias estadísticamente significativas ya fuese por punto de corte, de forma global o según el diferente origen de la muestra.

Nuevas aportaciones microbiológicas al diagnóstico y tratamiento de las infecciones del tracto urinario.

Tabla 12. Descripción de resultados del urocultivo de las poblaciones estudiadas según los diferentes puntos de corte de recuento con la aplicación predictora de morfología del citómetro UF-1000i. *BACT*: Número de bacterias/μl. *N*: Número de muestras totales con valores superiores al punto de corte.

POBLACIÓN GENERAL						
PUNTO DE CORTE	N	Pérdidas	Biota urogenital	Cultivo mixto / Contaminación	Mezcla de morfologías	Morfología única
<i>NO BACT</i>	623	-	79	80	8	456
<i>BACT</i> ≥30	609	14	76	79	8	446
<i>BACT</i> ≥50	603	20	74	79	8	442
<i>BACT</i> ≥100	588	35	70	76	8	434
<i>BACT</i> ≥150	570	53	69	72	7	422
POBLACIÓN INTRAHOSPITALARIA						
<i>NO BACT</i>	192	-	17	19	4	152
<i>BACT</i> ≥30	183	9	16	18	4	145
<i>BACT</i> ≥50	180	12	15	18	4	143
<i>BACT</i> ≥100	170	22	12	16	4	138
<i>BACT</i> ≥150	162	30	11	15	3	133
POBLACIÓN DE ATENCIÓN PRIMARIA						
<i>NO BACT</i>	431	-	62	61	4	304
<i>BACT</i> ≥30	426	5	60	61	4	301
<i>BACT</i> ≥50	423	8	59	61	4	299
<i>BACT</i> ≥100	418	13	58	60	4	296
<i>BACT</i> ≥150	408	23	58	57	4	289

Nuevas aportaciones microbiológicas al diagnóstico y tratamiento de las infecciones del tracto urinario.

Tabla 13. Precisión de diagnóstico de bacilos de la aplicación predictora de morfología de uropatógenos (BACT Morph), considerando los resultados de microbiota urogenital y contaminaciones. Todos los resultados se expresan en porcentaje (Intervalo de confianza del 95%).

PUNTO DE CORTE	N	SENSIBILIDAD	ESPECIFICIDAD	VALOR PREDICTIVO POSITIVO	VALOR PREDICTIVO NEGATIVO
POBLACIÓN GENERAL					
<i>BACT</i> ≥ 30	609	82,4 (77,8 – 86,2)	62,5 (56,3 – 68,2)	75,3 (68,7 – 77,8)	73,7 (67,4 – 79,2)
<i>BACT</i> ≥ 50	603	82,3 (77,7 – 86,1)	62,5 (56,3 – 68,3)	73,8 (69,0 – 78,1)	73,3 (67,0 – 78,9)
<i>BACT</i> ≥ 100	588	83,0 (78,4 – 86,8)	62,1 (55,7 – 68,0)	74,3 (69,5 – 78,6)	73,4 (66,8 – 79,1)
<i>BACT</i> ≥ 150	570	84,4 (79,9 – 88,1)	61,3 (54,9 – 67,4)	74,6 (69,8 – 78,9)	74,5 (67,8 – 80,3)
POBLACIÓN INTRAHOSPITALARIA					
<i>BACT</i> ≥ 30	183	76,3 (67,3 – 83,6)	72,5 (60,2 – 82,2)	82,1 (73,2 – 88,6)	64,9 (53,1 – 75,2)
<i>BACT</i> ≥ 50	180	76,3 (67,3 – 83,6)	71,2 (58,6 – 81,4)	82,1 (73,2 – 88,6)	63,5 (51,5 – 74,2)
<i>BACT</i> ≥ 100	170	77,5 (68,4 – 84,6)	71,2 (57,7 – 81,9)	83,5 (74,6 – 89,8)	62,7 (50,0 – 73,9)
<i>BACT</i> ≥ 150	162	80,2 (71,1 – 87,1)	71,4 (57,6 – 82,3)	84,2 (75,3 – 90,4)	65,6 (52,2 – 77,0)
POBLACIÓN DE ATENCIÓN PRIMARIA					
<i>BACT</i> ≥ 30	426	85,4 (80,0 – 89,6)	59,0 (51,8 – 65,8)	70,2 (64,3 – 75,5)	78,2 (70,5 – 84,3)
<i>BACT</i> ≥ 50	423	85,3 (79,9 – 89,6)	59,6 (52,4 – 66,4)	70,6 (64,7 – 75,9)	78,2 (70,5 – 84,3)
<i>BACT</i> ≥ 100	418	85,7 (80,3 – 89,9)	59,3 (52,0 – 66,2)	70,9 (65,0 – 76,1)	78,2 (70,5 – 84,4)
<i>BACT</i> ≥ 150	408	86,4 (81,0 – 90,5)	58,3 (50,9 – 65,4)	71,0 (65,1 – 76,3)	78,4 (70,5 – 84,8)

Nuevas aportaciones microbiológicas al diagnóstico y tratamiento de las infecciones del tracto urinario.

Tabla 14. Precisión de diagnóstico de bacilos de la aplicación predictora de morfología de uropatógenos (BACT Morph), sin considerar los resultados de microbiota urogenital y contaminaciones. Todos los resultados se expresan en porcentaje (Intervalo de confianza del 95%).

PUNTO DE CORTE	N	SENSIBILIDAD	ESPECIFICIDAD	VALOR PREDICTIVO POSITIVO	VALOR PREDICTIVO NEGATIVO
POBLACIÓN GENERAL					
<i>BACT</i> ≥30	454	82,4 (77,8 – 86,2)	66,7 (57,1 – 75,1)	88,1 (83,9 – 91,3)	55,9 (47,1 – 64,3)
<i>BACT</i> ≥50	450	82,3 (77,7 – 86,1)	66,7 (57,0 – 75,2)	88,3 (84,1 – 91,5)	55,2 (46,4 – 63,7)
<i>BACT</i> ≥100	442	83,0 (78,4 – 86,8)	66,4 (56,5 – 75,0)	88,5 (84,4 – 91,7)	55,5 (46,4 – 64,2)
<i>BACT</i> ≥150	429	84,4 (79,9 – 88,1)	65,7 (55,6 – 74,6)	88,8 (84,6 – 91,9)	56,8 (47,4 – 65,8)
POBLACIÓN INTRAHOSPITALARIA					
<i>BACT</i> ≥30	149	76,3 (67,3 – 83,6)	77,1 (59,5 – 89,0)	91,6 (83,6 – 96,6)	50,0 (36,3 – 63,8)
<i>BACT</i> ≥50	147	76,3 (67,3 – 83,6)	75,8 (57,4 – 88,3)	91,6 (83,6 – 96,6)	48,1 (34,2 – 62,2)
<i>BACT</i> ≥100	142	77,5 (68,4 – 84,6)	77,4 (58,5 – 89,7)	92,5 (84,6 – 96,7)	49,0 (34,6 – 63,5)
<i>BACT</i> ≥150	136	80,2 (71,1 – 87,1)	80,0 (60,9 – 91,6)	93,4 (85,7 – 97,3)	53,3 (38,0 – 68,1)
POBLACIÓN DE ATENCIÓN PRIMARIA					
<i>BACT</i> ≥30	305	85,4 (80,0 – 89,6)	62,0 (80,0 – 89,6)	86,6 (81,2 – 90,6)	59,8 (48,3 – 70,3)
<i>BACT</i> ≥50	303	85,3 (79,9 – 89,6)	62,8 (51,1 – 73,3)	86,9 (81,5 – 90,9)	59,8 (48,3 – 70,3)
<i>BACT</i> ≥100	300	85,7 (80,3 – 89,9)	61,8 (49,9 – 72,5)	86,9 (81,5 – 90,9)	59,5 (47,9 – 70,2)
<i>BACT</i> ≥150	293	86,4 (81,0 – 90,5)	59,7 (47,5 – 70,9)	86,8 (81,5 – 90,9)	58,9 (46,8 – 70,1)

Nuevas aportaciones microbiológicas al diagnóstico y tratamiento de las infecciones del tracto urinario.

Análisis de la morfología según las fluorescencias FSC y FLH.

Para realizar el análisis de la diferencia entre los valores de fluorescencia de los bacilos gramnegativos con respecto al resto de microorganismos, se realizó el análisis de los valores de las fluorescencias FSC y FLH del canal específico para bacterias. En este caso, también se consideraron las categorías definidas de “*Bacilos gramnegativos*”, “*Cocos grampositivos*” y “*Mezcla*”. En los que:

- BGN de forma exclusiva o junto con otro microorganismo en recuento no significativo, todos ellos como *Bacilos gramnegativos*.
- CGP de forma exclusiva o junto con otro microorganismo en recuento no significativo, todos ellos como *Cocos grampositivos*.
- Levaduras, biota epitelial urogenital, cultivo mixto y cultivo con recuento significativo para dos microorganismos con morfología diferente, todos ellos como *Mezcla*.

En el análisis de los datos de fluorescencia obtenidos por el canal específico para bacterias en el citómetro (Tabla 15) se obtuvo que las diferencias eran estadísticamente significativas para los valores de FSC ($p < 0,001$) siendo los valores significativamente superiores para los Cocos, pero no para los valores de FLH ($p = 0,330$).

Con respecto a estos resultados obtenidos, se realizó un modelo para tratar de predecir el valor de resultado de la prueba clasificando según las categorías “*Coco grampositivo*” y “*No coco grampositivo*” según los valores de la fluorescencia de tipo FSC (Figuras 5 y 6). Considerando el total de las muestras se obtuvo un AUC de 0,719 (IC95% 0,677 – 0,756), obteniendo una sensibilidad de 90,04% (85,8 – 93,2), especificidad de 38,9% (33,7 – 44,3), valor predictivo positivo del 54,8% (50,1 – 59,4) y valor predictivo negativo del 82,6% (75,7 – 88,0) con un punto de corte de 20,6 ch.

Nuevas aportaciones microbiológicas al diagnóstico y tratamiento de las infecciones del tracto urinario.

Usando un valor de umbral de 24,2 ch, y sin considerar las muestras contaminadas o en las que crecieron microbiota urogenital, la rentabilidad mejora, alcanzando un valor de AUC de 0,755 (0,705 – 0,798), con sensibilidad de 90,24% (83,1 – 94,6), especificidad del 49,1% (43,7 – 54,6) y valor predictivo positivo y negativo de 38,7% (33,1 – 44,7) y 93,3% (88,4 – 96,4), respectivamente.

Tabla 15: Relación entre los valores de fluorescencia B_FSC y B_FLH por el canal para bacterias con el grupo de microorganismo obtenido. B-FSC: *forward scattered light* del canal específico de bacterias. B-FLH: *fluorescence scattered light* del canal específico de bacterias. N: número de muestras. DE: desviación estándar. Min: valor mínimo. Med: mediana. P25/50/75: percentiles 25/50/75. Max: valor máximo.

B-FSC	N	Media	DE	Mín	P25	Med (P50)	P75	Máx
BGN	341	28.3	16.0	6.8	16.5	24.3	37.3	108.1
CGP	115	44.7	20.5	0.0	30.9	40.0	52.3	144.5
2 morfologías	8	37.1	21.4	16.4	23.3	26.7	55.5	77.6
Total	464	32.5	18.7	0.0	18.3	29.1	42.0	144.5
B-FLH								
BGN	341	106.1	28.3	70.0	83.5	100.6	119.5	207.7
CGP	115	104.4	20.2	0.0	92.7	101.8	112.2	176.7
2 morfologías	8	105.0	15.0	85.5	92.0	102.9	118.1	127.8
Total	464	105.6	26.3	0.0	87.4	100.9	117.3	207.0

Nuevas aportaciones microbiológicas al diagnóstico y tratamiento de las infecciones del tracto urinario.

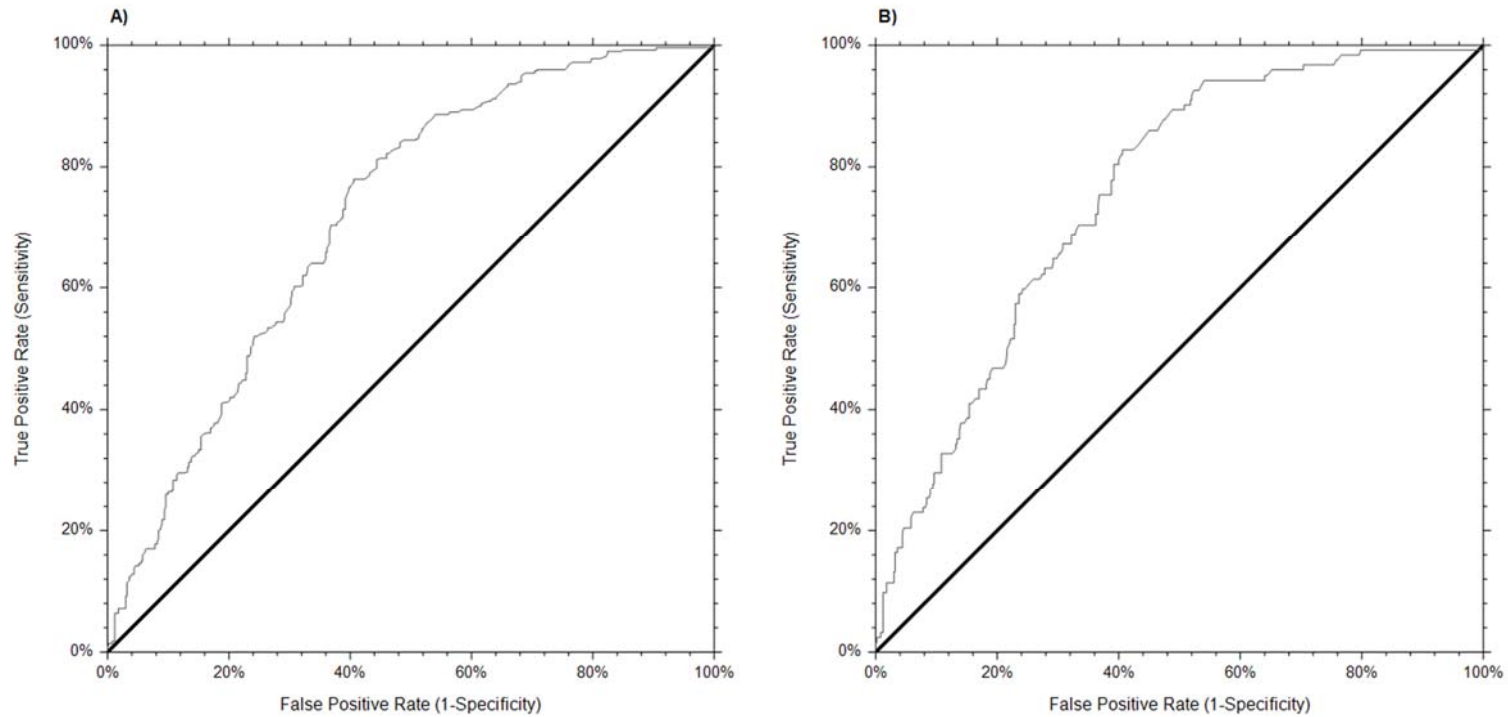


Figura 5: Curvas ROC en la predicción de la morfología *Coco* en función del valor de fluorescencia de FSC en el canal para bacterias. A) Considerando el total de las muestras. B) Excluyendo aquellas muestras como contaminadas o con crecimiento de biota urogenital.

Nuevas aportaciones microbiológicas al diagnóstico y tratamiento de las infecciones del tracto urinario.

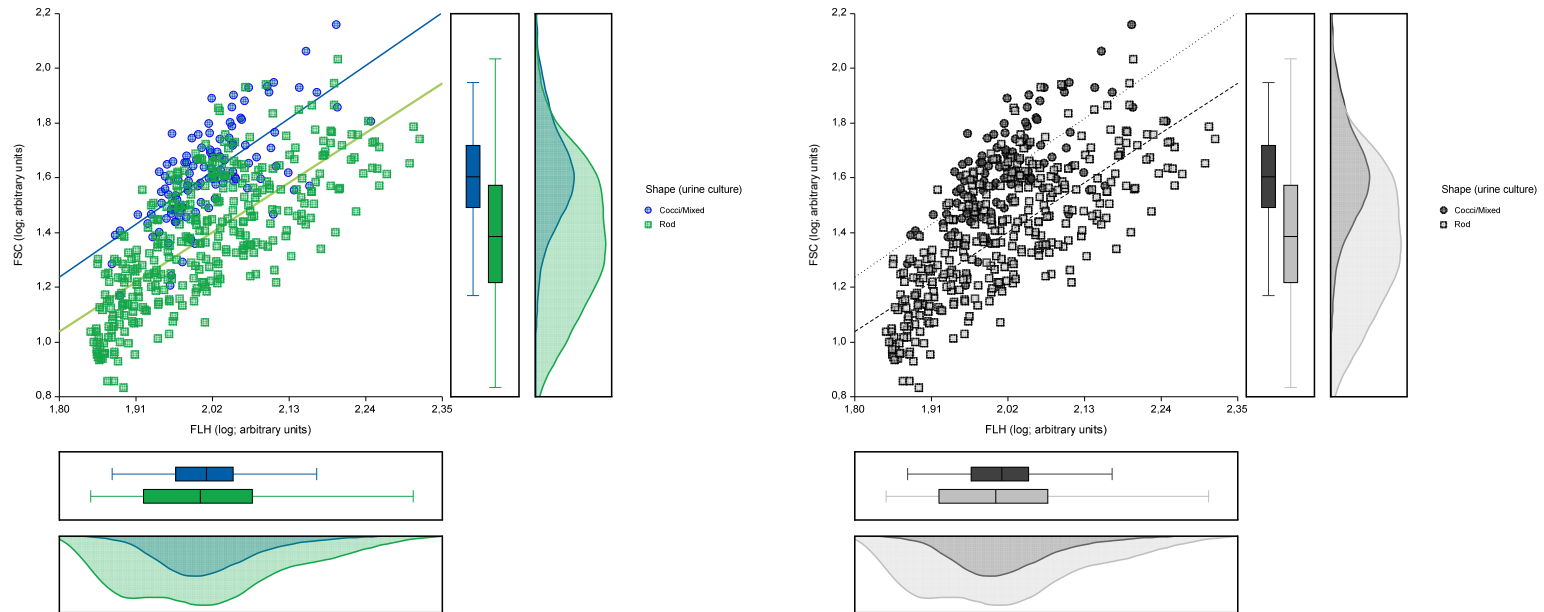


Figura 6: Scatterplot de los valores (log) de B-FSC y B-FLH en función de la morfología del patógeno aislado en cultivo bacteriano. Círculos azules: datos de FSC y FLH de las muestras con morfología de cocos/mezcla. Línea azul: recta de tendencia de los datos en cocos/mezcla. Cuadrados verdes: valores de FSC y FLH de muestras con morfología de bacilos. Línea verde: recta de tendencia de los datos en bacilos. Círculos: datos de FSC y FLH de las muestras con morfología de cocos/mezcla. Línea punteada: recta de tendencia de los datos en cocos/mezcla. Cuadrados: valores de FSC y FLH de muestras con morfología de bacilos. Línea discontinua: recta de tendencia de los datos en bacilos.

4.2. Prueba de detección de cefotaximasas basada en el cambio de pH

Se sometieron al test de pH un total de 499 aislados de enterobacterias obtenidas de cultivos de orina positivos. De todos los aislados (Tabla 16), 362 fueron de *E. coli*, en 27 de ellos el método automático los clasificaba como productores de BLEE, y otros 3 aislamientos de *E. coli* se identificaron como productores de betalactamasa AmpC. Otros 68 aislados fueron de *K. pneumoniae*, de los cuales eran productores de BLEE. Hubo 11 aislados de *K. oxytoca*, solo uno de ellos productor de BLEE. Y el resto de aislados, ninguno más productor de este tipo de betalactamasa, fueron: 3 de *C. freundii*, 6 de *C. koseri*, 6 de *Enterobacter aerogenes*, una de *Enterobacter asburiae*, 3 de *Enterobacter cloacae*, 6 de *Morganella morganii*, 27 de *P. mirabilis*, una de *P. vulgaris* y finalmente, 5 de *Serratia marcescens*.

Tabla 16: Distribución por especies de las enterobacterias recuperadas de urocultivos y sometidos a la prueba *in house*.

Especie bacteriana	Número de aislamientos
<i>E. coli</i>	362
<i>K. pneumoniae</i>	63
<i>P. mirabilis</i>	27
<i>K. oxytoca</i>	11
<i>C. koseri</i>	6
<i>E. aerogenes</i>	6
<i>M. morganii</i>	6
<i>S. marcescens</i>	5
<i>C. freundii</i>	3
<i>E. cloacae</i>	3
<i>E. asburiae</i>	1
<i>P. vulgaris</i>	1
Total	499

Los resultados de los dos observadores fueron coincidentes en la prueba *in house*, en ningún tubo con solución control se produjo viraje a color amarillo o naranja.

Nuevas aportaciones microbiológicas al diagnóstico y tratamiento de las infecciones del tracto urinario.

Un total de 55 aislados (Tabla 17) viraron el medio a amarillo: 16 de *K. pneumoniae*, 15 de ellos fenotipo BLEE; 32 de *E. coli*, 27 de ellos fenotipo BLEE; una *K. oxytoca*, productora de BLEE, y un aislado de *C. freundii*, un aislado de *P. vulgaris* y otro de *P. mirabilis*, y 3 aislados de *E. aerogenes*, ninguno de estos últimos productor de BLEE. Por tanto, hubo 7 aislados sin fenotipo BLEE o AmpC que hicieron virar el medio a color amarillo, correspondiéndose con *E. coli* (4 aislamientos), *K. pneumoniae* (1 aislamiento), *P. mirabilis* (1 aislamiento) y *P. vulgaris* (1 aislamiento).

Un total de 45 aislados produjeron cierto viraje obteniéndose el resultado indeterminado de color naranja, sólo uno de ellos pertenecía a un aislado productor de BLEE, se trató de un aislado de *K. pneumoniae*. Ninguno de los controles produjo viraje a color amarillo. Con estos datos, el test in house, mostró una SE del 98% (IC95%: 93-100) y E del 97% (IC95%: 95-99), con un VPN del 100% (IC95%:99-100) y un VPP del 78% (IC95%: 67-89).

Por otro lado, se detectaron 27 aislamientos con fenotipo productor de betalactamasa AmpC (Tabla 17), que incluyeron 3 *E. coli*, pero sólo uno obtuvo un resultado positivo en la prueba *in house*. Los restantes cepas fueron de especies con AmpC inducible cromosómico, de las que cuatro tuvieron un resultado positivo en la prueba en ausencia de fenotipo BLEE (3 de *E. aerogenes* y 1 de *C. freundii*).

Tabla 17: Distribución de los aislamientos según el resultado de la prueba *in house* y la presencia de fenotipo BLEE o AmpC.

Prueba in house	Fenotipo BLEE o AmpC		
	BLEE positivo	BLEE negativo	Total
Positiva	43	12	55
	0 AmpC	5 AmpC	5 AmpC
Negativa	1	443	444
	0 AmpC	22 AmpC	22 AmpC
Total	44	455	499
	0 AmpC	27 AmpC	27 AmpC

Nuevas aportaciones microbiológicas al diagnóstico y tratamiento de las infecciones del tracto urinario.

Si evaluamos el comportamiento de la prueba in house suprimiendo las cepas productoras de AmpC, el total de aislados ensayados fue de 472, incluyendo 44 con fenotipo BLEE (9,3%) de los cuales, 43 obtuvieron un resultado positivo en la prueba, y sólo un aislamiento de *K. pneumoniae* viró el medio a color naranja. Con estos datos se obtuvo unos valores de SE y E del 98% (IC95%:93-100) y 98% (IC95%: 97-99) respectivamente, con un VPN de 100% (IC95%: 99-100) y un VPP de 84% (IC95%: 74-94).

4.3. Resultados de la prevalencia de *Escherichia coli* BLEE y *Klebsiella* spp. BLEE

En el periodo de tiempo comprendido entre enero de 2012 y mayo de 2016, se procesaron para urocultivo un total de 95.399 muestras de orina, en las que se aislaron 9.772 *E. coli*, 1.784 *K. pneumoniae* y 248 *K. oxytoca*. Podemos observar en la tabla 18 los diferentes porcentajes de aislamientos por especie de cepas productoras de BLEE a través de los años, así como su distribución por sexo. En todos los años el aislamiento de enterobacterias productoras de BLEE fue superior en pacientes femeninos, siendo del 74,4% en 2012; 74,6% en 2013 y 77,5% en 2014, aunque en 2015 y 2016 disminuyó hasta el 65,7% en 2015 ($p < 0,001$) y el 67,2% en 2016 ($p < 0,001$), con el correspondiente incremento en los pacientes masculinos.

En los aislados de *K. pneumoniae* la presencia del fenotipo BLEE anual es del 7,86% (IC 95%: 4,89-10,83) en 2012; del 9,64% (IC 95%: 7,12-12,16) en 2013 y del 13,37% (IC 95%: 10,47-16,27) en 2014. Durante el año 2015 aumentó hasta el 24,51% (IC 95%: 19,70-29,33) ($p < 0,001$) y en el año 2016 hasta el 28,12% (IC 95%: 18,96-37,28) ($p < 0,001$).

El fenotipo BLEE entre los aislados de *K. oxytoca* se mantuvo bastante estable, con unos porcentajes del 5,95% (IC 95%: 0,79-11,12) en 2013; 3,19% (IC 95%: 0,42-6,81) en 2014 y 5,71% (IC 95%: 2,37-13,80) en 2015, sin diferencias estadísticamente significativas.

En *E. coli* BLEE, los porcentajes de aislados obtenidos durante el periodo de estudio fueron en el 2012 de 13,13% (IC 95%: 11,4-14,87), en el 2013 disminuyó hasta el 10,24% (IC 95%: 9,16-11,32) ($p = 0,042$) y en 2014, de nuevo disminuyó hasta el 8,95% (IC 95%: 7,96-9,95) ($p < 0,001$). En 2015 se produjo un aumento de los aislamientos con fenotipo BLEE hasta el 11,67% (IC 95%) ($p = 0,0297$).

Nuevas aportaciones microbiológicas al diagnóstico y tratamiento de las infecciones del tracto urinario.

Tabla 18: Número de aislamientos de los microorganismos estudiados por año y porcentaje de ellos con fenotipo BLEE.

	2012	2013	2014	2015	2016	Total
Sexo de los pacientes	Muestras de orinas recibidas					
Mujer/Hombre (%)	75,4/24,6	73,9/26,1	74,6/25,4	58,5/41,9	52,8/47,2	
	Urocultivos con aislamiento BLEE					
Mujer/Hombre (%)	74,4/25,6	74,6/25,4	77,5/22,5	65,7/34,3	67,2/32,8	
Especies aisladas						
<i>E. coli</i> BLEE / <i>E. coli</i> total	192/1.462	310/3.027	85/3.183	191/1.637	49/463	9.772
Porcentaje e IC 95%	13,13 (11,40 – 14,87)	10,24 (9,16 – 11,32)	8,95 (7,96 – 9,95)	11,67 (10,11 – 13,22)	10,58 (7,77 – 13,39)	
<i>K. pneumoniae</i> BLEE / <i>K. pneumoniae</i> total	25/318	51 / 529	71 / 531	76 / 310	27 / 96	1.784
Porcentaje e IC 95%	7,86 (4,89 – 10,83)	9,64 (7,12 – 12,16)	13,37 (10,47 – 16,27)	24,51 (19,70 – 29,33)	28,12 (18,96 – 37,28)	
<i>K. oxytoca</i> BLEE / <i>K. oxytoca</i> total	0/35	5/84	3/94	2/35	-	248
Porcentaje e IC 95%	0	5,95 (0,79 – 11,12)	3,19 (0 – 6,81)	5,71 (0 – 13,80)	-	
Total especies BLEE / Total especies	217/1.815	366/3.640	359/3.808	269/1.982	76/559	11.804
Porcentaje e IC 95%	11,96 (10,44 – 13,48)	10,05 (9,06 – 11,05)	9,43 (8,49 – 10,37)	13,57 (12,04 – 15,11)	13,60 (10,67 – 16,53)	

Nuevas aportaciones microbiológicas al diagnóstico y tratamiento de las infecciones del tracto urinario.

Podemos observar la evolución de la resistencia a diferentes fármacos ensayados para *E. coli* BLEE y *K. pneumoniae* BLEE en las Tablas 19 y 20. Para ambas enterobacterias de fenotipo BLEE destacó una mayor tasa de resistencia durante todos los años del estudio para ciprofloxacino y cotrimoxazol, mientras que las menores tasas de resistencia fueron para los carbapenemes y la ceftioxitina. Si tenemos en cuenta la sensibilidad global de los microorganismos, encontramos mayores resistencias en *K. pneumoniae* BLEE para todos los antibióticos ensayados.

Cuando comparamos la evolución de las resistencias antibióticas a lo largo del periodo, en *E. coli* BLEE destacó la mayor sensibilidad a tobramicina en 2013 (34,2%), que posteriormente disminuyó hasta el 19,9% en 2015 ($p = 0,081$). En cuanto a *K. pneumoniae* BLEE destacó una mayor resistencia a ciprofloxacino, que del 64% en 2012 llegó a ser del 89,5% en 2015 ($p = 0,074$), y también a cotrimoxazol, que pasó del 72% en 2012 al 94,7% en 2015 ($p = 0,047$). También en el año 2014, el porcentaje de aislamientos resistentes a nitrofurantoína, 60,6%, fue mayor que en el resto de los años, 33,3% en 2013 ($p = 0,005$), 36,8% en 2015 ($p = 0,06$) y 25,9% en 2016 ($p = 0,04$).

En el caso de *K. oxytoca* BLEE, no se observaron diferencias estadísticamente significativas en la evolución a lo largo del periodo.

Nuevas aportaciones microbiológicas al diagnóstico y tratamiento de las infecciones del tracto urinario.

Tabla 19: Resistencia a los diferentes antibióticos en *Escherichia coli* BLEE por años.

	2012	2013	2014	2015	2016
Ciprofloxacino	133 (69,3%)	242 (78,1%)	211 (74%)	141 (73,8%)	37 (75,5%)
Tobramicina	44 (22,9%)	106 (34,2%)	69 (24,4%)	38 (19,9%)	7 (14,3%)
Ertapenem	0 (0%)	0 (0%)	1 (0,4%)	2 (1,0%)	1 (2,0%)
Imipenem	1 (0,5%)	1 (0,3%)	1 (0,4%)	0 (0%)	0 (0%)
Fosfomicina	20 (10,4%)	41 (13,2%)	39 (13,7%)	15 (7,9%)	3 (6,1%)
Nitrofurantoína	6 (3,1%)	23 (7,4%)	10 (3,5%)	6 (3,1%)	1 (2,0%)
Cotrimoxazol	101 (52,6%)	186 (60%)	136 (47,7%)	120 (62,8%)	28 (57,1%)
Cefoxitina	6 (3,1%)	16 (5,2%)	21 (7,4%)	12 (6,3%)	2 (4,1%)
<i>E. coli</i> BLEE total	192	310	285	191	49

Tabla 20: Resistencia a los diferentes antibióticos en *K. pneumoniae* BLEE por años.

	2012	2013	2014	2015	2016
Ciprofloxacino	16 (64%)	36 (70,6%)	56 (78,9%)	68 (89,9%)	21 (77,8%)
Tobramicina	13 (52%)	32 (62,7%)	49 (69%)	57 (75%)	18 (66,7%)
Ertapenem	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	6 (7,9%)	2 (7,4%)
Imipenem	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	2 (7,4%)
Fosfomicina	12 (48%)	20 (39,2%)	35 (49,3%)	33 (43,4%)	7 (25,9%)
Nitrofurantoína	13 (52%)	17 (33,3%)	43 (60,6%)	28 (36,8%)	7 (25,9%)
Cotrimoxazol	18 (72%)	43 (84,3%)	60 (84,5%)	72 (94,7%)	26 (96,3%)
Cefoxitina	0 (0%)	4 (7,8%)	8 (11,3%)	6 (7,9%)	4 (14,8%)
<i>K. pneumoniae</i> BLEE total	25	51	71	76	27

4.4. Resultados de la prevalencia de microorganismos con AmpC.

Durante el periodo de años comprendido entre 2006 y 2016 se estudiaron 728 aislamientos de microorganismos productores de AmpC cromosómico inducible: 74 de *C. freundii* (10,16%), 144 de *E. aerogenes* (19,78%), 225 de *E. cloacae* (30,91%), 174 de *M. morganii* (23,90%), 46 de *P. stuartii* (6,38%) y finalmente, 65 de *S. marcescens* (8,93%). La edad media de los pacientes con ITU por estos microorganismos fue de 57,73 años (Con un rango de 0 a 95 años), siendo 316 de ellos mujeres (43,41%) y 412, hombres (56,59%). Los servicios con mayor número de aislamientos fueron: Urgencias con 218 aislamientos (29,94%), urología con 103 aislamientos (14,14%), Nefrología con 93 aislamientos (12,77%), Pediatría con 65 aislamientos (8,92%), Digestivo con 52 aislamientos (7,14%) y Medicina Interna con 42 aislamientos (5,77%). Sólo 155 aislamientos (21,29%) pertenecían al resto de servicios del complejo hospitalario.

Ya que durante el periodo de estudio se obtuvo un bajo número de aislamientos en urocultivos de *M. morganii* y *P. stuartii* se decidió no referirse directa y expresamente a los datos obtenidos a partir de estos dos microorganismos y la población afectada por ellos.

Durante el periodo de estudio, *E. aerogenes* ha sido el microorganismo AmpC más sensible al ac. nalidíxico con una media de sensibilidad del 86% (60% en 2006; 100% en 2007, 2011 y 2016; 75% en 2008; 69% en 2009; 88% en 2010, 2012 y 2013, 86% en 2014; y 94% en 2015). El otro microorganismo que tiene una media de sensibilidad más alta a este antibiótico es *S. marcescens*, con el 82% de media. Algo más lejos quedan *E. cloacae* con una media de 79% y *C. freundii* con el 73% de media.

Nuevas aportaciones microbiológicas al diagnóstico y tratamiento de las infecciones del tracto urinario.

Cefepime (Figura 7) fue el antibiótico con mejor perfil de sensibilidad para todos los microorganismos, no bajando la sensibilidad para ninguno de los microorganismos estudiados y en ningún año por debajo del 60%. En cuanto a la media de sensibilidad, se observó que para *E. cloacae*, *E. aerogenes*, *C. freundii* y *S. marcescens* fue de 80%, 95%, 96% y 90%, respectivamente, siendo por tanto el mejor antibiótico para el tratamiento empírico en este grupo de microorganismos.

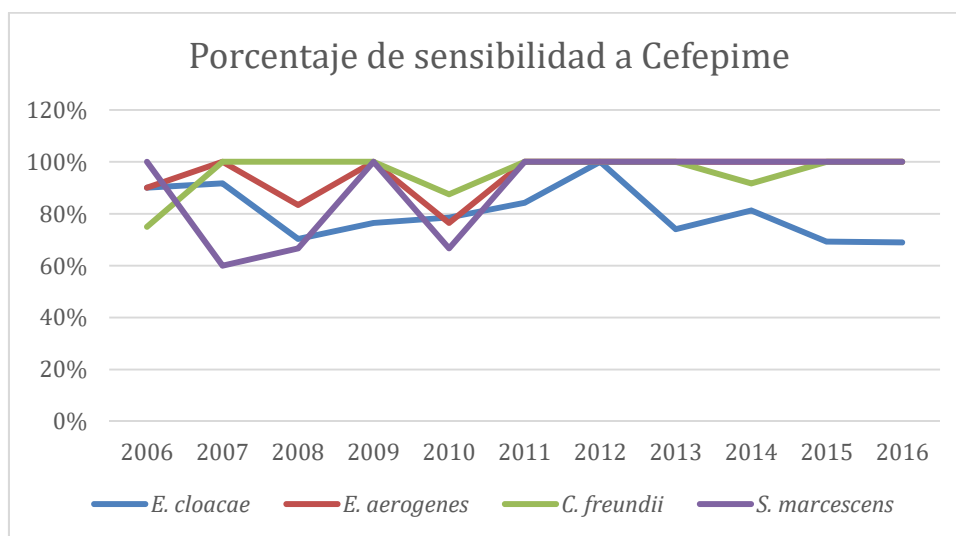


Figura 7: Evolución de la sensibilidad a cefepime a través del periodo.

Nuevas aportaciones microbiológicas al diagnóstico y tratamiento de las infecciones del tracto urinario.

Respecto a la cefotaxima (Figura 8) se obtuvieron porcentajes muy dispares a lo largo de los años, donde la media de sensibilidad apenas superó el 70% para cualquier productor de AmpC inducible en cualquier año. Resultados muy similares se observan para la ceftazidima (Figura 9).

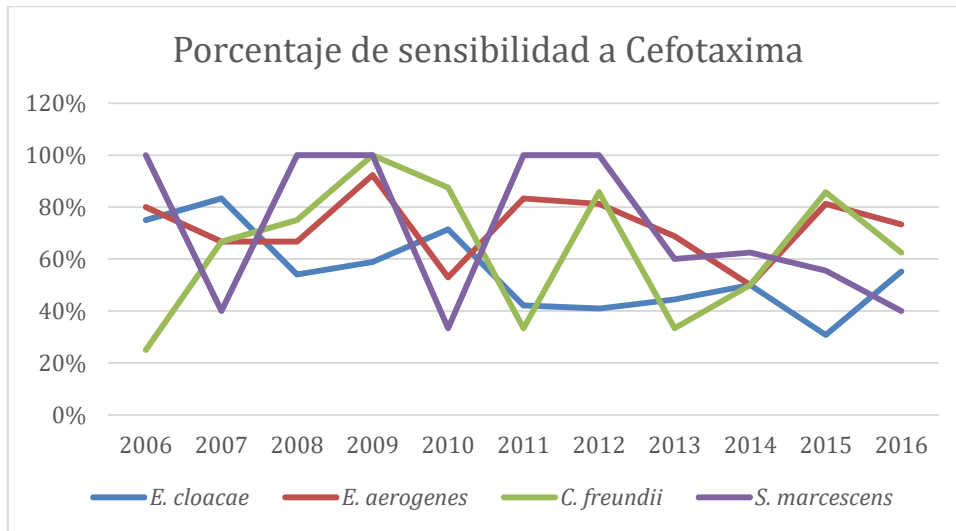


Figura 8: Evolución de la sensibilidad a cefotaxima a través del periodo.

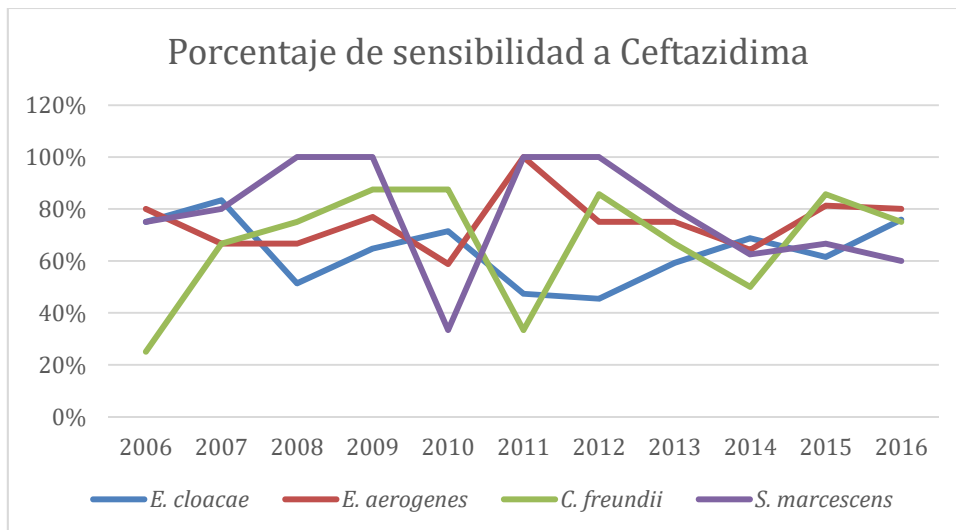


Figura 9: Evolución de la sensibilidad a ceftazidima a través del periodo.

Nuevas aportaciones microbiológicas al diagnóstico y tratamiento de las infecciones del tracto urinario.

Para el ciprofloxacino (Figura 10), los porcentajes de sensibilidad fueron muy altos para los 4 principales microorganismos estudiados durante todo el periodo, con algunas excepciones en los años 2010, 2011 y 2012 para *E. cloacae* y *C. freundii* principalmente. De media durante el periodo obtuvimos unos porcentajes de sensibilidad del 81%, 92%, 82% y 84% para *E. cloacae*, *E. aerogenes*, *C. freundii* y *S. marcescens* respectivamente. La evolución de la sensibilidad al ácido nalidíxico la podemos observar en la Figura 11.

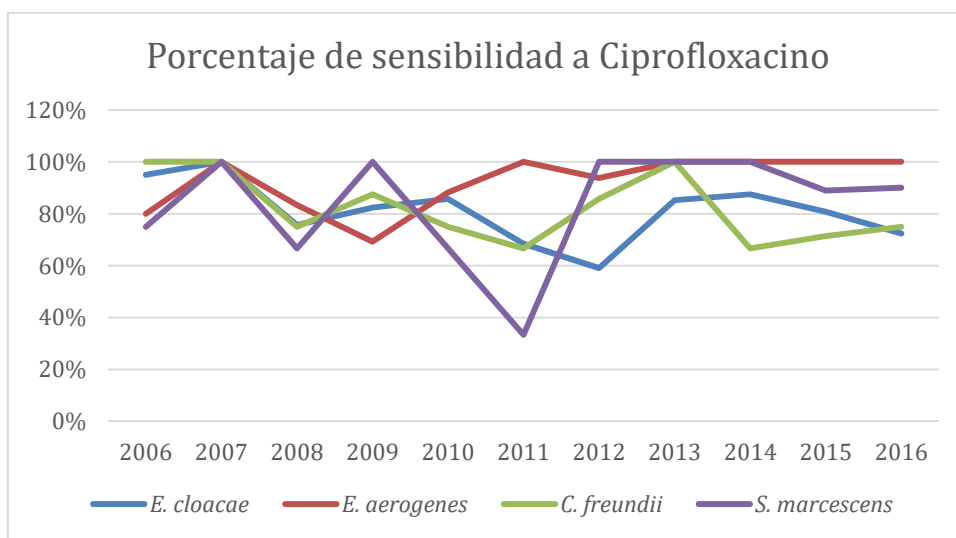


Figura 10: Evolución de la sensibilidad a ciprofloxacino a través del periodo.

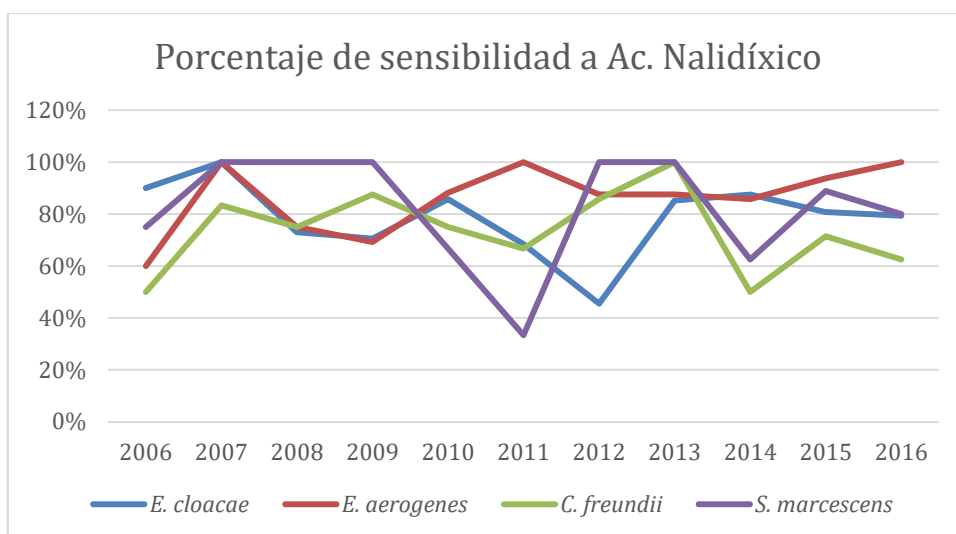


Figura 11: Evolución de la sensibilidad a ácido nalidíxico a través del periodo.

Nuevas aportaciones microbiológicas al diagnóstico y tratamiento de las infecciones del tracto urinario.

Con los carbapenemes (Figuras 12 y 13) se observaron altos porcentajes de sensibilidad de forma general, con la excepción del ertapenem para *C. freundii* que parece tener tendencia a disminuir la sensibilidad frente a este antibiótico a lo largo de los años. Comparativamente los porcentajes de sensibilidad para el imipenem fueron superiores que para el ertapenem.: 90% en ertapenem y 94% en imipenem para *E. cloacae*, 83% y 88% para *E. aerogenes*, 74% y 94% para *C. freundii*, y 86% y 89% para *S. marcescens*.

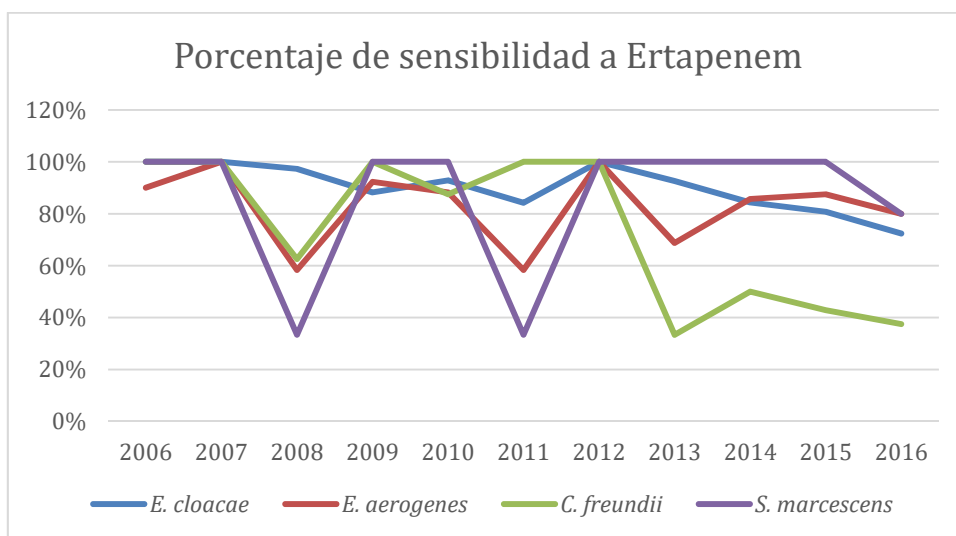


Figura 12: Evolución de la sensibilidad a ertapenem a través del periodo.

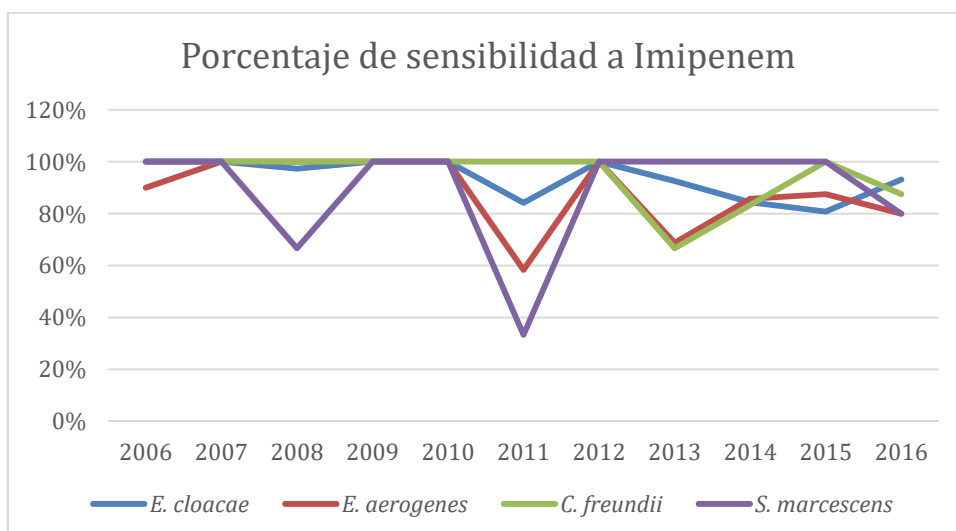


Figura 13: Evolución de la sensibilidad a imipenem a través del periodo.

Nuevas aportaciones microbiológicas al diagnóstico y tratamiento de las infecciones del tracto urinario.

Para *E. cloacae* se observa la tendencia a la disminución de la sensibilidad para fosfomicina (Figura 14) durante el periodo de estudio. Para los otros 3 principales productores de AmpC cromosómico inducible no se observa esta tendencia tan marcada.

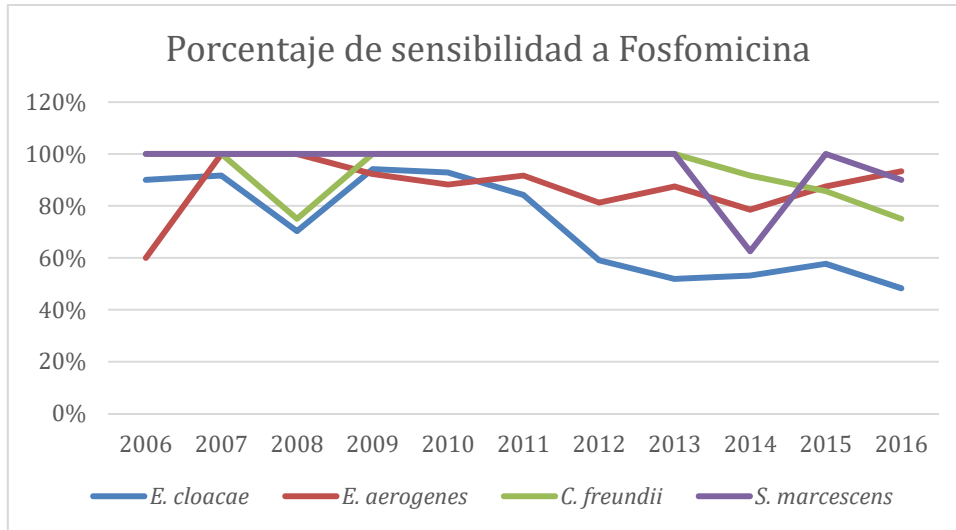


Figura 14: Evolución de la sensibilidad a fosfomicina a través del periodo.

Nuevas aportaciones microbiológicas al diagnóstico y tratamiento de las infecciones del tracto urinario.

S. marcescens es intrínsecamente resistente a la nitrofurantoína. *E. cloacae* y *E. aerogenes* tendieron progresivamente a la disminución de la sensibilidad, llegando a ser al final del periodo sólo del 28% y 13% respectivamente. Sin embargo para *C. freundii* se observa todos los años una sensibilidad superior al 85%, con la excepción en el año 2014 de sólo el 58% (Figura 15).

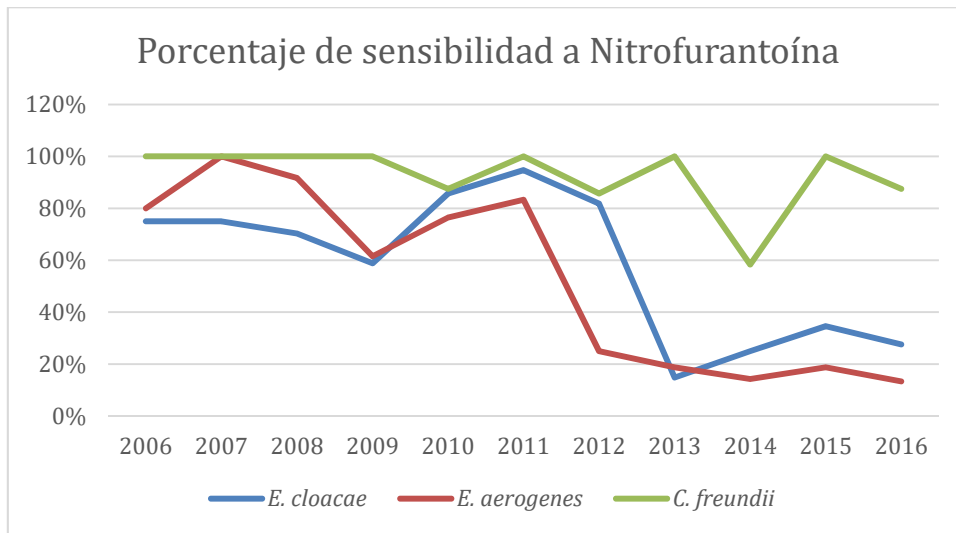


Figura 15: Evolución de la sensibilidad a nitrofurantoína a través del periodo.

Nuevas aportaciones microbiológicas al diagnóstico y tratamiento de las infecciones del tracto urinario.

Respecto a los aminoglucósidos (Figuras 16 y 17) incluidos en el estudio, tobramicina y gentamicina, se observa que forma general, tanto para los 4 microorganismos y como para todos los años del periodo obtenemos porcentajes de sensibilidad bastante elevados, en todo caso superior para la gentamicina. Para la tobramicina la media de sensibilidad a lo largo del periodo es sólo del 78% para *S. marcescens*.

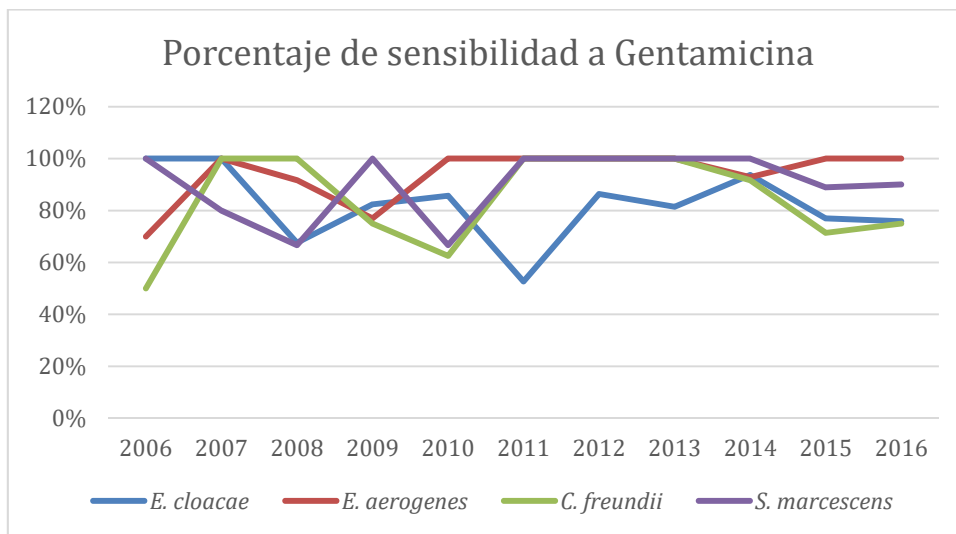


Figura 16: Evolución de la sensibilidad a gentamicina a través del periodo.

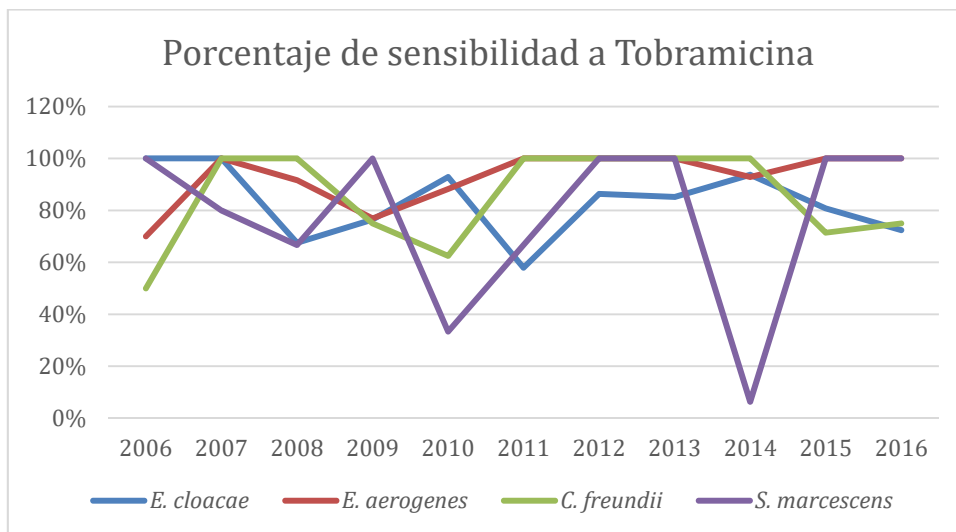


Figura 17: Evolución de la sensibilidad a tobramicina a través del periodo.

Nuevas aportaciones microbiológicas al diagnóstico y tratamiento de las infecciones del tracto urinario.

Los porcentajes de sensibilidad observados para las combinaciones de antibiótico e inhibidor (Figuras 18 y 19), trimetoprim / sulfametoxazol y piperacilina / tazobactam, fueron similares a los observados para los aminoglucósidos. Para ambas combinaciones, *E. cloacae* es el microorganismo

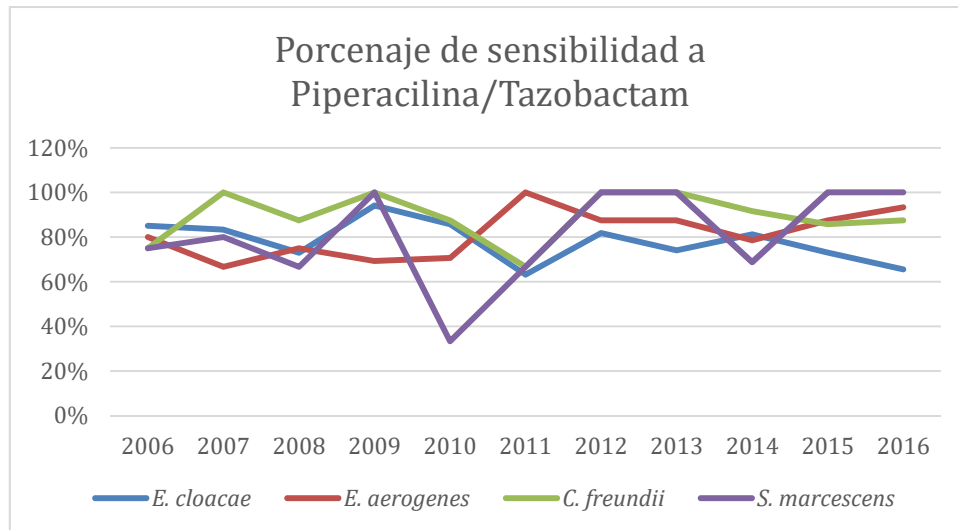


Figura 18: Evolución de la sensibilidad a piperacilina/tazobactam a través del periodo.

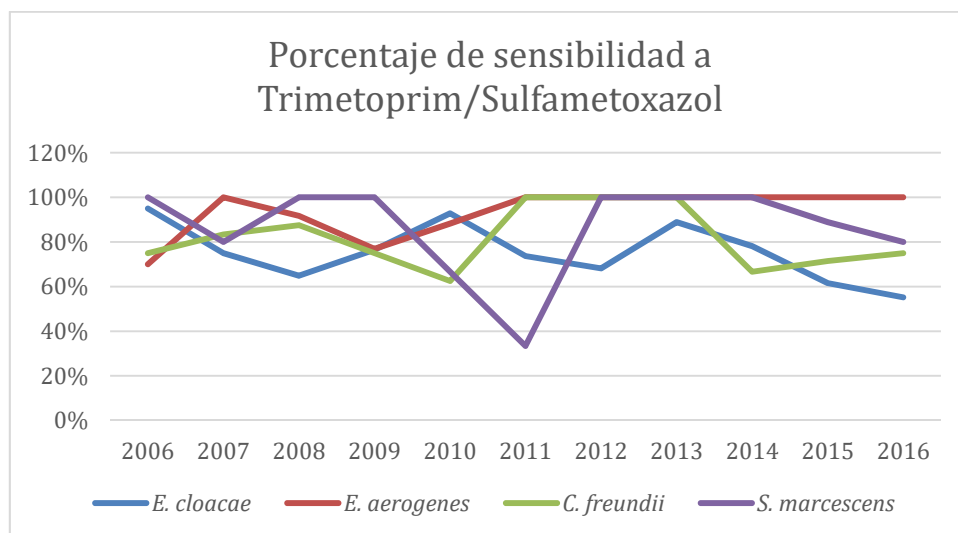


Figura 19: Evolución de la sensibilidad a trimetoprim-sulfametoxazol a través del periodo.

4.5. Candidurias.

Durante un periodo de 5 años, desde enero de 2011 hasta diciembre de 2015, se detectaron en urocultivo 289 episodios de candiduria: 240 (83,0%) pertenecían a pacientes que portaban algún tipo de sondaje urinario, y en la historia clínica no constaba el uso de algún tipo de dispositivo urinario sólo en 49 (17,0%). De todos los aislamientos obtenidos de *Candida* spp. 152 (52,6%) procedían del cultivo de muestras de orina pertenecientes a hombres, mientras que 137 (47,4%) pertenecían a mujeres. La edad media de los pacientes fue de 75,8 años en 2011; 64,8 en 2012; 73,3 en 2013; 65,6 en 2014 y, 71,9 en 2015.

Un total de 155 aislados (53,6%) se identificaron pertenecientes a la especie *C. albicans*, el resto, 134 (46,4%), eran levaduras no *C. albicans* (LNCA), con la siguiente distribución: 57 (19,7%) *C. glabrata*, 37 (12,8%) *C. tropicalis*, 25 (8,6%) *C. parapsilosis*, 10 (3,5%) *C. lusitaniae*, 2 (0,7%) *C. krusei*. Otros 3 aislamientos (1,0%) pertenecían a otras especies de LNCA. La distribución de los aislamientos de las diferentes especies de *Candida* spp. aparece en la Figuras 20 y 21, y en su distribución por años se observó: 21 en el año 2011; 15 en el 2012; 22 en el 2013; 73 en el 2014 y 158 en el 2015.

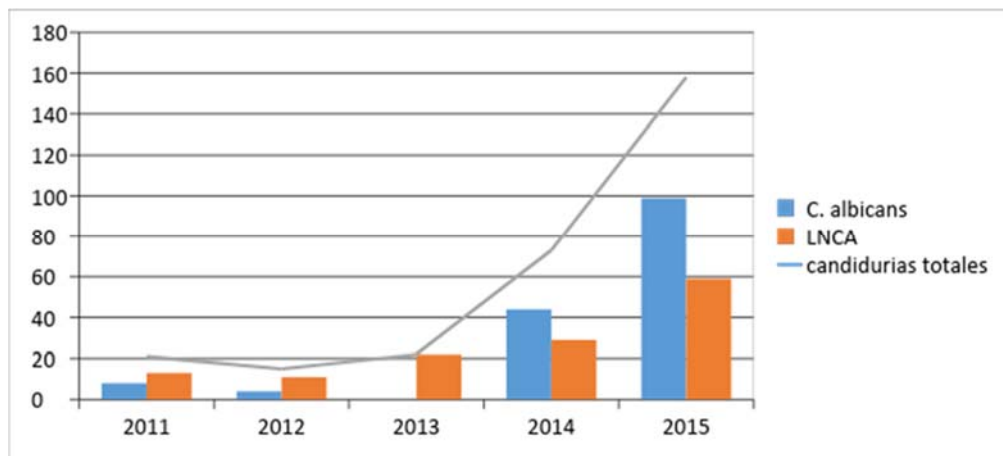


Figura 20: Distribución de los aislamientos *Candida* spp. en los diferentes años del periodo de estudio. LNCA: Levaduras No *C. albicans*.

Nuevas aportaciones microbiológicas al diagnóstico y tratamiento de las infecciones del tracto urinario.

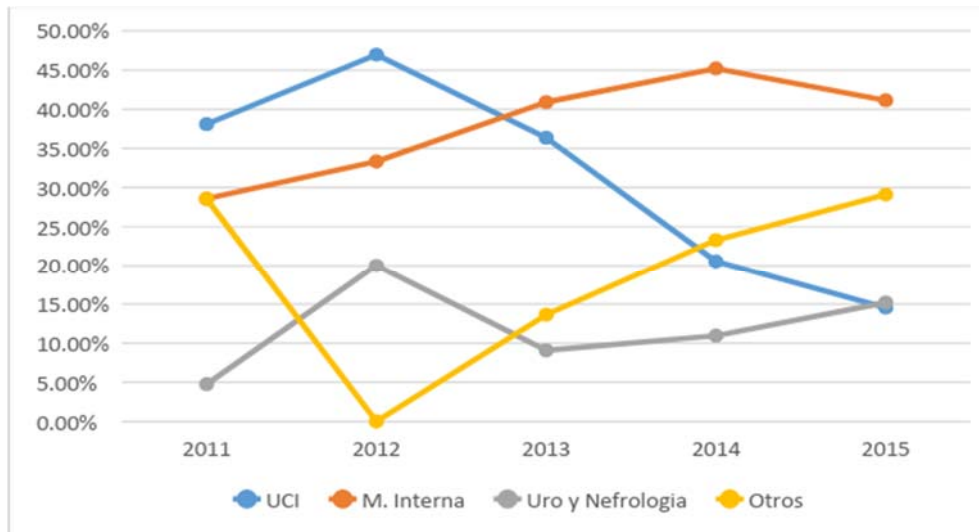


Figura 21: Distribución, en porcentajes, de las candidurias diagnosticadas en los diferentes servicios hospitalarios a lo largo del periodo de estudio.

También se estudió la distribución por las diferentes unidades del hospital, en donde se observó que 62 aislados provenían de pacientes ingresados en la UCI (21,4%), 118 aislados (40,8%) de ingresados en Medicina Interna (MI), y 38 aislados (13,1%) procedían de los servicios de Nefrología y Urología.

La evolución de las candidurias diagnosticadas en estos servicios a lo largo del periodo de estudio se observa en la Figura 21, con un incremento en el servicio de MI y un descenso en la UCI (Tabla 21).

Tabla 21. Número de episodios totales de candiduria en la Unidad de Cuidados Intensivos y Medicina Interna a lo largo de los años.

<i>Año</i>	<i>UCI</i>	<i>Medicina Interna</i>
2011	8	6
2012	7	5
2013	8	9
2014	16	33
2015	23	65

Nuevas aportaciones microbiológicas al diagnóstico y tratamiento de las infecciones del tracto urinario.

En la Tabla 22 podemos observar la sensibilidad total del periodo de estudio a fluconazol, anfotericina B y voriconazol de 116 (40,1% del total) aislados de las 4 principales especies.

Tabla 22: Sensibilidad total del periodo de estudio a fluconazol, anfotericina B y voriconazol.

<i>Especies</i>	<i>Aislados*</i>	<i>Porcentaje*</i>	<i>Porcentaje de sensibilidad**</i>		
			Fluconazol	Anfotericina B	Voriconazol
<i>C. albicans</i>	16	10,3	100%	100%	100%
<i>C. glabrata</i>	46	80,7	85,9%	98,4%	---
<i>C. parapsilosis</i>	21	84,0	86,9%	95,6%	100%
<i>C. tropicalis</i>	33	89,2	92,1%	94,7%	89,5%

* Número y porcentaje de aislados estudiados, sobre el total de los obtenidos durante el periodo de estudio para esta especie.

** Por obtener valores de CMI en mg/l de anfotericina B < 1; de fluconazol < 2 para *C. albicans*, *C. parapsilosis* y *C. tropicalis*, < 0,002 para *C. glabrata*; y de voriconazol < 0,125, sin interpretación para *C. glabrata*.

4.6. *Acinetobacter baumannii* y *Pseudomonas aeruginosa*.

Durante el estudio se obtuvieron 90 aislados de *A. baumannii*, de los cuales 82 (91,1%) procedían de urocultivos de pacientes hospitalizados. En cuanto a *P. aeruginosa*, de los 659 aislados, 555 (84,2%) procedían de pacientes hospitalizados. El porcentaje de muestras obtenidas por sondaje urinario, ya fuese provisional o permanente fue de 60%, 59%, 65% y 64%, respectivamente para los años 2013, 2014, 2015 y 2016. En la Tabla 23 se exponen los datos que obtuvimos para la sensibilidad de *A. baumannii*. Valorándolos de forma global, los antibióticos en los que se observó mayor resistencia activos fueron el aztreonam, la fosfomicina, el ciprofloxacino, la ceftazidima y el cefepime. La colistina permaneció se mantuvo como el antibiótico más activo *in vitro*.

La sensibilidad a imipenem (IP) ($p=0,001$), meropenem (MP) ($p=0,021$) y piperacilina/tazobactam (PTZ) ($p<0,001$) descendió desde 2013 a 2016 de forma significativa. La odds ratio para la sensibilidad a imipenem disminuyó de forma marcada a todo lo largo del periodo de estudio, alcanzando una odds ratio de 0,078 (0,018 – 0,346) en 2016, lo cual es un descenso de hasta 12 veces con respecto al año 2013. Para la Piperacilina/Tazobactam también disminuyó con respecto el año 2013 con una odds ratio de 0,004 (0 – 0,052) (Tabla 24).

Nuevas aportaciones microbiológicas al diagnóstico y tratamiento de las infecciones del tracto urinario.

Tabla 23: Sensibilidad de *A. baumannii* a los antibióticos ensayados.

Años	Interpretación	Resultados (%) (Aislamientos Sensibles, Intermedios o Resistentes/ Aislamientos totales)										
		CAZ	FEP	AZT	PTZ	IP	MP	CIP	AK	COL	FOS*	FOS**
2013	Sensible	15 (3/20)	10 (2/20)	0 (0/20)	95,2 (20/21)	69,2 (18/26)	29,6 (8/27)	10 (2/20)	55 (11/20)	75 (17/20)	0 (0/21)	100 (21/21)
	Intermedio	0 (0/20)	0 (0/20)	0 (0/20)	0 (0/21)	0 (0/26)	0 (0/27)	0 (0/20)	0 (0/20)	0 (0/75)		
	Resistente	85 (17/20)	90 (18/20)	100 (20/20)	4,8 (1/21)	30,8 (8/26)	70,4 (19/27)	90 (18/20)	45 (9/20)	25 (3/75)		
2014	Sensible	3,8 (1/26)	7,7 (2/26)	0 (0/22)	96 (24/25)	57,1 (8/14)	26,7 (4/15)	3,8 (1/26)	9,1 (2/22)	100 (26/26)	4,7 (1/21)	95,3 (20/21)
	Intermedio	0 (0/26)	0 (0/26)	0 (0/22)	0 (0/25)	0 (0/14)	0 (0/15)	0 (0/26)	0 (0/22)	0 (0/26)		
	Resistente	96,2 (25/26)	92,3 (24/26)	100 (22/22)	4 (1/25)	42,9 (6/14)	73,3 (11/15)	96,2 (25/26)	90,9 (20/22)	0 (0/26)		
2015	Sensible	0 (0/14)	0 (0/14)	0 (0/13)	87 (13/15)	26,7 (4/15)	0 (0/13)	0 (0/14)	7,7 (1/13)	100 (13/13)	7,1 (1/14)	92,9 (13/14)
	Intermedio	0 (0/14)	0 (0/14)	0 (0/13)	0 (0/15)	6,7 (1/15)	7,7 (1/13)	0 (0/14)	0 (0/13)	0 (0/13)		
	Resistente	100 (14/14)	100 (14/14)	100 (13/13)	13 (2/15)	66,7 (10/15)	92,3 (12/13)	100 (14/14)	92,3 (12/13)	0 (0/13)		
2016	Sensible	10 (3/30)	10 (3/30)	0 (0/26)	8 (2/25)	15 (3/20)	6,7 (2/30)	6,7 (2/30)	15,4 (4/26)	96,1 (25/26)	0 (0/30)	100 (30/30)
	Intermedio	3,3 (1/30)	10 (3/30)	7,9 (2/26)	0 (0/25)	5 (1/20)	23,3 (7/30)	0 (0/30)	0 (0/26)	0 (0/26)		
	Resistente	86,7 (26/30)	80 (24/30)	92,1 (24/26)	92 (23/25)	80 (16/20)	70 (21/30)	93,3 (28/30)	84,6 (22/26)	3,9 (1/26)		
TOTAL	Sensible	7,8 (7/90)	7,8 (7/90)	0 (0/81)	68,6 (59/86)	44 (33/75)	16,5 (14/85)	5,5 (5/90)	22,2 (18/81)	95,3 (81/85)	2,3 (2/86)	97,7 (84/86)
	Intermedio	1,1 (1/90)	3,3 (3/90)	2,5 (2/81)	0 (0/86)	2,7 (2/75)	9,4 (8/85)	0 (0/90)	0 (0/81)	0 (0/85)		
	Resistente	91,1 (82/90)	88,9 (80/90)	97,5 (79/81)	31,4 (27/86)	53,3 (40/75)	74,1 (63/85)	94,4 (85/90)	77,8 (63/81)	4,7 (4/85)		

CAZ: Ceftazidima (S CMI: <8; I CMI: 16; R CMI: >32) ; FEP: Cefepime (S CMI: <8; I CMI: 16; R CMI: >32); AZT: Aztreonam (S CMI: <8; I CMI: 16; R CMI: >32); PTZ: Piperacilina-Tazobactam (S CMI: <16/4; I CMI: 32/4-64/4; R CMI: >128/4); IP: Imipenem (S CMI: <2; I CMI: 4; R CMI: >8); MP: Meropenem (S CMI: <2; I CMI: 4; R CMI: >8); Cip: Ciprofloxacino(S CMI: <1; I CMI: 2; R CMI: >4); AK: Amicacina (S CMI: <16; I CMI: 32; R CMI: >64); COL: Colistina (S CMI: <2; R MIC: >4); FOS*: Fosfomicina CMI <16 mg/L; FOS**: Fosfomicina CMI >64 mg/L

Nuevas aportaciones microbiológicas al diagnóstico y tratamiento de las infecciones del tracto urinario.

Tabla 24. Odds ratio e intervalo de confianza al 95% para la sensibilidad de *A. baumannii* a diferentes antibióticos.

Años	IP		MP		PTZ	
	OR 95% CI	p	OR 95% CI	p	OR 95% CI	P
2013	1	,002	1	,204	1	.000
2014	0,593 [0,154-2,279]	,446	0,864 [0,211-3,542]	,839	1.2 [0.070-20.429]	.900
2015	0,162 [0,039-0,666]	,012	0	,999	0.325 [0.027-3.959]	.378
2016	0,078 [0,018-0,346]	,001	0,170 [0,032-0,888]	,036	0.004 [0.000-0.052]	.000

PTZ: Piperacilina-Tazobactam; IP: Imipenem; MP: Meropenem.

En la Tabla 25 se indican los datos de sensibilidad antibiótica de *P. aeruginosa*. Globalmente, los antibióticos con menor actividad fueron el aztreonam, la fosfomicina, el ciprofloxacino y la ampicilina, siendo nuevamente la colistina el antibiótico más activo. Aunque, el número de aislamientos sensibles a ampicilina aumentó durante los años de estudio ($p < 0,001$). La CMI para fosfomicina descendió también durante los años de estudio, llegando a ser menor de 16 mg/l en casi la mitad de los aislamientos durante el año 2016 ($p < 0,001$). Entre los años 2013 y 2016 la sensibilidad de *P. aeruginosa* a los carbapenemes no cambió de forma significativa, $p = 0,294$ para imipenem y $p = 0,663$ para meropenem.

La sensibilidad a PTZ disminuyó significativamente ($p < 0,001$) (Tabla 26). La odds ratio para la sensibilidad a piperacilina/tazobactam fue de 0,319 (0,173 – 0,588) en el 2016, in descenso de hasta 3 veces con respecto a la situación en el año 2013, sin embargo durante este periodo no se detectaron descenso estadísticamente significativos para los carbapenemes estudiados.

Nuevas aportaciones microbiológicas al diagnóstico y tratamiento de las infecciones del tracto urinario.

Tabla 25: Sensibilidad de *P. aeruginosa* a los antibióticos ensayados.

Años	Interpretación	Resultados (%) (Aislamientos Sensibles, Intermedios o Resistentes/ Aislamientos totales)										
		CAZ	FEP	AZT	PTZ	IP	MP	CIP	AK	COL	FOS*	FOS**
2013	Sensible	89,2 (166/186)	83,9 (156/186)	2 (3/146)	90,3 (168/186)	82,3 (154/187)	81,1 (120/148)	63 (116/184)	62,1 (90/145)	78,2 (115/147)	13,4 (25/186)	86,6 (161/186)
	Intermedio	1,7 (3/186)	3,2 (6/186)	4,2 (6/146)	2,7 (5/186)	1,7 (3/187)	1,3 (2/148)	4,9 (9/184)	2 (3/145)	0 (0/147)		
	Resistente	9,1 (17/186)	12,9 (24/186)	93,8 (137/146)	7 (13/186)	16 (30/187)	17,6 (26/148)	32,1 (59/184)	35,9 (52/145)	21,8 (32/147)		
2014	Sensible	88,5 (193/218)	76,6 (167/218)	0,5 (1/207)	88,5 (193/218)	85,1 (177/208)	84,5 (169/200)	56,9 (124/218)	49,2 (98/199)	93,5 (188/201)	25,2 (55/218)	74,8 (163/218)
	Intermedio	2,3 (5/218)	6,9 (15/218)	4,8 (10/207)	1,4 (3/218)	4,8 (10/208)	6,5 (13/200)	5,5 (12/218)	2,6 (5/199)	0 (0/201)		
	Resistente	9,2 (20/218)	16,5 (36/218)	94,7 (196/207)	10,1 (22/218)	10,1 (21/208)	9 (18/200)	37,6 (82/218)	48,2 (96/199)	1,5 (3/201)		
2015	Sensible	90,7 (98/108)	75 (81/108)	1 (1/101)	88,9 (96/108)	78,7 (85/108)	75,9 (79/104)	57,4 (62/108)	61,9 (65/105)	99 (100/101)	42 (45/107)	57,9 (62/107)
	Intermedio	9,3 (10/108)	25 (27/108)	30,9 (31/101)	0 (0/108)	18,5 (20/108)	10,6 (11/104)	0,9 (1/108)	11,4 (12/105)	1 (1/101)		
	Resistente	0 (0/108)	0 (0/108)	68,1 (69/101)	11,1 (12/108)	2,8 (3/108)	13,5 (14/104)	41,7 (45/108)	26,7 (28/105)	0 (0/101)		
2016	Sensible	79,1 (110/139)	89,9 (98/109)	1,7 (2/119)	74,8 (110/147)	89,1 (115/129)	81,8 (99/121)	58,1 (75/129)	76 (92/121)	99,1 (114/115)	48,4 (62/128)	51,6 (66/128)
	Intermedio	10,8 (15/139)	9,2 (10/109)	33,6 (40/119)	0,7 (1/147)	10,1 (13/129)	10,7 (13/121)	0,8 (1/129)	14,9 (18/121)	0,9 (1/115)		
	Resistente	10,1 (14/139)	0,9 (1/109)	64,7 (77/119)	24,5 (36/147)	0,8 (1/129)	7,7 (9/121)	41,1 (53/129)	9,1 (11/121)	0 (0/115)		
TOTAL	Sensible	87,1 (567/651)	80,7 (501/621)	1,2 (7/573)	86,0 (567/659)	84,0 (531/632)	81,5 (467/573)	59,0 (377/639)	60,5 (345/570)	91,7 (517/564)	29,3 (187/639)	70,7 (452/639)
	Intermedio	5,1 (33/651)	9,3 (58/621)	15,2 (87/573)	1,6 (9/659)	7,3 (46/632)	6,8 (39/573)	3,6 (23/639)	6,7 (38/570)	0,3 (2/564)		
	Resistente	7,8 (51/651)	10 (62/621)	83,6 (479/573)	12,6 (83/659)	8,7 (55/632)	11,7 (67/573)	37,4 (239/639)	32,8 (187/570)	8,0 (45/564)		

CAZ: Ceftazidima (S CMI: <8; I CMI: 16; R CMI: >32) ; FEP: Cefepime (S CMI: <8; I CMI: 16; R CMI: >32); AZT: Aztreonam (S CMI: <8; I CMI: 16; R CMI: >32); PTZ: Piperacilina-Tazobactam (S CMI: <16/4; I CMI: 32/4-64/4; R CMI: >128/4); IP: Imipenem (S CMI: <2; I CMI: 4; R CMI: >8); MP: Meropenem (S CMI: <2; I CMI: 4; R CMI: >8); CIP: Ciprofloxacino(S CMI: <1; I CMI: 2; R CMI: >4); AK: Amicacina (S CMI: <16; I CMI: 32; R CMI: >64); COL: Colistina (S CMI: <2; R MIC: >4); FOS*: Fosfomicina CMI <16 mg/L; FOS**: Fosfomicina CMI >64 mg/L.

Nuevas aportaciones microbiológicas al diagnóstico y tratamiento de las infecciones del tracto urinario.

Tabla 26. Odds ratio e intervalo de confianza al 95% para la sensibilidad de *P. aeruginosa* a diferentes antibióticos.

Años	PTZ		MP		IP	
	OR IC 95%	p	OR IC 95%	p	OR IC 95%	p
2013	1	,000	1	0,348	1	,154
2014	0.827 [0.436-1.569]	,561	1,272 [0,725-2,231]	0,401	1,224 [0,716-2.091]	,460
2015	0.857 [0.396-1.855]	,696	0,737 [0,401-1,356]	0,327	0,792 [0,437-1,435]	,442
2016	0.319 [0.173-0.588]	,000	1,050 [0,566-1,949]	0.877	1,760 [0,901-3,440]	,098

PTZ: Piperacilina-Tazobactam; **IP:** Imipenem; **MP:** Meropenem; **AK:** Amicacina.

En la Tabla 27 se muestran los datos de consumo de los antibióticos IP, MP y PTZ en los diferentes años del periodo. De forma general, el consumo de PTZ aumentó paralelamente al descenso de su sensibilidad tanto en *A. baumannii* como en *P. aeruginosa*. En cuanto a los carbapenemes, el consumo disminuyó tanto para IP como para MP, pero de forma parcial para el primero y drásticamente para el segundo.

El análisis de la relación entre la sensibilidad de *A. baumannii* a IP, MP y PTZ y el consumo intrahospitalario (DDD/1000 estancias) de cada antibiótico se pudo estudiar forma global, con un valor de correlación de -0,387, demostrando que existió una relación inversa, estadísticamente no significativa ($p=0,304$). En el caso de *P. aeruginosa* la correlación fue también negativa, de -0,267, y estadísticamente no significativa ($p=0,488$).

Tabla 27: Datos del consumo (DDD/1000 estancias) de imipenem, meropenem y piperacilina-tazobactam.

AÑO	Imipenem	Meropenem	Piperacilina/Tazobactam
2014	17,41	80,77	35,42
2015	14,96	79,29	43,97
2016	15,08	71,31	49,09

4.7. Uropatógenos de baja prevalencia: *Aerococcus* spp, *Lactobacillus* spp. y *Streptococcus* del grupo *bovis*.

Streptococcus del grupo *bovis*

Se analizaron un total de 87.945 orinas, de las cuales 19.285 tuvieron un cultivo positivo para alguna especie potencialmente patógena, según los procedimientos descritos en el PNT [80]. Se identificó *S. bovis* en 91 urocultivos, lo que supuso el 0,1% de las orina procesadas y representando el 0,5% de todos los aislados obtenidos.

Al desglosar el número de aislamientos por año de estudio, desde el año 2012 al 2015 obtuvimos 20 (22%), 25 (27,5%), 29 (31,8%) y 17 (18,7%) aislamientos de *S. bovis* respectivamente. En todos estos casos se trataba de muestras monomicrobianas. Los 17 *S. bovis* recuperados durante el año 2015 se correspondían con *S. gallolyticus* subespecie *pasteurianus*. La media de edad de los pacientes con urocultivo positivo para *S. bovis* era de 55 años (Rango de 20 a 93 años, DE 20,72), y se trataba de 74 mujeres (81%) y 17 hombres (19%). De los 91 pacientes, 34 (37,4%) eran pacientes hospitalizados.

En la Tabla 28 se indican las diferentes enfermedades de base se los pacientes hospitalizados con ITU por *S. bovis*. La mayoría de estos pacientes padecían enfermedades urológicas de base (61%). En uno de estos pacientes, un hombre de 51 años, se aisló *S. bovis* tanto en orina como en líquido peritoneal ya que estaba en el programa de diálisis peritoneal debido a enfermedad renal crónica.

Nuevas aportaciones microbiológicas al diagnóstico y tratamiento de las infecciones del tracto urinario.

Tabla 28: Patología subyacente en los pacientes diagnosticados de ITU por *S. bovis*.

Enfermedad de base	Número de casos
<i>Trasplante renal</i>	4
<i>Trasplante hepático</i>	1
<i>Insuficiencia renal crónica</i>	6
<i>Insuficiencia cardiaca</i>	2
<i>Litiasis renal</i>	7
<i>Diabetes mellitus tipo 2</i>	3
<i>Carcinoma urogenital</i>	5
<i>Prostatitis</i>	1

La sensibilidad a los diferentes antibióticos se muestra en la Tabla 29 junto con la categoría clínica o epidemiológica en la que se incluirían. El 98% de los aislados obtenidos fueron sensibles a penicilina ($\text{CMI} \leq 0,25 \text{ mg/l}$) y ninguno de ellos estaba en la categoría de resistente para ampicilina. También el 98% de los aislados fue sensible a la teicoplanina ($\text{CMI} \leq 2 \text{ mg/l}$), así como el 98% también sensible a vancomicina ($\text{CMI} \leq 0,5 \text{ mg/l}$) y solamente el 55% sensible a clindamicina ($\text{CMI} \leq 0,5 \text{ mg/l}$). Para los antibióticos con sólo punto de corte epidemiológico, los aislamientos fueron el 70% sensible a levofloxacino, el 99% a linezolid y el 98% a daptomicina. De modo que la clindamicina sería el antibiótico con menos acción pero por suerte en un antibiótico que no tiene utilidad en el tratamiento de las ITU.

Nuevas aportaciones microbiológicas al diagnóstico y tratamiento de las infecciones del tracto urinario.

Tabla 29: Sensibilidad acumulada y categorización de los aislamientos de *Streptococcus bovis* frente a diferentes antibióticos siguiendo las recomendaciones del EUCAST.

Antibiótico	Nº de aislado	CMI (mg/l)	Categoría	ECOFF	ECOFF sensible (%)
<i>Ampicilina</i>	90	≤1	Sensible		
	1	2		No disponible	No disponible
<i>Penicilina</i>	82	≤ 0,03			
	4	0,12	Sensible	No disponible	No disponible
	3	0,25			
<i>Oxacilina</i>	2	2	Intermedia		
	88	≤ 0,25			
	1	0,5	No interpretable	No disponible	No disponible
	1	1			
<i>Ciprofloxacino</i>	1	2			
	32	1			
	38	2	No interpretable	No disponible	No disponible
<i>Levofloxacino</i>	21	>2			
	44	≤ 1			
	20	2	No interpretable	2,0	70
<i>Gentamicina</i>	7	4			
	20	>4			
	46	≤ 1			
	34	4	No interpretable	No disponible	No disponible
	1	8			
<i>Teicoplanina</i>	4	>8			
	6	No realizado			
	89	≤ 1	Sensible	No disponible	No disponible
	1	4	Resistente		
<i>Vancomicina</i>	1	16			
	89	≤ 1	Sensible	No disponible	No disponible
	1	4	Resistente		
<i>Eritromicina</i>	1	16			
	49	≤ 0,25			
	3	0,5	No interpretable	No disponible	No disponible
	2	1			
<i>Clindamicina</i>	36	4			
	1	>4			
	47	≤ 0,25	Sensible	No disponible	No disponible
	3	0,5			
<i>Quinupristina-Dalfopristina</i>	41	4	Resistente		
	23	≤ 0,5			
	58	1	No interpretable	No disponible	No disponible
<i>Tetraciclina</i>	6	2			
	4	>2			
	13	≤ 1			
	1	4	No interpretable	No disponible	No disponible
<i>Linezolid</i>	6	8			
	71	>8			
	87	≤ 1	No interpretable		
	3	2		2,0	99
<i>Daptomicina</i>	1	4			
	89	≤ 0,5	No interpretable		
	1			0,25	98

Nuevas aportaciones microbiológicas al diagnóstico y tratamiento de las infecciones del tracto urinario.***Aerococcus* spp. y *Lactobacillus* spp.**

Ya que *Lactobacillus* spp en un bacilo grampositivo presente en la microbiota genital, en muchas ocasiones su presencia es tomada como contaminante por mala toma de muestra y sólo llama la atención del clínico en caso de que se encuentre en crecimiento único. De forma similar ocurre con *Aerococcus* spp., pues por la morfología de las colonias de estos cocos grampositivos en medios cromogénicos puede simular ser tanto microbiota regional como algún coco grampositivo en cadena, destacando igualmente cuando se encuentra en crecimiento puro sobre la placa de cultivo. Es por ello que debido a su mala identificación por pruebas bioquímicas al tomarlos como un posible *Enterococcus* spp. se someten a la identificación por espectrometría de masas y se descubre, de forma fortuita, que se trata de un uropatógeno de baja prevalencia.

En cuanto a los 3 casos clínicos descubiertos de ITU causadas por *Lactobacillus delbrueckii* y *Aerococcus sanguinicola* se trataron de pacientes de elevada edad 80, 88 y 94 años, pluripatológicos de base y con alteraciones o bien del tracto genitourinario o de tipo neurosensorial (Tabla 30). Mientras que en la ITU por *L. delbrueckii* la paciente era mujer, para ITU por *A. sanguinicola* los pacientes eran masculinos. La muestra es tan pequeña que no permite hacer estudios sobre qué microorganismo es más prevalente en qué sexo con sólo nuestros datos.

Nuevas aportaciones microbiológicas al diagnóstico y tratamiento de las infecciones del tracto urinario.

Tabla 30: Características de los pacientes diagnosticados de ITU por uropatógeno de baja prevalencia.

Uropatógeno de baja prevalencia	<i>Lactobacillus delbrueckii</i>	<i>Aerococcus sanguinicola</i>	<i>Aerococcus sanguinicola</i>
Sexo	Mujer	Hombre	Hombre
Edad	94	80	88
Presencia de patología urológica	Múltiples ITU previas	HBP	Litiasis renal.
Otra patología	HTA Artrosis DMII Obesidad Hipotiroidismo	Feocromocitoma TEP Fractura de cadera	HTA Glaucoma
Sintomatología aguda	Incontinencia Hiperglucemia Disminución de la consciencia Dolor abdominal	Anorexia Disminución de la diuresis Hipotensión Hipoperfusión	Dolor suprapúbico Hematuria Retención urinaria
Distermia	Sí: 37,6 °C	Sí: 37,4 °C	Sí: desconocida.
Sistemático de orina	Patológico	Patológico	Patológico
Score MALDI-TOF	2,119	2,107	2,099
Colonias en MPO	Azules puntiformes	Azules puntiformes	Azules puntiformes
Perfil de sensibilidad	Fosfomicina R Ciprofloxacino R Amoxicilina / Ac. clavulánico S	Ciprofloxacino R Cefotaxima S Meropenem S Penicilina S Vancomicina S	Ciprofloxacino R Cefotaxima S Meropenem S Penicilina S Vancomicina S Tetraciclina S
Tratamiento a la curación	Amoxicilina / Ac. clavulánico	Amoxicilina / Ac. clavulánico.	Cefotaxima

5. DISCUSIÓN

5.1. La fluorescencia por citometría de flujo

El citómetro UF-1000i ha demostrado su utilidad en el cribado de las muestras de orina para detectar la ITU. Sin embargo, en este trabajo se ha analizado la capacidad de éste para demostrar la presencia de ITU por bacilos o cocos uropatógenos a través del análisis de los parámetros de fluorescencia. Hemos de tener en cuenta que las muestras recibidas en nuestro laboratorio pertenecen a una población de gran heterogeneidad, desde recién nacidos hasta pacientes pluripatológicos de edad avanzada, pasando por controles de embarazadas sanas procedentes de atención primaria. Estudios recientes muestran que los principales agentes etiológico de la ITU en adultos provenientes de atención primaria siguen siendo bacilos gramnegativos, principalmente enterobacterias, y concretamente *E. coli*, lo cual concuerda con los resultados obtenidos. En los individuos hospitalizados los principales agentes etiológicos implicados siguen siendo los mismos, pero empieza a destacar una mayor prevalencia de cocos grampositivos y levaduras [90].

Según los resultados obtenidos en el trabajo, la fluorescencia de tipo FLH, que se relaciona con el contenido genético, parece ser menos efectiva que la de tipo FSC, que se relaciona con el tamaño de la partícula, para la discriminación entre bacilos y cocos, pues en las bacterias la estructura nuclear apenas difiere, ya que se trata de un único cromosoma circular en ambos casos. Como las levaduras son microorganismo eucariotas, tienen una estructura nuclear muy diferente y compleja, con lo que estudios posteriores comparativos en poblaciones mayores con urocultivos positivos para levaduras podrían arrojar resultados interesantes. Concuerda con la bibliografía previa al respecto, que los valores de FSC son significativamente mayores para aquellos agentes etiológicos con morfología de cocos.

Nuevas aportaciones microbiológicas al diagnóstico y tratamiento de las infecciones del tracto urinario.

Los estudios aducen que los cocos forman agrupaciones en forma de cadenas o racimos irregulares, y el analizador, por tanto, podría tomarlos como una sola partícula, y debido a ello, arrojar unos valores de FSC mayores, subestimando su recuento y dando lugar incluso a falsos negativos en el despistaje mediante citometría. Por otro lado, los bacilos gramnegativos tienden a permanecer como partículas aisladas en suspensión [91]. Adicionalmente, en sus trabajos estos investigadores abordan, al igual que en este proyecto, solamente la fluorescencia obtenida por el canal específico para bacterias, pues parten de que este canal tiene una mayor especificidad ya que no se afecta por la presencia de detritus, moco o fragmentos de otro tipo de partículas, obteniéndose en ellos también que el valor de FSC para gramnegativos es significativamente menor que para grampositivos debido a sus características de agrupación [91, 92].

A pesar de que esta diferencia en FSC está ampliamente reportada, no se ha comunicado en ningún caso un punto de corte con el cual se obtengan resultados satisfactorios como para su uso en la práctica clínica habitual. En este estudio, se ha conseguido detectar un punto de corte de fluorescencia FSC en el canal para bacterias para cocos, que independientemente de la inclusión (20,6 ch) o exclusión (24,2 ch) de muestras contaminadas o con biota urogenital, ofrecen una alta sensibilidad (90,0; 90,2) y un elevado VPN (82,6; 93,3). Debido a este VPN se puede inferir que aquellas muestras en las que se obtengan valores que no superen estos puntos de corte, no contienen cocos, y por tanto, pueden contener principalmente bacilos. No obstante, debido a la baja especificidad (38,9; 49,1) y VPP (54,8; 38,7) puede ser complicado determinar la morfología del patógeno en muestras con valores de FSC superiores a los puntos de corte ya mencionados anteriormente.

Ante esta limitación, la aplicación predictora de morfología bacteriana (BACT Morph) añade un nuevo paso a la caracterización etiológica, clasificando las bacterias por los canales FSC y FLH no de forma independiente, si no en conjunto.

Nuevas aportaciones microbiológicas al diagnóstico y tratamiento de las infecciones del tracto urinario.

En nuestro estudio, y en consonancia con estudios previos [5], la relación FSC/FLH es mayor para patógenos cocos que para patógenos con morfología de bacilo, lo cual permite aumentar la rentabilidad diagnóstica en comparación al uso aislado de la FSC, manteniendo la alta sensibilidad y dando lugar a una especificidad aceptable (62,5-66,7%) y un alto VPN (73,5-88,1%).

Adicionalmente, los resultados muestran que el rendimiento, tanto de la evaluación de los valores de FSC por un solo canal como en conjunto, como en la aplicación predictora (BACT Morph), se ve afectada por la inclusión o no en los análisis de muestras con 2 o más uropatógenos o aquellas con crecimiento de microbiota urogenital, siendo menores los valores de especificidad y valor predictivo negativo, especialmente. Por el carácter retrospectivo de los datos no ha sido posible recuperar información acerca de la morfología y concentración en UFC/ml de cada una de las especies presentes en estas muestras, por lo que fueron clasificadas como “*coco/mezcla*” para lograr resultados más conservadores. Por ello se considera interesante que futuros estudios analicen el impacto real de estas muestras en el rendimiento de la aplicación predictora de morfología (BACT Morph) y la implicación de otras variables recogidas por este dispositivo, como son levaduras y células epiteliales o de otro tipo, como potenciales indicadores o predictores de contaminación.

La aplicación y el canal específico para bacterias, mediante los valores de fluorescencia $FSC \geq 48,3$ ch, fueron capaces de distinguir bacilos y cocos de forma aproximada, si bien los valores de especificidad, especialmente al considerar únicamente el FSC, fueron bajos. Aunque la prioridad del cribado de ITU mediante citometría es garantizar una alta sensibilidad y valor predictivo negativo, la evaluación preliminar de los valores de fluorescencia obtenidos podría ser útil para distinguir la morfología del agente etiológico. Si con este tipo de examen se llegase a obtener valores predictivos óptimos, el tiempo para llegar a un diagnóstico se acortaría mucho, al menos hasta obtener una orientación diagnóstica y por tanto en el tratamiento, que de forma general está orientado para cubrir bacilos gramnegativos.

Nuevas aportaciones microbiológicas al diagnóstico y tratamiento de las infecciones del tracto urinario.

Este estudio tiene limitaciones. Entre ellas se encuentra el diseño retrospectivo, en el cual los datos extraídos y procesados proceden de una base de datos del *software* del citómetro, relacionándolos con los resultados de los cultivos *a posteriori*. Tampoco se pudieron incluir en el estudio muestras con recuento bacteriano inferior a 30 UFC/ μ l mediante citometría y por tanto una morfología presuntiva. También suponen limitaciones la poca homogeneidad en los pacientes, así como la consideración intrínseca de factores de riesgo y la falta de información acerca del inicio del tratamiento antibiótico previo a la toma de muestra, lo cual es de especial interés, pues la estructura bacteriana podría verse afectada por ello y por tanto los valores de fluorescencia también [5]. Otro posible problema más es que en este estudio se consideró para la interpretación de resultados que:

- Dos especies diferentes de bacilos gramnegativos o cocos grampositivos, en un mismo cultivo tienen una morfología similar y que no afecta a los valores de fluorescencia.
- Si un bacilo se acompañó de un coco, este último en recuento no significativo, los valores de fluorescencia del bacilo no se afectarán.

En nuevos estudios podría considerarse como válidas sólo aquellas muestras que tengan una sola especie de cultivo puro, considerando toda otra alternativa como categoría mixta.

5.2. El test de detección de cefotaximasas basado en el cambio de pH

En cuanto al objeto del estudio acerca de la valoración de resistencias en nuestro entorno, uno de los principales mecanismos de resistencia de las enterobacterias a los beta-lactámicos a nivel global es la producción de BLEE. La detección fenotípica de producción de BLEE está condicionada por la cantidad de enzima producida y por la coincidencia con otros mecanismos de resistencia, sobre todo para fluorquinolonas, lo cual hace que su detección y evaluación no sea sencilla. La detección se basa en la capacidad de las BLEE para hidrolizar monobactámicos. La disminución de la sensibilidad de la bacteria frente a estos antibióticos se expresa como un aumento de la CMI. Ya que estas enzimas son inhibidas por el ácido clavulánico y no hidrolizan la cefoxitina, las bacterias productoras de BLEE serán sensibles a la combinación de antibiótico e inhibidor de betalactamasas así como a esta cefamicina.

Como se ha comentado previamente en la introducción, la metodología de detección fenotípica más extendida se basa en el método de *Kirby-Bauer* (disco-placa), lo que conlleva al menos 48h desde la entrada de la muestra al laboratorio hasta la emisión de un resultado.

De forma similar ocurre con la detección mediante microdilución, ya que como mínimo es necesario el transcurso de 24h para obtener un aislado de la enterobacteria y otras 24h más para ensayar los diferentes antibióticos.

El tratamiento empírico de las ITU no complicadas tiene de forma general una duración también de 48h, tiempo que resulta crucial para la instauración de un tratamiento correcto, y por tanto, capaz de disminuir las complicaciones, siendo esto solamente posible si se detectan de forma muy rápida las diferentes resistencias antibióticas.

Nuevas aportaciones microbiológicas al diagnóstico y tratamiento de las infecciones del tracto urinario.

En cuanto al test de pH, los resultados que se obtuvieron para la detección de resistencia a la cefotaxima fueron buenos, pues debido a la epidemiología local casi la totalidad de las resistencias a cefotaxima se deben a la expresión fenotípica de betalactamasas de tipo BLEE: 4,04% para todos los aislamientos de *E. coli* y 5,04% para todos los aislamientos de *K. pneumoniae*. En nuestro entorno el tipo de BLEE más frecuente es la CTM-X, cuya actividad es sobre todo cefotaximasa [93], y sólo un 0,64% de todas las cepas de enterobacterias son productoras de AmpC, segunda betalactamasa más frecuente.

Sin embargo, los microorganismos productores de AmpC plasmídico con expresión fenotípica pueden escapar a la detección del test de pH, pero apenas afectan a sensibilidad y especificidad. El test de pH realizado detecta la degradación mediante cefotaximasas, pero no descartaría la acidificación de la solución debida a otras causas, ya que aunque se realizase de forma paralela un control sin antibiótico no se siguió de la adición de inhibidor como se viene realizando en otros test comerciales de este tipo [28].

Este test colorimétrico basado en el cambio de pH tendría diversas ventajas, como su rapidez, bajo coste y unos valores aceptables de sensibilidad y especificidad. Pero también reuniría inconvenientes, como la ausencia de resultados positivos en cepas productoras de AmpC, la necesidad de un aislado en cultivo de la enterobacteria para su realización, ya que se desconoce si la realización del test a partir de la muestra directa ofrecería resultados alterados por los diferentes componentes de esta o por los aditivos de los tubos en los que se recoge. Aunque este test se comparó con los resultados obtenidos por un método de microdilución automatizado, el *gold standard* es la PCR de detección de genes que codifican BLEE, lo cual afectaría de forma casi segura los valores de sensibilidad, especificidad y valores predictivos.

Nuevas aportaciones microbiológicas al diagnóstico y tratamiento de las infecciones del tracto urinario.

En este estudio hasta el 8,81% de los urocultivos positivos para bacilos gramnegativos se asociaron con microorganismos con fenotipo productor de BLEE observado mediante paneles de MicroScan, lo que se corresponde con un 7,4% de prevalencia de dicho fenotipo en *E. coli* y un 23,5% en *K. pneumoniae*.

Existen estudios multicéntricos realizados en la última década que arrojan una prevalencia en España de BLEE en las cepas de *E. coli* y *K. pneumoniae* superior al 4% y al 5%, respectivamente, lo cual muestra que en los últimos años se ha multiplicado sobre todo la prevalencia en cepas de *E. coli* en pacientes no hospitalizados [94]. Resulta muy llamativo en este estudio la gran prevalencia de fenotipo BLEE en *K. pneumoniae* que afecta a casi un cuarto de los aislados, a pesar de que no se considere que exista un brote de este patógeno en nuestro entorno. Esto podría deberse a que la gran mayoría de pacientes que se asisten en el HUVN son personas de edad avanzada y con múltiples comorbilidades, y, que potencialmente, se convertirían en reservorios importantes de estos agentes. Por tal motivo, en el HUVN se han venido realizando desde hace tiempo controles frecuentes de colonización por *K. pneumoniae* BLEE en hospitalizados, procediéndose al aislamiento de contacto del paciente al obtener un resultado positivo.

En las guías se aconseja que en los laboratorios de microbiología clínica se realice una prueba de detección rápida de producción de BLEE en las enterobacterias aisladas en cultivo, obteniéndose de esa manera una orientación a un tratamiento más adecuado dentro de las primeras 24h.

La prueba basada en el pH descrita estudio es muy rápida, económica y aplicable a todo tipo de colonias bacterianas capaces de portar genes codificantes de BLEE, como los gramnegativos, con la ventaja de que puede ser almacenada en congelador a una temperatura de -80°C durante un período de hasta 3 meses, sin que parezcan alterarse sus propiedades.

Nuevas aportaciones microbiológicas al diagnóstico y tratamiento de las infecciones del tracto urinario.

Además, la mayoría de los aislamientos que produjeron el viraje del medio a color amarillo lo hicieron en un tiempo inferior a 15 minutos, y sin ocurrir la reversión en ningún caso. De ese modo, el tiempo de orientación diagnóstica sería mucho menor si se optimizase un protocolo adecuado de práctica asistencial.

Existen estudios que muestran resultados para detectar la producción de BLEE con algunos test comerciales que también están basadas en el cambio de pH y que se realizan a partir de muestra directa de orina, lo cual marcaría el camino a seguir en la evaluación de prueba *in house*, aplicándola directamente sobre alícuotas de muestras de orina. Aún se desconoce el efecto que tendría sobre la prueba *in house* la carga bacteriana requerida para la obtención de un resultado positivo o la influencia de los cultivos mixtos. El ácido borónico y sus derivados son inhibidores de beta-lactamasas tipo AmpC, que en estado de hiperproducción pueden enmascarar la presencia de BLEE.

Entre las principales limitaciones de este estudio, se encontró que el test *in house* no fue capaz de diferenciar entre la resistencia a cefalosporinas de tercera generación debida a la producción de BLEE - causa del viraje del medio en la mayoría de los casos - y la resistencia a este tipo de antibióticos por sobreexpresión de beta-lactamasas tipo AmpC, donde el viraje del medio parecía tener un patrón inconstante.

Una posible solución parcial a este problema sería el uso de medios cromogénicos para enterobacterias (CHROMagar Orientation® o URI select 4®), en los que especies con betalactamasas tipo AmpC cromosómica inducible como *Enterobacter* spp., *C. freundii* y *Serratia marcescens* crecen formando colonias de color azul perfectamente distinguibles de *E. coli*, cuyas colonias en estos medios aparecen de color rosa. Otras bacterias, como *Providencia* spp., *Morganella* spp., *Proteus* spp., *Pseudomonas* spp., *Acinetobacter* spp. o *Salmonella* spp., también crecen en este tipo de medios, pero sus colonias adquieren un color muy diferente al azul o el rosa.

Nuevas aportaciones microbiológicas al diagnóstico y tratamiento de las infecciones del tracto urinario.

En este tipo de medios cromogénicos para enterobacterias, las colonias de las bacterias del género *Klebsiella* spp. también crecen de color azul, por lo que no son fácilmente distinguibles del grupo de bacterias productoras de betalactamasas tipo AmpC cromosómico inducible y el problema reside en la alta prevalencia de producción de BLEE por parte de *K. pneumoniae*, generalmente dentro de un contexto de brotes intrahospitalarios, así como la ausencia de pruebas bioquímicas rápidas que distingan el género *Klebsiella* spp. de los géneros con AmpC cromosómico inducible.

A través de la evaluación del test de pH, observamos que solo 4 especies constituyeron más del 90% de las enterobacterias uropatógenas, incluyendo todos los aislados con potencial fenotipo productor de BLEE, que son *E. coli*, *K. pneumoniae*, *K. oxytoca* y *P. mirabilis* [95].

La aplicación de la prueba sobre aislados de *E. coli*, fácilmente distinguibles en medio cromogénico por su color rosa, podría ser muy útil, ya que se trata del principal uropatógeno y de una de las enterobacterias con mayor prevalencia de BLEE, de modo que podríamos obtener una rápida orientación terapéutica en la mayor parte de urocultivos positivos.

No debería afectar significativamente en la aplicación de la prueba rápida de pH la presencia de cepas de *E. coli* productoras de betalactamasas tipo AmpC de origen plasmídico con clara manifestación fenotípica, pues en nuestro medio su prevalencia estimada es muy baja.

La sobreexpresión de betalactamasas tipo AmpC junto con una producción de BLEE de bajo nivel podría dar falsos positivos en este tipo de pruebas basadas en el pH. Desde el punto de vista práctico, el impacto de esta causa de falsos positivos es bajo, ya que todos los resultados de la prueba *in house* se deben confirmar con los ensayos estandarizados, con la ventaja de poder predecir la falta de actividad clínica de las cefalosporinas.

5.3. *Escherichia coli* BLEE y *Klebsiella* spp. BLEE

Aún con la alarma global que supone el problema de la resistencia antibiótica, este se está viendo aún más agravado por los escasos recursos que se destinan a la industria farmacéutica para la investigación de nuevos fármacos antibióticos, lo cual resulta en una escasez de nuevos antibióticos en los últimos años, y concretamente ninguno que aporte un nuevo mecanismo de acción [96]. Entre otras cosas, este desinterés se debe a la poca rentabilidad que tienen los antibióticos frente a los fármacos usados en otras infecciones crónicas como la hepatitis C, donde se han incorporado al mercado nuevos fármacos de precio elevado [97].

La alerta mundial por la presencia creciente de microorganismos multirresistentes se debe a que las infecciones causadas por estos conllevan una mayor morbimortalidad [98], así como un aumento del coste de tratamiento con respecto a las causadas por la misma especie multisensibles. Durante el año 2007 en Europa, se calculó que hubo unas 400.000 infecciones por bacterias multirresistentes, a las que se atribuyeron 25.000 muertes [99]. La prevalencia ha aumentado incluso en condiciones de no infección, como la colonización. La colonización intestinal de individuos sanos por enterobacterias productoras de BLEE ha alcanzado niveles de pandemia a nivel global en los últimos años, calculando que existen en el mundo más de 1700 millones de colonizados [100].

La multirresistencia (MDR) se define como la pérdida de sensibilidad clínica a al menos 3 grupos de fármacos antibióticos de elección. Cuando existe una pérdida de sensibilidad a todos los antibióticos con la excepción de sólo 2 grupos se considera que se trata de un microorganismo extremadamente resistente (XDR), y la ausencia de sensibilidad entre todas las opciones comercializadas corresponde a la categoría de pan-resistencia (PDR) [101]. Las bacterias con resistencias a los antibióticos tienen mayor probabilidad de adquirir y acumular diferentes mecanismos de resistencia [102].

Nuevas aportaciones microbiológicas al diagnóstico y tratamiento de las infecciones del tracto urinario.

Aunque de forma general las ITU son infecciones con una menor mortalidad con respecto a otras, al ser muy frecuentes generan un alto gasto sanitario, y además se trata de las infecciones en las que aparece una mayor incidencia de bacterias resistentes a tratamientos habituales [103]. Esta elevada frecuencia de bacterias multirresistentes en ITU sería la responsable de unos porcentajes elevados de tratamiento empírico inadecuado [104, 105].

La identificación rápida de la especie bacteriana implicada en la infección mediante espectrometría de masas y el uso de programas de optimización de antibióticos (PROA) son muy útiles para la instauración de un tratamiento antibiótico óptimo y eficaz [106].

E. coli sigue siendo el principal uropatógeno aislado, tanto en el ámbito extrahospitalario como intrahospitalario, así que el tratamiento empírico de ITU suele establecerse según el perfil antibiótico de este microorganismo en el entorno [90]. Otras bacterias que ocasionalmente son causa de ITU son *Klebsiella* spp. *P. mirabilis*, *Enterococcus* spp. y otros bacilos gramnegativos entéricos. El resto de enterobacterias suponen en nuestro entorno un 10,1% de los aislamientos en urocultivos extrahospitalarios y un 4,5% en intrahospitalarios [107].

En nuestro medio se ha observado como destaca el gran aumento de cepas de *K. pneumoniae* BLEE procedentes de urocultivo que acumulan resistencia a otros antibióticos, procedentes de urocultivos. Una posible explicación para la mayor proporción observada de urocultivos positivos procedentes de pacientes masculinos durante el período 2.015-2.016 puede corresponderse a que durante el año 2.015 en el HUVN, en microbiología, sólo se realizaron urocultivos pertenecientes a población hospitalizada, y en relación a esto, aunque las ITU en hombres son menos frecuentes y se consideran complicadas por definición, lo que justifica una mayor proporción de ingresos hospitalarios en hombres.

Nuevas aportaciones microbiológicas al diagnóstico y tratamiento de las infecciones del tracto urinario.

Este hecho podría explicar además el aumento significativo de *K. pneumoniae* BLEE durante los años 2.015 y 2.016, pues como ya se ha comentado anteriormente, estos microorganismos presentan un comportamiento epidémico, de forma que escasos clones son diseminados localmente, y se considera un patógeno típicamente hospitalario. La presencia *E. coli* BLEE fue más estable posiblemente debido a su comportamiento epidémico policlonal o alodémico. El incremento del aislamientos de *K. pneumoniae* BLEE en urocultivo no parece explicarse solo por el cambio poblacional atendido en el HUVN, sino también por un aumento estructural, en toda la población, de este mecanismo de resistencia, debiéndose implementar medidas para su control, ya que en tan sólo 5 años se pasó de su presencia en un 7,9% de los aislamientos a un 28,1%.

Asimismo, también se observó un aumento de la resistencia a ciprofloxacino, tobramicina y cotrimoxazol tanto en *E. coli* BLEE como en *K. pneumoniae* BLEE. Durante el año 2.015, la presencia de resistencia a ciprofloxacino y a trimetoprim-sulfametoxazol en los aislados de *K. pneumoniae* BLEE fue estadísticamente superior a otros años del periodo de estudio, alcanzando valores del 89,47% y 94,74%, respectivamente, reflejo de la asociación plasmídica de los mecanismos de resistencia. En los aislados *E. coli* BLEE el incremento de la resistencia a estos antibióticos no resultó estadísticamente significativo, a pesar de alcanzar también porcentajes elevados.

Esta alta prevalencia de resistencia a ciprofloxacino y a trimetoprim - sulfametoxazol podría tener un gran impacto, ya que ambos son antibióticos usualmente utilizados de forma empírica para el tratamiento de ITU, y esta resistencia, por tanto, se podría también relacionar con un elevado consumo, en frecuentes ocasiones inadecuado. Dado que la prevalencia de aislamientos BLEE es superior al 10%, el uso de fluorquinolonas y cotrimoxazol como tratamiento empírico para la ITU no debe ser administrado [108].

Nuevas aportaciones microbiológicas al diagnóstico y tratamiento de las infecciones del tracto urinario.

En las bacteriemias por enterobacterias BLEE el tratamiento con carbapenemes está asociado con una mortalidad menor [109]. Así, ertapenem está asociado con una rápida mejoría clínica y microbiológica, y además no actúa frente a *P. aeruginosa* ni *A. baumannii*. Sin embargo, los carbapenemes no son una buena elección para el tratamiento de las ITU comunitarias causadas por los microorganismos BLEE ya que carecen de formulación oral.

La fosfomicina tiene una potente acción bactericida frente a gramnegativos y grampositivos, pero su uso en monoterapia puede dar lugar al desarrollo de resistencias. En nuestro entorno se observa un porcentaje de resistencia superior al 25% en *K. pneumoniae* BLEE, por lo que no supone una alternativa de uso empírico en personas con factores de riesgo para ITU causada por enterobacterias productoras de BLEE o con diagnósticos previos con presencia de esta bacteria [110]. Existen estudios que indican un bajo porcentaje (47% - 69%) de sensibilidad a fosfomicina en especies de *Klebsiella* spp. aún sin ser productoras de BLEE [14]. De forma adicional, la fosfomicina tiene varias ventajas como tratamiento de la ITU cuando esta aparece como sensible en el antibiograma de estos microorganismos, ya que su pauta es fácil, alcanza concentraciones elevadas en orina, y su toxicidad es muy baja, pudiéndose emplear incluso en niños pequeños. Además, la fosfomicina no parece alterar la microbiota intestinal [14].

De forma general, el uso de nitrofurantoína como tratamiento de la ITU está limitado por su toxicidad, aunque esta sólo ocurre con el uso prolongado, por encima de los 7 días, y también por su difícil pauta terapéutica. Según la presente serie de microorganismos BLEE, este antibiótico se podría emplear frente a las ITU por *E. coli* BLEE, ya que la resistencia observada fue inferior al 10%. Algunos estudios consideran la nitrofurantoína como una opción excelente para el tratamiento de ITU causada por *E. coli*, ya sea BLEE o no [111, 112]. Este antibiótico supone además una apropiada opción para la profilaxis de la ITU en niños siempre que no se superen los 7 días de tratamiento [14]. Para *K. pneumoniae* BLEE la nitrofurantoína no es una buena elección.

Nuevas aportaciones microbiológicas al diagnóstico y tratamiento de las infecciones del tracto urinario.

Amoxicilina/ácido clavulánico [113] o piperacilina/tazobactam son alternativas [90] para el tratamiento de ITU por *E. coli* BLEE en nuestro medio, no existiendo datos concluyentes para *K. pneumoniae* BLEE. Pero siempre debemos tener en cuenta que los betalactámicos tienen una pauta de tratamiento de mayor duración y una mayor afectación sobre la microbiota intestinal y genital, y así como la aparición de recidivas [114]. Además, los inhibidores de las betalactamasas suelen ser causa común de diarrea, que se suma a la alteración de la microbiota.

Si las cefalosporinas se muestran activas mediante la obtención del antibiograma, también podrían ser una alternativa para pacientes con bajo riesgo de desarrollar sepsis. Las propias cefalosporinas suponen un factor de riesgo para la aparición de nuevos aislamientos productores de BLEE [115].

5.4. Los microorganismos con AmpC.

Aquellos aislamientos de enterobacterias con un screening positivo para fenotipo BLEE pero con un resultado negativo en un test confirmatorio, son sospechosas de ser productoras de AmpC, ya sean portadoras de este mecanismo de forma cromosómica o por transferencia de un plásmido [116]. La resistencia a los antibióticos mediante AmpC suele infradiagnosticarse en la mayoría de laboratorios clínicos debido a la ausencia de estándares para su determinación [117].

Ante aislados clínicos con presencia de AmpC se ven muy reducidas las opciones de tratamiento, y si además se acompañan de la existencia de co-resistencias hacen muy complicado el establecimiento de un tratamiento antibiótico eficaz. Enterobacterias que poseen de manera natural betalactamasas de tipo AmpC cromosómico inducible son *Enterobacter* spp., *Providencia* spp., *Hafnia alvei*, *Morganella morganii*, *Serratia marcescens* y *Citrobacter freundii*. Al conjunto de bacterias de estos géneros se les conoce como bacterias del Grupo CESP. Otra especie de gran importancia que las posee es *P. aeruginosa*. Dentro de estas especies pueden existir cepas hiperproductoras y con múltiples co-resistencias por BLEE o carbapenemasas.

Otros mecanismos implicados en la multirresistencia de las bacterias pertenecientes al grupo CESP son la reducción de la síntesis de porinas, el aumento de bombas de eflujo que disminuyen la concentración intracelular del antibiótico, ya sean betalactámicos, tetraciclinas, cloranfenicol, aminoglucósidos y fluorquinolonas.

Enterobacter spp. es el cuarto patógeno en incidencia en las ITU de pacientes hospitalizados en nuestro entorno, siendo a su vez el principal microorganismo que desarrolla co-resistencias.

Nuevas aportaciones microbiológicas al diagnóstico y tratamiento de las infecciones del tracto urinario.

El género *Enterobacter* spp. y la especie *Citrobacter freundii* tienen resistencia natural a la ampicilina, la amoxicilina, ya sea sola o en combinación con ac. Clavulánico, a las cefalosporinas de primera generación, a la cefuroxima, la cefoxitina y el cefotetán. *Serratia marcescens* es además resistente a colistina, polimixinas y nitrofurantoína, de ahí radica la importancia de su identificación correcta como especie ya que a veces mediante las pruebas bioquímicas puede ser confundida con *Enterobacter* spp.

Las penicilinas orales, así como las cefalosporinas de primera generación ya no se recomiendan como tratamiento empírico de ITU sea cual sea el uropatógeno implicado, pues la resistencia a estos antibióticos alcanza porcentajes cercanos al 40% en nuestro entorno según algunos estudios [90].

El cefepime es una cefalosporina de cuarta generación que induce débilmente a las enzimas AmpC ya que penetra de forma muy rápida a través de la membrana externa de los gramnegativos. Aunque podría ser eficaz contra infecciones producidas por organismos productores de AmpC, su actividad puede verse interferida por el efecto inóculo, y es por esa razón por lo que no se indica en infecciones graves donde se alcanzan elevados inóculos bacterianos como son las infecciones intraabdominales, la neumonía o la osteomielitis.

En los últimos años se ha introducido en la práctica clínica el uso de la tigeciclina, cuyo espectro abarca los gramnegativos productores de betalactamasas de espectro extendido, de cefalosporinas AmpC e incluso de carbapenemasas. Pero en el presente trabajo se carece de información acerca de este antibiótico ya que su indicación en ITU es muy limitada por la baja concentración que alcanza en orina, ya que su excreción es biliar. Otra limitación es que importantes uropatógenos que también se relacionan con multirresistencia quedarían fuera de su espectro, como son *Proteus* spp. y *Morganella* spp.

Nuevas aportaciones microbiológicas al diagnóstico y tratamiento de las infecciones del tracto urinario.

En las infecciones producidas por microorganismos del grupo CESP, si transcurridos 4 días de tratamiento antibiótico adecuado se sigue aislando la misma especie en urocultivo se recomienda realizar un nuevo estudio del perfil de sensibilidad para determinar si se han producido nuevas resistencias antibióticas. Si durante un estudio del perfil de resistencia encontramos una especie que no presenta el esperado, siempre se ha de plantear si la identificación a nivel de especie ha sido la correcta, y en caso de corroborarse la discrepancia, proceder a caracterizar el mecanismo de resistencia implicado.

Los carbapenemes son la opción de tratamiento de primera línea de las infecciones causadas por microorganismos AmpC, en las que el cefepime también podría ser una alternativa [118]. La producción de carbapenemasas es poco frecuente en estos microorganismos AmpC, aunque la preocupación por su aparición y rápida diseminación es cada vez más acuciada [119]. Es necesario buscar alternativas a los carbapenemes para aliviar la presión antibiótica responsable de la aparición de corresponsas. En el grupo de los betalactámicos, según este estudio y otros, el que actualmente tiene una mayor actividad frente a AmpC es el imipenem [90].

E. cloacae es un patógeno de especial importancia por su capacidad de adquirir otro tipo de mecanismos de resistencia además de los intrínsecos durante el transcurso de los tratamientos. En los últimos datos publicados en España de la prevalencia de *E. cloacae* que comprenden un periodo de 1.989 a 2.000 mostraban que el 0,4% de aislamientos de esta especie además eran productores de BLEE [120]. Las BLEEs tipo TEM y tipo CTX-M son las más frecuentemente asociadas a *E. cloacae*, siendo España el país donde más casos se registraron de *E. cloacae* portador de CTX-M-9 [121].

La ceftazidima en nuestro medio tuvo una actividad variable frente a *E. cloacae*, *C. freundii* y *S. marcescens* con unos porcentajes de sensibilidad del 53%, 60% y 100% respectivamente.

Nuevas aportaciones microbiológicas al diagnóstico y tratamiento de las infecciones del tracto urinario.

Imipenem fue el agente más activo con porcentajes de sensibilidad del 97%, 100% y 87% respectivamente. Los porcentajes de sensibilidad para moxifloxacino fueron 53%, 87% y 67% respectivamente [122].

Las fluorquinolonas son antibióticos muy usados en ITU debido a su amplio espectro, excelente biodisponibilidad oral, buena tolerancia y efecto post-antibiótico, pero debido a su frecuente uso ha habido una notable disminución de la sensibilidad en enterobacterias [123, 124].

El panorama actual de resistencia a los fármacos antibióticos ha favorecido la vuelta al uso de antibióticos clásicos, como son la colistina y la fosfomicina, cuyas tasas de resistencia han sido tradicionalmente bajas [125]. La fosfomicina se ha utilizado tradicionalmente en muchos países como tratamiento de las ITU no complicadas [125]. Su posología facilita una buena administración y su mecanismo de acción y resistencia no conlleva el desarrollo de resistencias cruzadas con otros antibióticos [4, 126]. De forma general, este antibiótico ha mantenido históricamente una buena actividad frente a uropatógenos comunitarios y hospitalarios [4]. Como indican otros estudios en España [123], en la ITU no complicada en pacientes menores de 15 años de ambos sexos y en mujeres de hasta 65 años podría usarse fosfomicina como tratamiento antibiótico empírico. Las ITU en pacientes masculinos que carecen de factores de riesgo para ITU complicada como son las alteraciones anatómicas, pueden considerarse y tratarse, por tanto, como ITU no complicada [127].

La nitrofurantoína se ha considerado durante mucho tiempo una excelente opción terapéutica para la ITU en algunos países del sur de Europa [112]. Sin embargo, este antibiótico alcanza niveles de concentración en parénquima bajos, resultando poco útil como tratamiento de la pielonefritis [128].

Nuevas aportaciones microbiológicas al diagnóstico y tratamiento de las infecciones del tracto urinario.

La ceftazidima/avibactam, es un buen antibiótico para la situación actual, ya que su espectro incluye actividad frente a la mayoría de BLEE, carbapenemasas de las clases A y D de Ambler, y también frente a AmpC [129]. Es por ello que en las ITU complicadas supone una excelente alternativa a los carbapenemes, y además, ceftazidima y avibactam no se metabolizan, excretándose principalmente por vía renal.

En cuanto a los aminoglucósidos, estos antibióticos no suelen recomendarse para el tratamiento de ITU no complicadas, ya que poseen cierta toxicidad y además su administración es parenteral. Si consideramos su uso en el hospital, hay autores que afirman que la amicacina es una buena alternativa a los carbapenemes, aunque su uso es más extendido en las ITU causadas por microorganismos BLEE [90, 130].

Existen estudios [123] que indican que en los pacientes mayores de 65 años se observa una menor sensibilidad a todos los antibióticos probados, lo que hace necesario instaurar un tratamiento dirigido, individualizado y basado en el antibiograma del microorganismo aislado. De modo, que como otros autores españoles indican [123], en nuestro medio, para el tratamiento de ITU deberían evitarse los siguientes antibióticos: amoxicilina, amoxicilina / ác. clavulánico, trimetoprim-sulfametoxazol y quinolonas.

Es, por tanto, de especial importancia conocer la evolución de los perfiles antibióticos de los uropatógenos más frecuentes en nuestro entorno para poder establecer tratamientos empíricos adecuados, tanto para producir una curación en el paciente, para evitar un gasto sanitario excesivamente elevado así como para evitar que se produzca la selección de microorganismos aún más resistentes.

En cuanto a los uropatógenos que tienen de forma natural un perfil de resistencia más complejo, es necesario conocer en qué tipo de pacientes puede ser un importante uropatógeno por su frecuencia, evitando así un aumento de la morbilidad y mortalidad por tratamiento inadecuado.

5.5. Las candidurias

Un estudio a nivel europeo determinó que el 9,4% de las ITU nosocomiales están causadas por *Candida* spp. [131], cifra que justifica el interés por la presencia de candiduria nosocomial en nuestro entorno. La candiduria es un problema clínico posiblemente subestimado ya que su detección mediante el urocultivo estándar puede resultar poco sensible si no se actúa de manera correcta, sobre todo en aquellas especies LNCA. Así, *C. glabrata* puede tardar más de 48 horas en crecer en el medio de cultivo de agar sangre de cordero al 5%. Se recomienda cuando existen varios factores de riesgo para ITU causada por *Candida* spp. se añadan medios selectivos como el Sabouraud o uno cromogénico. Además, los métodos automatizados de cribado mediante citometría suelen tener problemas de sensibilidad para la detección de candiduria por *C. glabrata* debido a su pequeño tamaño [83].

Actualmente, *E. coli* sigue siendo el microorganismo más frecuentemente aislado en las muestras de orina de pacientes sondados, pero las especies *Candida* spp. le siguen, destacando *C. albicans*. En la mayoría de los estudios *C. albicans* es la levadura más aislada, con porcentajes entre el 50% y el 70%, 53,6 % en nuestro área, seguida por *C. glabrata* (19,7% en este estudio) y en tercer lugar *C. tropicalis* (37 aislamientos en este estudio, 12,8%) [132]. Cuando se ha obtenido crecimiento de *Candida* spp. en un urocultivo se abre un debate clínico acerca de su posible significación, pues podría tratarse de una contaminación debida a una recogida errónea de la muestra, una colonización o de una verdadera ITU [133]. Los procedimientos básicos del laboratorio, como los criterios estrictos de significación microbiológica y una buena recogida de muestra, sin duda ayudan a resolver la cuestión. La contaminación puede diferenciarse de otros procesos mediante la obtención adecuada de una nueva muestra de orina [134]. La contaminación corre con frecuencia en pacientes femeninas de elevada edad cuyo introito suele estar colonizado por *Candida* spp. y que a su vez tienen dificultad para la obtención la muestra adecuada. En estos casos, si en una segunda muestra, obtenida en adecuadas condiciones, no hay crecimiento de levaduras no es necesario proseguir con el diagnóstico.

Nuevas aportaciones microbiológicas al diagnóstico y tratamiento de las infecciones del tracto urinario.

Los factores de riesgo relacionados con la candiduria son múltiples: inmunodepresión, diabetes mellitus, ingreso hospitalario superior a los 7 días, neoplasias, sondaje urinario, antibioterapia previa de amplio espectro, sexo femenino y edad superior a los 65 años [135-137]. Durante el año 2.012, en el estudio la media de edad de los pacientes con candiduria fue de 64,8 años, muy cercana a los 65 años, de modo que en nuestro área sanitaria la edad también supondría factor de riesgo tal como indican otros estudios. En nuestra área, según lo observado, no parece que el sexo influya en la presencia de candiduria [65]. Se observa una gran presencia de candiduria entre pacientes con sonda urinaria (83,0%). También es sabido que el uso de antibióticos de amplio espectro facilita la colonización por *Candida* spp. tras reducir la carga bacteriana propia de la microbiota, tanto intestinal como urogenital; sin embargo, como se ha comentado ya previamente, no se ha podido recoger información sobre la ingesta previa de antibióticos.

Usualmente la mayoría de pacientes en los que se detecta candiduria se encuentran asintomáticos [138]. Pero en los pacientes con sintomatología, esta es indistinguible de la que aparece en la ITU bacteriana. Hay síntomas poco frecuentes pero muy sugestivos de ITU causada por levaduras, como son la oliguria, la eliminación de material floculoso con la micción y la pneumaturia, la cual se presenta cuando hay una bola fúngica vesical, típica en pacientes con diabetes mellitus [139].

En un estudio español se encontró que la candiduria debuta de forma tardía durante los episodios de hospitalización, alrededor de la segunda semana de estancia [135], y solo entre el 1% y el 8% de los pacientes con candiduria desarrollan candidemia, teniendo un riesgo mayor aquellos pacientes ingresados en UCI [140]. De modo que la gran mayoría de los pacientes con candiduria no presentarán candidemia.

A pesar de que no ocurra de forma frecuente, en pacientes críticos la candiduria siempre ha de considerarse como un potencial marcador de riesgo de infección fúngica invasiva [141].

Nuevas aportaciones microbiológicas al diagnóstico y tratamiento de las infecciones del tracto urinario.

En este tipo de pacientes es muy importante la obtención de muestras de sangre para hemocultivo y una exploración detallada en busca de lesiones sugerentes de candidiasis invasiva [142].

La candiduria aumenta la mortalidad en los pacientes ingresados en UCI [143] y un 22% de los pacientes ingresados en este servicio desarrollaran candiduria tras 7 días de estancia [135]. Según lo observado en este estudio, porcentaje de candidurias procedentes de UCI al final del periodo de estudio fue bajo si lo comparamos con estudios realizados en España (21,4%), sobre todo si la comparamos la incidencia observada mismamente entre los ingresados en Medicina Interna. Realmente se trata de una disminución relativa de las candidurias en UCI con respecto a las producidas en otros servicios, principalmente en Medicina Interna, ya que netamente van aumentando con el transcurso de los años. Al inicio del periodo, en Medicina Interna la incidencia de candidurias fue inferior a UCI (año 2.011, 8 en UCI frente a 6 en MI), pero ya en el año 2.015 las candidurias en Medicina Interna fueron casi el triple que en la UCI (65 frente a 23). Esto podría deberse a un aumento de los pacientes sondados en Medicina Interna, actuación muy frecuente en pacientes pluripatológicos o paliativos que permanecen ingresados en este servicio durante largos periodos de tempo. Los porcentajes de candiduria en los servicios de Urología y Nefrología son los más elevados tras los Servicios de UCI y Medicina Interna, cuya prevalencia en ambos se ha mantenido fluctuante a lo largo del periodo de observación.

C. albicans es un microorganismo tanto comensal como patógeno, que puede colonizar e invadir diferentes espacios anatómicos. La morfología de levadura se asocia con la diseminación, mientras que la morfología de pseudohifa se relaciona con la adhesión, invasión y actividad proteolítica [144, 145].

Durante muchos años *C. albicans* ha sido la especie más aislada en el tracto urinario, y en este estudio se sigue observando como principal levadura, pero es posible que debido al aumento del uso del fluconazol las LNCA se han hecho cada vez más frecuentes.

Nuevas aportaciones microbiológicas al diagnóstico y tratamiento de las infecciones del tracto urinario.

Muchos estudios informan ya aislamientos de LNCA superiores al 50% [135] en candiduria, no en nuestro entorno, observándose un 46,36%. Estas especies son más difíciles de erradicar y están mejor adaptadas al tracto urinario, como ocurre con *C. glabrata*, con una mejor adaptación al pH y osmolaridad características de esa zona anatómica [146].

El único factor de riesgo que se ha asociado de forma significativa con la selección de especies de LNCA es la administración previa de fármacos antifúngicos; y el uso de fluconazol se ha asociado específicamente a la presencia de *C. glabrata* [147]. El aislamiento de *C. glabrata* ha aumentado de forma importante en las candidurias, y en este estudio ha sido segunda especie más identificada, con un total de 57 aislamientos (19,7%).

Para establecer tratamiento frente a la candiduria habitualmente se tiene en cuenta su carácter sintomático o no. Actualmente, en los pacientes asintomáticos se recomienda disminuir los factores de riesgo, siempre que esto sea posible, y hacer un recambio de la sonda urinaria si está presente, pues esto puede ser suficiente en muchas ocasiones para eliminar la candiduria sin necesidad de establecer tratamiento antifúngico [148]. Sin embargo, en aquellos pacientes asintomáticos pero con elevado riesgo de diseminación, como son los inmunodeprimidos y los recién nacidos prematuros se debe establecer un tratamiento con altas dosis fluconazol intravenoso o anfotericina B en caso de aislarse una LNCA [149]. Si se trata de candiduria sintomática el tratamiento dependerá de la forma de presentación clínica [139]. Fluconazol es el principal antifúngico para las candidurias tanto en adultos como en recién nacidos por su elevada biodisponibilidad, superior al 90%, alcanzando concentraciones óptimas tanto en piel como orina [57, 148]. En escasas e individualizadas ocasiones el tratamiento recomendado es la irrigación intravesical con anfotericina B. En el estudio sólo *C. albicans* seguiría teniendo una sensibilidad del 100% a estos fármacos antifúngicos.

Nuevas aportaciones microbiológicas al diagnóstico y tratamiento de las infecciones del tracto urinario.

En nuestro medio, fluconazol, tratamiento de elección en candidurias, fue el antifúngico al que los aislamientos de LNCA fueron menos sensibles, con valores del 85,9%, 86,9% y 92,1% para *C. glabrata*, *C. parapsilosis* y *C. tropicalis*, respectivamente. La anfotericina B tiene un amplio espectro, pero se trata de un antifúngico con gran toxicidad renal, limitando su uso.

Para disminuir esa nefrotoxicidad se crearon las formulaciones lipídicas. Aunque la resistencia a anfotericina B es rara en *Candida* spp. ya se ha registrado en alguno estudios [150]. En nuestro medio se observó una resistencia a anfotericina B en *C. glabrata*, *C. parapsilosis* y en *C. tropicalis* que no superaba el 10%.

Todos los aislamientos de *C. albicans* a los que se le realizó estudio de sensibilidad antifúngica fueron sensibles a anfotericina B. Recomendaríamos, independientemente de la especie, estudiar el perfil de sensibilidad en todos los aislamientos de pacientes con candiduria y terapia antifúngica previa debido a que esta puede suponer un factor de riesgo para la presencia de especies con algún tipo de resistencia.

Las técnicas comerciales, como VITEK 2, se han implantado en muchos laboratorios clínicos, aunque también se ha descrito la posibilidad de detección de resistencia de *C. tropicalis* frente a fluconazol y voriconazol cuando realmente no lo sea [151]. En base a los datos observado, fluconazol puede seguir siendo el tratamiento de elección para las candidurias, siendo especialmente válido para *C. albicans*, aunque también para el resto de LNCA podría ser válido como tratamiento empírico en nuestro entorno ya que la resistencias son menores al 15%.

5.6. *Acinetobacter baumannii* y *Pseudomonas aeruginosa*

A. baumannii y *P. aeruginosa* [152-155] son otras especies bacterianas de gran importancia implicadas en la creciente resistencia antibiótica a nivel mundial, con un limitado espectro de opciones antibióticas adecuadas [156]. Como ya hemos comentado, estos BGN, aunque con una presencia menor que las enterobacterias como causa de ITU, ya que son uropatógenos principalmente nosocomiales, también se ven afectados por el uso inadecuado de los antibióticos adquiriendo nuevos mecanismos de resistencia, en unas especies ya de por sí multirresistentes en su fenotipo salvaje [157, 158].

A. baumannii ha demostrado una alta capacidad de adquirir nuevos mecanismos de resistencia y de expandirse tras esto en la población general [154]. Las cepas de *A. baumannii* multirresistentes tienen un complicado tratamiento antibiótico, convirtiéndose en los últimos años por tanto, en un problema de dimensiones globales. Un uso adecuado de los antibióticos es un factor clave en el control de la adquisición de nuevos mecanismos de resistencia [90].

En las dos últimas décadas ha habido un aumento del consumo de carbapenemes concomitante y causado por la creciente prevalencia de microorganismos productores de BLEE, ya que son el tratamiento de elección para estos, como ya hemos comentado anteriormente [159]. Es por tanto esencial monitorear de forma local los perfiles de sensibilidad de *A. baumannii* para así establecer tratamientos antibióticos más adecuados y que no desencadenen la aparición de nuevas resistencias. El objetivo es revertir la situación actual de multirresistencia y prevenir la diseminación de estas cepas, sobre todo dentro de aquellas unidades hospitalarias que albergan pacientes más vulnerables y frágiles como son UCI o hematología.

La exposición a algunos grupos de antibióticos conduce a la adquisición de mecanismos de resistencia por patógenos que ya están colonizando al paciente, y su erradicación resulta por tanto más difícil.

Nuevas aportaciones microbiológicas al diagnóstico y tratamiento de las infecciones del tracto urinario.

Durante mucho tiempo las cefalosporinas y las quinolonas han sido el tratamiento empírico de elección, sin mucha restricción al respecto, en la UCI [160, 161], lo cual es una posible explicación para las gran frecuencia con la que se encuentran en pacientes críticos altas tasas de resistencia en *A. baumannii* y *P. aeruginosa*.

Los resultados presentes en este trabajo indican que el ciprofloxacino dejó de ser una opción adecuada para el tratamiento de *A. baumannii*, con una sensibilidad inferior al 10% a los largo del periodo (0% en 2.015), y también para *P. aeruginosa*, con sensibilidad inferior al 60% ya en el 2.014.

Con respecto a las cefalosporinas, en *A. baumannii* la sensibilidad fue siempre inferior al 20% para ceftazidima y cefepime, y no se observó ningún aislamiento sensible durante el año 2.015. También destacó el bajo porcentaje de aislamientos de *P. aeruginosa* que eran sensibles a las cefalosporinas durante el año 2.016, siendo el 79,1% para ceftazidima y 75,1% para cefepime, aún más teniendo en cuenta que la ceftazidima se consideraba la cefalosporina antipseudomónica de elección en nuestro medio [162]. Por tanto, el tratamiento convencional frente a *P. aeruginosa* ha dejado de ser adecuado en el HVN, ya que las tasas de resistencia son superiores al 20%.

Ha aparecido una nueva cefalosporina antipseudomónica que no puede ser inactivada por las betalactamasas, es el ceftolozano, que a pesar de todo se formula junto con tazobactam ampliando aún más su rango de acción contra gramnegativos, incluso contra los multirresistentes. Su uso para tratamiento de las ITU complicadas fue aprobado por la FDA en diciembre del año 2.014 [163, 164].

Según las observaciones del estudio, en *P. aeruginosa* la sensibilidad a colistina en los últimos años ha venido siendo superior al 99%, sin embargo el porcentaje disminuyó en los años 2.013 y 2.014. La resistencia a las polimixinas en *P. aeruginosa* se debe principalmente a alteraciones en los transportadores transmembrana [165, 166].

Nuevas aportaciones microbiológicas al diagnóstico y tratamiento de las infecciones del tracto urinario.

En 2.016 apareció el primer aislamiento de *A. baumannii* pan-resistente, iniciándose entonces la reducción de la sensibilidad a colistina. En el año 2.011, el porcentaje mundial de resistencia a colistina en *A. baumannii* era de tan sólo del 3,3%, con variaciones en los diferentes países. Sin embargo, en el año 2.012 se observaron ya porcentajes superiores de resistencia a las polimixinas en diferentes países: 6,4% en Canadá y 3,9% en Europa, con mayores porcentajes aún en Grecia e Italia. Es destacable la alarmante presencia en Grecia de *A. baumannii* resistente tanto a colistina como a carbapenemes, tal y como se observó en este estudio en 2.016. La resistencia a polimixinas en este microorganismo se debe principalmente a mutaciones en los genes *pmrA* y *pmrB* [165].

Durante el año 2.015 en el HVN *A. baumannii* sólo era sensible a amicacina, imipenem, piperacilina/ tazobactam y a colistina, este último siendo activo frente a todos los aislados. Este rango de resistencia antibiótica tan amplio se debió a un brote en UCI de traumatología producido por una cepa de *A. baumannii*, frente a la cual el único antibiótico activo era la colistina. En el 2.016 la esta unidad pasó a situarse en un nuevo edificio y además se implementaron medidas preventivas frente a la colonización por multirresistentes, incluyendo la declaración activa de estos [160], con lo que la frecuencia de aislamientos de *A. baumannii* multirresistente disminuyó.

En la mayoría de aislados de *A. baumannii* y *P. aeruginosa* obtenidos en el HVN la CMI de la fosfomicina es inferior a 64 mg/l, con lo que el tratamiento estándar de las ITU no complicadas, es decir, una sola dosis de fosfomicina seguiría siendo activa frente a estos BGN no fermentadores. Sin embargo las ITU causadas por estos dos microorganismos suelen ser complicadas pues aparecen en su mayoría en pacientes hospitalizados o de alto riesgo, en tal caso la fosfomicina no parece el tratamiento más adecuado. Durante el año 2.016, todos los aislamientos de *A. baumannii* tuvieron una CMI superior a 64 mg/l. Finalmente, parece que las altas tasas de resistencia a múltiples antibióticos en el HUVN sugerirían la imperiosa necesidad de aumentar las medidas de control para evitar la diseminación de cepas de *A. baumannii* y *P. aeruginosa* multirresistentes.

5.7. Los uropatógenos de baja prevalencia

En los últimos años han aparecido nuevos microorganismos uropatógenos, sobre todo fastidiosos, en gran parte debido a la identificación mediante espectrometría de masas que pone de manifiesto la presencia de microorganismos que pasaban inadvertidos o se confundían con otros. Fenómeno similar a lo que ocurría hace algunos años con la presencia de *Enterococcus* spp. o SGB en orina hasta que se consideró que estos también podían ser causa de ITU [167-169]. Basándose en las evidencias encontradas en la bibliografía así como en la opinión de expertos, se han creado clasificaciones para los uropatógenos según su importancia: uropatógenos comunes o de alta prevalencia, uropatógenos infrecuentes o de baja prevalencia y bacterias comensales presentes en la piel o mucosa urogenital (Tabla 31) [170].

Tabla 31: Clasificación de los uropatógenos según su prevalencia.

Categoría 1:	Categoría 2:	Categoría 3:
Flora urogenital y de la piel. Oportunistas o de muy baja prevalencia.	Uropatógenos comunes o de alta prevalencia.	Uropatógenos infrecuentes o de baja prevalencia.
<i>Lactobacillus</i> spp. SCN (No <i>S. saprophyticus</i>) <i>Corynebacterium</i> spp. (No <i>C. urealyticum</i>) <i>Aerococcus</i> spp. (No <i>A. urinae</i> , no <i>A. sanguinicola</i>)	BGN <i>S. aureus</i> <i>S. saprophyticus</i> Estreptococos β -hemolíticos (No <i>S. anginosus</i> , no <i>S. bovis</i>) <i>Candida</i> spp.	<i>Actinotignum schaalii</i> <i>S. bovis</i> <i>C. urealyticum</i> <i>Aerococcus urinae</i> <i>Aerococcus sanguinicola</i> <i>Gardnerella vaginalis</i> .

Con las cada vez más comunes evidencias de que hay múltiples microorganismos fastidiosos que se comportan como uropatógenos de baja prevalencia se recomienda la inoculación de la muestra de orina también en medios enriquecidos como el Agar Sangre de cordero al 5% en pacientes con factores de riesgo o ITU de repetición en las que no se ha aislado el patógeno.

Nuevas aportaciones microbiológicas al diagnóstico y tratamiento de las infecciones del tracto urinario.

Tradicionalmente se ha considerado que la mucosa y la luz de los uréteres y la vejiga son estériles, pero es posible encontrar flora urogenital en la uretra distal, que son aquellos microorganismos de la categoría 1 de la Tabla 31: *Lactobacillus* spp., estreptococos alfa-hemolíticos, *Neisseria* spp. (En ningún caso *N. gonorrhoeae*), SCN y *Corynebacterium* spp, considerados generalmente como microorganismos comensales.

Aerococcus spp. y *Lactobacillus* spp.

Tanto *A. urinae*, *A. sanguinicola*, *C. urealyticum* y *A. schaalii* se consideran ya uropatógenos significativos, aunque de baja prevalencia, estos aparecen formando parte de la microbiota del tracto genitourinario humano [171]. La diferenciación fenotípica entre *A. urinae* y *A. sanguinicola* es imposible a simple vista o aplicando las pruebas bioquímicas más comunes, ya que se confunden entre sí varias especies del género o incluso con otros géneros como *Gemella* spp., por tanto los sistemas de identificación automatizados que realizan la identificación mediante pruebas bioquímicas no son fiables [172, 173], e incluso muchas veces no se encuentran presentes en sus bases de datos.

Incluso cuando la secuenciación del gen ARNr 16S sigue siendo el método gold standard para la identificación de especies de *Aerococcus* spp., ciertas especies de este género, como *A. viridans* y *Aerococcus urinae-equi*, son difíciles de diferenciar [79, 174].

Es por ello que actualmente la espectrometría de masas se considera una técnica lo suficientemente sensible y específica para la identificación de *Aerococcus* spp. ya que es capaz de diferenciar las especies más relevantes en cuanto a patogenia humana: *A. urinae* o *A. sanguinicola*. Con la espectrometría MALDI-TOF se pueden identificar de forma correcta estas especies procedentes de diferentes muestras clínicas, llevando a su consideración como un uropatógeno emergente, ya que es posible que su prevalencia previa estuviese infraestimada.

Nuevas aportaciones microbiológicas al diagnóstico y tratamiento de las infecciones del tracto urinario.

Antiguos estudios situaban la incidencia de *Aerococcus* spp. en urocultivos entre el 0,2% y el 0,8%, con una presencia de sintomatología urinaria en ellos de entre el 55% y el 98% [73, 175-177]. En estos estudios no se ponen de acuerdo acerca de en qué sexo es más prevalente la bacteriuria por *Aerococcus* spp., pero si indican otros posibles factores de riesgo como la edad avanzada (como en nuestros dos casos descritos), la patología uro-vesical como la hiperplasia benigna de próstata (HBP), el sondaje, o ciertos déficits neurológicos como la demencia o el síndrome de Down [73, 74, 175-177].

Estudios clásicos sitúan la DMII y las neuropatías como otros factores de riesgo para la ITU producida por patógenos *Aerococcus*-like, como son *Aerococcus* spp. *Gemella* spp., *Granulicatella* spp. o *Pediococcus* spp [178]. En los pacientes de nuestros casos clínicos podemos encontrar patología urológica de base, como la litiasis renal o la HBP. En uno de los dos casos también encontramos afectación neurológica previa.

En urocultivos *A. urinae* sería la principal bacteria del género aislada, seguida por la que nos atañe en este estudio, *A. sanguinicola*. Desde que se estableció como especie *A. sanguinicola* [179], su patología infecciosa ha sido poco estudiada, recogándose únicamente casos de bacteriemia e ITU, sin saber a día de hoy si se ha visto implicada en infecciones de otra localización. La mayoría de las ocasiones, cuando se identifica una bacteriemia causada por *Aerococcus* spp. se sospecha que el foco se localiza en el tracto urinario [78].

Los *Aerococcus* spp. son generalmente bastante sensibles a los betalactámicos y a la vancomicina. En el 2016, el CLSI introdujo por primera vez puntos de corte para la determinación de la sensibilidad antibiótica para *Aerococcus* spp. tanto por microdilución como difusión de discos, y teniendo en cuenta que más del 90% de los aislados presentan sensibilidad a la ampicilina y las benzilpenicilinas [85], es por ello que las penicilinas son la elección más frecuente de los clínicos para el tratamiento, reservando la vancomicina para los pacientes alérgicos.

Nuevas aportaciones microbiológicas al diagnóstico y tratamiento de las infecciones del tracto urinario.

De forma general para *Aerococcus* spp. las CMI para los carbapenemes son bajas, con escasas excepciones [180]. En cuanto a los aminoglucósidos, se han encontrado casos de resistencias de bajo nivel, pero estos pueden ser útiles en algunas ocasiones por su capacidad de producir sinergia al usarlos junto con betalactámicos [181].

A. sanguinicola se asocia a sepsis de origen urinario, y el tratamiento de elección es la amoxicilina, además, la mayoría de aislamientos según la bibliografía son también sensibles a la cefuroxima, la cefotaxima, la eritromicina, las tetraciclinas y el linezolid. *A. sanguinicola* presenta CMI elevadas para las fluorquinolonas [181], la fosfomicina [173] y el trimetoprim [180]. Sin embargo, no existen criterios disponibles para la interpretación de las CMI [182]. En caso de ITU por *A. sanguinicola* los antibióticos de elección parecen ser los betalactámicos como amoxicilina y cefalosporinas. Algunos autores recomiendan como tratamiento de la ITU no complicada por *A. sanguinicola* con nitrofurantoína [78].

Los *Lactobacillus* spp. forman parte de la microbiota normal del tracto gastrointestinal y vagina, y clásicamente se han considerado microorganismos de baja virulencia, con lo que frecuentemente al encontrarlos en los cultivos se consideran como contaminantes. Esta es una razón por la que su implicación en la ITU ha podido estar subestimada durante muchos años, además de que con ellos la ITU podría pasar desapercibida al no detectarse mediante las tiras reactivas al no reducir los nitratos a nitritos. Se han encontrado como patógeno causante de bacteriemias [183], endocarditis [183, 184], corioamnionitis [184] y abscesos [183].

La implicación de *Lactobacillus* spp. en ITU en mujeres de edad avanzada es cada vez infrecuente [185-187]. El uso de medios cromogénicos para los urocultivos ha facilitado su identificación presuntiva y por tanto la detección de su implicación en ITU a pesar de su inadvertencia mediante las tiras reactivas.

Nuevas aportaciones microbiológicas al diagnóstico y tratamiento de las infecciones del tracto urinario.

Sin embargo, aunque en los medios cromogénicos la identificación del género a simple vista y con la realización de la catalasa y la oxidasa no es muy dificultosa (catalasa y oxidasa negativas), la identificación de la especie mediante espectrometría de masas es difícil, con lo que se requiere la realización de subcultivos en Agar Sangre para su posterior identificación.

Algunos autores recomiendan probar la sensibilidad de *Lactobacillus* spp. mediante la técnica de Kirby-Bauer sobre placas con medio cromogénico por la dificultad de observar los halos de inhibición [185], sin embargo, en el caso recogido en nuestro estudio, se realizó sobre placas con agar Müller-Hinton sangre 5% sin tener problemas aparentes para la visualización y medición de los halos. Se ensayó la sensibilidad a fosfomicina, ciprofloxacino y amoxicilina/ác. clavulánico, resultando sólo este último potencialmente activo con un halo de inhibición de 35 mm.

La colonización vaginal por *Lactobacillus* spp. supone un mecanismo de defensa natural contra infecciones, pues reduce el pH regional mediante la producción de ácido láctico, que al combinarse con el peróxido de hidrógeno que producen los microorganismos comensales anaerobios impide la colonización de la mucosa vaginal por uropatógenos. Es por ello que *Lactobacillus* spp. es usualmente empleado en formulaciones probióticas, y en concreto *L. delbruecki* se usa en la preparación de yogures y quesos con supuestas propiedades probióticas. Sin embargo, aún no se ha demostrado de forma firme un aumento de los casos de infecciones por *Lactobacillus* spp. debido al uso y consumo común de probióticos. Existen estudios que tratan de asociarlo con bacteriemia [188]. Se ha visto relación entre la toma de ciertos antibióticos y la selección de especies de *Lactobacillus* spp. favoreciendo las infecciones en pacientes susceptibles.

Nuevas aportaciones microbiológicas al diagnóstico y tratamiento de las infecciones del tracto urinario.

En todo el género *Lactobacillus* existe una resistencia casi uniforme a ciprofloxacino [186, 189] y trimetoprim-sulfametoxazol [190], destacando también las frecuentes resistencias frente a la vancomicina [191], el metronidazol [183] y las cefalosporinas de tercera generación [190], que en el caso expuesto no llegamos a comprobar.

Existen características comunes entre los pacientes diagnosticados de ITU por un microorganismo de baja prevalencia, como son la edad avanzada, la pluripatología con presencia de patología urológica o nefrológica concomitante, la presencia de febrícula, el estudio del sedimento urinario patológico y la presencia de síntomas a la llegada a urgencias no tan típicos y descriptivos como el síndrome miccional.

Tanto los estreptococos del grupo *bovis*, como *Lactobacillus* spp. y *Aerococcus* spp. adquirieron una morfología similar a *Enterococcus* spp. cuando crecieron en medios cromogénicos, tanto por el aspecto de la colonia como por aparecer esta de un color azul, aunque generalmente suelen ser colonias de un tamaño menor.

Observamos que esos microorganismos de baja prevalencia fueron resistentes a los antibióticos más utilizados de forma empírica para el tratamiento de la ITU como ciprofloxacino y fosfomicina, mientras que fueron sensibles a antibióticos más clásicos como las penicilinas, y sobre todo a la amoxicilina / ac. clavulánico.

Nuevas aportaciones microbiológicas al diagnóstico y tratamiento de las infecciones del tracto urinario.

Estreptococos del grupo *bovis*.

Realmente existen pocos estudios acerca del papel de *S. bovis* como uropatógeno, forman parte de cerca del 10% de la microbiota gastrointestinal en humanos y no es realmente tan infrecuente encontrarlos en los urocultivos formando parte de flora contaminante. *S. bovis* engloba a un conjunto de especies cercanas genéticamente que se clasifican en 3 grupos según sus características bioquímicas:

- Biotipo I: Manitol positivo.
- Biotipo II/1: Manitol negativo y betaglucouronidasa negativa.
- Biotipo II/2: Manitol negativo y betaglucouronidasa positiva.

Tras la aplicación de las técnicas de secuenciación se ha demostrado que:

- Biotipo I: *S. gallolyticus* subespecie *gallolyticus*.
- Biotipo II/1: *S. infantarius* subespecie *infantarius*, renombrada después como *S. lutetiensis*.
- Biotipo II/2: *S. gallolyticus* subespecie *pasteurianus*.

En nuestra serie de casos, en los que se valoraba la presencia de *S. bovis* en urocultivo de pacientes con sintomatología de ITU, encontramos un predominio en pacientes femeninos, similar al de otras series de casos previamente descritas [192]. En nuestra serie de casos el total de los 17 aislamientos obtenidos en el 2.015 pertenecían a una sola de la especies comprendida dentro del grupo *S. bovis*, en concreto a *Streptococcus gallolyticus* subespecie *pasteurianus*, y de ellos 9 pertenecían a pacientes hospitalizados con patología basal en los que 5 de ellos presentaban enfermedad renal crónica, 2 eran trasplantados renales asistidos en nefrología y 2 padecían tumores vesicales.

Nuevas aportaciones microbiológicas al diagnóstico y tratamiento de las infecciones del tracto urinario.

Existen estudios previos en los que se nombran como comorbilidades frecuentes a la bacteriemia, en este caso, por *S. bovis* entre las que se incluyen la enfermedad cardiovascular, alteraciones en el colon, afectación de las vías biliares y que además se asociaban fuertemente a ciertas especies dentro del grupo *bovis* [193]. Se encontró relación entre *S. gallolyticus* y endocarditis o cáncer de colon; entre *S. infantarius* e infecciones biliares, cáncer colorrectal o meningitis; y entre *S. g. pasterianus* e infecciones piógenas o meningitis.

Es posible entonces que al encontrar estas especies en orina también se traduzca en afectaciones en otras localizaciones [192]. En los 17 aislamientos obtenidos a partir de urocultivo en el año 2015 se identificó *S. gallolyticus* subespecie *pasteurianus*, y de ellos, en 9 pacientes, que estaban hospitalizados, se pudo comprobar la presencia de patología nefrourinaria subyacente. En 5 de ellos había antecedentes de insuficiencia renal crónica, 2 de ellos habían recibido un trasplante renal y finalmente, los 2 restantes, afectados de neoplasia vesical.

Sin embargo, en otros estudios se han aislado en orina cepas pertenecientes tanto al biotipo II/1 como al biotipo II/2 [194], siendo este último el más frecuentemente aislado en población adulta.

Si consultamos las guías, sólo hay puntos de corte clínico para la penicilina, la clindamicina, la vancomicina y la teicoplanina en cuanto a *S. bovis*. Las penicilinas que se usan en el tratamiento de la ITU son la ampicilina y la amoxicilina. En nuestro área obtuvimos una alta prevalencia de sensibilidad, superior al 97,8% para estas, al igual que para vancomicina y teicoplanina. La ausencia de puntos clínicos de corte para otros antibióticos obliga a la categorización mediante los puntos de corte epidemiológicos, por ellos se hace necesario realizar más estudios acerca de este grupo de microorganismos para obtener los puntos de corte clínicos, sobre todo en cuanto a lo que aquí atañe, para fármacos usualmente utilizados en el tratamiento de la ITU como podrían ser las cefalosporinas o la fosfomicina, ya que es cada vez menos infrecuente encontrar a los *Streptococcus* del grupo *bovis* implicados en la patología urinaria.

Nuevas aportaciones microbiológicas al diagnóstico y tratamiento de las infecciones del tracto urinario.

De forma general podemos observar que en las ITU producidas por uropatógenos de baja prevalencia a ha de sospecharse en pacientes ancianos pluripatológicos en los que en el urocultivo en medio cromogénico se obtiene el crecimiento de colonias azules similares a *Enterococcus* spp. pero que no son tales. En tal caso, es necesario realizar la identificación por métodos diferentes a los bioquímicos, donde la espectrometría de masas obtiene buenos resultados, o bien mediante técnicas de biología molecular.

Es aconsejable además probar la sensibilidad de todos ellos, pues los antibióticos usualmente usados para tratar de forma empírica la ITU carecen de actividad.

6. CONCLUSIONES

1. La aplicación predictora de morfología de los uropatógenos y el estudio de fluorescencia en el canal específico para bacterias, mediante los valores de fluorescencia FSC > 20.6 ch, fueron capaces de distinguir, respectivamente, bacilos y cocos uropatógenos de forma aproximada, ya que los valores de especificidad fueron bajos.
2. El uso racional del citómetro UF-1000i es útil como herramienta rápida de cribado para el diagnóstico de la infección urinaria, pero aún son necesarios más estudios para concretar valores y procedimientos para establecerlo como una herramienta en el diagnóstico etiológico rápido.
3. Los fenotipos *Escherichia coli* BLEE y sobre todo *Klebsiella pneumoniae* BLEE son prevalentes en nuestro medio, presentando una elevada corresponsabilidad a ciprofloxacino y a trimetoprim-sulfametoxazol.
4. Tanto *Escherichia coli* BLEE como *Klebsiella pneumoniae* BLEE en nuestro medio tienen un elevado porcentaje de sensibilidad a imipenem, ertapenem, nitrofurantoina y fosfomicina, que pueden ser usados como antibioterapia empírica adecuada.
5. La prueba rápida de cambio de pH mostró buenos resultados en la detección de cefotaximasas, permitiendo la detección precoz de cepas productoras de BLEE.
6. Las altas tasas de resistencia en *Acinetobacter baumannii* y *Pseudomonas aeruginosa* observadas en el estudio sugieren una necesidad de establecer protocolos que eviten la diseminación de estas cepas bacterianas en nuestro Complejo Hospitalario.
7. En nuestro área no parece conveniente el uso de carbapenemes o de piperacilina / tazobactam para el tratamiento empírico de las infecciones urinarias causadas por *Acinetobacter baumannii*; o de la piperacilina / tazobactam para las causadas por *Pseudomonas aeruginosa*.

Nuevas aportaciones microbiológicas al diagnóstico y tratamiento de las infecciones del tracto urinario.

8. Para el tratamiento de las infecciones del tracto urinario por *Acinetobacter baumannii* y/o *Pseudomonas aeruginosa* el antibiótico más activo *in vitro* es la colistina.
9. En el urocultivo de pacientes hospitalizados ha de considerarse la posible presencia de candiduria, más prevalente en los pacientes procedentes de los Servicios de Medicina Interna, portadores de sonda urinaria y con una edad superior a los 65 años.
10. A pesar de que la resistencia a fluconazol es baja en nuestro área, dada la elevada prevalencia de levaduras no *Candida albicans* aisladas en urocultivos de población de riesgo, sería recomendable incorporar, al menos, estudios de identificación de especie para predecir la posible resistencia a los antifúngicos.
11. En pacientes ancianos con patología urológica de base ciertos microorganismos poco frecuentes, como *Lactobacillus* spp., *Aerococcus* spp. o estreptococos del grupo *bovis* pueden ser responsables de infecciones urinarias, especialmente si los encontramos en cultivo monomicrobiano.

CONCLUSIONS

1. The predictive application of morphology of the uropathogens and the study of fluorescence in the specific channel for bacteria, by means of fluorescence values FSC > 20.6 ch, were able to distinguish, respectively, uropathogenic rods and cocci in an approximate way, since the values of specificity were low.
2. The rational use of the UF-1000i cytometer is useful as a rapid screening tool for the diagnosis of urinary tract infection, but more studies are still needed to specify values and procedures to establish it as a tool in the rapid etiological diagnosis.
3. The phenotypes *Escherichia coli* ESBL and especially *Klebsiella pneumoniae* ESBL are prevalent in our environment, presenting a high resistance to ciprofloxacin and trimethoprim-sulfamethoxazole.
4. *Escherichia coli* ESBL and *Klebsiella pneumoniae* ESBL in our environment have a high percentage of sensitivity to imipenem, ertapenem, nitrofurantoin and fosfomicin, and they can be used as adequate empirical antibiotic therapy.
5. The rapid pH change test showed good results in the detection of cefotaximases, allowing the early detection of ESBL-producing strains.
6. The high rates of resistance in *Acinetobacter baumannii* and *Pseudomonas aeruginosa* observed in the study suggest a need to establish protocols to prevent the spread of these bacterial strains in our Hospital Complex.
7. The use of carbapenems or piperacillin / tazobactam for the empirical treatment of urinary tract infections caused by *Acinetobacter baumannii* does not seem appropriate in our area; or of piperacillin / tazobactam for those caused by *Pseudomonas aeruginosa*.

Nuevas aportaciones microbiológicas al diagnóstico y tratamiento de las infecciones del tracto urinario.

8. For the treatment of urinary tract infections by *Acinetobacter baumannii* and / or *Pseudomonas aeruginosa*, the most active antibiotic in vitro is colistin.
9. In the urine culture of hospitalized patients, the possible presence of candiduria should be considered, more prevalent in patients coming from the Internal Medicine Services, urinary catheter carriers and with an age older than 65 years.
10. Although resistance to fluconazole is low in our area, given the high prevalence of non-*Candida albicans* yeasts isolated in urine cultures of at-risk population, it would be recommended to incorporate, at least, species identification studies to predict possible resistance to antifungals.
11. In elderly patients with basic urological disease, certain rare microorganisms, such as *Lactobacillus* spp., *Aerococcus* spp. or streptococci of the *bovis* group may be responsible for urinary tract infections, especially if they are found in monomicrobial culture.

ANEXOS

Publicaciones relacionadas

- Jiménez-Guerra G, Heras-Cañas V, Valera-Arcas MD, Rodríguez-Granger J, Navarro JM, Gutiérrez-Fernández J. Comparison between urine culture profile and morphology classification using fluorescence parameters of the Sysmex UF-1000i urine flow cytometer. *Journal of applied microbiology*. Feb 2017; 122(2):473-480.
- Jiménez-Guerra G, Hoyos-Mallecot Y, Rodríguez-Granger J, Navarro-Marí JM, Gutiérrez-Fernández J. [Rapid test for detection of susceptibility to cefotaxime in *Enterobacteriaceae*]. *Revista Argentina de microbiología*. Oct - Dec 2016; 48(4):320-324.
- Jiménez-Guerra G, Heras-Cañas V, Béjar-Molina LDC, Sorlózano-Puerto A, Navarro-Marí JM, Gutiérrez-Fernández J. Extended-spectrum beta-lactamase-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* from urinary tract infections: Evolution of antimicrobial resistance and treatment options. *Medicina clínica*. Apr 13 2018; 150(7):262-265.
- Jiménez-Guerra G, Casanovas-Moreno-Torres I, Gutiérrez-Soto M, et al. [Inpatient candiduria: etiology, susceptibility to antifungal drugs and risk factors]. *Revista española de quimioterapia: publicación oficial de la Sociedad Española de Quimioterapia*. Jun 20 2018.
- Jiménez-Guerra G, Heras-Cañas V, Gutiérrez-Soto M, et al. Urinary tract infection by *Acinetobacter baumannii* and *Pseudomonas aeruginosa*: evolution of antimicrobial resistance and therapeutic alternatives. *Journal of medical microbiology*. Apr 25 2018.

Nuevas aportaciones microbiológicas al diagnóstico y tratamiento de las infecciones del tracto urinario.

- Gomez-Camarasa C, Gutiérrez-Soto B, Jiménez-Guerra G, Sorlózano-Puerto A, Navarro-Marí JM, Gutiérrez-Fernández J. [Presence of *Streptococcus bovis* in urine samples from patients experiencing symptoms of urinary tract]. *Revista Argentina de microbiología*. Oct - Dec 2016; 48(4):308-312.

- Jiménez-Guerra G, Lara-Oya A, Martínez-Egea I, Navarro-Marí JM, Gutiérrez-Fernández J. Urinary tract infection by *Aerococcus sanguinicola*. An emerging opportunistic pathogen. *Revista clínica española*. May 11 2018.

- Jiménez-Guerra G, Pérez-Ramírez MD, Navarro-Marí JM, Gutiérrez-Fernández J. [Urinary tract infection by *Lactobacillus delbrueckii*, microorganism used as probiotic]. *Revista española de quimioterapia: publicación oficial de la Sociedad Española de Quimioterapia*. Jun 2017; 30(3):229-230.

LISTADO DE ABREVIATURAS

AB: Anfotericina B.

Ac: Ácido.

AK: Amicacina.

ARNr: Ácido desoxirribonucleico ribosómico.

AZT: Aztreonam.

BACT: Número de bacterias/ μ l.

B-FLH: "Fluorescent light scatter", dispersión de luz fluorescente por el canal específico de bacterias.

B-FSC: "Forward scattered light", luz dispersa hacia adelante por el canal específico de bacterias.

BGN: Bacilo gramnegativo.

BLEE: Beta-lactamasa de espectro extendido.

CAS: Caspofungina.

CAZ: Ceftazidima.

CDC: "*Centers for Disease Control*" Centros de control de las enfermedades.

CESP: Grupo de *Enterobacter* spp., *Providencia* spp., *Hafnia alvei*, *Morganella morganii*, *Serratia marcescens* y *Citrobacter freundii*.

CGP: Coco grampositivo.

Cip: Ciprofloxacino.

CLED: Cisteína-lactosa-deficiente de electrolitos

CLSI: "*Clinical and Laboratory Standards Institute*", Instituto de estándares clínicos y de laboratorio.

CMI: Concentración mínima inhibitoria.

COL: Colistina.

CO₂: Dióxido de carbono.

CP: Cociente de probabilidad.

Da: Dalton.

DBH: Ácido 2,5 dihidroxibenzoico.

DDD: Dosis diaria definida.

DE: Desviación estándar.

Nuevas aportaciones microbiológicas al diagnóstico y tratamiento de las infecciones del tracto urinario.

DMII: Diabetes mellitus tipo 2.

ECDC: “*European Centers for Disease Control*”, Centros europeos de control de las enfermedades.

EEUU: Estados Unidos.

ECOFF: Puntos de corte epidemiológicos.

E- test: Test de la ϵ .

EUCAST: “*European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing*”, Comité europeo de pruebas de sensibilidad antimicrobiana.

FCT: Flucitosina.

FDA: “*Food and Drugs Administration*” Administración de alimentos y medicamentos.

FEP: Cefepime.

FLH: “*Fluorescent light scatter*”, dispersión de luz fluorescente.

FLU: Fluconazol.

FOS*: CMI ≤ 38 mg/l de fosfomicina.

FOS**: CMI ≥ 64 mg/l de fosfomicina.

FSC: “*Forward scattered light*”, luz dispersa hacia adelante.

g: Gramo.

GEIH: Grupos de estudio de la infección hospitalaria.

GEMARA: Grupo de Estudio de los Mecanismos de Acción y de la Resistencia a los Antimicrobianos.

h: Hora.

HBP: Hiperplasia benigna de próstata.

HCCA: Ácido alfa-ciano-4- hidroxicinámico.

HUVN: Hospital Universitario Virgen de las Nieves.

I: Intermedio.

IC: Intervalo de confianza.

IDSA: “*Infection Diseases Society of America*”, sociedad americana de enfermedades infecciosas.

IP: Imipenem

IRC: Insuficiencia renal crónica.

ITU: Infección del tracto urinario.

KES: Grupo *Klebsiella* spp, *Enterobacter* spp. y *Serratia* spp.

Nuevas aportaciones microbiológicas al diagnóstico y tratamiento de las infecciones del tracto urinario.

l: litro

LNCA: Levadura No *Candida albicans*.

m: Metro.

Max: valor máximo.

MCF: Micafungina.

MDR: Multirresistente.

Med: mediana.

MI: Medicina Interna.

Min: valor mínimo.

MP: Meropenem.

m/Z: Masa / Carga.

N: Número de muestras.

NCCLS: “*National Comitee for Clinical Laboratory Standards*” Comité nacional (Estadounidense) de estándares en los laboratorios clínicos.

NJ: Nueva Jersey.

NP: No procede.

OMS: Organización Mundial de la Salud.

P25/50/75: percentiles 25/50/75.

PBP: “*Penicillin binding proteins*”, proteínas de union a la penicilina.

PCR: Reacción en cadena de la polimerasa.

PDR: Panresistente.

PNT: Protocolo normalizado de trabajo.

PROA: Programa de optimización del uso de antibióticos.

PTZ: Piperazilina / Tazobactam.

R: Resistente.

ROC: “*Receiver Operating Characteristic*”, Característica Operativa del Receptor.

s: Svedberg.

S: Sensible.

SAMR: *Staphylococcus aureus* meticilina resistente.

SCN: *Staphylococcus coagulasa* negativos

SE: Sensibilidad.

Nuevas aportaciones microbiológicas al diagnóstico y tratamiento de las infecciones del tracto urinario.

SEIMC: Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica.

SGB: Estreptococo del grupo B.

SIL: Sistema informático del laboratorio.

SP: Especificidad.

SSC: “*Side scattered light*”, luz dispersa lateral.

TEP: Tromboembolismo pulmonar.

UCI: Unidad de cuidados intensivos.

UFC: Unidades formadoras de colonias.

VPN: Valor predictivo negativo.

VPP: Valor predictivo positivo.

VRC: Voriconazol.

XDR: Extremadamente resistente.

BIBLIOGRAFÍA

1. Ikaheimo, R., et al., *Recurrence of urinary tract infection in a primary care setting: analysis of a 1-year follow-up of 179 women*. Clin Infect Dis, 1996. **22**(1): p. 91-9.
2. Baldassarre, J.S. and D. Kaye, *Special problems of urinary tract infection in the elderly*. Med Clin North Am, 1991. **75**(2): p. 375-90.
3. Barber, A.E., et al., *Urinary tract infections: current and emerging management strategies*. Clin Infect Dis, 2013. **57**(5): p. 719-24.
4. Palou, J., et al., *[Etiology and sensitivity of uropathogens identified in uncomplicated lower urinary tract infections in women (ARESC Study): implications on empiric therapy]*. Med Clin (Barc), 2011. **136**(1): p. 1-7.
5. Geerts, N., et al., *Urine flow cytometry can rule out urinary tract infection, but cannot identify bacterial morphologies correctly*. Clin Chim Acta, 2015. **448**: p. 86-90.
6. Jimenez Cruz, J.F., E. Broseta, and M. Gobernado, *[Urinary infection]*. Actas Urol Esp, 2002. **26**(8): p. 563-73.
7. Wilde, M.H., et al., *Exploring relationships of catheter-associated urinary tract infection and blockage in people with long-term indwelling urinary catheters*. J Clin Nurs, 2017. **26**(17-18): p. 2558-2571.
8. Medina-Polo, J., et al., *Prospective study analyzing risk factors and characteristics of healthcare-associated infections in a Urology ward*. Investig Clin Urol, 2017. **58**(1): p. 61-69.
9. Ronald, A., *The etiology of urinary tract infection: traditional and emerging pathogens*. Dis Mon, 2003. **49**(2): p. 71-82.
10. Hawkey, P.M., *Action against antibiotic resistance: no time to lose*. Lancet, 1998. **351**(9112): p. 1298-9.
11. Ejrnaes, K., et al., *Characteristics of Escherichia coli causing persistence or relapse of urinary tract infections: phylogenetic groups, virulence factors and biofilm formation*. Virulence, 2011. **2**(6): p. 528-37.
12. Naber, K.G., et al., *Surveillance study in Europe and Brazil on clinical aspects and Antimicrobial Resistance Epidemiology in Females with Cystitis (ARESC): implications for empiric therapy*. Eur Urol, 2008. **54**(5): p. 1164-75.
13. Andreu, A. and I. Planells, *[Etiology of community-acquired lower urinary infections and antimicrobial resistance of Escherichia coli: a national surveillance study]*. Med Clin (Barc), 2008. **130**(13): p. 481-6.

Nuevas aportaciones microbiológicas al diagnóstico y tratamiento de las infecciones del tracto urinario.

14. Rodríguez-Lozano, J., et al., *Antimicrobial susceptibility of microorganisms that cause urinary tract infections in pediatric patients*. *Enferm Infecc Microbiol Clin*, 2018. **36**(7): p. 417-422.
15. Seral, C., M.J. Gude, and F.J. Castillo, [*Emergence of plasmid mediated AmpC beta-lactamasas: Origin, importance, detection and therapeutical options*]. *Rev Esp Quimioter*, 2012. **25**(2): p. 89-99.
16. Abraham, E.P. and E. Chain, *An enzyme from bacteria able to destroy penicillin*. 1940. *Rev Infect Dis*, 1988. **10**(4): p. 677-8.
17. Richmond, M.H. and R.B. Sykes, *The beta-lactamasas of gram-negative bacteria and their possible physiological role*. *Adv Microb Physiol*, 1973. **9**: p. 31-88.
18. Bush, K., G.A. Jacoby, and A.A. Medeiros, *A functional classification scheme for beta-lactamasas and its correlation with molecular structure*. *Antimicrob Agents Chemother*, 1995. **39**(6): p. 1211-33.
19. Aracil-Garcia, B., et al., *Rapid increase in resistance to third generation cephalosporins, imipenem and co-resistance in Klebsiella pneumoniae from isolated from 7,140 blood-cultures (2010-2014) using EARS-Net data in Spain*. *Enferm Infecc Microbiol Clin*, 2017. **35**(8): p. 480-486.
20. Lautenbach, E., et al., *Extended-spectrum beta-lactamase-producing Escherichia coli and Klebsiella pneumoniae: risk factors for infection and impact of resistance on outcomes*. *Clin Infect Dis*, 2001. **32**(8): p. 1162-71.
21. Lautenbach, E., et al., *Epidemiological investigation of fluoroquinolone resistance in infections due to extended-spectrum beta-lactamase-producing Escherichia coli and Klebsiella pneumoniae*. *Clin Infect Dis*, 2001. **33**(8): p. 1288-94.
22. Martínez-Martínez, L., et al., *In vivo selection of porin-deficient mutants of Klebsiella pneumoniae with increased resistance to cefoxitin and expanded-spectrum-cephalosporins*. *Antimicrob Agents Chemother*, 1996. **40**(2): p. 342-8.
23. Strausbaugh, L.J., et al., *Antimicrobial resistance in long-term-care facilities*. *Infect Control Hosp Epidemiol*, 1996. **17**(2): p. 129-40.
24. Pena, C., et al., *Epidemiology and successful control of a large outbreak due to Klebsiella pneumoniae producing extended-spectrum beta-lactamasas*. *Antimicrob Agents Chemother*, 1998. **42**(1): p. 53-8.
25. Livermore, D.M., *beta-Lactamasas in laboratory and clinical resistance*. *Clin Microbiol Rev*, 1995. **8**(4): p. 557-84.
26. Sanders, C.C., *Chromosomal cephalosporinases responsible for multiple resistance to newer beta-lactam antibiotics*. *Annu Rev Microbiol*, 1987. **41**: p. 573-93.
27. Navarro Risueno, F., E. Miro Cardona, and B. Mirelis Otero, [*Interpretive reading of the antibiogram of enterobacteria*]. *Enferm Infecc Microbiol Clin*, 2002. **20**(5): p. 225-34.

Nuevas aportaciones microbiológicas al diagnóstico y tratamiento de las infecciones del tracto urinario.

28. Miro, E., et al., *Prevalence and molecular epidemiology of acquired AmpC beta-lactamases and carbapenemases in Enterobacteriaceae isolates from 35 hospitals in Spain*. Eur J Clin Microbiol Infect Dis, 2013. **32**(2): p. 253-9.
29. Paterson, D.L., et al., *Epidemiology of ciprofloxacin resistance and its relationship to extended-spectrum beta-lactamase production in Klebsiella pneumoniae isolates causing bacteremia*. Clin Infect Dis, 2000. **30**(3): p. 473-8.
30. Jarlier, V., et al., *Extended broad-spectrum beta-lactamases conferring transferable resistance to newer beta-lactam agents in Enterobacteriaceae: hospital prevalence and susceptibility patterns*. Rev Infect Dis, 1988. **10**(4): p. 867-78.
31. Wu, T.C., et al., *Evaluation of three bacteriuria screening methods in a clinical research hospital*. J Clin Microbiol, 1985. **21**(5): p. 796-9.
32. Reglier-Poupet, H., et al., *Performance of chromID ESBL, a chromogenic medium for detection of Enterobacteriaceae producing extended-spectrum beta-lactamases*. J Med Microbiol, 2008. **57**(Pt 3): p. 310-5.
33. Dortet, L., L. Poirel, and P. Nordmann, *Rapid detection of extended-spectrum-beta-lactamase-producing enterobacteriaceae from urine samples by use of the ESBL NDP test*. J Clin Microbiol, 2014. **52**(10): p. 3701-6.
34. Caron, F., et al., *[A fosfomicin-gentamicin combination in the treatment of experimental endocarditis caused by Klebsiella pneumoniae producing type TEM-3 beta-lactamase]*. Pathol Biol (Paris), 1989. **37**(10): p. 1095-7.
35. Spanu, T., et al., *Occurrence of extended-spectrum beta-lactamases in members of the family Enterobacteriaceae in Italy: implications for resistance to beta-lactams and other antimicrobial drugs*. Antimicrob Agents Chemother, 2002. **46**(1): p. 196-202.
36. Johnson, D.M., D.J. Biedenbach, and R.N. Jones, *Potency and antimicrobial spectrum update for piperacillin/tazobactam (2000): emphasis on its activity against resistant organism populations and generally untested species causing community-acquired respiratory tract infections*. Diagn Microbiol Infect Dis, 2002. **43**(1): p. 49-60.
37. Paterson, D.L., et al., *Outcome of cephalosporin treatment for serious infections due to apparently susceptible organisms producing extended-spectrum beta-lactamases: implications for the clinical microbiology laboratory*. J Clin Microbiol, 2001. **39**(6): p. 2206-12.
38. Siu, L.K., et al., *Bacteremia due to extended-spectrum beta-lactamase-producing Escherichia coli and Klebsiella pneumoniae in a pediatric oncology ward: clinical features and identification of different plasmids carrying both SHV-5 and TEM-1 genes*. J Clin Microbiol, 1999. **37**(12): p. 4020-7.
39. Alvarez-Lerma, F., et al., *[Effectiveness of contact isolation in the control of multiresistant bacteria in an intensive care service]*. Enferm Infecc Microbiol Clin, 2002. **20**(2): p. 57-63.

Nuevas aportaciones microbiológicas al diagnóstico y tratamiento de las infecciones del tracto urinario.

40. Paterson, D.L. and V.L. Yu, *Extended-spectrum beta-lactamases: a call for improved detection and control*. Clin Infect Dis, 1999. **29**(6): p. 1419-22.
41. Andreu, A., et al., *[Microbiological diagnosis of urinary tract infections]*. Enferm Infecc Microbiol Clin, 2011. **29**(1): p. 52-7.
42. Palacios, E., et al., *[Use of MPO chromogenic culture medium for routine processing of urine cultures]*. Enferm Infecc Microbiol Clin, 2002. **20**(8): p. 388-90.
43. Hooton, T.M., et al., *Amoxicillin-clavulanate vs ciprofloxacin for the treatment of uncomplicated cystitis in women: a randomized trial*. Jama, 2005. **293**(8): p. 949-55.
44. Williams, G.J., et al., *Absolute and relative accuracy of rapid urine tests for urinary tract infection in children: a meta-analysis*. Lancet Infect Dis, 2010. **10**(4): p. 240-50.
45. Munoz-Algarra, M., R. Martinez-Ruiz, and B. Orden-Martinez, *[Evaluation of the Sysmex UF-1000i automated system for the diagnosis of urinary tract infection]*. Enferm Infecc Microbiol Clin, 2013. **31**(1): p. 29-31.
46. Gutierrez-Fernandez, J., et al., *Performance of the Sysmex UF1000i system in screening for significant bacteriuria before quantitative culture of aerobic/facultative fast-growth bacteria in a reference hospital*. J Appl Microbiol, 2012. **113**(3): p. 609-14.
47. Broeren, M.A., et al., *Screening for urinary tract infection with the Sysmex UF-1000i urine flow cytometer*. J Clin Microbiol, 2011. **49**(3): p. 1025-9.
48. Marschal, M., et al., *Evaluation of 3 different rapid automated systems for diagnosis of urinary tract infections*. Diagn Microbiol Infect Dis, 2012. **72**(2): p. 125-30.
49. Wang, J., et al., *Evaluation of the Sysmex UF-1000i for the diagnosis of urinary tract infection*. Am J Clin Pathol, 2010. **133**(4): p. 577-82.
50. Gutierrez, J., et al., *[Importance of risk of contamination from urine samples for diagnosis of urinary tract infection in a third level hospital]*. Rev Invest Clin, 2000. **52**(5): p. 581-3.
51. Westblade, L.F., et al., *Assessment of Reproducibility of Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization-Time of Flight Mass Spectrometry for Bacterial and Yeast Identification*. 2015. **53**(7): p. 2349-52.
52. Dupont, C., et al., *Identification of clinical coagulase-negative staphylococci, isolated in microbiology laboratories, by matrix-assisted laser desorption/ionization-time of flight mass spectrometry and two automated systems*. Clin Microbiol Infect, 2010. **16**(7): p. 998-1004.
53. Guo, L., et al., *Comparative study of MALDI-TOF MS and VITEK 2 in bacteria identification*. J Thorac Dis, 2014. **6**(5): p. 534-8.
54. Bohme, K., et al., *SpectraBank: an open access tool for rapid microbial identification by MALDI-TOF MS fingerprinting*. Electrophoresis, 2012. **33**(14): p. 2138-42.

Nuevas aportaciones microbiológicas al diagnóstico y tratamiento de las infecciones del tracto urinario.

55. Hooton, T.M. and W.E. Stamm, *Diagnosis and treatment of uncomplicated urinary tract infection*. Infect Dis Clin North Am, 1997. **11**(3): p. 551-81.
56. Smaill, F. and J.C. Vazquez, *Antibiotics for asymptomatic bacteriuria in pregnancy*. Cochrane Database Syst Rev, 2007(2): p. Cd000490.
57. Pappas, P.G., et al., *Clinical Practice Guideline for the Management of Candidiasis: 2016 Update by the Infectious Diseases Society of America*. Clin Infect Dis, 2016. **62**(4): p. e1-50.
58. Sharifi, R., R. Geckler, and S. Childs, *Treatment of urinary tract infections: selecting an appropriate broad-spectrum antibiotic for nosocomial infections*. Am J Med, 1996. **100**(6a): p. 76s-82s.
59. Wagenlehner, F.M., et al., *Infective complications after prostate biopsy: outcome of the Global Prevalence Study of Infections in Urology (GPIU) 2010 and 2011, a prospective multinational multicentre prostate biopsy study*. Eur Urol, 2013. **63**(3): p. 521-7.
60. Pigrau, C., *[Nosocomial urinary tract infections]*. Enferm Infecc Microbiol Clin, 2013. **31**(9): p. 614-24.
61. Nicolle, L.E., *Catheter associated urinary tract infections*. Antimicrob Resist Infect Control, 2014. **3**: p. 23.
62. Hooton, T.M., et al., *Diagnosis, prevention, and treatment of catheter-associated urinary tract infection in adults: 2009 International Clinical Practice Guidelines from the Infectious Diseases Society of America*. Clin Infect Dis, 2010. **50**(5): p. 625-63.
63. Warren, J.W., *Catheter-associated urinary tract infections*. Int J Antimicrob Agents, 2001. **17**(4): p. 299-303.
64. Chenoweth, C.E. and S. Saint, *Urinary Tract Infections*. Infect Dis Clin North Am, 2016. **30**(4): p. 869-885.
65. Mladenovic, J., et al., *Catheter-associated urinary tract infection in a surgical intensive care unit*. Vojnosanit Pregl, 2015. **72**(10): p. 883-8.
66. Martinez, J.A. and J. Mensa, *[Catheter-related urinary tract infections in the community]*. Enferm Infecc Microbiol Clin, 2005. **23 Suppl 4**: p. 57-66.
67. Rodriguez-Bano, J., et al., *Virulence profiles of bacteremic extended-spectrum beta-lactamase-producing Escherichia coli: association with epidemiological and clinical features*. PLoS One, 2012. **7**(9): p. e44238.
68. Tambyah, P.A. and D.G. Maki, *The relationship between pyuria and infection in patients with indwelling urinary catheters: a prospective study of 761 patients*. Arch Intern Med, 2000. **160**(5): p. 673-7.
69. Rasmussen, M., *[Aerococci: hard to find and classify]*. Rev Argent Microbiol, 2011. **43**(4): p. 312; author reply 312-3.

Nuevas aportaciones microbiológicas al diagnóstico y tratamiento de las infecciones del tracto urinario.

70. Oskooi, M., et al., *A prospective observational treatment study of aerococcal urinary tract infection*. J Infect, 2017.
71. Williams, R.E., A. Hirsch, and S.T. Cowan, *Aerococcus, a new bacterial genus*. J Gen Microbiol, 1953. **8**(3): p. 475-80.
72. Jost, C., et al., *First case of pregnant women bacteraemia and probable early-onset neonatal infection due to Aerococcus urinae*. New Microbes New Infect, 2015. **3**: p. 1-3.
73. Schuur, P.M., et al., *Urinary tract infections with Aerococcus urinae in the south of The Netherlands*. Eur J Clin Microbiol Infect Dis, 1997. **16**(12): p. 871-5.
74. Senneby, E., et al., *Bacteremia with Aerococcus sanguinicola: Case Series with Characterization of Virulence Properties*. Open Forum Infectious Diseases, 2014. **1**(1): p. ofu025.
75. Santos, R., et al., *Lymphadenitis caused by Aerococcus urinae infection*. Scand J Infect Dis, 2003. **35**(5): p. 353-4.
76. Narayanasamy, S., et al., *Clinical Characteristics and Laboratory Identification of Aerococcus Infections: An Australian Tertiary Centre Perspective*. Int J Microbiol, 2017. **2017**: p. 5684614.
77. Carkaci, D., et al., *Genomic characterization, phylogenetic analysis, and identification of virulence factors in Aerococcus sanguinicola and Aerococcus urinae strains isolated from infection episodes*. Microb Pathog, 2017. **112**: p. 327-340.
78. Rasmussen, M., *Aerococci and aerococcal infections*. J Infect, 2013. **66**(6): p. 467-74.
79. Nielsen, X.C., et al., *Identification of clinically relevant nonhemolytic Streptococci on the basis of sequence analysis of 16S-23S intergenic spacer region and partial gdh gene*. J Clin Microbiol, 2009. **47**(4): p. 932-9.
80. Gutiérrez-Fernández, J., *Procedimiento normalizado de trabajo: cultivo cuantitativo de orina para estudio de microorganismos aerobios/facultativos de crecimiento rápido*. 2015.
81. National Collaborating Centre for, W.s. and H. Children's, *National Institute for Health and Clinical Excellence: Guidance, in Urinary Tract Infection in Children: Diagnosis, Treatment and Long-term Management*. 2007, RCOG Press National Collaborating Centre for Women's and Children's Health.: London.
82. de Frutos-Serna, M., et al., *[Evaluation of the Sysmex UF-1000i flow cytometer for screening of urinary tract infection]*. Enferm Infecc Microbiol Clin, 2014. **32**(3): p. 147-51.
83. Gutierrez-Fernandez, J., et al., *Sysmex UF-1000i performance for screening yeasts in urine*. Apmis, 2014. **122**(4): p. 324-8.

Nuevas aportaciones microbiológicas al diagnóstico y tratamiento de las infecciones del tracto urinario.

84. Manoni, F., et al., *Cutoff values for bacteria and leukocytes for urine flow cytometer Sysmex UF-1000i in urinary tract infections*. *Diagn Microbiol Infect Dis*, 2009. **65**(2): p. 103-7.
85. CLSI, *Methods for Antimicrobial Dilution and Disk Susceptibility Testing of Infrequently Isolated or Fastidious Bacteria*,. 2016.
86. Bulane, A. and A. Hoosen, *Use of matrix-assisted laser desorption/ionisation-time of flight mass spectrometry analyser in a diagnostic microbiology laboratory in a developing country*. *Afr J Lab Med*, 2017. **6**(1): p. 598.
87. Curtoni, A., et al., *Rapid Identification of Microorganisms from Positive Blood Culture by MALDI-TOF MS After Short-Term Incubation on Solid Medium*. *Curr Microbiol*, 2017. **74**(1): p. 97-102.
88. Christner, M., et al., *Rapid identification of bacteria from positive blood culture bottles by use of matrix-assisted laser desorption-ionization time of flight mass spectrometry fingerprinting*. *J Clin Microbiol*, 2010. **48**(5): p. 1584-91.
89. Dhiman, N., et al., *Performance and cost analysis of matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry for routine identification of yeast*. *J Clin Microbiol*, 2011. **49**(4): p. 1614-6.
90. Sorlozano, A., et al., *Evolution of the resistance to antibiotics of bacteria involved in urinary tract infections: a 7-year surveillance study*. *Am J Infect Control*, 2014. **42**(10): p. 1033-8.
91. Gessoni, G., et al., *Does flow cytometry have a role in preliminary differentiation between urinary tract infections sustained by gram positive and gram negative bacteria? An Italian polycentric study*. *Clin Chim Acta*, 2015. **440**: p. 152-6.
92. De Rosa, R., et al., *Evaluation of the Sysmex UF1000i flow cytometer for ruling out bacterial urinary tract infection*. *Clin Chim Acta*, 2010. **411**(15-16): p. 1137-42.
93. Angel Diaz, M., et al., *[Extended-spectrum beta-lactamase-producing Escherichia coli and Klebsiella pneumoniae in Spanish hospitals: 2nd multicenter study (GEIH-BLEE project, 2006)]*. *Enferm Infecc Microbiol Clin*, 2009. **27**(9): p. 503-10.
94. Pitout, J.D., et al., *Population-based laboratory surveillance for AmpC beta-lactamase-producing Escherichia coli, Calgary*. *Emerg Infect Dis*, 2007. **13**(3): p. 443-8.
95. Dielubanza, E.J. and A.J. Schaeffer, *Urinary tract infections in women*. *Med Clin North Am*, 2011. **95**(1): p. 27-41.
96. Cooper, M.A. and D. Shlaes, *Fix the antibiotics pipeline*. *Nature*, 2011. **472**(7341): p. 32.
97. Hoofnagle, J.H. and A.H. Sherker, *Therapy for hepatitis C--the costs of success*. *N Engl J Med*, 2014. **370**(16): p. 1552-3.

Nuevas aportaciones microbiológicas al diagnóstico y tratamiento de las infecciones del tracto urinario.

98. McNulty, C.A., et al., *Clinical relevance of laboratory-reported antibiotic resistance in acute uncomplicated urinary tract infection in primary care*. J Antimicrob Chemother, 2006. **58**(5): p. 1000-8.
99. Alos, J.I., [Antibiotic resistance: A global crisis]. Enferm Infecc Microbiol Clin, 2015. **33**(10): p. 692-9.
100. Woerther, P.L., et al., *Trends in human fecal carriage of extended-spectrum beta-lactamases in the community: toward the globalization of CTX-M*. Clin Microbiol Rev, 2013. **26**(4): p. 744-58.
101. Magiorakos, A.P., et al., *Multidrug-resistant, extensively drug-resistant and pandrug-resistant bacteria: an international expert proposal for interim standard definitions for acquired resistance*. Clin Microbiol Infect, 2012. **18**(3): p. 268-81.
102. Canton, R. and P. Ruiz-Garbajosa, *Co-resistance: an opportunity for the bacteria and resistance genes*. Curr Opin Pharmacol, 2011. **11**(5): p. 477-85.
103. Esteve-Palau, E., et al., *Clinical and economic impact of urinary tract infections caused by ESBL-producing Escherichia coli requiring hospitalization: A matched cohort study*. J Infect, 2015. **71**(6): p. 667-74.
104. Horcajada, J.P., et al., *Healthcare-associated, community-acquired and hospital-acquired bacteraemic urinary tract infections in hospitalized patients: a prospective multicentre cohort study in the era of antimicrobial resistance*. Clin Microbiol Infect, 2013. **19**(10): p. 962-8.
105. Fong, J.J., L. Rose, and E.A. Radigan, *Clinical outcomes with ertapenem as a first-line treatment option of infections caused by extended-spectrum beta-lactamase producing gram-negative bacteria*. Ann Pharmacother, 2012. **46**(3): p. 347-52.
106. Huang, A.M., et al., *Impact of rapid organism identification via matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight combined with antimicrobial stewardship team intervention in adult patients with bacteremia and candidemia*. Clin Infect Dis, 2013. **57**(9): p. 1237-45.
107. Sorlozano-Puerto, A., J.M. Gomez-Luque, and J.D. Luna-Del-Castillo, *Etiological and Resistance Profile of Bacteria Involved in Urinary Tract Infections in Young Children*. 2017. **2017**: p. 4909452.
108. Blanco, V.M., et al., [Prevalence and risk factors for extended-spectrum beta-lactamase-producing Escherichia coli causing community-onset urinary tract infections in Colombia]. Enferm Infecc Microbiol Clin, 2016. **34**(9): p. 559-565.
109. Wu, U.I., et al., *Ertapenem in the treatment of bacteremia caused by extended-spectrum beta-lactamase-producing Escherichia coli: a propensity score analysis*. Int J Infect Dis, 2012. **16**(1): p. e47-52.

Nuevas aportaciones microbiológicas al diagnóstico y tratamiento de las infecciones del tracto urinario.

110. Rodríguez-Bano, J., et al., *Diagnosis and antimicrobial treatment of invasive infections due to multidrug-resistant Enterobacteriaceae. Guidelines of the Spanish Society of Infectious Diseases and Clinical Microbiology*. *Enferm Infecc Microbiol Clin*, 2015. **33**(5): p. 337.e1-337.e21.
111. Oteo, J., et al., *Parallel increase in community use of fosfomycin and resistance to fosfomycin in extended-spectrum beta-lactamase (ESBL)-producing Escherichia coli*. *J Antimicrob Chemother*, 2010. **65**(11): p. 2459-63.
112. Maraki, S., et al., *Changing antibiotic susceptibilities of community-acquired uropathogens in Greece, 2005-2010*. *J Microbiol Immunol Infect*, 2013. **46**(3): p. 202-9.
113. Vardakas, K.Z., et al., *Carbapenems versus alternative antibiotics for the treatment of bacteraemia due to Enterobacteriaceae producing extended-spectrum beta-lactamases: a systematic review and meta-analysis*. *J Antimicrob Chemother*, 2012. **67**(12): p. 2793-803.
114. Peralta, G., et al., *Impact of empirical treatment in extended-spectrum beta-lactamase-producing Escherichia coli and Klebsiella spp. bacteremia. A multicentric cohort study*. *BMC Infect Dis*, 2012. **12**: p. 245.
115. Kizilca, O., et al., *Risk factors for community-acquired urinary tract infection caused by ESBL-producing bacteria in children*. *Pediatr Int*, 2012. **54**(6): p. 858-62.
116. Yu, W.L., et al., *Characterisation and molecular epidemiology of extended-spectrum beta-lactamase-producing Enterobacter cloacae isolated from a district teaching hospital in Taiwan*. *Clin Microbiol Infect*, 2006. **12**(6): p. 579-82.
117. Thomson, K.S., *Controversies about extended-spectrum and AmpC beta-lactamases*. *Emerg Infect Dis*, 2001. **7**(2): p. 333-6.
118. Bell, J.M., J.D. Turnidge, and R.N. Jones, *Prevalence of extended-spectrum beta-lactamase-producing Enterobacter cloacae in the Asia-Pacific region: results from the SENTRY Antimicrobial Surveillance Program, 1998 to 2001*. *Antimicrob Agents Chemother*, 2003. **47**(12): p. 3989-93.
119. Oteo, J., et al., *Outbreak of vim-1-carbapenemase-producing Enterobacter cloacae in a pediatric intensive care unit*. *Pediatr Infect Dis J*, 2010. **29**(12): p. 1144-6.
120. Canton, R., et al., *Epidemiology of extended-spectrum beta-lactamase-producing Enterobacter isolates in a Spanish hospital during a 12-year period*. *J Clin Microbiol*, 2002. **40**(4): p. 1237-43.
121. Tato-Rodríguez, R., et al., *[Outbreak of multidrug-resistant CTX-M-9-producing Enterobacter cloacae complex in an intensive care unit]*. *Enferm Infecc Microbiol Clin*, 2016. **34**(4): p. 237-42.
122. Kao, C.C., et al., *Antimicrobial susceptibility and multiplex PCR screening of AmpC genes from isolates of Enterobacter cloacae, Citrobacter freundii, and Serratia marcescens*. *J Microbiol Immunol Infect*, 2010. **43**(3): p. 180-7.

Nuevas aportaciones microbiológicas al diagnóstico y tratamiento de las infecciones del tracto urinario.

123. Aguinaga, A., et al., [*Uncomplicated urinary tract infections. Antimicrobial susceptibility study in Navarre*]. *An Sist Sanit Navar*, 2018. **0(0)**: p. 59989.
124. Tena, D., et al., [*Changes in the antimicrobial susceptibility of Escherichia coli isolates from community diagnosed urinary tract infections during the period 2003-2007. Multicentre study in Castilla la Mancha (Spain)*]. *Rev Esp Quimioter*, 2010. **23(1)**: p. 36-42.
125. Theuretzbacher, U., et al., *Reviving old antibiotics*. *J Antimicrob Chemother*, 2015. **70(8)**: p. 2177-81.
126. Pitout, J.D., W.W. Chan, and D.L. Church, *Tackling antimicrobial resistance in lower urinary tract infections: treatment options*. *Expert Rev Anti Infect Ther*, 2016. **14(7)**: p. 621-32.
127. Drekonja, D.M. and J.R. Johnson, *Urinary tract infections*. *Prim Care*, 2008. **35(2)**: p. 345-67, vii.
128. Lorente Garin, J.A., et al., [*Antibiotic resistance transformation in community-acquired urinary infections*]. *Rev Clin Esp*, 2005. **205(6)**: p. 259-64.
129. van Duin, D. and R.A. Bonomo, *Ceftazidime/Avibactam and Ceftolozane/Tazobactam: Second-generation beta-Lactam/beta-Lactamase Inhibitor Combinations*. *Clin Infect Dis*, 2016. **63(2)**: p. 234-41.
130. Demir, T. and T. Buyukguclu, *Evaluation of the in vitro activity of fosfomycin tromethamine against Gram-negative bacterial strains recovered from community- and hospital-acquired urinary tract infections in Turkey*. *Int J Infect Dis*, 2013. **17(11)**: p. e966-70.
131. Bouza, E., et al., *A European perspective on nosocomial urinary tract infections II. Report on incidence, clinical characteristics and outcome (ESGNI-004 study)*. *European Study Group on Nosocomial Infection*. *Clin Microbiol Infect*, 2001. **7(10)**: p. 532-42.
132. Achkar, J.M. and B.C. Fries, *Candida infections of the genitourinary tract*. *Clin Microbiol Rev*, 2010. **23(2)**: p. 253-73.
133. Fisher, J.F., et al., *Candida urinary tract infections--treatment*. *Clin Infect Dis*, 2011. **52 Suppl 6**: p. S457-66.
134. Maldonado, I., et al., [*Yeast urinary tract infections. Multicentre study in 14 hospitals belonging to the Buenos Aires City Mycology Network*]. *Rev Iberoam Micol*, 2016. **33(2)**: p. 104-9.
135. Alvarez-Lerma, F., et al., *Candiduria in critically ill patients admitted to intensive care medical units*. *Intensive Care Med*, 2003. **29(7)**: p. 1069-76.
136. Alvarez-Lerma, F., et al., *Urethral catheter-related urinary infection in critical patients admitted to the ICU. Descriptive data of the ENVIN-UCI study*. *Med Intensiva*, 2013. **37(2)**: p. 75-82.

Nuevas aportaciones microbiológicas al diagnóstico y tratamiento de las infecciones del tracto urinario.

137. Kauffman, C.A., *Candiduria*. Clin Infect Dis, 2005. **41 Suppl 6**: p. S371-6.
138. Richards, M.J., et al., *Nosocomial infections in combined medical-surgical intensive care units in the United States*. Infect Control Hosp Epidemiol, 2000. **21**(8): p. 510-5.
139. Donders, G.G., *Lower Genital Tract Infections in Diabetic Women*. Curr Infect Dis Rep, 2002. **4**(6): p. 536-539.
140. Bougnoux, M.E., et al., *Candidemia and candiduria in critically ill patients admitted to intensive care units in France: incidence, molecular diversity, management and outcome*. Intensive Care Med, 2008. **34**(2): p. 292-9.
141. Aubron, C., et al., *The epidemiology of bacteriuria and candiduria in critically ill patients*. Epidemiol Infect, 2015. **143**(3): p. 653-62.
142. Kauffman, C.A., et al., *Candida urinary tract infections--diagnosis*. Clin Infect Dis, 2011. **52 Suppl 6**: p. S452-6.
143. Kauffman, C.A., et al., *Prospective multicenter surveillance study of funguria in hospitalized patients. The National Institute for Allergy and Infectious Diseases (NIAID) Mycoses Study Group*. Clin Infect Dis, 2000. **30**(1): p. 14-8.
144. Lachke, S.A., et al., *Phenotypic switching and filamentation in Candida glabrata*. Microbiology, 2002. **148**(Pt 9): p. 2661-74.
145. Whiteway, M. and C. Bachewich, *Morphogenesis in Candida albicans*. Annu Rev Microbiol, 2007. **61**: p. 529-53.
146. Sobel, J.D., et al., *Candida urinary tract infections--epidemiology*. Clin Infect Dis, 2011. **52 Suppl 6**: p. S433-6.
147. Sobel, J.D., *The emergence of non-albicans Candida species as causes of invasive candidiasis and candidemia*. Curr Infect Dis Rep, 2006. **8**(6): p. 427-33.
148. Sobel, J.D., et al., *Candiduria: a randomized, double-blind study of treatment with fluconazole and placebo. The National Institute of Allergy and Infectious Diseases (NIAID) Mycoses Study Group*. Clin Infect Dis, 2000. **30**(1): p. 19-24.
149. Healy, C.M., et al., *Impact of fluconazole prophylaxis on incidence and outcome of invasive candidiasis in a neonatal intensive care unit*. J Pediatr, 2005. **147**(2): p. 166-71.
150. Goncalves, S.S., et al., *Epidemiology and molecular mechanisms of antifungal resistance in Candida and Aspergillus*. Mycoses, 2016.
151. Alfouzan, W., et al., *Comparison of the VITEK 2 antifungal susceptibility system with Etest using clinical isolates of Candida species*. Rev Iberoam Micol, 2017. **34**(3): p. 171-174.
152. Ren, G., et al., *Analysis on distribution features and drug resistance of clinically isolated Acinetobacter baumannii*. Exp Ther Med, 2016. **12**(3): p. 1715-1718.

Nuevas aportaciones microbiológicas al diagnóstico y tratamiento de las infecciones del tracto urinario.

153. Peleg, A.Y., H. Seifert, and D.L. Paterson, *Acinetobacter baumannii: emergence of a successful pathogen*. Clin Microbiol Rev, 2008. **21**(3): p. 538-82.
154. Peleg, A.Y. and D.C. Hooper, *Hospital-acquired infections due to gram-negative bacteria*. N Engl J Med, 2010. **362**(19): p. 1804-13.
155. Karuniawati, A., Y.R. Saharman, and D.C. Lestari, *Detection of carbapenemase encoding genes in Enterobacteriaceae, Pseudomonas aeruginosa, and Acinetobacter baumannii isolated from patients at Intensive Care Unit Cipto Mangunkusumo Hospital in 2011*. Acta Med Indones, 2013. **45**(2): p. 101-6.
156. Maragakis, L.L. and T.M. Perl, *Acinetobacter baumannii: epidemiology, antimicrobial resistance, and treatment options*. Clin Infect Dis, 2008. **46**(8): p. 1254-63.
157. Zalmanovici Trestioreanu, A., et al., *Antimicrobial agents for treating uncomplicated urinary tract infection in women*. Cochrane Database Syst Rev, 2010(10): p. Cd007182.
158. Costelloe, C., et al., *Effect of antibiotic prescribing in primary care on antimicrobial resistance in individual patients: systematic review and meta-analysis*. Bmj, 2010. **340**: p. c2096.
159. Paterson, D.L. and R.A. Bonomo, *Extended-spectrum beta-lactamases: a clinical update*. Clin Microbiol Rev, 2005. **18**(4): p. 657-86.
160. Nwadike, V.U., C.K. Ojide, and E.I. Kalu, *Multidrug resistant acinetobacter infection and their antimicrobial susceptibility pattern in a nigerian tertiary hospital ICU*. Afr J Infect Dis, 2014. **8**(1): p. 14-8.
161. Abbo, A., et al., *Multidrug-resistant Acinetobacter baumannii*. Emerg Infect Dis, 2005. **11**(1): p. 22-9.
162. Sorlozano, A. and J. Gutierrez-Fernandez, *Performances from the laboratory to improve the clinical use of cefepime*. Am J Infect Control, 2015. **43**(9): p. 1022-3.
163. Lee, C.S. and Y. Doi, *Therapy of Infections due to Carbapenem-Resistant Gram-Negative Pathogens*. Infect Chemother, 2014. **46**(3): p. 149-64.
164. Sader, H.S., et al., *Ceftolozane/tazobactam activity tested against aerobic Gram-negative organisms isolated from intra-abdominal and urinary tract infections in European and United States hospitals (2012)*. J Infect, 2014. **69**(3): p. 266-77.
165. Jeannot, K., A. Bolard, and P. Plesiat, *Resistance to polymyxins in Gram-negative organisms*. Int J Antimicrob Agents, 2017.
166. Moskowitz, S.M., R.K. Ernst, and S.I. Miller, *PmrAB, a two-component regulatory system of Pseudomonas aeruginosa that modulates resistance to cationic antimicrobial peptides and addition of aminoarabinose to lipid A*. J Bacteriol, 2004. **186**(2): p. 575-9.
167. Schaberg, D.R., D.H. Culver, and R.P. Gaynes, *Major trends in the microbial etiology of nosocomial infection*. Am J Med, 1991. **91**(3b): p. 72s-75s.

Nuevas aportaciones microbiológicas al diagnóstico y tratamiento de las infecciones del tracto urinario.

168. Hooton, T.M., et al., *Voided midstream urine culture and acute cystitis in premenopausal women*. N Engl J Med, 2013. **369**(20): p. 1883-91.
169. Felmingham, D., et al., *Enterococcus species in urinary tract infection*. Clin Infect Dis, 1992. **15**(2): p. 295-301.
170. Oyaert, M., et al., *Laboratory diagnosis of urinary tract infections: Towards a BILULU consensus guideline*. J Microbiol Methods, 2018. **146**: p. 92-99.
171. Hilt, E.E., et al., *Urine is not sterile: use of enhanced urine culture techniques to detect resident bacterial flora in the adult female bladder*. J Clin Microbiol, 2014. **52**(3): p. 871-6.
172. Senneby, E., et al., *A population-based study of aerococcal bacteraemia in the MALDI-TOF MS-era*. Eur J Clin Microbiol Infect Dis, 2016. **35**(5): p. 755-62.
173. Cattoir, V., A. Kobal, and P. Legrand, *Aerococcus urinae and Aerococcus sanguinicola, two frequently misidentified uropathogens*. Scand J Infect Dis, 2010. **42**(10): p. 775-80.
174. Felis, G.E., S. Torriani, and F. Dellaglio, *Reclassification of Pediococcus urinaeequi (ex Mees 1934) Garvie 1988 as Aerococcus urinaeequi comb. nov.* Int J Syst Evol Microbiol, 2005. **55**(Pt 3): p. 1325-7.
175. Senneby, E., A.C. Petersson, and M. Rasmussen, *Epidemiology and antibiotic susceptibility of aerococci in urinary cultures*. Diagn Microbiol Infect Dis, 2015. **81**(2): p. 149-51.
176. Christensen, J.J., et al., *Aerococcus-like organisms: use of antibiograms for diagnostic and taxonomic purposes*. J Antimicrob Chemother, 1996. **38**(2): p. 253-8.
177. Shelton-Dodge, K., et al., *Clinical significance and antimicrobial susceptibilities of Aerococcus sanguinicola and Aerococcus urinae*. Diagn Microbiol Infect Dis, 2011. **70**(4): p. 448-51.
178. Christensen, J.J., et al., *Aerococcus-like organism, a newly recognized potential urinary tract pathogen*. J Clin Microbiol, 1991. **29**(5): p. 1049-53.
179. Lawson, P.A., et al., *Aerococcus sanguicola sp. nov., isolated from a human clinical source*. Int J Syst Evol Microbiol, 2001. **51**(Pt 2): p. 475-9.
180. Facklam, R., et al., *Phenotypic Description and Antimicrobial Susceptibilities of Aerococcus sanguinicola Isolates from Human Clinical Samples*. Journal of Clinical Microbiology, 2003. **41**(6): p. 2587-2592.
181. Skov, R., et al., *In vitro antimicrobial susceptibility of Aerococcus urinae to 14 antibiotics, and time-kill curves for penicillin, gentamicin and vancomycin*. J Antimicrob Chemother, 2001. **48**(5): p. 653-8.
182. Jorgensen, S., et al., *Emergency Department Urinary Antibiograms Differ by Specific Patient Group*. J Clin Microbiol, 2017. **55**(9): p. 2629-2636.

Nuevas aportaciones microbiológicas al diagnóstico y tratamiento de las infecciones del tracto urinario.

183. Bayer, A.S., et al., *Lactobacillemia--report of nine cases. Important clinical and therapeutic considerations.* Am J Med, 1978. **64**(5): p. 808-13.
184. Digamon-Beltran, M., et al., *Lactobacillemia in pregnancy.* South Med J, 1985. **78**(9): p. 1138-9.
185. Bernier, M., et al., [*Lactobacillus delbrueckii: probable agent of urinary tract infections in very old women*]. Pathol Biol (Paris), 2012. **60**(2): p. 140-2.
186. Darbro, B.W., B.K. Petroelje, and G.V. Doern, *Lactobacillus delbrueckii as the cause of urinary tract infection.* J Clin Microbiol, 2009. **47**(1): p. 275-7.
187. Duprey, K.M., et al., *Pyelonephritis and Bacteremia from Lactobacillus delbrueckii.* Case Rep Infect Dis, 2012. **2012**: p. 745743.
188. Salminen, M.K., et al., *Lactobacillus bacteremia, clinical significance, and patient outcome, with special focus on probiotic L. rhamnosus GG.* Clin Infect Dis, 2004. **38**(1): p. 62-9.
189. Maskell, R. and L. Pead, *4-Fluoroquinolones and Lactobacillus spp as emerging pathogens.* Lancet, 1992. **339**(8798): p. 929.
190. Swenson, J.M., R.R. Facklam, and C. Thornsberry, *Antimicrobial susceptibility of vancomycin-resistant Leuconostoc, Pediococcus, and Lactobacillus species.* Antimicrob Agents Chemother, 1990. **34**(4): p. 543-9.
191. Husni, R.N., et al., *Lactobacillus bacteremia and endocarditis: review of 45 cases.* Clin Infect Dis, 1997. **25**(5): p. 1048-55.
192. Matesanz, M., et al., *Is Streptococcus bovis a urinary pathogen?* Eur J Clin Microbiol Infect Dis, 2015. **34**(4): p. 719-25.
193. Gomez-Garcés, J.L., et al., [*Diseases associated with bloodstream infections caused by the new species included in the old Streptococcus bovis group*]. Enferm Infecc Microbiol Clin, 2012. **30**(4): p. 175-9.
194. Clarridge, J.E., 3rd, et al., *16S ribosomal DNA sequence analysis distinguishes biotypes of Streptococcus bovis: Streptococcus bovis Biotype II/2 is a separate genospecies and the predominant clinical isolate in adult males.* J Clin Microbiol, 2001. **39**(4): p. 1549-52.