

# *Estado actual del diagnóstico biológico de las infecciones urinarias*

ANGEL GÓMEZ VEGAS, JESÚS BLAZQUEZ IZQUIERDO; ANGEL SILMI MOYANO  
JOSÉ ANGEL DELGADO MARTÍN; JAVIER CORRAL ROSILLO

Cátedra de Urología  
Hospital Clínico San Carlos. Universidad Complutense de Madrid

## INTRODUCCIÓN

Es conocido que la orina es un excelente medio de cultivo para las bacterias. La orina contenida en la vejiga es normalmente estéril, pero el hecho de encontrar gérmenes no tiene un carácter diagnóstico de infección urinaria, puesto que la contaminación es frecuente con gérmenes acantonados en la uretra distal, meato e incluso, la cavidad vaginal o el periné. Marple, en 1941, fue el primero que aplicó el principio de la bacteriología cuantitativa de las infecciones, en 1956 Sanforo y Kass establecen criterios a fin de diferenciar la infección de la contaminación, según estos autores se considera infección cuando la orina presenta recuentos superiores a  $10^5$ /ml y contaminación, según estos autores se considera infección cuando la orina presenta recuentos superiores a  $10^5$ /ml y contaminación cuando se presentan en número inferior. Sin embargo conocemos que entre un 20 y un 40% de las mujeres con infección del tracto urinario sintomáticas presentaron recuentos inferiores a  $10^5$ /ml, lo que nos llevaría a una subestimación diagnóstica de las infecciones del tracto urinario.

Stamm y Col establecen el umbral adecuado para establecer el diagnóstico de infección urinaria en mujeres con disuria en  $10^2$ /ml de un patógeno conocido.

Las mejores técnicas de identificación y contado de bacterias no tienen sentido si la orina no se recoge de forma correcta o si el análisis tarda un tiempo superior a 2 horas después de tomar la muestra a no ser que se ponga a 4° C en nevera, donde puede mantenerse hasta 24 h.

## TÉCNICAS DE RECOGIDA DE ORINA

La muestra de orina puede recogerse mediante las técnicas siguientes:

- 1) Toma de orina directamente: es el método más generalmente utilizado, es conveniente lavar con agua y jabón manos y genitales, y tras desprejar los primeros 2-25 ml de orina se toma una cantidad de orina (20-25 ml), que después de ser debidamente rotulado se lleva de forma inmediata al laboratorio.  
Este método presenta una limitación y es que mujeres susceptibles a la infección urinaria a menudo presentan grandes cantidades de bacterias en el periné que contaminaran una orina vesical previamente estéril. Esta situación se puede repetir en el hombre no circuncidado; por tanto para incrementar la precisión diagnóstica y en orden decreciente de complejidad podremos.
- 2) Aspirar la orina vesical por vía suprapúbica, es un método muy fiable, pero se utiliza poco por su carácter traumático. Esta técnica se utiliza sobre todo en lactantes y niños pequeños que no controlan la micción.
- 3) La mujer puede ser cateterizada, aunque siempre existe el riesgo de introducir gérmenes con el cateter, por lo cual se utiliza esta técnica cuando no son posibles los anteriores. La principal objeción a la cateterización es provocar bacteriuria a pacientes previamente no bacteriuricos, la incidencia de infección varía entre un 1 y un 20%; si después de la cateterización se dejan soluciones antisépticas en el interior de la vejiga el riesgo de infección se reduce al mínimo.
- 4) Otras técnicas de recogida son;
  - Bolsas colectoras, son bolsas que se adaptan a la piel de los genitales; a pesar de que es fácil que se contamine la muestra el uso de esta técnica esta extendido debido a su sencillo manejo.
  - Nefropunción percutánea y cateterismo ureteral, se limitan a casos muy concretos en los que diagnosticar la situación del foco infeccioso es muy difícil.

## MÉTODOS DIAGNÓSTICOS

Antes de describir el urocultivo, el método diagnóstico más fiable, es necesario recordar que podemos demostrar la bacteriuria mediante otros procedimientos, denominados rápidos. Conocemos tres tipos de métodos rápidos: microscópicos, químicos y físicos.

---

## EXÁMEN MICROSCÓPICO

El exámen microscópico del sedimento urinario aporta una información invaluable, así la visualización de bacterias indicaría infección en un alto porcentaje de casos. Por otra parte la cantidad de leucocitos por campo de gran aumento es un dato útil, en una muestra de orina no cronometrada la piuria ha sido definida por la presencia de más de 10 GB/mm<sup>3</sup>. La ausencia de piuria implica que el diagnóstico de infección debe ser puesto en duda hasta que se cuente con datos del urocultivo, por otra parte, la presencia de leucocitos sin bacterias puede significar una respuesta inflamatoria por irritación, caso de un cálculo; o el ejemplo clásico de la tuberculosis.

## MÉTODOS QUÍMICOS

- Prueba de Griess.—basada en la capacidad de reducir nitratos a nitritos de la mayoría de los gémenes productores de infección. La sencillez de su relación, mediante una tira con un reactivo que se introduce en una muestra de la primera orina de la mañana, justifica su amplia difusión pero presenta varias limitaciones, como la de dar falsos negativos en enfermos con dietas pobres en nitrato, no detectar los gémenes que no reducen el nitrato, el bloqueo por una serie de medicamentos, etc.

- Determinación precisa de la glucosuria.—La glucosuria fisiológica se encuentra entre los 20 y 10 mg/100 ml las bacterias que se encuentran en la orina metabolizan la glucosa, por lo que determinaciones menores a 2 mg/100 ml nos sugieren la existencia de infección urinaria.

La tira de papel impregnada con glucosaoxidasa en el caso de que haya menos glucosa de lo normal no cambia de color.

- Reducción del Tetrazolio.—El cloruro de Trifenil-tetrazolio (hidrosoluble e incoloro) por la actividad deshidrogenasa de las bacterias se reduce a trifenilformazán (sustancia roja e insoluble). Esta técnica llega a tener una concordancia con los urocultivos de un 77% si se trata de infecciones por gramnegativos, descendiendo a un 28% en el caso grampositivos.

- Prueba del Indol.—La orina que contiene *E. Coli* da color rojo en presencia de Kovacs que rompe el triftófano a indol.

- Dosificación de la catalasa.—la mayoría de las bacterias contienen catalasa que se libera en el proceso metabólico microbiano. Esta enzima también se encuentra en los leucocitos, eritrocitos y células renales, por lo cual si es positiva, nos indicara inflamación, infecciosa o no. La catalasa libera oxígeno del peróxido de hidrógeno. La técnica consiste en introducir un disco de papel absorbente empapado en la orina en una solución al 3% de peróxido de hidrógeno.

**Prueba de luciferina-luciferasa.**—Se detecta el ATP de las bacterias por bioluminiscencia; esta reacción también la dan las bacterias muertas y otras células.

A estas pruebas podríamos añadir otras como la del limulus, cromatografía gaseosa, etc. todas ellas son rápidas pero su sensibilidad y especificidad son bajas, si bien pueden tener un valor como screening.

#### Métodos Físicos:

Son métodos de detección muy costosos y por tanto de utilización restringida. Podemos citar la impedancia bacteriana de un campo eléctrico y la fotometría.

Como hemos comentado el cultivo de orina nos va a permitir conocer el número de colonias existentes por ml (exámen cuantitativo) y el germen responsable del proceso infeccioso (exámen cualitativo).

Las muestras deben cultivarse en medios en los que crezcan las bacterias patógenas y comensales urinarios (medio columbia, CLED, Mueller-Hinton, etc.).

El exámen cuantitativo puede realizarse fundamentalmente por dos técnicas:

**Dilución en placa:** en la cual 0,1 ml de orina se añade a 9,9 ml de agua estéril y 0,1 ml se ponen en una placa de Petri. Se añade ahora 10 a 20 ml de medio de cultivo fluidificado a 45° C. Se homogeniza y deja solidificar. Incuba y una colonia representa 1.000 gérmenes/ml.

**Extensión en superficie:** la técnica más empleada es la denominada «asa calibrada». Un asa de cultivo calibrada a 0,001 ml, toma la muestra sumergiéndola en la orina y con ella se extiende por la superficie del medio solidificado, se incuba y cada colonia representa a 1.000 gérmenes/ml.

Estos métodos son excelentes para las bacterias patógenas más habituales en las infecciones urinarias, pero existen casos particulares, como es el caso del M. Tuberculosis en los que hay que recurrir a técnicas especiales.

Las colonias de patógenos potenciales aisladas en los cultivos anteriores deben identificarse al menos a nivel de género.

Queremos en este momento dedicar nuestra atención al desarrollo de técnicas de biología molecular en el diagnóstico de enfermedades infecciosas, que no dudamos revolucionan los laboratorios de microbiología y eventualmente puede reemplazar las técnicas de cultivo tradicional.

En 1985 K. Mullis del equipo de H. Erlich de Cetus Corporation pone a punto la técnica de la PCR, reacción en cadena de la polimerasa, del inglés Polymerase Chain Reaction, que es un método extraordinariamente útil e ingenioso.

La PCR es una técnica capaz de generar «in vitro» grandes cantidades de un determinado fragmento de DNA a partir de cantidades mínimas del mismo.

La técnica que de manera esquemática describiremos a continuación per-

mite una ampliación selectiva de una magnitud de  $10^6$ , de una determinada secuencia de DNA (DNA diana). Esto requiere el uso de dos cebadores oligonucleotídicos (primeras) complementarios a las secuencias situadas en los extremos del fragmento de DNA que se desea amplificar, se basa en el desarrollo de ciclo repetidos de desnaturalización de la doble hebra de DNA por el calor, la hibridación de los 2 cebadores a sus secuencias complementarias y la síntesis del DNA gracias a la acción de una DNA-polimerasa.

Las tres etapas (desnaturalización, hibridación y extensión) constituyen un ciclo durante el cual la cantidad de DNA diana se ha duplicado. El número de ciclos es un experimento de PCR se sitúa entre 20 y 50, dependiendo de la cantidad de DNA de partida y de las necesidades finales.

En cuanto a las limitaciones de la PCR podemos citar las siguientes, la primera limitación es el tamaño de la secuencia de DNA, la experiencia ha demostrado que es prácticamente imposible amplificar secuencias de tamaño superior a 3 kb, recientemente con la utilización de una serie de Taq polimerasa especiales, se ha comunicado la amplificación de fragmentos más grandes de hasta 35-50 kb.

La segunda limitación radica en el número de copias del DNA diana. Cuando el número de copias del DNA diana es bajo, es más conveniente efectuar dos PCR consecutivas que aumentar el número de ciclos. Como se ha señalado después de 40-50 ciclos, la cantidad de DNA sintetizada no aumenta. Esta ineficacia en la amplificación a partir de un determinado número de ciclos, constituye a tercera limitación intrínseca de la técnica de PCR.

La técnica del PCR esta siendo utilizada para la detección de bacterias en orina con la gran ventaja en el tiempo y sensibilidad del estudio.

Otra interesante aplicación del PCR sería su uso en la detección de nuevos agentes de enfermedad, este es el caso de Rochalimeze hensellae, agente de la angiomatosis bacilar y nuevas especies de mycobacterias como Mycobacterium genavense.

Una aplicación validada por numerosos estudios es en la detección directa o confirmación de Neisseria gonorrhoeae y Chlamydia trachomatis. En el caso de N. gonorrhoeae este ensayo tiene la ventaja de no necesitar organismos viables y presenta una especificidad de virtualmente del 100%.

No debemos olvidar que es técnica recomendada por los CDC para el cultivo-confirmación de Mycobacterium tuberculosis.

La utilidad de las sondas de DNA para la detección e identificación de patógenos no está limitada al diagnóstico en el laboratorio de microbiología. la aplicación en el exámen de especímenes histológicos, permite el estudio de los efectos de la infección y de la respuesta inflamatoria en el area afectada y sus alrededores.

Pero al clínico, no les es suficiente conocer la existencia de infección, necesita precisar la localización topográfica de la bacteriuria.

Los síntomas y signos clínicos pueden permitir realizar el diagnóstico de la localización de la infección urinaria en un alto porcentaje de casos. En ocasiones el estudio al microscopio de la orina del paciente nos orientara, así la presencia de cilindros bacterianos en el sedimento urinario del paciente afecto de pielonefritis.

En varones es difícil dilucidar, si la infección afecta a la uretra, próstata o vejiga, es por ello que se utiliza la técnica descrita por MEARES y STAMEY (1968) que consiste en el fraccionamiento de las muestras a cultivar. Se recogen 4 muestras consecutivas, M1 corresponde a los primeros 10 ml orinados; M2 a la misma cantidad recogida después de orinar 200 ml aproximadamente; M3 líquido prostático obtenido por masaje. Por último, inmediatamente después del masaje el paciente reinicia la micción y se recogen los primeros 5-10 ml de orina. Hay autores que añaden al estudio una última muestra de semen.

Los resultados pueden interpretarse de la siguiente forma:

Uretritis, sólo existen gérmenes patógenos en M1, y se acompaña de sintomatología.

Vesical, más de 100.000 gérmenes/ml en todas las muestras de orina, o en la M2.

Prostatitis, son negativos los cultivos de las muestras M1 y M2 siendo positivo el de la secreción prostática M3 siendo positivo el de la secreción prostática M3 y/o el de la muestra M4.

En mujeres se puede realizar una técnica similar a la de Meares y Stamey, con objeto de diferenciar las infecciones del vestíbulo vaginal (se toma la muestra con torunda), de la uretra (primeros 5-10 ml) o de la vejiga (muestra del chorro medio).

Cuando interesa conocer si la bacteriuria se encuentra confinada al tracto urinario inferior, o afecta al superior se pueden utilizar los siguientes procedimientos:

Técnica de FAIRLEY o del lavado vesical.—Se inserta un catéter vesical y se toma una muestra de orina, a continuación se lava la vejiga con suero fisiológico estéril y una solución antiséptica, tomando a continuación tres muestras cronometradas separadas por intervalos de 10 minutos. En 1971 Gairley y col establecen los siguientes criterios para diferenciar una infección vesical de una renal. Se considera una infección renal cuando la muestra cronometrada obtenida 20 a 30 minutos después del lavado vesical contiene más de 3.000 bacterias/ml., además esta muestra debe contener una cantidad de bacterias 5 veces mayor que la presente en la muestra final del lavado vesical. la infección vesical se encuentra presente cuando la muestra cronometrada es estéril.

Esta última técnica nos informa sobre la existencia o no de infección en el tracto urinario superior pero no informa específicamente sobre la unilateralidad.

dad o bilateralidad del proceso, este problema lo podemos resolver con el método de STAMEY, tras introducir un cistoscopio y tomar una muestra de orina, se procede a lavar cuidadosamente a través de ambos cateteres ureterales y posteriormente se procede al cateterismo ureteral bilateral recogiendo varias muestras de cada cateter.

Con el fin de evitar estos procedimientos agresivos se ha recurrido a técnicas indirectas:

Método de THOMAS o de las bacterias recubiertas de anticuerpos, en 1974 Thomas observó que si las bacterias de la orina de un paciente con infección urinaria eran centrifugadas, lavadas y mezcladas con globulinas antihumanas conjugadas con fluoresceína, las bacterias recubiertas por anticuerpos podrían apreciarse en un microscopio de fluorescencia. Esta técnica se basa en que cuando las bacterias infectan el parénquima renal provocan una respuesta local de anticuerpos. Las inmunoglobulinas reaccionan con los antígenos de superficie de las bacterias Thomas comunicó que 34 de 35 pacientes de pielonefritis se asociaban con bacterias positivas para anticuerpos fluorescentes.

A menudo esta prueba es positiva en prostatitis bacteriana o en cistitis hemorrágica con importante participación de la pared vesical. Además los falsos positivos determinados por la producción local de anticuerpos vesicales ha invalidado esta prueba en niños.

Titulación de Anticuerpos antiproteína de Tamm-Horsfall, se trata de una glicoproteína que normalmente se encuentra en pequeñas cantidades en la orina, provocando la aparición de anticuerpos con unos niveles sericos mínimos en individuos sanos. Se ha comunicado un incremento en pacientes con pielonefritis.

Determinación de la isoenzima LDH-5., Carvajal y col en 1975 compararon las cifras urinarias de esta isoenzima en pacientes con infección del tracto urinario inferior y superior. En el primer caso los valores eran menores que cuando existe pielonefritis.

Determinación de Proteína C reactiva, Jodal y Hanson en 1979 demostraron que los niveles de esta proteína estaban elevados en niños con pielonefritis aguda, y retornaban a los valores normales en 7 días si el tratamiento era el adecuado.

## BIBLIOGRAFÍA

1. BAIGET, M. y DEL RÍO, E.: La reacción en cadena de polimerasa en Técnicas de Biología Molecular. SEQC 1995, págs. 79-86.
2. FAIRLEY, K. F., BOND A. G., BROWN R. B. et al Simple test to determine the site of urinary-tract infections. *Lancet* 1967, 2: 7513-7514.
3. REGUEIRO VARELA y REGUEIRO GARCÍA: Técnicas de diagnóstico bacteriológico de las infecciones urinarias. *Pathos* 1983, 56: 102-111.

4. SILMI MOYANO, A. y BLÁZQUEZ IZQUIERDO, J.: Infecciones del tracto urinario. Urología Práctica IDEPSA. Madrid 1991.
5. TENOVER, F. C.: DNA Hybridization techniques and their application to the diagnosis of infectious diseases. Infections Disease Clinics of North America, vol 7 núm. 2, págs. 171-181 (1993)
6. VELA NAVARRETE, R.: Infecciones urinarias en Urología VESALIO. ENE ediciones 1992, pág. 211.
7. SCHAEFFER, A. J.: Infecciones del tracto urinario en CAMPBELL. Tomo 1 6ª edición, pág. 719.