



**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE CHIAPAS  
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS  
CAMPUS IV**



***“DIAGNÓSTICO MOLECULAR EN MICROORGANISMOS  
UROPATÓGENOS EN PACIENTES DEL HOSPITAL GENERAL  
TAPACHULA”***

**TESIS**

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE:  
**MAESTRA EN CIENCIAS EN BIOQUÍMICA CLÍNICA**

**PRESENTADO POR:**

**QFB LILIAN DE JESÚS TIRADO MORALES PS1485**

DIRECTOR DE TESIS  
DR. SERGIO DOMÍNGUEZ ARREVILLAGA

CODIRECTOR  
DRA. MA. GUADALUPE TRUJILLO VIZUET

TAPACHULA, CHIAPAS

MAYO 2023



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE CHIAPAS

DIRECCION



OFICIO No. FCQ/D/0239/2023  
Tapachula, Chis., a  
26 de mayo del 2023

**C. QFB. LILIAN DE JESUS TIRADO MORALES.**  
PASANTE DE LA MAESTRÍA EN  
CIENCIAS EN BIOQUÍMICA CLÍNICA  
P R E S E N T E.-

DE ACUERDO A LA RESPUESTA QUE EMITIERON LOS SINODALES QUE REVISARON EL PROYECTO DE TESIS PROFESIONAL TITULADO: "DIAGNÓSTICO MOLECULAR EN MICROORGANISMOS UROPATÓGENOS EN PACIENTES DEL HOSPITAL GENERAL TAPACHULA". ME ES GRATO INFORMARLE QUE SE LE AUTORIZA LA IMPRESIÓN DE LA MISMA.

ASI COMO TAMBIEN, ME PERMITO INFORMAR A USTED QUE DE ACUERDO AL ARTÍCULO 119 DEL REGLAMENTO GENERAL DE INVESTIGACION Y POSGRADO DE ESTA UNIVERSIDAD EL JURADO ASIGNADO PARA SU EXAMEN PROFESIONAL QUEDA INTEGRADO DE LA SIGUIENTE MANERA:

DR. SERGIO DOMINGUEZ ARREVILLAGA	PRESIDENTE
DRA. LIMNY STEPHANIE MORENO BARILLAS	SECRETARIA
DRA. MA GUADALUPE TRUJILLO VIZUET	VOCAL
DRA. ILIANA CONCEPCIÓN QUEZADA CRUZ	SUPLENTE
M.C. ABRAHAM CUAUHTÉMOC GÓMEZ CHOEL	SUPLENTE

ATENTAMENTE  
"POR LA CONCIENCIA DE LA NECESIDAD DE SER"

DR. LUIS MIGUEL CANSECO AVILA  
DIRECTOR

Facultad de Ciencias Químicas  
DIRECCIÓN  
Avenida de Cordova y  
Ordóñez, Chiapas.

c.c.p. Exp. alumno  
LMCA/cmvm



Código: FO-113-05-05

Revisión: 0

**CARTA DE AUTORIZACIÓN PARA LA PUBLICACIÓN ELECTRÓNICA DE LA TESIS DE TÍTULO Y/O GRADO.**

El (la) suscrito (a) LILIAN DE JESÚS TIRADO MORALES,  
Autor (a) de la tesis bajo el título de "DIAGNÓSTICO MOLECULAR EN MICROORGANISMOS UROPATÓGENOS EN PACIENTES DEL HOSPITAL GENERAL TAPACHULA"

presentada y aprobada en el año 2023 como requisito para obtener el título o grado de MAESTRÍA EN CIENCIAS EN BIOQUÍMICA CLÍNICA, autorizo licencia a la Dirección del Sistema de Bibliotecas Universidad Autónoma de Chiapas (SIBI-UNACH), para que realice la difusión de la creación intelectual mencionada, con fines académicos para su consulta, reproducción parcial y/o total, citando la fuente, que contribuya a la divulgación del conocimiento humanístico, científico, tecnológico y de innovación que se produce en la Universidad, mediante la visibilidad de su contenido de la siguiente manera:

- Consulta del trabajo de título o de grado a través de la Biblioteca Digital de Tesis (BIDITE) del Sistema de Bibliotecas de la Universidad Autónoma de Chiapas (SIBI-UNACH) que incluye tesis de pregrado de todos los programas educativos de la Universidad, así como de los posgrados no registrados ni reconocidos en el Programa Nacional de Posgrados de Calidad del CONACYT.
- En el caso de tratarse de tesis de maestría y/o doctorado de programas educativos que sí se encuentren registrados y reconocidos en el Programa Nacional de Posgrados de Calidad (PNPC) del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT), podrán consultarse en el Repositorio Institucional de la Universidad Autónoma de Chiapas (RIUNACH).

Tuxtla Gutiérrez, Chiapas; a los 30 días del mes de MAYO del año 2023.

  
\_\_\_\_\_  
QFB. LILIAN DE JESUS TIRADO MORALES

**EL PRESENTE TRABAJO FUE REALIZADO  
EN EL LABORATORIO DE INVESTIGACIÓN  
DEL HOSPITAL DE ALTA ESPECIALIDAD  
“CIUDAD SALUD”**

**Bajo la dirección de:**

DR. SERGIO DOMÍNGUEZ ARREVILLAGA

**y**

**Asesorado por:**

DR. MA. GUADALUPE TRUJILLO VIZUET  
M.C.S. ROBERTO ALEJANDRO SÁNCHEZ GONZÁLEZ

# **AGRADECIMIENTOS**

**Al Hospital General Tapachula: GRACIAS por el apoyo y facilidades que me brindaron para realizar el muestreo de esta tesis. Al servicio de laboratorio por prestarme las instalaciones para el muestreo y su almacenamiento en la red fría.**

**A todo el personal del laboratorio de investigación del Hospital de Alta Especialidad “Ciudad Salud” que me abrieron las puertas para realizar la parte experimental de esta tesis, por compartir parte de su tiempo, energía y conocimientos. GRACIAS**

**A mi asesora de tesis: Dra Guadalupe Trujillo Vizuet, gracias por compartir su sabiduría, darme consejos y los jalones de oreja necesarios, gracias a eso logré armar esta tesis. Es mí ejemplo a seguir.**

**Químico Roberto y Química Faby, gracias por compartir sus conocimientos y tenerme paciencia.**

**También quiero dar mil GRACIAS a todos los pacientes que me permitieron ocupar su muestra para llevar a cabo este estudio.**

# **DEDICATORIAS**

**El presente trabajo de investigación está dedicado a:**

- **MADRE, Sra. Ma. Teresa de Jesús Morales González**
- **ABUELA, Sra. Jacinta González**
- **ESPOSO, José Julio Oseki**

**Ustedes son mi motivación para salir adelante, espero estén orgullosos de mí.**

# ÍNDICE

<b>INTRODUCCIÓN</b> .....	<b>8</b>
<b>MARCO TEÓRICO</b>	
GENERALIDADES .....	10
VÍAS URINARIAS .....	14
INFECCIÓN DE VÍAS URINARIAS .....	15
ETIOLOGÍA .....	21
PATOGENIA .....	23
CUADRO CLÍNICO .....	31
DIAGNÓSTICO	
EXAMEN GENERAL DE ORINA .....	32
UROCULTIVO .....	40
PCR .....	42
<b>ANTECEDENTES</b> .....	<b>44</b>
<b>HIPÓTESIS Y OBJETIVOS</b> .....	<b>47</b>
<b>MATERIALES Y MÉTODOS</b>	
CRITERIOS DE INCLUSIÓN, EXCLUSIÓN Y ELIMINACIÓN .....	48
MATERIALES DE LABORATORIO .....	49
TÉCNICAS DE LABORATORIO	
EXAMEN GENERAL DE ORINA.....	51
UROCULTIVO .....	51
PCR .....	52
<b>RESULTADOS</b> .....	<b>59</b>
<b>DISCUSIÓN</b> .....	<b>69</b>
<b>CONCLUSIONES</b> .....	<b>71</b>
<b>BIBLIOGRAFÍA</b> .....	<b>72</b>

***DIAGNÓSTICO MOLECULAR EN MICROORGANISMOS  
UROPATÓGENOS EN PACIENTES DEL HOSPITAL GENERAL  
TAPACHULA***

## **INTRODUCCIÓN**

Las infecciones de vías urinarias (IVU) constituyen una de las patologías infecciosas más frecuentes tanto en comunidades como intrahospitalaria. Es la tercera causa de consulta médica<sup>1</sup>. La IVU está definida como la invasión, colonización y multiplicación de microorganismos patógenos en el aparato urinario que por lo general ocurre por vía ascendente, siendo estos procedentes de la flora fecal las que colonizan el periné y penetran en la vejiga a través de la uretra<sup>2</sup>. Las IVU pueden complicarse con bacteriemia y sepsis, lo que incrementa la morbimortalidad, los días de estancia hospitalaria y los costos relacionados<sup>1</sup>.

A nivel mundial, se estima una incidencia de alrededor de 2 a 3 casos por cada 100 habitantes al año, generando altos costos al sistema de salud en muchos países<sup>3</sup>. De estos, se presentan una prevalencia entre el 0.3 y 7.8% en edad preescolar; en la edad escolar se ubica entre el 1 y el 3% para aumentar en los adolescentes con el inicio de las relaciones sexuales. Sin embargo, se considera que el sexo femenino es el más afectado<sup>2</sup>, debido a diversos estudios, se estima que el 40- 60% de las mujeres que carecen de enfermedades base y anomalías funcionales o estructurales del tracto urinario pueden padecerla. Se estiman casos en una proporción 30:1 en comparación a los varones, la cual tiende a igualarse a medida que el hombre envejece<sup>4</sup>. El 12% de los hombres, presentarán por lo menos, un episodio de IVU en su vida adulta<sup>5</sup>.

La aparición de IVU a nivel mundial es variable, debido a factores como: edad, sexo, raza, dieta, hábitos higiénicos y sexuales, factores sociales y patogenicidad del microorganismo<sup>2</sup>.

El “estándar de oro” para el diagnóstico de IVU’s es el urocultivo el cual identifica y cuantifica al agente causal<sup>6</sup> al cabo de unos días. En la actualidad, el diagnóstico basado en biología molecular, principalmente por el método de PCR, tiene la ventaja de poder identificar al agente causal en horas<sup>6,7</sup> además de tener una mayor sensibilidad y especificidad en comparación al cultivo<sup>8</sup>. Se ha documentado su aplicación en el análisis de diferentes muestras como líquido amniótico, sangre, humor vítreo y orina<sup>8</sup>. Ante esta situación se realizó la detección molecular de microorganismos uropatógenos en las personas que llegaron por atención médica en el Hospital General Tapachula.

## MARCO TEÓRICO

### GENERALIDADES

El riñón es uno de los órganos con mayor diferenciación en el organismo<sup>1</sup>, se presenta en pares, es decir cada individuo posee 2 riñones<sup>2</sup>. Al final del desarrollo embrionario, tiene casi 30 tipos distintos de células, las cuales forman una multitud de capilares de filtración y nefronas segmentadas cubiertas por un intersticio dinámico. Esta diversidad celular modula diversos procesos fisiológicos complejos<sup>1</sup>. El riñón, en adultos, posee un tamaño de 11 a 14 cm de largo, 5-6 cm de ancho y de 3-4 cm de profundidad<sup>2</sup> y pesa alrededor de 150 gramos<sup>3</sup>, se localiza en el retroperitoneo, a cada lado de la columna vertebral, entre T12 y L3, el riñón derecho se localiza más bajo que el izquierdo, el cual es empujado hacia abajo por el hígado<sup>2</sup>. El lado medial de cada riñón contiene una región dentada llamada hilio a través del cual pasa la arteria y venas renales, linfáticos, suministro nervioso y el uréter, este último transporta la orina del riñón hasta la vejiga<sup>3</sup> (Fig.1).

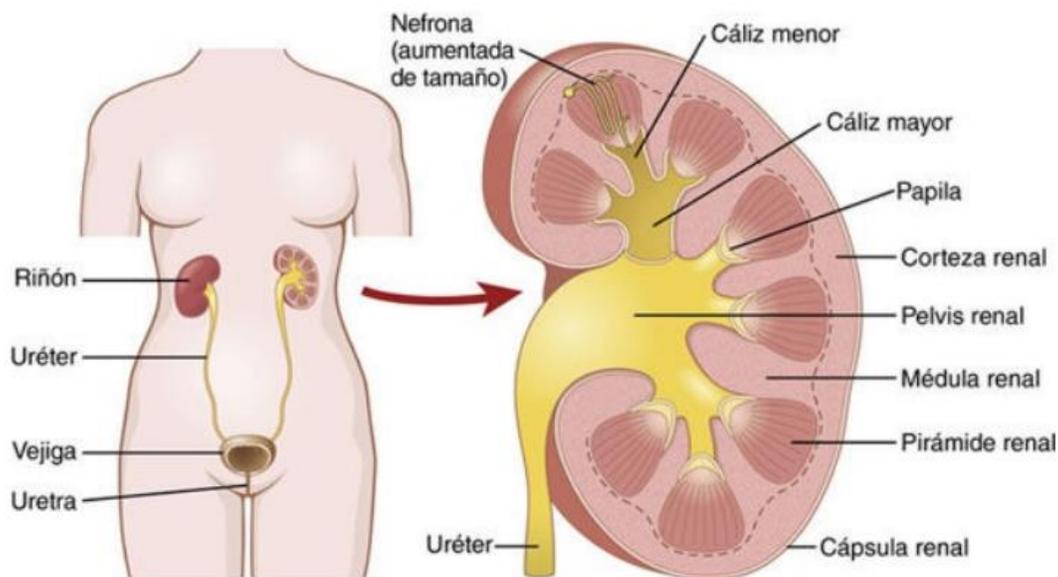


Fig1. organización general de los riñones y el sistema urinario<sup>3</sup>.

Cada riñón está rodeado por una cápsula fibrosa resistente que protege sus delicadas estructuras internas<sup>3</sup>, la cual, posee una corteza externa y una medula interna<sup>2</sup>. La medula

tiene de 8 a 10 divisiones en forma de cono de masas de tejido llamadas pirámides renales. La base de cada pirámide se origina en el borde entre la corteza y la medula, terminando en la papila, que se proyecta en el espacio de la pelvis renal, una continuación en forma de embudo del extremo superior del uréter. El borde exterior de la pelvis se divide en bolsas abiertas llamadas calices mayores que se extienden hacia abajo y se dividen en calices menores que recogen la orina de los túbulos de cada papila<sup>3</sup>. Las paredes de los calices, pelvis y el uréter contienen elementos contráctiles que impulsa la orina hacia la vejiga<sup>3</sup>.

Hay aproximadamente 1 millón de nefronas en cada riñón<sup>2</sup> por lo que se le considera como su unidad funcional<sup>4</sup>. El riñón no puede regenerar nuevas nefronas, y su número disminuye gradualmente, después los 40 años disminuye alrededor de 10% cada 10 años<sup>3</sup>. Cada nefrona contiene los mismos componentes estructurales: glomérulo, túbulo proximal, asa de Henle, túbulo distal y conducto colector<sup>1,2</sup> (Fig.2). Las nefronas tienen 2 regiones: corteza y medula<sup>1</sup>. Por la ubicación del glomérulo, las nefronas pueden clasificarse en:

1. Nefronas corticales: Las nefronas que tienen glomérulos en la corteza externa se les nombra nefronas corticales<sup>3</sup>, tienen asas de Henle cortas, las cuales penetran solo un poco en la medula<sup>1,3</sup>. Para este tipo de nefrona, todo el sistema tubular está rodeado por una extensa red de capilares peritubulares<sup>3</sup>, los cuales son compartidos con nefronas vecinas<sup>1</sup>.
2. Nefronas yuxtamedular: Del 20 al 30%<sup>3</sup> de las nefronas tiene glomérulos que se localizan en los límites de la corteza y la porción externa de la medula, recibiendo el nombre de nefrona yuxtamedular<sup>1</sup>, tiene asas de Henle largas que se sumergen profundamente en la medula y en ocasiones llega hasta las puntas de las papilas renales<sup>3</sup>, estas últimas crean un gradiente hiperosmolar gracias al cual se genera orina concentrada<sup>1</sup>. para este tipo de nefrona, las arteriolas eferentes largas se extienden desde los glomérulos hacia abajo en la medula externa y posteriormente se dividen en capilares peritubulares especializados conocidos como vasa recta, el cual se extiende hacia abajo en la medula, se encuentran lado a lado con el asa de Henle<sup>3</sup>. La vasa recta regresa hacia la corteza y se vacía en las venas corticales, esta red especializada de capilares en la medula desempeña un papel esencial en la formación de orina concentrada<sup>3</sup>.

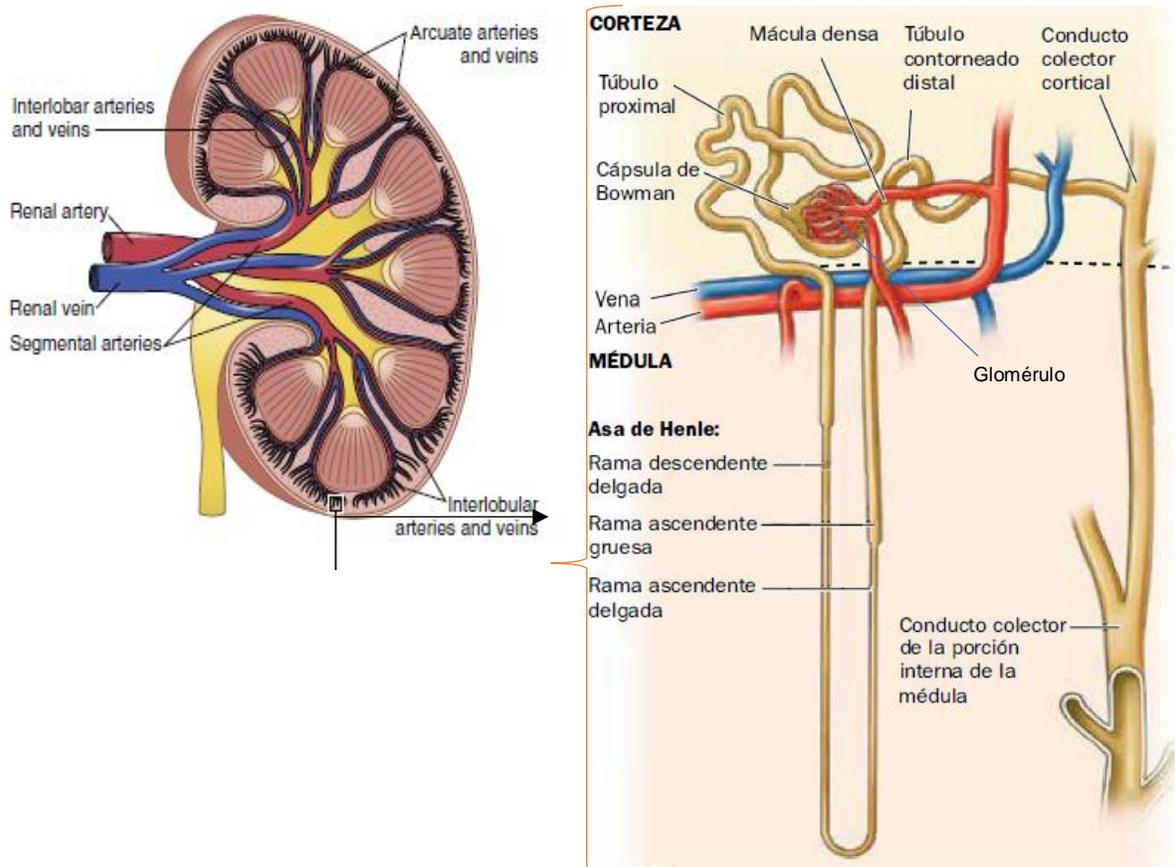


Fig.2. Anatomía del riñón y la nefrona. A) esquema anatómico del riñón<sup>3</sup>. B) esquema anatómico de la nefrona <sup>1</sup>

Las nefronas realizan funciones básicas del riñón, que consisten en la regulación del volumen y composición del líquido extracelular del organismo, así como la eliminación de productos de desecho. Estas funciones se realizan a través de dos procesos consecutivos: filtración glomerular y el transporte tubular de agua y solutos, este último proceso da lugar a la formación de la orina<sup>4</sup>. En cuanto a la filtración, en el glomérulo se distingue un lecho capilar<sup>4</sup>, el cual soporta una alta presión hidrostática (600 mmHg)<sup>3</sup>, es precedido por una arteriola aferente y es seguido de una arteriola eferente. La regulación de estas arteriolas es fundamental para mantener la presión que se requiere en los capilares glomerulares para mantener la ultrafiltración glomerular<sup>4</sup>, el líquido filtrado de los capilares glomerulares fluye hacia la capsula de Bowman y después al túbulo proximal que se localiza en la corteza renal. Desde el túbulo proximal, el líquido fluye hacia el asa de Henle, que se sumerge en la medula

renal. Cada asa de Henle consiste en un segmento descendente y otro ascendente, las paredes del segmento descendente y el extremo inferior ascendente son muy delgadas, por lo que se le nombra el segmento delgado del asa de Henle; después de que el segmento ascendente del asa regresa parcialmente a la corteza su pared se vuelve mucho más gruesa, así que recibe el nombre de segmento ascendente grueso, al final de ese tramo hay un corto segmento que tiene en su pared una placa de células epiteliales, llamada mácula densa<sup>3</sup>, estas actúan como sensores de la concentración de los solutos y de la tasa de flujo tubular<sup>1</sup> (Fig. 3).

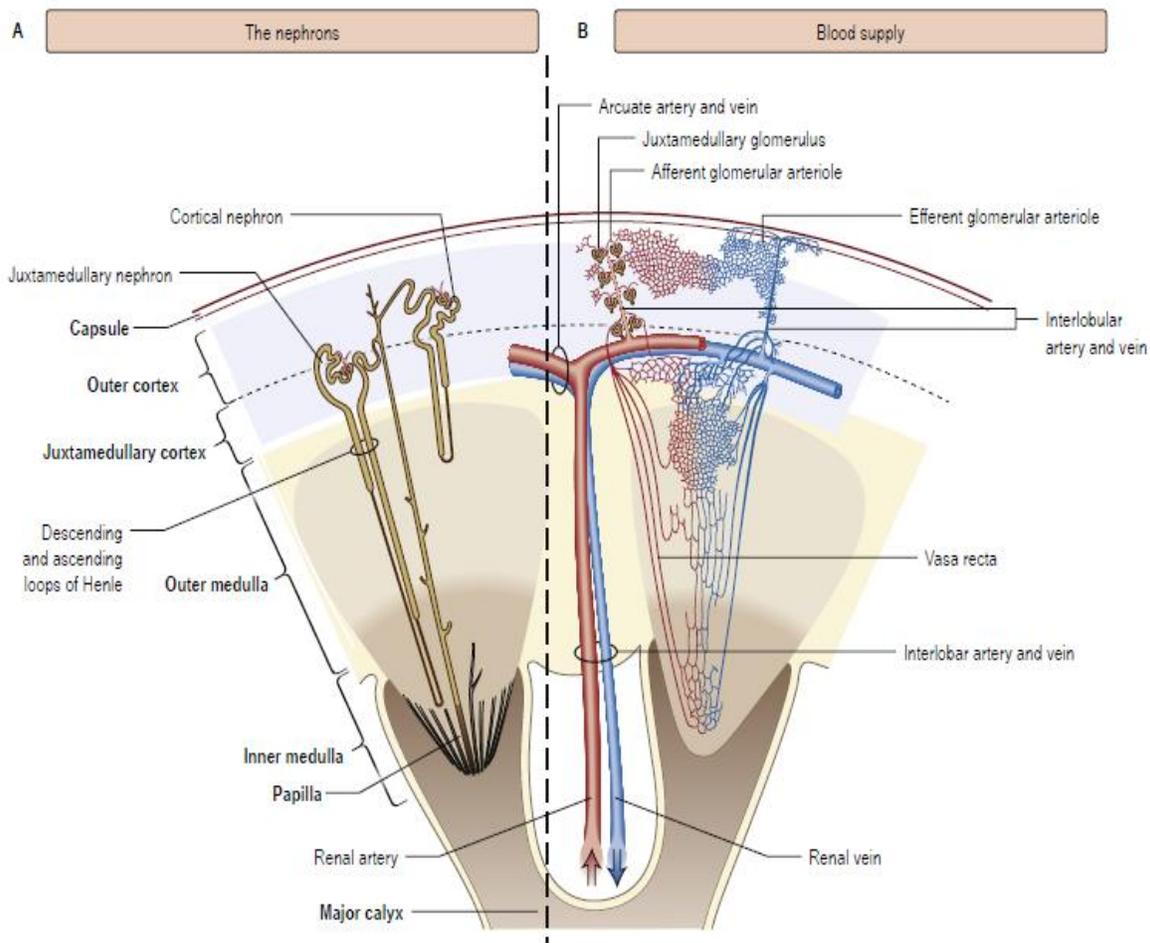


Fig.3. anatomía de la nefrona. A) partes de la nefrona. B) suministro arterial y venoso.<sup>2</sup>

La capa visceral o interna está compuesta por podocitos, los cuales abrazan a los capilares fenestrados del glomérulo<sup>4</sup>, con poros de 60 a 80 nm y cubiertos con glucocáliz cargado, en

la base de los podocitos se forma una rendija de filtración proteica de 40 nm, esta previene el paso de moléculas más grandes<sup>2</sup>; y definen las propiedades del ultrafiltrado glomerular; este filtrado es muy parecido al plasma, excepto en que carece de proteínas de peso molecular superior a 60kDa, como la albumina<sup>4</sup>. La capa epitelial o externa forma la pared del glomérulo, con lo que se separa el espacio urinario del intersticio renal. En cuanto al transporte tubular, los túbulos renales son unidades especializadas con funciones diferenciadas según el segmento de que se trate y su localización, la cual puede ser cortical o medular<sup>4</sup>, el líquido entra en el túbulo distal, el cual está en la corteza renal, este túbulo es seguido por el túbulo de conexión y túbulo colector cortical, que conduce al conducto del túbulo colector cortical. Cada 8 a 10 conductos colectores corticales se unen para formar un único conducto colector de mayor tamaño que va hacia abajo en la medula y se convierte en el conducto colector medular<sup>3</sup>. Los conductos colectores se unen para formar conductos de mayor tamaño que desembocan en la pelvis renal a través de las puntas de las papilas renales<sup>3,4</sup>.

## **VÍAS URINARIAS**

Las vías urinarias comprenden a los cálices, pelvis renal, uréteres, vejiga y uretra. La pelvis del uréter se divide en dos o tres grandes ramas, que se conocen como cálices mayores, a su vez, cada uno de estos se bifurcan en varias ramas más cortas que se nombran calices menores. Hay de 7 a 14 calices menores, cada uno de ellos con su extremo dilatado y acoplado alrededor de una a tres papilas renales<sup>5</sup>.

Las vías urinarias disponen de células musculares lisas que son responsables de contracciones peristálticas que mueven la orina hacia la vejiga. Los uréteres penetran por el dorso de la vejiga con una disposición oblicua particular que evita el reflujo ante la contracción de esta. La vejiga posee un epitelio prácticamente impermeable a la orina y un poderoso musculo denominado detrusor, que es el responsable de la micción<sup>5</sup>.

Se concibe a las vías urinarias como una unidad anatómica unida por una columna continua de orina que va desde la uretra hasta los riñones<sup>9</sup>, dicha orina se forma a partir del ultrafiltrado del plasma que tiene lugar en el glomérulo, este filtrado se modifica a lo largo de la nefrona mediante procesos de reabsorción de agua, solutos y secreción de electrolitos. Una vez generada, la orina se expelle a través de las vías urinarias, contribuyendo a eliminar los productos del metabolismo nitrogenado y mantener el equilibrio del medio interno<sup>10</sup>. Aunque la orina es estéril, se pueden encontrar microorganismos exógenos, debido a contaminación por su paso a través de la uretra<sup>11</sup>.

## **INFECCIÓN DE VÍAS URINARIAS**

La aparición de IVU en el ámbito mundial es variable, debido a la edad, sexo, raza, dieta, hábitos higiénicos y sexuales, factores sociales y patogenicidad de los microorganismos<sup>13</sup>.

En nuestro país, según los datos publicados por la Secretaría de Salud en su Boletín Epidemiológico, durante el año 2018 se reportaron 4 339 674 casos de IVU, de los cuales el 77% fueron mujeres y el 23 % hombres; el Estado de México (11 %) y Ciudad de México (8.3%) quienes reportaron el mayor número de casos<sup>14</sup>. A pesar de la contingencia epidemiológica por COVID la cual se ha mantenido en los últimos años, el número de casos reportados disminuyó considerablemente, en 2020 se reportaron 2 816 049 casos de IVU, de los cuales el 76.87% fueron mujeres y el 23.13% fueron hombres<sup>15</sup>; la misma situación se presentó durante 2021se reportaron 2 881 378 casos, con un ligero aumento en el porcentaje de casos reportados en mujeres (78%) y una ligera disminución de reporte de casos en las personas del sexo masculino (22%)<sup>16</sup>. A pesar de que el número total de casos reportados disminuyó considerablemente, aún se mantiene estable el porcentaje de casos al diferenciarlos por género.

Las IVUs se pueden clasificar de diversas maneras, dependiendo del nivel anatómico afectado, grado de la infección o complejidad, frecuencia, además dependen de diversos factores de riesgo, así como de hallazgos microbiológicos<sup>12,17</sup>:

1. Ubicación anatómica:

1.1. Infección de Vías Urinarias Altas<sup>18</sup>. Es una infección que afecta a la pelvis y al parénquima renal<sup>19</sup>.

1.1.1. Pielonefritis: Se observa un infiltrado inflamatorio con predominio de leucocitos polimorfonucleares, si existe obstrucción ureteral puede afectar todo el riñón al originarse una lesión irreversible en el parénquima renal<sup>4</sup>. presentan 2 formas clínicas: aguda y crónica<sup>20</sup>. Puede tener complicaciones como la nefritis intersticial bacteriana aguda, necrosis papilar en diabéticos, abscesos renales o perirrenales y sepsis<sup>21</sup>. Los pacientes con anomalías de las vías urinarias y episodios recurrentes de pielonefritis pueden tener una expresión clínica menos intensa, con febrícula, malestar general, decaimiento, hiporexia y dolor lumbar<sup>22</sup>.

1.2. Infección de Vías Urinarias Bajas: afectando la mucosa de uretra y vejiga<sup>12,18,21</sup>. Cursa con un síndrome miccional<sup>12</sup>.

1.2.1. Cistitis. Es una inflamación superficial de la pared vesical, caracterizada por la aparición de un infiltrado inflamatorio, edema e hiperemia en mucosa<sup>4</sup>. Se produce por ascenso de los microorganismos desde el meato urinario, siendo más frecuente en la mujer debido a lo corto de su uretra<sup>20</sup>. Hay presencia de síntomas como disuria con o sin aumento de frecuencia urinaria, urgencia, tenesmo vesical, dolor suprapúbico o hematuria, por lo general en ausencia de secreción e irritación vaginal<sup>23</sup>.

1.2.2. Uretritis. es la inflamación de la mucosa uretral con síntomas como disuria, enuresis secundaria, piuria y bajo recuento de colonias en urocultivo ( $<10^3$ )<sup>18</sup>.

2. Grado de infección: saber el grado de infección es importante debido a que influye en la evaluación inicial, ubicación del tratamiento (comunidad vs hospital), elección y duración de fármacos<sup>12</sup>.

2.1. Bacteriuria asintomática<sup>24</sup>. se genera sin que surjan síntomas que se atribuyan a la presencia de bacterias en las vías urinarias y casi nunca se aplica tratamiento<sup>25</sup>. Tiene un recuento significativo de colonias bacterianas en el urocultivo<sup>18</sup>, debido a que los microorganismos permanecen en el tracto urinario sin ser eliminados por el huésped y sin originar una respuesta suficiente para ocasionar síntomas. Es frecuente en el anciano y muy constante en el paciente sondado<sup>26</sup>. Requiere

tratamiento solo en casos seleccionados como mujeres embarazadas y en pacientes a los que le realizaran algún procedimiento del tracto urinario<sup>23</sup>.

2.2. IVU no complicada: incluye episodios de cistitis y pielonefritis aguda, las cuales pueden ocurrir en mujeres sanas, no gestantes y sin alteraciones funcionales o anatómicas<sup>12,21,27</sup>, sin historia de reciente uso de sondas o procedimientos urinarios. Los síntomas están asociados al área afectada<sup>21</sup>.

2.3. IVU complicada<sup>24</sup>. Se consideran complicadas cuando se asocian con alteraciones anatómicas, así como condiciones de comorbilidad o fisiológicas (embarazo). También se incluyen a los pacientes en los extremos de la vida, con inmunodeficiencias congénitas o adquiridas, a los que se les ha colocado una sonda vesical o realizado procedimientos invasivos del tracto urinario<sup>22,23</sup>, al igual que las infecciones en varones<sup>23</sup>. Cursa con un recuento de colonias bacterianas en el urocultivo<sup>18</sup>. Las condiciones predisponentes más comunes para hacer que una IVU sea complicada incluye la diabetes, vejiga neurogénica, uso de catéter permanente y obstrucción urinaria de cualquier origen. Las IVU complicadas aumentan el riesgo de recurrencia y de fracaso de la terapia empírica<sup>12</sup>.

2.4. Sepsis urinaria. Es una respuesta sistémica a la IVU, ocurre una disfunción orgánica<sup>17,23</sup> que amenaza la vida, se origina por una respuesta no regulada del huésped ante una infección cuyo origen se encuentra en el tracto urinario, el cual ha sido confirmado por métodos microbiológicos o por criterios clínicos<sup>23</sup>. El curso y severidad está relacionado con la patogenicidad del microorganismo y la respuesta del huésped<sup>17</sup>.

### 3. Frecuencia:

3.1. Recurrentes. La expresión de IVU recurrente no es obligadamente complicada<sup>9</sup> y se da cuando un paciente presenta 2 o más episodios de IVU en los últimos 6 meses ó 3 o más episodios en los 12 meses previos<sup>9,24</sup> (Fig. 4). Se le considera a la reaparición precoz en un lapso de 2 semanas<sup>9</sup>, la posibilidad de una recurrencia disminuye conforme transcurre mayor tiempo desde la última infección<sup>9</sup>. en la gran mayoría de los casos, se produce por una bacteria proveniente desde fuera del tracto urinario, cuyo reservorio es la microbiota intestinal<sup>27</sup>.

3.2. **Recaída.** Es la persistencia y reaparición de la cepa infecciosa original<sup>12</sup>, dentro de los 7 días posteriores al término del tratamiento antibacteriano<sup>2</sup>, incluso hasta 3 semanas después de una cura aparente<sup>12</sup> (Fig. 4). El fracaso del tratamiento puede ser originado por periodo corto de tratamiento, antibiótico inadecuado<sup>12</sup>, cálculos asociados, cicatrices renales, enfermedad poliquística<sup>2, 12</sup>, se da en menos del 5% de los casos<sup>27</sup>.

3.3. **Reinfección**<sup>14</sup>. Es cuando la bacteriuria está ausente después del tratamiento por al menos 14 días o más, seguido de una recurrencia de la infección con el mismo o diferente microorganismo<sup>2</sup>, el cual es adquirido a partir de la biota periuretral, perineal o rectal después de una resolución completa de la clínica del episodio anterior o un urocultivo negativo<sup>23</sup>, (Fig. 4). Esto es el resultado de una nueva invasión de microorganismos en el tracto urinario susceptible. Aproximadamente el 80% de infecciones recurrentes se deben a una reinfección<sup>2</sup>. Es más frecuente en mujeres jóvenes sexualmente activas, mujeres posmenopáusicas y en personas con trastornos urológicos como incontinencia urinaria, cistocele, vejiga neurógena o antecedente de cirugía ginecológica previa<sup>12</sup>.

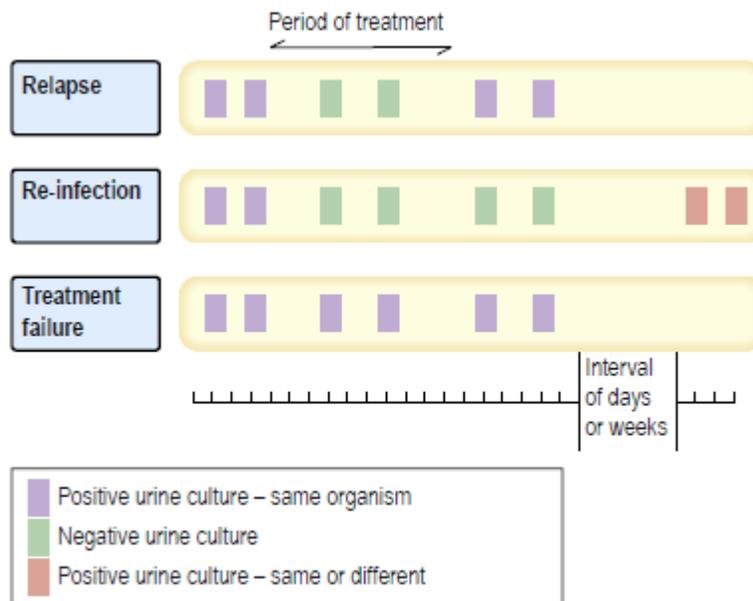


Fig. 4. Comparación de reinfección, recaída y fracaso terapéutico en una infección de vías urinarias<sup>2</sup>.

4. Factores de riesgo: Existen muchos factores de riesgo que facilitan o predisponen a que el fenómeno migratorio se vea favorecido<sup>21</sup> como:
- 4.1. Relaciones sexuales<sup>21</sup>. En 4 o más al mes<sup>27</sup>. Las mujeres con actividad sexual diaria tienen un riesgo 9 veces superior de presentar IVU recurrentes<sup>28</sup>, de igual manera la presencia de nuevas parejas sexuales aumenta el riesgo de contraer una IVU<sup>23</sup>.
  - 4.2. Hábitos de micción puesto que la retención voluntaria favorece la estasis de orina promoviendo la formación de colonias bacterianas<sup>21</sup>.
  - 4.3. Uso de espermicidas<sup>21</sup>. Modifica el pH vaginal reduciendo la población de lactobacilos<sup>27</sup>. El nonoxinol-9 es tóxico para los lactobacilos vaginales<sup>28</sup>.
  - 4.4. Estreñimiento<sup>21,29</sup>: Aunque ello pueda ser el resultado de factores mecánicos relacionados con la compresión de la vejiga y del cuello de la misma por las heces, es más probable que dependa de la coexistencia con una micción disfuncional y un vaciamiento incompleto de la vejiga (síndrome de eliminación disfuncional)<sup>29</sup>.
  - 4.5. Factores genéticos: las mujeres con infecciones recurrentes tienen de 3 a 4 veces mayor probabilidad de ser no-secretoras de antígenos de grupos sanguíneos ABO<sup>21,28</sup>, esta habilidad de secretar dichos antígenos a las secreciones tiene un patrón de herencia autosómico dominante. El estado no secretor ocurre en aproximadamente el 20% de la población blanca<sup>21</sup>. El epitelio vaginal en mujeres no secretoras expresa 2 glicosfingolípidos de cadena extendida que unen uropatógenos con mayor facilidad<sup>21</sup>.
  - 4.6. Disminución de estrógenos. El descenso vaginal de estrógenos conduce a una disminución de los niveles de glucógeno<sup>28</sup> producido por las células epiteliales dependientes de estrógeno<sup>23</sup>, el cual es empleado por los lactobacilos como sustrato para formar ácido láctico, esto último mantiene un pH vaginal ácido, y también es usado para fabricar peróxido de hidrógeno y péptidos antimicrobianos (bacteriocinas), que inhiben el crecimiento de los uropatógenos en la vagina y en la uretra<sup>28</sup> (Fig. 5), al presentarse una disminución tanto de estrógenos y andrógenos, ocasiona una atrofia del epitelio vaginal, provocando una disminución en la concentración de lactobacilos y por consiguiente un aumento en el pH vaginal<sup>23</sup>.

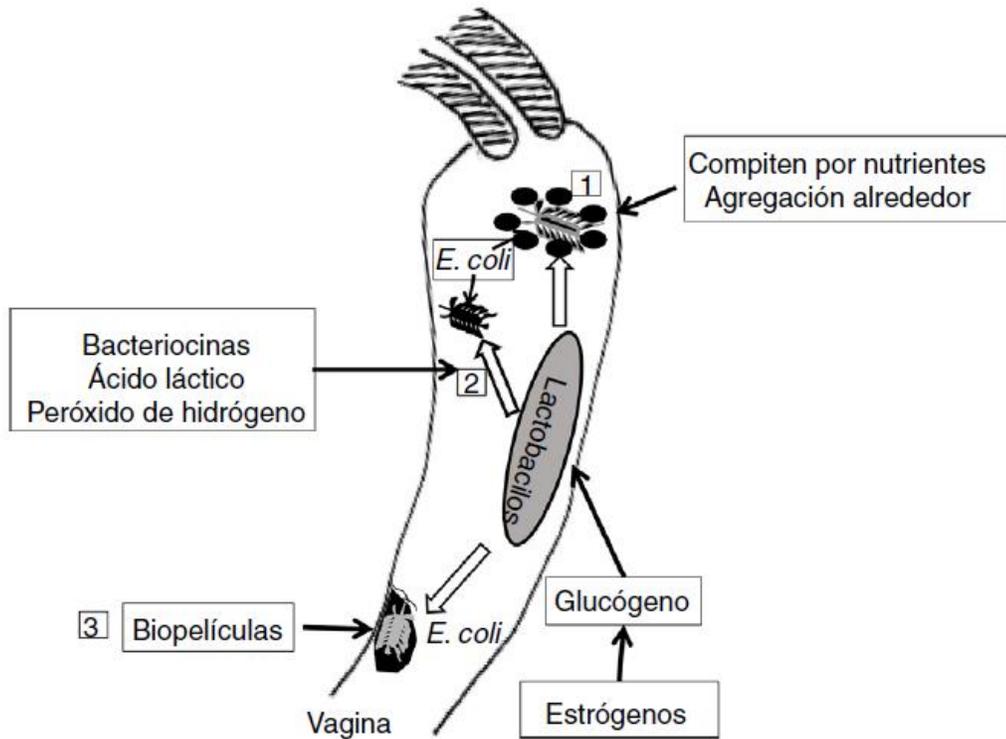


Fig. 5. Mecanismo de acción de los lactobacilos en la vagina. 1) Agregación alrededor de los uropatógenos, que impide su adhesión. 2) Producción de bacteriocinas, peróxido de hidrógeno y ácido láctico. Producen la lisis e impiden la proliferación de los uropatógenos. 3) Inhibición de la formación de biopelículas. Regulación de la producción de citocinas inflamatorias (factor de necrosis tumoral). *E. coli*: *Escherichia coli* <sup>28</sup>

- 4.7. Embarazo: debido a la coexistencia de diferentes factores mecánicos y hormonales, se producen cambios anatómicos y funcionales que elevan el riesgo de una IVU<sup>30</sup>.
- 4.8. Cateterización<sup>13,21</sup>: Son frecuentes y a menudo prevenible<sup>25</sup>. Pueden presentar sintomáticas o signos compatibles con IVU sin otra fuente identificable de infección y un conteo mínimo de  $10^3$  UFC/ml <sup>17</sup>
- 4.9. Obstrucción del tracto urinario. Es uno de los factores de riesgo que sugieren una IVU complicada<sup>21</sup>
- 4.10. Enfermedades base: insuficiencia renal, diabetes, inmunosupresión<sup>2,21</sup>, cálculos en el tracto urinario, demencia <sup>2</sup>.

## ETIOLOGÍA

En condiciones normales la orina y las vías urinarias son estériles. Sólo la uretra distal esta colonizada por biota cutánea y/o vaginal constituida por *Staphylococcus* coagulasa negativa, difteroides, *Streptococcus* del grupo *viridans* y *Lactobacillus*, y de forma transitoria, en ocasiones se pueden encontrar *Escherichia coli* y otras enterobacterias<sup>4</sup>. La etiología de la IVU depende de la localización anatómica de la infección, del ámbito de adquisición (comunitario, nosocomial) y de la presencia de determinados factores, como el tratamiento antimicrobiano previo, manipulación del tracto urinario, edad, sexo<sup>31,32</sup>, enfermedad base, obstrucción del tracto urinario, lesiones de médula espinal<sup>31</sup>. Mas del 95% de las IVU son monomicrobianas; sin embargo, cuando existen anomalías estructurales o cateterismo se puede aislar más de un microorganismo en la orina<sup>32</sup>. Entre los principales microorganismos causantes se encuentran: *Escherichia coli* (42-95%)<sup>13</sup>, le siguen en frecuencia otras enterobacterias (*Proteus mirabilis* y *Klebsiella pneumoniae*) y *Staphylococcus saprophyticus*<sup>4</sup>. *Proteus mirabilis* es frecuente en niños varones no circuncidados, ya que coloniza el saco prepucial<sup>4,29</sup>. *Staphylococcus saprophyticus* causa cerca del 10% de los casos de cistitis en mujeres de 15 a 25 años. *Streptococcus* del grupo B pueden causar IVU en mujeres embarazadas y neonatos<sup>4</sup>.

Las IVU complicada suele ser producida por *Escherichia coli* en el 50% de los casos, en menor proporción *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterococcus spp*<sup>4,9</sup>, *Klebsiella spp*, *Proteus spp*, *Citrobacter spp*, *Acinetobacter spp*, *Morganella spp* y *Staphylococcus aureus*, además de levaduras<sup>9</sup>. La IVU es polimicrobiana aproximadamente en el 5% de los casos, principalmente en pacientes con vejiga neurógena, sonda vesical, fistula vesicorrectal o vesicovaginal<sup>4</sup>.

En los pacientes hospitalizados con antecedentes de instrumentalización de vías urinarias, la infección puede ser originada por microorganismos hospitalarios como *Pseudomonas aeruginosa*, *Serratia* y *Staphylococcus*<sup>29</sup>.

*Corynebacterium urealyticum* y *Proteus spp* producen una ureasa que descompone la urea en amonio, por lo que la orina se alcaliniza y se producen cristales de fosfato de calcio y fosfato de amonio. *Staphylococcus saprophyticus*, *Klebsiella pneumoniae* y en menor grado, *Providencia*, *Morganella* y *Pseudomonas aeruginosa* también pueden producir ureasa <sup>4</sup>.

La biota fecal anaerobia rara vez ocasiona una infección urinaria, a pesar de estar en mayor cantidad que *Escherichia coli* en las heces<sup>29</sup>.

## PATOGENIA

Se concibe a las vías urinarias como una unidad anatómica unida por una columna continua de orina que va desde la uretra hasta los riñones<sup>9</sup>. Con excepción de la porción más inferior de la uretra, las vías urinarias son estériles debido a una serie de mecanismos de defensa inespecíficos<sup>22</sup> como flujo unidireccional, vaciamiento completo de vejiga, capacidad de las células uroepiteliales de atrapar bacterias e impedir su fijación<sup>22,33</sup>, además de características propias de la orina como cambios de osmolaridad, concentraciones altas de urea y pH bajo, por lo que pueden inhibir el crecimiento de algunas bacterias<sup>22</sup>. El sistema urinario posee inmunidad innata de tipo celular, con diversos disparadores endógenos: proteínas de Tamm-Horsfall, sistema de complemento, citoquinas y Receptores Toll-Like (TLR). Los receptores, al reconocer moléculas patógenas de los microorganismos, proceden a activar leucocitos y demás células inflamatorias contra la invasión bacteriana<sup>33</sup>.

- Dilución bacteriana. Es el mecanismo de defensa de la vejiga más eficaz, es por efecto del flujo urinario y la eliminación periódica de bacterias con cada micción. El efecto dilucional del flujo urinario es elevado cuando el volumen de orina vesical es pequeño, pero disminuye rápidamente a medida que este aumenta. En condiciones normales, el vaciado completo de la vejiga con cada micción elimina los microorganismos que han penetrado en ella, pero si, por el contrario, después de la micción queda un residuo, la presencia de microorganismos se autoperpetúa, el efecto beneficioso de la dilución disminuye o desaparece y en pocas horas, la densidad de bacterias en la orina alcanza el umbral crítico, por encima del cual se produce la invasión de la mucosa vesical. El valor de dicho umbral varía en función de la adherencia de la cepa y de la presencia de otros factores de virulencia como la producción de aerobactina, hemolisina o factor de necrosis citotóxica, entre otros<sup>4</sup>.
  
- Proteína de Tamm-Horsfall. Es producida por las células tubulares del asa ascendente de Henle<sup>30</sup>. Esta en una capa que cubre la mucosa urinaria, la cual está formada por glucoaminoglucanos y proteoglucanos<sup>28</sup>. Por su alto contenido en manosa, tiene una función antiadherente<sup>4,28</sup>, permitiendo eliminar bacterias con pili tipo 1<sup>4</sup> (Fig.6).

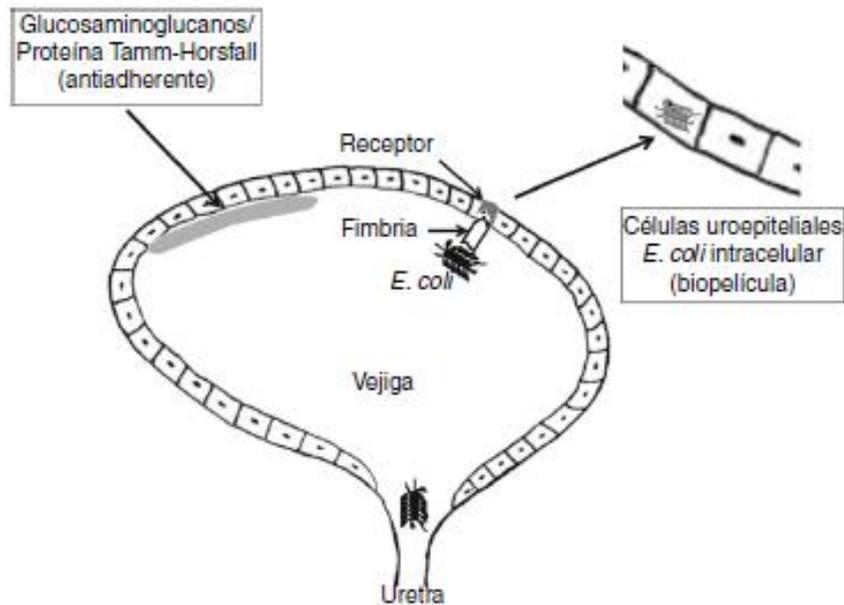


Fig. 6. Adhesión y penetración intracelular del uropatógeno, y acción de la capa de glucosaminoglucanos y de la proteína de Tamm-Horsfall<sup>28</sup>.

- Receptores Toll-Like (TLR): son proteínas situadas en la membrana de las células del huésped, actúan como receptores reconocedores de patógenos asociados a patrones moleculares (PAMP), dicho reconocimiento desencadena la cascada de respuesta inmunitaria innata, ya que activa factores de transcripción (NF-kappa B, AP-1, IRF<sub>3</sub>, IRF<sub>7</sub>, etc) los cuales regulan diversos genes, entre los que se encuentran algunos que codifican citoquinas proinflamatorias, por lo que se activa la producción del factor de necrosis tumoral, IL 1 $\beta$ , IL 6, IL 8, IL 12 e interferón tipo 1<sup>30</sup>. Cada tejido corporal puede expresar uno o más TLR, los de mayor relevancia en las células epiteliales del tracto urinario son TLRs, 2,4 y 11<sup>30,33</sup>.
  - a. TLR 2: detectan lipoproteínas de bacterias Gram positivas<sup>33</sup>.
  - b. TLR 4: se expresan en vías urinarias bajas y detectan lipopolisacáridos de bacterias Gram negativos<sup>33</sup>.
  - c. TLRs 11: se expresan en todo el riñón<sup>33</sup>.

Cuando el inóculo bacteriano supera los mecanismos antes mencionados o existen alteraciones anatómicas y/o funcionales de las vías urinarias, como el reflujo vesicoureteral y presencia de cuerpos extraños, se crean condiciones para el inicio de una infección urinaria<sup>22</sup>.

Hay 3 vías de entrada para los microorganismos:

1. Vía ascendente: A partir del meato urinario los microorganismos pueden ascender a la vejiga. La uretra femenina es corta y el paso de microorganismo al interior de la vejiga es un fenómeno frecuente, especialmente durante el coito (Fig.7). En el varón, la mayor longitud de la uretra y la presencia de una sal de zinc con actividad antibacteriana, secretada por la próstata normal, evita el ascenso espontaneo de microorganismos a través de la uretra<sup>4</sup>. También pueden ascender a vejiga por el uso de catéter urinario. Una vez que las bacterias alcanzan vejiga, se multiplican y pueden pasar a los uréteres, sobre todo cuando existe reflujo vesicoureteral<sup>22</sup>.

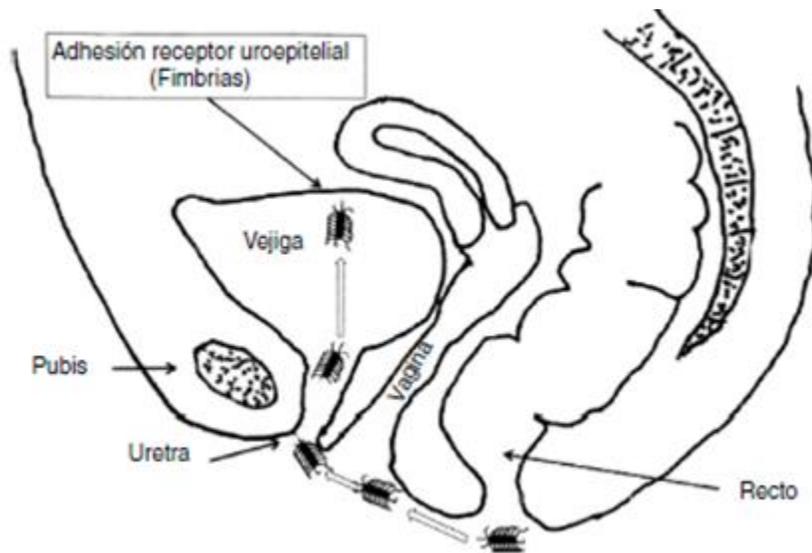


Fig. 7. Patogenia de las infecciones urinarias. Mecanismo ascendente del uropatógeno a partir de la uretra.<sup>28</sup>

2. Vía hematológica: ocurre cuando hay infección del parénquima renal con microorganismos presente en la sangre<sup>22</sup>. Esto puede ser consecuencia de una bacteriemia causada por microorganismos virulentos como *Salmonella* y *Staphylococcus aureus*. Las infecciones hematológicas pueden ocasionar abscesos focales o áreas de pielonefritis dentro del riñón. Ocasiona <2% de las IVU corroboradas<sup>9</sup>. Las bacteriemias por gramnegativos difícilmente provocan una pielonefritis, excepto bajo circunstancias especiales, como obstrucción del flujo de orina o en pacientes inmunocomprometidos<sup>22</sup>.
  
3. Vía linfática: es poco frecuente. De forma experimental se ha demostrado que existe comunicación linfática entre los uréteros y los riñones, que una presión incrementada en la vejiga ocasiona flujo linfático al riñón<sup>22</sup>.

Cuando los microorganismos alcanzan la vejiga<sup>4</sup>, las células bacterianas son internalizadas encontrando el ambiente ideal para el crecimiento y la formación de comunidades intracelulares bacterianas (CIB)<sup>23</sup>; el desarrollo de infección está en relación con la densidad de población bacteriana presente en la orina y los factores de virulencia del microorganismo, principalmente su capacidad de adhesión al urotelio<sup>4</sup>. En respuesta a lo anterior, se produce una cascada de eventos locales que involucran la liberación de sustancias<sup>23</sup> como histamina, serotonina, citocinas<sup>21</sup>, como el factor de crecimiento tumoral, interleucina 6 y 7, así como ligandos específicos para quimiocinas. Todo esto lleva a un aumento de la permeabilidad vascular y activación de células endoteliales<sup>21</sup> y eso desencadena la liberación tanto de neutrófilos a nivel del urotelio, como de monocitos que intentan reducir el número de bacterias, pero exponen por exfoliación al urotelio. Dicha exposición genera la adherencia de bacterias al urotelio formando reservorios intracelulares quiescentes, estos pueden ser los causantes de la persistencia de infección o de su recurrencia<sup>23</sup>.

Algunos serogrupos de *Escherichia coli* poseen fimbrias o *pili*<sup>4</sup>, se han identificado al menos 38 tipos, algunos de los cuales presentan tropismo ya sea por el epitelio del tracto urinario inferior o superior<sup>23</sup>.

Una vía potencial de generación de virulencia de las enterobacterias, es la expresión de pilis por la vía Chaperon-Usher. En *Escherichia coli* uropatógena, expresa 12 sitios que median cada uno por separado, la unión a receptores específicos en superficies celulares. Son 4 los pili de la vía Chaperon-Usher que están comprometidos en el desarrollo de la IVU. El pili tipo 1, el pili P, el pili UCL o F17 y el pili FML<sup>23</sup>.

Una vía potencial de generación de virulencia de las enterobacterias, es la expresión de pilis por la vía Chaperon-Usher. En *Escherichia coli* uropatógeno, expresa 12 sitios que median cada uno por separado, la unión a receptores específicos en superficies celulares. Son 4 los pili de la vía Chaperon-Usher que están comprometidos en el desarrollo de la IVU. El pili tipo 1, el pili P, el pili UCL o F17 y el pili FML<sup>23</sup>.

Los *pili* de tipo 1 median la unión del microorganismo a las uroplaquinas a través de la adhesina Fim H situada en el extremo distal de los pili. Las uroplaquinas son glucoproteínas manosiladas que recubren la superficie luminal de las células paraguas de la capa superficial del urotelio<sup>4,23</sup>; también posee integrinas  $\alpha 1\beta 3$  que recubren la mayoría del epitelio vesical<sup>23</sup>. Junto con las *tigh junctions* y un polisacárido sulfatado que tapiza el urotelio, mantienen impermeable la pared vesical. La unión de los *pili* con las uroplaquinas induce el reordenamiento de filamentos de actina en el citoesqueleto y se internalizan el microorganismo (Fig. 8); en el citoplasma de las células uroteliales, la *Escherichia coli* puede adoptar una dinámica de crecimiento similar a la observada en biopelículas<sup>4</sup>, pueden ser una sola o múltiples especies encapsuladas en una matriz rica en polisacáridos y rodeada en una capa de uroplaquina que va a servir como barrera contra mecanismos de defensa del huésped y antimicrobianos<sup>23</sup>; a través de canales, viajan libremente nutrientes que permiten la formando reservorios intracelulares quiescentes de 4 a 10 bacterias que no se replican y pueden ser viables por meses, lo que ocasiona infecciones recurrentes y bacteriuria asintomática. Las cepas de *Escherichia coli* que expresan *pili* tipo 1 se observan con mayor frecuencia en pacientes con IVU no complicada que en aquellos con IVU complicada o con bacteriuria asintomática<sup>4</sup>. *Klebsiella*, *Enterobacter* y *Citrobacter spp* poseen el mismo mecanismo de adhesión al urotelio<sup>4</sup>.

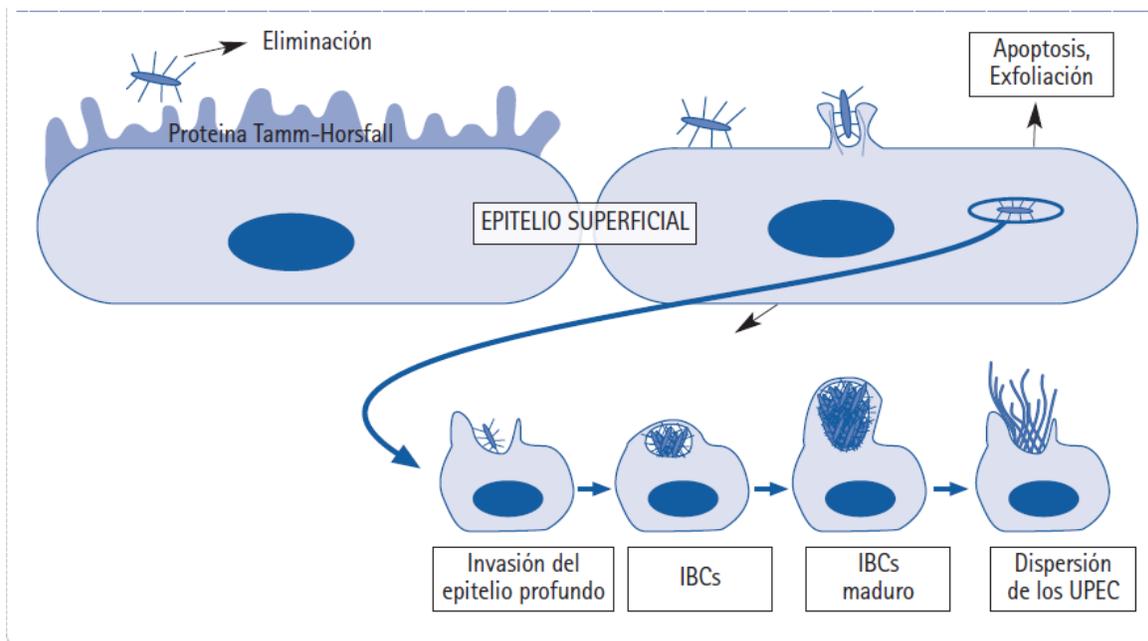


Fig. 8. Efectos patógenos desencadenados por pili tipo 1<sup>30</sup>.

El pili de tipo P reconocen residuos D-galactosa- D-galactosa que forman parte del complejo antigénico del grupo sanguíneo P de los hematíes. El antígeno P se encuentra sobre todo en la pelvis renal<sup>4</sup>. El pili P confiere tropismo al riñón y se presenta en la mayoría de las cepas de *Escherichia coli* que producen pielonefritis aguda en ausencia de reflujo vesicoureteral. En su punta tiene una adhesina denominada PapG que reconoce glicolípidos uroteliales<sup>27</sup>. La mayoría de *Escherichia coli* uropatógena que provoca pielonefritis expresan pili tipo 1 y pili tipo P<sup>4</sup>. Se ha demostrado que los pilis P son codificadas por un grupo de 11 genes (pap gene cluster) y son portadoras de una adhesina específica, la Gal (alpha 1-4) Gal-specific PapG adhesin, esencial en la patogenia de la infección renal y se adhiere a unos receptores específicos, los glucoesfingolípidos, de las células epiteliales de la mucosa del tracto urinario<sup>29</sup>.

El pili S tiene una adhesina llamada SfaS que se une a residuos de ácido siálico y se ha asociado tanto a infecciones vesicales como renales<sup>27</sup>.

El pili FML se pega a otro proteoglicano expresado en vejiga y riñones con inflamación crónica<sup>23</sup>.

La *Escherichia coli* al expresar lipopolisacáridos en su superficie puede ser detectado por el TLR4, una proteína de membrana que induce la producción de AMP cíclico y un fenómeno de exocitosis bacteriana que puede ser revertida por la bacteria, volviendo así al citoplasma y formando CIB, siendo así responsables de muchas de las recurrencia y persistencia de las IVU <sup>23</sup>.

Otros factores de virulencia son la producción de proteasas y toxinas que liberan nutrientes de las células del huésped y así crear nichos de invasión y promover la diseminación. La *E. coli* secreta altas concentraciones de  $\alpha$  hemolisina, la cual tiene la capacidad de formar poros y lisar las células uroteliales, haciendo que el hierro y otros nutrientes se encuentren disponibles para los patógenos infectantes. Esta bacteria cuenta con sideróforos como la yersiniabactina y salmoquelina, estos son importantes ya que una forma de defensa del huésped es el secuestro de metales a través de la expresión de lactoferrina. La bacteria se defiende a través de los sideróforos que fijan hierro y cobre en el espacio extracelular y lo internalizan para su supervivencia<sup>23</sup>.

El factor necrotizante citotóxico 1 se expresa en 40% de *E. coli* uropatógenicas e ingresa a las células del huésped por vesículas endocíticas, uniéndose a receptores y genera cambios en el citoesqueleto, aumentando los niveles de internalización bacteriana promoviendo su supervivencia <sup>23</sup>.

Las bacterias que producen ureasa (*Corynebacterium urealyticum*, *Proteus spp*) descomponen la urea en amonio, por lo que la orina se alcaliniza y disminuye la solubilidad de los fosfatos de calcio y magnesio, ambos pueden originar cálculos<sup>4</sup>.

Desde la vejiga, los microorganismos pueden alcanzar la pelvis renal transportados por la existencia de un reflujo vesicoureteral o por su propia movilidad (*Proteus spp*). La endotoxina de los bacilos gramnegativos disminuye el peristaltismo uréteral y favorece la aparición del reflujo. La osmolaridad elevada, el pH ácido, la hiperamonemia y el escaso flujo sanguíneo característicos de la medula renal, dificultan la actividad de los leucocitos y permiten el desarrollo de pielonefritis con inóculos bacterianos muy bajos <sup>4</sup>.

La *Pseudomonas aeruginosa* secreta dos sideróforos conocidos como pioverdina y piochelina, con los que obtiene hierro de su entorno y además produce diversos factores de patogenicidad como Exo A, proteasa alcalina y elastasa. Otra característica importante es que esta bacteria posee una gran capacidad de adaptación a los microambientes (Fig.9), y en condiciones de osmolaridad de 200 a 300 miliosmoles por litro aumentaban la resistencia a la fagocitosis y se correlaciona con la producción de malondialdehído (MDA), siendo este un marcador de daño tisular (renal y de vejiga urinaria). También es importante considerar que *Pseudomonas aeruginosa* posee una menor permeabilidad al agua y una mayor velocidad de liberación de osmolitos ante diluciones con alta osmolaridad, para ello, la bacteria emplea canales que usa como válvulas para eliminar los osmolitos hacia el exterior de la bacteria como método de supervivencia. La THP es una glicoproteína sintetizada en riñón y la proteína más abundante en vías urinarias. Los valores normales de excreción van de 50-100 miligramos por día, pero en concentraciones de 10 a 50 mg/ml de THP inducen de forma dosis-dependiente la producción de factores de patogenicidad. A concentraciones de 50mg/ml de THP contribuye a la formación de biopelícula permitiendo a esta bacteria sobrevivir y escapar de la fagocitosis<sup>34</sup>.

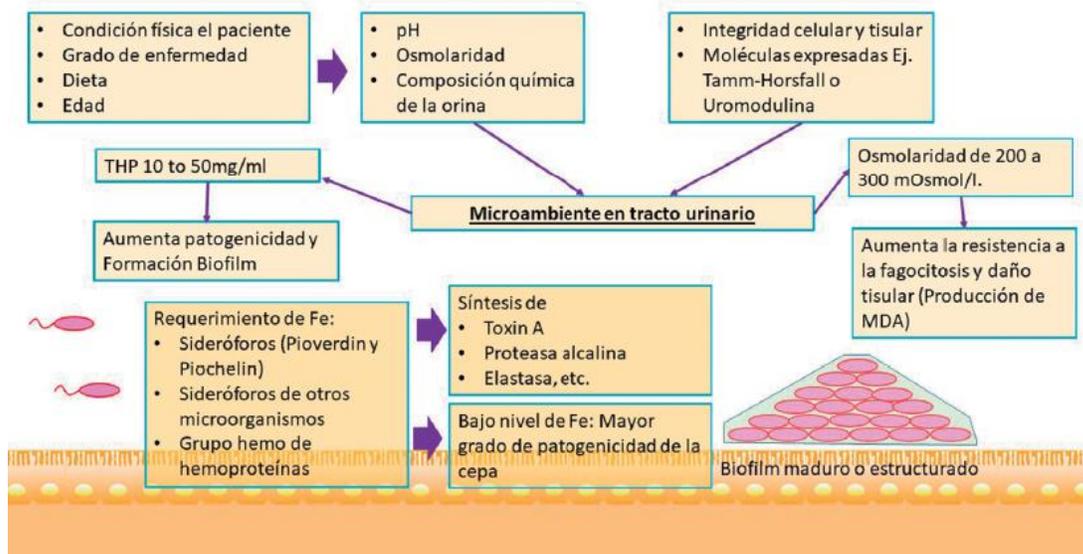


Fig. 9 Factores microambientales que permiten la colonización por *Pseudomonas aeruginosa*. La condición del paciente como la dieta o edad, pueden alterar la osmolaridad y composición química de la orina modificando el microambiente del tracto urinario <sup>34</sup>.

## CUADRO CLÍNICO

La cistitis se caracteriza por la aparición de disuria, polaquiuria, micción urgente. Con menor frecuencia se observa incontinencia, tenesmo y dolor suprapúbico, que puede aumentar con la micción. La fiebre y otras manifestaciones sistémicas son muy raras. La orina puede tener mal olor y presentar turbidez, en ocasiones puede haber hematuria macroscópica <sup>4</sup>.

La pielonefritis comienza de forma súbita con fiebre elevada, escalofríos y afección del estado general. La distensión de la capsula renal origina dolor en la fosa lumbar, en ocasiones náuseas y vómitos. El dolor puede irradiar al flanco, fosa iliaca del mismo lado o al epigastrio. La percusión de la fosa lumbar y la palpación bimanual suelen ser dolorosas. El cuadro puede acompañarse en 1 o 2 días de un síndrome miccional. En pacientes ancianos la infección puede cursar con incontinencia urinaria, dolor abdominal vago, confusión, disminución de movilidad, caídas y deterioro de la función renal. En pacientes con vejiga neurógena por lesión medular o esclerosis múltiple la infección puede debutar con un aumento de la espasticidad muscular <sup>4</sup>.

Cerca del 20% de los pacientes con pielonefritis aguda presentan bacteriemia y el 5% de estos sufren shock séptico. En el paciente diabético, la pielonefritis puede complicarse con el desarrollo de necrosis papilar o necrosis del parénquima renal y formación de gas. La necrosis de una o varias papilas renales puede causar hematuria, obstrucción ureteral con dolor semejante al de un cólico nefrítico y deterioro de la función renal <sup>4</sup>.

## DIAGNÓSTICO

### Examen General de Orina

El examen general de orina es parte del diagnóstico y las valoraciones regulares, otorga una cantidad significativa de información preliminar sobre los riñones, algunos procesos metabólicos, procesos patológicos extrarrenales y se puede detectar infecciones en vías urinarias<sup>35</sup>, aunque en este último, solo sirve de diagnóstico presuntivo, y para su confirmación diagnóstica requiere el aislamiento de un uropatógeno en el cultivo<sup>17</sup>. Mientras se espera el informe del cultivo, sirven de orientación el análisis de la orina por tira reactiva, sedimento y tinción de Gram, de acuerdo con disponibilidad<sup>30</sup>: presencia de 5 a 10 leucocitos por campo en el sedimento urinario, nitritos positivos, estereasa leucocitaria positiva<sup>36</sup> y bacteriuria<sup>22</sup>.

Si hay sospecha de infección de vías urinarias, a menudo se obtiene una muestra reciente de orina<sup>35</sup>, el examen general de orina consta de 3 partes, la primera se hace un examen macroscópico<sup>10</sup>, seguido de un análisis con una tira reactiva y la última parte se examina el sedimento<sup>23</sup>. la primera parte del examen general de orina es el examen macroscópico con la observación de color, aspecto y olor<sup>10,35</sup>.

1. Color: la orina es de color amarillo claro. Dependiendo de su concentración, puede ser clara y transparente, cuando esta diluida, o amarilla oscura al estar más concentrada<sup>10</sup>, esta variación de color se debe al pigmento urocromo, el cual es un producto del metabolismo de la bilirrubina. Una anormalidad en el color puede ser resultado de una alteración patológica<sup>35</sup>. También algunos medicamentos o alimentos pueden modificar su coloración<sup>10</sup>, (Tabla 1).

Tabla 1. Valor orientativo de posibles causas del color en orina. <sup>10,35</sup>

Color observado	Causas patológicas	Causas No patológicas
<b>Rojo</b>	Hemoglobina Mioglobina Porfirinas Porfobilinógeno	Fármacos diversos Colorantes Remolacha Fenazopiridina
<b>Naranja</b>	Pigmentos biliares	Fenotiazinas antimicrobianos urinarios doxorrubicina
<b>Amarillo intenso</b>	Bilirrubina Urobilina	Zanahorias Fenacetina Nitrofurantoina
<b>Verde</b>	Biliverdina	Vitaminas
<b>Azul</b>	Infección <i>Pseudomonas</i> por	Nitrofuranos Azul de metileno Fenol
<b>Negro o negro pardusco</b>	Melanina Ácido homogentísico Urobilina Metahemoglobina	Levodopa Complejos de hierro Fenoles
<b>Marrón</b>	Mioglobina Hematina acida Pigmentos biliares	Levodopa Nitrofuranos Sulfamidas
<b>Café</b>		Cloroquina Preparaciones férricas Levodopa Nitrofurantoina
<b>Rosa</b>		Fenitoína fenolftaleína
<b>Incolora</b>	Poliuria	Diuréticos en altas dosis

2. Aspecto: una muestra de orina normal debe ser clara, aunque puede mostrar turbidez por la ingestión de ciertos alimentos altos en grasa, ácido úrico y fosfato. La orina turbia puede ser ocasionada a la presencia de pus, eritrocitos, bacterias <sup>35</sup>.
3. Olor: en condiciones normales la orina presenta un olor característico<sup>34</sup>. Su aroma se debe a los ácidos volátiles. En el caso de la cetoacidosis diabética, el olor tiene la marca dulce y fuerte de la acetona<sup>35</sup> (Tabla 2).

Tabla 2. Padecimientos que alteran el olor de la orina. <sup>35,37</sup>

Olor	Padecimiento
<b>Amoniacal</b>	Infección urinaria
<b>Rancio</b>	Tirosinemia
<b>A ratón</b>	Fenilcetonuria
<b>A jarabe de arce</b>	Enfermedad de jarabe de arce
<b>A pies</b>	Acidemia glutarica
<b>Olor fecal</b>	Fistula enterovesical

Las tiras reactivas son baratas y muy útiles, utiliza reactivos fijados en almohadillas que cambian de color al contacto con elementos específicos en la orina<sup>2</sup>, permite determinar la presencia de: pH, gravedad específica, proteínas, glucosa, cetonas, sangre y esterasa leucocitaria <sup>10,35</sup>.

1. pH. El análisis de pH en una muestra fresca de orina revela el equilibrio ácido-base<sup>35</sup>. La orina refleja el trabajo de los riñones para mantener una homeostasis normal del pH, ya que ayuda al equilibrio acido-base al reabsorber el sodio y elimina el hidrogeno<sup>35</sup>, y elimina la producción metabólica diaria de ácidos no volátiles<sup>4</sup>. El adulto normal, excreta cerca de 50 a 100 miliequivalentes de iones hidrogeno en 24 horas, lo que produce un pH urinario de 6 <sup>37</sup>, que puede variar entre 4.6 y 8.0 <sup>10,37</sup>, dependiendo de factores como la dieta y la ingesta de fármacos<sup>10</sup> (Tabla 3). El pH de la orina es útil para identificar cristales en la orina y determinar la predisposición para formar un tipo de lito específico <sup>35</sup>.

Tabla 3. Causas de variación en el pH de la orina <sup>10, 35</sup>

pH	Causas
<b>Orina acida (pH &lt; 4.5)</b>	Acidosis metabólica, Diarrea crónica, Dieta alta en productos cárnicos o arándanos. Insuficiencia respiratoria crónica Inanición Deshidratación

<b>Orina alcalina (pH &gt; 8.0)</b>	Acidosis tubular Alcalosis metabólica: vómito, aspiración nasogástrica, diuréticos Alcalosis respiratoria Infecciones urinarias por gérmenes productores de ureasa ( <i>Proteus mirabilis</i> ) Dieta vegetariana
-------------------------------------	---

2. Gravedad específica. Indica la relativa proporción de componentes solidos disueltos en un volumen total, es decir, refleja la densidad de la muestra. Algunos electrolitos como el sodio, cloro, urea, sulfatos y fosfatos contribuyen de manera importante<sup>37</sup>, de igual manera el valor de la densidad es superior al que correspondería a la concentración cuando la orina contiene cantidades elevadas de solutos de alto peso molecular, como glucosa o contrastes radiológicos. El valor normal oscila entre 1.015 y 1.020<sup>10</sup>. la densidad especifica alta es indicativa de orina concentrada, una densidad baja indica orina diluida. Las enfermedades renales crónicas se relacionan con la presencia o ausencia de glucosuria y proteinuria; también es una medida del estado de hidratación<sup>35</sup>.
3. Proteínas: la proteína es un indicador sensible de la función renal. En condiciones normales, las proteínas no están presentes en la orina<sup>35</sup>, debido a que las proteínas circulantes acceden a las células renales tubulares sobre todo por medio de la filtración glomerular, dicha filtración depende del rango de filtrado glomerular, de la concentración de las proteínas en el plasma y del coeficiente de permeabilidad/selectiva, especifica en el glomérulo para cada una de las proteínas, péptidos lineales o pro hormonas<sup>37</sup>. Si la membrana glomerular se daña, como en la glomerulonefritis, los espacios aumentan de tamaño y la proteína entra en el filtro para después llegar a la orina. En caso de persistir con una tasa significativa, puede desarrollarse hipoproteinemia como resultado de una perdida grave de proteínas a través de los riñones. La proteinuria es el indicador más importante de la enfermedad renal<sup>35</sup>. Normalmente no deben de excretarse más de 150 mg de proteína en la recolección urinaria de 24 horas Para la determinación cualitativa es suficiente una muestra al azar, de preferencia la primera orina de la mañana<sup>37</sup>. La tira reactiva detecta una proteinuria de alrededor de 50-150 mg/l<sup>2</sup>. una muestra de orina muy

concentrada o con un pH alcalino puede dar un resultado falso positivo, y una muestra muy diluida un resultado falso negativo<sup>4</sup>.

4. Glucosa: la presencia de glucosa en la orina en cantidades superiores a 20 mg/dL es anormal y suele deberse a hiperglucemia, aunque a veces es consecuencia de un descenso del umbral de reabsorción de la glucosa<sup>4</sup>. Normalmente no aparece glucosa en la orina. La glucosa filtrada es reabsorbida de forma completa en el túbulo proximal, y se presenta en la orina cuando la carga de filtración supera el transporte tubular máximo para la glucosa, lo que ocurre cuando la glucemia supera el umbral de 180 mg/dl. Las tiras usadas en los análisis rutinarios de orina detectan la presencia de glucosa cuando su concentración urinaria es mayor de 100 mg/dl. Otros azúcares que pueden dar reacción cruzada con la glucosa son la galactosa, fructosa y pentosa<sup>10</sup>.
5. Sangre. La tira reactiva reacciona con el grupo hemo. El grupo hemo se detecta siempre que los eritrocitos, hemoglobina y/o mioglobina están presentes en la orina. Sin embargo, no identifica si estos se encuentran solos o en combinación<sup>38</sup>.
6. Esterasa leucocitaria: es una prueba usada para detectar leucocitos en la orina. Un resultado positivo indica una IVU. Se realiza una prueba con una tira reactiva de esterasa leucocitaria, un tono púrpura se considera un resultado positivo<sup>35</sup>, la cual marcará positiva con hasta 5 leucocitos por campo, ya sea íntegros o lisados<sup>23</sup>; para aumentar su exactitud, debe leerse a los 5 minutos para permitir que la reacción de la tira se presente<sup>7</sup>. Cuando se compara con el sedimento, tiene una sensibilidad y especificidad de 80% y 70% respectivamente. Al combinarse con la prueba de nitritos, tiene un valor predictivo positivo de 80% y negativo de 98.3% para las IVU<sup>23</sup>, pero se reduce la sensibilidad (65 – 80%) cuando se analizan a personas con bacteriuria asintomática<sup>22</sup>. Se puede presentar resultados falsos positivos en circunstancias diversas donde existe piuria no relacionada a una IVU, como por ejemplo en procesos febriles por enfermedades sistémicas, infecciosas o inflamatorias<sup>22</sup>. En el caso, de resultados falsos negativos puede verse en pacientes neutropénicos, muestras de orina con una gran cantidad de albumina o glucosa, o en presencia de bacterias no desdobladoras de urea<sup>23</sup>. Organismos como *Chlamydia* y

*Ureaplasma urealyticum* se deben de considerar en pacientes con piuria y cultivos negativos<sup>7</sup>.

7. Nitritos: es una prueba útil para identificar una IVU<sup>35</sup>, debido a que puede revelar la existencia de bacteriuria mediante la detección de la presencia de nitritos en la orina<sup>4</sup>. Esta prueba se basa en el principio de que muchas bacterias producen una enzima llamada reductasa, la cual puede reducir los nitratos urinarios a nitritos<sup>35</sup>. Esta conversión requiere aproximadamente 4 horas<sup>22</sup>, en presencia de un número mayor a 10<sup>4</sup> Unidades Formadoras de Colonias (UFC)/ ml del microorganismo<sup>4</sup>. Se emplea una prueba química con una tira reactiva que contiene un agente que reacciona con los nitritos y se produce un color rosado<sup>35</sup>. La prueba es específica (superior al 90%)<sup>4</sup>, pero poco sensible (15-80%)<sup>22</sup>, especialmente si la densidad del microorganismo es baja o el tiempo de permanencia de la orina en vejiga ha sido corto<sup>4,22</sup>. La tira reactiva es sensible a la exposición al aire y puede dar falso positivos si no se analiza una muestra fresca inmediatamente<sup>7</sup>. Este estudio incrementa la sensibilidad de la prueba de esterasa leucocitaria para reconocer una IVU<sup>35</sup>. Solo los miembros de la familia de las enterobacterias convierten el nitrato a nitrito<sup>9</sup>. Algunas bacterias que no reducen los nitratos a nitritos son *Enterococcus ssp*, *Staphylococcus saprophyticus*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Candida Spp*<sup>4</sup>.

El análisis microscópico del sedimento de una muestra centrifugada de orina provee información sustancial sobre el sedimento urinario<sup>35</sup>. El análisis de sedimento urinario se basa en el hallazgo de <sup>23</sup>:

1. Leucocituria: el método estándar para evaluar la presencia de leucocitos en orina, es la revisión microscópica de una muestra centrifugada<sup>22</sup>, se considera normal tener de 0-4 leucocitos por campo<sup>23</sup>, se considera positiva en conteo superior a 5 leucocitos por campo. Las causas de falsos positivos son similares a los mencionados con la esterasa leucocitaria<sup>22</sup>, así que su presencia puede deberse a contaminación de la muestra con secreción vaginal, presencia de tumores u otras condiciones inflamatorias agudas o crónicas de las vías urinarias<sup>23</sup>.

Los leucocitos del sedimento son en un alto porcentaje leucocitos polimorfonucleares, pero pueden hallarse eosinófilos en casos específicos. Si la leucocituria es crónica o se asocia a infecciones frecuentes, es necesario descartar la existencia de un posible reflujo vericoureteral<sup>10</sup>.

2. Bacterias: la presencia de 5 o más, suele ser reflejo de existencia de 100 000 UFC/ml. Se debe analizar ese hallazgo en combinación con otros del uroanálisis, para descartar contaminación de la muestra como un falso positivo<sup>23</sup>. Puede detectarse mediante una prueba de nitritos en la tira reactiva de análisis de orina, la cual es sensible a la presencia de concentraciones bacteriana clínicamente significativas, aunque no todas las bacterias tienen la capacidad de convertir los nitratos a nitritos<sup>38</sup>.
3. Hematuria: se refiere a la presencia de sangre en la orina, puede ser macroscópica o microscópica<sup>38</sup>, se puede originar en cualquier parte de las vías urinarias. En una muestra de orina centrifugada a 2000 rpm se deben de buscar eritrocitos y cilindros eritrocitarios, en los límites normales se encuentran de 1 -2 eritrocitos por campo<sup>2</sup>. La hematuria microscópica puede existir aislada o junto con otras alteraciones de la orina, como la bacteriuria. La importancia de la hematuria no depende de su intensidad, sino de la causa<sup>4</sup>. La presencia de cilindros eritrocitarios es probable que haya nefritis o lesión tubular grave<sup>38</sup>. Si hay eritrocitos en cantidades mayores, indica que hay sangrado en vías urinarias o la presencia de una coagulopatía hemorrágica<sup>38</sup>. La etiología de la hematuria es variada y debe distinguirse clásicamente entre origen nefrológico y urológico<sup>10</sup>. En caso de no encontrar eritrocitos en una muestra de orina, pero da positiva la tira reactiva a sangre, hay presencia de hemoglobina o mioglobina. La hemoglobina libre puede entrar en la orina en casos de hemólisis intravascular. La mioglobina se libera con enfermedad muscular o traumatismo<sup>38</sup>. Las mujeres dan esta prueba positiva durante la menstruación, por lo que se recomienda repetir la prueba después de dicho periodo<sup>2</sup>.
4. Cilindros: son grupos rectangulares de materiales o células que se forman en los túbulos renales distales y los túbulos de recolección, donde el material se concentra en particular. Estas masas amorfas de material y células tienen un aspecto tubular, por eso su nombre.

Estos se relacionan por lo regular con algún grado de proteinuria y estasis dentro de los túbulos renales<sup>35</sup>. Se clasifican en: simples y con inclusiones<sup>10</sup>.

#### 4.1. Simples:

4.1.1. Hialinos: son conglomerados de proteínas e indican proteinuria<sup>35</sup>. Son cilindros casi transparentes<sup>35</sup> y sin ninguna estructuración<sup>10</sup>. En condiciones normales, aparecen algunos después del ejercicio extenuante<sup>35</sup> y en la orina normal concentrada. Su presencia no indica daño renal. También pueden aparecer en la insuficiencia cardiaca, insuficiencia renal crónica y nefropatía diabética<sup>10</sup>.

4.1.2. Cereos. Constituidos por una matriz proteica con material lipídico de origen celular. Son anchos, sin estructuración y refráctiles<sup>10</sup>. Son anormales y aparecen cuando el flujo de orina a través del túbulo renal disminuye, lo cual les da tiempo a los cilindros granulares para degenerarse. Este tipo de cilindros se relaciona con trastornos renales crónicos, disfunción renal crónica, nefropatía diabética, hipertensión maligna y glomerulonefritis<sup>35</sup>.

#### 4.2. Con inclusiones:

4.2.1. Hemáticas: formados por una matriz proteica con hematíes. Su presencia es patológica y se encuentran en pacientes con glomerulonefritis aguda, vasculitis con afectación renal, infarto renal, endocarditis bacteriana subaguda<sup>10</sup>, nefritis intersticial, necrosis tubular aguda, pielonefritis, traumatismo renal o tumor renal<sup>35</sup>.

4.2.2. Leucocitos: posee una matriz proteica con leucocitos. Su significado es patológico, se encuentran en pacientes con nefritis intersticial, glomerulonefritis aguda proliferativa y pielonefritis aguda<sup>10</sup>.

4.2.3. Células epiteliales. Tienen una matriz proteica con células epiteliales. De aspecto similar a los cilindros leucocitarios. Es patológica su aparición y se presentan en relación con procesos que cursan con descamación epitelial, como ocurre en la necrosis tubular aguda, glomerulonefritis y síndrome nefrótico. También se han observado en la infección por citomegalovirus y en la toxicidad por metales pesados<sup>10</sup>.

- 4.2.4. Granulosos: son cilindros proteináceos con restos de células<sup>10</sup>. Constituyen un hallazgo patológico, es asociado a enfermedades glomerulares y tubulares<sup>10,35</sup>. Se observa en el síndrome nefrótico, pielonefritis, glomerulonefritis y toxicidad por plomo<sup>10</sup>.
- 4.2.5. Grasos: en algunas enfermedades, las células epiteliales se descaman hacia el túbulo renal. Mientras la célula se degenera, los depósitos grasos dentro de ella se fusionan y se incorporan a la proteína en cilindros grasos o adiposos<sup>35</sup>. Aparecen típicamente en el síndrome nefrótico y en la enfermedad de Fabry<sup>10</sup>.
- 4.2.6. Mixtos son cilindros hialinos que contienen inclusiones de células diversas. Son patológicos y se asocian a glomerulonefritis proliferativa<sup>10</sup>.

### **Urocultivo**

Para establecer el diagnóstico de IVU, se requiere de la sospecha clínica asociada a un urocultivo positivo<sup>29</sup>. De las muestras obtenidas por micción media en pacientes ambulatorios del 60-70% se presenta un cultivo negativo<sup>32</sup>. Debido a esto se recomienda recoger, simultáneamente el urocultivo, y la muestra para uroanálisis<sup>24</sup>, ya que en gran medida se depende de las condiciones en que la orina se recolecta, se transporta y como se conserva hasta su procesamiento<sup>30</sup>. El urocultivo sigue siendo el estándar de oro para el diagnóstico de IVU<sup>17,18,39</sup>, principalmente porque es económico y sencillo. Muchas de las bacterias responsables de IVU pueden crecer fácilmente en medios de cultivo. Sin embargo, la sensibilidad, calidad del medio, errores de interpretación del cultivo y el tiempo que tarda en crecer el microorganismo son algunas limitaciones del método<sup>39</sup>, además, el hecho de no detectar al agente causal podría ser una razón para los resultados de cultivos negativos<sup>40</sup>.

Debido a que durante la micción la orina puede contaminarse con microorganismos de la uretra distal, para minimizar la contaminación, el urocultivo se realiza con una muestra de orina de micción media<sup>4</sup>. La orina es un buen medio de cultivo para la mayoría de las enterobacterias, a temperatura ambiente el número puede duplicarse cada 30 min<sup>4</sup>. En caso de que no se pueda realizar la siembra en el curso de las 2 horas siguientes a la micción, la

orina debe mantenerse refrigerada a 4 °C<sup>4,32</sup> o usar tubos de transporte con conservante (ácido bórico con glicerol o ácido bórico sódico liofilizado), los cuales deben llenarse con al menos 3 ml de orina para evitar el efector inhibidor en los microorganismos, dicho conservante no está indicado para cultivo de hongos, micobacterias, parásitos o virus<sup>32</sup>.

El urocultivo se realiza de forma semicuantitativa usando asas calibradas de 0.01 o 0.001 ml, obteniendo así el número de unidad formadora de colonias por mililitro (UFC/ml) del microorganismo<sup>32</sup>, cada colonia corresponde a una bacteria de la orina original<sup>4</sup>. Las colonias aisladas se recuperan y realizan pruebas para su correcta identificación y sensibilidad antibiótica<sup>32</sup>. Los medios de cultivo empleados para su identificación pueden ser de 3 tipos:

- No selectivos asociados a selectivos (agar gelosa sangre / agar Mac Conkey)
- Diferenciales adaptados al aislamiento de patógenos urinarios (CLED)
- Diferenciales no selectivos cromogénicos

La mayoría de las bacterias causantes de IVU crecen después de 18-24 horas de incubación a 35-37°C en atmosfera aeróbica, la incubación puede extenderse a 48 horas en orinas obtenidas por punción suprapúbica, en cultivos negativos y con bacteriuria<sup>32</sup>.

Los cultivos de orina se consideran positivos cuando el recuento de colonias de un uropatógeno reconocido alcanza un umbral determinado<sup>32</sup>. El resultado del urocultivo se expresa con el número de UFC/ml<sup>4</sup>. En pacientes con síndrome miccional y leucocituria se considera significativo el hallazgo de un microorganismo en cultivo puro en recuentos igual o superior a 10<sup>3</sup> UFC/ml. En casos de pielonefritis, el microorganismo causal se aísla en recuentos igual o superior a 10<sup>5</sup> UFC/ml en más del 80% de los casos, en el varón es menos probable que la orina se contamine durante la micción y un recuento único igual o superior a 10<sup>4</sup> UFC/ml debe considerarse significativo. El aislamiento de más de un microorganismo, incluso con recuentos iguales o superiores a 10<sup>5</sup> UFC/ml, suele indicar contaminación, especialmente si la paciente es asintomática, no tiene leucocituria o no lleva sonda vesical<sup>4</sup>, excepto cuando el paciente tiene una sonda por un largo plazo, tiene retención urinaria crónica o una fistula entre las vías urinarias y el tubo digestivo<sup>9</sup>. Si la muestra de orina se obtiene con la técnica de punción suprapúbica un recuento igual o superior a 10<sup>2</sup> UFC/ml es indicativo de bacteriuria<sup>4</sup>.

De acuerdo a la NOM 045 SSA2 2005 para la vigilancia epidemiológica, prevención y control de infecciones nosocomiales, establece valores en UFC/ml dependiendo del método de obtención de la muestra para el urocultivo, para infecciones urinarias sintomáticas, asintomáticas y en pacientes con sonda Foley: una IVU sintomática con una muestra obtenida mediante chorro medio con asepsia previa se considera positivo mayor a 50 000 UFC/ml, cuando se obtiene por catéter se considera positivo mayor a 50 000 UFC/ml, en cambio al tomarse la muestra mediante punción suprapúbica cualquier crecimiento se considera positivo. En una infección asintomática con un recuento de 10 o más leucocitos por campo en el sedimento urinario y crecimiento de mayor a 50 000 UFC/ml en muestras obtenidas por chorro medio o por cateterismo, en caso que la muestra se consigue mediante punción suprapúbica cualquier crecimiento se considera positivo. En pacientes con una sonda Foley se debe evaluar mediante urocultivo al momento de instalarse y cada 5 días durante su permanencia y al momento del retiro de dicha sonda, en pacientes con sintomatología un conteo mayor a 50000 UFC/ml se considera positivo; en los pacientes asintomáticos se deben de analizar 2 muestras y obtener más de 50000 UFC/ml<sup>6</sup>.

No es necesario realizar el urocultivo ante un episodio aislado de cistitis no complicada. El urocultivo se indica en caso de persistencia o recurrencia de la clínica, en la cistitis complicada y todos los casos de pielonefritis. En caso de pielonefritis complicada, adicionalmente deben practicarse hemocultivos y análisis generales que incluyan hemograma, determinaciones de creatinina sérica y proteína C reactiva o procalcitonina<sup>4</sup>.

## **PCR**

El desarrollo de técnicas moleculares ha mejorado considerablemente la rapidez y precisión del diagnóstico microbiológico<sup>39</sup>, debido al alto nivel de sensibilidad en las pruebas de amplificación de ácidos nucleicos, como la PCR<sup>41</sup>, este método es simple y altamente específico<sup>42</sup>. Se ha utilizado con éxito para detectar el ADN bacteriano de diferentes fluidos biológicos<sup>39,42</sup>. En comparación con el urocultivo, la PCR es más rápida y los resultados están

disponibles 5 horas después de obtenerse la muestra <sup>39,42</sup>. Sin embargo, su uso en laboratorios clínicos está limitado por el costo<sup>39</sup>.

La secuenciación genética del microbioma en vejiga ha demostrado que hay más especies bacterianas presentes que las que se identifican mediante los métodos de cultivo convencionales, tanto en pacientes sintomáticos como en asintomáticos<sup>9</sup>.

Para superar estas deficiencias e incrementar el uso de PCR, se puede usar la PCR multiplex la cual usa varios pares específicos de primers para secuencias objetivo en bacterias, con la posibilidad de detectar más de un patógeno por reacción, con lo que se ahorra tiempo y disminuyen los costos<sup>39</sup>.

## ANTECEDENTES

Fonseca *et al*, durante el 2005 en Colombia, analizaron muestras de orina para detectar molecularmente enfermedades infecciosas, principalmente CMV, para lograr esto, tomaron muestras de niños de guardería, para documentar la presencia o no de inhibidores de PCR a través de la amplificación de genes de CMV; encontrando que el 27% de las muestras fueron positivas. Con esto llegaron a la conclusión que pueden emplear este método en el diagnóstico prenatal de CMV congénito. También verificaron la ausencia de inhibidores de PCR mediante la amplificación del gen de  $\beta$ -globina<sup>8</sup>.

Mckechnie *et al*, en Australia durante el 2009, realizaron la identificación simultanea de 14 potenciales patógenos urogenitales, para esto se utilizó la técnica de mPCR/RLB multiplex. El método fue validado usando cultivos de referencia o se caracterizó el aislamiento de cada microorganismo, encontrando sensibilidad y especificidad. Los límites de detección para la técnica mPCR/RLB fue  $4.2 \times 10^1$  a  $7.0 \times 10^{11}$  ng/ $\mu$ l de ADN. No hubo reacción cruzada entre las sondas probadas. Este método fue utilizado en 529 muestras de orina en varones con o sin síntomas de uretritis. Se encontraron 1 o más especies en 36% de las muestras. De 233 muestras positivas, el 93% fueron concordantes entre mPCR/RLB y los métodos de comparación (cultivo y PCR de especies específicas), 9 dieron positivo solo a mPCR/RLP y 8 fueron positivos únicamente por el método de comparación. Con lo anterior, llegaron a la conclusión que el mPCR/RLB es un método preciso, conveniente y económico para detectar múltiples patógenos potenciales en muestras de orina<sup>41</sup>.

Cybulski, *et al*, durante el 2013 en Polonia; compararon los resultados de urocultivo con PCR, basándose en la detección de microorganismos patógenos usando 2 estuches comerciales, además de realizar las pruebas de susceptibilidad antimicrobiana en aislamientos de orina en pacientes con cáncer, para escoger de forma adecuada el tratamiento y sí fuera necesario hacer modificaciones a la terapia empírica. Examinaron 72 muestras, en las cuales se encontraron 74% cepas fueron idénticas en ambas pruebas, siendo las más frecuentes los coliformes y *Enterococcus spp*. Los bacilos Gram negativo presentaron mayor resistencia a cotrimoxazol y los cocos Gram Positivos fueron resistentes a nitrofurantoina.

Con esto concluyeron que con la técnica de PCR se encuentra con rapidez el agente causal de la IVU, por lo que puede ayudar a elegir el tratamiento antimicrobiano adecuado en una fase inicial de la infección<sup>39</sup>.

Manrique-Abril *et al*, en el 2014 en Colombia, realizaron un estudio para determinar el rendimiento diagnóstico del uroanálisis como predictor de infección urinaria. De 1090 muestras que fueron sometidas a uroanálisis y urocultivo, el 23 % fueron urocultivos positivos. En el uroanálisis los mejores indicadores de rendimiento fue la combinación de nitritos, aspecto turbio, bacterias y leucocitos en sedimento. La presencia de bacterias 2+ mostró una especificidad del 80%. Llegaron a la conclusión que al combinar algunos parámetros fisicoquímicos y microscópicos del uroanálisis puede ser una herramienta diagnóstica útil para predecir la positividad del urocultivo<sup>43</sup>.

Heytens *et al*, en Bélgica durante el 2017; examinaron si una mujer con o sin síntomas de infección de vías urinarias, pero con cultivo negativo pueden tener una infección. Para esto usaron la técnica de PCR cuantitativa para *E. coli* y *Staphylococcus saprophyticus*, además de urocultivo, en muestras de 220 mujeres con disuria y 86 mujeres asintomáticas. En mujeres sintomáticas, con el qPCR también se hizo la búsqueda de 4 agentes de transmisión sexual. En el grupo de sintomáticas el 81% de los cultivos fueron positivos para algún uropatógeno, de los cuales el 96% fueron *E. coli*. En el grupo control, cultivos y qPCR para *E. coli* fueron positivos en un 10.5% y un 11.6% respectivamente. En el grupo sintomático, con la técnica de qPCR dieron 19 muestras positivas a *S. saprophyticus*, 1 muestra positiva a *Mycoplasma genitalium* y una más a *Trichomonas vaginalis*. Con lo anterior, llegaron a la conclusión que casi todas las mujeres con síntomas urinarios típicos y cultivo negativo tienen una infección por *E. coli*<sup>40</sup>.

Wojno, *et al*, durante 2019 en Estados Unidos de América: evaluaron si las pruebas con PCR múltiple no son inferiores al urocultivo para la detección de infecciones bacterianas en pacientes sintomáticos, para esto revisaron los registros de 582 varones mayores de 60 años, encontrando que mediante pruebas de PCR se detectaron uropatógenos en 56% de las muestras, mientras que por urocultivo solo en el 37%. Las coincidencias de PCR y urocultivo

se dieron en un 74% de los casos, el 34% fueron positivos y el 40% fueron negativos. Pero en el 26 % de los casos difieren, ya que, de estos, el 22% de los casos, la PCR fue positiva y el urocultivo negativo; mientras que urocultivo positivo y PCR negativo se encontró en el 4% de los casos. Con estos datos, llegaron a la conclusión que la PCR múltiple no es inferior al urocultivo para detectar e identificar bacterias, sin embargo, con mayor investigación se puede demostrar que la precisión y el menor tiempo de la PCR para diagnosticar las IVUs pueden mejorar los resultados de los pacientes<sup>43</sup>.

## **HIPÓTESIS**

El método de identificación de uropatógenos por PCR tiene una validez mayor al 95% que el urocultivo.

## **OBJETIVO GENERAL**

- Identificar mediante diagnóstico molecular uropatógenos en pacientes del Hospital General de Tapachula, Chiapas.

## **OBJETIVOS ESPECIFICOS**

- Validar el método de detección con cepas de referencia o aislado clínico caracterizado de 10 microorganismos uropatógenos.
- Comparar los resultados de urocultivo con la detección de microorganismos uropatógenos por PCR en la población.
- Estimar el valor predictivo de algún parámetro del uroanálisis como indicativo de la presencia de microorganismos por PCR.

## **MATERIALES Y MÉTODOS**

Estudio descriptivo, prospectivo y transversal, desarrollado en pacientes con diagnóstico presuntivo de IVU. Previo consentimiento informado se analizaron muestras de orina de pacientes que se les solicitó un Examen General de Orina (EGO) y urocultivo.

Para este estudio se tomaron en cuenta los siguientes criterios:

### **1. Criterios de inclusión**

- 1.1. Pacientes internados tengan más de 48 horas después de ingresar al nosocomio y que al momento de su ingreso no presente una IVU.
- 1.2. Pacientes que tengan la mayoría de edad.
- 1.3. Presencia en tira reactiva para orina de alguna de las siguientes pruebas: esterasa leucocitaria, nitritos, hemoglobina.
- 1.4. Presencia en sedimento urinario de alguna de las siguientes: bacterias, leucocitos, eritrocitos.

### **2. Criterios de exclusión**

- 2.1. Pacientes que hayan sido transferidos de otra institución pública o privada.
- 2.2. Pacientes que tengan una infección urinaria previa al ingreso hospitalario.
- 2.3. Pacientes que ingresen por politraumatismo en zonas cercanas a vías urinarias.
- 2.4. Pacientes que tengan alguna mal formación de aparato urinario.
- 2.5. Pacientes que tengan antecedentes de cirugía, instalación de sonda urinaria 30 días antes de su ingreso hospitalario
- 2.6. Pacientes menores de edad o embarazadas
- 2.7. Muestras visiblemente contaminadas (materia fecal, papel, etc), mal tapadas.

### 3. Criterios de eliminación

- 3.1. Muestra insuficiente
- 3.2. Mala calidad de ADN extraído

## MATERIAL DE LABORATORIO

### 1. Biológico

- 1.1. Muestras de orina
- 1.2. Controles positivos de las siguientes cepas bacterianas: *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Proteus mirabilis*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterobacter cloacae*, *Enterococcus faecalis*, *Candida albicans* y *Candida tropicalis* (Fig. 10).

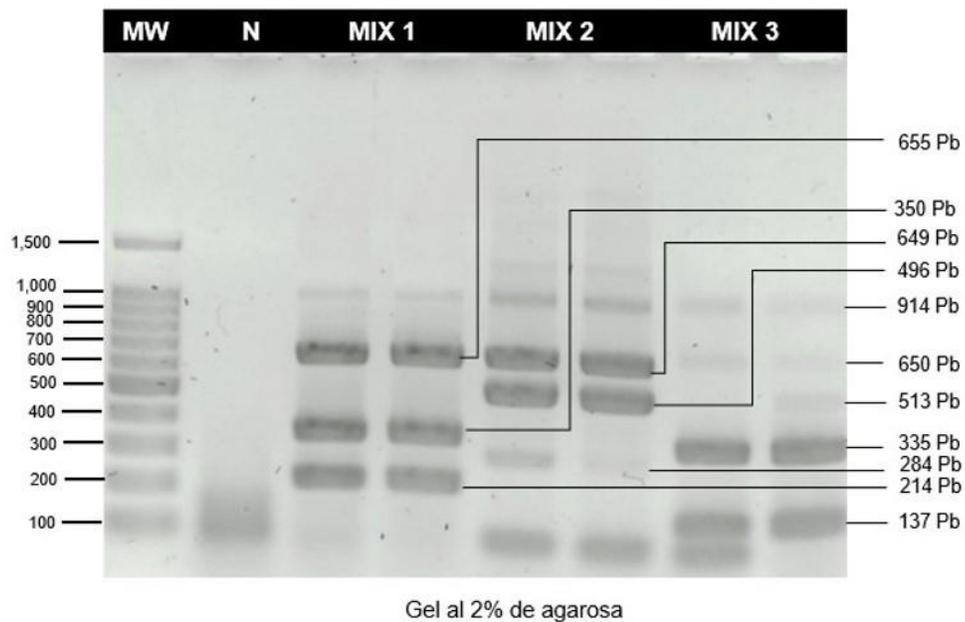


Fig. 10. Amplificación de controles positivos. **MW)** DNA Marcador de 100 pb. **N)** Control negativo. **Mix 1)** Control humano de 904 pb, *Pseudomonas aeruginosa* de 655 pb, *Klebsiella pneumoniae* de 350 pb y *Staphylococcus aureus* de 214 pb. **Mix 2)** Control humano de 904 pb, *Candida albicans* de 649 pb, *Escherichia coli* de 496 pb y *Enterobacter cloacae* de 284 pb. **Mix 3)** Control humano de 904 pb, *Enterococcus faecalis* de 650 pb, *Candida tropicalis* de 513 pb, *Proteus mirabilis* de 335 pb y *Acinetobacter baumannii* de 137 pb.

## **2. Materiales**

- 2.1. Frasco estéril
- 2.2. Crioviales
- 2.3. Gradillas
- 2.4. Micropipetas automáticas
- 2.5. Puntas desechables estériles
- 2.6. Matraz Erlenmeyer

## **3. Equipo**

- 3.1. Microscopio óptico
- 3.2. Estufa de incubación
- 3.3. Centrifuga
- 3.4. Sistema microscan
- 3.5. Ultracentrífuga refrigerada
- 3.6. Congelador
- 3.7. Vortex
- 3.8. Termociclador
- 3.9. Microondas
- 3.10. Balanza analítica
- 3.11. NanoDrop 2000
- 3.12. Equipo de electroforesis horizontal
- 3.13. Fuente de corriente continua
- 3.14. Transiluminador

## **4. Reactivos**

- 4.1. Agua tridestilada
- 4.2. Tiras reactivas para orina
- 4.3. Placas de microscan
- 4.4. Buffer de electroforesis TAE 50X
- 4.5. Agarosa
- 4.6. Agua Mili Q
- 4.7. TaqMan Multiplex Master Mix
- 4.8. Buffer de carga con gel red

## **TÉCNICAS DE LABORATORIO**

La técnica empleada para el análisis de las muestras es el siguiente:

### **1. Examen General de Orina**

- 1.1. Recolectar la muestra usando la técnica de chorro medio o aspiración de sonda vesical.
- 1.2. Rotular y enviar al laboratorio para su procesamiento
- 1.3. En el laboratorio, colocar en un tubo de 13 x 100 una parte de la orina previa homogenización.
- 1.4. Realizar estudio físico de la muestra: aspecto, color,
- 1.5. Introducir una tira reactiva (AUTION Sticks 10 EA) para estudio químico de orina, durante unos segundos, retirar y quitar el excedente
- 1.6. Se realiza lectura de tira reactiva, específicamente: glucosa, proteína, bilirrubina, urobilinógeno, pH, densidad, sangre, cetonas nitritos, esterasa leucocitaria.
- 1.7. El tubo se centrifugó a 1500 rpm por 5 minutos.
- 1.8. Se tiró el sobrenadante.
- 1.9. Se homogenizo el sedimento y se colocó una gota para lectura en microscopio óptico. Observa a 40X.
- 1.10. Se realizo una búsqueda de bacterias, células, leucocitos, eritrocitos, levaduras y parásitos.

### **2. Urocultivo**

- 2.1. Recolectar la muestra usando la técnica de chorro medio o de aspiración de sonda vesical.
- 2.2. Conservación y transporte de la muestra: Si el traslado al laboratorio demora más de 15 minutos, debe colocarse el recipiente con la orina dentro de un contenedor con hielo. Este procedimiento permitirá que el número de microorganismos permanezca relativamente constante por un tiempo no mayor de 24 horas.
- 2.3. Técnica de siembra.

### 2.3.1. Método del asa calibrada:

- 2.3.1.1. Se esterilizó previamente el asa por incineración y se dejó enfriar posteriormente.
- 2.3.1.2. Se insertó el asa estéril verticalmente en la muestra y luego se diseminó sobre la superficie de la placa desde el centro, formando una línea y posteriormente hacer estrías sobre la placa cruzando la línea del inóculo varias veces
- 2.3.1.3. Incubar las placas de Mc durante 18–24 horas a 37 °C en aerobiosis y el GS en microaerofilia. En caso de tener cultivos negativos a las 24 horas, reincubar placas hasta que tengan 72 horas.
- 2.3.1.4. Tomar una alícuota de orina en un tubo de 13 x 100 e introducir una tira reactiva de orina para analizar sus parámetros químicos (pH, densidad, nitritos, leucos, sangre), además observar color, aspecto (claro, ligeramente turbio, turbio, etc)
- 2.3.1.5. Centrifugar la alícuota a 3000 rpm durante 7- 10 min
- 2.3.1.6. Tirar sobrenadante, observar el sedimento en 10X y 40X; buscar la presencia de bacterias, parásitos, levaduras, células epiteliales y/o renales, leucocitos, eritrocitos.
- 2.3.1.7. Análisis cuantitativo: Contar el número de colonias y multiplicar por el factor 1000 o 100, de acuerdo a la capacidad del asa utilizada, para determinar las unidades formadoras de colonia por mililitro de orina (UFC/ml).
- 2.3.1.8. Análisis cualitativo:
  - 2.3.1.8.1. Descripción de la morfología colonial de las placas de Mc y GS
  - 2.3.1.8.2. Se realizó tinción de Gram, catalasa, oxidasa, tolerancia a NaCl, bioquímicas (método semiautomatizado Microscan) para su correcta identificación.

### 3. PCR

La extracción de ADN se realizó por el método PrepMan Ultra (Applied Biosystems™) siguiendo las indicaciones del fabricante.

### 3.1 Metodología 1: PrepMan Ultra

#### 3.1.1 Preparación bacteriana o fúngica de un cultivo líquido:

- 3.1.1.1 Agitar el reactivo de preparación, después deje que desaparezcan todas las burbujas
- 3.1.1.2 Para evitar contaminación, evitar pipetear directamente del frasco de reactivo de preparación a los tubos con las muestras.
- 3.1.1.3 Transferir 120  $\mu$ L del reactivo de preparación a un tubo cónico estéril de 2 ml
- 3.1.1.4 Rotular bien los tubos, pipetear 1 ml de muestra en un tubo de microcentrifuga con tapón de rosca y capacidad de 2 ml.
- 3.1.1.5 Centrifugar los tubos en la microcentrífuga a máxima velocidad por 2 minutos
- 3.1.1.6 Aspirar y descartar el sobrenadante con una pipeta desechable
- 3.1.1.7 Usar una pipeta nueva por cada muestra. No decantar la muestra
- 3.1.1.8 Remover el sobrenadante sin mover el sedimento.
- 3.1.1.9 Si hay una capa de lípidos en la parte superior del sobrenadante, extraer la mayor cantidad posible y desechar antes de quitar el resto del sobrenadante con una nueva pipeta.
- 3.1.1.10 Agregar asépticamente 100  $\mu$ l de reactivo de preparación en cada tubo.
- 3.1.1.11 Tapar bien cada tubo, después usar el vortex para agitar la muestra
- 3.1.1.12 Se incubaron los tubos a 100°C durante 10 minutos
- 3.1.1.13 Se etiquetó un segundo set de tubos de 2 ml con tapón de rosca
- 3.1.1.14 Retirar los tubos de la estufa y dejar enfriar a temperatura ambiente por 2 minutos.
- 3.1.1.15 Centrifugar los tubos en una microcentrífuga a máxima velocidad por 2 minutos.
- 3.1.1.16 Transferir 50  $\mu$ l de sobrenadante de los tubos al segundo set de tubos previamente rotulados (paso 3.1.1.13) y desechar el resto de sobrenadante. Usar 5  $\mu$ l de sobrenadante por cada ensayo.
  - 3.1.1.16.1 Cuando el sobrenadante no se use, se recomienda almacenar a 4°C por un mes en refrigeración o a -20°C indefinidamente. Antes de usar, descongelar, después agitar y centrifugar el sobrenadante almacenado.

- 3.1.1.16.2 Sí el sobrenadante está cubierto con una capa de lípidos u otros restos, coleccionar del centro del sobrenadante
- 3.1.1.16.3 Si la muestra tiene color o esta turbia, pueden estar presentes inhibidores de PCR. Para ayudar a reducir el efecto inhibitorio de las muestras, se recomienda diluir la muestra 1:10 antes del ciclo térmico, o precipitar ácidos nucleicos.
- 3.1.1.17 Amplificar las muestras con el ciclo térmico adecuado

### 3.1.2 Precipitación de ácidos nucleicos

- 3.1.2.1 La precipitación de ácidos nucleicos es un método alternativo para remover inhibidores de PCR:
- 3.1.2.2 Transferir 50 µl del extracto de muestra a un tubo con capacidad 1.5 ml
- 3.1.2.3 Adicionar 400 µl de buffer TE
- 3.1.2.4 Adicionar 50 µl de acetato de sodio 3M y agitar el tubo
- 3.1.2.5 Adicionar 500 µl de isopropanol, agitar el tubo
- 3.1.2.6 Dejar reposar la muestra a temperatura ambiente por 15 minutos
- 3.1.2.7 Centrifugar a 13000 rpm por 10 min a temperatura ambiente
- 3.1.2.8 Decantar el sobrenadante sin remover el sedimento, dejar secar
- 3.1.2.9 Resuspender el sedimento en 50 µl de agua destilada estéril
- 3.1.2.10 Usar 5 µl de la muestra para análisis de PCR.

### 3.1.3 Cuantificación del DNA

Se realizó cuantificación de ADN con el equipo de Nanodrop™ 2000:

- 3.1.3.1 Encender el equipo NanoDrop 2000, y conectar al equipo de cómputo.
- 3.1.3.2 Ejecutar el programa para realizar la cuantificación de DNA de las muestras.
- 3.1.3.3 Como blanco de reactivo se usará 1µl de H<sub>2</sub>O miliQ en el equipo.
- 3.1.3.4 Ingresar datos de la muestra correspondiente.
- 3.1.3.5 Tomar 1µl del DNA y colocarlo en el equipo, y comenzar la lectura.
- 3.1.3.6 El equipo arroja el resultado en ng/µl.

### 3.1.4 Amplificación de ADN

Se realizó la PCR múltiple por punto final, usando las secuencias de primers para cada uno de los microorganismos y control interno (Tabla 4).

Tabla 4. Secuencia de primers de uropatógenos y control interno

PRIMER	SECUENCIA	MICROORGANISMO	AMPLICON (pb)
P1	5'GCC ACT GGC CAG AAG CTC CTI III IAG GCT CAC GG	CONTROL INTERNO HUMANO HOMO SAPIENS METIL ENTETRAHIDROFOLATO REDUCTASA	904
P2	5'TCT CCT CTC AGG TCC AGA ACI III ICA GCG TTG CT		
P3	5'TGT CTT CGC TCC AAA TAT TTI III ICT CTT TTT TC	<i>Staphylococcus aureus</i>	214
P4	5'GAA GCT GAG TTT GAC AAA GGI III IGA ACT GAT AA		
P5	5'TCT CTC TGG CGG CTA CCC GTA III IIG AAA GCG GCG	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	350
P6	5'GTT GTT ATC GAT GCT GGT CCC CTG AGI III ICC GCT GTT CC		
P7	5'TAT TTC GCG AGC GGG ACA AAC GII III AAC TTC CCT C	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	655
P8	5'AGT CCA GCA CAG CCT TCT TGI III IGG TGG TGC C		
P9	5'TCG ACT GCA TAA GCA GCC GGI III ITA AGC ACC CC	<i>Escherichia coli</i>	496
P10	5'GGT AGA AGC GCT TAC CTG III IIA TGG TGG AGC		
P11	5'GTT TCA ACC TTA AGT ACC GTT AII III AAG ATA ACA A	<i>Enterobacter cloacae</i>	284
P12	5'GAT CGG GTT TAA CTG CAT ACC AGI III ITA AGA GAA AC		
P13	5'AGG TTA CAA GGA CAG AAC TGI III IAT CAA GAA CT	<i>Candida albicans</i>	649
P14	5'GCT ATT GAT TGA AGC ACT GCI III IAA ATC ACA AG		
P15	5'TTG CTG GCG GTT TAT CAC GAA GII III GAT ATT CTT A	<i>Proteus mirabilis</i>	335
P16	5'TAT TTA CGT TTA AAT GCG TCI III IAA TAA GCA TT		
P17	5'CGC GTG TAC GTA ATA CTG GTG AII III CAC GTC CTA A	<i>Acinetobacter baumannii</i>	137
P18	5'TAA ACG TGA CTT ATC GTA TTG III IIC TTC CAC CAC		
P19	5'AAA CAA GTG AAA AGA CAG ACA CII III AAA CCG TAG A	<i>Enterococcus faecalis</i>	650
P20	5'GAT TTG TAG ATA ACT TAC ACC TAA AAC GGC AAA TGT AC		

<b>P21</b>	5´TGA GAA TGC ACA TGC CAT TGI III ITA TTT TCA GA	<i>Candida tropicalis</i>	513
<b>P22</b>	5´AAT AAT GGG ATT TTT CTA GCI III ICA TGG TGA TC		

3.1.4.1 Se realizó los cálculos necesarios para preparar el Master mix

3.1.4.2 Se realizó el master mix con los primers necesarios de 2 bacterias (Tabla 5) en cada preparación.

Tabla 5. Preparación de Master mix

	1X (µl)
<b>H<sub>2</sub>O MiliQ</b>	3
<b>Buffer</b>	1.5
<b>MgCl</b>	1.0
<b>DNTP´s</b>	0.3
<b>Taq</b>	0.2
<b>Primer A, a</b>	1.0
<b>Primer B, b</b>	1.0
<b>ADN</b>	5
	15

3.1.4.3 Colocar en un tubo de reacción previamente rotulado 10 µl de Master Mix y 5 µl del ADN de las muestras.

3.1.4.4 Se repite el procedimiento anterior con las muestras restantes, control positivo, control negativo

3.1.4.5 Repetir el paso 3, pero en esta ocasión se adiciona 5µl de agua

3.1.4.6 Encender el termociclador y programar (Tabla 6).

Tabla 6. Programación del termociclador

	Precalentar tapa	Desnaturalización inicial	Extensión			Extensión final
<b>Temperatura</b>	105°C	95°C	94°C	60°C	72°C	72°C
<b>Tiempo</b>		10 min	30 seg	45 seg	1 min	10 min
<b>Numero de ciclos</b>			40 Ciclos			

3.1.4.7 Colocar los tubos en el termociclador, cerrar y dar inicio al programa

3.1.4.8 Al finalizar el tiempo, se acomodan los tubos de reacción en una gradilla y se procede a realizar la electroforesis

### 3.1.5 Electroforesis horizontal en gel de agarosa en tae 0.5X

Posteriormente se realizó una electroforesis horizontal en gel de agarosa, se visualizó en el transiluminador y se adquirieron las fotografías para el análisis de amplificación.

#### 3.1.5.1 Preparación del gel de agarosa

- 3.1.5.1.1 Pesar la cantidad de agarosa necesaria para obtener una concentración deseada en función al volumen de TAE 0.5X
- 3.1.5.1.2 Añadir la agarosa al buffer TAE 0.5X en un matraz. Mezclar bien.
- 3.1.5.1.3 Calentar la mezcla hasta clarificar la agarosa. Mover para evitar que se queme
- 3.1.5.1.4 Dejar enfriar la solución hasta alcanzar unos 50°C
- 3.1.5.1.5 Preparar el molde de tamaño adecuado y colocar los peines necesarios en la posición requerida.
- 3.1.5.1.6 Verter con cuidado la solución de agarosa al molde, dejar que solidifique.

#### 3.1.5.2 Preparación de las muestras

- 3.1.5.2.1 Mezclar 5 µl de marcador de peso molecular con 2 µl Buffer de carga con red gel y 5 µl de agua destilada
- 3.1.5.2.2 Mezclar 7µl muestra de ADN con 2 µl Buffer de carga con red gel

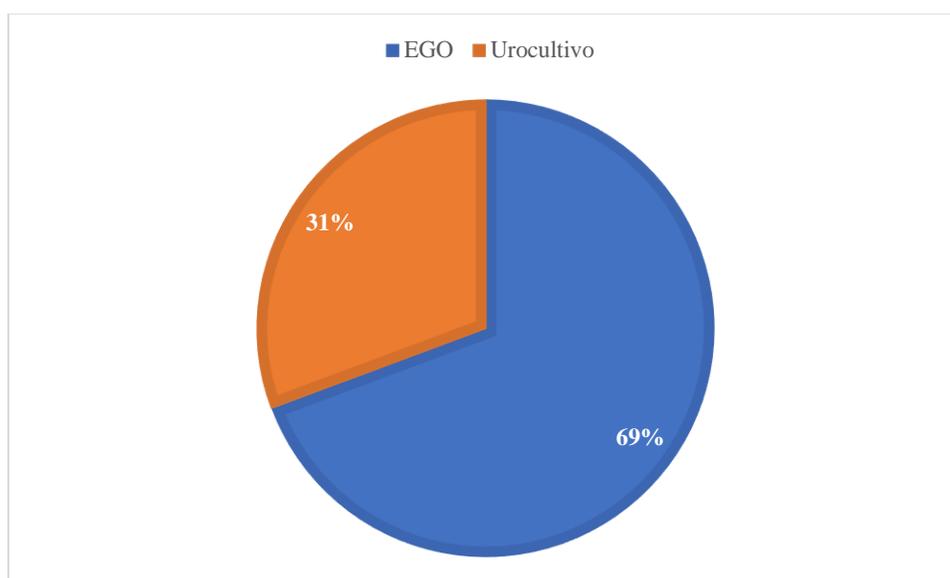
- 3.1.5.2.3 Repetir el paso anterior con todas las muestras de ADN
- 3.1.5.3 Carga de muestras y corrida del gel.
  - 3.1.5.3.1 Una vez que el gel ha solidificado, se retiran los peines y se extrae del molde para colocarlo en la cámara de electroforesis
  - 3.1.5.3.2 Añadir buffer TAE 0.5X hasta cubrir el gel
  - 3.1.5.3.3 Cargar en los pocillos las muestras que se preparadas en el paso 2
  - 3.1.5.3.4 Cerrar la cámara de electroforesis y conectar los cables a la fuente de alimentación y aplicar 80 V durante 30 min.
- 3.1.5.4 Visualización del ADN
  - 3.1.5.4.1 Retirar el gel de la cámara de electroforesis y colocarlo sobre un trasiluminador
  - 3.1.5.4.2 Encender la lampara de luz ultravioleta
  - 3.1.5.4.3 El ADN se visualiza como bandas
  - 3.1.5.4.4 Fotografiar el gel con el sistema fotográfico disponible

## RESULTADOS

Se analizaron un total de 75 muestras de orina que cumplieron con los criterios de selección en el estudio.

El 69% (n=52) de las muestras correspondían para un Estudio General de Orina (EGO) y el 31% (n=23) para un Urocultivo (Gráfica 1).

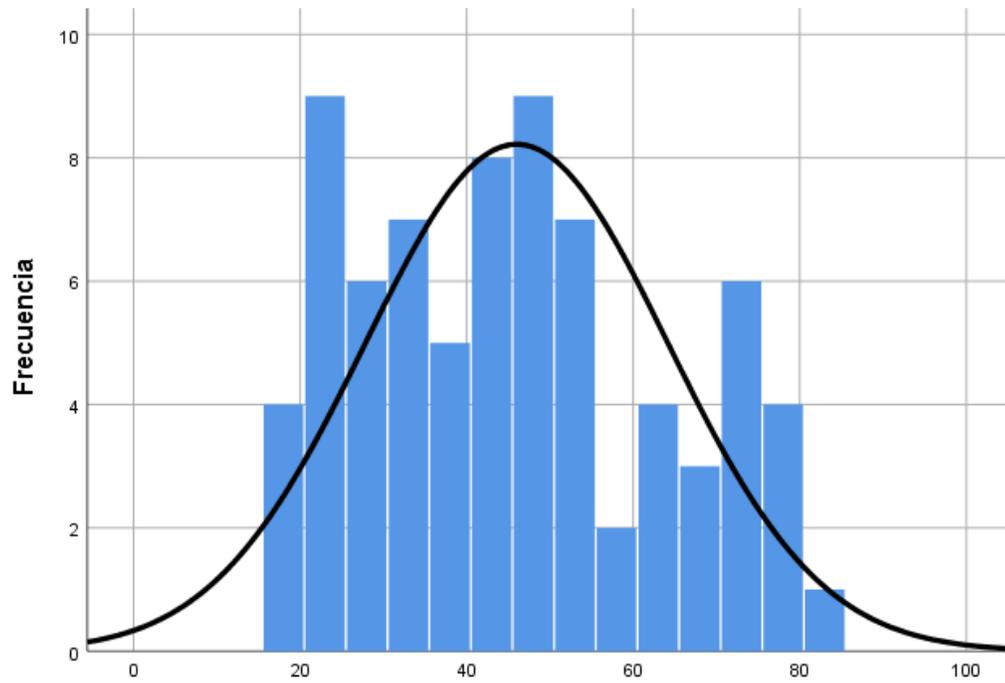
**Gráfica 1.** Distribución porcentual de muestras analizadas para diagnóstico molecular de microorganismos uropatógenos provenientes de EGO y Urocultivo.



Fuente: Base de datos, enero 2021.

La media de edad fue de  $46 \pm 18.2$  años, la edad mínima encontrada fue de 18 años y la edad máxima de 83 años con un rango de edad de 65 años (Gráfica 2).

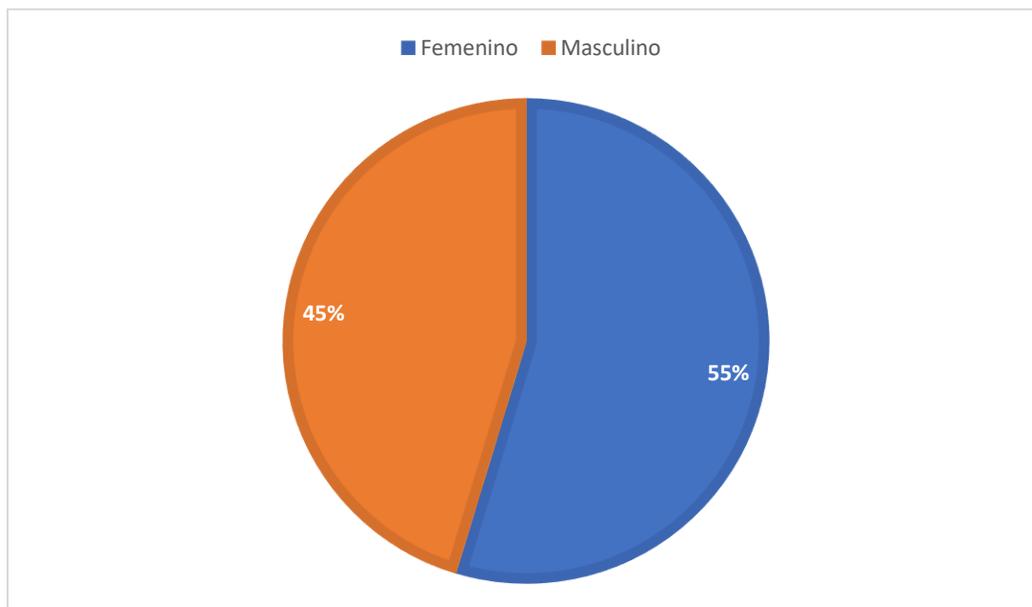
**Gráfica 2.** Histograma de edad en la población participante del HGT.



Fuente: Base de datos, enero 2021.

El 55% (n=41) fueron del sexo femenino y en menor frecuencia masculino con un 45% (n=34) (Gráfica 3).

**Gráfica 3.** Distribución porcentual por sexo en la población participante del HGT.

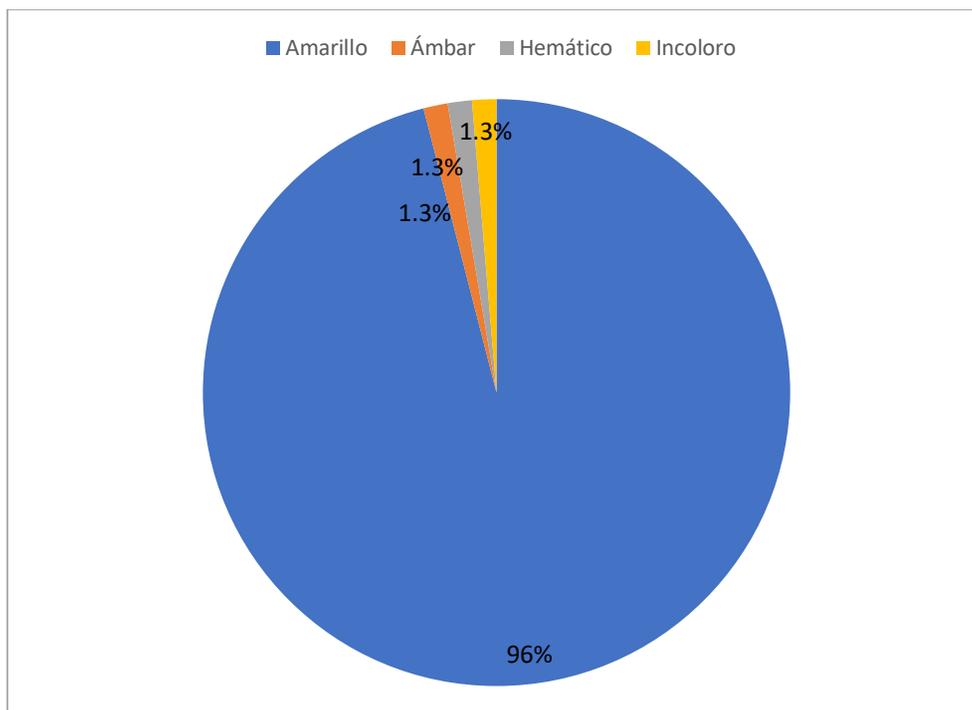


Fuente: Base de datos, enero 2021.

Examen físico de las orinas analizadas.

Dentro de las características físicas que se analizaron en la orina fueron color y aspecto. Con respecto al color se encontró en mayor frecuencia el color amarillo con un 96% (n=72) y en menor frecuencia el color ámbar, hemático e incoloro en un 1.3% (n=1) (Gráfica 4).

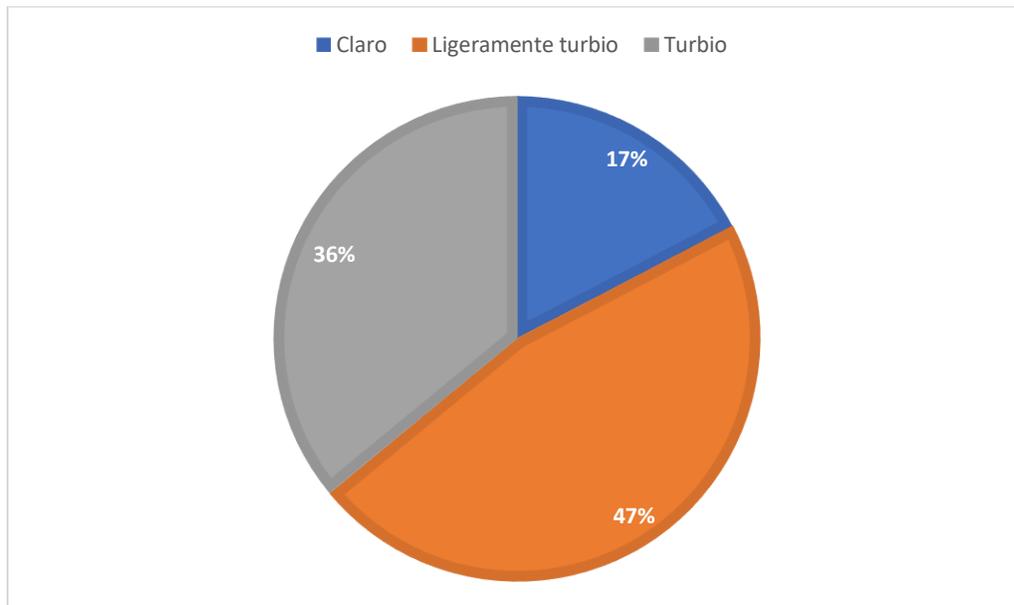
**Gráfica 4.** Distribución porcentual del color de las orinas analizadas.



Fuente: Base de datos, enero 2021.

El aspecto de la orina en mayor frecuencia se encontró un 47% (n=35) ligeramente turbio, 36% (n=27) turbio y en menor frecuencia claro un 17% (n=13) (Gráfica 5).

**Gráfica 5.** Distribución porcentual del aspecto de las orinas analizadas.



Fuente: Base de datos, enero 2021.

El examen químico se utilizaron tiras reactivas para uroanálisis. Los parámetros que se midieron fueron: glucosa, urobilinógeno, cetonas, proteínas, leucocitos, nitritos, densidad, hemoglobina y pH.

Se analizaron los parámetros químicos en las muestras de orina encontrando en el parámetro de glucosa un 94.6% (n=71) normal y 5.4% (n=4) con hiperglucemia. Con respecto a Urobilinógeno el 89.3% (n=67) normal y un 10.7% (n=8) positivo; Cetonas el 81.3% (n=61) normal y un 18.7% (n=14) con cetonuria; proteínas el 68% (n=51) normal y el 32% (n=24) con proteinuria; leucocitos el 68% (n=51) normal y un 32% (n=24) con leucocituria; nitritos el 92% (n=69) normal y un 8% (n=6) positivo; pH el 94.6% (n=71) normal y un 5.4% (n=4) alcalina; densidad el 100% (n=75) se encuentra dentro de los parámetros normales (1.000-1.030) y con respecto a hemoglobina en sangre se encontró un 98.6% (n=74) normal y el 1.4% (n=1) positivo (Tabla 7).

Tabla 7. Parámetros químicos analizados en la muestra de orina.

Parámetros	Frecuencia	Porcentaje
<b>Glucosa</b>		
Normal	71	94.6
Hiperglucemia	4	5.4
<b>Urobilinógeno</b>		
Normal	67	89.3
Positivo	8	10.7
<b>Cetonas</b>		
Negativo	61	81.3
Cetonuria	14	18.7
<b>Proteínas</b>		
Negativo	51	68
Proteinuria	24	32
<b>Leucocitos</b>		
Negativo	51	68
Leucocituria	24	32
<b>Nitritos</b>		
Negativo	69	92
Positivo	6	8
<b>pH</b>		
Normal	71	94.6
Alcalino	4	5.4
<b>Densidad</b>		
Normal	75	100
<b>Hemoglobina</b>		
Normal	74	98.6
Positivo	1	1.4

El examen microscópico corresponde al análisis del sedimento urinario en donde se pueden encontrar algunas células provenientes del sistema excretor, como: Eritrocitos, leucocitos, bacterias, células epiteliales, células uretrales, levaduras, cilindros y cristales. Dentro de los resultados encontrados el 29.4% (n=22) presentaron hematuria, el 45.4% (n=34) leucocituria, en todas las muestras se encontraron bacterias en mayor porcentaje una bacteriuria escasa (+) con un 65.4% (n=49) y en menor frecuencia bacteriuria abundante con el 1.3% (n=1). No se encontraron células epiteliales en las muestras, con respecto a células uretrales el 22.7% (n=17) se observaron, levaduras se encontró el 9.3% (n=7), el 6.7% (n=5) se observaron cilindros y el 16% (n=12) cristales (Tabla 8).

Tabla 8. Parámetros microscópicos analizados en la muestra de orina.

Parámetros	Frecuencia	Porcentaje
<b>Eritrocitos</b>		
Normal	53	70.6
Hematuria	22	29.4
<b>Leucocitos</b>		
Normal	41	54.6
Leucocituria	34	45.4
<b>Bacterias</b>		
Bacteriuria escasa (+)	49	65.4
Bacteriuria baja (++)	15	20
Bacteriuria moderada (+++)	10	13.3
Bacteriuria abundante (++++)	1	1.3
<b>Células epiteliales</b>		
Normal	75	100
<b>Células uretrales</b>		
Normal	58	77.3
Positivo	17	22.7
<b>Levaduras</b>		
Negativo	68	90.7
Positivo	7	9.3
<b>Cilindros</b>		
Negativo	70	93.3
Positivo	5	6.7
<b>Cristales</b>		
Negativo	63	84.0
Positivo	12	16.0

Tabla 9. Comparación de resultados de bacterias en el EGO y urocultivo con la detección de microorganismos uropatógenos por PCR.

<b>Bacterias EGO</b>	<b>PCR</b>
<b>4+</b>	<i>A.baumannii</i>
<b>3+</b>	<i>A. baumannii</i> , <i>K. pneumoniae</i>
<b>3+</b>	<i>A. baumannii</i>
<b>1+</b>	<i>A. baumannii</i>
<b>1+</b>	<i>E. coli</i>
<b>Urocultivo</b>	<b>PCR</b>
<b>Negativo</b>	<i>A. baumannii</i> <i>K. pneumoniae</i>
<b>Negativo</b>	<i>A. baumannii</i> <i>K. pneumoniae</i>
<i>E. coli</i>	<i>E. coli</i>
<i>E. coli</i>	Negativo
<i>A. baumannii complex</i> <i>haemolyticus</i>	<i>A. baumannii</i> <i>K. pneumoniae</i>
<i>C. tropicalis</i>	Negativo
<b>Contaminación</b>	<i>A. baumannii</i>
<i>C. tropicalis</i>	<i>P. mirabilis</i>
<b>Negativo</b>	<i>A. baumannii</i>
<b>Negativo</b>	<i>A. baumannii</i>
<b>Negativo</b>	<i>A. baumannii</i>
<i>E. faecalis</i>	Negativo

Se encontró una mayor frecuencia de muestras positivas por la técnica de PCR en un 18.6% y por urocultivo un 14.6%, se encontraron las siguientes bacterias: *A. baumannii*, *K. pneumoniae*, *E. coli*, *P. mirabilis*.

En el urocultivo no se detectaron infección por 2 uropatógenos, en comparación con la técnica de PCR donde se encontraron coinfecciones de 2 microorganismos en 4 ocasiones (28.57%)

Tabla 10. Cálculo de VPP, VPN, especificidad y sensibilidad de las técnicas de detección de microorganismos uropatógenos y PCR.

Técnica de detección	Positivos	Negativos
Urocultivo/EGO	11	6
PCR	14	3

Se encontraron los siguientes resultados del Valor Predictivo Positivo (VPP) VPP=0.65, Valor Predictivo Negativo (VPN) VPN=0.17, especificidad de la prueba= 0.33 y sensibilidad de la prueba 0.44

El valor predictivo positivo de la PCR es del 65%, lo cual indica la probabilidad que un urocultivo positivo o EGO con bacterias tenga un microorganismo uropatógeno en la orina. El valor predictivo negativo de la PCR es del 17%, lo cual indica la probabilidad que un urocultivo positivo o EGO con bacterias no tenga microorganismo uropatógeno en la orina. Con respecto a la capacidad de detectar un uropatógeno por urocultivo o EGO es del 44%. La prueba tiene la capacidad de detectar sanos (negativo) en un 33%.

Tabla 11. Estimación de valores predictivos de parámetros bioquímicos del uroanálisis con la detección por PCR.

Parámetros	Detección de MO		Frecuencia (%)	X <sup>2</sup>
	No	Si		
<b>Glucosa</b>				
Normal	52	13	71 (94.6%)	0.12
Hiper glucemia	10	0	4 (5.4%)	
<b>Urobilinógeno</b>				
Normal	56	11	67 (89.3%)	0.54
Positivo	6	2	8 (10.7%)	
<b>Cetonas</b>				
Negativo	50	11	61 (81.3%)	0.73
Cetonuria	12	2	14 (18.7%)	
<b>Proteínas</b>				
Negativo	43	8	51 (68%)	0.58
Proteinuria	19	5	24 (32%)	
<b>Leucocitos</b>				
Negativo	42	9	51 (68%)	0.91
Leucocituria	20	4	24 (32%)	
<b>Nitritos</b>				
Negativo	58	11	69 (92%)	0.28
Positivo	4	2	6 (8%)	
<b>pH</b>				

<b>Normal</b>	58	13	71 (94.6%)	0.34
<b>Alcalino</b>	4	0	4 (5.4%)	
<b>Densidad</b>				
<b>Normal</b>	62	13	75 (100%)	NA
<b>Hemoglobina</b>				
<b>Normal</b>	36	7	43 (57.3%)	0.78
<b>Positivo</b>	26	6	32 (42.7%)	

No se encontró diferencia significativa en los parámetros bioquímicos, por lo cual ninguno de ellos es predictor.

## DISCUSIÓN

Existen pocos estudios en donde comparan la identificación de uropatógenos aislados por urocultivo y mediante técnicas de PCR múltiple, los resultados obtenidos en esta investigación arrojan datos similares, a pesar de que la variedad de microorganismos y el tamaño de muestras analizadas son menores.

Se encontró una mayor frecuencia de muestras positivas por la técnica de PCR en un 18.6% y por urocultivo un 14.6%, además que el valor de predicción positiva del análisis de una muestra de orina mediante técnicas de PCR es del 65% a encontrar algún uropatógeno, en comparación al 44% del urocultivo o EGO. Un estudio realizado por Wojno y cols en el 2019, encontró que con la técnica de PCR fue posible detectar uropatógenos en 56% de las muestras, en cambio con el urocultivo solo fue posible en el 37%.

De los uropatógenos encontrados, predominaron los bacilos Gram Negativos No Fermentadores pertenecientes al género *Acinetobacter*, seguido de Fermentadores como *K. pneumoniae*, *E. coli* y *P. mirabilis*, en comparación a lo reportado por Cybulski, et al, 2013; en donde los hallazgos pertenecían principalmente a la Familia Enterobacteriaceae, seguido de cocos Gram Positivos pertenecientes a los géneros *Enterococcus*, *Staphylococcus* y *Streptococcus*. También, Wojno y cols, tiene resultados similares, pero abarco un mayor número de uropatógeno incluyendo a bacterias fastidiosas, anaerobias y microorganismos no cultivables como *Ureaplasma* y *Micoplasma*. La ausencia de mayor variedad de uropatógenos en el presente trabajo de investigación podría ser ocasionado por la presencia de inhibidores de PCR.

En el caso de datos demográficos el 55% de las muestras recolectadas pertenecían al sexo femenino y el 45% al sexo masculino. De las investigaciones publicadas, Wojno et al, 2019, tiene resultados similares, el 60 % de las muestras eran del sexo masculino y el 40% al sexo femenino; con los otros trabajos publicados no se puede hacer este tipo de comparaciones debido a que se han enfocado a un grupo específico.

No se encontró alguna alteración de los parámetros bioquímicos del uroanálisis, que sirva como indicador para predecir la presencia de un uropatógeno, aunque este punto en particular no ha sido explicado en las diversas publicaciones existentes, puede ser por falta de intención o por restar importancia al uroanálisis.

Una vez más, se comprueba la superioridad en cuanto a tiempo y capacidad de identificación del diagnóstico molecular a las técnicas convencionales como el urocultivo, que se ejecutan día a día en los laboratorios de análisis clínicos; sin embargo, aún falta perfeccionar una metodología adecuada para identificar uropatógenos y otros patógenos potenciales, así como de eliminar o disminuir una de las grandes desventajas que hay para ser aplicado en laboratorios clínicos: el costo, principalmente de los equipos y las adecuaciones del espacio físico que se requieren para poder instalar un laboratorio de biología molecular, pero se espera que con el paso de los años sea más accesible y se puedan detectar no solo uropatógenos.

## CONCLUSIONES

- La frecuencia de muestras positivas por la técnica de PCR fue de 18.6% y por urocultivo un 14.6%
- Se encontraron las siguientes bacterias: *A. baumannii*, *K. pneumoniae*, *E. coli* y *P. mirabilis*.
- El valor predictivo positivo para detectar uropatógenos por PCR fue menor a lo esperado.
- No hay diferencia significativa en los parámetros bioquímicos del uroanálisis que sirvan como predictor.

## BIBLIOGRAFÍA

1. Jameson JL, Kasper DL, Longo DL, Fauci AS, Hauser SL, Loscalzo J. Harrison: Principios de Medicina Interna. 20 edición, Volumen 2, Mc Graw Hill. 2018. 2089-2093.
2. Feather A, Randall D, Waterhouse M. Kumar and Clarks: Clinical Medicine. 10 edición. Elsevier. 2021. 1342-1344, 1348-1349, 1382-1383
3. Hall JE, Hall ME. Guyton and Hall: textbook of Medical Physiology. 14 edición, Elsevier, Estados Unidos. 2021, 322-325
4. Rozman C, Cardellach F. Farreras-Rozman: Medicina Interna. 19 edición. Volumen 1. España. Elsevier. 2020. 777-779, 882-886.
5. Dvorkin MA, Cardinali DP, Iermoli RM. Best and Taylor: Bases Fisiológicas de la práctica médica. 14 edición, Editorial Panamericana, México. 2010. 461
6. NOM 045 SSA2 2005, Diario Oficial de la Federación. Para la vigilancia epidemiológica, prevención y control de infecciones nosocomiales. Secretaria de Salud, México, 20/11/09
7. Instituto Mexicano del Seguro Social, Diagnóstico y Tratamiento de la Infección aguda, no complicada del tracto urinario de la mujer. 2009
8. Fonseca D, Gutiérrez A, Mateus H, Silva C, Contreras N, Giraldo A. Análisis de muestras de orina para la detección molecular de enfermedades infecciosas. Aplicación en la identificación de citomegalovirus humano. *Rev. Ciencias de la Salud*. Colombia. 2005. 3 (2): 136-147.
9. Jameson JL, Kasper DL, Longo DL, Fauci AS, Hauser SL, Loscalzo J. Harrison: Principios de Medicina Interna. 20 edición, Volumen 1, Mc Graw Hill. 2018. 969-973
10. Prieto Valtueña JM, Yuste Ara JR. Balcells: La clínica y el laboratorio. 23 edición. Elsevier. España, 2019. 161-164, 167,169, 173-178.
11. Velázquez-Acosta C, Cornejo-Juárez P, Volkow-Fernández P. Resistencia bacteriana de cultivos de orina en un hospital oncológico: seguimiento a 10 años. *Revista Salud Pública de México*. 2016. 58 (4): 445-452.
12. Yuste Ara JR, Del Pozo JL, Carmona Torre. Infecciones del Tracto urinario. *Medicine*. España. 2018. 12 (51). 3020-3030

13. Sánchez M.J, Lovera D, Arbo A. Infección urinaria en niños y niñas internados: características clínicas y microbiológicas. *Revista Institucional Medicina Tropical*. 2015. 10 (1): 4-11.
14. Secretaria de Salud, Boletín Epidemiológico, Dirección General de Epidemiología, 36 (1), semana 1. 30 diciembre 2018-5 enero 2019.
15. Secretaria de Salud, Boletín Epidemiológico, Dirección General de Epidemiología, 38 (1), semana 1, 3-9 enero 2021, 42
16. Secretaria de Salud, Boletín Epidemiológico, Dirección General de Epidemiología, 39 (1), semana 1. 2-8 enero 2022, 41.
17. Álvarez Villarraga JD, Iregui Parra JD, Díaz DA, Cárdenas AM, Chavarriaga J, Godoy MP. Guía de práctica clínica de infecciones de vías urinarias en el adulto. *Rev. Urología Colombiana*. 2018. 27 (2): 126-131.
18. Ardila M, Rojas M, Santiesteban G, Gamero A, Torres A. Infección urinaria en pediatría. *Repertorio de Medicina y cirugía*. 2015. 24 (2): 113-122.
19. Delgado Vicente M, Lecaroz Agara MC, Barrios Andrés JL, Canut Blasco A. Pielonefritis aguda complicada y no complicada en urgencias: indicadores de proceso y resultado. *Emergencias: Revista de la Sociedad Española de Medicina de Urgencias y Emergencias*. 2017. 29 (1). 27-32
20. Rozman C, Cardellach F. Compendio de Medicina Interna. 6ta edición, Elsevier, España. 2017. 276-278
21. Solano Mora A, Solano Castillo A, Ramírez Vargas X. Actualización del manejo de infecciones de las vías urinarias no complicadas. *Revista Médica Sinergia*. Costa Rica. 2020. 5 (2).
22. Kumate Rodríguez I, Gutiérrez Trujillo G, Muñoz Hernández O, Santos Preciado JI, Solorzano Santos F, Miranda Novales MG. Infectología Clínica. 18 edición. México. Méndez Editores. 2016. 316-322.
23. Becerra AM, Parra D, Trujillo CG, Azuero J, García S, Daza F, Plata M. Infección de vías urinarias no complicada en mujeres. *Revista urología colombiana*. 2021. 30 (2). 123-134.
24. Alarcón Alacio MT, Justa Roldan ML. Bacteriuria asintomática. *Protocolos diagnósticos terapéuticos en pediatría*. España. 2014.1: 109-117.

25. Kasper DL, Fauci AS, Houser SL, Longo DL, Jameson JL, Loscalzo J. Harrison: Principios de Medicina Interna. 19 edición. volumen 2. México. Mc Graw Hill. 2016. 1861-1863.
26. Rojas Oviedo P. Infección del tracto urinario, bacteriuria asintomática en el adulto mayor. *Geriatría Clínica*. 12 (1). 2018. 13-17
27. Valdevenito JP, Álvarez D. Infección urinaria recurrente en la mujer. *Revista Medicina Clínica*. 2018. 29 (2). 222-231.
28. Pigrau C, Escolà-Vergé L. Infecciones urinarias recurrentes: desde la patogenia a las estrategias de prevención., *Medicina Clínica*, 2020. 155(4). 171-177
29. Cisneros Mallico ML. Infección urinaria en niños. *Revista Facultad Medicina Humana*. 2015. 15 (3). 40-50.
30. Pigrau C. Infección urinarias recurrentes. *Salvat*. España. 2013. 23-37, 85-104.
31. Alos JJ. Epidemiología y etiología de la infección urinaria comunitaria en adultos: sensibilidad antimicrobiana de los principales uropatógenos y significado clínico de la resistencia. *Salvat*. España. 2013: 1-10.
32. De Toro-Peinado I, Mediavilla-Gradolph MC, Torno-Palop N, Palop-Borras B. Diagnóstico microbiológico de las infecciones urinarias. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología clínica*. 2015. 33 (2): 34-39.
33. Florentín de Merech L, García Bellenzier V, Franco Valdez M. Infección urinaria: aspectos relevantes y puesta al día. *Pediatría*. Paraguay. 41 (1). 57-64.
34. Paz Zarza VM, Mangwani Mordani S, Martínez Maldonado A, Álvarez Hernández D, Solano Gálvez SG, Vázquez López R. *Pseudomonas aeruginosa*: patogenicidad y resistencia antimicrobiana en la infección urinaria. *Revista Chilena Infectología*. 2019. 36 (2). 180-189.
35. Pagana K, Pagana T. Laboratorio clínico: indicaciones e interpretación de resultados., Editorial El Manual Moderno, México. 2015. 401-409.
36. Orduz Pérez K, Trejos Suárez J. Resistencia a antimicrobianos de uropatógenos aislados de pacientes ambulatorios atendidos de un laboratorio clínico de tercer nivel de complejidad de Bucaramanga, Santander. *Revista Fac. Ciencias de la Salud UDES*. 2014. 1 (1): 8-13.

37. Ruíz Reyes G, Ruíz Argüelles A. Fundamentos de interpretación clínica de los exámenes de laboratorio. 3 edición, Editorial Medica Panamericana. 2017. 63-65
38. Laposata M. Laboratory Medicine: the diagnosis of disease in the clinical laboratory. 2da. edición, Mc Graw Hill. 2014. 394-395
39. Cybulski Z, Schmidt K, Grablic A, Talaga Z, Bociag P, Wojciechowicz J, Roszak A, Kycler W. Usability application of multiplex polymerase chain reaction in the diagnosis of microorganisms isolated from urine of patients treated in cancer hospital. Polonia. *Radiología y Oncología*. 2013. 47 (3): 296-303.
40. Heytens S, De Sutter A, Coorevits L, Cools P, Boelens J, Van Simaey L, Christiaens T, Vaneechoutte M, Claeys G. Women with symptoms of a urinary tract infection but a negative urine culture: PCR-based quantification of *Escherichia coli* suggests infection in most cases. Bélgica. *Clinical Microbiology and Infection*. 2017. 23: 647-652.
41. Mckechnie M, Hillman R, Couldwell D, Kong F, Freeman E, Wan H, Gilbert G. Simultaneous Identification of 14 Genital Microorganisms in Urine by Use of a Multiplex PCR-Based Reverse Line Blot Assay. Australia. *Journal of Clinical Microbiology*. 2009. 47 (6): 1871-1877
42. Van der Zee A, Roorda L, Bosman G, Ossewaarde J. Molecular Diagnosis of Urinary Tract Infections by Semi-Quantitative Detection of Uropathogens in a Routine Clinical Hospital Setting. Países Bajos. *PLoS ONE*, 2016. 11 (3).
43. Manrique Abril FG, Rodríguez Díaz J, Ospina Díaz JM. Rendimiento diagnóstico del parcial de orina como predictor de infección urinaria en pacientes de Tunja, Colombia. *Revista CES Med*. 2014. 28 (1). 21-34.
44. Wojno K, Baunoch D, Luke N, Opel M, Korman H, Kelly C, Mohammad S, Keating P, Hazelton D, Hindu S, Mackhloouf B, Wenzler D, Sabry M, Burks F, Penaranda M. Multiplex PCR Based Urinary Tract Infection (UTI) Analysis comparad to traditional Urine culture in identifying significant pathogens in symptomatic patiens. Estados Unidos de America. *Urology*. 2020. 136: 119-126.