

Propósito del examen. El urocultivo se realiza para detectar y contar especies microbianas (bacterias y levaduras) que sean agentes causales de infecciones de vías urinarias.

Principio y método del procedimiento utilizado para el examen. Los principales agentes causales de infección de vías urinarias (IVUs) se pueden cultivar en medios semisólidos, tales como el agar EMB, agar MacConkey, agar sangre y el agar azida de sodio. Con una incubación de 24 a 48 horas en aerobiosis a 35 °C -37 °C se pueden cultivar la mayoría de los agentes causales de IVUs. El urocultivo permite confirmar el diagnóstico clínico de IVU y la realización de pruebas de susceptibilidad.

Características de desempeño. A definir por cada laboratorio

Tipo de muestra. Orina

Preparación del paciente

- Siempre que sea posible recoger la primera orina de la mañana, para que permanezca en la vejiga toda la noche o al menos 4 horas. Si esto no es posible, no será criterio de rechazo de la muestra.
- No se aceptan muestras de mujeres durante la menstruación.
- Idealmente se tomará la muestra de orina antes de la toma de antibióticos. Si esto no es posible, no será criterio de rechazo de la muestra.

Recolección de la muestra

Por micción media espontánea en adultos (chorro medio).

La toma de la muestra tanto en hombres como en mujeres adultos se realiza por el propio paciente. Se entrega un instructivo al paciente con las recomendaciones en el que se detalla lo siguiente:

- Realizar un aseo previo de genitales tanto en hombres como en mujeres. Ese aseo puede realizarse durante el baño diario.
- Mujeres: Mantener los labios mayores separados mientras comienzan la micción. Desechar la primera parte de la orina en la taza del baño. Abrir el frasco y recoger la micción media, colocando el recipiente de forma adecuada para que la orina caiga en el frasco. Colectar aproximadamente hasta la mitad del frasco, detener la micción, tapar el frasco y continuar orinando en la taza del baño.
- Hombres: Mantener el prepucio retraído mientras comienzan la micción. Desechar la primera parte de la micción y recoger la micción media, colocando el recipiente de forma que caiga el chorro de orina en el frasco. Detener la micción, cerrar el frasco y continuar orinando en la taza del baño.
- Se debe recolectar idealmente un mínimo de 10 ml de orina. De no ser posible, no será criterio de rechazo de la muestra. El mínimo de muestra que se recibe es de 1 ml.

En pacientes con sonda.

- Desinfectar el cono de la sonda con etanol al 70%, recoger asépticamente 5-10 ml de orina utilizando una aguja y jeringa y transferirla a un tubo o recipiente estéril.
- Nunca se debe recoger orina de la bolsa de la sonda.
- No se acepta para cultivo la punta de la sonda.

Pacientes pediátricos. La recomendación para pediátricos no aparece en los documentos de referencia. Lo que se describe a continuación, es de unas guías del CLSI no actualizadas.

- Usar bolsas de recolección de muestras de orina pediátricas y para recién nacidos con adhesivos hipoalergénicos para la piel
- Separar las piernas del niño. Asegúrese de que las áreas púbica y perineal estén limpias, secas y sin moco.
- Retirar el papel protector y exponga el adhesivo adherido a la bolsa
- Presionar el adhesivo firmemente sobre la piel alrededor de los genitales externos. Revise el contenedor cada 15 minutos.
- Para los niños, colocar la bolsa sobre el pene y presione las aletas firmemente hacia el perineo. Asegúrese de que todo el recubrimiento adhesivo esté firmemente adherido a la piel sin arrugar el adhesivo.
- Una vez que el niño orine, y sin contaminación adicional, verter la muestra en un recipiente de recolección. Etiquetar y transportar al laboratorio.
- No se recomienda la orina recogida de un pañal para pruebas de laboratorio ya que la contaminación del material del pañal puede afectar los resultados de la prueba.

Trasporte y recepción de la muestra.

- La orina puede procesarse en el laboratorio un máximo de dos horas después de colectada si se mantiene a temperatura ambiente.
- Si la muestra se mantiene a temperatura de refrigeración (4-8 °C), se puede procesar dentro de las primeras 24 horas.
- Al recibirse la muestra en el laboratorio, se tomará nota de la hora de toma de la muestra y de la hora de recepción. Este dato se anotará en la cadena de custodia o en la solicitud del estudio. Si la muestra no cumple con las características, no se aceptará para proceso.

Tipo de contenedor y aditivos

La recolección de orina se debe realizar en un recipiente de plástico estéril sin ningún aditivo (hay aditivos opcionales, en frascos comerciales, anotar aquí si se usan), de boca ancha, sin fugas y el paciente debe cerrarlo correctamente. Nunca se debe recoger la orina de un recipiente, orinal o similar, donde el paciente haya realizado la micción previamente.

Criterios de rechazo

- No evidencia de que la muestra se mantuvo en refrigeración y fue colectada más de dos horas antes.
- No se procesan orinas de 24 horas
- No se procesan sondas de Foley.
- No se procesa orina de bolsa de sonda
- En frasco con derrames o fugas

Equipo y reactivos requeridos. A definir por cada laboratorio

Controles ambientales y de seguridad. A definir por cada laboratorio

Procedimientos de calibración (trazabilidad metrológica). A definir por cada laboratorio

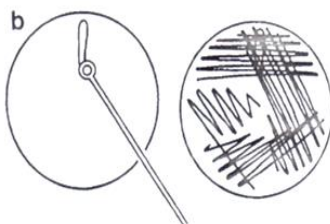
Pasos del procedimiento

Tinción de Gram

- Se lleva a cabo solo si el médico lo solicita.
- Colocar 10 μ l de orina mezclada no centrifugada en un portaobjetos y dejar que seque al aire sin desparramar sobre el portaobjetos. Fijar con metanol.
- Determinar el número de organismos en objetivo de aceite de inmersión.
- Un organismo que se observe por campo correlaciona a una cuenta de 10^5 UFC/ml
- La presencia de células epiteliales escamosas y morfologías microbianas diferentes sugiere contaminación.

Siembra:

- a) Sacar las placas (agar sangre, EMB o agar MacConkey y agar azida de sodio o agar sangre alcohol fenil étílico) del refrigerador y permitir que se atemperen.
- b) Homogenizar la orina moviéndola con suavidad en círculos para evitar la formación de espuma.
- c) Usar un asa calibrada
- d) Abrir el frasco cerca del mechero e introducir el asa calibrada estéril por debajo de la superficie líquida. Sacar el asa.
- e) Depositar la muestra en la superficie del agar aproximadamente a un centímetro del borde de la placa.
- f) Esterilizar el asa, dejar enfriar y diseminar el inóculo en la zona de descarga. Sin flamear el asa, rotar la placa 30 grados y estriar la zona 2. Sin flamear el asa, rotar la placa 30 grados y estriar la zona 3. Girar 30 grados más y realizar estriar la zona 4. Se debe tener cuidado de no tocar la superficie del plástico de las placas en las orillas, para evitar pérdida de la muestra por capilaridad. No debe esterilizarse el asa entre campo y campo (ver la figura siguiente).



Incubación. Las placas se incuban a 35-37°C en atmósfera aeróbica por 24 horas para la primera revisión. Se incuban 48 h más antes de reportarse como negativo.

Lectura de los cultivos.

Las placas deben ser examinadas después de 24 h de incubación (este aspecto es importante para orinas sembradas durante la tarde o noche). La cuenta se realiza en agar sangre

- Cultivos sin crecimiento: si las placas no presentan crecimiento después de 48 h, el cultivo debe considerarse como negativo.
- Cultivos con crecimiento: Discriminar las especies con capacidad uropatógena (*Enterobacteriaceae*, *Pseudomonas aeruginosa*, otros bacilos Gram negativos, Enterococos spp., estreptococos β - hemolíticos, levaduras, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus saprophyticus*) de las especies de la microbiota urogenital o cutánea (*Lactobacillus* spp, difteroides distintos de *Corynebacterium urealyticum*, *Streptococcus* del grupo viridans y *Bacillus* spp.) que no se consideran importantes.
- Valorar los posibles morfotipos presentes y contar las colonias de cada una de las posibles especies con potencial uropatógeno.

Identificación. De acuerdo con la metodología disponible en el laboratorio

Pruebas de susceptibilidad. De acuerdo con la metodología disponible en el laboratorio

rotocolo de interpretación de urocultivos de acuerdo con el número de patógenos potenciales detectados.

Tipo de orina	inoculación	Un uropatógeno	2 uropatógenos	3 o más uropatógenos
Chorro medio de pacientes ambulatorios < 65 años	Asa calibrada de 1 µl	< 10 ⁴ , identificar especie ≥ 10 ⁴ , Identificación y pruebas de sensibilidad ≥ 10 ³ , en mujeres de 14 a 30 años, Identificación y pruebas de sensibilidad	<10 ⁵ , identificar especie ≥ 10 ⁵ , Identificación y pruebas de sensibilidad para cada especie	Reportar: Múltiples morfotipos bacterianos presentes. Se sugiere la apropiada recolección de la muestra y el envío oportuno al laboratorio si está clínicamente indicado.
Catéter o chorro medio de personas mayores de 65 años y en todos los pacientes internados	Asa calibrada de 1 µl	<10 ⁴ , identificar especie ≥ 10 ⁴ , Identificación y pruebas de sensibilidad	<10 ⁵ , identificar especie ≥ 10 ⁵ , Identificación y pruebas de sensibilidad para cada especie	Si los datos del parcial de orina, esterasa leucocitaria, son normales, reportar como en pacientes de chorro medio externos. Contactar al clínico para determinar si el paciente está febril o sintomático. Si esto es positivo, proceder como con dos uropatógenos.
Pediátricos con catéter, punción suprapúbica	Asa calibrada de 10 µl	10 ² -10 ³ con microbiota urogenital normal o microbiota de la piel, identificación. ≥ 10 ³ o cultivo puro de cualquier uropatógeno, identificación y pruebas de sensibilidad	<10 ³ , identificar especie ≥ 10 ³ , Identificación y pruebas de sensibilidad para cada uropatógeno	<10 ⁴ , identificar especie ≥ 10 ⁴ , Identificación y pruebas de sensibilidad

Protocolo de interpretación de acuerdo con la microbiota detectada.

Microbiota	Organismo	Acción
Urogenital	Estreptococos del grupo viridans, <i>Neisseria</i> spp, Difteroides, Lactobacilos	Reportar como microbiota urogenital
Piel	Difteroides, <i>Staphylococcus</i> spp	Reportar como microbiota de la piel
Uropatógenos	Bacilos Gram negativos <i>Staphylococcus</i>	Identificación y pruebas de sensibilidad Identificación y pruebas de sensibilidad para <i>Staphylococcus aureus</i> (cualquier cuenta) Identificar <i>Staphylococcus saprophyticus</i> en mujeres en edad reproductiva (generalmente no requiere pruebas de sensibilidad)
	Levaduras	Identificar <i>Candida albicans</i> y <i>Candida glabrata</i> . Otras especies se identifican solo si se solicita.
	Estreptococos beta-hemolíticos	Se debe reportar cualquier cantidad de estreptococos del grupo B en mujeres de 14 a 30 años.
	<i>Enterococcus</i> spp	Revisar la resistencia a vancomicina en pacientes internados
	<i>Gardenerella vaginalis</i>	Identificar solo si se encuentra en número 10 veces mayor que el resto de la microbiota.
	<i>Aerococcus urinae</i>	Identificar solo si se encuentra en número 10 veces más que el resto de la microbiota.
	<i>Corynebacterium ureasa</i> positivo	Identificar solo si se encuentra en número 10 veces más que el resto de la microbiota o tiene una cuenta ≥10 ⁵ /ml

Observaciones

- La microbiota que se encuentra en proporción 10 veces menor que los uropatógenos se debe ignorar.
- Si la cantidad de microbiota es igual que la de uropatógenos, reportar “múltiples morfotipos presentes. Se sugiere la recolección apropiada con envío oportuno al laboratorio si está clínicamente indicado.
- Se observa inhibición por la muestra (no crecimiento en la primer zona y desarrollo en la segunda y tercera). No haga la cuenta.

Reporte de resultados

- Si no se observa crecimiento se informa: “No hubo desarrollo de uropatógenos”.
- Si solo se observa microbiota urogenital o de piel se reporta como ejemplo: 10,000 UFC/ml de microbiota urogenital.
- Si se observa crecimiento significativo, se reporta (n) la (s) cuenta (s), la (s) identificaciones y pruebas de sensibilidad.
- Si hay desarrollo de 3 patógenos potenciales, se puede reportar “Múltiples morfotipos bacterianos presentes. Se sugiere la apropiada recolección de la muestra y el envío oportuno al laboratorio si está clínicamente indicado”.
- El punto de corte de $\geq 10^5$ puede ser aplicado para la mayoría de los casos, sin embargo se debe tomar en cuenta que:
 - a) Cuentas de 10^2 UFC/ml de *Salmonella* y enterobacterias pueden ser significativos en algunos pacientes
 - b) Cuentas menores de 10^5 UFC/ml en presencia de síntomas pueden ser significativas.

Procedimientos de control de la calidad. A definir por cada laboratorio

Interferencias y reacciones cruzadas. Los resultados del urocultivo se ven afectados por el consumo de al menos una dosis de antibiótico.

Principio del procedimiento para el cálculo de resultados incluyendo, cuando sea relevante, la medición de la incertidumbre de los valores de la magnitud medida.

Asa de 1 μ l. Una vez que se seleccionaron los uropatógenos potenciales, se cuenta las UFC de cada uno de ellos. El valor obtenido del número de UFC se multiplica por 1000. Esto representa la cuenta de UFC/ml (calibración y validación por cada laboratorio)

Asa de 10 μ l. Una vez que se seleccionaron los uropatógenos potenciales, se cuenta las UFC de cada uno de ellos. El valor obtenido del número de UFC se multiplica por 100. Esto representa la cuenta de UFC/ml. (calibración y validación por cada laboratorio)

Intervalos de referencia biológica o valores de decisión clínica

Valor Normal: No se detectaron uropatógenos

Intervalo reportable de los resultados del examen.

Las cuentas se reportan desde 1,000 UFC/ml hasta un valor de 100,000 UFC/ml. Arriba de ese valor, se reporta como $\geq 100,000$ UFC/ml.

Instrucciones para determinar los resultados cuantitativos cuando un resultado no está dentro del intervalo de la medición. (calibración y validación por cada laboratorio)

Valores de alerta o críticos, cuando sea apropiado. A definir por cada laboratorio

Interpretación clínica del Laboratorio;

Las IVUs se definen como la presencia de microorganismos patógenos en las vías urinarias, aunado a la presencia de signos y síntomas.

La bacteriuria asintomática se define como la presencia de más de 100,000 UFC/ml en dos muestras de orina en ausencia de sintomatología clínica.

Fuentes potenciales de variación. La cuenta de bacterias se puede ver afectada por el consumo de al menos una dosis de antibiótico, el uso de diuréticos por el paciente, el tiempo de concentración de la orina en la vejiga (menor de cuatro horas).

Referencias

- Amy L Leber. Clinical Microbiology Procedures Handbook, 4th Edition. ASM Press. 2016 Chapter 3.12
- Forbes A. Betty et al. Bailey & Scott Diagnóstico Microbiológico, 13^a Edition. Editorial Elsevier. 2014. Chapter 73.