

Investigación

Comparación entre un medio cromogénico y un medio de cultivo convencional para la realización de urocultivos en pacientes ambulatorios

Gariboglio Vázquez, María L.(1); Usandizaga, Graciela B. (1); Matzkin, Ricardo(1); Irigoyen, Bettina E.(1); Marques, Isabel (1); Merino, Luis A.(2)

(1) Servicio de Microbiología Clínica, Hospital "Dr. Julio C. Perrando", 9 de Julio 1100, 3500 Resistencia, Chaco.
(2) Área de Bacteriología, Instituto de Medicina Regional (U.N.N.E.), Av. Las Heras 727, 3500 Resistencia, Chaco.
Correo electrónico: lamerino@gigared.com

Resumen

El objetivo del presente trabajo fue comparar el rendimiento del medio cromogénico CPS-ID3 con el del medio CLDE utilizado rutinariamente para la siembra de orinas provenientes de pacientes ambulatorios del Hospital "Julio C. Perrando" de la ciudad de Resistencia, Chaco.

Entre mayo y agosto de 2007, se estudiaron 714 muestras de orina para urocultivo, las cuales fueron sembradas en agar CPS-ID3 y en agar CLDE; 169 (23,7%) muestras fueron positivas para un solo tipo bacteriano.

El medio cromogénico permitió la identificación por color, con un 100% de confiabilidad, de *Escherichia coli* y *Proteus*, reduciendo el tiempo de trabajo necesario para la identificación de gérmenes en un alto porcentaje de urocultivos.

El uso de la identificación presuntiva de los principales uropatógenos de interés clínico en el medio de cultivo cromogénico proporciona una respuesta diagnóstica rápida, reduce la carga de trabajo y los costos, al evitar pruebas adicionales en la mayoría de los aislamientos y puede ser considerada como una técnica fiable en laboratorios asistenciales con un gran número de pacientes diarios.

Introducción

El urocultivo es el análisis más realizado en laboratorios de bacteriología clínica, ya que las infecciones

del tracto urinario (ITU) son unas de las patologías más comunes en el hombre. La metodología tradicional empleada para el cultivo de muestras de orina requiere de al menos 48 hs. para identificar a un patógeno, y en algunos casos se necesitan pruebas adicionales que insumen varios días(1).

Muchos pacientes con ITU necesitan un tratamiento de certeza, el cual se aplica luego de los resultados de las pruebas de susceptibilidad, y la posibilidad de conocer cuál será la droga apropiada depende de la identificación y sensibilidad antimicrobiana de los microorganismos (2).

Los medios cromogénicos permiten realizar simultáneamente el recuento, aislamiento e identificación directa de las principales bacterias productoras de ITU, ya que están compuestos por una mezcla de sustratos cromogénicos de modo que, tras un período de incubación y según el sustrato que sea metabolizado, las colonias adquieren un color que resulta característico para determinadas bacterias (3).

El objetivo del presente trabajo fue comparar el rendimiento del medio cromogénico CPS-ID3 con el del medio Cistina-Lactosa-Deficiente en Electrolitos (CLDE) utilizado rutinariamente para la siembra de orinas provenientes de pacientes ambulatorios de un Hospital General.

Materiales y métodos

Se incluyeron en el presente estudio todas las orinas de pacientes ambulatorios con sospecha clínica de padecer una ITU y que presentaran los siguientes criterios: menos de 3 células epiteliales de descamación por campo de 400X y de más de 5 leucocitos por campo de 400X, o menos de 3 células epiteliales de descamación por campo de 400X y de menos de 5 leucocitos por campo de 400X pero con bacteriuria.

Todas las muestras fueron mantenidas en el laboratorio a 4°C por un máximo de 4 hs. hasta su procesamiento.

Previa homogenización por agitación se inocularon con ansa calibrada 0,5 l de muestra de orina en agar CPS-ID3 y en agar CLDE.



Luego de una incubación de los dos medios de cultivo durante 18 hs. a 35°C se procedió a realizar el recuento de unidades formadoras de colonias por mililitro (UFC/mL) y la identificación bioquímica de los aislamientos mediante pruebas clásicas en los medios convencionales y, según las indicaciones del fabricante, en el medio cromogénico.

Sólo se incluyeron para la comparación de resultados aquellos cultivos con menos de dos tipos de microorganismos, mientras que las muestras con dos o más tipos de microorganismos fueron clasificadas como mezclas y excluidas.

Los datos fueron registrados y analizados mediante el programa Microsoft Excel.

Resultados

Entre mayo y agosto de 2007, se estudiaron 714 muestras de orina para urocultivo, de las cuales 169 (23,7%) resultaron positivas para un solo tipo bacteriano. De ellas se consideraron sólo 127 para el presente estudio por haber arrojado recuentos mayores a 102 UFC/mL.

Los datos obtenidos con relación al recuento de

colonias en ambos medios estudiados aparecen en la tabla 1.

TABLA 1: Comparación del recuento de colonias de acuerdo al medio utilizado.

Medio	Recuento (UFC/mL)			
	10 ² -10 ³	10 ³ -10 ⁴	10 ⁴ -10 ⁵	>10 ⁵
CPS-ID3	8	12	13	94
CLDE	8	12	13	94

En la tabla 2 y en la figura 1 se presentan los colores de las colonias obtenidos con cada especie bacteriana en el medio CPS-ID3.

TABLA 2: Identificación mediante pruebas bioquímicas de bacterias recuperadas y su correlación con el color de las colonias desarrolladas en CPS-ID3:

Identificación Bioquímica	Color en el CPS-ID3	Cepas aisladas	
		Nº	Porcentaje
Escherichia coli	Bordó	58	45,7%
Escherichia coli	Blanca	10	7,9%



ALGO TAN PEQUEÑO...

WM QUIMICA CLINICA UNA LÍNEA DE PEQUEÑOS PRODUCTOS CON GRANDES RESULTADOS.

El producto **HbA1C** de Labtest utiliza el método inmunturbidimétrico para determinación cuantitativa de la Hemoglobina A1c en muestras de sangre total.

CON UN FUTURO TAN

Es certificado por el NGSP¹ y rastreado al método HPLC² de DCCT³ presentando elevada reproducibilidad, exactitud y confiabilidad en los resultados.

GRANDE.



1. National Glycohemoglobin Standardization Program 2. Cromatografía líquida de alto desempeño 3. Diabetes Control and Complications Trial.

WM ARGENTINA SA

mejorando la vida a cada instante

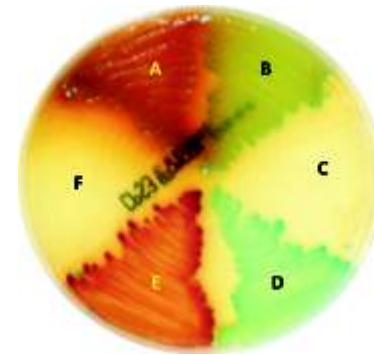
WERFEN



Carlos Pellegrini 1141, 7º piso. Bs. As., Argentina
Tel.: 54 11 4327 0099 / Fax: 54 11 4322 0834
info@werfen.com.ar / www.werfen.com.ar

Klebsiella pneumoniae	Verde mucosa	23	18,1%
Enterobacter spp	Verde mucosa	8	6,3%
Staphylococcus spp	Blanca puntiforme	7	5,5%
Proteus mirabilis	Marrón	6	4,7%
Streptococcus spp	Celeste puntiforme	5	3,9%
Pseudomonas aeruginosa	Blanca cremosa	5	3,9%
Acinetobacter spp	Blanca cremosa	2	1,6%
Serratia spp	Verde mucosa	1	0,8%
Enterococcus spp	Verde puntiforme	1	0,8%
Streptococcus agalactiae	Violeta puntiforme	1	0,8%
Total de cepas		127	100%

Figura 1: Diferentes especies bacterianas desarrolladas sobre el medio cromogénico CPS-ID3. A: Proteus mirabilis; B: Klebsiella pneumoniae; C: Pseudomonas aeruginosa; D: Enterococcus faecalis; E: Escherichia coli; F: Staphylococcus aureus.



En total fueron identificadas 11 especies diferentes de uropatógenos, siendo Escherichia coli la más frecuente entre ellas.

Las coloraciones características para la identificación directa en los medios cromogénicos fueron observadas en todas las muestras de Proteus mirabilis y Enterococcus spp. Sin embargo, se hallaron 10/68 aislamientos de Escherichia coli que presentaban colonias incoloras imposibilitando su identificación cromogénica inicial; en esos casos se debió recurrir a pruebas bioquímicas para identificarlos.

Discusión

PRODUCTOS PARA DIAGNOSTICOS CLINICOS

HbA1c DIRECTA POINTE



Método inmunoturbidimétrico para la cuantificación de hemoglobina A1c

Desde 1981 Pointe Scientific, Inc. ha estado desarrollando, fabricando y distribuyendo productos para diagnósticos clínicos (incluyendo reactivos de química clínica e instrumentos) en los Estados Unidos así como en mercados internacionales.



www.bganalizadores.com.ar



BG ANALIZADORES S.A.
 Aráoz 86 | C1414DPB | C. A. B. A. | Argentina
 Tel: 54-11 4856-2024/5734/2876
 Fax: 54-11 4856-5652
 www.bganalizadores.com.ar
 bga@bganalizadores.com.ar



Las ITU de pacientes ambulatorios son generalmente causadas por contadas especies bacterianas, siendo *E. coli* la más común de todas (4).

El medio Cistina-Lactosa-Deficiente en Electrolitos (CLDE), descrito inicialmente por Sandys y luego modificado por Mackey y Sandys, es un medio no selectivo capaz de permitir el crecimiento de la mayoría de los patógenos urinarios permitiendo una buena diferenciación de colonias e inhibiendo la migración del *Proteus.spp* (4); este medio de cultivo es usado en el Hospital "Julio C. Perrando" de rutina para el diagnóstico bacteriológico de muestras de orina debido a que permite el aislamiento inicial y el recuento de unidades formadoras de colonias por mililitro (UFC/mL) cuando la siembra se realiza con un ansa calibrada.

La introducción de medios cromogénicos para la siembra primaria de urocultivos también permite realizar un recuento de UFC/mL y, además, la identificación de los principales patógenos a través de los diferentes colores que adquieren las colonias luego de 18-24 hs de incubación; esta característica se basa en las reacciones enzimáticas bacterianas sobre los sustratos incorporados al medio de cultivo, necesitándose apenas unas pocas pruebas adicionales para confirmar la identidad del agente etiológico (1).

El medio cromogénico CPS-ID3 desarrollado por bioMérieux incorpora sustratos cromogénicos que son atacados por enzimas específicas de determinadas especies bacterianas. Este medio, junto a los sustratos para la β -glucuronidasa que permiten la identificación de *E. coli*, se emplean sustratos para la detección de β -glucosidasa, enzima presente en enterococos y en el grupo KESC (*Klebsiella*, *Enterobacter*, *Serratia* y *Citrobacter*), como así también incorpora triptófano para detectar la actividad de triptófano-desaminasa presente en la Tribu Proteae (*Proteus*, *Providencia* y *Morganella*) (5). De esta manera, las colonias de *Escherichia coli* se observan de color rosa a bordó; *Enterococcus spp* y grupo KESC presentan colonias verdes, *Streptococcus agalactiae* forma colonias color violeta, *Proteus spp* se observan de color marrón, *Staphylococcus* y levaduras de color blanca, como así también *Pseudomonas aeruginosa*, aunque ésta tiene la particularidad de tener un pigmento que difunde al medio y un brillo metálico además de su característico olor frutal.

Inicialmente, estudios realizados por Kass y, posteriormente otros estudios, sugirieron que el criterio de cuantificación para definir bacteriuria significativa debe ser variable para diferentes poblaciones de pacientes y tipos de muestra (4).

El medio cromogénico CPS-ID3 mostró un 100% de confiabilidad en el Recuento bacteriano cuando se lo comparó

con el medio CLDE, utilizado rutinariamente en nuestro laboratorio.

Muchos autores han hecho trabajos comparativos entre medios cromogénicos y los medios convencionales, todos concluyen en que los medios cromogénicos fueron levemente mejores que los medios convencionales en cuanto a la habilidad para detectar mezclas bacterianas, permitiendo no retardar los resultados como así también evitar trabajos adicionales con el consiguiente beneficio clínico y económico (3, 5,6).

El medio cromogénico permitió la identificación por color con un 100% de confiabilidad de *Escherichia coli* y *Proteus*, reduciendo el tiempo de trabajo requerido para la identificación de gérmenes en un alto porcentaje de urocultivos. Debe aclararse que durante este estudio se ha aislado solo una cepa de *Enterococcus*.

Respecto a los 10 aislamientos de *E. coli* que presentaron colonias blancas en el CPS-ID3, es debido a que carecen de la enzima β -glucuronidasa que permite la expresión del color bordó a las colonias y este hecho también fue descrito por otros autores (7).

Según nuestra experiencia, estamos de acuerdo con Colomina Rodríguez y cols. en que el color de las colonias de algunas bacterias, especialmente *E. coli*, puede variar ligeramente de un día para el otro; sin embargo, sería recomendable la relectura de las placas luego de las 24 hs., especialmente para aquellas colonias incoloras (3).

El medio CPS-ID3, a pesar de ser más costoso que el medio CLDE, permite orientar acerca del tipo de bacteria presente en la muestra llevando a disminuir el número de pruebas bioquímicas necesarias para llegar a la tipificación definitiva del germen. Además, el medio cromogénico permite la visualización con facilidad de aislamientos polimicrobianos; sin embargo su utilidad es limitada para la identificación en género y especie de todos los aislamientos bacterianos(7,8).

Coincidimos con de Oliveira en que, aunque las colonias identificadas directamente fueron confirmadas por pruebas bioquímicas corroborándose así la eficacia del medio para la identificación bacteriana, una desventaja que presentan los medios cromogénicos es la imposibilidad de obtener datos adicionales como el biotipo de bacteria (1).

De igual manera que con otros medios cromogénicos, las cepas de *Pseudomonas spp* fueron inicialmente distinguidas de las Enterobacterias, aunque fueron necesarias unas pocas pruebas adicionales para la correcta identificación de las especies (2).

Chaux y cols hallaron que el medio CPS-ID2, un precursor del CPS-ID3, fue más eficiente en la detección de

Staphylococcus spp que otros medios cromogénicos, aunque para E. coli, P. mirabilis y Enterococcus spp los porcentajes de detección fueron similares (1).

Coincidimos con otros autores en que el medio CPS-ID3 fue confiable, fácil de usar, ahorrando costos y tiempo de trabajo. Sin embargo, la interpretación de este medio requiere de práctica, y algunos microbiólogos que tienen años de experiencia con medios tradicionales, no aceptan ningún cambio y es por ello que, al igual que otros autores, recomendamos que un laboratorio pase gradualmente al uso de CPS-ID3, posiblemente en paralelo con los medios tradicionales hasta que los microbiólogos lleguen a adoptarlo y se esté listo para abandonar los medios tradicionales (4,6).

Debido a que las bacterias expuestas a estos medios cromogénicos no alteran sus características vitales, pueden ser utilizados directamente para la realización de pruebas de susceptibilidad antimicrobiana, sin requerir repiques adicionales.

Los medios cromogénicos reducen el número de medios de cultivo usados para aislamientos primarios, permiten una correcta evaluación cuantitativa de los aislamientos además de una rápida identificación presuntiva de las bacterias más comunes implicadas en infecciones del tracto urinario. Adicionalmente, permiten la detección de mezclas bacterianas, evitan la migración de Proteus y de otras bacterias móviles a la vez que posibilitan la realización de pruebas de susceptibilidad directamente sin la necesidad de reaislamientos (2).

En resumen, el uso de la identificación presuntiva de los principales uropatógenos de interés clínico en el medio de cultivo cromogénico proporciona una respuesta diagnóstica rápida, reduce la carga de trabajo y los costos, al evitar pruebas adicionales en la mayoría de los aislamientos y puede ser considerada como una técnica fiable en laboratorios asistenciales con un gran número de pacientes diarios.

Bibliografía

1. Chauv C, Crepy M, Xueref S, Roure C, Gille Y, Freydiere AM. Comparison of three chromogenic agar plates for isolation and identification of urinary tract pathogens. Clin Microbiol Infecto 2002; 8:641-645.
2. mScarpato C, Piccoli P, Ricordi P, Scagnelli M. Comparative evaluation of two commercial chromogenic media for detection and presumptive identification of urinary tract pathogens. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 2002; 21:283-289
3. Colomina Rodríguez J, Villar Serrano J, Guerrero Espejo A. Fiabilidad de medio de cultivo cromogénico MPO en la identificación presuntiva de microorganismos uropatógenos. Enferm Infecc Microbiol Clin 2004; 22(4): 251-256.
4. Ciragil P, Gul M, Aral M, Ekerbicer H. Evaluation of a new chromogenic medium for isolation and identification of common urinary tract pathogens. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 2006; 25:108-111.
5. Perry JD, Freydiere AM. The application of chromogenic media in clinical microbiology. Journal compilation. J App Microbiol 2007; 103: 2046-2055
6. Holly A, D'Souza, Campbell M, Jo Baron E. Practical bench comparison of BBL CHROMagar Orientation and standard two-plate media for urine cultures. J Clin Microbiol 2004; 42: 60-64-
7. De Oliveira BG, Albin CA, Diógenes Botão G, Homem de Mello de Souza H. A identificação direta pelos meios cromogénicos é confiável a ponto de dispensar as provas bioquímicas?. NewsLab 2006; 75:130-142. Disponible en: http://www.newslab.com.br/newslab/ed_anteriores. Último acceso 20/05/2008.
8. Fallon D, Andrews N, Frodsham D, Gee B, Howe S, Illiffe A, Nye KJ, Warren RE. A comparison of the performance of cystine lactose electrolyte deficient (CLDE) agar with Oxoid chromogenic urinary tract infection (CUTI) medium for the isolation and presumptive identification of organisms from urine. J Clin Pathol 2002; 55:524-529

tecnolab s.a.



nuestras divisiones . biología molecular . histocompatibilidad . inmunología . micropipetas . patología . virología

