

Utilidad de la citometría de flujo en el diagnóstico de infecciones del tracto urinario por microorganismos exigentes: a propósito de un caso de cistitis aguda por *Actinotignum schaalii*



Usefulness of flow cytometry in the diagnosis of urinary tract infections caused by fastidious microorganisms: A case report of acute cystitis caused by *Actinotignum schaalii*

Actinotignum schaalii (*A. schaalii*) (anteriormente *Actinobaculum schaalii*) es un pequeño cocobacilo grampositivo recto o ligeramente curvado, anaerobio facultativo. Aunque considerado parte de la microbiota urinaria, es también causa de infecciones del tracto urinario (ITU) que suelen ser infradiagnosticadas debido a su lento crecimiento en los medios de cultivo y a las condiciones de incubación requeridas¹.

A continuación, presentamos un caso de ITU por *A. schaalii* en una paciente alérgica a betalactámicos: mujer de 88 años con antecedentes de estenosis ureteral, hidronefrosis, incontinencia urinaria e infecciones urinarias de repetición (3–4 ITU/año). Acude a su médico de Atención Primaria por disuria y polaquiuria de una semana de evolución, sin fiebre asociada. En la exploración física no se objetivaban hallazgos patológicos y la puño-percusión bilateral era negativa. En el examen de orina mediante tira reactiva se observaba leucocituria y bacteriuria, siendo negativa la prueba de nitritos. La muestra remitida para urocultivo se analizó mediante citometría de flujo (Sysmex UF-1000i[®]) detectándose leucocituria (1.137 WBC/ μ L) y bacteriuria (2.684 BACT/ μ L). Seguidamente, se sembró 1 μ L de la orina en el medio BD Chromagar Orientation Medium incubado en aerobiosis a 35 \pm 2 °C; no evidenciándose crecimiento a las 24 h. Debido a los antecedentes de la paciente y a la elevada bacteriuria detectada por citometría, muy superior a 500 BACT/ μ L –punto de corte de nuestro centro para sembrar las orinas de mujeres de Atención Primaria–, se cultivó la muestra en BD Brucella Blood Agar with Hemin and Vitamin K1 y en BD Chocolate Agar (GC II Agar with IsoVitaleX) a 35–37 °C, en anaerobiosis y con 5% CO₂, respectivamente. Tras 48 h de incubación, se aislaron en ambos medios, aunque con mejor crecimiento en agar *Brucella*, pequeñas colonias no hemolíticas y grisáceas, en recuento >100.000 UFC/ml. La identificación se llevó a cabo mediante espectrometría de masas (MALDI-TOF[®], Bruker Daltonics), dando como resultado *A. schaalii* con score >2. El antibiograma se realizó mediante tiras de difusión en gradiente (Liofilchem[®]) en agar *Brucella* y anaerobiosis. La cepa era, según criterios CLSI 2021 para *Streptococcus* spp.² y EUCAST 2021 PK/PD³, sensible a betalactámicos: ampicilina, CMI 0,032 μ g/mL; amoxicilina-ácido clavulánico, CMI 0,125 μ g/mL. Además, según criterios CLSI 2021 para *Staphylococcus* spp., era sensible a vancomicina (CMI 0,125 μ g/mL) y linezolid (CMI 1 μ g/mL); y resistente a ciprofloxacino (CMI 4 μ g/mL) y cotrimoxazol (CMI 4/76 μ g/mL).

Dada la complejidad del caso, el médico de Atención Primaria realizó una interconsulta al Servicio de Enfermedades Infecciosas tras la que se decidió, teniendo en cuenta la posibilidad de manejo ambulatorio en paciente estable y movilidad reducida, iniciar el tratamiento con linezolid oral 600 mg/cada 12 h durante 14 días, con analítica sanguínea de control a la semana para evaluar toxicidad hematológica secundaria. Tras completar la pauta antibiótica, cesaron los síntomas, el urocultivo de control fue negativo para *A. schaalii* y la paciente no presentó efectos adversos secundarios al tratamiento.

En una reciente revisión de *A. schaalii*, Lotte et al. contabilizan 172 casos publicados, incluyendo 121 ITU (70%) y 33 (19%) bacteriemias; aislándose, principalmente, en pacientes de edad avanzada (>60 años), con factores predisponentes como: ITU recurrentes o patología urológica de base⁴.

En cuanto a la identificación, actualmente la espectrometría de masas MALDI-TOF[®] es la técnica de elección habitual por su rapidez y precisión frente a la secuenciación del gen ARN 16S. Por otra parte, señalar que entre los métodos de MALDI-TOF[®] más utilizados, solo Microflex Biotyper (Bruker Daltonics) proporciona una buena identificación de *A. schaalii*⁵.

Aunque no existen recomendaciones específicas de cómo realizar e interpretar el antibiograma de *Actinotignum* spp., habitualmente se considera sensible a todos los betalactámicos comúnmente utilizados; así como a vancomicina, nitrofurantoína, linezolid y gentamicina; siendo generalmente resistente a quinolonas (ciprofloxacino y norfloxacino) y cotrimoxazol⁶. Tampoco existen guías de tratamiento para infecciones causadas por *A. schaalii*. La evolución clínica y microbiológica suele ser favorable en pacientes tratados con betalactámicos (amoxicilina, cefuroxima, ceftriaxona) durante al menos 14 días; habiéndose descrito recaídas en tratamientos más cortos⁷. En el caso descrito, se utilizó linezolid con éxito, constituyendo una alternativa de tratamiento novedosa y efectiva en ITU por *A. schaalii*; especialmente en aquellos pacientes que no pueden recibir betalactámicos.

Basándonos en nuestra experiencia, entre enero de 2019 y mayo de 2021, se aislaron 42 cepas de *A. schaalii* en muestras de orina (un único aislado por paciente) siguiendo un algoritmo simplificado (fig. 1). La media de bacterias detectada por citometría fue de 7651,67 BACT/ μ L. La edad media de los pacientes fue 81,3 años, con predominio de mujeres (29 mujeres vs.13 hombres). Tras revisar las historias clínicas, el hallazgo de *A. schaalii* fue clínicamente significativo en 27 pacientes (64,3%), en los que consta de forma explícita como diagnóstico ITU por *A. schaalii*. De los 27 aislamientos en los que se hizo antibiograma: 27 fueron sensibles a ampicilina y amoxicilina-ácido clavulánico; 9 sensibles a cotrimoxazol y 1 a norfloxacino.

Algunos autores^{8,9} consideran que no realizar un examen microscópico (tinción de Gram) de forma sistemática en las muestras de orina y el empleo de medios selectivos para mejorar la gestión del proceso (agar CLED, MacConkey o agares cromogénicos) incubados 24 h en aerobiosis, aumenta la probabilidad de urocultivos falsamente negativos en casos de ITU por bacterias de crecimiento exigente como *A. schaalii*; lo que genera un retraso en la administración de un tratamiento efectivo. Sin embargo, en nuestra opinión, la práctica de una tinción de Gram de rutina en todas las muestras de orina no es factible dado el elevado número de orinas que se procesan diariamente y la falta de recursos humanos.

Por lo que al igual que otros autores⁴ proponemos el siguiente algoritmo (fig. 1): si el laboratorio de Microbiología dispone de la tecnología de la citometría de flujo, el empleo de esta como método de cribado previo al urocultivo para cuantificar el número de bacterias presentes en la orina y, ante un cultivo negativo y elevada bacteriuria, sembrar la muestra en medios de cultivo adicionales como agar chocolate y agar *Brucella* en incubación prolongada (48 h) para descartar uropatógenos infrecuentes y exigentes. En caso de no disponer de citometría de flujo en nuestro centro podría ser útil la tinción de Gram en determinados casos de ITU recurrente en pacientes con patología urológica de base o piuria estéril crónica, sembrando la orina en medios especiales en función de la morfología observada en la tinción de Gram.

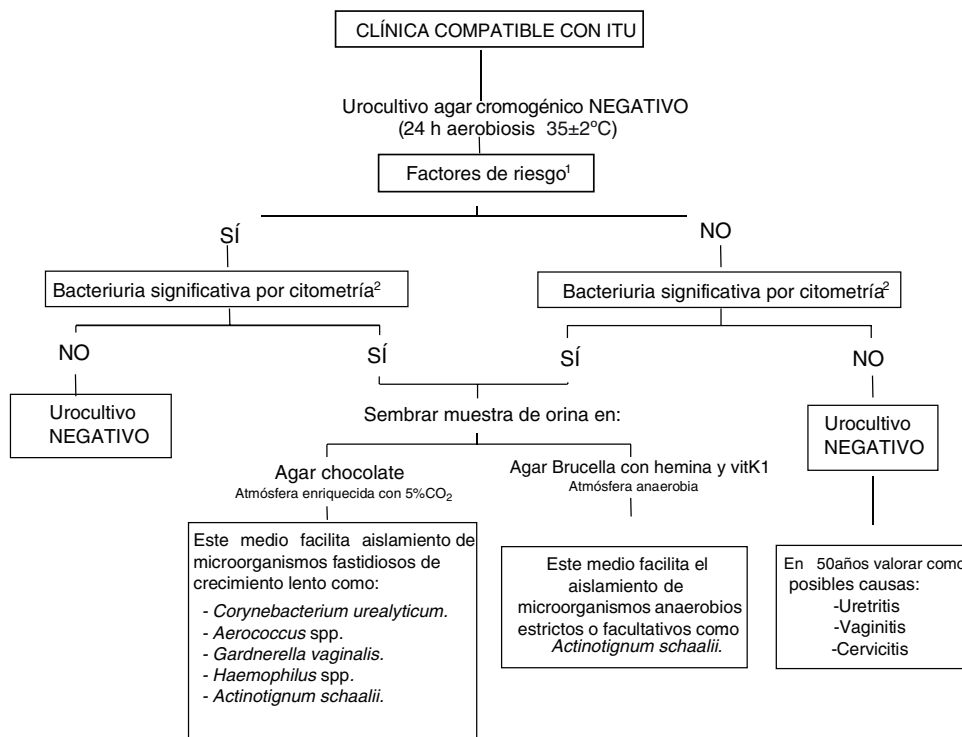


Figura 1. Algoritmo diagnóstico en urocultivos negativos del Hospital Universitario de Basurto. ¹Factores de riesgo: incontinencia urinaria, sondaje, hiperplasia benigna de próstata, tumor vesical, vejiga neurogénica, estenosis ureteral...

²Puntos de corte de screening en el Hospital Universitario de Basurto: paciente ambulatorio ♀ ≥500 BACT/μl, ♂ ≥100 BACT/μl y niña/o ≥100 BACT/μl. Paciente ingresado/Urgencias: ≥50 BACT/μl.

Anexo. Material adicional

Se puede consultar material adicional a este artículo en su versión electrónica disponible en [doi:10.1016/j.eimc.2021.08.007](https://doi.org/10.1016/j.eimc.2021.08.007).

Bibliografía

1. Lotte L, Lotte R, Durand M, Degand N, Ambrosetti D, Michiels J-F, et al. Infections related to *Actinotignum schaalii* (formerly *Actinobaculum schaalii*): a 3-year prospective observational study on 50 cases. *Clin Microbiol Infect.* 2016;22:388–90.
2. CLSI. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing, 31st Ed. CLSI Supplement M100. Clinical and Laboratory Standards Institute; 2021.
3. The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters. Version 11.0, 2021 [consultado 20 Jun 2021]. Disponible en: <http://www.eucast.org>.
4. Lotte R, Lotte L, Ruimy R. *Actinotignum schaalii* (formerly *Actinobaculum schaalii*): a newly recognized pathogen—review of the literature. *Clin Microbiol Infect.* 2016;22:28–36.
5. Tuuminen T, Suomala P, Harju I. *Actinobaculum schaalii*: identification with MALDI-TOF. *New Microbes New Infect.* 2014;2:38–41.
6. Cattoir V, Varca A, Greub G, Prod'Hom G, Legrand P, Lienhard R. In vitro susceptibility of *Actinobaculum schaalii* to 12 antimicrobial agents and molecular analysis of fluoroquinolone resistance. *J Antimicrob Chemother.* 2010;65:2514–7.
7. Pedersen H, Senneby E, Rasmussen M. Clinical and microbiological features of *Actinotignum bacteremia*: a retrospective observational study of 57 cases. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 2017;36:791–6.

8. Cattoir V. *Actinobaculum schaalii*: Review of an emerging uropathogen. *J Infect.* 2012;64:260–7.
9. Bank S, Cattoir V, Lienhard R, Grisold AJ, Thomsen TR, Reinhard M, et al. Recommendations for optimal detection and identification of *Actinobaculum schaalii* in urine. *APMIS.* 2014;122:1043–4.

Iris Sharon Pérez-Ramos^{a,b}, Itziar Angulo-López^{a,b,*}, Mireia de la Peña-Trigueros^c y José Luis Díaz de Tuesta-del Arco^{a,b}

^a Servicio de Microbiología Clínica, Hospital Universitario Basurto, Bilbao, Bizkaia, España

^b Instituto de Investigación Sanitaria Biocruces Bizkaia, Barakaldo, Bizkaia, España

^c Servicio de Enfermedades Infecciosas, Hospital Universitario Basurto, Bilbao, Bizkaia, España

* Autor para correspondencia. Correo electrónico: itzupitzu@gmail.com (I. Angulo-López).

<https://doi.org/10.1016/j.eimc.2021.08.007>
0213-005X/ © 2021 Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica. Publicado por Elsevier España, S.L.U. Todos los derechos reservados.