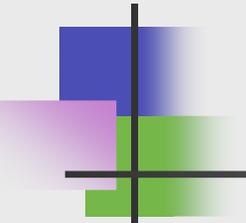


*Corynebacterium
urealyticum*

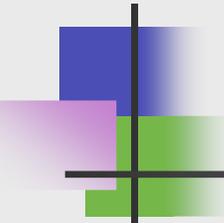
**A RAZÓN DE DOS CASOS
CLÍNICOS, UN RETRATO
MICROBIOLÓGICO**



Corynebacterium urealyticum:

muestras analizadas

- Período estudiado: julio 2006 a diciembre 2010
- Lugar: Sanatorio Argentino, clínica privada, San Francisco, Cba.
- N° de urocultivos procesados de pacientes internados (adultos): 1.506
- N° de urocultivos positivos: 460
- N° de urocultivos negativos: 1.046



Corynebacterium urealyticum: presentación de casos

- N° de urocultivos positivos con recuperación de *Escherichia coli*: **293**
- N° de urocultivos positivos con recuperación de otras bacterias Gram negativas entéricas (*Klebsiella pneumoniae*, *Proteus mirabilis* y *Citrobacter freundii*): **47**
- N° de urocultivos positivos con recuperación de BNNF (*Pseudomonas aeruginosa*): **12**
- N° de urocultivos positivos con recuperación de *Enterococcus faecalis*: **34**
- N° de urocultivos positivos con recuperación de otros cocos Gram positivos (*Streptococcus agalactiae*, *Staphylococcus saprophyticus*, *Staphylococcus aureus*): **72**
- N° de urocultivos positivos con recuperación de bacilos Gram positivos (*Corynebacterium urealyticum*): **2**

Corynebacterium urealyticum:

casos

Paciente nº 1:

- 75 años
- sexo masculino
- cardíaco crónico, **diabético**, hipertenso, fumador
- **antecedentes de internaciones sondado**
- con antibiótico-terapia reiterada por IU

Aislamientos previos en orina:

Escherichia coli,
Pseudomonas aeruginosa
Enterococcus faecalis
Corynebacterium urealyticum.

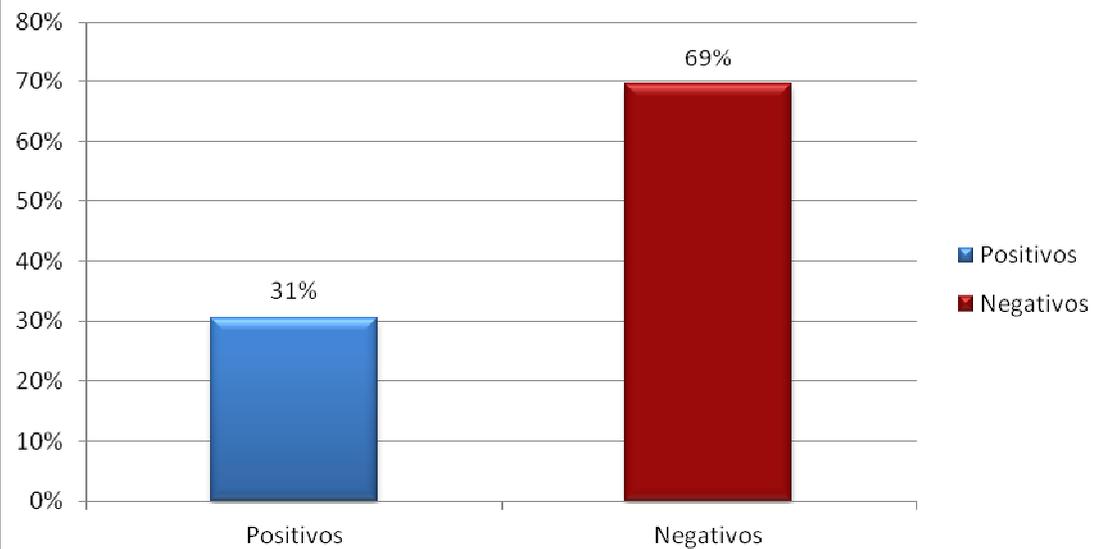
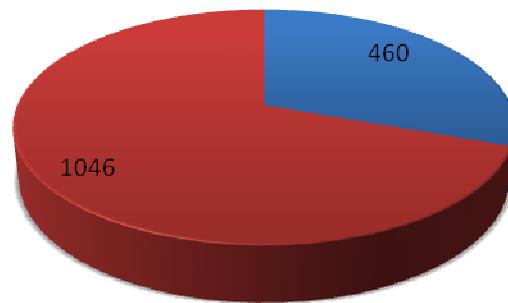
Paciente nº 2:

- 65 años
- sexo masculino
- **diabético**, EPOC,
- **antecedentes de internaciones sondado**
- con antibiótico-terapia reiterada por IU

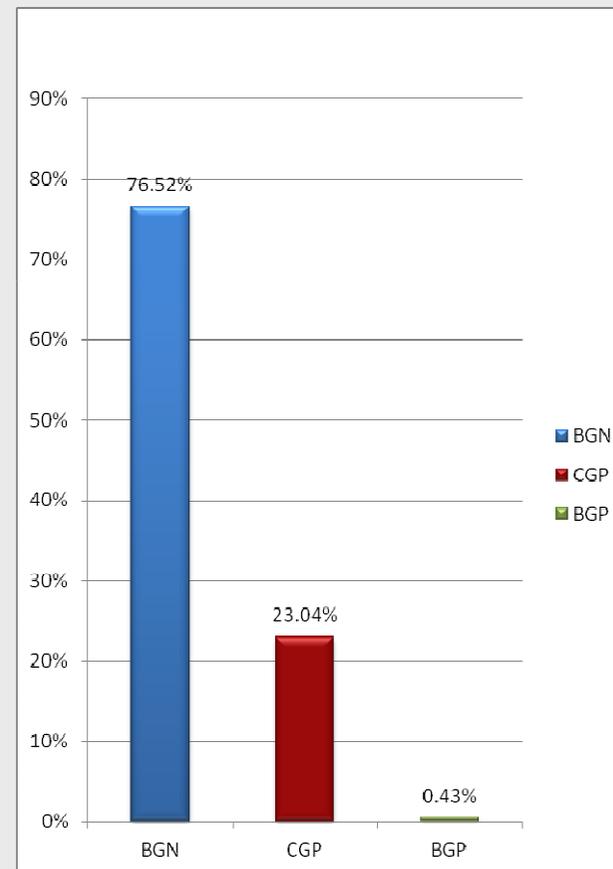
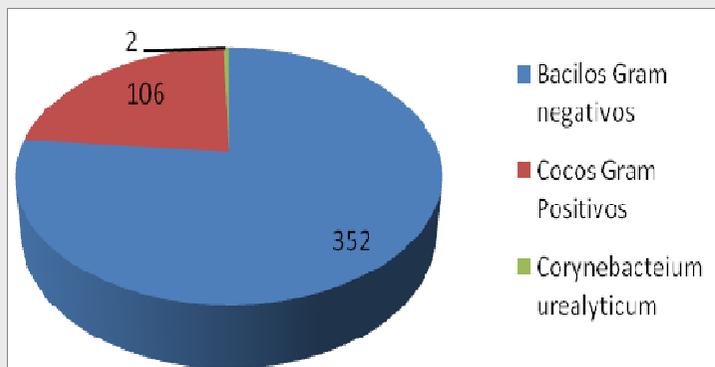
Aislamientos previos en orina:

Escherichia coli,
Enterococcus faecalis
Corynebacterium urealyticum

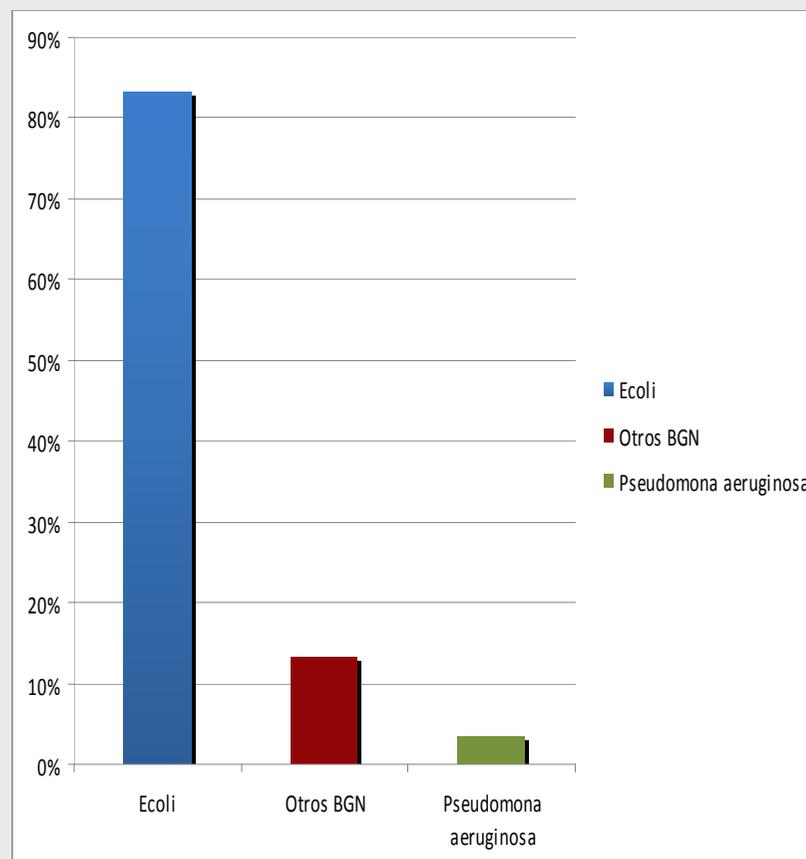
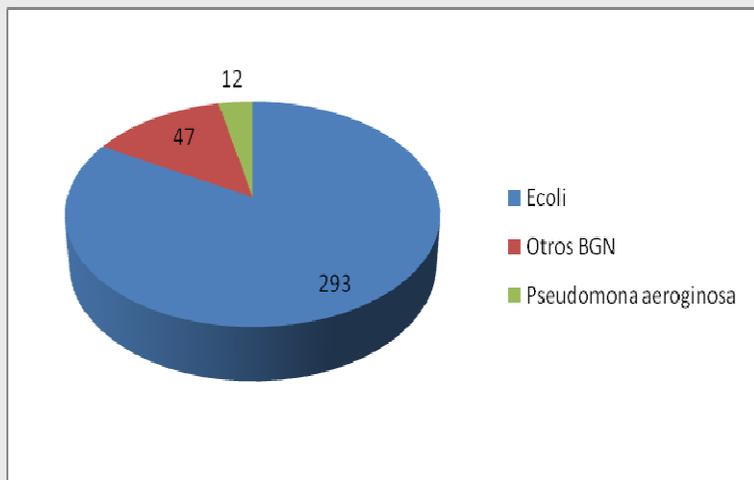
ESTADÍSTICA: UROCULTIVOS POSITIVOS Y NEGATIVOS



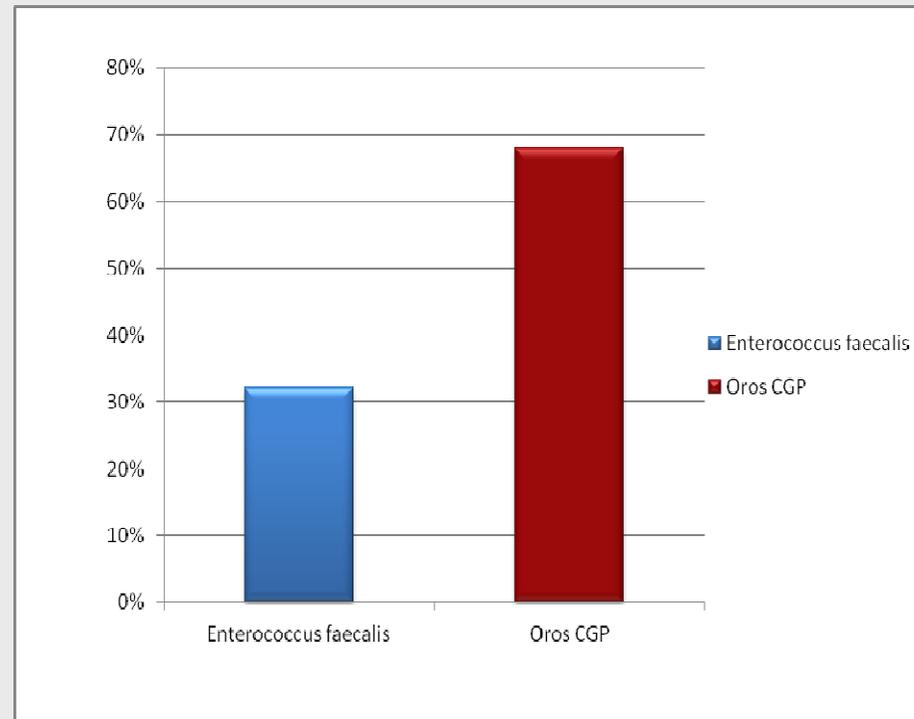
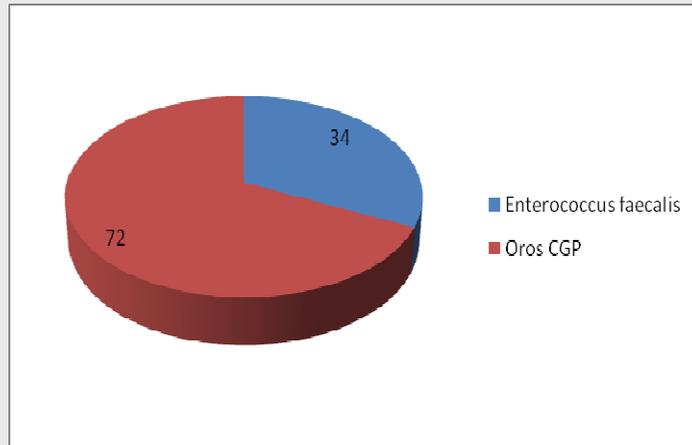
ESTADÍSTICA: PORCENTAJE DE RECUPERACIÓN TOTAL



ESTADÍSTICA: BACILOS GRAM NEGATIVOS



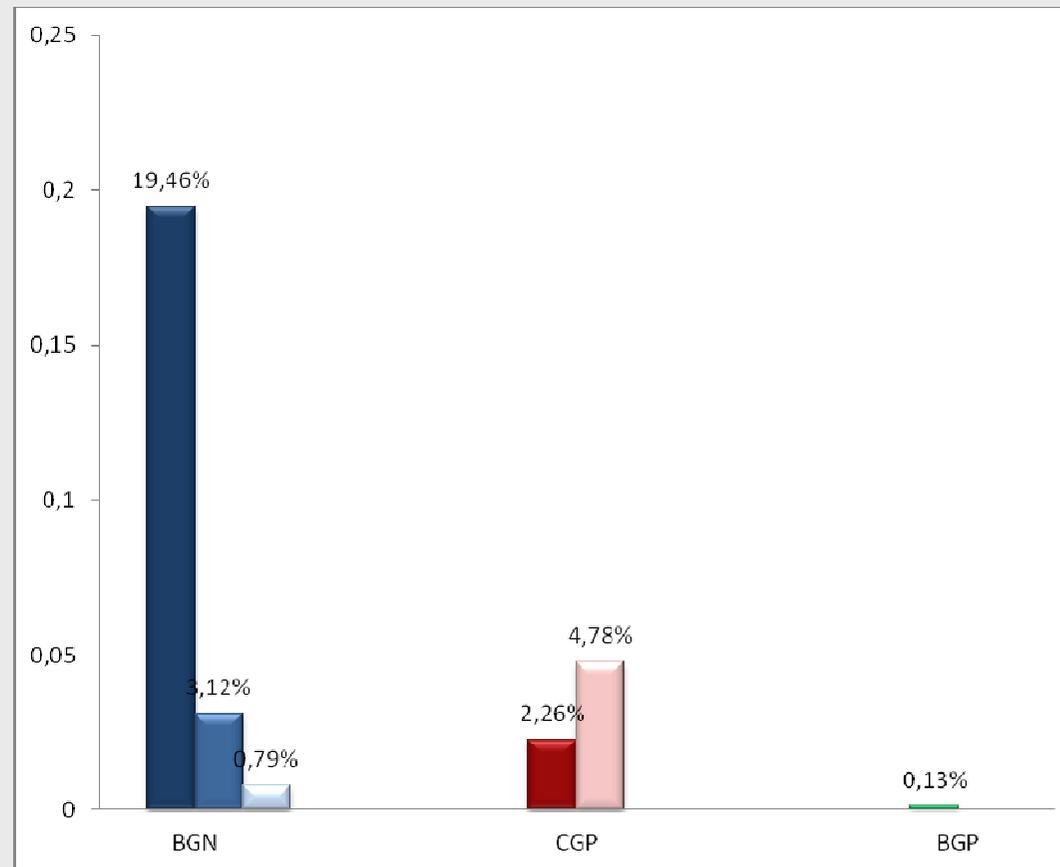
ESTADÍSTICA: COCOS GRAM POSITIVOS

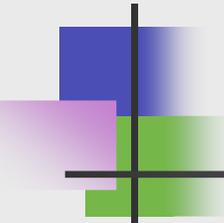


Comparación de urocultivos positivos respecto al total de internados

BGN		CGP		BGP	
Ecoli	19.46%	Enterococcus faecalis	2.26%	Corynebacterium urealyticum	0.13%
Otros BGN	3.12%	Otros CGP	4.78%		
Pseudomona aeruginosa	0.79%				

Comparación de urocultivos positivos respecto al total de internados





BACILOS GRAM POSITIVOS

AEROBIOS

IRREGULARES

Bacterias corineformes: no esporuladas, no AR.

Además de corineformes, incluye muchos otros géneros relacionados

REGULARES

Bacillus, Listeria, Lactobacillus, Erhysipelotryx, Kurthia

ACTINOMICETOS

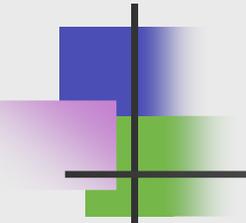
*AR (*Nocardia, Rhodococcus, Mycobacterium, Gardnerella*)

*No AR

*Incluyen géneros anaerobios que abarcan especies aerotolerantes:

Clostridium tertium

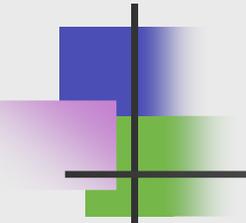
*Cocos con forma bacilar: *Leuconostoc*



BACILOS GRAM POSITIVOS

IDENTIFICACIÓN: PRUEBAS BIOQUÍMICAS DE 1º LÍNEA

- Gram
- Catalasa
- Metabolismo
- Lipofilicidad
- Ureasa
- Pigmento
- Hemólisis



Bacilos Gram positivos aerobios

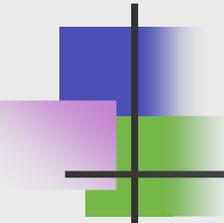
CATALASA

POSITIVA

- ***Corynebacterium* y géneros relacionados**
- *Propionibacterium spp.*
- *Bacillus*
- *Listeria*: existen excepciones
- *Kurthia*
- Actinomicetos aerobios

NEGATIVA

- *Lactobacillus*
- *Erysipelothrix*
- *Actinomyces*: existen excepciones
- *Arcanobacterium*
- *Gardnerella*
- *Actinobaculum*
- *P. propionicum*
- *Bifidobacterium*
- *Clostridium spp.*



BACILOS GRAM POSITIVOS

Aerobios irregulares



Catalasa positiva



Corineformes



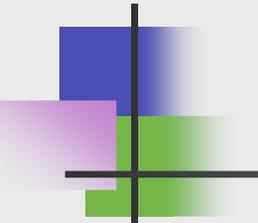
No lipofílicos
fermentadores



Lipofílicos



No lipof
no ferm



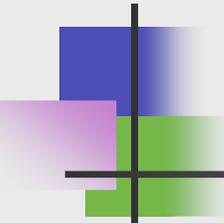
Especies de *Corynebacterium* lipofílicos

Con mecanismo oxidativo

- *C. urealyticum*
- *C. jeikeium*
- *C. afermentans ss lipophilum*
- *C. lipophiloflavum*

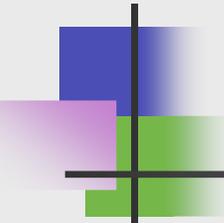
Con metabolismo fermentativo

- *C. kroppenstedtii*
- *C. gr. F1*
- *C. gr. G*
- *C. accolens*
- *C. diphtheriae ss intermedium*



Metodología empleada en la identificación de microorganismos corineformes

- **Características fenotípicas**
 - * Métodos convencionales
 - * Métodos rápidos: API Coryne (98% coincidencia) y sustratos fluorogénicos
- **Investigaciones quimiotaxonómicas (lab. ref.):**
 - * análisis de la pared celular
 - * análisis de ácidos grasos celulares
 - * Cromatografía de alta resolución (HPLC): ácidos micólicos
- **Técnicas moleculares:** 16 S RNA ribosomal y PCR



Corynebacterium spp.

Patógenos

OPORTUNISTAS

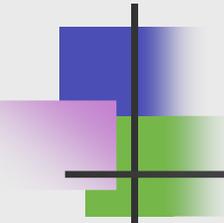
C. pseudodiphthericum
C. urealyticum (D2)
C. jeikeium
R. equi
C. striatum
C. amycolatum

EN ANIMALES

C. renale
C. bovis
A. pyogenes
R. equi
C. kutscheri
C. cystitidis

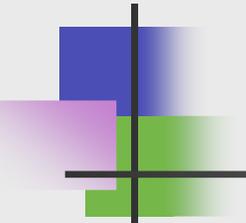
PATÓGENOS PRIMARIOS

C. diphtheriae
C. ulcerans
C. pseudotuberculosis
A. haemolyticum



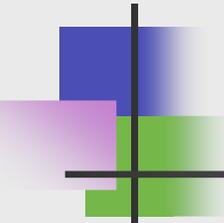
Corynebacterium spp.: ¿cuándo lo tipificamos?

- Si el aislamiento es relevante desde el punto de vista clínico
- Si se ha aislado en cultivo puro o es el microorganismo predominante de una infección mixta
- Cuando el aislamiento proviene de fluidos estériles: sangre, LCR u otros
- Cuando el microorganismo se encuentra en un alto nº en las muestras clínicas (orina: más de 10.000 ufc/ml, monomicrobiano)
- Cuando el aislamiento se repite en una 2º muestra clínica



Infecciones por *Corynebacterium* y microorganismos relacionados

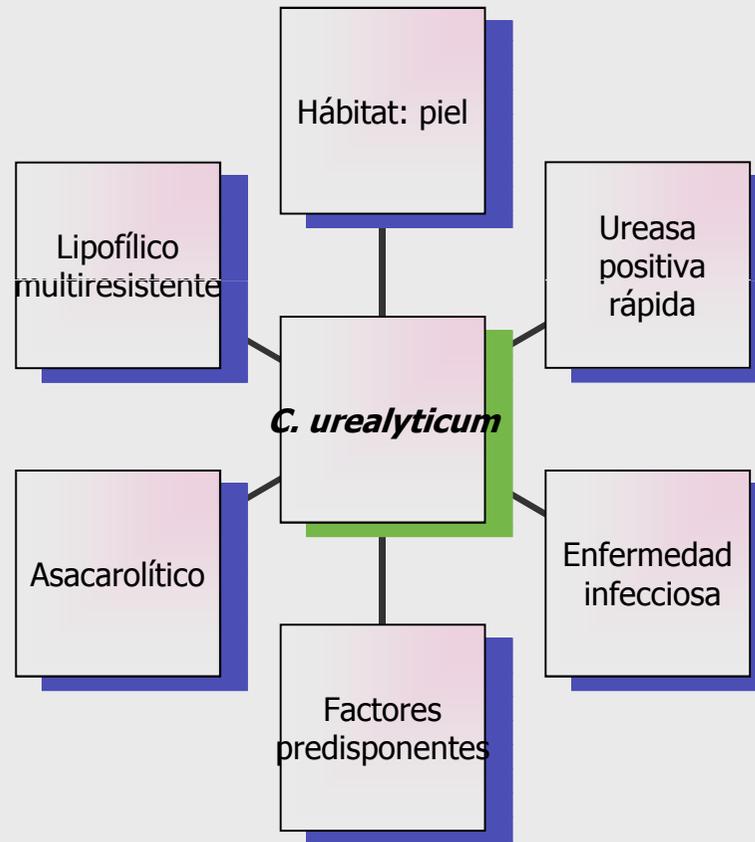
- Inmunodepresión y neutropenia
- Cateterismo
- Interrupción de barreras mucocutáneas
- IRC
- Tratamiento antibiótico (cepas multirresistentes)
- Otras maniobras invasivas
- Prótesis cardíaca, osteoarticulares, shunt V-P



Corynebacterium urealyticum

- Dominio: bacteria
- Grupo: bacteria Gram positiva (+)
- Orden: Actinomycetales
- Familia: Corynebacteriaceae
- Género: Corynebacterium
- Denominación anterior: Coryneb. D2

Características generales



Corynebacterium urealyticum

Identificación

- Gram: bacilos Gram positivos irregulares, lados curvos y no paralelos, frecuentemente agrupados (a veces se puede obs. cocobacilos con morfología más cocoide que bacilar)
- Observación macroscópica de las colonias: puntiformes, más grandes luego de 48 hs., blancas, lisas, convexas, no hemolíticas
- Aerobio estricto
- Ureasa + rápida (medio Christensen)
- Lipofílico multi R
- Catalasa +
- Nitrataasa –
- Crece a 37°C en ASC 5% y ACH
- Sistema API Coryne



Corynebacterium urealyticum

Composición
de la
pared celular

MESO-DAP
(ác. mesodiaminopimélico)

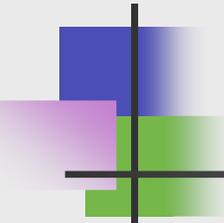
ARABINOSA

GALACTOSA

Ácidos micólicos
de cadenas cortas
(22-36 át. De C.)

Corynebacterium urealyticum

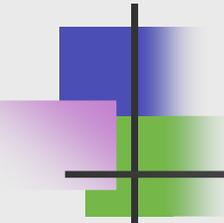
- **Medio selectivo:** ASC suplementado con 1% Tween 80, ticarcilina (100 ug/ml), fosfomicina(50ug/ml), cefotaxima (32 ug/ml) y 5-fluorcitosina (200ug/ml).
- No se recomienda usarlo de rutina, debido a la baja incidencia de este microorganismo. Además, se puede obtener fácilmente su desarrollo en medios comunes enriquecidos, a pesar que el porcentaje de recuperación es 1,17% a 0,038% respectivamente.



Corynebacterium spp: secuenciación genética

Con la ayuda del sistema Genome Sequencer se ha podido develar el genoma de la cepa tipo DSM 7109. (cromosoma circular). La secuenciación del genoma ha demostrado que este organismo:

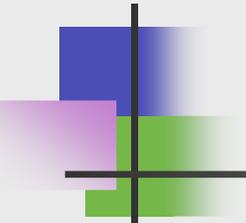
- Carece de sistemas potenciales para la asimilación de azúcares, incapacidad para fermentarlos
- Produce una potente ureasa (virulencia)
- Lipofílico (acción de lipasa) (virulencia)



Corynebacterium urealyticum

mecanismos de patogenicidad

- **Ureasa:** posee un locus para ureasa (gen ure), pero no hay genes que lo regulen (gen represor de la ureasa). La alta capacidad urealítica de este organismo se puede deber a una doble derrepresión de la expresión del gen de la ureasa
- **Lipofílica:** carencia del gen sintasa para AG, tiene que obtener ácidos grasos exógenos, esto induce lesión tisular en el huésped.



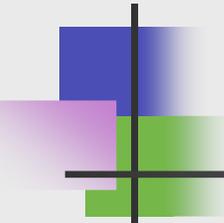
Corynebacterium spp.: mecanismos de patogenicidad

Unión de la bacteria a la célula huésped:

- Favorecida por el gen que codifica para una estructura similar a los pilis y por una sortasa específica del pili.
- *Corynebacterium urealyticum* puede formar pilis proteináceos capaces de unir la bacteria a la célula huésped, usando subunidades fimbriales y a la sortasa

Dos genes asociados a la síntesis de biofilm:

- Sur A
- Gen (aap)



Corynebacterium urealyticum

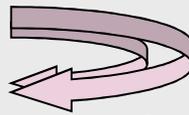
mecanismos de patogenicidad

- **SUR A:** codifica para una proteína unida a la superficie bacteriana que es muy similar a la Bap de estafilococo con secuencias típicas C-terminal repetidas en la secuencia de aa
- **GEN (aap):** codifica para una proteína unida a la superficie bacteriana similar a las proteínas Aap de estafilococo que están asociadas a la acumulación, también con secuencias C-terminales cortas

Corynebacterium urealyticum

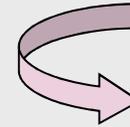
enfermedades infecciosas

ITU

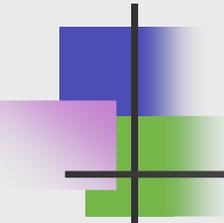


- Cistitis incrustadas alcalinas
- Inf urinarias sin litiasis
- Pielonefritis
- pielouretritis

INF SITIOS POCO FREC



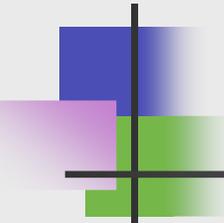
- Bacteriemias
- Endocarditis
- Osteomielitis
- Infecciones de heridas



Corynebacterium urealyticum

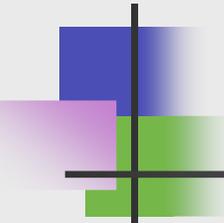
patógeno oportunista del aparato urinario

- Se ve favorecido por **inóculo abundante** (selección antibiótico) y maniobras que faciliten la penetración del microorganismo: sondaje, citoscopia, cirugía, transplante
- Responsable de cuadros de cistitis aguda y crónica (incluida la cistitis incrustante), pielonefritis, pielouretritis, sepsis
- **Transplante de riñón:** pielitis incrustada y otras patologías que pueden conducir a la pérdida del órgano



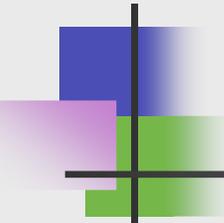
Corynebacterium urealyticum: un poco de historia

- Cistitis incrustante: **año 1914** asoc a infecciones por microorganismos urealíticos
- 25 años después: se demostró una rara bacteria **corineforme gr D2 del CDC.**
- Entre 1985-1992, un grupo de investigación de Madrid, España, Francisco Soriano, demostró la etiología de la cistitis incrustante y otras patologías como pielitis, sepsis y otras infecciones
- En el **año 1992** se demostró el agente responsable que se trataba de una especie del género *Corynebacterium*, para el que se aceptó el nombre de ***Corynebacterium urealyticum.***



Corynebacterium urealyticum en pacientes con transplante renal

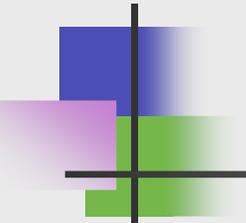
- Se evalúan tres casos que presentan pielitis y cistitis incrustadas
- Claves para el diagnóstico: orina OH-, urocultivo positivo para C.u., TC y ultrasonido de imágenes
- Se observan imágenes de calcificaciones en la pared de la pelvis renal y vejiga
- La histología se caracteriza por la presencia de una mucosa ulceronecrótica, con cristales de estruvita incrustados en un corion edematoso congestivo y con infiltrados de P.M.N. o microabscesos



Corynebacterium urealyticum diagnóstico microbiológico

Prestar atención a dos premisas:

- Cultivos de cualquier muestra clínica negativos a las 24 hs, prolongar la incubación de los mismos, especialmente se hay infección clínica o datos de lab que apoyen la existencia de infección bacteriana
- No considerar como “contaminante” a un microorganismo sobre la base de su identificación, y menos aún silenciar tal aislamiento, valorar según contexto clínico

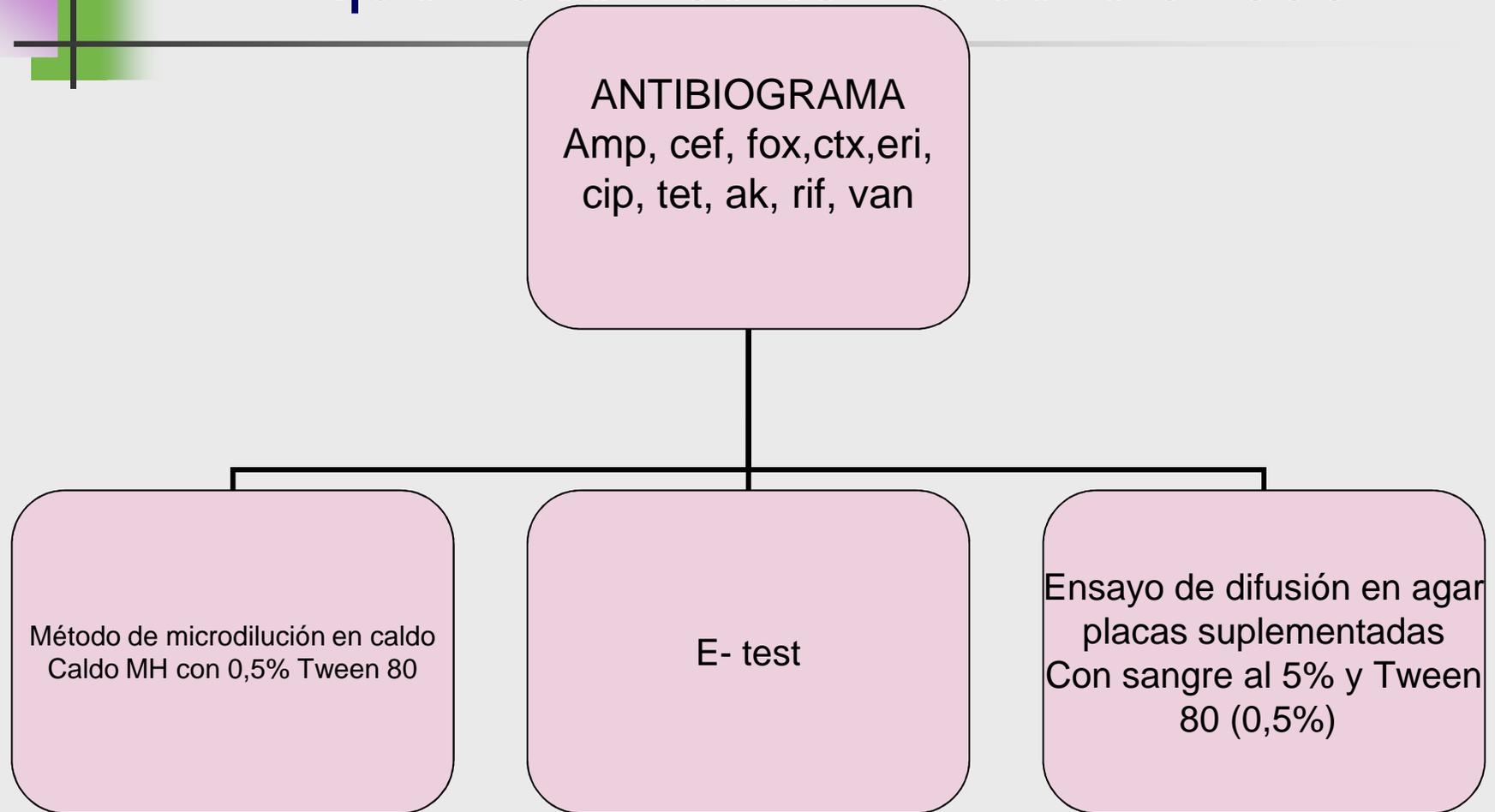


Corynebacterium urealyticum

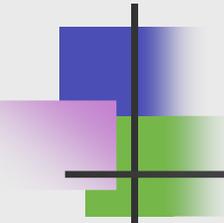
sospecha de infección urinaria

- ITU: tríada caracterizada por hematuria, p.H. OH- (80% casos), cristales de ffitos NH₄ – Mg
- La integridad de los leucocitos se puede afectar por el p.H. en muchos casos

Corynebacterium urealyticum: qué hacemos con la sensibilidad

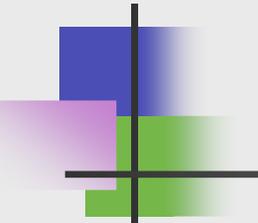


Journal Clinical Microbiology, May
1995,p. 1318-1321



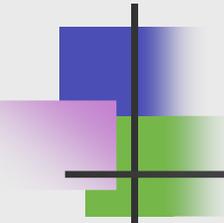
Corynebacterium urealyticum: **comparación de métodos para evaluar sensibilidad**

- Antibióticos usados: amp, cef, fox, ctx, e, cip, tet, ak, va, rif
- Incubación aeróbica por 18-24 hs.
- Cepas control: S.a. ATCC 29213 y E faecalis ATCC 29212 para microdil y E-test, y S.a. ATCC 25923 para difusión en disco y E-test
- Resultados: no hubo altas discordancias, pero sí, se considera a la microdilución como el más confiable, y reproducible.



Corynebacterium urealyticum: sensibilidad

- Los tres métodos obtuvieron resultados comparables, reproducibles
- Debido a la falta de puntos de corte, se usaron aquellos establecidos para *Neisseria gonorrhoeae* y *Haemophilus spp.*
- Para interpretar amp se usó el punto de corte para *Listeria monocytogenes*



Corynebacterium urealyticum:* *sensibilidad

- Para la penicilina se ha usado los criterios para *Staphylococcus*
- Pero otros autores, recomiendan el uso de criterios de interpretación usado para *Listeria monocytogenes* o *Streptococcus*

Corynebacterium urealyticum

sensibilidad

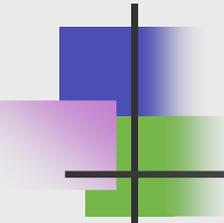
- Poster nº 55: Sensibilidad antimicrobiana de *C.u.* aislado de urocultivos en Gran Canaria (II Congreso Nac de la Soc Española de quimioterapia)
- Se analizaron 21 muestras positivas para C.u. entre 2004-2010.
- Se realizó prueba de sensibilidad mediante técnica de E-test (Biomérieux) y disco-placa en aMHS, con los siguientes resultados: (se confirmó la multiresistencia)

Sensible: tetrac, vanco, teico

Resistente: cipro, levo, cli, eri, gen

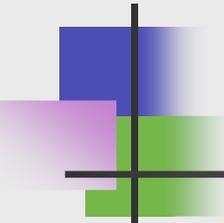
Variable: rif

Buena alternativa: Linezolid (ventaja administración oral-parenteral)



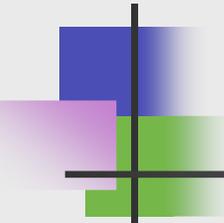
Corynebacterium urealyticum: tratamiento paralelo

- Eliminación de cuerpos extraños (sondas)
- Desincrustación por endoscopía de los cálculos en la mucosa vesical
- En pielitis incrustante y trasplante de riñón, intervenir quirúrgicamente (incluso con la extirpación del riñón transplantado)



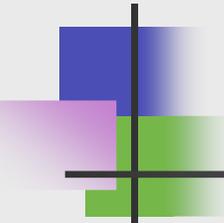
Corynebacterium spp.: resistencia a antimicrobianos (transferencia horizontal de material genético)

- **Genes erm(x)**: resistencia a macrólidos-lincosamidas)
- **Gen cmx**: resistencia a cloranfenicol
- **tet AB**: tetraciclina
- **strAB**: estreptomicina
- **aphA**: resistencia a aminoglucósidos
- **Mutaciones ADN girasa y/o eflujo**: fluorquinolonas



Corynebacterium urealyticum: tratamiento de elección

- Glucopéptidos (vancomicina y teicoplanina), doxiciclina, pristinomicina o quinolonas
- Se sugiere realizar una prueba tentativa de sensibilidad debido a la alta resistencia a los antibióticos de este microorganismo
- También, debido a la síntesis de ureasa (patogenicidad), se han realizado intentos para su neutralización farmacológica, con **ácido acetohidroxámico**, no hay ensayos clínicos para valorar la eficacia, pero sí hay comunicaciones esporádicas de difícil interpretación



Corynebacterium urealyticum: conclusiones

- Es un patógeno humano y animal con **especial tropismo por el aparato urinario**
- Plantea problemas terapéuticos importantes por su **alta resistencia**
- Crece en **aerobiosis**, en buen número de medios bacteriológicos, requiriendo incubación prolongada
- Difteromorfo catalasa positiva, nitratos negativo, incapaz de acidificar los carbohidratos, con una **potente ureasa**
- El microbiólogo convencido que dicho agente es el responsable del cuadro clínico, debe intentar su **identificación** con medios elaborados en su laboratorio o sistemas comerciales.

Corynebacterium urealyticum:

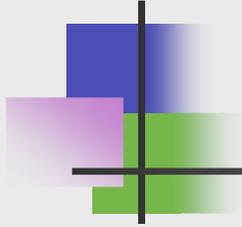
conclusiones

- Hasta el momento, las normas CLSI que rigen nuestros criterios de informe, figuran en el **suplemento M45-P**, puntos de corte por microdilución para corynebacterias spp, pero no establece puntos de corte por difusión.
- Si se realiza una prueba de sensibilidad por método de difusión en placa, informar como **resultado tentativo**.
- Para muestras que provienen de materiales nobles, realizar prueba de sensibilidad por microdilución debido a su alta resistencia y a la importancia del correcto tratamiento.
- La **incidencia** de este microorganismo en la población es **baja**
- La infección predomina en varones, con edad media alta, enfermedad subyacente como EPOC, neoplasias, diabetes, demencia, enfermedad renal de base, tratamiento antibiótico previo prolongado, internaciones frecuentes
- **p.H.** generalmente **alcalino**
- **Evolución generalmente es buena**, fallecimiento ajeno a la ITU

AGENTES DE 1º LÍNEA (tabla nº 5)

CLSI VOL 26 N° 19 MAYO 2006

Clase antimicrobiano	Agente antimicrobiano	CIM (ug/ml) Criterio interpretación			Comentarios
		S	I	R	
Penicilinas	penicilina	<=1	2	>=4	Criterio no aplicable a meningitis
Glicopéptidos	vancomicina	<=4	-	-	*
Macrólidos	eritromicina	<=0.5	1	>=2	
Aminoglucósidos	gentamicina	<=4	8	>=16	



**¡GRACIAS POR SU
ATENCIÓN!**