

## Infección del tracto urinario

# Cómo la tecnología innovadora conduce a un diagnóstico más rápido y un tratamiento más específico de la ITU

### Introducción

A nivel global, las infecciones del tracto urinario (ITU) pertenecen a las infecciones bacterianas más frecuentes y afectan, aproximadamente, a 150 millones de personas cada año [1]. Esto no sólo genera millones de consultas médicas, tanto en entornos intrahospitalarios como ambulatorios, sino que también genera grandes gastos de atención médica y costos sociales [2].

La trayectoria patológica puede ser extraluminal, por contaminación microbiana de la zona periuretral y posterior colonización hacia la vejiga o intraluminal por colonización del tracto urinario vía catéteres urinarios. Por lo tanto, las infecciones del tracto urinario son una de las infecciones hospitalarias más importantes [2].

Clinicamente, las infecciones del tracto urinario se categorizan como no complicadas y complicadas, según la ausencia o la presencia de anomalías subyacentes estructurales o funcionales del tracto urinario, respectivamente [3]. Además, las infecciones del tracto urinario se diferencian entre ITU inferior (cistitis, uretritis) e ITU superior (pielonefritis) [4].

Además del género femenino, una infección del tracto urinario reciente, actividad sexual, diabetes, obesidad y una cierta susceptibilidad genética son factores de riesgo comunes asociados con las infecciones del tracto urinario inferior. Las infecciones del tracto urinario complicadas están relacionadas con enfermedades

renales (p. ej., enfermedad renal crónica, falla renal, trasplante renal), obstrucciones del tracto urinario, retención urinaria, cálculos urinarios, embarazo e inmunosupresión [2].

Debido a que las infecciones del tracto urinario pueden seguir distintos cursos sintomáticos o incluso ser asintomáticas, el diagnóstico correcto de la ITU combina: el historial del paciente, los síntomas urinarios y el diagnóstico del laboratorio. Las ITU inferior se manifiestan con alguria, polaquiuria, disuria, dolor suprapúbico o abdominal agudo, una sensación general de enfermedad y ocasional hematuria, orina turbia o con mal olor. Las ITU superior demuestran una presentación sistémica más severa y además de los síntomas de las ITU inferior, incluyen sensibilidad del ángulo costovertebral, fiebre y escalofríos. Además, síntomas no específicos como cansancio, fatiga, dolor de cabeza crónico, pérdida persistente del apetito, náuseas, vómitos, aumentos intermitentes de temperatura y cambios del estado mental, pueden indicar una infección del tracto urinario [2]. Un diagnóstico basado únicamente en el historial del paciente y los síntomas actuales sigue siendo común en muchos países, pero generalmente es inexacto [5].

Aunque el *Escherichia coli* es el patógeno más común, asociado con infecciones del tracto urinario complicadas y no complicadas, varios microorganismos, que incluyen bacterias Gram negativas, Gram positivas y varias especies de hongos, pueden producir infecciones del tracto urinario (Fig. 1, [3]).

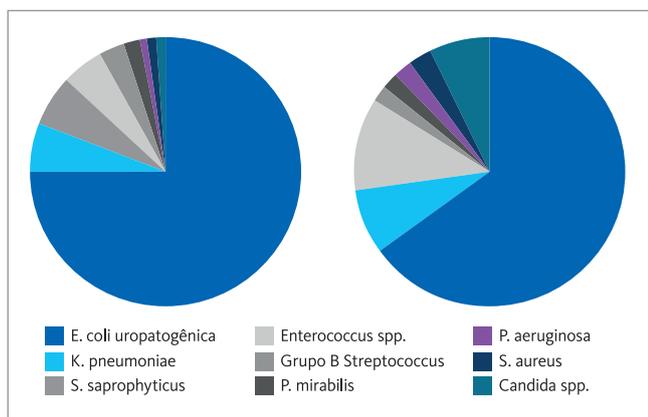


Fig. 1 - Epidemiología de infecciones del tracto urinario complicadas (diagrama izquierdo) y no complicadas (diagrama derecho). Adaptado de [3].

Las sospechas de infecciones del tracto urinario contribuyen a altas cargas de trabajo de laboratorio, aunque al final, hasta el 80% de las muestras se descartan [6]. Esto produce el tratamiento innecesario y empírico de pacientes con antibióticos de amplio espectro, lo que contribuye al aumento de resistencia antimicrobiana. Debido a que sólo el 17% de todos los pacientes con posibles ITU, que se tratan con antibióticos, han sido examinados antes por medio de un análisis de orina adecuado, a menudo se requiere de una nueva prescripción [7].

### El diagnóstico clásico de ITU

Con frecuencia, el examen macroscópico de una muestra de orina es el primer indicador de sospecha de una infección del tracto urinario, debido a que la coloración anormal por la macrohematuria, una ITU por pseudomonas y la orina con mal olor y turbidez debido a piuria, son manifestaciones urinarias conocidas.

La tira reactiva de inmersión es la prueba de tamizaje, utilizada con más frecuencia, para conocer la presencia de infecciones del tracto urinario. La presencia de nitrito como producto metabólico derivado de la reducción de nitrato de orina por medio de algunas especies nitrogenadas (p. ej., *Escherichia*, *Proteus*, *Klebsiella*) es un indicador de bacteriuria. Sin embargo, varios patógenos del tracto urinario no generan nitrato (p. ej., *Enterococcus*, *Gonococcus*, *Staphylococcus*, *Pseudomonas*), lo que significa que el nitrato, en este contexto, no es un parámetro confiable. La leucoesterasa, la proteína y la sangre son parámetros comunes que indican condiciones inflamatorias. Sin embargo, a menudo su sensibilidad y su especificidad son relativamente bajas y el resultado negativo de una tira reactiva de inmersión no es suficiente para descartar infecciones del tracto urinario si los síntomas clásicos están presentes [5].

La microscopía de muestras de orina con tinción de Gram es un estándar común, es decir, la investigación microscópica de sedimentos de orina secados al aire en una lámina microscópica y teñido con la tinción de Gram. La principal ventaja de la microscopía de orina es la información proporcionada sobre el agente infeccioso para iniciar la terapia antibacteriana. Aunque

la sensibilidad de la microscopía de orina es altamente confiable para muestras con  $\geq 10^5$  CFU/mL, la falta de sensibilidad reportada para concentraciones bacterianas menores limitan su utilidad clínica, especialmente para las ITU no complicadas en entornos ambulatorios [8].

El cultivo de orina sigue siendo una prueba importante en el contexto de diagnósticos de ITU, especialmente para identificar el microorganismo infeccioso. La definición estándar de referencia común de bacteriuria es la presencia de  $\geq 10^5$  CFU/mL, que se estableció para mujeres con pielonefritis aguda o ITU asintomática pero se adaptó para otros grupos de pacientes [8]. Debido a que algunos pacientes con ITU presentan bacteriuria con  $\leq 10^5$  CFU/mL, varios laboratorios ya aplican conteos inferiores de colonias como valores de corte para aumentar la sensibilidad del cultivo de orina.

Los cultivos positivos de orina finalmente resultan en pruebas de susceptibilidad antibiótica (antibiograma), para identificar un antibiótico adecuado y específico, para el tratamiento objetivo de una infección microbiana presente. La prueba de susceptibilidad por difusión en agar [9] es aún el estándar de referencia confiable, pero se evalúan enfoques indirectos que incluyen tecnologías emergentes, como la espectrometría de masa MALDI-TOF y la medición de metabolitos bacterianos en presencia de antibióticos [10].

### Detección de partículas de orina por medio de citometría de flujo fluorescente

La Serie-UF de Sysmex utiliza citometría de flujo fluorescente para detectar partículas celulares y acelulares, incluidas bacterias, células similares a la levadura, eritrocitos, leucocitos y otros parámetros en muestras de fluido corporal y orina (Fig. 2).

<p><u>Parámetros diagnóstico</u></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>Eritrocitos</li> <li>Eritrocitos no lisados</li> <li>Leucocitos</li> <li>Cúmulos de leucocitos</li> <li>Células epiteliales                     <ul style="list-style-type: none"> <li>C. epiteliales escamosa</li> <li>C. epiteliales no escamosa</li> <li>C. epiteliales transicionales</li> <li>C. epiteliales tubulares renales</li> </ul> </li> <li>Cilindros                     <ul style="list-style-type: none"> <li>Cilindros hialinos</li> <li>Cilindros patológicos</li> </ul> </li> <li>Bacterias</li> <li>Cristales</li> </ul>	<p><u>Parámetros de investigación</u></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>Eritrocitos lisados</li> <li>Células epiteliales redondas</li> <li>Células atípicas</li> <li>Detritos</li> <li>Conductividad</li> <li>Osmolalidad</li> </ul>
	<p><u>Parámetros de líquidos corporais</u></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>Eritrocitos</li> <li>Leucocitos                     <ul style="list-style-type: none"> <li>MN #/%</li> <li>PMN #/%</li> </ul> </li> <li>Células epiteliales</li> <li>Número total de células nucleadas</li> <li>Bacterias</li> </ul>

Fig. 2 - Descripción general de parámetros de diagnóstico, investigación y fluido corporal proporcionados por analizadores de la Serie-UF.

Para detectar partículas de orina, se dispone de dos canales de medición en la Serie-UF, el canal Core (CR) y el canal Surface (SF). Mientras que el canal SF detecta partículas que no incluyen el ácido nucleico como eritrocitos, cristales, etc., el canal CR detecta partículas que contienen ácido nucleico. La detección adecuada de partículas requiere la tinción de las partículas de la orina, por medio de un agente diluyente y una solución para el etiquetado fluorescente de estructuras subcelulares.

En el canal CR, las membranas de leucocitos (Fig. 3) y las paredes celulares de bacterias se perforan con el diluyente. Estas pequeñas perforaciones permiten que la tinta fluorescente ingrese al citoplasma y al núcleo intercalándose dentro de las moléculas de ácido nucleico.

En el canal SF, los componentes de la membrana de partículas celulares como eritrocitos se tiñen con tinta fluorescente sin afectar la integridad celular (Fig. 3).

Luego, las partículas teñidas se inyectan dentro de la celda de flujo, donde el enfoque hidrodinámico garantiza su separación, lo que permite conteos precisos de partículas (Fig. 4).

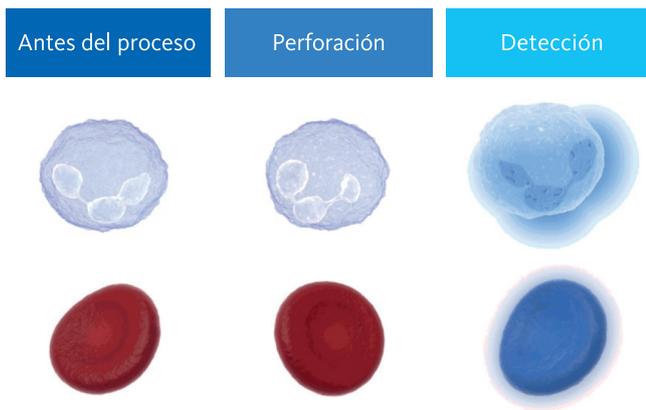


Fig. 3 - Reacción del reactivo dependiente de partículas en el canal CR, en componentes celulares que contienen ácido nucleico (fila superior) y para partículas de orina celulares y acelulares libres de ácido nucleico (fila inferior)

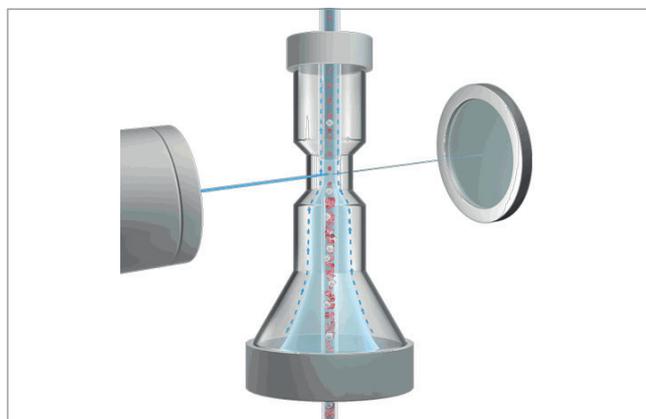


Fig. 4 - Enfoque hidrodinámico de partículas de orina dentro de la celda de flujo de instrumentos de la Serie-UF.

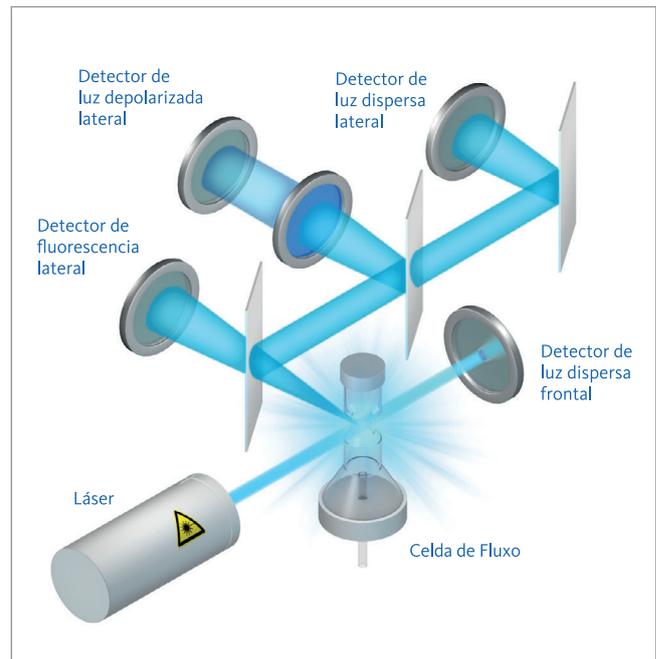


Fig. 5 - Citometría de flujo de fluorescencia de la Serie-UF. Se dirige un rayo láser a la celda de flujo y golpea a todas las partículas que la atraviesen. La luz fluorescente se emite desde electrones excitados de la tinta fluorescente y, según el tipo de partícula individual, la luz de láser frontal se desvía de forma característica. Los fotodetectores reconocen las partículas individuales y, según los patrones de señales individuales, las señales se grafican en el diagrama de dispersión.

Finalmente, la energía de un rayo láser de 488 nm excita los electrones de la tinta fluorescente adjunta a las partículas de orina, lo que eleva su nivel de energía. Luego de la relajación, fotones son emitidos y detectados por distintos fotodetectores (Fig. 5). Según las subestructuras de las diferentes partículas, los distintos detectores pueden desviar y detectar la luz láser entrante, lo que permite una perspectiva del tamaño de cada celda (luz dispersa frontal, FSC), su complejidad intracelular (luz dispersa lateral, SSC) y su contenido de ácido nucleico (luz fluorescente lateral, SFL). Los cristales se distinguen de los eritrocitos por medio del uso de un filtro de despolarización (luz despolarizada lateral, DSS).

### Mejora del tamizaje para ITU

Para las bacterias, se proporciona información cuantitativa y cualitativa en menos de un minuto. Esto incluye un conteo confiable de las bacterias e información sobre sus características Gram.

En un estudio representativo se identificó el rendimiento de diagnóstico del conteo de células bacterianas de la Serie-UF como 0,973 (ABC). Con los pacientes separados entre femeninos y masculinos, el rendimiento del diagnóstico se ha estimado como 0,988 para pacientes masculinos y 0,959 para pacientes femeninos, respectivamente (Fig. 6, [11]).

La investigación de distintos valores de corte reveló un conteo de bacterias de  $\geq 58$  células/ $\mu$ L, como el valor más sensible para descartar infecciones del tracto urinario con una sensibilidad de 99,4% (VPN 99,7%) y una especificidad de 78,2% (VPP 65,4%) [11].

Sin embargo, los valores óptimos de corte se deben establecer con relación a la población predominante de pacientes.

Las muestras sospechosas de infecciones del tracto urinario, son señalizadas directamente con el indicador UTI-Info, de acuerdo a los conteos de bacterias y de leucocitos para permitir un diagnóstico de seguimiento específico.

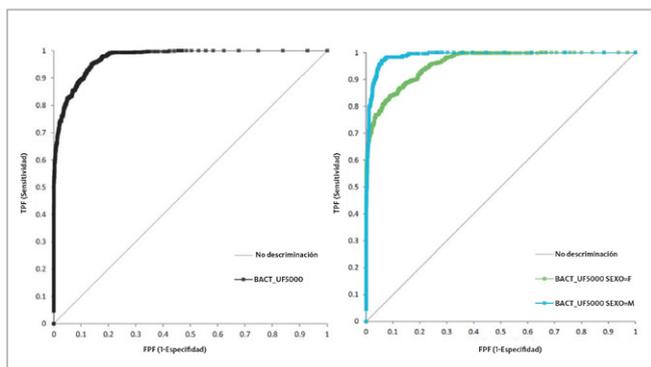


Fig. 6 - Exactitud del diagnóstico del conteo bacteriano de la Serie-UF en comparación con el cultivo de orina cuantitativo de 2714 muestras de orina, que incluye 792 muestras positivas de bacteriuria que muestran un crecimiento bacteriano de  $\geq 10^5$  CFU/mL (adaptado de [11]).

## Perspectivas de las características Gram

Con el indicador BACT-Info, la Serie-UF proporciona información de sospecha adicional sobre la afinidad a la tinta de Gram para muestras positivas de bacteriuria.

Según la distribución del diagrama de dispersión, las muestras sospechosas son señalizadas con comentarios al respecto:

- **¿Gram positivo?**  
De acuerdo a la distribución, se puede inferir que existen bacterias Gram positivas.
- **¿Gram negativo?**  
De acuerdo a la distribución, se puede inferir que existen bacterias Gram negativas.
- **¿Gram positivo o Gram negativo?**  
De acuerdo a la distribución, se puede inferir que existen bacterias Gram positivas y Gram negativas.
- **No clasificado**  
No se distingue la clase de acuerdo a la distribución.

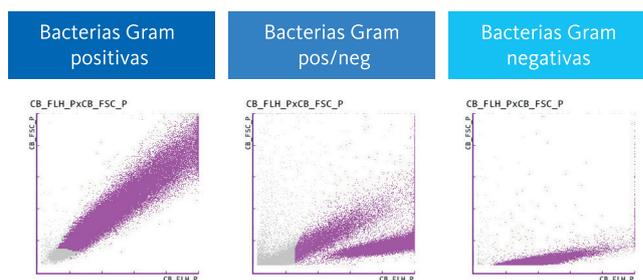


Fig. 7 - Detección de bacterias Gram positivas y Gram negativas por medio de citometría de flujo fluorescente del UF-5000.

La diferenciación entre bacterias Gram positivas y Gram negativas se basa en la composición de sus paredes celulares. Debido a la complejidad de la pared de las células Gram positivas, menor cantidad de tinta fluorescente puede ingresar al citoplasma bacteriano, lo que produce una menor fluorescencia lateral. Además, se dispone de una mayor cantidad de energía láser para la dispersión frontal y esto lleva, en combinación con los fotones reflejados desde la pared celular más gruesa, hacia una señal mayor de FSC para las bacterias Gram positivas.

Las bacterias Gram positivas se detectan con una sensibilidad del 78% y una especificidad del 96%, mientras que para las bacterias Gram negativas, tanto la sensibilidad como la especificidad alcanzan el 89%. Este alto nivel de sensibilidad y especificidad en el tamizaje previo al cultivo, para infecciones del tracto urinario, puede permitir el inicio temprano de la terapia con antibióticos para la ITU [12] y diagnósticos de seguimiento más específicos.

## Infecciones del tracto urinario micóticas

Las infecciones micóticas en adultos, a menudo se relacionan con individuos inmunocomprometidos u otras condiciones subyacentes, como la diabetes. Por lo tanto, la fungiria solo representa aproximadamente el 7% de las infecciones del tracto urinario complicadas [3]. Las infecciones del tracto urinario micóticas se manifiestan más frecuentemente como infecciones del tracto urinario inferior y produce síntomas clásicos, mientras que las infecciones micóticas del tracto urinario superior son raras, excepto para pacientes inmunocomprometidos, producidas por la candidiasis diseminada [13].

Junto con la exclusión de la bacteriuria, una publicación reciente también demostró una alta especificidad del 97,7% (VPN 98,8%) y una buena sensibilidad del 89,5% (VPP 81,0%), para el parámetro de células similares a la levadura [14], lo que permite la exclusión de infecciones micóticas y diagnósticos orientados a identificar la estrategia correcta para el tratamiento [15].

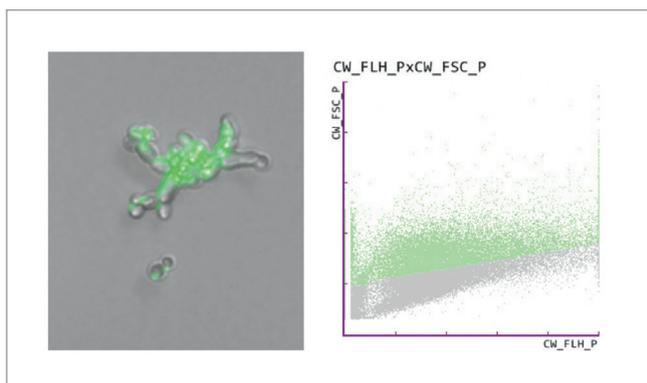


Fig. 8 - Células similares a la levadura, detectadas por microscopía fluorescente (izquierda) y en la Serie-UF de Sysmex, mostrada en el diagrama de dispersión respectivo (derecha).

### Distinción entre ITU superior e inferior

A menudo, la presencia de células epiteliales tubulares renales (CETR) en la orina son un indicador de enfermedad renal o de daño tubular. Debido a que las CETR forran todo el tubo renal, desde el segmento proximal hasta el segmento distal, representan un marcador posible de diagnóstico para daños renales cuando otros parámetros aún son poco visibles [16].

Como aplicación clínica posible, se ha demostrado que la cuantificación de CETR, en personas con infección del tracto urinario confirmada, es un indicador posible de infección del tracto urinario superior (Fig. 9, [17]).

Con una precisión de diagnóstico del 0,923 (ABC), el conteo de CETR claramente supera los marcadores conocidos de infección del tracto urinario superior, como  $\alpha_1$ -microglobulina (0,735) y  $\gamma$ -glutamil transferasa (0,586).

Sin embargo, el valor potencial de diagnóstico de cuantificación de las CETR depende fuertemente de la manipulación y el procesamiento correcto de la muestra, ya que su estabilidad *in vitro* se reduce con un tiempo de almacenamiento de dos horas o más, como por la temperatura ambiente y por el pH ácido de la orina [17].

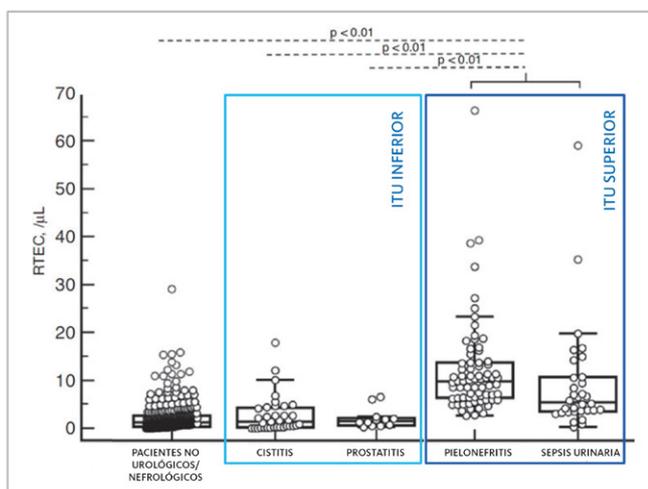


Fig. 9 - Conteos de células epiteliales tubulares renales (CETR) en pacientes que no pertenecen a urología/nefrología y pacientes con infección del tracto urinario superior o inferior ([17] modificado).

### Prueba de susceptibilidad antibiótica en la Serie-UF

La prueba de susceptibilidad antibiótica por difusión en agar es un procedimiento de diagnóstico obligatorio para identificar los antibióticos correctos, en una infección persistente, para inducir terapia antimicrobiana orientada y evitar resistencias antimicrobianas.

En resumen, las muestras bacterianas se extienden sobre placas de agar y se colocan discos de papel humedecidos con antibióticos en el agar. Durante la incubación de la placa, los antibióticos se difundirán de forma radial e inhibirán el crecimiento bacteriano, según su eficacia antibiótica. A pesar de su especificidad, esta prueba de difusión en agar, considerada como el estándar de oro, tiene un tiempo de entrega prolongado de entre 18 y 48 horas [9].

Se ha reportado una posible solución para acelerar la decisión de tratamiento antibiótico, realizando la prueba de susceptibilidad antibiótica en la Serie-UF. Se complementaron con diferentes antibióticos, alícuotas individuales de caldo de crecimiento microbiano listas para usar y se les inoculó con bacterias provenientes de muestras de pacientes. Luego de la incubación de hasta cuatro horas, se determinó la concentración de bacterias dentro de distintos cultivos en las Serie-UF. Una sensibilidad de 83,3% (VPP = 100%) y una especificidad de 100 % (VPN = 91,3%) permitió, por ejemplo, la diferenciación de *Escherichia coli* y *Klebsiella pneumoniae* resistentes y susceptibles a la colistina en dos horas, con el apoyo del UF-5000 (Fig. 11, [18]).

Enfoques alternativos combinan los diagnósticos para bacteriuria, en el UF-5000, con una prueba posterior molecular para genes de resistencia bacteriana [19] o con espectrometría de masa, para identificar bacterias y mediadores de resistencia antibiótica [20], lo que permite la instalación de terapia antibiótica dirigida en un plazo de seis horas.

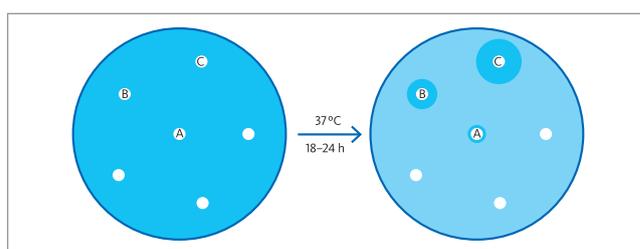


Fig. 10 - Presentación esquemática de la prueba de susceptibilidad antibiótica por difusión en agar. Los distintos diámetros de las zonas de inhibición de crecimiento alrededor de los discos de papel humedecidos se corresponden con antibióticos (A) no efectivos, (B) semiefectivos y (C) altamente efectivos.

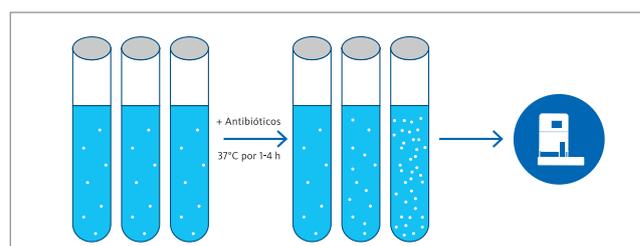


Fig. 11 - La prueba de susceptibilidad antibiótica alternativa en el UF-5000 mediante supervisión del crecimiento de bacterias aisladas en caldo complementado con distintos antibióticos. La concentración bacteriana se correlaciona con antibióticos (A) altamente efectivos, (B) semiefectivos y (C) no efectivos.

## Lucha contra la resistencia antimicrobiana con diagnósticos específicos

La adaptación de microorganismos, para resistir las acciones de agentes antimicrobianos, es ampliamente conocida como resistencia antimicrobiana, un problema bien reconocido de la salud pública del siglo XXI. Sin embargo, la resistencia antimicrobiana es un fenómeno que ya se ha informado aun antes del descubrimiento de la penicilina. Luego de años de amplio uso clínico del salvarsán, un antimicrobiano para el tratamiento de la sífilis, se observó un efecto decreciente del salvarsán, así como un aumento en cuadros clínicos más severos de sífilis [21], lo que indicaba resistencia antimicrobiana.

Desde entonces, el uso irracional de antimicrobianos (p. ej., recetas incorrectas y automedicación), el uso intenso de antimicrobianos en la agricultura industrializada y también el uso amplio y prolongado de antibióticos en terapias y profilaxis, incrementó la cantidad de especies de microorganismos resistentes [22].

Con mayor resistencia antimicrobiana y menor desarrollo de medicamentos antimicrobianos, la protección antimicrobiana es de fundamental importancia. Sin acciones adecuadas e inmediatas, la cantidad de muertes producidas por la resistencia antimicrobiana para el 2050 superará a las producidas por el cáncer [23]. Por lo tanto, la Organización Mundial de la Salud anunció una crisis sanitaria global y publicó un plan de acción global [24] para luchar contra la resistencia antimicrobiana con las siguientes acciones:

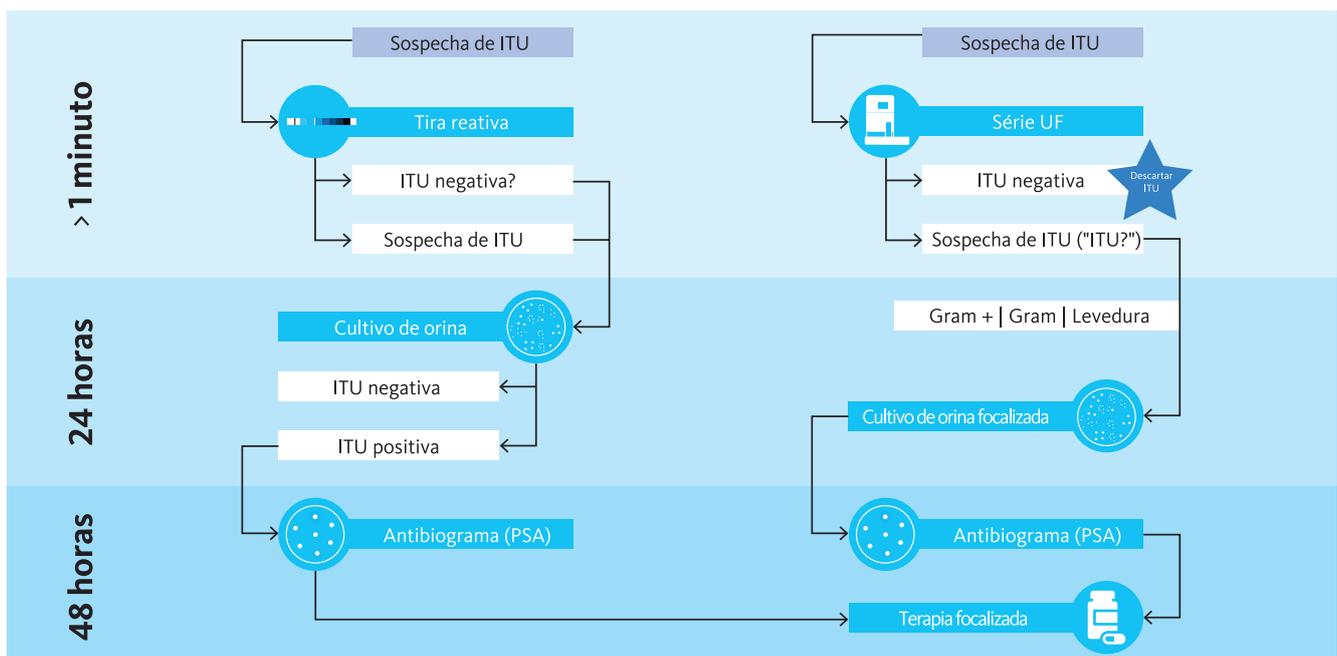
- Crear consciencia y comprensión
- Fortalecer el conocimiento y la evidencia científica
- Reducir infecciones a través de medidas de higiene
- Optimizar el uso de antimicrobianos en la salud humana y animal

En consecuencia, los diagnósticos de laboratorio son un factor importante y no sólo son dirigidos a proporcionar información precisa para diagnósticos más rigurosos y apoyo a las decisiones clínicas, sino que también contribuyen a permitir un uso más racional de los antimicrobianos.

## Resumen y conclusión

Al considerar la cantidad total de sospechas de infecciones del tracto urinario que finalmente pasarán a ser negativas, un flujo de trabajo de diagnóstico optimizado que incluye la Serie-UF de Sysmex puede mejorar la eficiencia de los diagnósticos de laboratorio al descartar infecciones del tracto urinario dentro de un periodo corto (Fig. 12).

Además, el análisis de orina basado en la citometría de flujo moderna, evita la prescripción a ciegas de antimicrobianos innecesarios y en su lugar, respalda un uso racional y orientado de antimicrobianos y así contribuye a la protección antimicrobiana tan necesaria.



**Fig. 12 - Descripción general del flujo de trabajo para el diagnóstico de infecciones del tracto urinario sin (izquierda) y con análisis de partículas de orina automatizado usando la Serie-UF (derecha).** La Serie-UF permite descartar las ITU en menos de un minuto y reduce el seguimiento de diagnóstico no necesario en hasta un 80% de la cantidad general de casos de sospecha de ITU. Para posibles muestras positivas de ITU, la alarma 'UTI?' y el indicador «BACT Info» permiten diagnósticos más orientados para identificar la presencia y el tipo de infección bacteriana. Descartar una ITU en una etapa temprana también ayuda a reducir la prescripción empírica de antibióticos y respalda la protección antimicrobiana.

## Bibliografía

- [1] **Stamm WE, Norrby SR (2001):** Urinary tract infections: Disease paranormal and challenges. *J Infect Dis* 183 (Suppl. 1) S1–S4.
- [2] **Foxman B (2014):** Urinary Tract Infection Syndromes: Occurrence, Recurrence, Bacteriology, Risk Factors and Disease Burden. *Infect Dis Clin North Am* 28(1):1–13.
- [3] **Flores-Mireles AL, Walker JN, Caparon M and Hultgren SJ (2015):** Urinary tract infections: epidemiology, mechanisms of infection and treatment options. *Nat Rev Microbiol* 13(5):269–284.
- [4] **Lane DR and Takhar SS (2011):** Diagnosis and Management of Urinary Tract Infection and Pyelonephritis. *Emerg Med Clin North Am* 29(3):539–552.
- [5] **Schmiemann G, Kniehl E, Gebhardt K, Matejczyk MM, Hummers-Pradier E (2010):** The Diagnosis of Urinary Tract Infection – A Systematic Review. *Dtsch Arztebl Int* 107(21):361–367.
- [6] **Fischer V (2019):** Ein Schritt zur schnelleren Urinanalytik. *Xtra* 2:50–52. (article in German)
- [7] **Pujades-Rodriguez M, West RM, Wilcox MH, Sandoe J (2019):** Lower Urinary Tract Infections: Management, Outcomes and Risk Factors for Antibiotic Re-prescription in Primary Care. *E Clinical Medicine* 14:23–31.
- [8] **Wilson ML and Gaido L (2004):** Laboratory diagnosis of urinary tract infections in adult patients. *Clin Infect Dis* 38(8):1150–1158.
- [9] **Bauer AW, Kirby WM, Sherris JC, Turck M (1966):** Antibiotic susceptibility testing by a standardised single disk method. *Am J Path* 45(4):493–496.
- [10] **Oyaert M and Delanghe JR (2019):** Progress in automated urinalysis. *Ann Lab Med* 39:15–22.
- [14] **Enko D, Stelzer I, Boeckl M, Derler B, Schnedl WJ, Anderssohn P, Meinitzer A and Herrmann M (2020):** Comparison of the diagnostic performance of two automated urine sediment analyzers with manual phase-contrast microscopy. *Clin Chem Lab Med* 58(2):268–273.
- [15] **Song D, Lee HJ, Jo SY, Lee SM and Chang CL (2018):** Selection of unnecessary urine culture specimens using Sysmex UF-5000 urine flow cytometer. *Ann Clin Microbiol* 21(4):75–79.
- [16] **Becker GJ, Garigali G, Fogazzi GB (2016):** Advance in urine microscopy. *Am J Kidney Dis* 67:954–964.
- [17] **Oyaert M, Speeckaert M, Boelens J, Delanghe JR (2020):** Renal tubular epithelial cells add value in the diagnosis of upper urinary tract pathology. *Clin Chem Lab Med* 58(4):597–604.
- [18] **Liste I, Cakar A, Sancak B, Hascelik G, Ozkuyumcu (2019):** The rapid detection of colistin resistance by using a fluorescence flow cytometry analyser. Poster 4301 presented on 'ASM Microbe 2019'.
- [19] **Wagner K, Mancini S, Ritter C, Böttger EC, Keller PM (2019):** Evaluation of the AID AmpC Line Probe Assay for Molecular Detection of AmpC-producing Enterobacterales. *J Glob Antimicrob Resist* 19:8–13.
- [20] **Oviaño M, de la Luna Ramírez C, Pedro Barbeyto L, Bou G (2017):** Rapid direct detection of carbapenemase-producing Enterobacteriaceae in clinical urine samples by MALDI-TOF MS analysis. *J Antimicrobial Chemotherapy* 72(5):1350–1354.
- [21] **Silberstein S (1924):** Zur Frage der salvarsanresistenten Lues. *Arch Derm Syph* 147:116–130. (article in German)
- [22] **Prestinaci F, Pezzotti P, Pantosti A (2015):** Antimicrobial resistance: a global multifaceted phenomenon. *Pathog Glob Health* 109(7):309–318.
- [23] **Review on Antimicrobial Resistance (2014):** Antimicrobial Resistance: Tackling a Crisis for the Health and Wealth of Nations. [[https://amr-review.org/sites/default/files/AMR%20Review%20Paper%20-%20Tackling%20a%20crisis%20for%20the%20health%20and%20wealth%20of%20nations\\_1.pdf](https://amr-review.org/sites/default/files/AMR%20Review%20Paper%20-%20Tackling%20a%20crisis%20for%20the%20health%20and%20wealth%20of%20nations_1.pdf)]
- [24] **World Health Organization (2015):** Global plan on antimicrobial resistance. <https://apps.who.int/iris/handle/10665/193736>