

UNIVERSIDAD DR. JOSÉ MATÍAS DELGADO

RED BIBLIOTECARIA MATÍAS

DERECHOS DE PUBLICACIÓN

Basados en

El Reglamento de Graduación de la Universidad Dr. José Matías Delgado

Capítulo VI, Art. 46

“Los documentos finales de investigación serán propiedad de la Universidad para fines de divulgación”

Publicado bajo la licencia Reconocimiento-NoComercial-CompartirIgual de Creative Commons
<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/3.0/>



Se permite copiar, distribuir y comunicar públicamente la obra siempre que se especifique el autor y el nombre de la publicación y sin objetivos comerciales, y también se permite crear obras derivadas, siempre que sean distribuidas bajo esta misma licencia

Para cualquier otro uso se debe solicitar el permiso a la Universidad

UNIVERSIDAD DR JOSE MATIAS DELGADO
FACULTAD CIENCIAS DE LAS SALUD
DR. LUIS EDMUNDO VASQUEZ



“AISLAMIENTO Y CARACTERIZACION DE LAS BACTERIAS AEROBICAS EN
ORINA OBTENIDA DEL CATETER VESICAL EN PACIENTES CON
CATETERISMO A LARGO PLAZO”

TESIS PARA OBTENER EL TITULO
DE DOCTORADO EN MEDICINA

RESPONSABLES:

EYLEN ADULFY AVILES AGUILAR
FRANCISCO RAUL MELCHOR MANCIA

ASESORA:

DRA. LEONOR MURILLO DE LINAREZ

ENERO 2011

TEMA

Aislamiento y caracterización de las bacterias aeróbicas en orina obtenida del catéter vesical en pacientes con cateterismo a largo plazo.

INDICE

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	4
JUSTIFICACION	6
OBJETIVOS	7
MARCO TEORICO	8
GLOSARIO	8
INTRODUCCIÓN	10
EPIDEMIOLOGÍA	10
PATOGENIA	11
FACTORES DE RIESGO	14
COMPLICACIONES	16
INFECCIONES URINARIAS ASOCIADAS A SONDAS	18
RESISTENCIA ANTIMICROBIANA	19
RESISTENCIA ASOCIADA AL BIOFILM	21
METODOLOGÍA	29
INSTRUMENTO Y TÉCNICA DE RECOLECCIÓN DE DATOS	31
PROCESAMIENTO DE LAS MUESTRAS	33
ÉTICA	35
CRONOGRAMA DE PROCESAMIENTO DE LAS MUESTRAS	36
PROCESAMIENTO Y ANÁLISIS DE DATOS	37
RESULTADOS	38
DISCUSION	46
CONCLUSIONES	50
RECOMENDACIONES	52
ANEXOS	54
BIBLIOGRAFIA	69

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Los costos de las infecciones intrahospitalarias son enormes. Se calcula que cada año más de dos millones de personas sufren una infección intrahospitalaria y éstas cuestan 4,500 millones de dólares y contribuyen a 88,000 muertes en los hospitales de Estados Unidos. El empeño por reducir los riesgos infecciosos es obstaculizado por el número creciente de pacientes inmunodeprimidos, bacterias resistentes a los antimicrobianos, superinfecciones micóticas y virales y los dispositivos y técnicas cruentas.¹

Se estima que de los dos millones de infecciones nosocomiales por año en los Estados Unidos, el 30% corresponden a infecciones de vías urinarias, de las cuales el 80% son asociadas a cateterismo vesical y éstas ocasionan un costo aproximado de \$2,900 por episodio. Es decir cerca de \$424-\$451 millones por año.²

Las infecciones del tracto urinario asociadas con el uso de sonda vesical permanente son la causa más frecuente de infección nosocomial. El uso crónico de cateterismo vesical trae como resultado una bacteriuria polimicrobiana y esta puede verse complicada con fiebre, bacteremia, pielonefritis aguda y muerte. Una vez introducido el catéter vesical, el riesgo de bacteriuria se incrementa en 3-10% por cada día de uso de la sonda vesical. Por lo tanto prácticamente todos los pacientes que utilizan sonda vesical por semanas o más se consideran bacteriúricos.³ Se ha observado que entre el 10-20% de los pacientes presentan bacteriuria a partir del segundo y cuarto día de cateterización.⁴

El Trimetoprim/Sulfametoxazole (TMP-SMX) es el tratamiento empírico de elección para las infecciones de vías urinarias, siempre y cuando la tasa de resistencia local sea inferior al 10-20%. Sin embargo, diversos estudios reportan que las fluoroquinolonas son cada vez más utilizadas, probablemente debido aumento de la resistencia a TMP-SMX; como resultado de este incremento en el uso de fluoroquinolonas, la resistencia de los uropatógenos a este tipo de antibiótico también va en aumento.⁵

En el Hospital Nacional San Rafael (HNSR) el cateterismo vesical a largo plazo es una práctica muy frecuente en los pacientes con hipertrofia prostática, los cuales son manejados ambulatoriamente, y a quienes se les administra tratamiento empírico profiláctico (sin un examen general de orina y/o urocultivo previo) con TMP-SMX (160/800). Sin embargo no se conoce la epidemiología de las bacterias presentes en estos pacientes con catéter vesical y su susceptibilidad a los antibióticos disponibles en el HNSR.

JUSTIFICACION

Las infecciones de vías urinarias asociadas a catéter vesical (CAUTIs), actualmente son muy frecuentes. El riesgo de desarrollo de CAUTIs se incrementa en un 3%-10% por cada día de uso de la sonda vesical. Y comprende el 40% de todas las infecciones institucionales adquiridas.⁶ Debido a estas se ha reportado un incremento en la mortalidad y un considerable impacto económico.⁷

La bacteriuria es común en los pacientes con cateterismo vesical y está asociada a complicaciones agudas y crónicas. Warren y colaboradores observaron que la mayoría de bacterias pueden ocasionar de 5 a 7 episodios de bacteriuria por cada 100 semanas de uso de cateterismo vesical.⁸

En un estudio realizado en China, el microorganismo patógeno más frecuentemente aislado en los cultivos de catéter vesical en niños fue *Escherichia coli*, seguido de *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis* y *Enterococcus spp.* *E. coli* fue más sensible a ceftazidime (87.4%), cefuroxima (85.1%) y cefatrizina (76.6%), que a sulfametoxazole (SMZ) (8.0%), amoxicilina (21.7%), ampicilina (17.1%) y cefazolina (37.7%). Esto coincide con lo ya demostrado de que las Enterobacterias son los patógenos que predominan en las CAUTIs en niños. Es importante conocer el perfil de susceptibilidad a los diferentes antibióticos con el fin de establecer una terapia empírica adecuada en estos pacientes.⁹

En el HNSR no existen estudios que demuestren cuáles son los microorganismos causantes de las infecciones de vías urinarias asociadas a catéter vesical, ni su sensibilidad a los antibióticos disponibles para el tratamiento del paciente ambulatorio.

Con esta investigación pretendemos definir las características del problema, para contribuir a un mejor manejo en las infecciones urinarias asociadas a catéter vesical, en pacientes con cateterismo vesical a largo plazo.

OBJETIVOS

General.

- Identificar las bacterias aeróbicas aisladas en cultivos de orina del catéter vesical de los pacientes con cateterismo a largo plazo en el Hospital San Rafael en el período de Octubre-Noviembre del 2010, y determinar la sensibilidad y resistencia de esas bacterias a Trimetoprim-Sulfametoxazole, Ciprofloxacina y Amoxicilina.

Específicos.

- Determinar las bacterias más comúnmente aisladas en los cultivos de orina de pacientes con cateterismo vesical a largo plazo.
- Identificar la polimicrobiología de las infecciones de vías urinarias asociadas a catéter vesical.
- Determinar la sensibilidad y resistencia de las bacterias aisladas al Trimetoprim-Sulfametoxazole, Amoxicilina y Ciprofloxacina.

MARCO TEORICO

Glosario.

Infección de vías urinarias.

Paciente que presenta uno de los siguientes signos o síntomas: fiebre $>38^{\circ}$ C, dolor lumbar, dolor suprapúbico, o alteraciones de conciencia y cultivo de orina con más de 10^5 Unidades formadoras de colonias (UFC) (bacteriuria significativa), con no más de dos especies de microorganismos. También se considera infección urinaria la presencia de uno de los signos o síntomas mencionados, más presencia de glóbulos blancos en orina y al menos dos urocultivos con >50.000 UFC del mismo patógeno y diagnóstico médico de infección urinaria.

Bacteriuria.

Presencia de bacterias en la orina.

Bacteremia.

Presencia de bacterias en el torrente sanguíneo.

Cateterismo vesical.

Consiste en la introducción aséptica de un catéter a través de la uretra con fines diagnósticos y terapéuticos.

Cateterismo vesical a corto plazo.

Cateterización que se mantiene menos de 30 días. Se emplea en pacientes hospitalizados de patologías agudas.

Cateterismo vesical a largo plazo.

Cateterización que se mantiene más de 30 días. Se usa en pacientes crónicos que hacen retenciones urinarias frecuentes.

Cateterismo vesical intermitente.

Es el uso de catéter vesical con una duración de 6 a 8 horas. Su uso es habitual en el manejo de la vejiga neurogénica.

Prueba de susceptibilidad a los antibióticos.

Mide la sensibilidad y/o resistencia de una cepa bacteriana que se sospecha es la responsable de una infección a uno o varios antibióticos.

Introducción.

Las infecciones del tracto urinario son responsables de más del 40% del total de infecciones adquiridas en los hospitales.¹⁰

Cerca del 60 - 80% se genera por instrumentación del tracto urinario, principalmente por cateterismo urinarios con fines diagnósticos y/o terapéuticos.¹¹

Los catéteres urinarios juegan un papel esencial todavía en la atención de numerosos pacientes y son el máximo exponente del problema de las infecciones relacionadas con dispositivos invasivos. Alrededor de un 30% de los pacientes son sometidos a cateterismo urinario durante su estancia hospitalaria y de ellos un 10 – 15% presentan bacteriuria asintomática, con un incremento del riesgo de infección que oscilará de 3% al 10% por cada día de cateterización.¹²

Epidemiología.

Las infecciones asociadas a catéter del tracto urinario (CAUTI) son actualmente una de las infecciones más comunes. Comprenden el 40% de las infecciones adquiridas institucionalmente.¹³

El riesgo adquirido para una infección urinaria depende del método y duración de cateterización vesical, calidad del cuidado del catéter y susceptibilidad del huésped.¹⁴ Si bien el uso de sistemas cerrados de recolección de orina ha disminuido en forma notable, el riesgo de desarrollar una infección de vías urinarias, aun se mantiene mientras el catéter urinario se mantenga instalado.¹⁵

En cuanto a la morbilidad, las posibles complicaciones de estas infecciones son el absceso uretral, epididimitis, orquitis, prostatitis, reflujo vésico-ureteral, pielonefritis, litiasis renal y neoplasia vesical (en sondajes de muy larga duración).¹⁶

La mortalidad es baja y está especialmente relacionada con la bacteremia secundaria, que ocurre en 0,5 a 4% de estos enfermos.¹⁷

Las infecciones de vías urinarias en pacientes con sonda vesical, tienen un espectro etiológico muy amplio. Si bien predominan los patógenos Gram negativos, que causan más del 50% de todas las infecciones, también tienen importancia los Gram positivos e incluso los hongos. Generalmente los microorganismos proceden de la flora fecal endógena del propio paciente, modificada con frecuencia por la presión selectiva de los

antibióticos, o de la flora ambiental exógena transportada por las manos del personal sanitario. Así, en pacientes que no han sido tratados previamente, los gérmenes más habituales suelen ser las enterobacterias como, *E. coli* (20-30%), otras enterobacterias (50-60%), *Pseudomonas aeruginosa* (30-40%) y los Gram positivos como *Enterococcus spp.* (>70%) y hongos como la *Cándida albicans*.^{18,19,20,21.}

Patogenia.

La flora normal de la uretra distal está formada por *Staphylococcus* coagulasa negativo (con excepción de *S. saprophyticus*), difteroides (*Corynebacterium spp*), *Streptococcus no hemolíticos*, *Lactobacillus*, *Mycobacterium smegmatis*, y microorganismos anaerobios. En ocasiones, en forma transitoria, puede encontrarse *E. coli* y otros bacilos Gram negativos.²²

La orina es un excelente medio de cultivo para la mayor parte de patógenos urinarios. Sin embargo, la vía urinaria por encima de la uretra distal esta normalmente libre de bacterias y la micción permite eliminar, mediante un vaciado completo de la vejiga, los pequeños inóculos bacterianos introducidos a través de microtraumas en la uretra.²³

El catéter transuretral rompe las barreras defensivas, distiende la uretra e impide el vaciado completo de la vejiga, permitiendo la proliferación de microorganismos en la orina residual, de tal forma que pequeños inóculos de bacterias proliferan rápidamente a niveles que exceden las 100.000ufc/ml.²⁴

En algunos estudios, el material extraño del catéter favorece la respuesta inflamatoria a nivel de la uretra y facilita la adherencia a las células uroepiteliales especialmente de las bacterias Gram negativas.²⁵

En las infecciones de vías urinarias asociadas a catéter vesical (CAUTI) los microorganismos pueden alcanzar la vejiga urinaria a través de tres mecanismos:²⁶

1. Introducción directa. Ocurre durante la cateterización misma cuando los microorganismos presentes en el extremo distal de la uretra son arrastrados hacia el interior de la vejiga; ocurre básicamente en paciente hospitalizados de edad avanzada que sufren colonización de la uretra distal, siendo una causa poco frecuente de infección en el resto de los pacientes.

2. Vía intraluminal o por migración retrograda a través de la luz del catéter. Se produce a través de dos mecanismos, bien por la contaminación de las conexiones cuando se abre el circuito, o bien a través de la contaminación de la bolsa de drenaje urinario a nivel del orificio de vaciado de salida de la orina. Si la esterilidad del sistema de drenaje se mantiene, la vía extraluminal adquiere mayor importancia.
3. Vía extraluminal. Los microorganismos ascienden a través del espacio entre la mucosa uretral y la superficie externa del catéter. Este mecanismo cobra mayor importancia a partir de la primera semana de cateterización y es más frecuente en mujeres (alrededor del 70%) que en varones (alrededor del 30%).

Los microorganismos más frecuentemente aislados son los Gram negativos provenientes en su mayoría del aparato intestinal del paciente como: *E. coli*, *Klebsiella*, *Proteus*, *Pseudomonas*, *Enterococcus*.²⁷

Los pacientes en tratamiento con antibiótico tienen especial riesgo de infectarse por microorganismos multirresistentes entre los que se encuentran, *P. aeruginosa*, *Serratia marcescens* y *C. albicans*.

Los microorganismos más comúnmente aislados en urocultivos se resumen en la siguiente tabla.

Microorganismos más frecuentes aislados en urocultivos.²⁸

Especies uropatógenas comunes	Especies uropatógenas relacionadas a cateterismo vesical de corta duración.	Especies uropatógenas relacionadas a cateterismo vesical a largo plazo.
<i>E. coli</i>	<i>E. coli</i>	<i>Providencia stuartii</i>
<i>Klebsiella</i> spp	<i>Providencia stuartii</i>	<i>Morganella morganii</i>
<i>Proteus</i> spp	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>P. mirabilis</i>
<i>P. aeruginosa</i>	<i>P. mirabilis</i>	<i>E. coli</i>
<i>Enterobacter</i> spp	<i>P. aeruginosa</i>	<i>P. aeruginosa</i>
<i>Enterococcus</i> spp	<i>S. epidermidis</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
<i>S. saprophyticus</i>	<i>Enterococcus</i> spp	<i>Staphylococcus coagulasa negativa</i>
<i>S. aureus</i>	<i>Candida</i> spp	<i>Enterococcus</i> spp
<i>Candida</i> spp (puede ser contaminante)		<i>Candida</i> spp

Rol del biofilm en la patogénesis de las infecciones de vías urinarias asociadas a catéter vesical.

La patogenia de las infecciones de vías urinarias asociadas a catéter vesical (CAUTI) se relaciona con la susceptibilidad del material inerte del catéter vesical a la colonización por microorganismos. En la superficie de la mucosa normal de la vejiga, la adherencia de las bacterias desencadena una respuesta inflamatoria que trae como resultado una afluencia de neutrófilos y desprendimiento de células epiteliales.²⁹ Ambos procesos contribuyen a la erradicación de las bacterias de la superficie de la mucosa. Por el contrario, la superficie del catéter vesical no tiene mecanismos de defensa que eviten la adherencia de bacterias.³⁰

El primer paso en la formación del biofilm (biopelícula) es el depósito de partículas alrededor de las paredes del material del catéter vesical por componentes propios de la orina del paciente, como proteínas, electrolitos, y otras moléculas orgánicas. Esta biopelícula transforma la superficie del catéter y neutraliza las propiedades antibacterianas de la mucosa normal. Posteriormente las bacterias que nadan libremente se adhieren a la superficie a través de interacciones hidrofóbicas y electrostáticas y por medio del uso de flagelos,³¹ lo cual inician un proceso de división celular, adhesión bacteriana y secreción de la matriz extracelular. La señalización de célula a célula da lugar a la formación estructuras compactas tridimensionales, con canales fluidos entre ellos, los cuales permiten el intercambio de nutrientes y desechos.³² Una vez se completa este ciclo de formación la biopelícula alrededor del material del catéter vesical, comienza la colonización con uropatógenos.

Los uropatógenos adheridos al biofilm intercambian información genética, que les confiere resistencia a fagocitos y a antibióticos; razón por la cual son difíciles de erradicar.³³ Por ejemplo, en un modelo experimental en conejos con CAUTI, la cantidad necesaria de un antibiótico para eliminar a *E. coli* de la superficie del catéter vesical fue de 400 mg/kg, a pesar de que la concentración inhibitoria mínima de este antibiótico para eliminar a la bacteria *in vitro* es menor.³⁴

El factor más importante de resistencia antimicrobiana en los biofilms es la tasa lenta de crecimiento bacteriano. Además, la yuxtaposición de microorganismos de una o más especies dentro de un biofilm facilita la transferencia de genes de resistencia a los antimicrobianos.³⁵

Diagnostico de CAUTI.

El diagnostico de CAUTI, se basa en la búsqueda de bacteriuria, con un elevado recuento de leucocitos en el examen general de orina. Además, en algunos casos se encuentra dos o más de los siguientes signos y síntomas:³⁶

- Dolor o ardor en la región de la vejiga, uretra, o en el flanco.
- Fiebre (más de 38 C) o escalofríos.
- Malestar general.
- Mal olor de la orina.
- Cambio en el color de la orina, incluyendo la orina turbia o el aumento de sedimentos.
- Hematuria.
- Espasmo vesical.
- Obstrucción de catéter.
- Aumento de la debilidad o la espasticidad, sobre todo, en aquellos con enfermedades neurológicas.
- Cambio en el estado mental, sobre todo en los adultos mayores, tales como confusión, letargia, agitación, delirio, o cambios sutiles de comportamiento.
- Bacteremia (especialmente después de una traumatismo en la mucosa urinaria)

Factores de riesgo.

El mecanismo de defensa de mayor eficacia de la vejiga, es la dilución de los gérmenes por el efecto del flujo de orina y su eliminación periódica con la micción. La interacción entre el vaciamiento de gérmenes durante la micción e integridad de los mecanismos antirreflujo, la presencia de sustancias bacteriostáticas en la orina y los mecanismos de defensa intrínsecos de la mucosa vesical son determinantes en impedir el desarrollo de una ITU.

Existen factores de riesgo intrínseco, relacionados con el paciente. Son factores que alteran los mecanismos de defensa normales (flora periuretral habitual, acidez de la orina, inmunidad humoral, superficie mucosa intacta, vaciado vesical).³⁷

Entre éstos se cuentan la edad avanzada, el sexo femenino, patología de base como la Insuficiencia renal, Diabetes mellitus, inmunodepresión, malformaciones del trato urinario, etc.

Los factores de riesgo extrínsecos son fundamentalmente el tratamiento antibiótico (porque puede alterar la flora) y el sondaje vesical (especialmente el sistema abierto), ya que produce un trauma local con inflamación, lo que facilita la infección.³⁸

Tabla 1. Factores de riesgo que contribuyen al desarrollo de infecciones de vías urinarias asociadas a catéter.³⁹

Factores extrínsecos	Factores intrínsecos
<ul style="list-style-type: none"> • Cateterismo vesical • Uso no justificado de catéter • Duración del cateterismo • Fallas en el cuidado del catéter • Cistoscopia • Cirugía urológica • Uso de antibióticos 	<ul style="list-style-type: none"> • Edad avanzada • Sexo femenino • Enfermedad patológica de base como Diabetes mellitus, insuficiencia renal, inmunodepresión, malformaciones, etc. • Alteración en los mecanismos de defensa como: flora peri-uretral habitual, pH urinario, inmunidad humoral, mucosa intacta, vaciado vesical.

Entre los factores de riesgo asociados a bacteriuria relacionada con cateterización urinaria, la colonización del meato urinario con bacterias potencialmente patógenas se considera como el de mayor importancia.⁴⁰

Un dato de importancia es que los pacientes pueden permanecer con riesgo de bacteriuria por lo menos 24 hrs. después de la remoción del catéter.³³

Indicaciones y contraindicaciones del sondaje vesical.

Una de las más importantes medidas de control de las infecciones urinarias es limitar el uso de catéter urinario a pacientes cuidadosamente seleccionados y si ésta es estrictamente necesaria y limitar el tiempo de permanencia del catéter.⁴¹

Indicaciones	Contraindicaciones
<ul style="list-style-type: none"> ▪ Obstrucción del tracto urinario. ▪ Vejiga neurogénica, disfunción urinaria o retención urinaria. ▪ Cirugía urológica o cirugía en estructuras contiguas. ▪ Control estricto de diuresis en pacientes críticamente enfermos. 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Incontinencia urinaria: utilización prioritaria de reeducación vesical, colectores, pañales. ▪ Prostatitis aguda. ▪ Lesiones uretrales (estenosis, fístulas). ▪ Traumatismos uretrales (doble vía, etc.).

Complicaciones.

Las infecciones asociadas a catéter urinario, en pacientes en buen estado, son generalmente asintomáticas y de evolución favorable y se resuelven en la mayoría de los casos con la remoción del catéter. En pacientes con alto riesgo, la infección persiste y genera diversas complicaciones, entre las que se señalan: ^{42,43.}

- Prostatitis
- Epididimitis
- Cistitis
- Pielonefritis
- Abscesos Uretrales
- Bacteriemia

Infecciones de vías urinarias.⁴⁴

Las infecciones urinarias agudas pueden subdividirse en dos categorías de acuerdo a su ubicación anatómica: infecciones bajas (uretritis y cistitis), e infecciones altas (pielonefritis aguda, prostatitis y abscesos intrarenales y perinéfricos).

Desde una perspectiva microbiológica, existe una infección urinaria cuando se detectan microorganismos patógenos en número significativo en orina, uretra, vejiga, riñón o próstata.

La presencia de más de 10^5 UFC/ml en una muestra de orina adecuada de orina colectada a la mitad del chorro con total asepsia, indica una infección en pacientes asintomáticos. Una cantidad más reducida de bacterias (10^2 - 10^4 ufc/ml) en pacientes sintomáticos indica infección en muestras de orina obtenidas mediante aspiración suprapúbica o sondaje instantáneo. En las muestras tomadas de pacientes con un catéter permanente, las cifras de 10^2 - 10^4 ufc/ml implican infección.

Desde el punto de vista epidemiológico, las infecciones urinarias se subdividen en asociadas a la sonda (hospitalarias) y no asociadas a la sonda (contraídas en la comunidad).

Existen numerosos microorganismos que pueden infectar las vías urinarias, aunque los más comunes son los bacilos Gram negativos. *E. coli* que causa alrededor del 80% de las infecciones agudas de los pacientes que no portan sonda y que carecen de anomalías urológicas y de cálculos. Otros bacilos Gram negativos, en especial *Proteus* y *Klebsiella* y en ocasiones, *Enterobacter*, provocan un porcentaje menor de infecciones no complicadas.

Tienen importancia fundamental en las infecciones hospitalarias asociadas a sonda, *Proteus* (gracias a la producción de ureasa) y *Klebsiella* (mediante la formación de moco extracelular y polisacáridos).

En las infecciones urinarias, los cocos Gram positivos desempeñan una función menos importante. No obstante, *S. saprophyticus*, una especie coagulasa negativa, provoca 10-15% de las infecciones urinarias agudas en las mujeres jóvenes. Es frecuente que *Enterococcus spp.* y *S. aureus* causen infecciones a pacientes con nefrolitiasis o que se han sometido a instrumentación o cirugía con anterioridad.

También puede ocurrir en los pacientes diabéticos o que portan sonda, la colonización por *Cándida* y por otras especies micóticas que en ocasiones avanza a una infección sintomática.

Infecciones urinarias asociadas a sondas.⁴⁴

Muchas de las cepas infecciosas aisladas de pacientes con catéter vesical muestran una resistencia a los antimicrobianos mucho mayor que la de microorganismos que originan las infecciones urinarias adquiridas en la comunidad.

Los factores asociados a mayor riesgo de infección por sonda comprenden sexo femenino, uso prolongado de la sonda, enfermedad subyacente grave, desconexión de la sonda del tubo de drenaje, otros defectos de las sondas y ausencia de tratamiento antimicrobianos en general.

Se produce la infección cuando las bacterias llegan a la vejiga por una de estas dos vías: migración a través de la columna de orina en la luz de la sonda (vía intraluminal) o ascenso desde la sonda a través de la mucosa (vía periuretral). Los agentes patógenos contraídos en el hospital llegan a la sonda o al sistema de colecta de orina del paciente a través del personal hospitalario, de soluciones o irrigaciones contaminadas y de instrumentos o desinfectantes contaminados. Las bacterias normalmente entran en la sonda a través de la unión entre esta y el tubo de drenaje o el orificio de la bolsa de drenaje. A continuación, los microorganismos ascienden a través de la luz hasta la vejiga en un plazo de 24 a 72 horas. Otra alternativa es que la microflora intestinal del propio paciente colonice la piel del periné y la región periuretral y que acceda a la vejiga a través de la superficie externa de la sonda. Esta vía es especialmente frecuente en las mujeres. Se ha demostrado en varios estudios la importancia de la fijación de las bacterias a la superficie de la sonda y su multiplicación en ella para la patogenia de las infecciones urinarias asociadas a catéter. Tales proliferaciones bacterianas en los biofilms de la sonda se traducen con el tiempo en incrustaciones formadas por bacterias, mucocálices bacterianos, proteínas urinarias del anfitrión y sales urinarias. Estas incrustaciones proporcionan un refugio a las bacterias contra los antimicrobianos y los fagocitos.

Desde una perspectiva clínica, gran mayoría de las infecciones asociadas a catéter no inducen síntomas, no se acompañan de fiebre y a menudo remiten al suspenderse el sondaje. Se ignora la frecuencia de las infecciones de las vías altas asociadas a bacteriuria inducida por catéter. La bacteremia por Gram negativos, es la complicación más importante de las infecciones urinarias asociadas a este dispositivo.

A veces se puede evitar las infecciones urinarias de este tipo entre los pacientes que portan sondas durante menos de dos semanas si se emplea un sistema colector cerrado y estéril, si se conserva una asepsia total durante la colocación y el mantenimiento de la sonda y se toman medidas para reducir al mínimo las infecciones cruzadas. Se han utilizado otras medidas preventivas eficaces, al menos en un ensayo controlado pero no se recomienda su uso general; cabe destacar la administración de ciclos cortos de antimicrobianos sistémicos, la aplicación tópica de pomadas antimicrobianas periuretrales, el uso de unidades sonda-tubo de drenaje conectadas previamente, el empleo de sondas impregnadas con antimicrobianos y la adición de antibióticos a la bolsa de drenaje. Pese a todas las precauciones adoptadas la mayoría de pacientes sondados durante más de dos semanas terminan sufriendo bacteriuria.

Resistencia antimicrobiana.⁴⁵

El éxito sostenido del tratamiento antibiótico depende de que éste aventaje la capacidad de los microorganismos para desarrollar resistencia. A veces la resistencia parece ocurrir a un ritmo similar al del desarrollo de nuevos antimicrobianos.

La resistencia de un microorganismo a un antibiótico afecta la práctica médica y requieren el uso de pruebas de laboratorio para guiar al médico en la elección del tratamiento.

Para considerar a un bacteria susceptible o resistente a cualquier antimicrobiano, son necesarias la valoración integral de la actividad in vitro y de sus características farmacológicas, así como la evaluación clínica.

La selección del tratamiento puede basarse en las características conocidas o esperadas de los microorganismos y las características farmacológicas de los antimicrobianos. Con respecto a los microorganismos, el uso del término susceptible (sensible) implica que su concentración inhibitoria mínima (CIM) está en un nivel alcanzable en la sangre y otros líquidos corporales apropiados con las dosis recomendadas. El término resistente, significa que la CIM no se logra con los niveles alcanzables en condiciones normales.

La resistencia a antimicrobianos es un problema de salud pública. Los mecanismos de resistencia pueden ser intrínsecos o adaptativos. Los primeros pueden capacitar a la bacteria para que produzca enzimas que destruyan al fármaco antibacteriano, expresar sistemas *efflux* de excreción que eviten que el fármaco alcance su blanco intracelular,

modificar el sitio blanco del antimicrobiano o generar una vía metabólica alterna que evite la acción del fármaco. Entre los mecanismos adaptativos, encontramos las adaptaciones fenotípicas, sea por el estado metabólico de la bacteria, o por ser secundarias a su capacidad de producir biopelículas.⁴⁶

La resistencia a las penicilinas y a otros Beta-Lactámicos se debe a uno de los siguientes mecanismos generales:⁴⁷

1. Inactivación del antibiótico por la Beta-lactamasa
2. Modificación del sitio de unión de las proteínas fijadoras de penicilinas (PFP)
3. Acceso difícil del antimicrobiano al sitio de su unión con las PFP
4. La presencia de una bomba de egreso (efflux)

La resistencia al Trimetoprim puede resultar de la permeabilidad celular disminuida, de la sobreproducción de dihidrofolato reductasa, o de la producción de una reductasa alterada con disminución de la fijación del fármaco. La resistencia puede surgir por mutación, aunque es más común que se deba a reductasas de dihidrofolato resistentes a trimetoprim codificadas por plásmidos. Estas enzimas resistentes pueden localizarse dentro de transposonas sobre plásmidos conjugados, con un amplio rango, que al final de cuentas, diseminan rápido y ampliamente la resistencia al trimetoprim entre numerosas especies bacterianas.⁴⁷

La resistencia a Ciprofloxacina se debe a una o más mutaciones en la región de unión de la quinolona con la enzima blanco o por un cambio en la permeabilidad del microorganismo. La resistencia a las fluoroquinolonas, sobre todo si es de alto nivel, por lo general origina resistencia cruzada a todos los demás miembros de esta clase.⁴⁷

La resistencia está relacionada con el sitio blanco de acción, la topoisomerasa II o girasa y fundamentalmente en la subunidad A del ribosoma. No obstante cada vez se da más importancia a la presencia de mecanismos de expulsión que impiden alcanzar concentraciones intracelulares de antibiótico suficientes o dificultan el paso a través de la pared. Recientemente se ha descrito también la presencia de plásmidos e incluso se ha reportado una cepa de *K. pneumoniae* con un plásmido de resistencia múltiple que incluía también quinolonas.⁴⁸

Resistencia asociada al Biofilm.

Aunque los genes de resistencia y sus productos son los principales mecanismos de resistencia a antibióticos, existen otros menos explorados, como los relacionados con la producción de biopelículas. Las biopelículas son agregados adherentes que se forman en superficies bióticas o abióticas.⁴⁹ Se ha demostrado que las cepas que producen biopelículas son significativamente más resistentes a antibióticos.⁵⁰

Esta forma de crecimiento bacteriano contiene células genéticamente sensibles, refractarias a muchos antibióticos, pero no a todos⁵¹. Se han propuesto tres mecanismos por los cuales las biopelículas contribuyen a la resistencia.

Primero, se ha postulado que las células bacterianas encajadas en matrices de polisacáridos que constituyen la biopelícula son menos accesibles a la difusión del antibiótico.⁵² La segunda razón es que se trata de una forma de indiferencia al fármaco a causa de los nutrientes y otros limitantes, pues muchas células bacterianas dentro de la biopelícula no se replican ni metabolizan lo suficiente para que el antibiótico funcione de manera eficaz.⁵³ La tercera hipótesis, y actualmente la más apoyada, es que las bacterias dentro de las biopelículas se diferencian a estados refractarios a los antibióticos; es decir, una combinación de indiferencia y persistencia.

Esto debe considerarse en el tratamiento. Por ejemplo, *P. aeruginosa* produce biopelículas donde los antibióticos, como las fluoroquinolonas, penetran más fácil en comparación con los aminoglucósidos, pues éstos se unen a polímeros como el alginato. Además deben considerarse algunas interacciones muy importantes, como la de los aminoglucósidos que son inductores de la formación de biopelículas en cepas de *P. aeruginosa* y *E. coli*, lo que aumenta la resistencia.⁵⁴

Muestra.⁵⁵

La principal conexión entre el clínico y el laboratorio de diagnóstico es la muestra que se envía para procesamiento. Si ésta no se elige o colecta de manera adecuada, no hay modo de que el laboratorio rectifique el error. Una muestra mal recolectada es la razón más común de falla en el diagnóstico etiológico o, lo que es peor, de elaboración de un diagnóstico equivocado. En el caso de las infecciones bacterianas, el principal problema radica en distinguir la flora normal residente o contaminante de los microorganismos que causan la infección.

Recolección y transporte de la muestra.³⁸

El hisopo estéril es la herramienta más utilizada para recolectar una muestra, pero proporciona las peores condiciones para la supervivencia y solo puede absorber un pequeño volumen del exudado inflamatorio. La peor muestra posible es la recolectada en un hisopo seco; la mejor es la colección de 5 a 10 ml o más de tejido o líquido infectado. El volumen es importante porque los microorganismos infectantes que se presentan en pequeñas cantidades tal vez no se detectan en una muestra pequeña.

La recolección y el transporte de la muestra son procesos fundamentales que, según como se realicen, determinan el resultado final del estudio microbiológico.

En el estudio de las infecciones de vías urinarias (IVU) existen 5 principios básicos que deben aplicarse con el fin de lograr procesos adecuados:⁵⁶

1. La muestra debe ser representativa.
2. La cantidad de la muestra debe ser suficiente para permitir estudio microscópico, cultivo y cualquier otro tipo de prueba.
3. Evitar la contaminación de la muestra durante el proceso de recolección.
4. El transporte de la muestra recolectada debe ser rápido y adecuado.
5. La recolección de la muestra se debe realizar, en lo posible, antes del inicio de cualquier tratamiento antimicrobiano que pueda alterar los resultados.
6. Utilizar un método cuantitativo para evaluar si hay infección.

Las muestras deben transportarse al laboratorio lo antes posible después de su obtención porque algunos microorganismos sobreviven muy poco tiempo fuera del cuerpo, y otros se multiplican rápidamente en la orina. Cuando el procesamiento se retrasa más de tres o cuatro horas, se producen cambios significativos. Si la muestra no se puede procesar de inmediato es necesario mantenerla en refrigeración a fin de evitar la proliferación bacteriana. A temperatura de (2-8°C) será adecuada hasta por 24 horas y en congelación por tiempo más prolongado.³⁸

La recolección de la muestra de pacientes con cateterismo vesical, requiere una técnica más estéril. El personal de salud que manipula el catéter vesical debe de usar guantes estériles.

Para una toma adecuada de una muestra de orina obtenida de catéter vesical se deben de seguir los siguientes pasos:⁵⁷

1. Pinzar el catéter vesical por encima de donde se tomará la muestra.
2. Realizar una limpieza vigorosa de las paredes del catéter con alcohol al 70%
3. Aspirar con la aguja de una jeringa. (4-5 cc). Manteniendo la integridad del sistema cerrado de drenaje del paciente, con el fin de prevenir la introducción de microorganismos hacia la vejiga.

*Muestras obtenidas de la bolsa colectora son inapropiadas.⁴⁰

Guías para la recolección de muestras bacteriológicas y micológicas.⁵⁸

Tipo de muestra	Pasos de recolección	Depósito	Tiempo y temperatura de transporte	Tiempo y temperatura de almacenamiento
Orina de catéter vesical.	<ol style="list-style-type: none"> 1. Realizar asepsia con alcohol 70%. 2. Aspirar con una jeringa 5 a 10 ml de orina. 3. Transferir a un tubo o contenedor estéril. 	Contenedor estéril	<p>Sin preservantes: < 2 horas Temperatura ambiente.</p> <p>Preservado: <24 horas Temperatura ambiente.</p>	<24 horas 4° C.

Estudio de las muestras³⁸

El diagnóstico de la infección microbiana comienza con la valoración de los datos clínicos y epidemiológicos, a partir de la cual se formula una hipótesis diagnóstica.

Para un diagnóstico clínico adecuado, se necesita una combinación de ciencia y arte por parte del médico y el profesional de laboratorio; el médico eligiendo las pruebas y muestras adecuadas para su procesamiento y, en ocasiones, sugiriendo los agentes etiológicos sospechosos al laboratorio; por su parte, el profesional del laboratorio debe usar métodos que demuestren la presencia de los probables agentes y estar preparado para explorar otras posibilidades sugeridas por la situación clínica o las pruebas de laboratorio. Los mejores resultados se obtienen cuando la comunicación entre el clínico y el laboratorio es óptima.

Las estrategias generales para el diagnóstico de laboratorio varían según los distintos microorganismos y enfermedades infecciosas. Sin embargo, casi siempre los métodos son alguna combinación de exámenes microscópicos directos, cultivo, detección de antígeno, detección de anticuerpos y pruebas de susceptibilidad antimicrobiana.

En fin, el diagnóstico microbiológico de las enfermedades siempre comienza, independientemente de la causa, con algún tipo de muestra adecuadamente recolectada del paciente.

Tinción de Gram.³⁹

La tinción propuesta por el médico danés Christian Gram en 1884, es una de las tinciones diferenciales más utilizadas en bacteriología, que clasifica las bacterias en Gram positivas y Gram negativas en término de minutos.

La reacción de la tinción de Gram se basa en la cantidad de peptidoglucano que se encuentra en las paredes celulares de estas bacterias. Las bacterias Gram positivas tienen muchas capas de peptidoglucano, las cuales a su vez, sostienen moléculas de ácido teicoico. El ácido teicoico reacciona con el cristal violeta y el yodo utilizado en este proceso de tinción. El complejo de las moléculas cristal violeta-yodo-ácido teicoico es muy difícil de remover. Como la pared celular de las células Gram positivas retiene estos compuestos, es más difícil decolorar una célula Gram positiva que una Gram negativa. Una mezcla de alcohol acetona remueve el cristal violeta de la célula Gram negativa, pero no de la Gram positiva. Esta mezcla de alcohol acetona también disuelve mucho de la capa exterior de lipopolisacárido de la pared celular de las Gram negativa, lo cual acelera la remoción del colorante primario, cristal violeta, de estas células.

Se consideran Gram positivas a las bacterias que se observan de color violeta y Gram negativas a las que se ven color rosa, una ventaja es que se puede efectuar una diferenciación inicial, por su morfología: cocos, bacilos, espirilos y su agrupación.

Cultivo.³⁸

El crecimiento e identificación del agente infectante *in vitro* es casi siempre el recurso diagnóstico más sensible y específico, y por eso es el método más usual.

Casi todas las bacterias de importancia médica pueden cultivarse fuera del huésped, en medio artificiales de cultivo. Una sola bacteria colocada en condiciones de cultivo adecuadas se multiplica hasta cantidades notorias a simple vista. Los medios bacteriológicos son recetas parecidas a sopas que se preparan con productos animales digeridos o proteínas vegetales complementadas con nutrientes como glucosa, extracto de levadura, suero o sangre, para cubrir los requerimientos metabólicos del microorganismo.

En los últimos 100 años los bacteriólogos han desarrollado incontables medios para ayudar al aislamiento e identificación de bacterias de importancia médica. Solo unos cuantos han perdurado hasta su aplicación habitual en los laboratorios clínicos, y pueden clasificarse como medios nutrientes selectivos, diferenciales, de enriquecimiento, etc.

La temperatura y la atmósfera de incubación varían de acuerdo con el microorganismo, en base a lo cual pueden clasificarse en aeróbicos y anaeróbicos; mesófilas, psicrófilas y termófilas

Criterios de interpretación.

La determinación del número y tipo de bacterias en la orina es un procedimiento diagnóstico de vital importancia. La orina de los pacientes sintomáticos muestra una gran cantidad de bacterias ($> 10^5$ ufc/ml). En el caso de los enfermos asintomáticos, se debe efectuar un examen bacteriológico de dos muestras consecutivas de orina en la que se demuestre una cantidad de $> 10^5$ ufc/ml de una misma bacteria por mililitro, antes de instaurar cualquier tratamiento. El número tan elevado de bacterias que contiene la orina de la vejiga, obedece, en parte, a la multiplicación bacteriana durante su permanencia en la cavidad vesical, las muestras de orina de los uréteres ó de la pelvis renal a veces contiene $< 10^5$ ufc/ml, y aún así indica infección. Igualmente, la presencia de bacteriuria de cualquier grado en los aspirados suprapúbicos, mayor o igual a 10^2 ufc/ml, de orina obtenida mediante sondaje, suele indicar infección.

Interpretación microbiológica del urocultivo y conducta recomendada. ^{59, 60}

Conteo de colonias	Método de recolección	Sedimento Urinario	Microorganismo aislado	Interpretación
0 ufc/ml		Independiente del resultado		Urocultivo negativo
Cualquier recuento	Punción suprapúbica	Independiente del resultado	Cualquier microorganismo	Identificación y estudio de susceptibilidad.
1,000 ufc/ml	Cateterización transitoria	Independiente del resultado	≤ 2 especies uropatógenos	Identificación y estudio de susceptibilidad.
≥ 10,000 ufc/ml	Segunda micción en paciente especial *	Independiente del resultado	≤ 2 especies uropatógenos	Identificación y estudio de susceptibilidad.
≥10,000 ufc/ml	Orina por catéter permanente	Patológico	≤ 2 especies uropatógenos	Identificación y estudio de susceptibilidad.
≥10,000 ufc/ml	Segunda micción	Patológico	≤ 2 especies uropatógenos	Identificación y estudio de susceptibilidad.
≥100,000 ufc/ml	Segunda micción	Patológico	2 uropatógenos + otra bacteria con recuento 10 veces menos	Identificación y estudio de susceptibilidad/solo de los uropatógenos
≥100,000 ufc/ml	Segunda micción	Sin antecedentes del sedimento.	≤ 2 especies uropatógenos	Identificación y estudio de susceptibilidad.
≥100,000 ufc/ml			≥3 microorganismos, sin predominio de alguno.	Solicitar nueva muestra.

*Mujer embarazada, paciente diabético o urológico.

Control de laboratorio del tratamiento antimicrobiano. ³⁸

La susceptibilidad de las bacterias a una batería de antimicrobianos potencialmente efectivos para ellas, puede evaluarse in vitro en el laboratorio.

Estas pruebas consisten en colocar el microorganismo en presencia de concentraciones variables de antimicrobianos, para averiguar cuál es la CIM. Los métodos usados se estandarizan, incluida la concentración del inóculo bacteriano y las condiciones del crecimiento. Una vez determinada la CIM pueden ser, métodos más sencillos, de

difusión, en los que el antibiótico en la concentración apropiada se incorpora en un disco de papel filtro.

Para seleccionar el antimicrobiano apropiado entre aquellos a los que el patógeno es susceptible no bastan los resultados de las pruebas de laboratorio por si solos; a demás se debe considerar la farmacología clínica del agente, la causa de la enfermedad, el sitio de la infección y la patología de la lesión.

Existen diferentes pruebas de susceptibilidad de los microorganismos a los antibióticos:

1. Prueba de difusión en agar o (Kirby-Bauer).
2. Prueba de dilución.
3. Pruebas automatizadas.
4. Pruebas moleculares.
5. Pruebas bactericidas.

La prueba de difusión en agar o (Kirby-Bauer) es una de las más utilizadas y estandarizadas. Consiste en inocular el microorganismo en estudio en una placa de petri con medio Mueller-Hinton y luego colocar sobre el inculo discos de papel filtro impregnados con los diferentes antibióticos a usar, en concentraciones previamente determinadas. Tan pronto el disco impregnado de antibiótico se pone en contacto con la superficie húmeda del agar, el filtro absorbe agua y el antibiótico difunde en agar. El antibiótico difunde radialmente a través del espesor del agar a partir del disco, formándose un gradiente de concentración. Transcurridos 18-24 horas de incubación, los discos aparecen rodeados por una zona de inhibición en caso de que la bacteria sea sensible; si la bacteria es resistente no se forma halo de inhibición. La lectura del diámetro de los halos de inhibición se realiza con una regla milimetrada y se comparan con diámetros de inhibición estandarizados para cada antimicrobiano.³⁸

Para interpretar los resultados debe usarse una tabla con las medidas de diámetro de inhibición estandarizados para cada antimicrobiano según el Instituto de estándares clínicos y de laboratorio (CLSI), para interpretar como: Sensible, Intermedio o Resistente.

La susceptibilidad se clasifica así:

Susceptible (S): los microorganismos son inhibidos por concentraciones de antibióticos obtenidas con un régimen usual de dosificación.

Resistente (R): Los microorganismos que causan la infección, toleran concentraciones de antibióticos superiores a las que pueden obtenerse en la sangre por medio de un régimen usual de dosificación.

Intermedio (Indeterminado): prueba errática, que debe repetirse.

METODOLOGÍA

Tipo de estudio

Transversal- Descriptivo

Población

Pacientes con cateterismo vesical a largo plazo, que llegan a cambio de Sonda Transuretral, a la unidad de emergencia del Hospital San Rafael.

Muestra:

El estudio será realizado con un total de 50 muestras de orina de catéter vesical de paciente que cumplieron con los criterios de inclusión de nuestro estudio, por muestreo no probabilístico por conveniencia.

Criterios de inclusión y exclusión.

Criterios de inclusión.

- Sexo masculino
- Edad mayor de 50 años
- Portador de cateterismo vesical a largo plazo
- Sin tratamiento antibiótico reciente (7 días previos a la toma de la muestra)
- Aceptación del consentimiento informado

Criterios de exclusión.

- Paciente con punción suprapúbica
- Paciente que se niegue a colaborar con el estudio

Variables:

Variable	Tipo de variable	Definición operacional	Indicador
Bacteria aeróbica aislada.	Cualitativa.	Bacteria aeróbica presente en orina del catéter vesical.	Presencia o ausencia.
Tinción de Gram Reacción y morfología.	Cualitativa.	Coloración según técnica de Gram. Morfología. Agrupación.	Gram positivo Gram negativo Cocos o bacilos.
Recuento bacteriano.	Cuantitativa.	Número de unidades formadoras de colonias aisladas. (ufc)	Número de colonias en el agar multiplicadas por 1,000.
Susceptibilidad a antibióticos.	Cualitativa.	Interpretación de los diámetros de las zonas de inhibición.	Sensible Resistente Intermedio

Instrumento y técnica de recolección de datos.

En el HNSR los cambios de Sonda transuretral se realizan los días lunes, miércoles y viernes por la mañana, en la unidad de Pequeña Cirugía ubicada en la emergencia del hospital.

El equipo investigador se desplazó a las instalaciones del HNSR a partir de la primera semana del mes de Octubre.

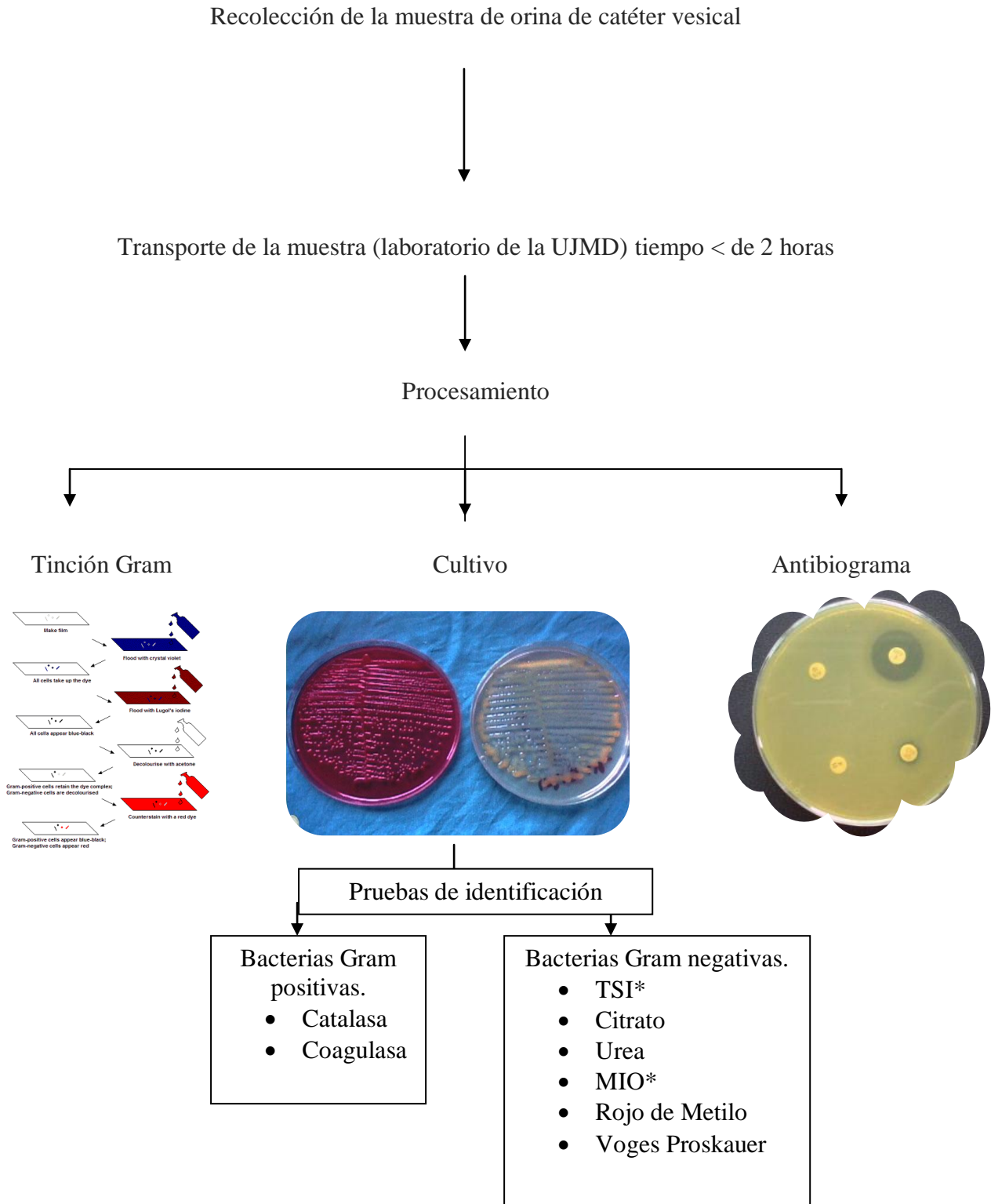
Al cada grupo de pacientes que llegaban a cambio de sonda, se les explicó en qué consistía el estudio y se les preguntó si deseaban participar en él.

Una vez estos pacientes hubiesen aceptado participar, se colectaron los datos demográficos de cada paciente en un formulario diseñado con ese propósito (anexo 1).

Recolección y transporte de la muestra:

1. Se pinzó la sonda vesical y se realizó una limpieza vigorosa de una porción de la superficie externas de la sonda con una torunda con alcohol 70% y jabón yodado.
2. Con una jeringa estéril, previamente identificada con el número e iniciales del paciente, se aspiró 3ml de orina.
3. Las jeringas con las muestras se transportaron en una hielera a 4-8°C. al laboratorio de microbiología de la Universidad Dr. José Matías Delgado. Donde fueron analizadas de acuerdo al procedimiento para el procesamiento de una muestra adecuada en microbiología según el Instituto de Estándares clínicos y de laboratorio. (CLSI).

Flujograma de trabajo.



*TSI (Tres azúcares y hierro) *MIO (Movilidad-Indol-Ornitina)

Procesamiento de las muestras:

Se colocaron las muestra de orina en tubos estériles debidamente identificados.

1. Coloración de Gram.

- ✓ Se tomaron 0.001ml de orina con el asa calibrada, la cual se colocó en una lamina portaobjetos de vidrio previamente identificada, con el número e iniciales correspondientes al paciente, se dejó secar al aire y colorearon los frotis con la técnica de Gram. Revise el área del frotis con el microscopio usando el objetivo de inmersión anotando el número de bacterias presentes, su morfología y reacción de Gram. (ver anexo 2)

2. Cultivo de la muestra.

- ✓ Se utilizaron placas de petri de 2 compartimientos: Con medio de Agar Sangre de carnero al 5% en uno y Eosina-azul de metileno (EMB) en el otro.
- ✓ Se mezcló bien la orina y se inocularon los medios haciendo uso de un asa calibrada de 0.001 ml, introduciéndola verticalmente, como muestra la figura A. Depositando esa cantidad en una línea sobre la superficie del medio de uno de los compartimientos de la placa. A continuación, sin flamear, se sembró en estrías, como muestra la figura B. Se hizo lo mismo en la otra mitad de la placa.
- ✓ Se incubaron las placas a 35° C. por 18 a 24 horas.

Figura A.

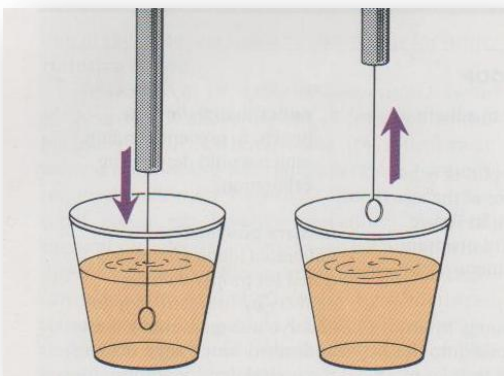
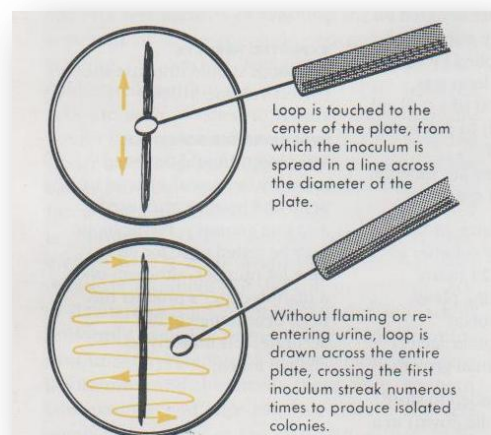


Figura B.



3. Lectura de la placas

- ✓ Se revisaron las placas inoculadas después del tiempo de incubación, anotando el número de colonias presentes y sus características morfológicas, color, presencia de brillo metálico ó hemólisis en el agar sangre, así como si eran capaces de fermentar la lactosa.
- ✓ Se realizaron frotis con solución salina al 0.85% de las colonias presentes, los cuales fueron coloreados con Gram para identificar morfología microscópica y reacción.
- ✓ Se subcultivó una colonia de cada placa a un medio con Trypticase Soya Agar (TSA) a 35 °C por 18-24 horas.

4. Identificación.

- ✓ Si se aíslan bacilos Gram negativos realizar las pruebas bioquímicas: Tres azúcares y hierro (TSI), Citrato, Urea, MIO (movilidad-indol-Ornitina), Rojo de Metilo (RM) y Voges Proskauer (VP).
- ✓ Si se trata de cocos Gram positivos, de acuerdo a su morfología, realizar las pruebas de catalasa, coagulasa, crecimiento en medio con NaCl 6.5% y otras que se consideren necesarias.
- ✓ Interprete los resultados de las pruebas de acuerdo a lo indicado en los textos de referencia.

5. Antibiograma. (anexo 4)

Una vez aisladas las bacterias, se procedió a realizar el antibiograma según la técnica de Kirby-Bauer, utilizando discos impregnados con Amoxicilina, Trimetoprim-Sulfametoxazole y Ciprofloxacina, para conocer la sensibilidad de las bacterias aisladas.

Los halos de inhibición se midieron con una regla milimetrada y el resultado fue interpretado.

Los resultaos fueron reportados como R, S e I y posteriormente entregados al HNSR para ser colocados en el expediente de cada paciente.

Ética.

1. Aprobación del comité de Ética del Hospital Nacional San Rafael

2. Consentimiento informado. (anexo 5)

Se considerara consentimiento informado cuando los sujetos sean sabedores del propósito y la naturaleza del estudio, sus objetivos y los riesgos que debe afrontar al participar en el estudio, y los beneficios que obtendrá como resultado del estudio.

3. Confidencialidad.

Se utilizó las iniciales y los números de expedientes, para identificar las muestras tomadas de los pacientes.

4. No se hizo presión a las personas a participar en el estudio; ni se ofreció recompensa con bienes, servicios o pagos en efectivo para inducir su participación.

5. Comunicación de los resultados del estudio.

CRONOGRAMA DE PROCESAMIENTO DE LAS MUESTRAS

DIA 1	DIA 2	DIA 3	DIA 4	DIA 5
<ul style="list-style-type: none"> • Recolección de las muestras • Identificación adecuada de las muestras. • Cultivo cuantitativo. (Con el asa calibrada, inocular en una caja de petri de 2 compartimientos con AS y EMB, en una raya 0.001 ml de orina. • Incubar • Realizar Frotis y colorear con Gram. 	<ul style="list-style-type: none"> • Revisar las placas inoculadas. • Contar el número de colonias de cada tipo y anotar las características de las colonias: número, tamaño, forma. • Subcultivar a placa con TSA. 	<ul style="list-style-type: none"> • A partir de las placas con TSA realizar: <ul style="list-style-type: none"> a) Pruebas de identificación b) Antibiogramas 	<ul style="list-style-type: none"> • Leer resultados de identificación. • Leer diámetros de inhibición e interpretar resultados. 	<ul style="list-style-type: none"> • Realizar reportes.

Procesamiento y análisis de datos.

Los resultados obtenidos del estudio se descargaron en una matriz de Microsoft Excel versión 2007, utilizando un sistema operativo de Windows 7, Ultimate 2009.

Los resultados se graficaron utilizando gráficos de pastel, gráficos de barra, frecuencias y porcentajes.

RESULTADOS

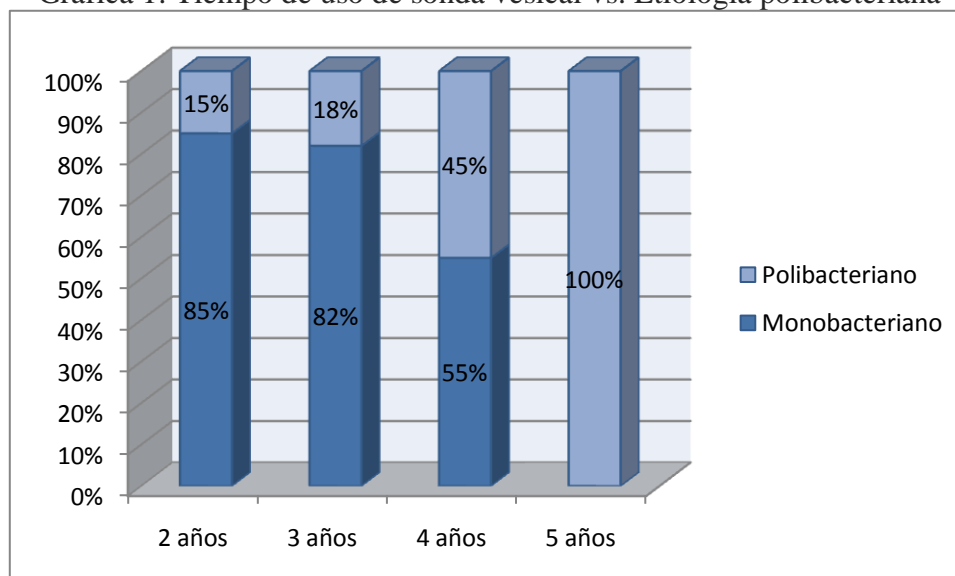
Se estudiaron un total de 50 pacientes, con sonda vesical a largo plazo, la mayoría de ellos por hipertrofia prostática benigna, quienes llegan a cambio de ésta cada 15 días. El tiempo de uso de la sonda vario entre 2 a 5 años, encontrando una media de 3.5 años de uso. El 44% de los pacientes habían sido portadores de catéter vesical al menos por un periodo de 3 años.

Los urocultivos de todos los pacientes estudiados fueron positivos para bacterias aeróbicas. No se investigaron microorganismos anaeróbicos. Se observó relación entre el tiempo de uso de la sonda y la etiología polibacteriana de la infección de vías urinarias. Pacientes con 2 años de uso de la sonda presentaron etiología monobacteriana en 84% de los casos, y polibacteriana en 16%. A medida que incrementaron los años de uso de la sonda se aumento el porcentaje de infecciones polibacterianas, siendo de 100% en los pacientes portadores de catéter vesical por un periodo de 5 años (tabla 1 y gráfica 1).

Tabla 1. Tiempo de uso de sonda vesical vs. Etiología polibacteriana.

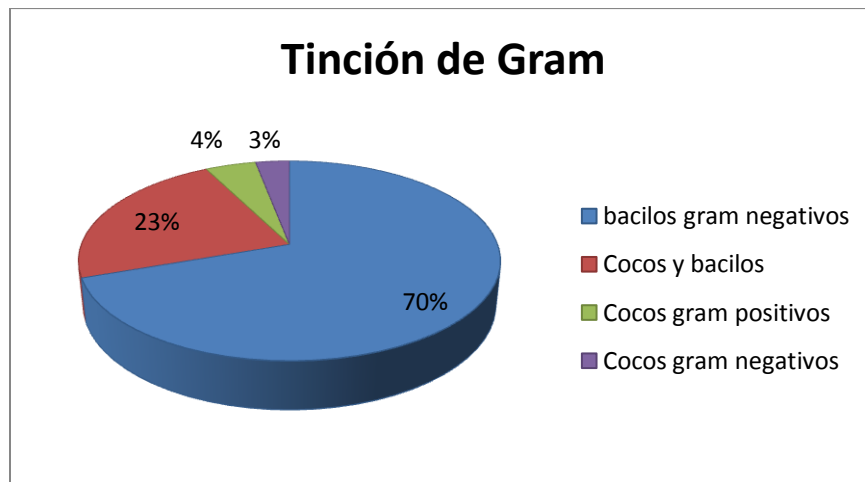
Tiempo (años)	Muestra	Monobacteriana	Polibacteriano	total
2	13	11(84.6%)	2(15.3%)	100%
3	22	18(81.8%)	4(18.1%)	100%
4	9	5(55.6%)	4(44.4%)	100%
5	6	0(0%)	6(100%)	100%

Gráfica 1. Tiempo de uso de sonda vesical vs. Etiología polibacteriana



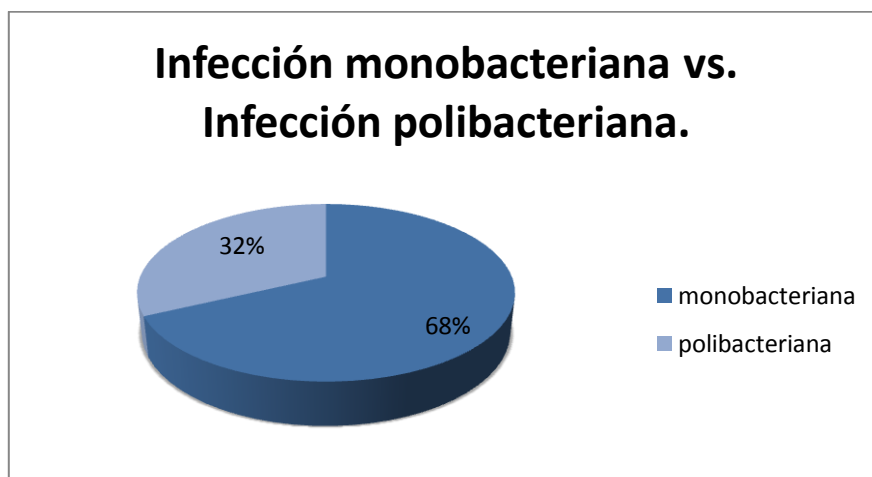
En todos los casos se hizo frotis con 0.001 ml de orina y se coloreo con Gram, con el propósito de relacionar la observación de bacterias en el frotis de la muestra con el resultado del urocultivo. Se observaron bacterias en el 100% de las muestras; los bacilos gram negativos constituyeron el 70%, seguidos de bacteriología mixta (cocos y bacilos) en 23%, cocos gram positivos 4%, y cocos gram negativos 3%. (Gráfica 2). Se observó concordancia entre el resultado del frotis y el urocultivo.

Gráfica 2.



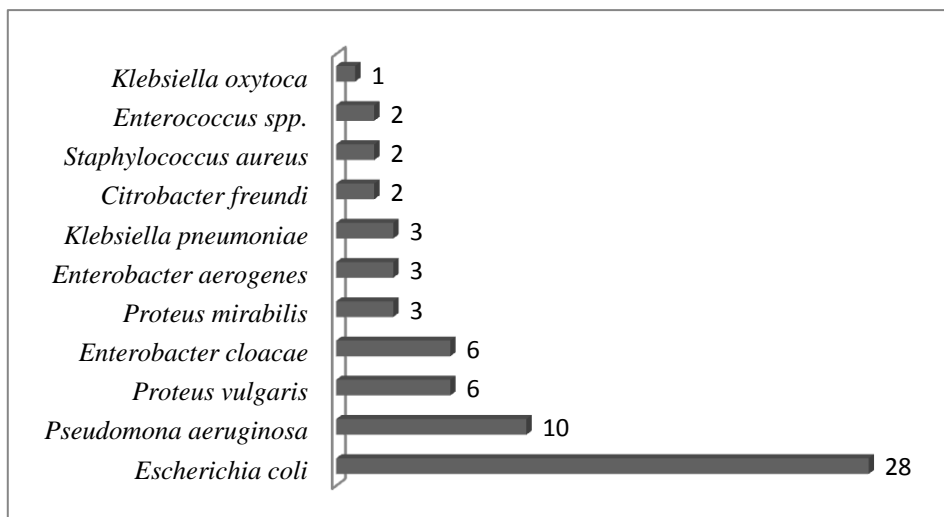
De las 50 muestras se obtuvieron 66 aislamientos bacterianos y 11 especies diferentes de microorganismos. Se aisló una especie bacteriana en 68% de las muestras y 2 especies en el restante 32%. (Gráfica 3).

Grafica 3

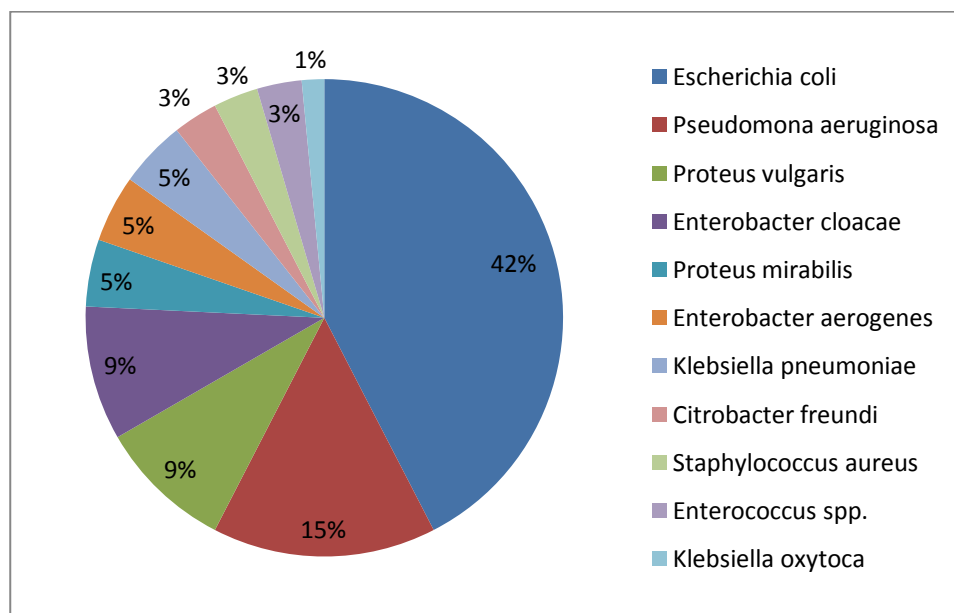


Las especies bacterianas aisladas se presentan en Tabla 2 y Grafica 4. Predominaron las cepas de *E. coli*, 28 cepas (42%), seguidas de *P. aeruginosa* 10 cepas (15%), *Enterobacter spp* 9 cepas (14%), *Proteus spp* 9 cepas (14%) y *Klebsiella spp* 4 cepas (6%). Las especies del género *Enterobacter* incluyeron *E. cloacae* (9%) y *E. aerogenes* (5%); las del genero *Proteus* incluyeron *P. vulgaris* (9%) y *P. mirabilis* (5%); y las del genero *Klebsiella*, *K. pneumoniae* (5%) y *K. oxytoca* (1%). (Tabla 2 y gráfica 4)

Tabla 2. Bacterias aeróbicas aisladas de pacientes con cateterismo vesical a largo plazo en el HNSR.



Gráfica 4. Porcentajes de bacterias aeróbicas aisladas de pacientes con cateterismo vesical a largo plazo en el HNSR.



En las infecciones polibacterianas se observaron varias combinaciones de microorganismos (Tabla 3). En la mayoría de los casos estuvo presente *E. coli* (68.75%). Las combinaciones obtenidas. Fueron:

Tabla 3. Combinaciones Bacterianas.

Combinaciones	Muestra	Porcentaje
<i>E. coli</i> + <i>P. aeruginosa</i>	4	25%
<i>E. coli</i> + <i>Proteus spp.</i>	2	12.5%
<i>E. coli</i> + <i>Enterococcus spp.</i>	2	12.5%
<i>E. coli</i> + <i>Enterobacter spp.</i>	1	6.25%
<i>E. coli</i> + <i>Citrobacter freundii.</i>	1	6.25%
<i>E. coli</i> + <i>Staphylococcus spp</i>	1	6.25%
<i>Enterobacter spp</i> + <i>Klebsiella spp.</i>	1	6.25%
<i>P. aeruginosa</i> + <i>Proteus spp.</i>	2	12.5%
<i>P. aeruginosa</i> + <i>Enterobacter spp.</i>	1	6.25%
<i>Enterobacter spp</i> + <i>Staphylococcus spp.</i>	1	6.25%
Total	16	100%

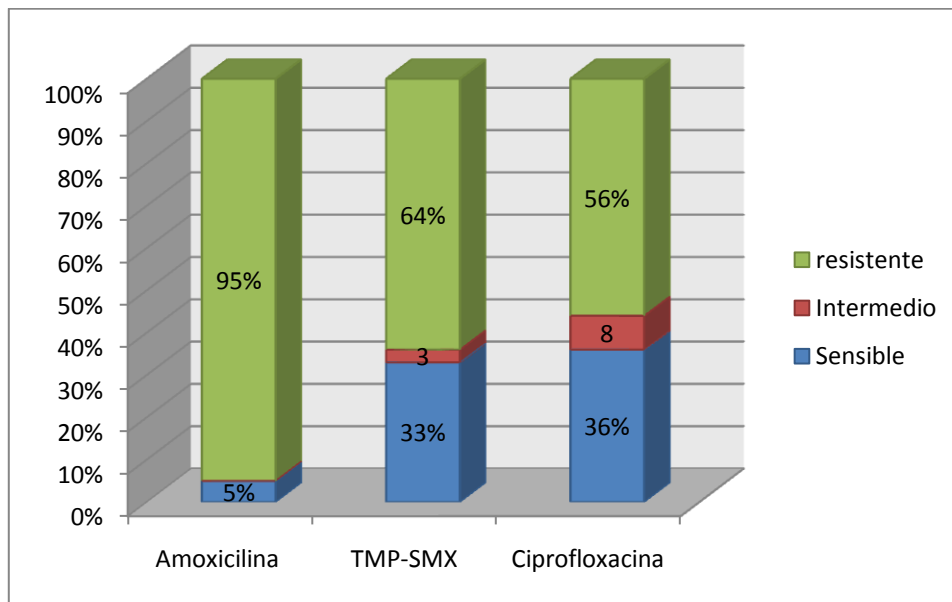
Las bacterias aisladas fueron estudiadas en cuanto a su susceptibilidad a Amoxicilina, Trimetoprim-Sulfametoxazole (TMP-SMX) y Ciprofloxacina, debido a que en el HNSR, estos 3 antibióticos son los que están disponibles, para el manejo de las Infecciones de vías urinarias asociadas a sonda vesical (CAUTI) en el paciente ambulatorio. Generalmente estos pacientes son tratados sin ningún examen previo de laboratorio.

La Ciprofloxacina fue el antibiótico que mostro mayor efectividad, ya que 36% de las cepas aisladas fueron sensibles. Sin embargo fue notable la resistencia a esta droga de las cepas de *E. coli* (82%). A Trimetroprin-Sulfametoxazole fueron sensibles 33% y a Amoxicilina 5%. (Tabla 4 y gráfico 5)

Tabla 4. Sensibilidad de las bacterias aisladas a los antibióticos

Antibiótico	Resistente	Intermedia	Sensible	Total
Amoxicilina	63(95%)	0 (0%)	3(5%)	66
Trimetroprin	42(63%)	2(3%)	22(33%)	66
Ciprofloxacina	37(56%)	5(8%)	24(36%)	66

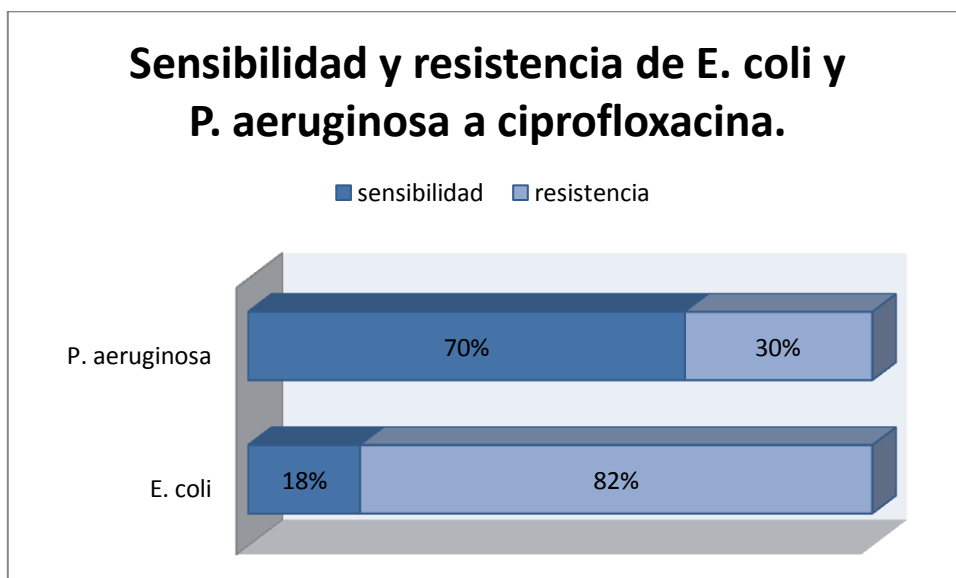
Gráfico 5. Sensibilidad y resistencia a los antibióticos de las bacterias aisladas.



La sensibilidad intermedia se observó solamente para TMP-SMX (3%) y Ciprofloxacina (8%).

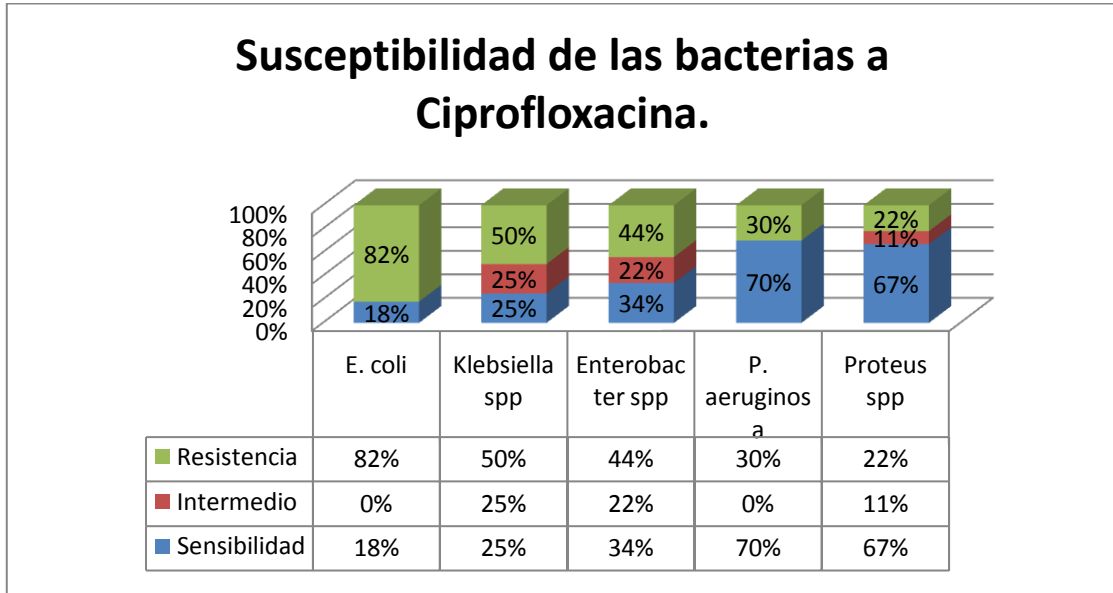
Se observó una alta resistencia de las cepas de *E. Coli* (82%) a Ciprofloxacina grafica 6, la cual fue mayor que la de *P. aeruginosa* (30%).

Gráfica 6.



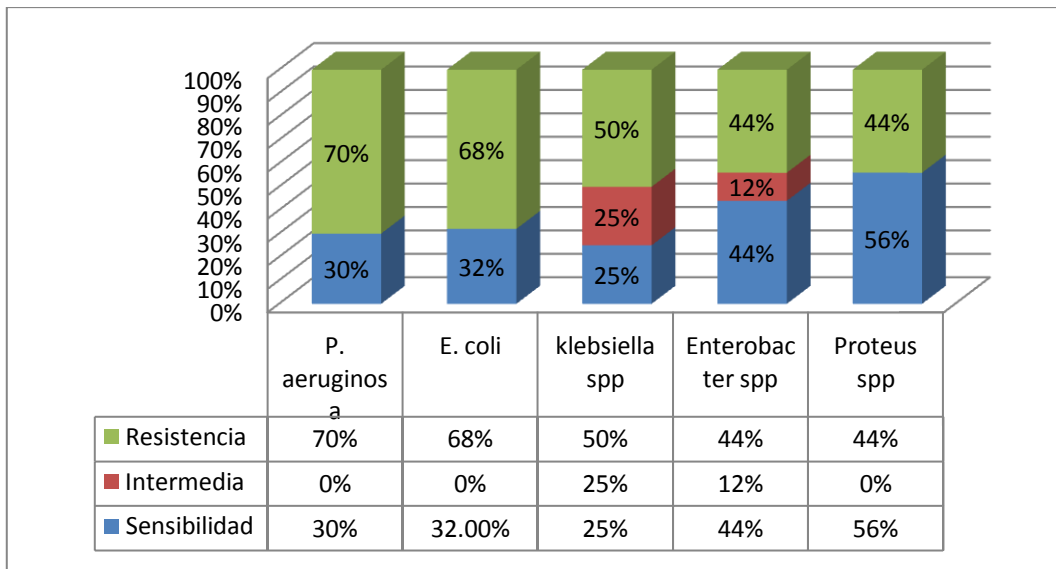
La comparación de la resistencia a la Ciprofloxacina en las especies aisladas se muestra en la gráfica 7, pudiéndose apreciar que *E. coli* fue la más resistente, seguida de *Klebsiella*, luego *Enterobacter* y finalmente *Pseudomonas* y *Proteus* que fueron los más sensibles.

Gráfica 7.



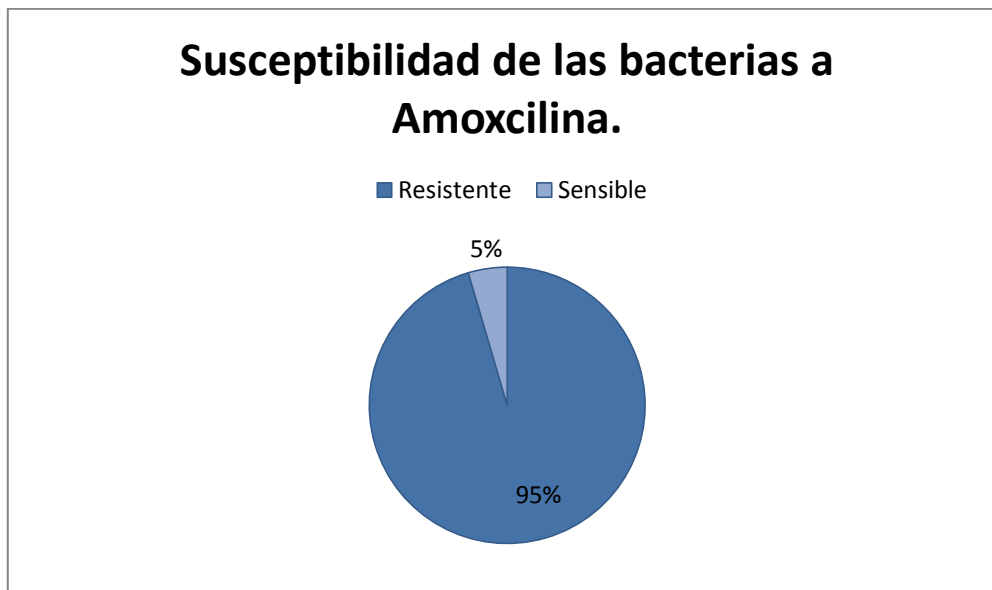
Los resultados fueron diferentes para TMP-SMX, 70% de las cepas fueron resistentes. Los resultados para las otras especies fueron *E. coli* (68%), *Klebsiella* 50%, *Enterobacter spp* (45%), *Proteus spp* 44%.

Gráfica 8. Susceptibilidad de las bacterias al TMP-SMX.



La Amoxicilina fue el antibiótico al que mostraron mayor resistencia (95%) las bacterias aisladas, siendo los resultados similares para todas las especies.

Gráfico 9.



Se pudo observar que algunas de las bacterias aisladas, pueden presentar resistencia a los 3 antibióticos en estudio, lo cual genera mayores problemas de resistencia bacteriana.

Los porcentajes de resistencia que presentaron las bacterias a los antibióticos en estudio se resumen en la tabla 5.

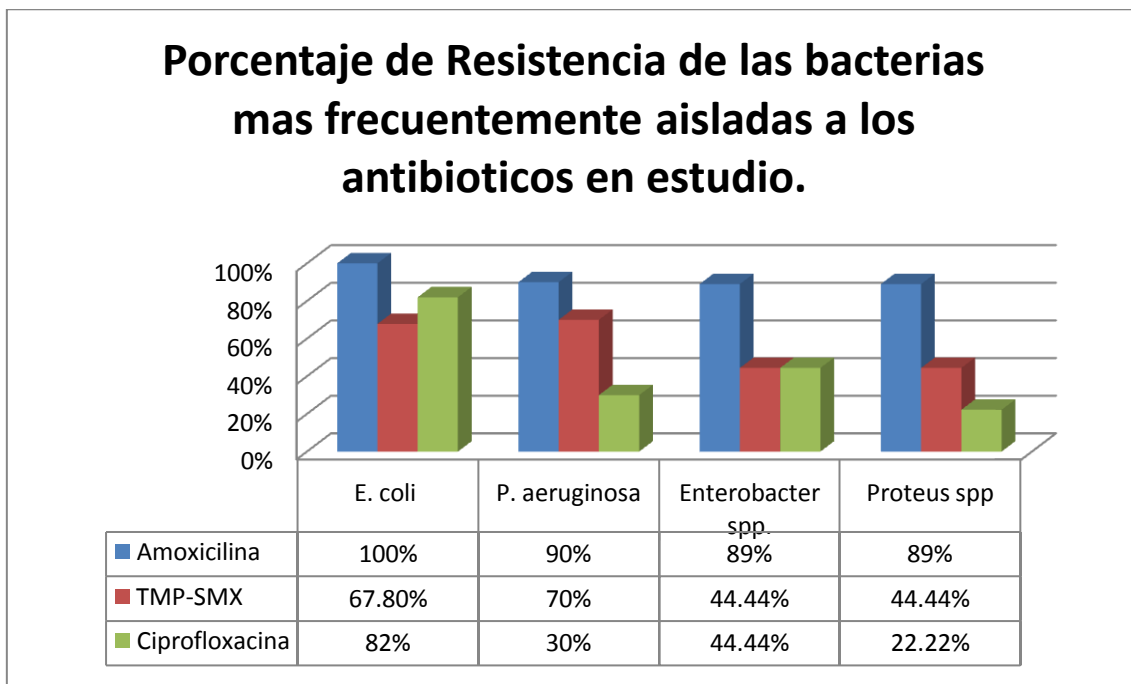
Tabla 5. Porcentaje de Resistencia de las bacterias más frecuentemente aisladas a los 3 antibióticos en estudio en pacientes con cateterismo vesical a largo plazo en el HNSR.

Bacteria	Muestra	Frecuencia	porcentaje
<i>E. coli</i>	28	16	57.1%
<i>Klebsiella spp</i>	4	2	50%
<i>Enterobacter spp</i>	9	3	33.3%
<i>Proteus spp</i>	9	2	22.2%
<i>P. aeruginosa</i>	10	1	10%

Los porcentajes de resistencia a los antibióticos utilizados fueron altos, encontrando para *E. coli* resistencia a Amoxicilina en 100% de las cepas, a TMP-SMX en 67% y a Ciprofloxacina en 82%. (Ver gráfico 10)

P. aeruginosa fue resistente a Amoxicilina en 90%, a TMP-SMX en 70% y a Ciprofloxacina 30%; a este último fue al que presentó menor porcentaje de resistencia, probablemente debido a la biopelícula que produce *P. aeruginosa*, la cual es penetrada por las quinolonas con mayor facilidad que otros antibióticos.⁵⁴ (Ver gráfico 10)

Grafica 10.



DISCUSION

En este estudio se observó que el tiempo de uso de catéter vesical es un factor de riesgo muy importante para la infección de vías urinarias asociadas a este dispositivo, encontrándose relación entre el tiempo de uso de la sonda y la etiología polibacteriana de la infección, la cual fue observada con mayor frecuencia a medida que incrementaron los años de uso de la sonda.

Las 50 muestras analizadas en el estudio fueron positivas a bacterias aeróbicas, aislándose 11 microorganismos diferentes de 66 aislamientos bacterianos y observándose diferentes combinaciones de microorganismos, Solo se aisló una especie bacteriana en 68% de las muestras y en el restante 32% dos especies bacterianas. Esto orienta al clínico a pensar que en este tipo de pacientes no se debe de sospechar que la infección es ocasionada por una bacteria específica, sino tomar en consideración que se podría presentar casos en los que haya una combinación de microorganismos, lo cual tiene importancia para el manejo clínico de la infección.

A todas las muestras estudiadas se les hizo frotis con 0.001 ml de la muestra y tinción de Gram, encontrando una relación directa entre la observación de bacterias presentes en dicho frotis y la positividad del urocultivo; en el 100% de los frotis se observaron bacterias, lo que coincidió con la positividad de los urocultivos. Se observaron bacterias en el 100% de las muestras; los bacilos gram negativos constituyeron el 70%, seguidos de bacteriología mixta cocos y bacilos 23%, cocos gram positivos 4%, y cocos gram negativos 3%, lo que coincide con lo reportado en la literatura internacional que refiere que los bacilos gram negativos son las bacterias más comunes en las infecciones de vías urinarias asociadas a catéter vesical.^{27, 28.}

En los cultivos predominaron las cepas de *E. coli* (42%), seguidas de *P. aeruginosa* (15%), *Enterobacter spp* (14%), *Proteus spp* (14%) y *Klebsiella spp* (6%). El perfil microbiológico encontrado en este estudio, es prácticamente igual al referido por Verhaz A, y colaboradores en la publicación “Resistencia antimicrobiana en las infecciones de vías urinarias asociadas a catéter vesical”, quienes encontraron *E. coli* en

(31%), seguida de *P. aeruginosa* (13.8%), *P. mirabilis* (12.9%) y *Klebsiella-Enterobacter* (12.3%).

Del total de muestras que presentaron combinación de microorganismos, *E. coli* fue la bacteria que estuvo en el mayor porcentaje de combinaciones, 68.75%.

Las bacterias aisladas fueron estudiadas en cuanto a su susceptibilidad a Amoxicilina, Trimetoprim-Sulfametoxazole y Ciprofloxacina, según la técnica de Kirby-Bauer. Los antibióticos fueron seleccionados por estar en el cuadro básico de medicamentos del HNSR, y por ser los que se utilizan para el manejo de los pacientes ambulatorios con sonda vesical. Generalmente estos pacientes son tratados de manera empírica sin realizar examen general de orina o frotis de orina coloreado por gram o urocultivo.

De los 66 aislamientos bacterianos, 95%, fueron resistentes a Amoxicilina, 64% a Trimetoprim-Sulfametoxazole y 56% a Ciprofloxacina y es posiblemente debido a los mecanismos de multirresistencia conocidos de las bacterias gram negativas, que constituyeron la mayoría de las aisladas. Entre esos mecanismos se ha incluido la formación de la biopelícula alrededor de las paredes del catéter vesical, por componentes de la orina del paciente, como proteínas, electrolitos, y otras moléculas orgánicas.³¹ Los uropatógenos se adhieren a la biopelícula y en ese microambiente están protegidos de la actividad de fagocitos y anticuerpos y en algunos casos de los antibióticos; las bacterias en la biopelícula son difíciles de erradicar y eso explica la incidencia tan alta de infección en los pacientes cateterizados y los porcentajes altos de resistencia a los antibióticos encontrados en esos pacientes.³²

El factor más importante de resistencia antimicrobiana en la biopelícula es la tasa lenta de crecimiento bacteriano, ya que los antibióticos actúan mas efectivamente en bacterias que están en fase logarítmica, dividiéndose activamente. Además, la yuxtaposición de microorganismos de una o más especies dentro de una biopelícula facilita la transferencia de genes de resistencia a los antibióticos por mecanismo de conjugación.^{50, 51, 52-53}

En este aspecto es de mucho interés el hallazgo de la mayor sensibilidad de *P. aeruginosa* a Ciprofloxacina, 70% de las cepas fueron sensibles. Esto posiblemente es

debido que las quinolonas penetran más fácilmente la biopelícula producida por *P. aeruginosa*, que la producida por las otras bacterias.⁵⁴

Entre otros resultados se puede mencionar la resistencia de Trimetoprim-Sulfametoxazole de las diferentes bacterias, que fue de 64%. Este porcentaje alto de resistencia ha sido explicado por los diferentes mecanismos de resistencia que las bacterias han generado a este antibiótico. Permeabilidad celular disminuida, sobreproducción de dihidrofolato reductasa, o producción de una reductasa alterada con la disminución de la fijación del fármaco. La resistencia puede surgir por mutación, aunque es más común que se deba a reductasas de dihidrofolato resistentes a trimetoprim codificadas por plásmidos. Estas enzimas pueden codificarse en transposones sobre plásmidos conjugados, con un amplio rango, que al final de cuentas, diseminan rápido y ampliamente la resistencia al Trimetoprim entre numerosas especies bacterianas.⁴⁷

En cuanto a la Amoxicilina, fue el antibiótico al cual se observó la mayor resistencia, 95% de todas las cepas fueron resistentes. Desde los años 50 las penicilinas y sus derivados, han estado en contacto con las diferentes bacterias, las cuales han desarrollado mecanismos de resistencia a través de los años. La resistencia a las penicilinas y a otros Beta-Lactámicos se debe a uno de los siguientes mecanismos generales: Inactivación del antibiótico por la Beta-lactamasa, modificación del sitio de unión de las proteínas fijadoras de penicilinas (PFP), acceso difícil del antimicrobiano al sitio de su unión con las PFP, la presencia de una bomba de egreso (efflux).⁴⁷

Este estudio muestra como el uso de antibióticos sin conocimiento de la sensibilidad de las bacterias a ellos, puede generar mayores problemas de resistencia bacteriana, por los múltiples mecanismos de resistencia que han desarrollado las bacterias y por la selección de cepas resistentes causada por el uso indiscriminado de antibióticos.

Debido a estos resultados se recomienda establecer guías de manejo para el diagnóstico y tratamiento de los pacientes con uso de catéter vesical a largo plazo, que tiendan a reducir la incidencia de infecciones de vías urinarias y a racionalizar el uso de los antibióticos para un mejor manejo de éstas infecciones y contribuir a mejorar la calidad de vida de estos pacientes.

Panorama mundial de *Escherichia coli* a los antibióticos más comúnmente utilizados.

En las tablas a continuación se presenta un estudio realizado por la Asociación de urología de la Unión Europea en el año 2006, donde se muestra la susceptibilidad de *E. coli* a Ciprofloxacina, TMP/SMX, y Amoxicilina. Y se hace una comparación con los resultados obtenidos en nuestro estudio en el HNSR de El salvador.

Sensibilidad de *E. coli* a Ciprofloxacina⁶¹.

País o región	Muestra	Sensibilidad	Intermedio	Resistente
Alemania	14	12(86%)	0(0%)	2(14%)
Hungría	42	29(69%)	2(5%)	11(26%)
Rusia	34	24(71%)	6(18%)	4(12%)
Turquía	16	2(13%)	1(6%)	13(81%)
Europa	20	14(70%)	0(0%)	6(30%)
Asia	21	6(29%)	3(14%)	12(57%)
El Salvador (HNSR)	28	5(18%)	0(0%)	23(82%)

Sensibilidad de *E. coli* a Trimetoprin-Sulfametoxazole⁶¹.

País o región	Muestra	Sensibilidad	Intermedio	Resistente
Alemania	19	13(68%)	2(11%)	4(21%)
Hungría	35	28(80%)	1(3%)	6(17%)
Rusia	29	8(28%)	13(45%)	8(28%)
Turquía	13	3(23%)	0(0%)	10(77%)
Europa	20	10(50%)	1(5%)	9(45%)
Asia	16	2(13%)	0(0%)	14(88%)
El Salvador (HNSR)	28	9(32%)	0(0%)	19(68%)

Sensibilidad de *E. coli* a Amoxicilina⁶¹.

País o región	Muestra	Sensibilidad	Intermedio	Resistente
Alemania	11	6 (55%)	5(45%)	0(0%)
Hungría	35	24(69%)	2(6%)	9(26%)
Rusia	35	16(46%)	13(37%)	6(17%)
Turquía	11	2(18%)	1(9%)	8(73%)
Europa	11	8(73%)	1(9%)	2(18%)
Asia	23	11(48%)	3(13%)	9(39%)
El Salvador (HNSR)	28	0(0%)	0(0%)	28(100%)

CONCLUSIONES

- ✚ Las 50 muestras analizadas en este estudio, fueron positivas a bacterias aeróbicas, aislándose 66 microorganismos diferentes. En 68% de los pacientes la infección fue monobacteriano y en 32% polibacteriana.
- ✚ El 100% de las muestras fue estudiado mediante la preparación de frotis de 0.001 ml de orina y coloración de Gram, encontrando bacterias en el 100% de ellas, siendo 70% bacilos gram negativo, 23% bacteriología mixta (cocos y bacilos), 4% cocos gram positivos y 3% cocos gram negativos.
- ✚ Se encontró relación directa entre las infecciones urinarias polibacterianas y el tiempo de uso de catéter vesical, siendo más frecuentes después de los 4 años y en todos los casos después de los 5 años.
- ✚ Las Enterobacterias fueron las predominantes en los urocultivos de los pacientes con cateterismo vesical a largo plazo. Se reportaron con mayor frecuencia: *E. coli* (42%), *P. aeruginosa* (15%), *E. cloacae* (9%) y *E. aerogenes* (5%), *P. vulgaris* (9%), *P. mirabilis* (5%); y *Klebsiella spp* (6%) cuyo porcentaje corresponde a *K. pneumoniae* (5%) y *K. oxytoca* (1%). Estos resultados concuerdan con lo reportado en la literatura internacional.
- ✚ La mayoría de bacterias aisladas presentaron resistencia a los antibióticos estudiados, Ciprofloxacina 56%, seguida a Trimetoprim-Sulfametoxazole 64% y Amoxicilina 95%.
- ✚ *P. aeruginosa*, fue la bacteria que mostro mayor sensibilidad a Ciprofloxacina (70%), lo cual se explica por la mayor facilidad de las quinolonas para penetrar la biopelícula que producen estas bacterias.
- ✚ *E. coli*, fue la bacteria más comúnmente aislada (43%), y también la que presento mayor porcentaje de resistencia a Ciprofloxacina (82%). Este hallazgo señala la importancia de realizar urocultivos a este tipo de pacientes, ya que la falla

terapéutica sería alta al usar este tipo de antibiótico, de manera empírica para esta bacteria.

- ✚ Con respecto al Trimetoprim-Sulfametoxazole se encontró que la bacteria con mayor sensibilidad fue *Proteus spp* 55.5%, seguida de *Enterobacter spp* 44.4% y *E. coli* 32.1%.
- ✚ La multiresistencia fue apreciada para todas las bacterias y en especial para *E. coli* que fue también la bacteria más frecuentemente aislada; fueron resistentes a los 3 antibióticos 57% de las cepas. Fueron seguidas por *Klebsiella spp*, 50% de cepas.
- ✚ *P. aeruginosa* fue la bacteria que presentó el menor porcentaje de resistencia (10%) a los 3 antibióticos en estudio.

RECOMENDACIONES

- ✚ Establecer un sistema de vigilancia epidemiológica en el que se pueda llevar un registro de todos los pacientes que utilicen cateterismo vesical a largo plazo en el HNSR, y su historial clínico.
- ✚ Establecer guías de manejo por el departamento de urología del HNSR, para este tipo de pacientes de manera que exista un protocolo hospitalario de diagnóstico y tratamiento para mejorar su calidad de vida, racionalizar el uso de los antibióticos de acuerdo a los perfiles de sensibilidad de las bacterias y reducir el número de urgencias hospitalarias
- ✚ Implementar grupos de apoyo en los que se impartan charlas educativas y se brinde información para evitar las infecciones de vías urinarias asociadas a sonda.
- ✚ Se recomienda el uso de sistema cerrado (bolsa colectora) en los pacientes con sonda vesical, ya que se ha demostrado que este sistema retrasa el apareamiento de bacteriuria en estos pacientes.
- ✚ Realizar tinción de Gram a todas las muestras de orina de catéter, y analizarlas inmediatamente en el laboratorio del HNSR, ya que la tinción de gram es un método sencillo, económico, que orienta al médico sobre los posibles uropatógenos y le permite iniciar una terapia empírica en lo que se obtiene el resultado del urocultivo.
- ✚ Se recomienda que el HNSR, amplíe su horario de recepción de muestras para urocultivos, con el objetivo de captar a todos los pacientes independientemente del día que estos consulten.

- ✚ Promover en el personal médico el uso de la tinción de Gram en orina como un método de tamizaje, previo al urocultivo como una manera inmediata de abordar a este tipo de pacientes.
- ✚ Se recomienda dar seguimiento al estudio, utilizando otras alternativas de antibióticos.

ANEXOS



UNIVERSIDAD "DR. JOSE MATIAS DELGADO"
ESCUELA DE MEDICINA

ESTUDIO: AISLAMIENTO Y CARACTERIZACION DE LAS BACTERIAS AEROBICAS EN ORINA DE LA SONDA VESICAL EN PACIENTES CON CATETERISMO A LARGO PLAZO EN EL HNSR.

HOJA DE RECOLECCIÓN DE DATOS No. 1

Nombre del paciente: _____

No. Muestra: _____

TINCION DE GRAM (/ /)

	Gram positivo	Gram negativo
Bacilos		
Cocos		

CARACTERISTICAS DE COLONIAS (/ /)

Agar Sangre	EMB



UNIVERSIDAD "DR. JOSE MATIAS DELGADO"
ESCUELA DE MEDICINA

ESTUDIO: AISLAMIENTO Y CARACTERIZACION DE LAS BACTERIAS AEROBICAS EN ORINA DE LA SONDA VESICAL EN PACIENTES CON CATETERISMO A LARGO PLAZO EN EL HNSR.

HOJA DE RECOLECCIÓN DE DATOS NO. 2

HOJA DE RESULTADOS GENERALES BIOQUIMICAS

No.	Bisel	Fondo	Gas	H2S	Citrato	Ureasa	RM	VP	Mov	Indol	Ornitina	Lactosa	Bacteria



UNIVERSIDAD "DR. JOSE MATIAS DELGADO"
ESCUELA DE MEDICINA



ESTUDIO: AISLAMIENTO Y CARACTERIZACION DE LAS BACTERIAS AEROBICAS EN ORINA DE LA SONDA VESICAL EN PACIENTES CON CATETERISMO A LARGO PLAZO EN EL HNSR.

HOJA DE RECOLECCIÓN DE DATOS NO. 3

ANTIBIOGRAMAS

RESULTADOS GENERALES ANTIBIOGRAMA

Muestra	Amoxicilina	TMP/SMX	Ciprofloxacina



UNIVERSIDAD "DR. JOSE MATIAS DELGADO"
ESCUELA DE MEDICINA



ESTUDIO: AISLAMIENTO Y CARACTERIZACION DE LAS BACTERIAS AEROBICAS EN ORINA DE LA SONDA VESICAL EN PACIENTES CON CATETERISMO A LARGO PLAZO EN EL HNSR.

REPORTE DE RESULTADOS

Paciente: _____ Edad: _____ No. Exp.: _____

No. Muestra: _____ Toma de la muestra: _____

Estudio realizado: Urocultivo

Resultados:
Examen directo de orina:

Antibiograma:

Antibiótico	Sensible	Resistente	Indeterminado
Amoxicilina			
TMP/SMX			
Ciprofloxacina			

Fecha _____

Br. Eylon Adulfy Avilés
Br. Francisco Raúl Melchor

Revisado: _____
Dra. Leonor Murillo de Linares

Técnica de la coloración de Gram.³⁹ (Anexo 2)

1. Tomar 0.001 ml de orina con el asa calibrada y colocar sobre una lámina porta objetos.

Realizar la extensión de la muestra en el portaobjetos mediante movimientos giratorios; dejando una capa delgada.

Esperar que seque al aire libre o ayudarse con la llama de un mechero para fijar la muestra, teniendo en cuenta que el calor no debe ser directo (sólo se pasa por la llama), puesto que el calor excesivo puede cambiar la morfología celular de las bacterias a observar. El calor deseable es aquel en el que el portaobjeto sea apenas demasiado caliente para ser colocado sobre el dorso de la mano.

2. Una vez obtenido el frotis con la muestra, se procede a teñir la misma con cristal violeta, utilizando una cantidad suficiente de dicho colorante sobre la muestra, como para lograr cubrirla por completo. Se deja actuar al colorante por 1 minuto.

3. Al transcurrir el minuto, se debe enjuagar la lámina conteniendo la muestra con agua corriente. Para realizar el lavado, se debe tener en cuenta que el chorro de agua NO debe caer directamente sobre la muestra, ésta debe caer sobre la parte superior de la lámina que no contiene muestra. El chorro debe ser un chorro delgado, aproximadamente de medio a un centímetro de espesor. También el enjuague se debe realizar poniendo la lámina en posición inclinada hacia abajo.

4. Una vez enjuagado el portaobjetos, se aplica como mordiente yodo o lugol durante 1 minuto más.

5. Pasado el minuto de haber actuado el mordiente, el frotis se decolora con una mezcla de etanol absoluto y acetona (alcohol-acetona), hasta que ya no escurra más líquido azul. Para esto se utiliza el gotero del frasco del decolorante. Se van añadiendo cantidades suficientes del decolorante, hasta lograr que este salga totalmente transparente.

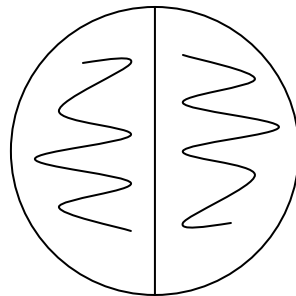
6. Lavar con agua para quitar los residuos de decolorante y esperar que seque la lámina al aire libre.

7. Cubrir por 10 a 30 segundos con Safranina (solución al 2.5% en alcohol al 95%)

8. Posteriormente, se procede a enjuagar la lámina con agua y permitir que seque. Luego se examina en el microscopio con lente de inmersión, con aceite especial de viscosidad adecuada.

Cultivo (procedimiento): (Anexo 3)

1. Mezclar bien la orina en la jeringa. Transferirla a un tubo estéril y taponarlo.
2. Utilizar un asa estéril calibrada de 0.001 ml, transferir una asada al agar sangre y sembrar según dibujo.
3. Transferir con el asa estéril al medio BAP por el método de estrías.



4. Hacer lo mismo en el medio EMB
5. Incubar a 35°. Centígrados por un período de 18-24 horas.
6. Después de la incubación, verificar si hubo crecimiento bacteriano y anotar número de colonias, y describir características de las colonias: tamaño, forma, color, pigmento. Hacer coloración de Gram y subcultivo de cada tipo de colonia.
7. Incubar los subcultivos, anotar la morfología microscópica de las bacterias de cada colonia.

Antibiograma (Anexo 4).

1. Con el asa flameada y fría tomar el crecimiento de un subcultivo.
2. Inocular un tubo con 4ml de caldo tripticasa soya (TSA).
3. Incubar el caldo de 2 a 5 horas a 36°. Centígrados, hasta que aparezca una ligera turbidez.
4. Ajustar la turbidez del caldo a la turbidez del estándar de Mac Farland. Si el caldo es más turbio que el estándar agregarle más caldo o solución salina.
5. Antes de 15 minutos de diluidos los caldos, inocular la caja presecada de agar Muller-Hinton.
6. Con el hisopo exprimido sembrar la caja en tres direcciones opuestas sobre toda la superficie, cerca del mechero encendido.
7. Dejar secar la caja de 3-5 minutos, pero no más de 15 minutos, con la tapadera cerrada.
8. Con pinzas estériles colocar los discos impregnados con Amoxicilina, Trimetroprim-sulfametoxazole y Ciprofloxacina. De manera que queden los más separados posible entre cada uno de los discos.
9. Con las pinzas flameadas y frías presionar los discos ya colocados para adherirlos bien al medio de cultivo.
10. Invertir las cajas e incubarlas por 16-18 horas a 35°. Centígrados.
11. Después de 16-18 horas de incubación, examinar con buena luz, las cajas ya crecidas.
12. Medir en milímetros el diámetro de los halos de inhibición completa con una regla por detrás de la caja de Petri.
13. Interpretar los resultados según la tabla y clasificar en: Sensible (S), Resistente (R), Intermedio (I).
14. Anotar los resultados en la hoja de reporte final.



CONSENTIMIENTO INFORMADO (Anexo 5)
UNIVERSIDAD "DR. JOSE MATIAS DELGADO"
ESCUELA DE MEDICINA



ESTUDIO: AISLAMIENTO Y CARACTERIZACION DE LAS BACTERIAS AEROBICAS EN ORINA DE LA SONDA VESICAL EN PACIENTES CON CATETERISMO A LARGO PLAZO EN EL HNSR.

Título:

Aislamiento y caracterización de las bacterias aeróbicas en orina de catéter vesical en pacientes con cateterismo a largo plazo.

Investigadores:

Eylen A. Avilés Aguilar, Francisco R. Melchor Mancía. Estudiantes de la Carrera de Medicina de la Universidad Dr. José Matías Delgado.

Lugar:

Hospital Nacional San Rafael.

INTRODUCCION.

Usted ha sido invitado a participar en un estudio de investigación. Antes de que usted decida participar en el estudio por favor lea este consentimiento informado cuidadosamente. Haga todas las preguntas que usted tenga, para asegurarse de que entienda los procedimientos del estudio incluyendo los riesgos y los beneficios.

PROPOSITO

Según la literatura internacional las infecciones de vías urinarias asociadas a catéter vesical, actualmente son muy frecuentes. Ya que constituyen el 40% de todas las infecciones institucionales adquiridas. Debido a esto se ha reportado un incremento en la mortalidad y un considerable impacto económico.

En el HNSR no existen estudios que demuestren los microorganismos causantes de las infecciones de vías urinarias asociadas a catéter vesical, ni su sensibilidad a los antibióticos disponibles en su cuadro básico.

Con esta investigación se pretende definir las características del problema, para contribuir a un mejor manejo de estas infecciones.

OBJETIVOS.

- Determinar la bacteria más comúnmente aislada en los cultivos de orina de pacientes con cateterismo vesical a largo plazo.
- Identificar la polimicrobiología de las infecciones de vías urinarias asociadas a catéter vesical.
- Determinar la sensibilidad y resistencia de las bacterias aisladas de los cultivos de orina de pacientes con cateterismo vesical a largo plazo al Trimetoprim-Sulfametoxazole, Amoxicilina y Ciprofloxacina.

PARTICIPANTES DEL ESTUDIO.

El estudio es completamente voluntario. Usted puede abandonar el estudio en cualquier momento sin ser penalizado ni perder los beneficios

Se espera la integración de 80 participantes, todos del sexo masculino con uso de cateterismo vesical a largo plazo.

PROCEDIMIENTO.

En el momento que el paciente llega a su cambio de sonda vesical, se tomará la muestra de orina. Se pinzará la sonda vesical, en la que se realizará una adecuada asepsia y antisepsia para posteriormente extraer a través de una jeringa 3 cc de orina contenida en el catéter vesical del paciente, la cual será analizada.

RIESGOS E INCOMODIDADES.

La extracción de la muestra de orina del catéter vesical a través de una jeringa, no representa riesgo alguno para el participante.

Su condición no se verá afectada mientras usted está en el estudio.

Solamente usted y un investigador serán participes en la toma de la muestra de orina.

BENEFICIOS.

Es probable que usted no reciba ningún beneficio personal por participar en este estudio. Su condición podría mejorar como resultado de su participación en este estudio, aunque no hay ninguna garantía de que esto suceda.

La información de este estudio de investigación podría conducir a un mejor tratamiento para el futuro.

COSTOS.

Los medicamentos a evaluar serán provistos por los investigadores encargados del estudio.

No hay ningún costo por el uso de los materiales, ni por la toma de la muestra, al igual que su procesamiento y análisis de resultados.

A usted no se le pagará nada por formar parte del estudio.

PRIVACIDAD Y CONFIDENCIALIDAD.

Si usted elige participar en el estudio, el investigador del estudio conseguirá información personal sobre usted. Esto puede que incluya la información que puede identificarle a usted.

El patrocinador analizará y evaluará los resultados del estudio.

La información será brindada al Hospital Nacional San Rafael.

Los resultados de esta investigación pueden ser publicados en revistas científicas o ser presentados en las reuniones médicas, pero la identidad suya no será divulgada.

Si usted cancela esta autorización, el Investigador Principal no usará ni divulgará su información personal ni de su salud bajo la autorización para este estudio. Esta información sólo se divulgará en caso que se necesite la información personal de su salud para preservar la integridad científica del estudio.

No firme este consentimiento a menos que usted haya tenido la oportunidad de hacer preguntas y recibir contestaciones satisfactorias para todas sus preguntas.



CONSENTIMIENTO INFORMADO (Anexo 5)
UNIVERSIDAD "DR. JOSE MATIAS DELGADO"
ESCUELA DE MEDICINA



ESTUDIO: AISLAMIENTO Y CARACTERIZACION DE LAS BACTERIAS AEROBICAS EN ORINA DE LA SONDA VESICAL EN PACIENTES CON CATETERISMO A LARGO PLAZO EN EL HNSR.

Con este estudio se identificarán las bacterias presentes en la orina de pacientes con sonda vesical y se determinará que antibiótico es el adecuado para tratar este tipo de infección.

Procedimiento.

Se tomará una muestra de orina de la sonda vesical, la cual será analizada por los investigadores responsables.

Beneficios.

Los pacientes con sonda vesical obtendrán un manejo adecuado y dirigido a las bacterias causantes de la infección.

Se dará a conocer a las instituciones de salud la epidemiología de estas infecciones y la sensibilidad de los antibióticos; de manera que contribuirá a los hospitales de la red nacional, a abastecerse de medicamentos que sean efectivos contra este tipo de infección.

Gastos.

Los gastos serán asumidos por parte de los investigadores; y la institución (Hospital Nacional San Rafael) se encargará de dar el tratamiento, si éste se encuentra disponible.

Confidencialidad.

Los resultados serán agregados al expediente clínico respectivo, y solamente el médico y el paciente conocerán los resultados.

Consentimiento.

Después de haber leído y comprendido este documento y haber resuelto las dudas que tenía, doy mi conformidad para participar en él.

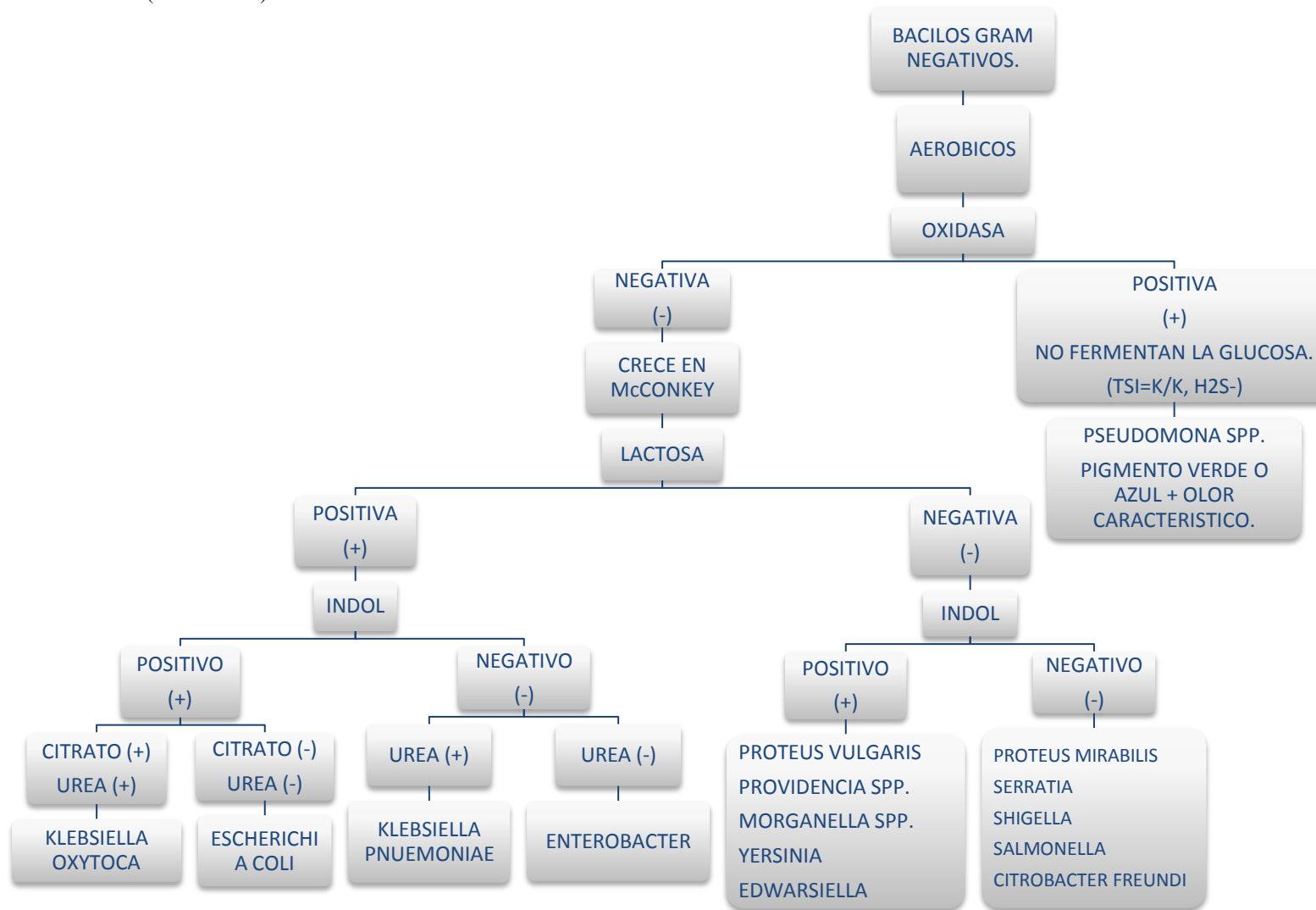
Lugar y fecha, _____ de _____ 2010

Paciente

Investigador

Testigo

FLUJOGRAMA (ANEXO 6)



CRONOGRAMA (Anexo 7).

<u>OCTUBRE</u>						
L	M	M	J	V	S	D
				1	2	3
4	5	6	7	8	9	10
11 Toma de muestras	12 Subcultivos	13 Lectura de subcultivos. Antibiograma	14 Lectura de antibiogramas	15 Análisis de resultados	16	17
18 Toma de muestras	19 Subcultivos	20 Lectura de subcultivos. Antibiograma	21 Lectura de antibiogramas	22 Análisis de resultados	23	24
25 Toma de muestras	26 Subcultivos	27 Lectura de subcultivos. Antibiograma	28 Lectura de antibiogramas	29 Análisis de resultados	30	31

<u>NOVIEMBRE</u>						
L	M	M	J	V	S	D
1	2	3 Toma de muestras	4 Subcultivos	5 Lectura de subcultivos. Antibiograma	6 Lectura de antibiogramas	7 Análisis de resultados
8	9	10 Toma de muestras	11 Subcultivos	12 Lectura de subcultivos. Antibiograma	13 Lectura de antibiogramas	14 Análisis de resultados
15	16	17 Toma de muestras	18 Subcultivos	19 Lectura de subcultivos. Antibiograma	20 Lectura de antibiogramas	21 Análisis de resultados
22	23	24	25	26	27	28
29	30					

	Octubre	Noviembre	Diciembre	Enero
Recolección y procesamiento De muestras.	X			
Análisis de Resultados		X		
Presentación trabajo final			X	
Defensa de Tesis				X

BIBLIOGRAFIA

1

Harrison's Principles of Internal Medicine, 17th Edition (9780071466332): Anthony S. Fauci, Eugene Braunwald, Dennis L. Kasper, Stephen L. Hauser, Dan L. Longo, J. Larry Jameson, Joseph Loscalzo: Books [Internet]. [cited 2010 Abr 8].

2

Foxman B. Epidemiology of urinary tract infections: incidence, morbidity, and economic costs. *Dis Mon.* 2003 Feb;49(2):53-70.

3

Mobley HL, Chippendale GR, Tenney JH, Hull RA, Warren JW. Expression of type 1 fimbriae may be required for persistence of *Escherichia coli* in the catheterized urinary tract. *J. Clin. Microbiol.* 1987 Dic;25(12):2253-2257.

4.

Catheter-associated urinary tract infection : Current Opinion in Infectious Diseases [Internet]. [cited 2010 Mar 3]; Available from: http://journals.lww.com/co-infectiousdiseases/Abstract/1992/08000/Catheter_associated_urinary_tract_infection.4.aspx

5

Blaettler L, Mertz D, Frei R, Elzi L, Widmer AF, Battegay M, et al. Secular trend and risk factors for antimicrobial resistance in *Escherichia coli* isolates in Switzerland 1997-2007. *Infection.* 2009 Dic; 37(6):534-539.

6

Gould CV, Umscheid CA, Agarwal RK, Kuntz G, Pegues DA. Guideline for Prevention of Catheter-Associated Urinary Tract Infections 2009. *Infect Control Hosp Epidemiol* [Internet]. 2010 Feb 15 [cited 2010 Mar 3]; Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20156062>

7

Ha U, Cho Y. Catheter-associated urinary tract infections: new aspects of novel urinary catheters. *Int. J. Antimicrob. Agents.* 2006 Dic; 28(6):485-490.

8

Warren JW, Tenney JH, Hoopes JM, Muncie HL, Anthony WC. A prospective microbiologic study of bacteriuria in patients with chronic indwelling urethral catheters. *J. Infect. Dis.* 1982 Dic; 146(6):719-723.

9

Bi X, Zhang B, Ye Y, He H, Han Z, Dai Q, et al. Pathogen incidence and antibiotic resistance patterns of catheter-associated urinary tract infection in children. *J Chemother.* 2009 Dic; 21(6):661-665.

10

Center for Disease Control. National Nosocomial Infections Study Report, Atlanta: Center for Disease Control, November 1979: 2-14.

11

Wong, E. Hooton ,T. Departament of health and human service. Public health Service. CDC. USA Publication date: 02/01/1981

12

Centers for Disease Control and Prevention, Guideline for Prevention of Catheter-associated Urinary Tract Infection, revised 2002.

13

National Center for Health Statistics, Centers for Disease Control and Prevention, U.S. Dept. of Health and Human Services, September 2004. Series 13, No.157. Hyattsville, MD.

14

Turck M, Goffe B, Petersdorf RG. The urethral catheters and urinary tract infection. *J Urol* 1962;88:834-7.

15

Hospital Santiago Oriente "Dr. Luis Tisné Brousse", Guía de práctica clínica; prevención de infecciones urinarias relacionadas con catéteres urinarios permanentes. 2004;

16.

SÁNCHEZ I, ZARAGOZA M. Sonda vesical permanente. Rev Rol Enferm 1997; 116: 57-60.

17.

WILKIE ME, ALMOND MK, MARSH FP. Diagnosis and management of urinary tract infections in adults. Br Med J 1992; 305: 1137-1141.

18.

BARRASA JI, GUERRERO JL, ASPIROZ C. Las infecciones urinarias en los pacientes con sonda vesical no permanente. Diagnóstico, tratamiento, prevención y líneas de investigación. MedClin (Barc) 1996; 106: 704-710.

19.

Verdejo Bravo C. Infección Uniraria asociada al catéter vesical. Guía de buena práctica clínica en geriatría. Sociedad Española de Geriatría y gerontología. 2005; 49-64.

20.

Warren J. Nosocomial urinary tract infections. Mandell 2005. Chapter 302.

21.

Rodríguez Vega A, Vargas Franco A, et al. Microbiología de la infección urinaria nosocomial. www.encolombia.com/medicina/pediatria/pedi37402-infeccion2.htm.

22.

Kreger BE, Craven DE, McCabe WR. Gram-negative bacteremia IV. Re-evaluation of clinical features and treatment in 612 patients. Am J Med 1980;68:344-55.

23.

Mooney BS, Garibaldi RA, Britt MR. Natural history of catheter-associated bacteriuria (colonization, infection, bacteremia): implication for protection. In: Proceedings of the 11th International Congress of Chemotherapy and the 19th Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy. Boston. October 8-12, 1979. Washington, D.C.; American Society of Microbiology 1980:1083-5.

24.

Kunin CM. Detection, prevention, and management of urinary tract infections. 3rd ed. Philadelphia: Lea and Febiger, 1979. 9. Steere AC, Stamm WE, Martin SM, Bennett JV. Gram-negative rod bacteremia. In: Bennett JV, Brachman PS, eds. Hospital infections. Boston: Little, Brown and Company. 1979:507-18.

25

Garibaldi RA, Burke JP, Britt MR, Miller WA, Smith CB. Meatal colonization and catheter-associated bacteriuria. *N Engl J Med* 1980;303:316-8.

26

WONG ES. Guidelines for prevention of catheter associated urinary tract infections. *Am J Infec Control* 1983; 11: 28-33.

27

Evolución de la prevalencia de las infecciones nosocomiales en los hospitales españoles. EPINE 1990-1997. Sociedad Española de Medicina Preventiva, Salud Pública e Higiene (SEMPSPH). Madrid 1998.

28

Sociedad Chilena de Infectología. Recomendaciones para el diagnóstico microbiológico de la infección urinaria. *Rev Chil Infect.* (2001); 18 (1): 57-63.

29

Klumpp D, Weiser A, Sengupta S, Forrestal S, Batler R, Schaeffer A. Uropathogenic *Escherichia coli* potentiates type 1 pilus-induced apoptosis by suppressing NF- κ B. *Infect Immun* 2001;69:6689-95.

30

Mulvey M, Lopez-Boado Y, Wilson C, Roth R, Parks W, Heuser J, et al. Induction and evasion of host defenses by type 1-piliated uropathogenic *Escherichia coli*. *Science* 1998;282:1494-7.

31

Pratt L, Kolter R. Genetic analysis of *Escherichia coli* biofilm formation: roles of flagella, motility, chemotaxis and type I pili. *Mol Microbiol* 1998;30:285.

32

Davies D, Parsek M, Pearson J, Iglewski B, Costerton J, Greenberg E. The involvement of cell-to-cell signals in the development of a bacterial biofilm. *Science* 1998;280:295-8.

33

Costerton J, Lewandowski S, Caldwell D, Korber D, Lappin-Scott H. Microbial biofilms. *Annu Rev Microbiol* 1995;49:711-45.

34

Olson M, Nickel J, Khoury A, Morck D, Cleeland R, Costerton J. Amdinocillin treatment of catheter-associated bacteriuria in rabbits. *J Infect Dis* 1989;159:1065-72.

35

Roberts A, Pratten J, Wilson M, Mullany P. Transfer of a conjugative transposon, Tn5397 in a model oral biofilm. *FEMS Microbiol Lett* 1999;177:63-6.

36

Getliffe K, Newton R. Catheter-associated urinary tract infections in primary and community health care. *Age and Aging*. 2006; 35: 447-481.

37

PLATT R, POLK BF, MURDOCK B, ROSNER B. Risk factors for nosocomial urinary tract infection. *Am J Epidemiol* 1986; 124: 977-985.

38

BROSEMA DA, ADAMS JR, PALLARES R, WENZEL R. Secular trends in rates and etiology of nosocomial urinary tract infections at a university hospital. *J Urol* 1993; 150: 414-416.

39

Maki D, Tambyah P. CDC - Engineering out the risk of infection with urinary catheters. 2001. Available at: <http://www.cdc.gov/ncidod/eid/vol7no2/maki.htm>. Accessed April 2; 2010.

40

Garibaldi RA, Burke JP, Britt MR. Meatal colonization and catheter-associated bacteriuria. *N. Eng J Med* 1980; 303(6):316-318.

41

Ministerio de Salud de Cusco, Perú. Guía para la prevención de infecciones asociadas a catéter vesical. : Enero 2006.

42

Kunin CM. Detection, prevention, and management of urinary tract infections. 3rd ed. Philadelphia: Lea and Febiger, 1979.

43

Steere AC, Stamm WE, Martin SM, Bennett JV. Gram-negative rod bacteremia. In: Bennett JV, Brachman PS, eds. Hospital infections. Boston: Little, Brown and Company. 1979:507-18.

44

Harrison's Principles of Internal Medicine, 17th Edition (9780071466332): Anthony S. Fauci, Eugene Braunwald, Dennis L. Kasper, Stephen L. Hauser, Dan L. Longo, J. Larry Jameson, Joseph Loscalzo

45

C. George Ray, John C. Sherris, Kenneth J. Ryan. Sherris Medical Microbiology: An Introduction to Infectious Diseases (9780071212458). 4° ed. Mc Graw Hill; 2003. Capítulo 14.

46

Gerardo Becerra,* Arturo Plascencia,** Antonio Luévanos,** Miguel Domínguez,* Iván Hernández*. Mecanismo de resistencia a antimicrobianos en bacterias. ENF INF MICROBIOL. 2009; 29(2):70-76.

47

Katzung B, Masters S, Trevor A. Basic and Clinical Pharmacology, 11th Edition. 11° ed. McGraw-Hill Medical; 2009.

48

Daza Pérez R.M. Resistencia bacteriana a antimicrobianos: su importancia en la toma de decisiones en la práctica diaria. Información Terapéutica del Sistema Nacional de Salud.1998; 22(3).

49

Callow JA, Callow ME. "Biofilms". *Prog Mol Subcell Biol* 2006; 42: 141-169.

50

Gilbert P, Allison DG, McBain AJ. "Biofilms *in vitro* and *in vivo*: Do singular mechanisms imply cross-resistance?" *J Appl Microbiol* 2002; 92: 98S-110S.

51

Lewis K. "Riddle of biofilm resistance". *Antimicrob Agents Chemother* 2001; 45: 999-1007.

52

Anderl JN, Franklin MJ, Stewart PS. "Role of antibiotic penetration limitation in *Klebsiella pneumoniae* biofilm resistance to ampicillin and ciprofloxacin". *Antimicrob Agents Chemother* 2000; 44: 1818-1824.

53

Anderl JN, Zahller J, Roe F, Stewart PS. "Role of nutrient limitation and stationary-phase existence in *Klebsiella pneumoniae* biofilm resistance to ampicillin and ciprofloxacin". *Antimicrob Agents Chemother* 2003; 47: 1251-1256.

54

Hoffman LF, D'Argenio DA, MacCoss MJ, Zhang Z, Jones RA, Miller S. "Aminoglycoside antibiotics induce bacterial biofilm formation". *Nature* 2005; 436: 1171-1175.

55

C. George Ray, John C. Sherris, Kenneth J. Ryan. *Sherris Medical Microbiology: An Introduction to Infectious Diseases* (9780071212458). 4^o ed. Mc Graw Hill; 2003. Capítulo 15.

56

Acuña Urrutia, Menjívar Hernández. *Infección de Sitio Operatorio y Bacteriología aeróbica de los pacientes de cirugía general del Hospital San Rafael Julio-Septiembre 2004*.

57

Ellen Jo baron, Lance R. Peterson, Sydney M. Finegold. *Bailey & Scott's Diagnostic Microbiology*. 12^o ed. Mosby;

58

Patrick R. Murray, Ellen Jo Baron, Michael A. Pfaller, Fred C. Tenover, robert H. Yolken. *Manual of Clinical Microbiology*. Novena edición. ASM PRESS; Washington, D.C.

⁵⁹ Clarridge J E, Johnson J R, Pezzlo M T, laboratory diagnosis of urinary tract infections. *CUMITECH* (Cumulative Techniques and Procedures in clinical Microbiology) ASM Press 2B. nov. 1998, pag. 1-19.

⁶⁰ Urine culture Procedure. In: HD. Isenberg. Eds, *Clinical Microbiology Procedures Handbook*. 1992, ASM Press, Washington, DC, 1.17.1-1.17.15.

⁶¹

Johansen TEB, Cek M, Naber KG, Stratchounski L, Svendsen MV, Tenke P. Hospital acquired urinary tract infections in urology departments: pathogens, susceptibility and use of antibiotics. Data from the PEP and PEAP-studies. *Int. J. Antimicrob. Agents*. 2006 Ago;28 Suppl 1:S91-107.