



UNIVERSIDAD PERUANA
CAYETANO HEREDIA

Facultad de
MEDICINA

**ESTABILIDAD DE MUESTRAS DE ORINA PARA UROCULTIVOS
RECOLECTADOS EN DISPOSITIVOS CON Y SIN CONSERVANTE.
URINE SAMPLE STABILITY FOR URINE CULTURES COLLECTED ON
DEVICES WITH AND WITHOUT A PRESERVATIVE.**

**TESIS PARA OPTAR POR EL TÍTULO PROFESIONAL DE
LICENCIADO EN TECNOLOGÍA MÉDICA EN LA ESPECIALIDAD DE
LABORATORIO CLÍNICO Y ANATOMÍA PATOLÓGICA**

AUTORES:

CLAUDIA ALEJANDRA MORENO LAZARTE.

DIANIRA ABIGAIL HURTADO CONCHA.

ASESOR:

Lic. TM. SILVIA FLORES TOLEDO.

CO-ASESOR:

Dr. JOSÉ CARLO JARA AGUIRRE.

LIMA - PERÚ

2023

JURADO

Presidente: Lic. T.M. David Siqueros Huamán
Vocal: Lic. T.M. Jaime José Figueroa Tataje
Secretario: Lic. T.M. Delia Margot Faustino Arias

Fecha de Sustentación: sábado 05 de agosto del 2023.

Calificación: Aprobado.

ASESORES DEL TRABAJO DE TESIS

ASESOR

Licenciada. TM. Silvia María Flores Toledo

Departamento Académico de Tecnología Médica – Facultad De medicina

ORCID: 0000-0003-4067-5355

CO-ASESOR

Medico Patólogo Clínico José Carlo Jara Aguirre

Departamento Académico de Tecnología Médica – Facultad De medicina

ORCID: 0000-0002-1832-4973

DEDICATORIA

A Dios por permitirnos culminar una etapa más de nuestras vidas.

A nuestros padres por ser nuestro apoyo incondicional, por brindarnos siempre su cariño y comprensión a lo largo de toda nuestra carrera.

AGRADECIMIENTOS

Agradecemos a nuestros asesores por su apoyo incondicional, por compartirnos sus conocimientos y su empatía durante todo este tiempo de desarrollo de nuestro proyecto de tesis. A nuestros profesores de Estadística por el apoyo en el análisis de datos.

A la Dra. Aida Palacios y Dra. Katherine Amaro, del Hospital Nacional Cayetano Heredia por su asesoría y darnos las facilidades para poder realizar el trabajo de investigación.

A la Facultad de Medicina de la UPCH por apoyarnos con la realización de nuestro trabajo.

A la empresa Becton Dickinson, por facilitarnos los “BD Vacutainer Plus Orina C&S Tubo conservante”, que fueron los dispositivos usados en nuestro trabajo de investigación.

FUENTES DE FINANCIAMIENTO

El presente estudio ha tenido colaboración de la marca Becton Dickinson, quien nos brindó el sistema de toma de muestra con aditivos estéril para urocultivos gracias a la gestión realizada por la Lic. TM Silvia Flores Toledo, asesora de este trabajo. Los gastos adicionales que se requirió en el trabajo de investigación fueron financiados con fondos propios de las investigadoras.

DECLARACIÓN DE CONFLICTO DE INTERÉS

Las autoras del presente trabajo de tesis declaramos no tener ningún conflicto de interés. En tanto que, las opiniones vertidas y así como sus discusiones están sujetas a la total responsabilidad de las autoras del presente trabajo de investigación.

RESULTADO DEL INFORME DE SIMILITUD

ESTABILIDAD DE MUESTRAS DE ORINA PARA UROCULTIVOS RECOLECTADOS EN DISPOSITIVOS CON Y SIN CONSERVANTE

INFORME DE ORIGINALIDAD

8%

INDICE DE SIMILITUD

8%

FUENTES DE INTERNET

2%

PUBLICACIONES

1%

TRABAJOS DEL
ESTUDIANTE

FUENTES PRIMARIAS

1

www.scribd.com

Fuente de Internet

1%

2

pesquisa.bvsalud.org

Fuente de Internet

1%

3

www.elsevier.es

Fuente de Internet

1%

4

www.slideshare.net

Fuente de Internet

<1%

5

de.slideshare.net

Fuente de Internet

<1%

6

www.xuletas.es

Fuente de Internet

<1%

7

core.ac.uk

Fuente de Internet

<1%

8

prezi.com

Fuente de Internet

<1%

9

repositorio.udch.edu.pe

Fuente de Internet

TABLA DE CONTENIDOS

I. INTRODUCCIÓN	1
II. OBJETIVOS	6
III. MATERIAL Y MÉTODOS	7
3.1 PROCEDIMIENTOS Y TÉCNICAS	8
3.1.1 Recolección de muestras de orina	8
3.1.2 Cultivo de muestras de orina	10
3.1.3 Análisis Estadístico	11
IV. RESULTADOS	13
V. DISCUSIÓN	17
VI. CONCLUSIONES	24
VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	25
VIII. TABLAS, GRÁFICOS Y FIGURAS	

RESUMEN

Antecedentes: Urocultivo es el examen confirmatorio de ITU. La muestra requerida es orina estéril, que debe ser entregada para su procesamiento dentro de las 2 horas de su emisión. Por lo tanto, su recolección, conservación y transporte son críticos para emitir resultados seguros para el diagnóstico de ITU. **Objetivos:** Determinar la estabilidad de las muestras de orina para urocultivo recolectadas en envases estériles sin conservante, y con aditivo conservante. **Materiales y Métodos:** Se realizó un estudio descriptivo longitudinal en muestras de orina (n=221) colectadas en envases estériles de boca ancha para Urocultivo, para el estudio se obtuvieron 2 alícuotas a su llegada para su evaluación, conservándose en Dispositivo A (envase sin aditivo) refrigerada (4 -8°C) y Dispositivo B (BD Vacutainer Plus Orina C&S Tubo conservante) a temperatura ambiente. Los urocultivos se procesaron en paralelo, en intervalos de tiempos de 2, 4, 8 y 24 horas siguiendo el procedimiento estándar del Servicio de Laboratorio del Hospital Cayetano Heredia. **Resultados:** Los dispositivos A sin aditivo en refrigeración, mostraron cambios estadísticamente significativos a partir de las 2 horas de conservación; los urocultivos positivos para uropatógenos se incrementaron progresivamente, los urocultivos negativos sin crecimiento migraron hacia el crecimiento contaminante y positivo. En los dispositivos B con conservante mantenidos a temperatura ambiente, los cambios fueron mínimos, sin variación estadísticamente significativa en el número de urocultivos positivos, y negativos durante el periodo de estudio. **Conclusión:** El uso de dispositivos con aditivos conservantes mantuvo la estabilidad de la muestra de orina para urocultivos hasta por 24 horas a temperatura ambiente.

PALABRAS CLAVE: Envase de orina, Orina, Estabilidad.

ABSTRACT

Background: Urine culture is the confirmatory test for urinary tract infection - UTI. The required sample is sterile urine, which must be delivered for processing within 2 hours of collection. Therefore, its collection, conservation and transport are critical steps to obtain reliable results for UTI diagnosis. **Objectives:** Determine stability of urine samples collected for urine culture in sterile containers without preservative, and with preservative/additive. **Materials and Methods:** A longitudinal descriptive study was carried out on urine samples (n=221) collected in sterile wide-mouthed containers for urine culture. For the study, 2 aliquots were obtained upon arrival for evaluation, and kept in: Device A (urine container without additive) refrigerated (4 -8°C) and Device B (BD Vacutainer Plus Urine C&S Preservative Tube) at room temperature. The urine cultures were processed in parallel, at time intervals of 2, 4, 8, and 24 hours, following the standard procedures of Microbiology Department of Cayetano Heredia Hospital. **Results:** Devices A without additive in refrigeration, showed statistically significant changes after 2 hours of conservation; positive urine cultures for uropathogens increased progressively, negative urine cultures with no growth migrated towards contaminating and positive growth. In devices B with preservative kept at room temperature, the changes were minimal, without statistically significant variation in the number of positive and negative urine cultures during the study period. **Conclusion:** The use of devices with preservative additives maintained the stability of the urine sample for urine cultures for up to 24 hours at room temperature.

Key Word: Urine supply, Urine, Stability.

I. INTRODUCCIÓN

Las infecciones del tracto urinario (ITU) se encuentran entre las enfermedades infecciosas más comunes a nivel mundial y nuestro país no es la excepción (1); por ello ante la sospecha de ITU durante la evaluación clínica se realiza un examen de orina como criterio inicial de descarte del proceso, posteriormente se solicita un urocultivo, que permite obtener el diagnóstico confirmatorio, considerando que el cultivo aporta la identificación bacteriana cuantitativa. El urocultivo es un examen que permite la identificación y recuento del microorganismo causante de la infección, así como la respectiva susceptibilidad antibiótica (1); y por lo tanto, representa un volumen significativamente importante de solicitudes de pruebas en laboratorios de microbiología. Debemos especificar que ITU se define como la presencia de microorganismos patógenos en las vías urinarias, es la patología infecciosa bacteriana más frecuente en el ser humano en atención ambulatoria e intrahospitalaria (2-5), se estima que se diagnostican cerca de 150 millones de casos de ITU por año a nivel mundial (1). En el Perú es la segunda causa más común de las infecciones atendidas en centros de atención primaria (2), a pesar de ello, no existe una estadística nacional integrada actualizada. Sin embargo, estudios realizados en Perú, España y Chile determinan que hasta un 20% de las solicitudes de urocultivos resultan positivos a patógenos que requieren tratamiento (6, 7, 8). Otro aspecto por considerar son algunos nuevos parámetros que se deben integrar al criterio diagnóstico. Así, tradicionalmente se considera como indicativos de infección urinaria los recuentos bacterianos patógenos iguales o mayores de 100 000 bacterias/ml (10^5 UFC/ml), hoy existen nuevos criterios de interpretación para el resultado del urocultivo que se propone sean incluidos para su correcta aplicación

clínica que implican recuentos menores; desde >100 UFC/ml en pacientes con catéter con síntomas clínicos relevantes o Cistitis recurrente en mujeres jóvenes con bacteriuria asintomática, en el embarazo recuentos > 10000 UFC/ml en presencia de aislamiento de uropatógeno (Anexo 01) (1).

Por todo lo anterior descrito es necesario trabajar en optimizar la exactitud diagnóstica de todos los análisis de laboratorio clínico incluido el urocultivo. Esta exactitud diagnóstica dependerá de dos componentes principales: a) la estabilidad de la muestra, definida por Guder como “La capacidad de la muestra para mantener la propiedad inicial de un constituyente medido durante un período de tiempo dentro de los límites especificados cuando la muestra se almacena en condiciones definidas” (9) y b) la calidad en la ejecución de las tres etapas del proceso total del análisis: la primera etapa, pre - analítica: definida como el proceso inicial que incluye la emisión de la orden médica, preparación del paciente para la emisión de la muestra, colección de la muestra, su conservación y transporte, hasta su recepción por el laboratorio para su determinación analítica. La segunda etapa, analítica: corresponde al procesamiento de la muestra y validación analítica; y finalmente, la etapa post analítica: validación clínica, emisión de resultado; etapas que deben cumplirse correctamente para evitar errores involuntarios en el resultado final, que puedan afectar al paciente (10,11).

En el Perú, los criterios pre - analíticos para la colecta, conservación y transporte de la muestra de orina para urocultivos en pacientes ambulatorios son generales, no estandarizados, y dependen de la guía o procedimiento utilizado, establecido por el laboratorio clínico o centro hospitalario respectivo, adoptando criterios nacionales

o guías internacionales (12, 13, 14). Así, en la bibliografía revisada, encontramos que existe en el Perú el Manual de Procedimientos de Laboratorio Clínico autorizado en 2013 con directivas generales y el “Manual de procedimientos Bacteriológicos en Infecciones Intrahospitalarias del INS”, que establece procedimientos sobre la colecta de casos especiales como en pacientes mujeres hospitalizadas, aspiración por catéter vesical permanente y por aspiración suprapúbica en el caso de los hombres (15).

Con relación a las indicaciones sobre la colecta para la obtención de las muestras de orina para el urocultivo, los pacientes ambulatorios adultos reciben indicaciones sobre: la higiene de la zona, emisión del chorro medio en un frasco de boca ancha, cerrar el frasco, transportar y entregar la muestra dentro de las dos horas de la emisión de muestra. Al llegar al laboratorio la muestra es validada/aceptada por el personal de laboratorio (11, 13). Siguiendo estas indicaciones, los pacientes colectan y transportan las muestras en envases estériles a temperatura ambiente, en algunos casos pueden emitir la muestra en el laboratorio clínico o centro hospitalario; para el caso de pacientes hospitalizados las muestras son transportadas por el personal de salud del área, en frascos estériles, sondas o bolsas colectoras, paso que se debería cumplir inmediatamente después de la colecta. En todos los casos el tiempo y posibles contaminantes surgen como variables que influyen en la etapa pre - analítica debido a que pueden causar contaminación o deterioro de las muestras (11). Otra variable que influye es el “tiempo de demora del procedimiento de registro de la muestra y entrega de la misma al servicio de microbiología para su posterior procesamiento y análisis”, por lo que el tiempo de transporte y la conservación de la muestra de orina es crítica en la determinación del Urocultivo;

y contribuye al riesgo potencial en el deterioro o contaminación de la muestra. Algunos estudios sugieren que en ciertas condiciones se considere el uso de dispositivos con aditivos que permitan mantener las muestras en condiciones adecuadas para el procesamiento del urocultivo (11, 16). Debido a estas variables existen recomendaciones nacionales e internacionales para la correcta recolección de la muestra de orina; como las descritas en el Manual de Procedimientos de Laboratorio del Instituto Nacional de Salud- Ministerio de Salud del Perú, de la Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica (SEIMC) y la guía del Clinical Laboratory Standards Institute (CLSI) GP16-A3: Urinalysis Guideline Third edition, entre otras, que describen recomendaciones específicas para la correcta recolección y transporte de la muestra de orina (11, 12, 17). Así mismo existen diferentes estudios sobre recomendaciones para evitar la contaminación durante la colecta de la muestra de orina (7, 18,19) y otros que establecen criterios para el correcto transporte de la muestra con la finalidad de asegurar la estabilidad de la orina y evitar efectos de la contaminación bacteriana, daño o muerte de las bacterias de relevancia clínica (18). Dentro de estos criterios importantes para el diagnóstico de ITU (8 - 12), resalta el tiempo desde la recepción de la muestra por el laboratorio clínico hasta su procesamiento, el mismo que no debe exceder a las 2 horas mantenidas a temperatura ambiente (7, 8, 10, 17, 19) y en el caso de que no sea posible su procesamiento inmediato o dentro de las 2 horas, esta debe llevarse a refrigeración a 4°C- 8°C inmediatamente luego de ser recolectada, (20).

Respecto al material ideal para la colecta de la muestra orina, es recomendado y estandarizado el uso de frascos de boca ancha y estériles (envase primario).

Actualmente existen envases de boca ancha que adicionalmente permiten la transferencia de la muestra hacia un tubo con conservante/aditivo, que evita el deterioro y sobre manipulación de la muestra, dicho tubo (envase secundario) es hermético, evita derrames y por ser un envase transparente permite la observación de la muestra (11, 21). Estos tipos de tubos de transferencia con conservante/aditivo han sido descritos para su uso como conservantes de muestras de orina (11, 22, 23) dentro de estos existen varias alternativas como: 1) ácido bórico como único conservante, 2) ácido bórico en combinación con formiato de sodio y glicerol como conservantes; en ambos casos estos preservantes funcionan como agentes bacteriostáticos, estabilizando el número de bacterias en la muestra a temperatura ambiente hasta por 24 horas; 3) ácido bórico, formiato de sodio y borato de sodio, como es el caso de la marca Becton Dickinson (BD), que es utilizado y evaluado en el presente trabajo de investigación. Estos contienen ácido bórico como agente bacteriostático y fungistático débil (23), así el ácido produce la desnaturalización de las proteínas plasmáticas provocando su inactivación y precipitación; el formiato de sodio y borato de sodio liofilizado actúan como soluciones tampón, que permiten mayor estabilidad a las muestras de orina. En el Perú, estos envases con conservantes/aditivos son poco conocidos y no se vienen utilizando en nuestro medio.

II. OBJETIVO

Nuestro estudio tiene como objetivo evaluar la estabilidad de la muestra de orina para Urocultivo, conservadas en Dispositivos sin aditivo (DA) mantenidas a temperatura de refrigeración y en Dispositivos con conservante - BD Vacutainer Plus Urine C&S Preservative Tube - (DB) mantenidas a temperatura ambiente, evaluadas y procesadas simultáneamente en el mismo periodo de tiempo hasta por 24 horas.

III. MATERIAL Y MÉTODOS

Se realizó un estudio descriptivo longitudinal, para determinar el efecto de la conservación de muestras de orina para urocultivo en dispositivos colectores con y sin aditivos/conservantes en un período de 0 a 24 horas, las muestras fueron determinadas/cultivadas en simultáneo en períodos de tiempo 2, 4, 8, 24 horas para evidenciar la estabilidad. El tiempo 0 se consideró como el urocultivo de referencia, La población estuvo constituida por muestras de orina para urocultivos de pacientes ambulatorios adultos hombres y mujeres (no embarazadas) de 18 a 65 años, que pudieron emitir la muestra de orina sin ninguna limitación de movimiento o habilidad, esto se pudo comprobarse por la entrevista que se realizó a los pacientes enrolados en el estudio a través de las preguntas 2,4 y 6. Estos pacientes acudieron con solicitud médica de urocultivo para el descarte de ITU al servicio de Laboratorio Clínico del Hospital Nacional Cayetano Heredia (HNCH), durante los meses de mayo y junio del 2017.

Para el cálculo del tamaño muestral se consideró el número de urocultivos solicitados anualmente al servicio de laboratorio durante los dos años anteriores (2015-2016); se incluyó un intervalo de confianza del 95%. La fórmula para la determinación de la muestra para una población finita se determinó en el programa “Open EPI” versión 3.0, obteniéndose como muestra estadística 222 muestras de orina para urocultivo (24). (Anexo 2)

Se consideraron como criterios de inclusión a) Muestras de pacientes adultos varones y mujeres, entre 18 a 65 años, que recibieron y cumplieron con las indicaciones, aceptaron y firmaron el consentimiento informado. b) Muestras

identificadas correctamente con la hora de recolección y confirmada con una entrevista al paciente. c) Muestras recolectadas con un mínimo de 30 ml de orina en el frasco estéril. d) Muestras que llegan al servicio de Microbiología entre las 6 y 10 am., que corresponden a la primera orina de la mañana, confirmada con una entrevista al paciente.

Se consideraron como criterios de exclusión: a) Dispositivos que presenten derrames de la muestra o con indicios de mala manipulación. b) Dispositivos o envases estériles de muestras que contengan contaminantes como: pelos, heces, flujo vaginal o sangre. c) Muestras que fueron llevadas al laboratorio en un período mayor a una hora y media desde la recolección, determinado con una entrevista y confirmada con la hora de recolección indicada en el envase.

3.1 PROCEDIMIENTOS Y TÉCNICAS

3.1.1 Recolección de muestras de orina

Las muestras de orina para urocultivo estuvieron conformadas por muestras de pacientes ambulatorios adultos con edades entre 18 y 65 años que acudieron al Laboratorio HNCH por un requerimiento de examen de urocultivo, estas fueron colectadas en envases de polipropileno estériles de boca ancha.

A todos los participantes enrolados en el estudio, se les explicó cada paso de la recolección de la muestra y una vez que comprendieron el procedimiento, se les entregó las mismas indicaciones por escrito para asegurar la correcta comprensión de las condiciones pre - analíticas para la colecta de la muestra de orina (8-12) las cuales fueron: 1) No tomar antibióticos ni aplicarse cremas, ungüentos o pomadas en la zona genital 72 horas antes de la colección. 2) Realizar la asepsia de la zona genital externa con agua y jabón. 3) Destapar el frasco estéril proporcionado por el

Hospital. 4) Separar los labios mayores (en el caso de mujeres) o retirar el prepucio (en el caso de varones) antes de realizar la recolección de la orina. 5) Recolectar la primera orina de la mañana, descartando el primer chorro y recibiendo el chorro medio dentro del frasco estéril, finalmente descartar el último chorro de orina. 6) Cerrar bien el frasco estéril, secar el exterior si hubiese algún derrame ocasionado por la colección y escribir sus datos (Nombre completo, edad, hora de recolección), (7), llevar inmediatamente el frasco de orina recolectada al Laboratorio de Microbiología del HNCH en un tiempo no mayor a una hora y media desde la colección de la muestra de orina.

El período de entrega de la muestra se estableció e informó a los pacientes entre las 6:00 y 10:00 am. Cada muestra de orina se recibió en los envases de polipropileno estéril de boca ancha entregados previamente a cada paciente, y según el orden de llegada al laboratorio del HNCH las muestras se codificaron y fueron separadas inmediatamente en dos alícuotas para el estudio: Para el Dispositivo A, envase estéril sin aditivo (DA) se obtuvieron 20 ml de muestra de orina del frasco original y para el Dispositivo B, Tubo BD Vacutainer® C&S Plus con conservador para urocultivo (DB) se separaron 4 ml de la muestra de orina obtenida a partir del dispositivo A por medio de llenado al vacío. La muestra en el frasco original permaneció en el laboratorio del HNCH y se consideró como cultivo de referencia para nuestro trabajo, considerando que el procedimiento para urocultivo del Servicio de Microbiología del Hospital está validado y se procesa frente a cepas patrón como parte de su sistema de control y aseguramiento de calidad.

Los dos dispositivos DA sin aditivo y DB con conservante, correspondiente al sistema BD Urine Vacutainer Kit Marca Becton Dickinson, Franklin Lakes, NJ,

USA, (Figura 1) fueron separados del frasco original y procesados en simultáneo para nuestro estudio. DA es un envase estéril que se conservó en refrigeración, no contiene ningún aditivo, y permite la separación estéril de la muestra de orina a un sistema cerrado al DB, donde se coloca la segunda alícuota (figura N°1). El DB es un tubo al vacío con conservante (BD Conical Urine Tube) que contiene ácido bórico (agente bacteriostático), formiato de sodio y borato de sodio liofilizado (tampón) como preservantes de la orina, que se mantiene a temperatura ambiente (23). Ambos dispositivos fueron procesados en el laboratorio de la Escuela de Tecnología Médica de la UPCH.

3.1.2 Cultivo de muestras de orina

Los DA estériles sin conservante, se mantuvieron en refrigeración de 4°C – 8°C y los DB con conservante se mantuvieron a temperatura ambiente durante todo el estudio. Las muestras de ambos dispositivos fueron sembradas en paralelo en períodos de tiempo determinados como T2, T4, T8, y T24 horas. El tiempo de 0 horas fue considerado como la siembra de la muestra de orina realizada por el servicio de Microbiología del HNCH (cultivo de referencia). Todos los cultivos se realizaron de acuerdo con los procedimientos estándar utilizados en el Laboratorio de Microbiología del Hospital Nacional Cayetano Heredia. Las alícuotas separadas para el estudio DA sin aditivo y DB con conservante se cultivaron en simultáneo en placas con medio Agar Sangre de carnero 5% utilizando un asa calibrada de 1uL y en el medio MacConkey por el método de estría simple, siguiendo el Procedimiento estandarizado del Servicio de Microbiología del Hospital Nacional Cayetano Heredia, que se basa en las recomendaciones de SEIMC y las guías CLSI (11,17). Para ello se siguió el siguiente procedimiento:

1.Colocar el asa estéril verticalmente y sumergir solamente el aro por debajo de la superficie de la muestra de orina, sin centrifugar y bien mezclada. 2.Sembrar en una placa de agar sangre haciendo una línea recta a lo largo y por el centro del agar y diseminar en ángulos rectos respecto a la estría primaria. 3.Sembrar de la misma forma en agar MacConkey. 4.Incubar la placa de agar sangre y MacConkey a 35 - 37° C en condiciones aeróbicas por 24 horas.

Las muestras sembradas en los tiempos T2 horas, T4 horas, T8 horas y T24 horas, fueron incubadas por 24 horas respectivamente a $36\pm 1^{\circ}\text{C}$, tiempo después del cual se realizó la lectura, observándose macroscópicamente el crecimiento de colonias (UFC/ml) (7, 12, 13). El crecimiento bacteriano en 24 horas permitió la evaluación de la estabilidad de las muestras de urocultivos para el estudio. La evaluación consistió en determinar: a)Según el crecimiento bacteriano de la muestra de urocultivo en dispositivos evaluados comparándolos con los resultados de los urocultivos de referencia b) Cambios en el crecimiento de microorganismos categorizados como NEGATIVOS y que se han diferenciado en nuestro estudio para su mejor evaluación como: crecimiento 0 UFC/ml No crecimiento, FMCP $<10^4$ UFC /ml, FMCP $10^4 - 10^7$ UFC /ml, FMCP $>10^7$ UFC /ml y Uropatógenos con crecimiento insignificantes: UP $<10^4$ UFC /ml para DA estéril sin aditivo y DB con conservante. c) Cambios en el crecimiento de microorganismos categorizados como POSITIVOS a las 24 horas, que comprenden dos categorías: uropatógenos (UP) con crecimiento de $10^4 - 10^5$ UFC /ml y uropatógenos (UP) $> 10^5$ UFC /ml. (1, 11).

Debemos especificar que, según el procedimiento estandarizado del hospital, el cultivo de referencia, clasifica a los urocultivos como Positivos o Negativos en la lectura a las 24 horas de incubación, por lo tanto establece como crecimiento de

urocultivos “Negativos” a los cultivos que tuvieron crecimientos de 0 UFC/ml No crecimiento , crecimiento de colonias de flora mixta contaminante de piel (FMCP) con recuentos entre $<10^4$ y $>10^5$ UFC/ml y crecimiento de patógenos $<10^4$ UFC/ml, considerado crecimiento no significativo; y como “Positivos” a cultivos con crecimiento significativo de uropatógenos con recuentos desde 10^4 UFC/ml a $>10^5$ UFC/ml (24).

3.1.3 Análisis Estadístico

Los datos obtenidos basados en recuento de crecimiento bacteriano se caracterizaron como Urocultivos Negativo No crecimiento (0 UFC/ml), flora mixta contaminante de piel (FMCP) y Urocultivo Positivo a bacterias patógenas, fueron registrados y analizados utilizando el software Microsoft Excel versión 2013, STATA versión 12 y la prueba de chi cuadrado para determinar: a) El grado de concordancia con el cultivo de referencia; b) la significancia estadística, y c) el cambio porcentual en los resultados de urocultivos negativos y positivos entre las muestras conservadas en los dispositivos A y B a las 2, 4, 8 y 24 horas, para determinar la estabilidad de las muestras colectadas en cada dispositivo.

IV. RESULTADOS

De las 222 muestras de los pacientes ambulatorios adultos hombres y mujeres (no embarazadas), evaluadas en el estudio, 166 (75%) fueron muestras de mujeres y 56 (25 %) fueron de hombres, las edades estuvieron comprendidas entre de 18 y 65 años, con valor medio de 43 años. Se eliminó del estudio una muestra que se categorizó como “contaminada”, criterio basado en Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica (SEIMC) y Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) que especifican que un urocultivo con crecimiento polimicrobiano (≥ 3 uropatógenos) y recuentos $< 10^4$ UFC/ml, debe considerarse como muestra contaminada, este fue el caso de una muestra eliminada del estudio. (11, 17). Por lo tanto, en nuestro estudio se evaluaron 221 muestras en total.

Al comparar los urocultivos de referencia con los urocultivos del estudio conservados en DA y DB, se obtuvo que, de las 221 muestras evaluadas, el urocultivo de referencia determinó $n=184$ como Urocultivo Negativo. Este dato se comparó con las muestras sembradas a las 2 horas en DA y DB obteniendo para las 221 muestras conservadas en DA sin aditivo, $n=179$ (97.3%); esto nos muestra una diferencia significativa en urocultivos considerados como Negativos - no crecimiento ($p < 0.05$), en urocultivos con crecimiento de FMCP y Patógenos de crecimiento insignificante ($p < 0.05$). Mientras que, para el DB con conservante el $n=184$ (100%) para urocultivos Negativos que fue igual al número de urocultivos de referencia.

Para el caso de urocultivos determinados como Positivos, el urocultivo de referencia determinó $n=37$. En nuestro estudio se obtuvieron para el DA sin aditivo $n=42$ (113.5%) sin llegar a ser significativo y para el DB con preservante se determinó $N=37$ (100%) cantidad similar al urocultivo de referencia. La distribución detallada por categorías para los urocultivos considerados Negativos y Positivos se detallan en un cuadro comparativo, así también se muestra los cambios determinados a lo largo del período de estudio para los urocultivos negativos y positivos (Tabla 1).

Al evaluar la estabilidad de las muestras se determinó diferencias significativas en el período de estudio, los cambios observados a través del recuento de colonias se establecieron en categorías. Así, para el caso de los Urocultivos Negativos, se consideró: urocultivos con crecimiento 0 UFC/ml (No crecimiento) y cultivos con crecimiento insignificante que corresponden a FMCP $<10^4$ UFC/ml, FMCP $10^4 - 10^7$ UFC/ml, FMCP $>10^7$ UFC/ml y Uropatógenos (UP) $<10^4$ UFC/ml. Mientras que, para Urocultivos Positivos las categorías fueron Patógeno $10^4 - 10^7$ UFC/ml y Patógeno $>10^7$ UFC/ml.

Como se muestra en la Tabla 1, para el DA sin aditivo los cambios significativos aparecen para urocultivos No crecimiento a partir de la T2 Hrs $p<0.05$ (I.C 95%) y estos cambios son progresivos, se mantienen durante todo el período de estudio. Los urocultivos negativos por crecimiento insignificante muestran cambios significativos también a partir de T2 Hrs $p<0.05$ (I.C 95%). Debemos destacar que estos cambios afectan la determinación toda vez que existen urocultivos que se convierten de urocultivos categorizados como negativos a positivos a partir de

T4Hrs convirtiéndose de negativo a positivo respectivamente. Estos cambios se detallan en la Tabla 2.

Para el DB con conservante, el recuento total de urocultivos negativos se mantuvo constante. Se debe destacar que se observan ligeros cambios en la distribución de las categorías durante el período de estudio, sin embargo, estos cambios no afectan el resultado debido a que se mantuvieron siempre en las categorías consideradas negativas. Ningún urocultivo se convirtió en positivo. No se observan cambios significativos durante todo el periodo de estudio (Tabla 1, Tabla 2).

En relación con los cambios en los urocultivos positivos se puede determinar que: Para urocultivos DA sin aditivo se observa incremento a partir del T2 Hrs n=42, mientras que el cultivo de referencia determinó n=37. Este cambio siguió progresivamente hasta 24 horas donde se muestra un incremento hasta n=52 en relación con el cultivo de referencia, mostrando cambios significativos a partir de T8 Hrs. Para el caso de DB con conservante el recuento de urocultivos positivos se mantiene constante sin variación (Tabla 1, Tabla 3).

El proceso de conservación de las muestras de orina que se mantuvieron en DA sin aditivo y DB con conservante durante el período de estudio, se muestra gráficamente evidenciando el drástico cambio en el DA sin aditivo para urocultivos positivos y negativos en comparación con el DB con preservante que no muestra variación significativa. (Figura 2)

En resumen, los cambios totales, significativos y porcentuales se muestran en la Tabla 4 donde se comparan cambios importantes para el DA sin aditivo mantenido en refrigeración, a diferencia de DB con conservante que muestra cambios ligeros

en los urocultivos negativos manteniéndose dentro de la clasificación negativo, para los urocultivos positivos los cambios ligeros se determinan como cambios significativos.

Finalmente, con el propósito de establecer que el preservante del DB no interfiere en el aislamiento de uropatógenos, se buscó determinar el nivel de concordancia de urocultivos del estudio mantenidos en el DB con preservante a temperatura ambiente en relación con los cultivos de referencia. En este estudio complementariamente se realizó la identificación de bacterias y hongos patógenos para el diagnóstico de ITU en urocultivos positivos a patógenos n=37 determinándose aislamientos para Gram Negativos n=33, Gram Positivos n=3, otros patógenos n=1. Estos resultados tienen una similitud de 97.3% con respecto a lo reportado por el urocultivo de referencia determinado por el laboratorio del hospital (Tabla 5).

V. DISCUSIÓN

El urocultivo es el examen confirmatorio para el diagnóstico de ITU. (1-8) La adecuada recolección, conservación y transporte de la muestra de orina, es uno de los puntos críticos correspondientes a la Fase Preanalítica. Comprendiendo que la Fase Preanalítica está dedicada a conservar la muestra en condiciones muy similares al estado del paciente en el momento de su emisión, y con el fin de obtener un resultado de urocultivo correcto que aporte al diagnóstico exacto y oportuno de importancia clínica, es sumamente crítico determinar la mejor propuesta de conservación y estabilidad de la muestra de orina, hasta el proceso de identificación del posible agente causante de ITU (10-14).

Sobre el manejo de las muestras, en el Perú existen normas generales poco detalladas, en la etapa pre analítica; principalmente referido al tiempo de transporte y proceso de conservación de la muestra, que son instrucciones que se transmiten al paciente; el Manual de procedimientos de Laboratorio del Ministerio de Salud que menciona que la muestra debe ser transportada inmediatamente al laboratorio (12); en la guía de atención al asegurado de ESSALUD agrega que la muestra una vez recolectada debe ser transportada antes de las dos horas de su colección (14), y en el manual de procedimientos para obtención de muestras para el diagnóstico bacteriológico en infecciones intrahospitalarias del Instituto Nacional de Salud se menciona que la muestra debe ser procesada antes de las 2 horas de su obtención (26). Mientras que, Guías como la de la Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica (SEIMC) y el Manual de procedimientos para el cultivo de orina de la Sociedad Científica Peruana de Microbiología (SOCPEMI) se especifica que, una vez obtenida la muestra de orina, su transporte y análisis debe

realizarse a la brevedad posible, en un plazo máximo de 2 horas, si esta se mantiene a temperatura ambiente; de lo contrario, la muestra se debe refrigerar de 4-8°C por un período máximo de 24 horas. (11, 29)

Sobre los conservantes para urocultivo, debemos señalar que existen pocos estudios que han evaluado el uso de diferentes conservantes como el ácido bórico para la adecuada recolección y transporte de muestras de orina que no serán analizadas en un plazo menor a 2 horas desde su emisión. Los resultados de nuestro estudio respaldan lo reportado por Eisinger y colaboradores, Daley P. y colaboradores, y Herreros M.L y colaboradores; que reportan que hasta el 98% de las muestras de orina con urocultivos positivos se mantienen estables hasta por 24 horas luego de la recolección, aún a temperatura ambiente, si estas son mantenidas en dispositivos al vacío con conservante, en comparación del 99.3% encontrado en nuestro estudio (16, 27, 28). Adicionalmente, los resultados de la identificación microbiana de los cultivos positivos demostraron que estos aditivos conservantes no inhiben el crecimiento ni tampoco interfieren en la identificación de los agentes uropatógenos. En nuestro trabajo se hizo seguimiento de la lectura de los cultivos con crecimiento negativo hasta por 24 horas, si bien es cierto no realizamos lecturas hasta las 48 horas, para evidenciar o descartar crecimiento de microorganismos crecimiento lento, Eisinger en su estudio de urocultivo demuestra que el comportamiento bacteriano siguió siendo no significativo en frasco con preservante hasta por 48 horas para bacterias Gram Positivas, Gram Negativas, *Candida sp.* entre otros, a pesar de ello y por la diferencia de nuestras poblaciones se considera una limitante para el estudio. (16)

En nuestro estudio clasificamos el crecimiento de los urocultivos en cultivos negativos, crecimiento no significativo y cultivos positivos; esta misma clasificación se encuentra en las guías internacionales realizadas por la Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica (SEIMC) y la Sociedad Científica Peruana de Microbiología (SOCPEMI) (7, 29). Esta clasificación es de mucha utilidad diagnóstica para el manejo adecuado de los pacientes a quienes se les solicita una prueba de urocultivo, ya que el poder reportar el recuento de los microorganismos que crecieron en el examen aun si este no es significativo dependerá de la condición actual del paciente para su correcta interpretación. Por ejemplo, un recuento de uropatógenos >100 UFC/ml puede ser significativa en casos de ITU asociados a catéter o recuentos $<10^4$ UFC/ml puede ser significativa en cistitis en varones jóvenes, así como un Urocultivo: $> 10\ 000$ UFC/ml de una bacteria uropatógena en una bacteriuria asintomática en el embarazo; así como otros casos mostrados en el Anexo 1.

En nuestro estudio, de las 221 muestras se encontró un 17% de urocultivos positivos a organismos patógenos, resultados similares a los encontrados en el estudio de Herreros y colaboradores (28), Aycachi C.A. (8), el Comité de microbiología clínica de la sociedad chilena de microbiología (6) y el SEIMC (7) que reportan una positividad cercana a 20 %.

Si analizamos la oportunidad de mejora en los procesos de urocultivo, los estudios realizados por Bautista M.M (9), Bárcenas B. P (30) y Stagg y colaboradores (31) han comparado la tasa de errores luego de implementar estos dispositivos en su centro de salud, reportando una disminución en muestras rechazadas en un 44.7%,

una reducción de 1.29% de visitas semanales al servicio de microbiología y una disminución en muestras contaminadas de un 55%.

Así también, proporcionaría beneficios directos a los pacientes como la disminución en la cantidad de visitas al centro de salud, tratamiento oportuno y rápido, mejor recolección de muestra, evitando el rechazo por contaminación o derrames de la misma. (9, 30, 31).

Una limitante para nuestro estudio fue el tipo de pacientes incluidos; estos fueron pacientes ambulatorios que cumplieron las condiciones preanalíticas en un escenario real: donde el paciente emitió la muestra en su domicilio y la transportó al laboratorio donde luego de afirmar la hora de emisión de la muestra, deja la muestra para ser ingresada en el estudio según la verificación y cumplimiento de los criterios de aceptación; esto deja abierta la opción de investigación para un posterior de estudio.

Podemos agregar que aun con esta limitante en nuestro estudio, mostramos similares datos a estudios realizados en pacientes donde las muestras se siembran casi de inmediato de emitida la muestra como lo demuestran Eisinger y colaboradores (15) y Herreros y colaboradores en el 2015 (28),

En el estudio realizado en el 2013 por Eisinger y colaboradores evaluaron la estabilidad de las muestras de orina en los dispositivos de Beckton Dickinson con conservante (16); dicho estudio comparó tres tipos de almacenamiento de las muestras: sin conservantes y refrigerados de 2-8°C; sin conservante mantenidos a temperatura ambiente; y dispositivos Beckton Dickinson con conservante mantenidos a temperatura ambiente por un período de 48 horas. Todas las muestras

(n=110) fueron obtenidas en el mismo establecimiento de salud, procedentes de dos unidades de hospitalización y emergencia, y procesadas inmediatamente en el laboratorio de referencia, siendo cultivadas en un plazo no mayor a 25 minutos desde su recolección. En cambio, nuestro estudio tomó como población muestras de pacientes ambulatorios (n=222) que emitieron y recolectaron su muestra en su domicilio y acudieron al laboratorio en un plazo menor a dos horas, obteniendo resultados similares. Adicionalmente, el estudio de Eisinger no encuentra diferencia significativa entre las muestras mantenidas en refrigeración y las que se encontraban en los dispositivos de BD, sembradas en un plazo inmediato, menor a 25 minutos desde la emisión de la muestra de orina concluyendo que el uso de los dispositivos de BD con conservante es recomendable para las muestras que no serían procesadas inmediatamente o no podían ser conservadas en refrigeración al momento de la emisión de estas, este hallazgo coincide con la recomendación de ISDA guía de la Sociedad Americana de Enfermedades infecciosas (ISDA) y de la Sociedad americana de Microbiología, actualizada en el 2018 que recomiendan que las muestras para urocultivos deben ser procesadas en un tiempo no mayor a 30 minutos si se mantienen a temperatura ambiente; de lo contrario estas muestras deben almacenarse en dispositivos con conservante (32).

Sobre la estabilidad podemos decir que a pesar que se mantuvieron las condiciones de esterilidad en cada intervalo de tiempo entre cada siembra para ambos dispositivos, existen cambios en los recuentos de colonias de las muestras de los dispositivos A, mantenidas en refrigeración; que no suceden en el Dispositivo B con preservante, esto determinaría que la muestra para urocultivo no se mantendría estable hasta por 2 horas como se mencionaban en las guías nacionales como las

dadas por el Manual de procedimientos de laboratorio del Ministerio de salud en el 2013 (12) o la Guía de la atención de atención del asegurado de ESSALUD (14), y se deberían actualizar las normas basadas en los estudios realizados o propuesto por Guías como ISDA(32).

En nuestro estudio, encontramos diferencia significativa entre las muestras cultivadas a las 2 horas de 17.9% para los cultivos negativos, y de 13.5% cultivos positivos para las muestras mantenidas en dispositivos sin preservante (DA) y en refrigeración en comparación con las muestras conservadas en los dispositivos de BD con preservante mantenidas a temperatura ambiente donde observa un cambio menor al 1%; esto podría explicarse debido a que el tiempo transcurrido entre la emisión hasta la recepción de la muestra fue mayor, pudiendo favorecer al aumento de los recuentos bacterianos iniciales. En el estudio realizado por Eisinger y colaboradores, indican que tuvieron como limitante el no cultivar las muestras entre 4 y 24 horas, tiempo en el que los cambios en el recuento podrían ser mayores, por lo que no pudieron observar dicho comportamiento. Mientras tanto, en nuestro estudio si realizamos cultivos en este intervalo de tiempo (4 -8 -24 horas) por lo que sí obtuvimos diferencias significativas durante este período.

Si bien es cierto, el uso de dispositivos con conservante, tiene un costo aproximado de hasta dos veces más, comparados con los envases estériles convencionales, los cuales se siguen usando en el país; en un mediano a largo plazo resultaría una mejor inversión de los recursos, puesto que disminuiría el número de muestras rechazadas con errores que generalmente ocurren en la fase pre-analítica (derrames y/o contaminación de la muestra por agentes externos), el número de cultivos de orina adicionales, uso de antimicrobianos para ITU innecesarios y un menor gasto en

materiales de laboratorio que se requieren para el análisis de urocultivos, como lo observado en estos estudios.

Como aporte adicional, se realizó identificación de cultivos positivos a patógenos y con Flora mixta con recuentos $>10^5$ UFC/ml donde se reportó: *E. coli* en 60% (n=26), como bacteria prevalente que es similar a estudios que la muestran como la principal bacteria uropatógena para infecciones urinarias. Además, se identificó *Proteus sp.* 5% (n=2), *Citrobacter freundii* 4.6% (n=2), *Klebsiella pneumoniae* 6.9% (n=3), *Staphylococcus saprophyticus* 4.6% (n=2), *Enterobacter cloacae* 2.3% (n=1), *Candida spp.* 4.6% (n=2). Estos resultados fueron similares a los obtenidos por el cultivo de referencia realizado en el hospital.

VI. CONCLUSIONES

- a) El uso de dispositivos con aditivos conservantes (DB) mantuvo la estabilidad de la muestra de orina para urocultivos hasta por 24 horas a temperatura ambiente.
- b) Los urocultivos negativos que se almacenaron en refrigeración de $2^{\circ}\text{C} - 8^{\circ}\text{C}$ en los DA sin aditivo demostraron tener menor estabilidad que los dispositivos B con conservante por un período de hasta 24 horas.
- c) Los urocultivos con crecimiento no significativo que se almacenaron en refrigeración de $2^{\circ}\text{C} - 8^{\circ}\text{C}$ en los DA sin aditivo también demostraron menor estabilidad durante el período de estudio superando el 150% del número de cultivos iniciales a las 24 horas, respecto del cultivo de referencia. Para los dispositivos B con conservante no se encontró cambios importantes.
- d) Las muestras de orina positivas refrigeradas de $2-8^{\circ}\text{C}$ sin aditivo (DA) demostraron un incremento de colonias de hasta 40 % a lo largo del período de estudio; en el caso de los urocultivos positivos mantenidos en el DB con conservante a temperatura ambiente, mostraron no tener variación en el crecimiento de colonias con relación al urocultivo de referencia en el período de tiempo de 24 horas.
- e) Nuestro estudio demostró que los cambios en las condiciones de recolección, transporte y almacenamiento de la muestra de orina, aun en un corto intervalo de tiempo desde que son emitidas, demostró variación significativa en la estabilidad de las muestras que se mantienen y transportan a temperatura ambiente a partir de 2 horas, en dispositivos convencionales sin aditivo.

VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Echevarría-Zarate J, Sarmiento AE, Osoro-Plenge F. Infección del tracto urinario y manejo antibiótico. *Acta Médica Peruana*. 2006; 23 (1): 26- 31.
2. Morote ER. Prevalencia de *E. coli BLEE* en pacientes mujeres del Hospital Nacional PNP – “LNS” [Pregrado]. Universidad Ricardo Palma - Facultad de Medicina Humana; 2015.
3. Miyahira J. Infección urinaria intrahospitalaria en los servicios de hospitalización de medicina de un hospital general. *Rev. Médica Herediana*. 2013; 5(2).
4. Ostos A, Baltazar M. Perfil Microbiológico y resistencia Bacteriana de Infecciones del Tracto urinario Adquiridas en la Comunidad en Pacientes Ambulatorios del Hospital Nacional Daniel A. Carrión [Postgrado]. Universidad Nacional Mayor de San Marcos; 2002.
5. Montañez-Valverde RA, Montenegro-Idrogo JJ, Arenas-Significación FR, Vásquez-Alva R. Infección urinaria alta comunitaria por *E. coli* resistente a ciprofloxacino: Características asociadas en pacientes de un hospital de Perú. *Universidad Nacional Mayor de San Marcos*. 2015; 76(4):385-91.
6. Comité de Microbiología Clínica de la Sociedad Chilena de Infectología. Recomendaciones para el diagnóstico microbiológico de la infección urinaria. *Rev. Chilena Infectol*. 2001; 18(1):57 -63.
7. De Cueto M. La microbiología en el diagnóstico de la infección del tracto urinario. *Infección del tracto urinario – SEIMC*. Editorial SALVAT. 2013. Barcelona – España. Infección del tracto urinario, Cap 2. p. 11.

8. Aycachi C.A. Correlación entre el Examen Completo de Orina con el Urocultivo para el diagnóstico de Infecciones Urinarias en pacientes adultos del Hospital II Huaycán 2017 – 2018. [Pregrado]. Universidad Peruana Unión; 2019.
9. Caracciolo MB, Muzietti SD, Pandolfo MS, Negri GA, Bustos DN. Estabilidad de muestras conservadas en tubo primario: Un estudio de 25 analitos de química clínica. *Acta bioquím. clín. latinoam.* 2007;41(3):353–358.
10. Bautista M.M., Implantación de un sistema de calidad basado en la norma UNE-EN-ISO15189 en el servicio de microbiología del Hospital Universitario Virgen de las Nieves en Granada. [Postgrado]. Universidad de Granada; 2012. ISBN: 978-84-9028-369-1.
11. Mansilla C, Zboromyrska Y, de Cueto López M, et al. Diagnóstico microbiológico de las infecciones del tracto urinario. Procedimientos en Microbiología Clínica. Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica (SEIMC) [Internet].2019 [consultado el 15 de mayo del 2017]. p. 23-48. Disponible en:

<https://seimc.org/contenidos/documentoscientificos/procedimientosmicrobiologia/seimc-procedimientomicrobiologia14b.pdf>
12. Zurita S. Manual de Procedimientos de laboratorio. Segunda Ed. Lima – Perú: INS; 2013. p. 209-211.
13. Laboratorios ROE. Guía para recolección de muestras de Urocultivo [Internet]. Perú: Laboratorio ROE. [consultado el 27 de agosto del 2022]. Disponible en:

https://www.labroe.com/roe/bibliotecadigital/ATC-D43_Examen_completo_de_orina-urocultivo_Rev_03.pdf

14. ESSALUD. Guía de Atención al Asegurado. [Internet] Lima: ESSALUD; 2020 [consultado el 29 de agosto del 2022]. Disponible en: www.essalud.gob.pe

15. Sacsquispe R. Manual de Procedimiento Bacteriológicos en Infecciones Intrahospitalarias. 1th ed. Lima Perú: INS; 2005. p18-21.

16. Eisinger SW, Schwartz MM, Dam L, et al. Evaluation of the BD Vacutainer Plus Urine C&S Preservative Tubes Compared with Non preservative Urine Samples Stored at 4°C and Room Temperature. *Am J Clin Pathol* 2013; 140: 306-313. DOI: 10.1309/AJCP5ON9JHXVNQOD

17. Clinical and Laboratory Standards Institute GP16-A Urinalysis and Collection, Transportation, and Preservation of Urine Specimens; Approved Guideline

18. Pezlo M, York MK, Church DL. Urine cultures. In Garcia LS (ed), *Clinical Microbiology Procedures Handbook* 3rd ed. Washington DC. American Society for Microbiology. 2010;(1):3.12.1- 3.12.31.

19. Delanghe J.R., Speeckaert M.M. Preanalytics in urinalysis *Clinical Biochemistry* 49 (2016). p. 1346–1350.

20. Velazco J. Manual práctico de Bacteriología clínica. Universidad Los Andes. 1th ed 2008. p. 94. ISBN: 978-980-11-1157-3.

21. Grosso S., Bruschetta G, De Rosa R, Avolio M, Camporese M. Improving the efficiency and efficacy of pre-analytical and analytical work-flow of urine cultures with urinary flow cytometry. *New Microbiology* 2008; 31: 501-505.

22. European Urinalysis Guidelines. Scand J Clin Lab Invest 2000; 60:10-15.
23. BD Vacutainer® Sistema para la recolección y transporte de muestras de orina. Brochure presentado en el Congreso Estatal de Química Clínica de Chihuahua-México [Internet] 2021. [consultado el: 28 de octubre del 2021] Disponible en: <http://cqacch.com.mx/congreso2021/img/bd/Brochure%20orina.pdf>.
24. Dean AG, Sullivan KM, Soe MM. OpenEpi: Open Source Epidemiologic Statistics for Public Health. Emory University. [Internet] [consultado el 15 dic 2016]. Disponible en : www.OpenEpi.com.
25. Hospital Cayetano Heredia – Servicio De Patología Clínica. Procedimiento Operacional estándar del Sistema de gestión de la calidad para Urocultivo (POE). Código POE-MIC-1.005. Versión 001. [Consultado en enero 2017].
26. Ventura G. Manual de Procedimientos de obtención de muestras para el diagnóstico Bacteriológico en Infecciones Intrahospitalarias. 1th ed. Lima Perú: INS; 2002. p. 11.
27. Daley P, et al. Comparison of clinical performance of commercial urine growth stabilization products, Diagn Microbiol Infect Dis. [Internet] 2018. [consultado el 15 de febrero del 2022]; 92(3): 179-182. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.diagmicrobio.2018.05.023>.
28. Herreros M.L, Tagarro A, García-Pose A, et al. Accuracy of a new clean-catch technique for diagnosis of urinary tract infection in infants younger than 90 days of age. Pediatric Child Health 2015;20(6): e30-e32.

29. Soto P.J. Guillén O.A. Rojas L.R. Manual de Procedimientos Para el cultivo de Orina (urocultivo) [Internet]. I Curso Manual de Procedimientos de Microbiología: Urocultivo: SOCPIMI; [Internet] 2012 [Consultado el 18 de febrero del 2022]. Disponible en: <https://dl-manual.com/doc/manual-de-urocultivo-terminado-2zx9yjr9q4zj>.
30. Bárcenas B. P. Sierra R.F. Evaluación de una mejora preanalítica en urianálisis. *Rev Latinoam Patol Clin Med Lab* 2017; 64 (1): 27-30.
31. Stagg A, Lutz H, Kirpalaney S, et al. Impact of two-step urine culture ordering in the emergency department: a time series analysis. *BMJ Qual Saf.* [Internet] 2018. [Consultado el 10 de marzo del 2022]. 27:140–147. Disponible en: DOI:10.1136/bmjqs-2016-006250.
32. Miller JM, Binnicker MJ, Campbell S. et al A Guide to Utilization of the Microbiology Laboratory for Diagnosis of Infectious Diseases: 2018 Update by the Infectious Diseases Society of America and the American Society for Microbiology. *Clin Infect Dis.* [Internet] 2018; [Consultado el 10 de abril del 2022]. 67(6): e48. Disponible en: DOI: 10.1093/cid/ciy381. PMID: 29955859; PMCID: PMC7108105.

VIII. TABLAS, GRÁFICOS Y FIGURAS

TABLA 1: CAMBIOS CUANTITATIVOS DE UROCULTIVOS SEGUN EL TIEMPO EN RELACION AL UROCULTIVO DE REFERENCIA

Resultados del cultivo	Urocultivo de referencia		DA Sin aditivo conservante								DB con aditivo conservante								
			T2 Hrs		T4 Hrs		T8 Hrs		T24 Hrs		T2 Hrs		T4 Hrs		T8 Hrs		T24 Hrs		
	Total	Categoría	Total	Categoría	Total	Categoría	Total	Categoría	Total	Categoría	Total	Categoría	Total	Categoría	Total	Categoría	Total	Categoría	
Negativo	162		133*	133*	123*	123*	114*	114*	113*	113	162	162	156	156	152	152	152	152	
FMCP <10 ⁴ ufc/ml	184		179	12	173	6	170	4	169	1	184	11	184	17	184	16	184	16	
FMCP 10 ⁴ - 10 ⁵ ufc/ml		22	46*	23	50*	33	56*	18	56*	12	184	22	4	28	4	32	7	32	9
FMCP >10 ⁵ ufc/ml			6		10		32		41		4		5		5		5		
Patógenos <10 ⁴ ufc/ml			5		1		2		2		3		2		4		2		
Patógeno 10 ⁴ - 10 ⁵ ufc/ml	37		42	3	48	5	51*	5	52	3	37	37	2	37	2	37	2	37	3
Patógeno >10 ⁵ ufc/ml		37	42	39	48	43	51*	46	52*	49		35		37	35	37	35	37	34
TOTAL	221	221	221	221	221	221	221	221	221	221	221	221	221	221	221	221	221	221	221

* Cambios significativos. p=menor de 0.05 (<0.05)

LEYENDA:

DA: Dispositivo A, envase estéril BD sin aditivo conservante.

DB: Dispositivo B, tubo al vacío para urocultivo BD, conteniendo ácido bórico, formiato de sodio y borato de sodio como aditivos conservantes.

TABLA 2: CAMBIOS CUANTITATIVOS EN UROCULTIVOS NEGATIVOS HASTA LAS 24 HORAS.
TABLA 2: CAMBIOS CUANTITATIVOS DE UROCULTIVOS NEGATIVOS EN RELACION AL TIEMPO DE ESTUDIO

Resultados del Urocultivo	Dispositivo A (DA Sin Aditivo conservante)				Dispositivo B BD C&SPlus con conservante (DB con aditivo Conservante)			
	T2 Hrs	T4 Hrs	T8 Hrs	T24 Hrs	T2 Hrs	T4 Hrs	T8 Hrs	T24 Hrs
Negativo (NO CRECIMIENTO)	133	123	114	113	162	156	152	152
FMCP <10⁴ ufc /ml	12	6	4	1	11	17	16	16
FMCP 10⁴ - 107 ufc/ml	23	33	18	12	4	4	7	9
FMCP >107 ufc/ml	6	10	32	41	4	5	5	5
Patógenos <10⁴ ufc /ml	5	1	2	2	3	2	4	2
Patógeno 10⁴ - 107 ufc/ml	0	4	5	3				
Patógeno >107 ufc/ml	0	2	4	7				
TOTAL	179	179	179	179	184	184	184	184

LEYENDA:

DA: Dispositivo A, envase estéril BD sin aditivo conservante.

DB: Dispositivo B, tubo al vacío para urocultivo BD, conteniendo ácido bórico, formiato de sodio y borato de sodio como aditivos conservantes.

TABLA 3: CAMBIOS CUANTITATIVOS EN UROCULTIVOS CON CRECIMIENTO DE AGENTES PATÓGENOS HASTA LAS 24 HORAS.

Resultados de Urocultivo	Urocultivo referencia	Dispositivo A (DA Sin Aditivo)				Urocultivo referencia	Dispositivo B BD C&S Plus con conservante (DB con Conservante)			
		T 2 HRS	T 4 HRS	T8 HRS	T24 HRS		T2 HRS	T4 HRS	T8 HRS	T24 HRS
Negativo (No Crecimiento)										
FMCP <10 ⁴ UFC /ml										
FMCP 10 ⁴ - 107 UFC /ml										
FMCP >107 UFC /ml										
Patógenos <10 ⁴ UFC /ml										
Patógeno 10 ⁴ - 107 UFC /ml	37	3	5	5	3	37	2	2	2	3
Patógeno >107 UFC /ml		39	43	46	49		35	35	35	34
TOTAL	37	42	48	51	52	37	37	37	37	37

LEYENDA:

DA: Dispositivo A, envase estéril BD sin aditivo conservante.

DB: Dispositivo B, tubo al vacío para urocultivo BD, conteniendo ácido bórico, formiato de sodio y borato de sodio como aditivos conservantes.

TABLA 4: CAMBIOS SIGNIFICATIVOS EN RELACION AL UROCULTIVO DE REFERENCIA DURANTE PERIODO DE ESTUDIO

	Resultados del urocultivo	Urocultivo Referencia	Dispositivo A				Dispositivo B			
			T2 Hrs	T4 Hrs	T8 Hrs	T24 Hrs	T2 Hrs	T4 Hrs	T8 Hrs	T24 Hrs
NEGATIVO NO CRECIMIENTO	Negativo	162	133*	123*	114*	113*	162	156	152	152
	Cambio Porcentual	100%	-17.9%	-24.1%	-29.6%	-30.2%	0%	-3.7%	-6.2%	-6.2%
	p=		0.02	0.002	0.0001	0.0001	NS	NS	NS	NS
NEGATIVO CRECIMIENT INSIGNIFICANTE	FMCP <10 ⁴ ufc /ml									
	FMCP 10 ⁴ - 107 ufc/ml	22	46	50*	56*	56*	22	28	32	32
	FMCP >107 ufc/ml									
	Patógenos <10 ⁴ ufc /ml									
	Cambio Porcentual	100%	109.1%	127.3%	154.5%	154.5%	0%	27.3%	45.5%	45.5%
	p=		3x10⁻⁷	2x10⁻⁹	4x10⁻¹³	4x10⁻¹³	NS	NS	NS	NS
POSITIVO	Patógeno 10 ⁴ - 107 ufc/ml	37	42	48	51	52	37	37	37	37
	Patógeno >107 ufc/ml									
	Cambio Porcentual	100%	13.5%	29.7%	37.8%	40.5%	0%	0%	0%	0%
	p=		NS	NS	0.02	0.01	NS	NS	NS	NS
	TOTAL	221	221	221	221	221	221	221	221	221

* Cambios significativos. p=menor de 0.05 (<0.05)

Tabla 5: Resultados de urocultivos con crecimiento Uropatógenos en relación con el Urocultivo de Referencia

		Urocultivo de Referencia		Urocultivo de estudio	
			Frecuencia Porcentual (%)		Frecuencia Porcentual (%)
Gram Negativos n = 33	<i>E. coli</i>	26	70.3	26	70.3
	<i>Klebsiella</i>	3	8.1	3	8.1
	<i>Proteus</i>	2	5.4	2	5.4
	<i>Citrobacter</i>	1	2.7	1	2.7
	<i>Enterobacter</i>	1	2.7	1	2.7
Gram Positivos n = 3	<i>Staphylococcus</i> *	3	8.1	2	5.4
	Otros n=1	<i>Candida</i> *	1	2.7	2
TOTAL		37	100	37	100

* Diferencia en aislamiento entre el urocultivo de referencia y urocultivo del estudio (N=1)

FIGURA 1:

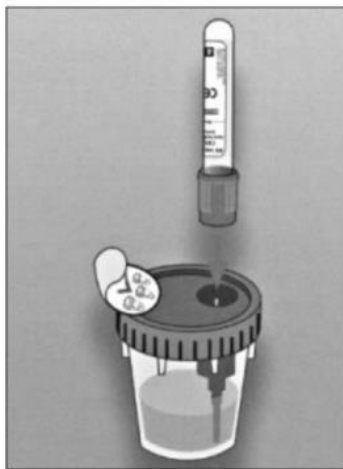


Dispositivo A, estéril sin conservante. (22)



4,0 ml, conservador de ácido bórico, formato de sodio y borato de sodio

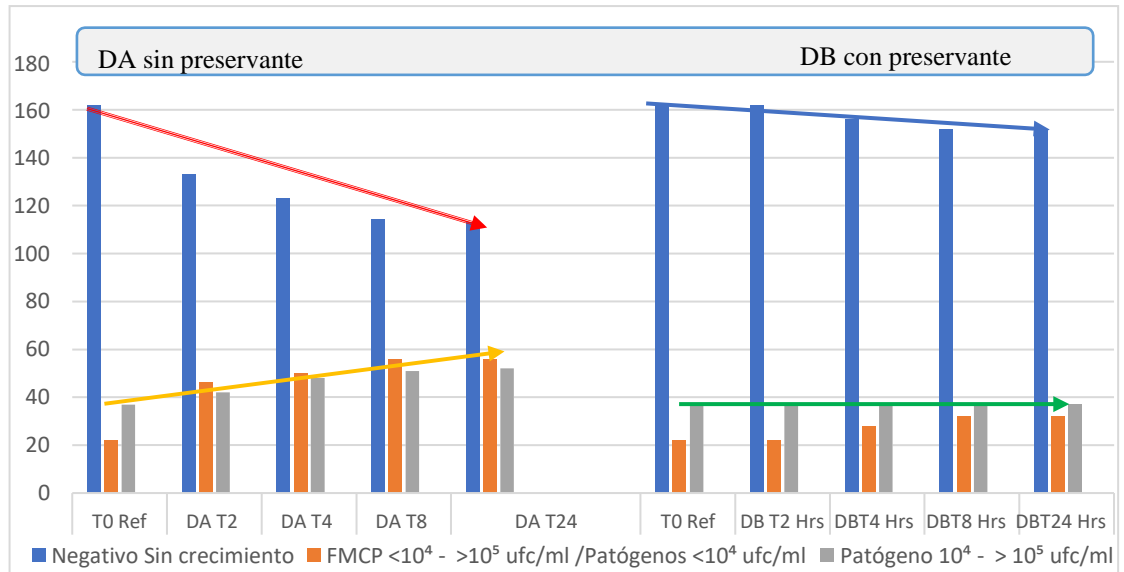
Dispositivo B, con conservante (22).



Envase estéril con dispositivo al vacío conteniendo aditivo/preservante para separación de muestra estéril (Improving the efficiency and efficacy of pre-analytical and analytical work-flow of urine cultures with urinary flow cytometry (20).

FIGURA 2:

Cambio en el DA sin aditivo para urocultivos positivos y negativos en comparación con el DB con conservante que no muestra variación.



Cambios Cultivos sin Crecimiento (0ufc/ml)

Significante efecto de conversión de cultivos negativo sin crecimiento (0 ufc/ml) a crecimiento no significativo y positivo DA sin aditivo

Insignificante Efecto de conversión de cultivos negativo (0 ufc/ml) a cultivos con crecimiento no significativo DB con aditivo

Cambios Cultivos Positivos

Efecto de aumento de cultivos Positivos por conversión de cultivos sin crecimiento crecimiento y crecimiento no significativo DA sin aditivo

No se observan cambios En crecimiento de cultivos positivo DB sin aditivo

ANEXOS:

Anexo N°1: Cuadro Referencial de Principales Patógenos Bacterianos frecuentes en Infecciones del Tracto Urinario relacionado con el criterio diagnóstico y su diagnóstico clínico (1).

CATEGORÍA	CRITERIO DIAGNÓSTICO	PATÓGENOS PRINCIPALES
Cistitis aguda no complicada	Análisis de orina con piuria y hematuria	<i>Escherichia coli</i>
		<i>Staphylococcus saprophyticus</i>
		<i>Proteus mirabilis</i>
		<i>Klebsiella pneumoniae</i>
Cistitis recurrente en mujer joven	presencia de síntomas y urocultivo: >100UFC/ml	<i>Escherichia coli</i>
		<i>Staphylococcus saprophyticus</i>
		<i>Proteus mirabilis</i>
		<i>Klebsiella pneumoniae</i>
Cistitis aguda en hombre joven	urocultivo con un conteo de 1000 a 10 000 UFC/ml	<i>Escherichia coli</i>
		<i>Staphylococcus saprophyticus</i>
		<i>Proteus mirabilis</i>
		<i>Klebsiella pneumoniae</i>
Pielonefritis aguda no complicada	urocultivo con un conteo de 100 000 UFC/ml	<i>Escherichia coli</i>
		<i>Staphylococcus saprophyticus</i>
		<i>Proteus mirabilis</i>
		<i>Klebsiella pneumoniae</i>
ITU complicada	Urocultivo: > 10 000 UFC/ml	<i>Escherichia coli</i>
		<i>Klebsiella pneumoniae</i>
		<i>Proteus mirabilis</i>
		<i>Enterococcus sp.</i>
		<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
Bacteriuria asintomática en el embarazo	Urocultivo: > 10 000 UFC/ml	<i>Escherichia coli</i>
		<i>Staphylococcus saprophyticus</i>
		<i>Proteus mirabilis</i>
		<i>Klebsiella pneumoniae</i>
ITU asociada a catéter	presencia de síntomas y urocultivo: >100UFC/ml	Depende del tiempo de cateterización

Adaptada de: Echevarría-Zarate. Acta Médica Peruana. 2006; 23 (1): 26- 31

Anexo N° 2: Cálculo de tamaño muestral.

Tamaño de la muestra para la frecuencia en una población

Tamaño de la población (para el factor de corrección de la población finita o fcp)(N):	2200
frecuencia % hipotética del factor del resultado en la población (p):	80%+/-5
Límites de confianza como % de 100(absoluto +/-%)(d):	5%
Efecto de diseño (para encuestas en grupo-EDFF):	1
Tamaño muestral (n) para Varios Niveles de Confianza	

IntervaloConfianza (%)	Tamaño de la muestra
95%	222
80%	101
90%	161
97%	266
99%	357
99.9%	528
99.99%	673

Ecuación

Tamaño de la muestra $n = [EDFF * Np(1-p)] / [(d^2 / Z^2_{1-\alpha/2} * (N-1) + p*(1-p)]$

Resultados de OpenEpi, versión 3, la calculadora de código abiertoSSPropor

Anexo N°3:



UNIVERSIDAD PERUANA CAYETANO HEREDIA

CONSENTIMIENTO PARA PARTICIPAR EN UN ESTUDIO DE INVESTIGACIÓN

Título: Estabilidad de muestras de orina para urocultivos recolectadas en dispositivos con y sin conservante.

Investigadores: Claudia Alejandra Morreno Lazarte, Dianira Abigail Hurtado Concha.

Propósito del Estudio:

Estamos invitando a Ud. a participar en un estudio llamado: “Estabilidad de muestras de orina para urocultivos recolectadas en dispositivos con y sin conservante”. Este es un estudio es desarrollado por alumnas de pregrado de la Escuela de Tecnología Médica de la Universidad Peruana Cayetano Heredia. Estamos realizando este estudio para evaluar los dispositivos de recolección de la marca BD en la estabilidad de la conservación de las muestras de orina.

Procedimientos:

Si usted acepta participar en este estudio se le dará a conocer lo siguiente:

1. Recibirá información e instrucciones sobre la forma correcta de recolección de la muestra en el vaso y tubo BD.
2. Se le brindará los recipientes de recolección BD.
3. Al día siguiente usted tendrá que acercarse al laboratorio y dejar la muestra.

Riesgos:

No existen riesgos por participar en el estudio.

La toma de muestra de orina no es un proceso invasivo, no le generará ningún dolor o molestia, ni sufrirá ningún tipo de daño.

El uso de los vasos recolectores BD, no generarán ningún tipo de interferencia en el resultado de su cultivo de orina.

Beneficios:

No existe beneficio directo sin embargo se le dará la información e indicaciones adecuada para la correcta toma de muestra.

Costos e incentivos:

Los costos de los vasos recolectores con dispositivo de transferencia integrado de la marca BD serán cubiertos por el estudio y no le ocasionarán gasto alguno.

Igualmente, no recibirá ningún incentivo económico ni de otra índole, únicamente la satisfacción de colaborar en el estudio de investigación mencionado anteriormente.

Confidencialidad:

Nosotros guardaremos su información con códigos y no con nombres. Si los resultados de este seguimiento son publicados, no se mostrará ninguna información que permita la identificación de las personas que participan en este estudio. Sus archivos no serán mostrados a ninguna persona ajena al estudio sin su consentimiento.

Derechos del paciente:

Si usted decide participar en el estudio, puede retirarse en cualquier momento, o no participar en una parte del estudio sin perjuicio alguno.

Si tiene alguna duda adicional, por favor pregunte al personal del estudio, la investigadora Dianira Abigail Hurtado Concha al teléfono móvil [REDACTED] o a la investigadora Claudia Alejandra Moreno Lazarte al teléfono móvil [REDACTED]

Si usted tiene dudas sobre los aspectos éticos del estudio, o cree que ha sido tratado injustamente puede contactar a la presidente del Comité Institucional de Ética de la Universidad Cayetano Heredia, Frine Samalvides, al teléfono 01-3190005, anexo 2271.

CONSENTIMIENTO

Acepto voluntariamente participar en este estudio y declaro que se me explicó el estudio y tuve la oportunidad de hacer las preguntas necesarias antes de firmar dicho consentimiento.

Además, entiendo que puedo decidir no participar y que puedo retirarme del estudio en cualquier momento.

PARTICIPANTE

Nombre:

DNI:

Fecha:

INVESTIGADOR

Nombre:

DNI:

Fecha:

Anexo N°4:

Entrevista para aceptar la muestra de urocultivo del paciente ingresado al estudio.

PREGUNTAS AL PACIENTE AMBULATORIO	VERIFICAR EN EL FRASCO	CHEK LIST
1. ¿Cuál es su nombre completo?	Verificar si coincide con el nombre dado por el paciente.	Si No
2. ¿La muestra recolectada es suya?		Si No
3. ¿Se realizó la limpieza de sus genitales antes de la recolección?		Si No
4. ¿Cómo se realizó la limpieza? Explíqueme		Si No ¿La forma de realizar fue la correcta? Si No
5. ¿A qué hora recolectó la muestra?	¿La hora mencionada por el paciente coincide con el escrito en el frasco? Es menor de 1 hora y media	Si No
6. ¿Fue al baño en la madrugada?		Si No