

Producción de biopelículas y resistencia antimicrobiana en uropatógenos aislados de catéteres urinarios en un hospital de rehabilitación física

Production of biofilms and antimicrobial resistance of uropathogens isolated from urinary catheters in a physical rehabilitation hospital

Silvestre Ortega Peña,* Guillermo Cerón González*

* Laboratorio de Infectología, Instituto Nacional de Rehabilitación «Luis Guillermo Ibarra Ibarra». Ciudad de México, México.

Dirección para correspondencia:
Silvestre Ortega Peña
Calz. México-Xochimilco Núm. 289,
Col. Arenal de Guadalupe,
Deleg. Tlalpan, 14389,
Ciudad de México, México.
Teléfono: 59991000, ext. 14806
E-mail: silvestreortega@yahoo.com.mx

Recibido: 13 de octubre de 2016.
Aceptado: 06 de julio de 2017.

Este artículo puede ser consultado en versión completa en:
<http://www.medigraphic.com/rid>

Palabras clave:

Catéteres urinarios, uropatógenos, susceptibilidad antimicrobiana, biopelículas.

Key words:

Urinary catheters, uropathogens, antimicrobial susceptibility, biofilms.

Resumen

El tratamiento antimicrobiano para infecciones urinarias asociadas a catéter puede fallar en algunos casos debido a que los uropatógenos pueden desarrollar mecanismos que los protegen de los antibióticos, tales como resistencia antimicrobiana y producción de biopelículas. En el presente estudio determinamos la producción de biopelículas y perfil de susceptibilidad antimicrobiana en 98 uropatógenos aislados de cultivos de orina obtenidos de pacientes con infección del tracto urinario asociado a catéter. Los uropatógenos cultivados más frecuentemente fueron *Escherichia coli* (60%), *Enterococcus faecalis* (12%), *Pseudomonas aeruginosa* (11%) y *Klebsiella pneumoniae* (7%). De los uropatógenos, 77% produjeron biopelículas; de éstos, 14% lo hicieron de forma débil y 63%, fuerte. Encontramos que la mayoría de los uropatógenos poseían altos porcentajes de resistencia a distintas familias de antibióticos, y muchos de ellos produjeron biopelículas en distintos niveles; por ello, es importante implementar estrategias de prevención para evitar la contaminación de los catéteres urinarios con este tipo de uropatógenos, al igual que evitar el uso de los catéteres durante largos periodos.

Abstract

Antimicrobial treatment of catheter-associated urinary tract infections may fail in some cases because uropathogens may develop mechanisms that protect them from antibiotics, such as antimicrobial resistance and biofilm production. In this study, we determined the biofilm production and antimicrobial susceptibility profile in 98 uropathogens isolated from urine cultures obtained from patients with catheter-associated urinary tract infections. The most frequently cultured uropathogens were Escherichia coli (60%), Enterococcus faecalis (12%), Pseudomonas aeruginosa (11%), and Klebsiella pneumoniae (7%). Of the uropathogens, 77% produced biofilms, of which 14% did so weakly, and 63% strongly. We found that most uropathogens had high percentages of resistance to different families of antibiotics, and many of them produced biofilms at different levels; therefore, it is important to implement prevention strategies to avoid contamination of urinary catheters with this type of uropathogens, as well as avoiding the use of catheters for long periods.

Introducción

Los catéteres urinarios (CU) son dispositivos médicos que ayudan a drenar la orina desde la vejiga y se usan ampliamente en pacientes que sufren de alguna discapacidad física (fractura de cadera, lesión en los nervios de la vejiga o lesión de médula espinal) que les impide orinar por sí mismos.^{1,2} Sin embargo, el uso prolongado de CU incrementa el riesgo de que los pacientes sufran en algún momento infecciones del tracto urinario asociadas a ellos (ITU-CU) y, en el peor de los casos, bacteriemias secundarias.³

El origen de las ITU-CU se asocia con la contaminación del catéter con microorganismos que proceden de la región periuretral.³ Una característica de las ITU-CU es que, en algunos casos, pueden llegar a convertirse en infecciones crónicas y persistentes si no se tratan a tiempo, debido a que los CU podrían contaminarse con uropatógenos que poseen la habilidad de producir biopelículas.² Estas últimas se definen microbiológicamente como comunidades de células microbianas que crecen rodeadas por una matriz extracelular (ME) que ellas mismas producen y les sirve para adherirse de forma covalente sobre superficies vivas o inertes; además, la ME protege a los microorganismos de la respuesta inmune del huésped e impide la penetración de las moléculas con actividad antimicrobiana (antibióticos y antisépticos) a su sitio blanco.⁴ Estudios de susceptibilidad antimicrobiana *in vitro* han demostrado que los microorganismos que crecen en forma de biopelículas son hasta mil veces más tolerantes a la acción de los antibióticos que los que crecen en forma libre (planctónica).⁴ Otra característica de las ITU-CU es que su tratamiento puede llegar a ser complicado, no sólo por el crecimiento de los microorganismos en forma de biopelículas, sino porque, en algunos casos, las biopelículas se forman con microorganismos que previamente han desarrollado resistencia a distintos tipos de antibióticos.⁵ Por ejemplo, en un estudio realizado por Neupane y sus colaboradores, donde correlacionaron entre la formación de biopelículas y la resistencia para los antibióticos más comunes usados para tratar ITU causadas por cepas de *Escherichia coli* uropatógenas aisladas en un hospital de Nepal, además de que eran multidrogosresistentes por tener betalactamasas de espectro extendido (ESBL), los autores encontraron que las *E. coli* con ESBL que produjeron biopelículas presentaron alta resistencia a cefalexina y amoxicilina.⁶

Las características microbiológicas (perfil de susceptibilidad antimicrobiana y producción de biopelículas) de microorganismos aislados de infecciones

asociadas al uso de dispositivos médicos distintos a CU (catéteres intravasculares, prótesis articulares, etcétera) ya han sido documentadas en varios estudios; sin embargo, en uropatógenos aislados de ITU-CU, la información de las características antes mencionadas es casi nula.⁷ Por lo tanto, nosotros decidimos realizar un estudio que nos permitiera describir y documentar las características microbiológicas de los uropatógenos aislados de ITU-CU. Este trabajo se realizó en el Instituto Nacional de Rehabilitación «Luis Guillermo Ibarra Ibarra» (INR-LGII), que es un hospital de tercer nivel que recibe y trata a pacientes que padecen de patologías que les causan discapacidad física.

Material y métodos

Realizamos un estudio transversal entre noviembre de 2013 y mayo de 2014 con muestras de orina obtenidas de pacientes que llevaban usando CU por más de dos semanas y en quienes se sospechó ITU-CU porque presentaban datos clínicos: dolor abdominal, lumbar o fiebre.

Obtención de la muestra y cultivo

Las muestras de orina fueron colectadas en condiciones asépticas con jeringas estériles de la parte final del catéter uretral, y enviadas inmediatamente al Laboratorio de Infectología del INR-LGII para su cultivo. El sembrado de las muestras se hizo en dos medios de cultivo (agar sangre de carnero 5% y agar MacConkey) con asa calibrada (1 µL); luego, los medios se incubaron por 24 horas a 37 °C. El cultivo se consideró positivo cuando se observó desarrollo y cuenta bacteriana $\geq 1 \times 10^3$ UFC/mL.

Identificación y pruebas de sensibilidad antimicrobiana

La identificación y pruebas de sensibilidad antimicrobiana de los uropatógenos se hizo en el sistema semiautomatizado Vitek 2® (bioMérieux, Marcy l'Étoile, Francia). Los antibióticos probados en bacterias Gram-negativas fueron amoxicilina/ácido clavulánico (AMC), piperazilina/tazobactam (PTZ), ceftazidima (CAZ), cefepime (FEP), aztreonam (AZT), fosfomicina (FOS), nitrofurantoina (NIT), trimetoprim/sulfametoxazole (SXT), ciprofloxacino (CIP), levofloxacino (LVX), amikacina (AK), gentamicina (GM), ertapenem (ETP), meropenem (MRP), imipenem (IPM) y colistina (CL); y en Gram-positivas, ampicilina (AMP), penicilina (P), NIT, CIP, LVX, linezolid (LZD) y vancomicina (VAN).

La interpretación del perfil de sensibilidad antimicrobiana se hizo de acuerdo con los criterios de la CLSI (*Clinical and Laboratory Standards Institute*).⁸ Los uropatógenos estuvieron almacenados a -70 °C en caldo Müeller Hinton suplementado con 30% de glicerol hasta su análisis.

Producción in vitro de biopelículas

Para la producción de biopelículas se usó el ensayo semicuantitativo descrito por Christensen y su grupo,⁹ con algunas modificaciones. Cada cepa se creció estáticamente en caldo cerebro corazón suplementado con 2% de glucosa (CCC-G) a 37 °C por 24 horas. Enseguida, los crecimientos se ajustaron a una concentración 0.5 escala de MacFarland [1.5×10^8 UFC/mL]; después, se diluyeron 1:20 en solución de cloruro de sodio (0.85%, P/V); [5×10^6 UFC/mL]. De la dilución se tomaron 10 µL y depositaron en pocillos individuales de una microplaca estéril de 96 pozos fondo U que contenían 100 µL de CCC-G fresco; la concentración final de los microorganismos en los pocillos fue 5×10^4 UFC/mL. La microplaca se incubó estáticamente a 37 °C por 12 horas. Enseguida, se decantó el medio de cultivo y los pocillos se lavaron de forma gentil (tres veces) con solución salina estéril. La microplaca fue secada a temperatura ambiente por dos horas. Las biopelículas y sus residuos se tiñeron por 20 minutos con 200 µL de una solución de cristal violeta 0.1% (P/V). El colorante se decantó y el exceso se eliminó con solución salina (tres veces). Se extrajo el colorante con 180 µL de etanol 95% por 30 minutos, y enseguida se midió por densidad óptica (DO, 492 nm) en un espectrofotómetro (xMark™, Bio-Rad Laboratories, Inc., California). Las cepas se inocularon por triplicado y se repitió el ensayo dos veces en experimentos independientes. Se promediaron las DO obtenidas de los dos experimentos para cada cepa. El punto de corte (DOc) que se usó para definir que las cepas eran productoras de biopelículas fue dos veces más la DO que el control negativo. De acuerdo con los valores de DO, las cepas se categorizaron en tres grupos: no productoras de biopelículas ($DO \leq DOc$), productoras débiles ($DOc \leq DO_2 \times DOc$) y productoras fuertes ($2 \times DOc < DO$). La categorización anterior fue con base en los criterios de Stepanović y sus colegas.¹⁰

Análisis estadístico

Se usó estadística descriptiva para determinar frecuencias, porcentajes y proporciones.

Resultados

A partir de 230 muestras de orina, se aislaron 98 uropatógenos que se distribuyeron en las siguientes especies: *E. coli* (60%), *Enterococcus faecalis* (12%), *Pseudomonas aeruginosa* (11%), *Klebsiella pneumoniae* (7%), *Morganella morganii* (4%), *Proteus mirabilis* (4%), *Citrobacter freundii* (1%) y *Citrobacter braakii* (1%).

El porcentaje de resistencia antimicrobiana por especie se muestra en el cuadro I. En general, *E. coli* fue el uropatógeno que presentó los más altos porcentajes de resistencia, principalmente a los siguientes antibióticos: fluoroquinolonas (ciprofloxacino y levofloxacino), cefalosporinas de tercera y cuarta generación (ceftazidima y cepefime), aztreonam, trimetoprim/sulfametoxazole y gentamicina. El único microorganismo Gram positivo que se aisló fue *E. faecalis*, que sólo mostró resistencia a ciprofloxacino (33%) y levofloxacino (33%).

Los resultados de los ensayos *in vitro* para detectar uropatógenos productores de biopelículas mostraron que 77% fueron positivos para la prueba; de éstos, 63% lo hicieron de forma fuerte (Cuadro II). Los uropatógenos que produjeron mayores cantidades de biopelículas fueron *E. coli*, *K. pneumoniae*, *Ps. aeruginosa*.

Por último, de los uropatógenos que aislamos con mayor frecuencia y produjeron mayor cantidad de biopelículas (*E. coli*, *K. pneumoniae* y *Ps. aeruginosa*), seleccionamos tres aislados de cada especie (la selección se hizo porque las especies antes mencionadas producían la misma cantidad de biopelículas, resultados no mostrados) y comparamos si había diferencia en la cantidad de biopelículas que producían (Figura 1). Este análisis nos mostró que *Ps. aeruginosa* y *K. pneumoniae* fueron los uropatógenos que mayor cantidad de biopelículas producían.

Discusión

El motivo principal que incentivó la realización del siguiente estudio fue describir las características microbiológicas (susceptibilidad antimicrobiana y producción de biopelículas) de los uropatógenos aislados de CU en uno de los hospitales de rehabilitación física más importantes en México.

Una característica de las ITU-CU es que si no se tratan a tiempo y de forma adecuada, pueden llegar a convertirse en infecciones crónicas y persistentes debido a que los CU podrían estar contaminados con uropatógenos que posean diferentes mecanismos de defensa que les sirvan para resistir o tolerar los

Cuadro I. Patrón de resistencia antimicrobiana a distintos antibióticos en uropatógenos aislados de infecciones del tracto urinario asociadas a catéter (n = 98).

Uropatógenos	Antibioticorresistencia (%)																						
	Total	AMC	PTZ	CAZ	FEP	ATM	FOS	NIT	SXT	CIP	LVX	AK	GN	ETP	MRP	IMP	CL	AMP	P	VAN	LZD		
Gram negativos	58	0	0	30	30	30	12	16	30	42	42	6	23	0	0	0	ND	ND	ND	ND	ND	ND	
<i>E. coli</i>	7	0	0	3	3	3	0	0	3	3	0	0	0	0	0	0	ND	ND	ND	ND	ND	ND	
<i>K. pneumoniae</i>	4	0	0	0	0	0	0	ND	0	0	0	0	0	0	0	0	ND	ND	ND	ND	ND	ND	
<i>M. morgani</i>	4	0	0	0	0	0	0	ND	0	0	0	0	0	0	0	0	ND	ND	ND	ND	ND	ND	
<i>P. mirabilis</i>	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	ND	ND	ND	ND	ND	ND	
<i>Citrobacter spp.</i>	11	0	0	7	7	0	10	10	ND	7	7	7	7	ND	0	0	ND	ND	ND	ND	ND	ND	
Gram positivos	12	ND	ND	ND	ND	ND	0	ND	33	33	33	ND	ND	ND	ND	ND	ND	0	0	0	0	0	
<i>E. faecalis</i>																							

Antibióticos: amoxicilina/ácido clavulánico (AMC), piperacilina/tazobactam (PTZ), ceftazidima (CAZ), cefepime (FEP), aztreonam (ATM), fosfomicina (FOS), nitrofurantoina (NIT), trimetoprim/sulfametoxazole (SXT), ciprofloxacino (CIP), levofloxacino (LVX), amikacina (AK), gentamicina (GN), ertapenem (ETP), meropenem (MRP), imipenem (IMP), colistina (CL), ampicilina (AMP), penicilina (P), vancomicina (VAN), linezolid (LZD). No determinado (ND).

tratamientos antimicrobianos.⁹ Estos mecanismos son adquisición de genes que les confieren resistencia específica a los antibióticos y producción de biopelículas; éstas sirven para proteger a las células microbianas de la respuesta inmune del huésped y de moléculas con actividad antimicrobiana: antibióticos o antisépticos.⁵

En este trabajo determinamos el perfil de susceptibilidad a distintas familias de antibióticos en todos los uropatógenos que aislamos. En general, encontramos elevados porcentajes de resistencia antimicrobiana, principalmente en el uropatógeno más frecuente: *E. coli*; la mayoría de las cepas que pertenecían a esta especie microbiana eran multidrogosresistentes. Los resultados de resistencia antimicrobiana que encontramos son similares con los publicados en otras series realizadas en nuestro país,^{10,11} donde también determinaron la resistencia antimicrobiana en infecciones del tracto urinario, lo que coincide con resultados reportados para otros países de América Latina. El incremento de resistencia antimicrobiana entre microorganismos aislados de infecciones del tracto urinario, así como de otro tipo de infecciones, se ha convertido en los últimos años en un importante problema de salud pública debido a que el uso irracional e inadecuado de los antibióticos ha propiciado la generación de microorganismos multidrogosresistentes.¹²

Una dificultad a la cual se pueden enfrentar los clínicos cuando diagnostican y tratan ITU-CU es que los pacientes no respondan al tratamiento antimicro-

Cuadro II. Evaluación de la biopelícula en uropatógenos aislados de infecciones asociadas con catéter.

Uropatógenos	Total	Detección de biopelículas n (%)		
		Negativo	Débil	Fuerte
<i>E. coli</i>	58	18 (31)	5 (9)	35 (60)
<i>E. faecalis</i>	12	4 (33)	3 (25)	5 (42)
<i>P. aeruginosa</i>	11	0	0	11 (100)
<i>K. pneumoniae</i>	7	0	0	7 (100)
<i>M. morgani</i>	4	0	0	4 (100)
<i>P. mirabilis</i>	4	0	4 (100)	0
<i>Citrobacter spp.</i>	2	0	2 (100)	0
Total	98	22 (22)	14 (14)	62 (63)

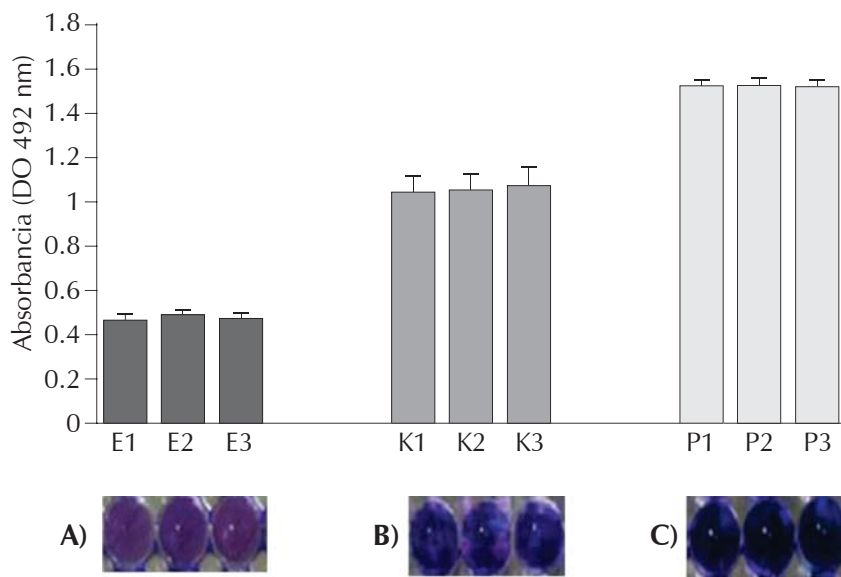


Figura 1.

Comparación de la producción de biopelículas de tres especies de uropatógenos: *Escherichia coli* (E, n = 3), *Klebsiella pneumoniae* (K, n = 3), *Pseudomonas aeruginosa* (P, n = 3), y fotografías representativas de los resultados del ensayo semicuantitativo: **A)** *E. coli*, **B)** *K. pneumoniae* y **C)** *Ps. aeruginosa*.

biano a pesar de conocer el perfil de susceptibilidad antimicrobiana de los uropatógenos que las están causando; esto puede deberse a que el CU esté contaminado con microorganismos productores de biopelículas que protegen a las células microbianas de las moléculas con actividad antimicrobiana.⁵ Nosotros determinamos la frecuencia con la que se aíslan uropatógenos que poseen la habilidad de producir biopelículas; en general, encontramos que el 76% poseían esta habilidad, y de ellos, 63% lo hacían de forma fuerte. La frecuencia que obtuvimos en este estudio fue más alta con respecto a lo publicado por Niveditha, Subramanian y sus respectivos grupos; ambos investigadores realizaron trabajos similares al nuestro y describieron las siguientes frecuencias: 60 y 63%, respectivamente, para los siguientes uropatógenos: *E. coli*, *K. pneumoniae* y *Ps. aeruginosa*.^{13,14} Las diferencias encontradas se deben a que Niveditha, Subramanian y sus colaboradores usaron ensayos *in vitro* que detectan de forma fenotípica a los microorganismos productores de biopelículas (crecimiento en agar rojo Congo o adhesión en tubo), y éstos son ensayos que poseen baja sensibilidad y especificidad para ello.^{6,15} En nuestro caso, usamos un método mucho más sensible y específico (ensayo semicuantitativo de Christensen), además de que aplicamos los criterios de Stepanović para clasificar a los microorganismos como no productores, productores débiles o fuertes.^{8,15} Es importante mencionar que aunque los criterios de Stepanović están bien estandarizados y referenciados para clasificar a los microorganismos productores de biopelículas como débiles o fuertes,

pequeños incrementos en la densidad óptica (DO) pueden impactar negativamente en la categorización de los microorganismos productores de biopelículas, sobre todo en los productores fuertes. Nosotros observamos lo anterior cuando comparamos el promedio de la DO que se obtuvo entre los uropatógenos que habían sido categorizados como productores fuertes: *Ps. aeruginosa*, *K. pneumoniae* y *E. coli*; en general, los resultados nos enseñaron que aunque las especies microbianas antes mencionadas fueron categorizadas como productoras fuertes, aun así había diferencias entre ellas (Figura 1), que se deben al tipo de moléculas que producen los microorganismos para formar la ME que va a rodear las biopelículas; en el caso de *Ps. aeruginosa* y *K. pneumoniae*, la ME está compuesta en su mayor parte por carbohidratos, a diferencia de *E. coli*, en la cual se forma con proteínas, de manera predominante.^{16,17}

Una debilidad de nuestro estudio es que no hacemos una correlación entre producción de biopelículas y resistencia antimicrobiana; sin embargo, algunos otros sí lo han hecho; por ejemplo, Subramanian y su equipo: encontraron que de 60 uropatógenos que ellos analizaron y que producían biopelículas, el 83% eran resistentes a ampicilina, 80% a norfloxacin, 93% a ácido nalidíxico.¹⁶ Mishra y sus colegas analizaron la resistencia en microorganismos aislados de dispositivos médicos y la relacionaron con la producción de biopelículas; en general, este grupo de investigadores encontró que los microorganismos que producían biopelículas eran más resistentes que los que no.⁷ Como ya lo habíamos mencionado anteriormente,

el incremento de la resistencia antimicrobiana entre microorganismos productores de biopelículas se debe a que la ME impide el paso de los antimicrobianos a su sitio blanco; además, los microorganismos en el interior de las biopelículas sufren cambios morfológicos y metabólicos que generan que sean más tolerantes a los antimicrobianos.⁵

Por último, aunque los resultados obtenidos en este trabajo sólo muestran las características microbiológicas (perfil de susceptibilidad antimicrobiana y producción de biopelículas) de uropatógenos aislados de ITU-CU de nuestro hospital, y no pueden ser extrapolados a otros centros hospitalarios del país, sirven para generar nuevas preguntas que es necesario responder; por ejemplo: ¿la composición de la ME de los uropatógenos productores de biopelículas impacta de forma negativa en la acción de los antibióticos con actividad antibiopelícula (fosfomicina)?,¹⁸⁻²⁰ ¿los antibióticos carbapenémicos (ertapenem, imipenem, meropenem) que se usan para tratar ITU-CU causadas por bacilos Gram-negativos multidrogosresistentes tienen la misma efectividad si éstos producen biopelículas? Si podemos contestar estas preguntas en estudios posteriores y obtenemos resultados positivos, éstos servirán para hacer adecuaciones en las terapias antimicrobianas que se usan para tratar ITU-CU cuando sean causadas por uropatógenos multidrogosresistentes y productores de biopelículas; así, se evitará que los pacientes desarrollen secuelas negativas: ITU crónicas o bacteriemias secundarias asociadas a contaminación del CU.

Conclusión

En el presente trabajo encontramos que la mayoría de los uropatógenos poseían altos porcentajes de resistencia a distintas familias de antibióticos y muchos de ellos produjeron biopelículas en distintos niveles; por ello, es importante implementar estrategias de prevención para evitar la contaminación de los catéteres urinarios con este tipo de uropatógenos, al igual que evitar su uso durante largos periodos.

Bibliografía

- Romero-Cullerés G, Planells-Romeo I, Martínez de Salazar-Muñoz P, Conejero-Sugrañes J. Urinary infection in patients with neurogenic bladder: patterns of resistance to the most frequent uropathogens. *Actas Urol Esp.* 2012; 36 (8): 474-481.
- González-Chamorro F, Palacios R, Alcover J, Campos J, Borrego F, Dámaso D. Urinary tract infections and their prevention. *Actas Urol Esp.* 2012; 36 (1): 48-53.
- Nicolle LE. Catheter-associated urinary tract infections. *Antimicrob Resist Infect Control.* 2014; 3: 23.
- Ortega-Peña S, Franco-Cendejas R. Importancia médica del *biofilm* de *Staphylococcus epidermidis* en las infecciones de prótesis articular. *Invest Discap.* 2014; 3 (3): 106-113.
- Flores-Mireles AL, Walker JN, Caparon M, Hultgren SJ. Urinary tract infections: epidemiology, mechanisms of infection and treatment options. *Nat Rev Microbiol.* 2015; 13 (5): 269-284.
- Neupane S, Pant ND, Khatiwada S, Chaudhary R, Banjara MR. Correlation between biofilm formation and resistance toward different commonly used antibiotics along with extended spectrum beta lactamase production in uropathogenic *Escherichia coli* isolated from the patients suspected of urinary tract infections visiting Shree Birendra Hospital, Chhauni, Kathmandu, Nepal. *Antimicrob Resist Infect Control.* 2016; 5: 5.
- Mishra SK, Basukala P, Basukala O, Parajuli K, Pokhrel BM, Rijal BP. Detection of biofilm production and antibiotic resistance pattern in clinical isolates from indwelling medical devices. *Curr Microbiol.* 2015; 70 (1): 128-134.
- Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance for antimicrobial susceptibility testing; twenty-fifth informational supplement. CLSI document M100-S25. Wayne: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2016.
- Christensen GD, Simpson WA, Younger JJ, Baddour LM, Barrett FF, Melton DM et al. Adherence of coagulase-negative staphylococci to plastic tissue culture plates: a quantitative model for the adherence of staphylococci to medical devices. *J Clin Microbiol.* 1985; 22 (6): 996-1006.
- Stepanović S, Vuković D, Hola V, Di Bonaventura G, Djukić S, Cirković I et al. Quantification of biofilm in microtiter plates: overview of testing conditions and practical recommendations for assessment of biofilm production by staphylococci. *APMIS.* 2007; 115 (8): 891-899.
- Sánchez-de Badajoz E, Sánchez-Gallegos P. The challenge of urinary tract infections. *Actas Urol Esp.* 2014; 38 (10): 631-632.
- Páramo-Rivas F, Tovar-Serrano A, Rendón-Macías ME. Resistencia antimicrobiana en pacientes con infección de vías urinarias hospitalizados en el servicio de Medicina Interna del Nuevo Sanatorio Durango, de enero a diciembre de 2013. *Med Int Mex.* 2015; 31 (1): 34-40.
- Andrade SS, Sader HS, Jones RN, Pereira AS, Pignatari AC, Gales AC. Increased resistance to first-line agents among bacterial pathogens isolated from urinary tract infections in Latin America: time for local guidelines? *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 2006; 101 (7): 741-748.
- Marston HD, Dixon DM, Knisely JM, Palmore TN, Fauci AS. Antimicrobial resistance. *JAMA.* 2016; 316 (11): 1193-1204.

15. Niveditha S, Pramodhini S, Umadevi S, Kumar S, Stephen S. The isolation and the biofilm formation of uropathogens in the patients with catheter-associated urinary tract infections (UTIs). *J Clin Diagn Res.* 2012; 6 (9): 1478-1482.
16. Subramanian P, Shanmugam N, Sivaraman U, Kumar S, Selvaraj S. Antibiotic resistance pattern of biofilm-forming uropathogens isolated from catheterised patients in Pondicherry, India. *Australas Med J.* 2012; 5 (7): 344-348.
17. Hassan A, Usman J, Kaleem F, Omair M, Khalid A, Iqbal M. Evaluation of different detection methods of biofilm formation in the clinical isolates. *Braz J Infect Dis.* 2011; 15 (4): 305-311.
18. Bales PM, Renke EM, May SL, Shen Y, Nelson DC. Purification and characterization of biofilm-associated EPS exopolysaccharides from ESKAPE organisms and other pathogens. *PLoS One.* 2013; 8 (6): e67950.
19. Mann EE, Wozniak DJ. Pseudomonas biofilm matrix composition and niche biology. *FEMS Microbiol Rev.* 2012; 36 (4): 893-916.
20. Falagas ME, Vouloumanou EK, Samonis G, Vardakas KZ. Fosfomicin. *Clin Microbiol Rev.* 2016; 29 (2): 321-347.