

## **1. INDICE TEMÁTICO**



---

**INDICE TEMÁTICO**


---

	<b>Págs.</b>
<b>1. INDICE TEMÁTICO</b>	<b>1</b>
<b>2. DEDICATORIA Y AGRADECIMIENTOS</b>	<b>9</b>
<b>3. DIRECCIÓN Y CERTIFICACIONES</b>	<b>15</b>
<b>4. INDICIOS DE CALIDAD</b>	<b>21</b>
<b>5. RESUMEN</b>	<b>47</b>
<b>6. INTRODUCCIÓN</b>	<b>51</b>
6.1. Definición de infección urinaria	53
6.2. Epidemiología de la ITU	54
6.3. Etiología de la ITU	55
6.4. Factores de riesgo de ITU	56
6.4.1. Edad del niño	56
6.4.2. Obstrucción del flujo urinario	56
6.4.3. Reflujo vesicoureteral	56
6.4.3.1. Clasificación del RVU primario	56
6.4.3.2. Factores genéticos	57
6.4.3.3. Raza, sexo y edad	58
6.4.3.4. Cicatrices renales, IRC, IRT e HTA	58
6.4.3.5. Tratamiento del RVU	62
6.5. Patogenia: virulencia bacteriana e ITU	64
6.5.1. Variaciones de virulencia	65
6.5.2. Medida de la virulencia	66
6.5.3. Factores determinantes de la acción patógena	66
6.5.4. Colonización	66
6.5.5. Interacciones en el epitelio cutaneomucoso	67
6.5.6. Adherencia bacteriana:	67
6.5.6.1. Adhesinas	68
6.5.6.2. Adhesinas múltiple	71
6.5.6.3. Receptores de adherencia bacteriana	72
6.5.6.4. Mecanismo de adherencia bacteriana	72
6.5.6.5. Adherencia y colonización	74
6.5.6.6. Adherencia e infección	75
6.5.6.7. Prevención de la adherencia	78
6.5.6.8. Interferencia con la flora normal	79
6.5.6.9. Factores dependientes del huésped en adherencia.	79
6.6. Diagnóstico de ITU	79
6.6.1. Pielonefritis	79
6.6.2. Cistitis	80
6.6.3. Métodos de recogida de muestra	81
6.6.4. Pruebas de ayuda diagnóstica	81
6.6.5. Pruebas de imagen	83
6.7. Tratamiento de ITU	87
6.7.1. Retraso terapéutico	87

6.7.2. Recomendaciones de tratamiento de las GPC	87
6.7.2.1. Royal College of Physicians of London	87
6.7.2.2. Guía Colombiana	88
6.7.2.3. American Academy of Pediatrics	88
6.7.2.4. Pediatric Nefrology Group, Indian Academy of Pediatrics	89
6.7.2.5. Asociación Española Pediatría 2002	89
6.7.2.6. Sociedad Española de Urgencias Pediátricas	89
6.7.2.7. Guía Prodigy	90
6.7.2.8. Asociación Española Pediatría 2011	90
6.7.2.9. Conferencia de Consenso del panel expertos 2006	91
6.7.3. Criterios de Ingreso	92
6.8. Criterios de Interconsulta a Nefrología/Urología infantil.	93
6.9. Profilaxis de la ITU	93
6.9.1. Recomendaciones de las GPC	95
6.9.1.1. Royal College of Physicians of London	95
6.9.1.2. Guía Colombiana	96
6.9.1.3. American Academy of Pediatrics	96
6.9.1.4. Pediatric Nefrology Group, Indian Academy of Pediatrics	96
6.9.1.5. Asociación Española Pediatría 2002	96
6.9.1.6. Asociación Europea de Nefrología Pediátrica (2002)	96
6.9.1.7. Sociedad Española de Urgencias Pediátricas	97
6.9.1.8. Guía Prodigy	98
6.9.1.9. Conferencia de Consenso del panel expertos 2006	98
6.10. Seguimiento tras el 1º episodio de ITU	99
6.10.1. Alternativa al tratamiento antibiótico con extracto de arándano rojo americano:	100
6.10.1.1. Aspectos botánicos	100
6.10.1.2. Composición del zumo	101
6.10.1.3. Cóctel de zumo de arándano americano	102
6.10.1.4. Beneficios del arándano americano para la salud	102
6.10.1.5. Arándano americano y antiadherencia bacteriana	103
6.10.1.6. Efectos a nivel cardiovascular	104
6.10.1.7. Proantocianidinas	104
6.10.1.8. Antocianósidos	107
6.10.1.9. Flavonoles	109
6.10.1.10. Ácidos fenólicos	110
6.10.1.11. Otros componentes del arándano americano	110
6.10.1.12. Variabilidad de la composición	110
<b>7. JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVOS</b>	<b>111</b>
<b>8. MATERIAL Y MÉTODOS</b>	<b>115</b>
8.1. Caracterización del jarabe de arándano	117
8.1.1. Material	117
8.1.2. Preparación de la muestra	117
8.1.3. Medición de polifenoles totales y proantocianidinas	117

8.1.4.	Separación cromatográfica	118
8.1.5.	Condiciones ESI-TOF-MS	118
8.1.6.	Evaluación del método	119
8.2.	Definición de la muestra	120
8.3.	Selección de la muestra, criterios de inclusión y exclusión	120
8.4.	Cálculo del tamaño muestral	125
8.5.	Definición de variables	128
8.5.1.	Creatinina urinaria	128
8.5.2.	Urea urinaria	129
8.5.3.	Glucosa urinaria	129
8.5.4.	Ácido úrico urinario	129
8.5.5.	Sodio urinario	129
8.5.6.	Potasio urinario	129
8.5.7.	Cloro urinario	130
8.5.8.	Calcio urinario	130
8.5.9.	Microalbuminuria	130
8.5.10.	Cociente albúmina/creatinina	130
8.5.11.	Urocultivo y antibiograma	131
8.5.12.	Fechas nacimiento, reclutamiento y fecha alta en estudio	131
8.5.13.	Tipo de alimentación	131
8.5.14.	Edad (en meses)	131
8.5.15.	Tiempo de permanencia en el estudio (días)	131
8.5.16.	Tipo de intervención	131
8.5.17.	Dosis ( ml)	131
8.5.18.	Infección urinaria febril	131
8.6.	Recogida de datos somatométricos	131
8.7.	Enmascaramiento de las intervenciones	132
8.7.1.	Acondicionamiento primario del jarabe de Trimetoprima	132
8.7.2.	Acondicionamiento primario del jarabe de extracto de Arándano	133
8.7.3.	Periodo de validez, conservación y registro	133
8.7.4.	Análisis de estabilidad de placebo	134
8.7.5.	Análisis de bioactividad del jarabe de Arándano	142
8.7.6.	Autorización del ensayo clínico por la AEMYPS	143
8.7.7.	Registro Internacional de Ensayos Clínicos.	144
8.8.	Dosis y administración	148
8.9.	Etiquetado	148
8.10.	Protocolos de apertura del ciego	149
8.11.	Retirada de la medicación	149
8.12.	Memoria técnica del Servicio de Farmacia	150
8.12.1.	Personal	150
8.12.2.	Locales y equipos	150
8.13.	Tabla de aleatorización	150
8.14.	Formato de Prescripción de los Investigadores	152
8.15.	Formato de Inventario de los Envíos que se realizan a los Investigadores	153

8.16.	Sistema de quejas y reclamaciones	153
8.17.	Hoja de responsabilidades y firmas	155
8.18.	Solicitud de envío de nuevos lotes de medicación	155
8.19.	Método Clínico , seguimiento de pacientes	156
8.19.1.	Diseño global del estudio	156
8.19.2.	Periodo de preinclusión o lavado, seguimiento, etc	156
8.19.3.	Criterios diagnósticos	157
8.19.4.	Criterios de retirada	157
8.19.5.	Duración aproximada del periodo de reclutamiento	157
8.19.6.	Desarrollo del ensayo	157
8.20.	Garantía de confidencialidad	158
8.21.	Responsabilidades de los participantes del ensayo	158
8.21.1.	Condiciones de archivo de datos, manejo , procesamiento, correcciones...	158
8.21.2.	Identificación de muestras para investigación clínica y responsables de su suministro y conservación	159
8.22.	Condiciones de publicación	159
8.23.	Seguridad	159
8.23.1.	Acontecimientos adversos	159
8.23.2.	Procedimiento para la notificación rápida de acontecimientos adversos graves	161
8.24.	Declaración de Helsinki de la AMM: Principios éticos para las investigaciones médicas en seres humanos	162
8.24.1.	Introducción	162
8.24.2.	Principios generales	163
8.24.3.	Riesgos ,costos y beneficios	164
8.24.4.	Grupos y personas vulnerables	165
8.24.5.	Requisitos científicos y protocolos de investigación	165
8.24.6.	Comisión ética de investigación	165
8.24.7.	Privacidad y Confidencialidad	166
8.24.8.	Consentimiento Informado	166
8.24.9.	Uso del placebo	168
8.24.10.	Estipulaciones post-ensayo	168
8.24.11.	Inscripción y publicación de la Investigación y Difusión de resultados	168
8.24.12.	Intervenciones no probadas en la práctica clínica	169
8.25.	Seguro de Responsabilidad Civil	169
8.26.	Análisis estadístico	181
8.26.1.	Estadística descriptiva	181
8.26.1.1.	Medidas de centralización	181
8.26.1.2.	Medidas de dispersión	182
8.26.1.3.	Medidas de forma	183
8.26.1.4.	Pruebas de normalidad	183
8.26.1.5.	Representación gráfica Boxplot	184
8.26.2.	Contraste de Hipótesis	184

8.26.2.1. Test de comparación de dos medias independientes ( t de Student)	184
8.26.2.2. Recta de regresión lineal y coeficiente de correlación	185
8.26.2.3. Test de Chi cuadrado. Pruebas de Mantel-Haenszel	187
8.26.2.4. Regresión no lineal. Regresión logística	188
8.26.2.5. Análisis de supervivencia ( Kaplan-Meier)	188
<b>9. RESULTADOS</b>	<b>189</b>
9.1. Caracterización del extracto de arándano americano.	193
9.1.1. Componentes identificados en el modo de ionización negativo	195
9.1.2. Componentes identificados en el modo de ionización positivo	196
9.1.3. Cuantificación de los polifenoles	196
9.2. Seguimiento de los pacientes	198
9.3. Análisis descriptivo	200
9.4. Descripción de los microorganismos identificados	206
9.5. Resultados del análisis de supervivencia	207
9.5.1. Estimación de la probabilidad de ITU en la cohorte	207
9.5.2. Estimación de la probabilidad de ITU en la cohorte según género	217
9.5.3. Estimación de la probabilidad de ITU en lactantes menores de 12 meses	227
9.5.4. Estimación de la probabilidad de ITU en pacientes con recurrencia de infección urinaria	232
9.5.5. Estimación de la probabilidad de ITU en pacientes con RVU	237
9.5.6. Estimación de la probabilidad de ITU en pacientes con ectasia pelvis renal/ hidronefrosis	239
<b>10. DISCUSIÓN</b>	<b>243</b>
10.1. Resumen y discusión de los principales hallazgos	245
10.2. Caracterización del extracto de cranberry utilizado en el ensayo clínico	246
10.3. Eficacia y seguridad del extracto de arándano en infección urinaria recurrente	248
10.4. Evidencias de seguridad en la población infantil	256
10.5. Arándano americano como alternativa a la profilaxis antibiótica	261
<b>11. CONCLUSIONES</b>	<b>263</b>
<b>12. ABREVIATURAS</b>	<b>267</b>
<b>13. REFERENCIAS</b>	<b>273</b>





## **2. DEDICATORIA Y AGRADECIMIENTOS**



## DEDICATORIA Y AGRADECIMIENTOS

---

Con el fin de esta tesis doctoral, hago un trabajo, al mismo tiempo de reflexión de lo que ha significado para mí realmente. Ante todo tengo que agradecer que esta tesis haya sido posible a muchas personas pero fundamentalmente y sin lugar a dudas a **José Uberos Fernández**, director de esta tesis doctoral, adjunto en su momento y ejemplo de trabajo, constancia, superación y energía. Me has hecho ver que siempre puede haber más y que nunca alcanzamos nuestro tope, que hay que seguir luchando, no conformarse, que con trabajo todo se consigue o al menos casi todo, gracias por hacerme ver eso.

Cuando hace 6 años llegué como residente de primer año al Hospital Universitario San Cecilio no tenía ni idea de cuánto trabajo me quedaba por delante, ni de cuánto aprendizaje personal y profesional me esperaba. Nada más llegar me di cuenta del tipo de personas con las que estaba y de todo lo positivo que podrían aportarme.

Es cierto que cuando comencé la especialidad no se me pasaba por la mente nada relacionado con la investigación, solamente quería ver niños, aprender la parcela asistencial de nuestra profesión y poco más tarde mis tutores **Emilio del Moral Romero**, **Antonio Molina Carballo**, nuestro jefe de la Unidad de Gestión Clínica de Pediatría **Antonio Muñoz Hoyos** me enseñaron que tenía que completar muchas parcelas si quería ser una buena profesional en el futuro, y algunas parcelas no siempre eran tan agradables ni fáciles; así pues me aconsejaron iniciar mi trabajo en la investigación y **José Uberos Fernández** decidió confiar en mí, apoyarme e impulsarme un día tras otro, ofreciendo muchas más recompensas de las que yo merecía siempre para estimular mi trabajo y mis resultados.

Al **Instituto de Salud Carlos III**, **Fondo Investigación Sanitaria (FIS)** por la financiación dedicada a la realización de este Proyecto.

Al equipo de trabajo que ha llevado a cabo los estudios de estabilidad integrado por: **Luis Fermín Capitán Vallvey**, Doctor en Química y Catedrático Universidad de Granada; **Antonio Salmerón García**, Doctor en Farmacia; **Natalia Navas Iglesias**, Doctor en Química y Profesor Titular Universidad de Granada; **José Cabeza Barrera**, Licenciado en Farmacia y Jefe de Servicio, Hospital Universitario San Cecilio, Granada. **Raquel Ortega López**, Licenciada en Química y Becaria para la realización del estudio.

También deseo expresar mi agradecimiento a **Antonio Segura Carretero**, Catedrático de Química Analítica de la Universidad de Granada y Coordinador del

CIDAF y a **Celia Rodríguez Pérez** por su inmensurable ayuda en la caracterización del arándano.

Mi agradecimiento a **Gunter Haesaerts**, Director del Pharamatoka por el apoyo prestado en la elaboración del jarabe de arándano y a **Amy Howell** de la Rutgers University, Nwe Jersey por la colaboración en la determinación de la bioactividad.

Cómo no, nombrar a **Maria José Miras Baldó**, para mi es otro ejemplo a seguir, de trabajo y de energía inagotable, a ella le agradezco cuánto me ha exigido cada día, en cada momento y en todos los aspectos, cómo ha sabido hacerme críticas constructivas sin herirme y por supuesto cuánto me ha animado a seguir luchando por este trabajo.

A **Eduardo Narbona López** tengo que agradecerle su función mucho antes de que llegara a este Hospital, su función para mi comenzó en la Facultad de Medicina de Granada, en la asignatura de Pediatría cuando comenzó el primer tema, explicando lo que era el recién nacido sano y normal, cuáles eran sus características y transmitiendo cómo de feliz le hacía sentir su trabajo cada día cuando veía a esos pequeños seres humanos... gracias a ti Eduardo, tomé la decisión de ser Peditra.

Gracias a todos mis compañeros de residencia por hacerme tan agradable mi paso por este gran Hospital y por enseñarme tantas cosas.

Y si continuamos reflexionando y mirando hacia el fondo de la cuestión, no me queda más remedio que hablar de **mis padres** y de **mi hermano, mi familia**. Millones de gracias a esa estupendísima familia que me lo ha dado todo, sin la cual yo no sería hoy absolutamente nadie; gracias por esas infinitas horas de duro trabajo para conseguir que vuestra hija fuera Médico, que hiciera el MIR y se lo preparara en la mejor de las academias y en la más cómoda de las circunstancias; gracias a mi hermano por apoyar tanto a la familia y luchar tanto, si él esto tampoco hubiera sido posible. Muchísimas gracias por quererme tanto y confiar tanto en mí, por darme ánimos y fuerza cuando me han faltado, no hay palabras que puedan expresar tanto agradecimiento por lo que os lo seguiré agradeciendo toda la vida queriéndoo con locura y ayudándoos en todo lo que necesitéis de mí.

Continuando en el plano personal, tengo que dedicar este trabajo a muchas personas, familiares, amigos, a todas las que han creído en mí desde el principio, me han valorado y han disfrutado de mis alegrías como yo misma lo hago.

Pero una de esas personas merece estar aquí, ser nombrado de forma independiente, **Juan Carlos Sánchez-Garrido Palomo**, mi pareja, mi compañero, mi amigo, mi energía, mi luz... te agradezco que te hayas cruzado en mi camino justo en el mejor de los momentos, de manera que me has permitido centrarme, continuar trabajando para llegar a este puerto. Te agradezco que estés a mi lado, acompañándome siempre, animándome, creyendo en mí; yo también creo en ti y mucho, también creo en nosotros y espero poder seguir disfrutando a tu lado, celebrando éxitos e incluso llorando las desgracias, que por otro lado deseo que sean muy pocas.

Finalmente, gracias todos y cada una de las personas que os habéis cruzado en mi camino y habéis permitido de un modo u otro que esta tesis llegue a su final, a todos vosotros os dedico mi trabajo.

**A mis padres**

**A mi hermano**

**A Carlos**



### **3. DIRECCIÓN Y CERTIFICADOS**





---

**DIRECCIÓN Y CERTIFICADOS**

---

**UTILIDAD DEL EXTRACTO DE ARÁNDANO ROJO  
AMERICANO VS PROFILAXIS ANTIBIÓTICA CON  
TRIMETOPRIMA EN LA PREVENCIÓN DE LA INFECCIÓN  
URINARIA RECURRENTE INFANTIL**



**MEMORIA PRESENTADA PARA ASPIRAR  
AL GRADO DE DOCTOR POR LA UNIVERSIDAD DE GRANADA  
POR**

**Verónica Fernández Puentes**

Fdo. Verónica Fernández Puentes

Dr. D. Jose Uberos Fernandez

*Doctoranda*

*El director de la tesis doctoral*



Universidad de Granada



**D. José Uberos Fernández**, Doctor en Medicina por la Universidad de Granada y profesor asociado en Ciencias de la Salud de la Universidad de Granada.

**CERTIFICA:** Que Dña. Verónica Fernández Puentes, Licenciada en Medicina y Cirugía, ha realizado su Trabajo de Investigación Prospectivo para la confección de la Memoria de TESIS DOCTORAL, bajo mi dirección sobre el tema: “ **Utilidad del extracto de arándano rojo americano vs profilaxis antibiótica con trimetoprim en la prevención de la infección urinaria recurrente infantil**”, la que ha finalizado con todo aprovechamiento, habiendo sido leída y revisada la presente y estando conforme con su presentación para ser juzgada.

Granada, 10 de Junio de 2014  
Dr. D. J. Uberos Fernández

El doctorando Dña. Verónica Fernández Puentes y el director de la tesis Dr. José Uberos Fernández; Garantizamos, al firmar esta tesis doctoral, que el trabajo ha sido realizado por el doctorando bajo la dirección del director de la tesis y hasta donde nuestro conocimiento alcanza, en la realización del trabajo, se han respetado los derechos de otros autores a ser citados, cuando se han utilizado sus resultados o publicaciones.

Granada, 10 Junio de 1014

Director/es de la Tesis

Doctorando

Fdo.:

Fdo.:



## **4. INDICIOS DE CALIDAD**



# Cranberry syrup vs trimethoprim in the prophylaxis of recurrent urinary tract infections among children: a controlled trial

This article was published in the following Dove Press journal:  
Open Access Journal of Clinical Trials  
27 May 2012  
Number of times this article has been viewed

Jose Uberos<sup>1</sup>  
Mercedes Nogueras-Ocana<sup>2</sup>  
Verónica Fernández-Puentes<sup>1</sup>  
Rocio Rodriguez-Belmonte<sup>1</sup>  
Eduardo Narbona-López<sup>1</sup>  
Antonio Molina-Carballo<sup>1</sup>  
Antonio Munoz-Hoyos<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Paediatric Clinical Management Unit, San Cecilio University Clinical Hospital, Avda de Madrid s/n, Granada, Spain; <sup>2</sup>Paediatric Urology, San Cecilio University Clinical Hospital, Avda de Madrid s/n, Granada, Spain

**Objectives:** The present study forms part of the ISRCTN16968287 clinical assay. The objective of this study was to determine the effectiveness of cranberry syrup in the prophylaxis of recurrent urinary tract infection (UTI).

**Design:** Phase III randomized clinical trial.

**Setting:** The study was conducted at the San Cecilio Clinical Hospital (Granada, Spain).

**Participants:** A total of 192 patients were recruited. The subjects were aged between 1 month and 13 years. Criteria for inclusion were a background of recurrent UTI (more than two episodes of infection in the last 6 months), associated or otherwise with vesicoureteral reflux of any degree, or renal pelvic dilatation associated with UTI. Criteria for exclusion from recruitment to the study included the co-existence of UTI with other infectious diseases or with metabolic diseases, chronic renal insufficiency, and the presence of allergy or intolerance to any of the components of cranberry syrup or trimethoprim.

**Primary outcome measures:** The primary objective was to determine the risk of UTI associated with each intervention.

**Results:** Of the 198 patients initially eligible, 192 were finally included in the study to receive either cranberry syrup or trimethoprim. UTI was observed in 47 patients, 17 of whom were males and 30 females. We recruited 95 patients diagnosed with recurrent UTI on entry; during follow-up, 26 patients had a UTI (27.4%, 95% CI: 18.4%–36.3%). Six patients (6.3%) were male and 20 (21.1%) were female. Eighteen patients (18.9% of the total, 95% CI: 11%–26.3%) receiving trimethoprim had a UTI and eight patients (8.4% of the total, 95% CI: 2.8%–13.9%) were given cranberry. Sixty-six percent of the episodes of UTI recurrence were caused by *Escherichia coli*, with no significant differences being found between the two treatment branches. No differences were observed between the two treatment branches in the rate of resistance to antibiotics.

**Conclusion:** Our study confirms that cranberry syrup is a safe treatment for the pediatric population. Cranberry prophylaxis has noninferiority with respect to trimethoprim in recurrent UTI. (European Clinical Trials Registry EuDraCT 2007-004397-62) (ISRCTN16968287).

**Keywords:** cranberry, urinary tract infections, trimethoprim, vesicoureteral reflux, antibiotic prophylaxis

## Introduction

Although there is some controversy, current evidence supports the use of long-term, low-dose antibiotics to control recurrent urinary tract infections (UTI), the number needed to treat (NNT) to avoid infection is 1.85.<sup>1</sup> However, one of the main problems in prescribing these antibiotics is increased bacterial resistance to antibiotics and the selection of multiresistant bacterial flora. Recent bibliographic reviews have shown

Correspondence: Jose Uberos  
Paediatric Clinical Management Unit,  
San Cecilio University Clinical Hospital,  
Avda de Madrid s/n, Granada, Spain  
Phone +34 9 5802 3411  
Fax +34 958246661  
Email [juberos@ugr.es](mailto:juberos@ugr.es)

<http://dx.doi.org/10.1186/1745-2974-11-31>  
Dovepress  
http://www.dovepress.com/

Open Access Journal of Clinical Trials 2012:4:31–38

© 2012 Uberos et al, publisher and licensee Dove Medical Press Ltd. This is an Open Access article which permits unrestricted noncommercial use, provided the original work is properly cited.

31

that cranberry syrup may be useful in controlling recurrent UTI among healthy adults.<sup>1,2</sup> Most of these studies have been aimed at subpopulations at greater risk of developing UTI, such as pregnant women or the elderly. In all cases, it has been concluded that, although the effect of cranberry syrup seems to be beneficial, its optimum dose remains unknown, as is its possible utility among a pediatric population, for which few studies have been made. UTI is relatively frequent in children, presenting a rate of around 8% among girls and 2% among boys. The recurrence of UTI following pyelonephritis may rise to 20%.<sup>3</sup> Some later evidence<sup>3,4</sup> seem to suggest that antibiotic prophylaxis does not affect the frequency of kidney scarring and so the utility of this treatment has been questioned. Other studies<sup>5</sup> have shown that pediatric patients suffering from recurrent UTI and being treated with low-dose trimethoprim-sulfamethoxazole achieve a 6% reduction in the rate of UTI, in comparison with placebo treatment (95% CI: 1–11). In previous studies,<sup>6</sup> we confirmed the in vitro anti-adherent properties of the cranberry extract used in our assay of the adherent capacity of *Escherichia coli*. The present study, based on a controlled, double-blind clinical trial, examines the effectiveness of cranberry syrup treatment for an infant and children population at high risk of recurrent UTI. The study hypothesis is that cranberry syrup is safe and effective in the prophylaxis of urinary tract infection, equivalent or at least not inferior to trimethoprim for the prophylaxis of UTI.

## Methods

### Study participants

From 2009 to 2010, children aged from 1 month to 13 years, treated at the pediatric nephrology and urology departments in our hospital, were recruited for this study. The inclusion criteria established were a background of recurrent UTI (more than two episodes of infection in the last 6 months), vesicoureteral reflux of any degree, or renal pelvic dilatation associated with a UTI. The presence of infection was confirmed by urine culture (>100,000 colony forming units [CFU]/mL) using a 'mid-stream' urine sample or a urine collection bag, after asepsis of the urethral meatus with chlorhexidine, or >10,000 CFU/mL if a catheter specimen of urine was obtained. In both cases, the presence or otherwise of a urine sediment with >20 leukocytes per field was determined. Criteria for exclusion from recruitment to the study included the co-existence of UTI with other infectious diseases or with metabolic diseases, chronic renal insufficiency, the presence of allergy or intolerance to any of the components of cranberry syrup or trimethoprim, the existence of blood

dyscrasia, or the express wish of the parent or guardian to exclude the child from the study. This study was approved by the local ethics committee, and in all cases the parents or guardians gave their written informed consent.

### Primary and secondary outcomes

Our clinical practice guidelines recommend trimethoprim for the prophylaxis of recurrent UTI in infants until an imaging study is performed and in all patients with vesicoureteral reflux (VUR) grade III and IV. The problems faced in our hospital regarding bacterial resistance to common antibiotics justify this comparative study, in which we seek evidence of positivity in order to reduce the consumption of antibiotics. We compare the efficacy and safety of cranberry prophylaxis in a single daily dose when either recurrent UTI or VUR, both of which are major indications for prophylaxis, is recognized. In the absence of references in this regard, and after approval by the ethics committee of our hospital, the study was extended to other diagnostic groups that are not the object of routine prophylaxis, namely dilatation of the renal pelvis, hydronephrosis, and renal anatomical defects.

The secondary outcome was the evaluation of the predominant bacterial flora in each arm of the intervention and of the most common bacterial resistance.

### Study design and intervention

The study was designed as a Phase III randomized clinical trial, with the treatment option concealed from both patients and researchers. There were two treatment branches: cranberry syrup and trimethoprim. The study began on January 1, 2009 and ended on October 31, 2010. The maximum follow-up period of each patient recruited was 1 year.

### Randomization

For the randomization, we used the SPSS macro published by Domenech et al (IRNDPB V2005.03.07 c), which randomized permuted blocks of five subjects in each of the centers. Each patient randomized to an intervention arm was assigned a registration number corresponding to a patient data file. The files were distributed sequentially in blocks of five among the recruitment points, as requested by the researchers when new patients were included in the study. The register numbers corresponded to those of the treatment interventions, and this list was only held by the Hospital Pharmacy Service.

After each patient was included in the study, the researcher gave the parents a card with the corresponding identification number. This card was presented at the Hospital Pharmacy



Service to obtain the corresponding treatment, which was thus masked.

### Characterization of the cranberry syrup

The cranberry syrup was supplied by Pharmatoka (Ruei Malmaison, France), using a dispersion of 2.8 % of a high cranberry PAC (proanthocyanidin) extract used to formulate the food supplement Urell®. The concentration guarantees that 5 mL of the syrup contains 36 mg of highly bioactive PACs extracted from the cranberry syrup, measured by the BL-DMAC method. The cranberry syrup was characterized by the Department of Analytical Chemistry at the University of Granada.<sup>7</sup>

### Experimental group

This group was given a nocturnal dose of 0.2 mL/kg of cranberry syrup, just before the evening meal. If it was vomited during the following 30 minutes, administration of this dose was repeated.

### Control group

This group was given a nocturnal dose of 0.2 mL/kg of a color-masked suspension of trimethoprim at a concentration of 8 mg/mL. This was given just before the evening meal, and if it was vomited during the following 30 minutes, administration of this dose was repeated.

### Masking

At all times, the intention-to-treat principle was maintained. The trimethoprim syrup was diluted to a concentration of 8 mg/mL. For the color masking, CC-1000-WS (E-120) colorant (CHR-Hansen) was added, at a concentration of 0.1% (not exceeding the 100 ppm of carmine allowed). The packaging for both treatment options was mahogany-colored plastic tubes of 150 mL. The tubes were labeled in accordance with the regulations of the Spanish Agency for Medicinal Products (AEM) for research medicines.

### Follow-up

Treatment compliance was assessed by telephone consultation; every month, the parents were contacted to ask whether the child was taking the syrup and whether there were any problems in this respect. A periodic follow-up examination was performed, every 2 months or on demand from the patient when the symptoms called for it. The patient was instructed to obtain a urine culture if fever, urinary symptoms, vomiting, or weight loss occurred. The urine culture was also to be obtained before beginning any antibiotic treatment. All patients included in the study

underwent a kidney ultrasound examination. The patients with renal pelvis dilatation and those with recurrent urinary tract infection were examined by serial voiding cystography. The patients with vesicoureteral reflux grade II or higher, or with moderate hydronephrosis, underwent renal scintigraphy. Data records were kept of the treatment number assigned, the clinical and analytical data for each of the patients' scheduled follow-up examinations, and the periodic results of the urine cultures obtained. The absence of fever was not considered as a criterion for exclusion.

### Sample size

From our review of previous studies,<sup>3,8</sup> there is assumed to be a 20% risk of recurrence of UTI during the first year that patients receive antibiotic treatment. In the present study, we examined the equivalence or otherwise of cranberry syrup prophylaxis and trimethoprim. The limit of equivalence was estimated at  $\pm 10\%$ . The alpha error was estimated at 5% and the power of the study, at 80%. In accordance with these data, the sample size was calculated to be 109 patients per group.

### Statistical analysis

Statistical analysis was designed as a survival analysis in which appearance of the event (UTI) was sufficient cause for ending the follow-up period. In cases of voluntary withdrawal from the study or treatment discontinuation for reasons other than UTI, these data were considered to be censored for the remaining follow-up period. Kaplan-Meier curves were calculated for the experimental intervention and for the control treatment.

For the noninferiority analysis we consider a difference in prevalence ( $d$ ) of 0.105 (18.9%–8.4% = 10.5%),

$$SE = \sqrt{\frac{\text{Var cranberry}}{n1} + \frac{\text{Var trimethoprim}}{n2}}$$

$$SE = \sqrt{\frac{0.174}{37} + \frac{0.203}{58}} = 0.09.$$

At baseline, the limit of equivalence was estimated at  $\pm 0.1$  (10%)  $\rightarrow \delta^L = -0.1, \delta^U = 0.1, z_\alpha = 1.96$ .

We tested the noninferiority of cranberry versus trimethoprim. We raised only a unilateral noninferiority hypothesis:

$$H1_L = \Pr_{\text{cranberry}} - \Pr_{\text{trimethoprim}} > \delta^L \rightarrow H0_L$$

$$= \Pr_{\text{cranberry}} - \Pr_{\text{trimethoprim}} \leq \delta^L$$

That is evidenced by the statistic  $Z_L = d - \delta^L / SE$ ;  $Z_U = d - \delta^U / SE$ .

## Results

Figure 1 shows the CONSORT flow diagram. A total of 198 eligible patients were included in the study. Gastrointestinal intolerance was observed in five of the cases assigned to trimethoprim and in two of those assigned to cranberry syrup treatment. An equal number of losses to follow-up were experienced in both branches of the study ( $n = 3$ ); furthermore, in one case in each treatment branch, cutaneous rash was observed following administration. Urinary tract infection was observed in 47 patients, 17 of whom were males and 30 females. Thirty patients (14 given cranberry syrup and 16 given trimethoprim) completed the follow-up

on a voluntary basis when their parents reported the absence of symptoms and made the unsupervised decision to discontinue prophylaxis (treatment discontinuation, Figure 1). Forty patients were less than 6 months of age. Of these, 24 (of whom eight received cranberry) completed the follow-up time (1 year) without a recurrence of UTI and without any adverse events. Two of the patients who received cranberry were less than 2 months of age.

Due to problems during the randomization process, 75 patients were assigned to receive cranberry syrup and 117 to receive trimethoprim. However, blinding to treatment was maintained. Table 1 shows the number (%) of patients with

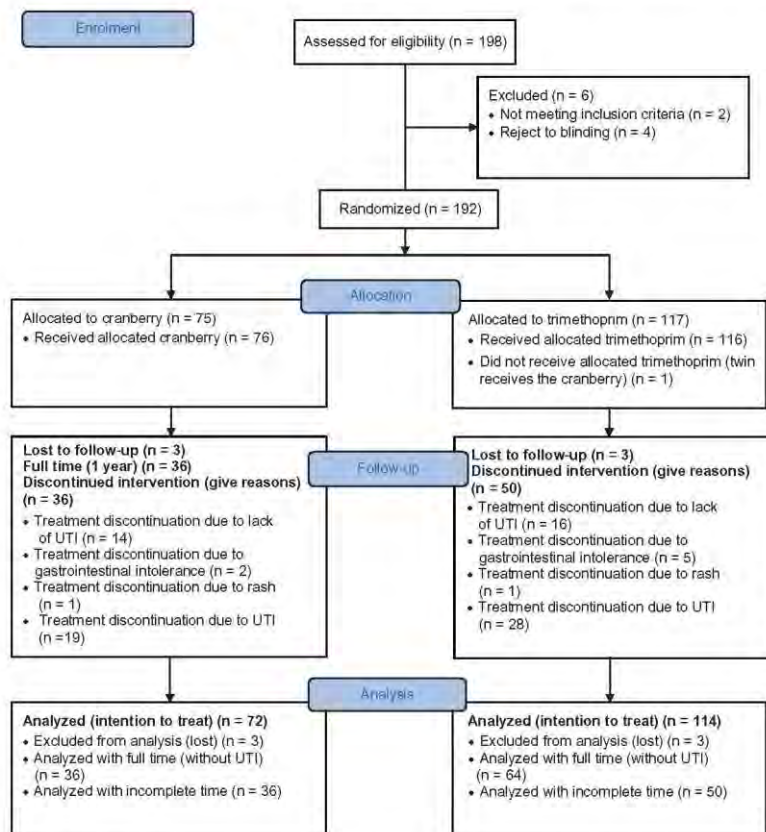


Figure 1 CONSORT 2010 flow diagram.

Note: Reproduced from CONSORT 2010 Statement; updated guidelines for reporting parallel group randomised trials; Schulz KF, Altman DG, Moher D. 340:c332. With permission from BMJ Publishing Group Ltd.

Abbreviation: UTI, urinary tract infection.

**Table 1** Number (%) of patients with UTI in each treatment group

	<b>Cranberry (n = 75)</b>	<b>Trimethoprim (n = 117)</b>
Age, months (mean, SD)	28.3 (30.7)	30.7 (33.9)
Gender, girls (n)	43	69
<b>Recurrent UTI</b>		
UTI, n (%)	8 (8.4)	18 (18.9)
Days without infection, mean (SD)	229 (128)	207 (129)
<b>Vesicoureteral reflux</b>		
UTI, n (%)	5 (12.8)	4 (10.3)
Days without infection, mean (SD)	240 (139)	281 (119)
<b>Dilatation of renal pelvis or hydronephrosis</b>		
UTI, n (%)	5 (9.8)	5 (9.8)
Days without infection, mean (SD)	192 (120)	207 (128)
<b>Ureteral duplication and other anatomical defects</b>		
UTI, n (%)	1 (33.3)	1 (33.3)
Days without infection, mean (SD)	29 (13)	159 (137)

Note: Average time in days (SD) without infection in each treatment group.  
Abbreviation: UTI, urinary tract infection.

UTI in each treatment group, and states the average time in days (SD) without infection in each treatment group.

### Recurrent urinary tract infections

Ninety-five of the patients were diagnosed with recurrent UTI on entry, and 26 of these suffered a UTI during follow-up (27.4%, 95% CI: 18.4%–36.3%). Six of these 95 (6.3%) were male and 20 (21.1%) were female. Eighteen of these patients (18.9%, 95% CI: 11%–26.3%) received trimethoprim versus eight (8.4%, 95% CI: 2.8%–13.9%) who received cranberry.

As  $z_U = 0.23 \geq -z_\alpha = -1.96$ , we cannot accept the principle of equivalence between interventions, but the noninferiority of cranberry versus trimethoprim is shown.

Figure 2 shows the Kaplan–Meier curves for patients diagnosed on entry with recurrent UTI.

Of the patients recruited with recurrent UTI, the mean time to infection after taking trimethoprim was 271 days (95% CI: 233–309 days) and after taking cranberry it was 312 days (95% CI: 275–350 days). Logrank (Mantel–Cox) test: 2.14 ( $P = 0.14$ ).

### Vesicoureteral reflux

Thirty-nine of the patients recruited – 19 males and 20 females – had VUR. Nine of those who completed the follow-up period presented UTI; four had been given trimethoprim (10.3%, 95% CI: 7.6%–19.8%) and five had received cranberry (12.8%, 95% CI: 2.3%–23.2%). The small sample size of patients with VUR did not allow us to observe significant differences between the groups.

The mean time to infection after taking trimethoprim was 318 days (95% CI: 274–362) and after taking cranberry it was 281 days (95% CI: 317–344). Logrank (Mantel–Cox) test: 0.5 ( $P = 0.4$ ).

### Dilatation of renal pelvis or hydronephrosis

This group comprised 51 patients, of which 34 received trimethoprim and 17 cranberry prophylaxis. Of these patients, ten (19.6%) developed UTI during follow-up, five (9.8%) in each intervention arm. Of all infections observed in this group, seven (13.7%) occurred in males and three (5.9%) in females. The mean time to UTI after taking trimethoprim prophylaxis was 315 days (95% CI: 275–354), while for those taking cranberry it was 270 days (95% CI: 204–337). Logrank (Mantel–Cox) test: 1.33 ( $P = 0.24$ ). No significant differences between interventions were observed.

### Ureteral duplication and other anatomical defects

Seven of the patients recruited had these defects, and UTI was observed in two of them during follow-up.

Sixty-six of the episodes of UTI recurrence were caused by *E. coli*, with no significant differences being found between the two treatment branches. Table 2 shows the bacterial isolates in the urine of patients who completed follow-up. No differences between the treatment branches were observed in the rate of percentage of resistance to amoxicillin or cotrimoxazole ( $\chi^2 = 2.7$ ;  $P$ -value not significant and  $\chi^2 = 0.3$ ;  $P$ -value not significant, respectively).

### Discussion

Our study confirms that cranberry syrup is a safe treatment for the pediatric population, including infants aged less than 2 months. Cranberry prophylaxis is not equivalent to trimethoprim, but it is shown to be noninferior versus trimethoprim in recurrent UTI. Recent placebo-controlled clinical trials<sup>5</sup> have shown the benefits of trimethoprim-sulfamethoxazole for prophylaxis of recurrent UTI.

Previous studies<sup>9,10</sup> have reported the beneficial effect of cranberry syrup in preventing UTI among women, achieving a reduction in the absolute risk of UTI infection with respect to placebo treatment. This effect has been explained in terms of the anti-adherent effect of cranberry on *E. coli*.<sup>11</sup> Ferrara et al<sup>12</sup> in a controlled clinical trial with respect to placebo treatment in children aged over 3 years, showed that cranberry syrup prevents the recurrence of symptomatic UTI.

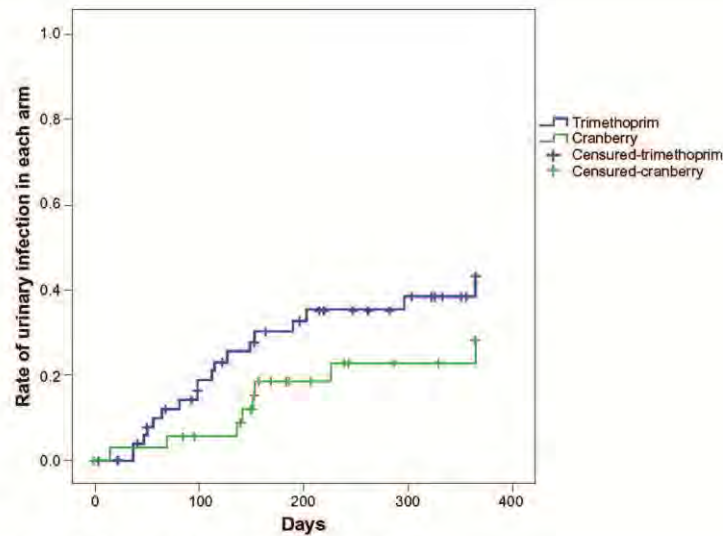


Figure 2 Kaplan-Meier curves for patients diagnosed with recurrent urinary infection on entry.

Under the principles of the Declaration of Helsinki, a clinical trial with placebo cannot be carried out in our circumstances,<sup>33</sup> and therefore, for ethical reasons, the present study was designed as a test of equivalence or non-inferiority. Clinical practice guidelines recommend the use of trimethoprim prophylaxis in children with VUR grade III and IV. In addition, some trials such as Craig et al<sup>5</sup> have observed benefits from antibiotic prophylaxis in pediatric recurrent UTI.

Foo et al<sup>14</sup> identified trimeric proanthocyanidins and type A dimeric procyanidins as the factors responsible for the anti-adherent effect of cranberry. The composition of cranberry syrup used in our study could be of interest for future comparison of our results with those reported in other studies, given the great variability in the concentrations of

proanthocyanidin observed in different cranberry extracts.<sup>15,16</sup> Howell et al<sup>17</sup> reported that the administration of cranberry syrup containing the equivalent of 72 mg per day of proanthocyanidin has an anti-adherent effect, measured in urine, against *E. coli* that is proportionally superior to that obtained by patients given 18 or 36 mg. Di Martino et al<sup>11</sup> tested the anti-adherent effect in urine of cranberry syrup administered to ten healthy volunteers, in relation to ten volunteers who were given placebo treatment.

Salo et al<sup>18</sup> published a double-blind trial comparing cranberry juice with placebo in children with recurrent UTI, and observed that the intervention did not reduce the number of urinary infections. Unlike our cranberry syrup, which was characterized,<sup>7</sup> the cranberry juice used in the above study had a nonstandardized concentration of polyphenols. We believe

Table 2 Bacterial isolates in the urine of patients who completed follow-up

	Trimethoprim prophylaxis		Cranberry prophylaxis	
	Amoxicillin resistance	Cotrimoxazole resistance	Amoxicillin resistance	Cotrimoxazole resistance
<i>E. coli</i>	12	8	10	5
<i>Proteus</i>	3	1	2	1
<i>Klebsiella</i>	1	0	3	0
<i>Staphylococcus</i>	1	0	0	—
<i>Enterococcus</i>	1	0	0	—
<i>Enterobacter</i>	1	1	0	—

it is essential, in this type of study, to characterize the extracts used and to normalize the contents of the active polyphenolic fractions of each extract.

Two studies have evaluated the effectiveness of cranberry syrup for children with neurogenic bladder, monitored by means of a sterile intermittent catheter.<sup>19,20</sup> The first of these studies had a simple cross-sectional design and included 40 children, while the second was randomized and placebo controlled, and included 15 children. Both studies concluded that cranberry syrup is no more effective than placebo treatment for controlling UTI among patients with neurogenic bladder. However, in neither case was the polyphenol content of the syrups characterized.

McMurdo et al<sup>21</sup> carried out a randomized, double-blind clinical trial with cranberry or trimethoprim for women at risk of recurrent UTI. These authors found the risk of recurrence to be 60% greater among the patients who were given cranberry syrup, although the difference was not statistically significant. The systematic review published by Jepson et al<sup>1</sup> of a total of ten studies (1049 patients) concluded that cranberry syrup significantly reduced the incidence of UTI at 12 months (OR: 0.65; 95% CI: 0.46–0.90) in comparison with placebo/control treatments. Cranberry was more effective in reducing the incidence of UTI in women with recurrent infection than in men and elderly women, or persons requiring catheterization.

It was drawn to our attention after the trial that 75 patients received prophylaxis with cranberry and 117 with trimethoprim. This difference in the sizes of the treatment arms was due to an unfortunate problem with the randomization of patients, due to the misfiling of randomization folders in some medical practices. We believe these errors, which occurred toward the end of the study, may represent a bias in the randomization, but not a loss of masking, since the researchers did not know which treatment corresponded to each file. In any case, we observed no difference in the infection survival times in patients receiving cranberry with respect to those receiving trimethoprim, despite the lower number of patients in the cranberry treatment branch.

The prophylaxis of UTI has been associated with increased bacterial resistance to antibiotics.<sup>22</sup> In our sample, we did not observe a significant increase in this respect between the two branches of the trial.

Our results show the noninferiority of cranberry syrup versus trimethoprim in the prophylaxis of recurrent urinary tract infections. Cranberry syrup is a safe treatment for the pediatric population and may constitute a valid alternative

approach, especially in view of increasing resistance to antibiotics.

## Acknowledgments

This clinical trial was funded by the Carlos III Institute of Health for Clinical Research, Madrid, Spain.

## Disclosure

The authors report no conflicts of interest in this work.

## References

- Jepson RG, Mihaljevic L, Craig J. Cranberries for preventing urinary tract infections. *Cochrane Database Syst Rev*. 2004;2:CD001321.
- Cimolai N, Cimolai T. The cranberry and the urinary tract. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2007;26(11):767–776.
- Garin EH, Olavarria F, Garcia NV, Valenciano B, Campos A, Young L. Clinical significance of primary vesicoureteral reflux and urinary antibiotic prophylaxis after acute pyelonephritis: a multicenter, randomized, controlled study. *Pediatrics*. 2006;117(3):626–632.
- Mathews R, Carpenter M, Chesney R, et al. Controversies in the management of vesicoureteral reflux: the rationale for the RIVUR study. *J Pediatr Urol*. 2009;5(5):336–341.
- Craig JC, Simpson JM, Williams GI, et al; Prevention of Recurrent Urinary Tract Infection in Children with Vesicoureteric Reflux and Normal Renal Tracts (PRIVENT) Investigators. Antibiotic prophylaxis and recurrent urinary tract infection in children. *N Engl J Med*. 2009;361(18):1748–1759.
- Uberos I, Iswaldi I, Rodríguez-Belmonte R, et al. Cranberry (Vaccinium macrocarpon) changes the surface hydrophobicity and biofilm formation of *E. coli*. *Microbiology Insights*. 2011;4:21–27.
- Iswaldi I, Gomez-Caravaca AM, Arraez-Roman D, et al. Characterization by high-performance liquid chromatography with diode-array detection coupled to time-of-flight mass spectrometry of the phenolic fraction in a cranberry syrup used to prevent urinary tract diseases, together with a study of its antibacterial activity. *J Pharm Biomed Anal*. 2012;58:34–41.
- Savage DC, Howie G, Adler K, Wilson MI. Controlled trial of therapy in covert bacteriuria of childhood. *Lancet*. 1975;1(7903):358–361.
- Kontiohari T, Sundqvist K, Nuutinen M, Pokka T, Koskela M, Uhari M. Randomised trial of cranberry-lingonberry juice and Lactobacillus GG drink for the prevention of urinary tract infections in women. *BMJ*. 2001;322(7302):1571.
- Kontiohari T, Salo J, Eerola E, Uhari M. Cranberry juice and bacterial colonization in children – a placebo-controlled randomized trial. *Clin Nutr*. 2005;24(6):1065–1072.
- Di Martino P, Agniel R, David K, et al. Reduction of *Escherichia coli* adherence to uroepithelial bladder cells after consumption of cranberry juice: a double-blind randomized placebo-controlled cross-over trial. *World J Urol*. 2006;24(1):21–27.
- Ferrara P, Romaniello L, Vitelli O, Gatto A, Serva M, Cataldi L. Cranberry juice for the prevention of recurrent urinary tract infections: A randomized controlled trial in children. *Scand J Urol Nephrol*. 2009;43(5):369–372.
- Braga LHP, Bagli DJ, Lorenzo AJ. Placebo-controlled trials in pediatric urology: A cautionary view from an ethical perspective. *J Pediatr Urol*. 2010;6(5):435–442.
- Foo LY, Lu Y, Howell AB, Vorsa N. A-Type proanthocyanidin trimers from cranberry that inhibit adherence of uropathogenic P-fimbriated *Escherichia coli*. *J Nat Prod*. 2000;63(9):1225–1228.
- Latt AK, Kaimalainen PS, Hayirioğlu-Ayaz S, Ayaz FA, Riihinen KR. Characterization of anthocyanins in caucasian blueberries (*Vaccinium arctostaphylos* L.) native to Turkey. *J Agric Food Chem*. 2009;57(12):5244–5249.

16. Foo LY, Lu Y, Howell AB, Vorsa N. The structure of cranberry proanthocyanidins which inhibit adherence of uropathogenic P-fimbriated *Escherichia coli* in vitro. *Phytochemistry*. 2000;54(2):173–181.
17. Howell AB, Botto H, Combesure C, et al. Dosage effect on uropathogenic *Escherichia coli* anti-adhesion activity in urine following consumption of cranberry powder standardized for proanthocyanidin content: a multicentric randomized double blind study. *BMC Infect Dis*. 2010;10:94.
18. Salo J, Uhari M, Helminen M, et al. Cranberry Juice for the Prevention of Recurrences of Urinary Tract Infections in Children: A Randomized Placebo-Controlled Trial. *Clin Infect Dis*. 2012;54(3):340–346.
19. Foda MM, Middlebrook PF, Gatfield CT, Potvin G, Wells G, Schillinger JE. Efficacy of cranberry in prevention of urinary tract infection in a susceptible pediatric population. *Can J Urol*. 1995;2(1):98–102.
20. Schlager TA, Anderson S, Trudell J, Hendley JO. Effect of cranberry juice on bacteriuria in children with neurogenic bladder receiving intermittent catheterization. *J Pediatr*. 1999;135(6):698–702.
21. McMurdo ME, Argo I, Phillips G, Daly E, Davey P. Cranberry or trimethoprim for the prevention of recurrent urinary tract infections? A randomized controlled trial in older women. *J Antimicrob Chemother*. 2009;63(2):389–395.
22. Cheng CH, Tsai MH, Huang YC, et al. Antibiotic resistance patterns of community-acquired urinary tract infections in children with vesicoureteral reflux receiving prophylactic antibiotic therapy. *Pediatrics*. 2008;122(6):1212–1217.

Open Access Journal of Clinical Trials

**Publish your work in this journal**

The Open Access Journal of Clinical Trials is an international, peer-reviewed, open access journal publishing original research, reports, editorials, reviews and commentaries on all aspects of clinical trial design, management, legal, ethical and regulatory issues, case record form design, data collection, quality assurance and data auditing

Submit your manuscript here: <http://www.dovepress.com/open-access-journal-of-clinical-trials-journal>

Dovepress

methodologies. The manuscript management system is completely online and includes a very quick and fair peer-review system, which is all easy to use. Visit <http://www.dovepress.com/testimonials.php> to read real quotes from published authors.

## Urinary Excretion of Phenolic Acids by Infants and Children: A Randomised Double-Blind Clinical Assay

J. Uberos, V. Fernández-Puentes, M. Molina-Oya, R. Rodríguez-Belmonte, A. Ruíz-López, P. Tortosa-Pinto, A. Molina-Carballo and A. Muñoz-Hoyos

UGC Pediatría, Hospital Clínico San Cecilio de Granada, University of Granada, Spain.  
 Corresponding author email: [juberos@ugr.es](mailto:juberos@ugr.es)

---

### Abstract

**Objectives:** The present study, which is part of the ISRCTN16968287 clinical assay, is aimed at determining the effects of cranberry syrup or trimethoprim treatment for UTI.

**Methods:** This Phase III randomised clinical trial was conducted at the San Cecilio Clinical Hospital (Granada, Spain) with a study population of 192 patients, aged between 1 month and 13 years. Criteria for inclusion were a background of recurrent UTI, associated or otherwise with vesico-ureteral reflux of any degree, or renal pelvic dilatation associated with urinary infection. Each child was randomly given 0.2 mL/Kg/day of either cranberry syrup or trimethoprim (8 mg/mL). The primary and secondary objectives, respectively, were to determine the risk of UTI and the levels of phenolic acids in urine associated with each intervention.

**Results:** With respect to UTI, the cranberry treatment was non-inferior to trimethoprim. Increased urinary excretion of ferulic acid was associated with a greater risk of UTI developing in infants aged under 1 year (RR 1.06; CI 95% 1.024–1.1;  $P = 0.001$ ).

**Conclusions:** The results obtained show the excretion of ferulic acid is higher in infants aged under 1 year, giving rise to an increased risk of UTI, for both treatment options.

**Keywords:** phenolic acids, urinary infection, cranberry, ferulic acid, pediatric

---

*Clinical Medicine Insights: Pediatrics* 2012;6:67–74

doi: [10.4137/CMPed.S9349](https://doi.org/10.4137/CMPed.S9349)

This article is available from <http://www.la-press.com>.

© the author(s), publisher and licensee Libertas Academica Ltd.

This is an open access article. Unrestricted non-commercial use is permitted provided the original work is properly cited.



## Introduction

Following reports that urinary tract infection (UTI) and vesico-ureteral reflux may be associated with different degrees of kidney damage,<sup>1,2</sup> the daily administration of low doses of antibiotics has been suggested as a possible treatment. Recent randomised, double-blind studies have shown that treatment with low doses of trimethoprim-sulfamethoxazole is associated with a modest decrease in the rate of symptomatic UTI in predisposed children.<sup>2</sup> However, prophylactic treatment with antibiotics does not completely eliminate the risk of new urinary infections; moreover, it affects the pathogens normally responsible for such infections and changes their patterns of resistance to antibiotics. It is believed that 87% of all urinary infections are caused by *E. coli*, although *E. coli* is less common in children receiving antibiotic prophylaxis.<sup>3</sup> It has been reported that cranberry syrup outperforms a placebo treatment by up to 20% in preventing UTI among fertile age women.<sup>4-6</sup> A Cochrane review published in 2008<sup>7</sup> obtained similar results, although it concluded there was a need for more studies of good methodological quality.

Depending on age, gender and associated pathologies, the prevalence of UTI among children may range from 2% to 8%. Except in the first 2 months of life, when infection may be secondary to haematogenous dissemination, UTI is caused by an ascending mechanism in the urinary tract, mainly due to gram-negative bacteria. The adhesion of uropathogenic *E. coli* is a process that takes place prior to the development of infection, when the exposed lectins on the bacteria surface adhere to carbohydrates from the epithelium. The components of cranberry syrup are known to inhibit the adherence of *E. coli* to the epithelial cells, both in vivo<sup>8</sup> and in vitro,<sup>9</sup> and this inhibition seems to be produced by a non-dialysable component, namely the A-type proanthocyanidin present at high concentrations in cranberry syrup.<sup>10</sup>

Cranberries also contain significant quantities of polyphenols such as flavonoids, isoflavonoids, coumarins and anthocyanins. Polyphenols are an important component of the diet, although they are not necessarily very active in the organism, due to a low level of intrinsic activity, or because they are poorly absorbed in the intestines, are metabolised or are eliminated rapidly. Most polyphenols are present in foods in the form of esters, glycosides or polymers

which cannot be absorbed in their native form and must be hydrolysed by the intestinal enzymes or by colonic microflora in order to be absorbed.<sup>11</sup>

The present study forms part of the ISRCTN16968287 clinical assay. Our primary objective was to determine the risk of UTI associated with cranberry or trimethoprim treatment, while the secondary objective was to determine the levels of phenolic acids in urine associated with each intervention.

## Methods

### Study participants

From January 2009 to October 2010, children aged from 1 month to 13 years and treated at the paediatric nephrology and urology departments in our hospital were considered for this study. Criteria for inclusion were a background of recurrent UTI (more than 2 episodes of infection in the last 6 months), associated or otherwise with vesico-ureteral reflux of any degree, or renal pelvic dilatation associated with urinary infection. The presence of infection was confirmed by urine culture (>100,000 CFU/mL) using a "mid-stream" urine sample or a urine collection bag, after asepsis of the urethral meatus with chlorhexidine, or >10,000 CFU/mL if a catheter specimen of urine was obtained. In both cases, the presence or otherwise of a urine sediment with >20 leucocytes per field was determined. The test endpoint was the presence of urinary infection. Criteria for exclusion were the co-existence of UTI with other infectious diseases or with metabolic diseases, chronic renal insufficiency, the presence of allergy or intolerance to any of the components of cranberry syrup or trimethoprim, the existence of blood dyscrasia or the express wish of the parent or guardian to exclude the child from the study. This study was approved by the local ethics committee, and in all cases the parents or guardians gave their written informed consent.

### Study design and intervention

The study was designed as a Phase III randomised clinical trial, with the treatment option concealed from both patients and researchers. There were two treatment branches: cranberry syrup and trimethoprim. Both groups received a single daily dose of 0.2 mL/kg of syrup at 8.00 p.m. The patients who were given trimethoprim received a concentration of 8 mg/mL, and it was masked with cochineal red dye (E-124)





and packaged in opaque tubes. Study subjects were randomised in permuted blocks of 5 using appropriate software.

### Characterization of cranberry syrup

The cranberry syrup (Pharmatoka Lab., France) was characterised at the Department of Analytical Chemistry, Faculty of Sciences, University of Granada,<sup>12</sup> and provided as a dispersion of 2.8% cranberry extract Gykacran® in glucose syrup. The composition of the cranberry syrup, with respect to its different polyphenol fractions, has been published previously.<sup>12</sup> The concentration of phenolic acids in the syrup is shown in Table 1. The total amount of phenolic acids was 454 µg/mL.

### Determination of phenolic acids

Levels of phenolic acid in urine were determined in urine samples from 93 randomly-chosen patients from the ISRCTN16968287 clinical assay, at the Institute of Public Health and Clinical Nutrition, Kuopio, Finland. The following phenolic acids, with diverse benzoic, acetic, propionic and cinnamic acid derivatives, were analysed; *p*-hydroxybenzoic, protocatechuic, vanillic, syringic, gallic, 3,4-dihydroxyphenylacetic, *m*-hydroxyphenylacetic, homovanillic, 3,4-dihydroxyphenylpropionic, *m*-hydroxyphenylpropionic, dihydroferulic, dihydroisoferulic, caffeic, ferulic, sinapinic, isoferulic, *p*-coumaric and *m*-coumaric acids. These compounds cover a wide range of metabolites and dietary phenolic acids; they constitute a fragmentation product of procyanidins,<sup>13,14</sup> and were measured to evaluate fragmentation into other phenolic metabolites. Analysis of phenolic acids also provides information about the fragmentation of flavonols and catechins.<sup>15,16</sup> The phenolic acids in the cranberry syrup samples were first hydrolysed with enzymes (obtained from Helix Pomatia) and then with sodium hydroxide.

**Table 1.** Phenolic acids in cranberry syrup.

Phenolic acid	nMol/mL
Protocatechuic acid	133.5
Vanillic acid	342.7
Chlorogenic acid	411.5
Chlorogenic acid converted to caffeic acid	411.5
Caffeic acid	18.7
<i>p</i> -coumaric acid	1789.2
Ferulic acid	23.1

### Sample size and statistical analysis

There is assumed to be a 20% risk of recurrence of UTI during the first year of antibiotic treatment. The present study is a non-inferiority clinical trial, in which it is hypothesised that cranberry syrup treatment is equivalent (non inferior) to trimethoprim. The limits of equivalence were established at  $\pm 10\%$ , with an alpha error of 5% and the power of the study, 80%. In accordance with these data, the sample size was calculated to be 109 patients per group.

The inter-group comparison of urinary polyphenol excretion was performed using the following tests: *t*-test for independent samples; linear regression analysis for the concentrations of the different polyphenolic components of the cranberry syrup and in the urinary phenolic acids; Cox's regression analysis for the risk of UTI and the different polyphenolic acids excreted in the urine, as recorded during follow-up.

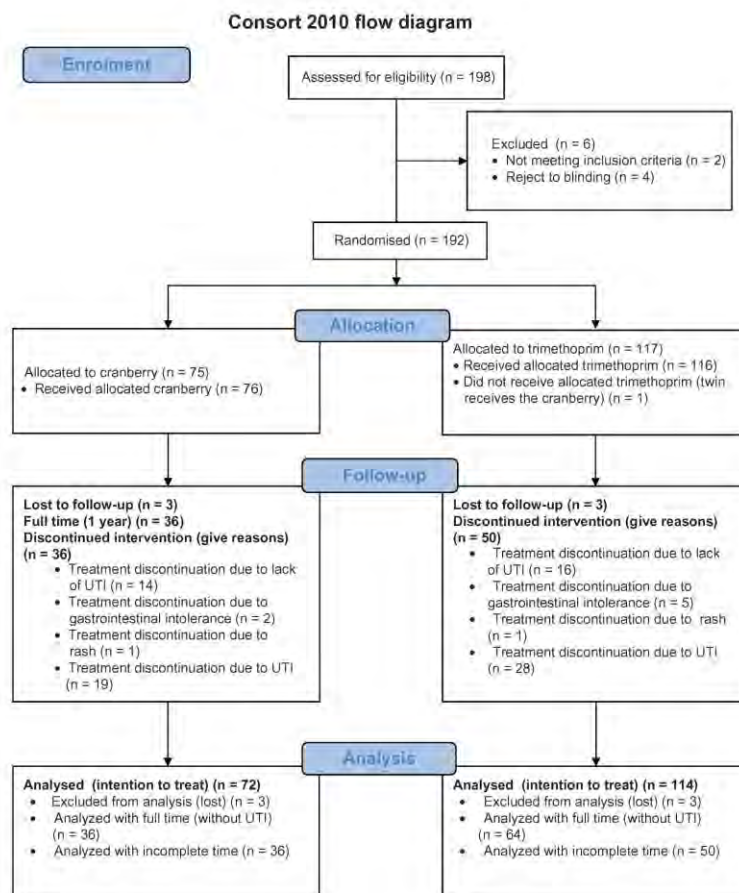
### Results

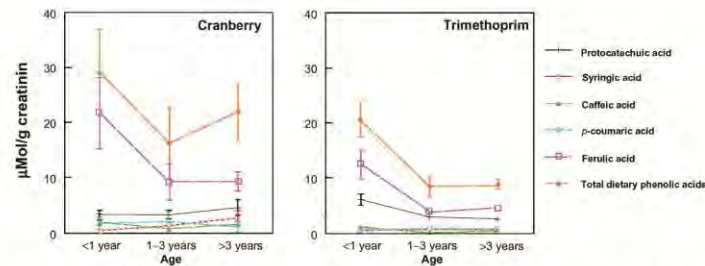
The study began on 1 January 2009 and ended on 31 October 2010 (curtailed by the lack of financial resources for its continuation). The maximum follow-up period of each patient recruited was one year. Due to problems in medical practice during the randomisation process, 75 patients received cranberry syrup and 117 received trimethoprim. 6 patients were lost to the study (3 in each group). Among the study population, 82 infants were aged less than one year. 51 of these were treated with trimethoprim and 31 with cranberry syrup. The prevalence of UTI associated with trimethoprim prophylaxis was 21%, versus 32% for those given the cranberry syrup (LogRank 1.13;  $P = 0.28$ ). Of the 49 children aged from 1–3 years, 28 were treated with trimethoprim and 21 received cranberry syrup. Among these children, the prevalence of UTI associated with trimethoprim prophylaxis was 14.2%, versus 4.7% for those given the cranberry syrup (LogRank 1.29;  $P = 0.25$ ). Of the 55 children aged over 3 years, 34 were given trimethoprim, and 21 received cranberry syrup. Among these children, the prevalence of UTI associated with trimethoprim prophylaxis was 38%, versus 38% for those given the cranberry syrup (LogRank 0.08;  $P = 0.77$ ).

Mean urinary osmolarity in lactating infants aged under 1 year was 356 mOsm/L (SD 233); in the children aged 1–3 years, the corresponding value was 725 mOsm/L (SD 199), while among the children

**Table 2.** Urinary excretion of phenolic acids of dietary origin by age strata.

(μMol/g creatinin)	Under 1 year			1–3 years			Over 3 years			Total		
	N	Mean	SD	N	Mean	SD	N	Mean	SD	N	Mean	SD
Protocatechuic acid	37	5.2	4.8	27	3.1	2.0	29	3.2	3.0	93	4.0	3.7
Syringic acid	37	0.5	0.8	27	1.0	1.9	29	1.2	2.3	93	0.8	1.7
Caffeic acid	37	1.3	3.6	27	0.5	1.1	29	0.8	1.3	93	0.9	2.5
p-coumaric acid	37	0.8	1.5	27	1.4	4.8	29	0.7	1.3	93	1.0	2.8
Ferulic acid	37	15.6	16.9	27	6.6	9.4	29	6.0	4.3	93	10.0	12.3
Sinapinic acid	37	0.0	0.0	27	0.0	0.0	29	11.0	4.7	93	0.3	2.6
Total dietary phenolic acids	37	23.4	20.8	27	12.5	18.0	29	12.9	10.8	93	17.0	18.0

**Figure 1.** Flow diagram.



**Figure 2.** Urinary excretion of dietary phenolic acids following the intake of cranberry syrup or trimethoprim as a treatment for recurrent urinary infection. **Note:** Mean values (SEM) are shown.

aged over 3 years, it was 738 mOsm/L (SD 254). Thus, osmolarity among the lactating infants aged less than 1 year was significantly lower than that observed in the older age groups. No significant differences were detected in this respect between children who developed UTI and those who did not, and therefore, *a priori*, we discount the greater or lesser intake of water as an element associated with the development of UTI. In our sample, 44.3% of the urinary infections affected subjects aged less than one year, with 26.5% affecting those aged 1–3 years, and 29.2% affecting those aged over three years.

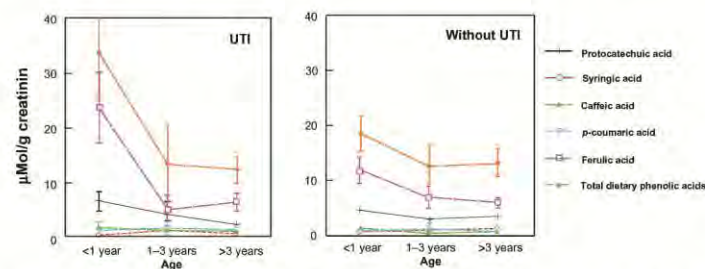
#### Analysis of urinary excretion of dietary phenolic acids

At 12 hours after receiving the cranberry syrup, these patients eliminated slightly greater urinary concentrations of total phenolic acids than did the patients who received trimethoprim (22.2 µMol/g creatinin (SD 23.4), vs. 13.9 µMol/g creatinin (SD 13.2);  $t = 2.18$ ,  $P = 0.03$ , respectively). We compared the

quantity of cranberry syrup consumed with the urinary excretion of ferulic acid, and found no statistically significant association ( $b = -3.3$ ;  $t = 1.8$ ;  $P = 0.08$ ). The urinary excretion of ferulic acid and of total phenolic acids was higher among the infants aged under 1 year, with no significant differences in this respect being observed between those given cranberry syrup or trimethoprim. Moreover, the patients who developed urinary infection during the follow-up period had higher urinary levels of ferulic acid than did those who completed the follow-up period without any such infection ( $t = 2.39$ ;  $P = 0.01$ ) (Fig. 3).

In general, increased urinary osmolarity was associated with a lower excretion of ferulic acid, with creatinine decreasing by 0.016 µMol/g for each increase of 1 mOsm/L in urinary osmolarity ( $b = 0.016$ ;  $P < 0.001$ ).

After performing Cox's regression analysis on the ferulic acid and adjusting for urinary osmolarity, we observed that increased urinary excretion of



**Figure 3.** Urinary excretion of dietary phenolic acids in patients who subsequently developed UTI and in patients who did not. **Note:** Mean values (SEM) are shown.



ferulic acid was associated with a greater risk of UTI developing in infants aged under 1 year (RR 1.06; CI 95% 1.024–1.1;  $P = 0.001$ ). As the prevalence of UTI was greater among the infants aged under 1 year, we adjusted the Cox's regression for urinary osmolarity and age, thus obtaining a relative risk for UTI of 1.04 (CI 95% 1.02–1.08). In the children aged 1–3 years and over three years, the relative risk of UTI associated with increased ferulic acid was 0.97 (CI 95% 0.79–1.27;  $P = 0.96$ ) and 1.01 (CI 95% 0.86–1.19;  $P = 0.88$ ), respectively.

### Analysis of urinary excretion of metabolic phenolic acids

The urinary excretion of total phenolic acids of metabolic origin among the patients given cranberry syrup was 681.5  $\mu\text{Mol/g}$  creatinine (SD 573.2), versus 664.6  $\mu\text{Mol/g}$  creatinine (SD 656.4) for those given trimethoprim. In the children aged under 1 year, the urinary excretion of homovanillic acid was significantly greater among those given cranberry syrup ( $t = 2.49$ ;  $P = 0.01$ ); this difference was not observed in the other age groups (Table 3).

Only among the children aged over 3 years did we observe levels of 4-hydroxybenzoic acid that were significantly greater among the children who

developed a urinary infection. Cox's regression analysis did not reveal any change in the risk of UTI associated with a greater excretion of phenolic acids of metabolic origin.

### Discussion

The excretion of ferulic and homovanillic acids was greater among the infants aged less than 1 year than in the other age groups. These infants presented a greater frequency of UTI, which was significantly related to the greater excretion of ferulic acid. The increased excretion of homovanillic acid during treatment with cranberry syrup could be of interest with respect to designing studies such as the determination of catecholamines and their metabolites in children with possible neuroblastomas or pheochromocytomas. This aspect has been discussed by Combet et al.<sup>17</sup> Other authors have observed that a diet of cereals supplemented with berries can cause an increase in the urinary excretion of homovanillic acid.<sup>18</sup> Ferulic acid is the phenolic acid that is most abundantly excreted in the urine when a cereal diet is consumed.<sup>11</sup> Nevertheless, the strong association observed between the excretion of ferulic acid and the risk of urinary infection requires further investigation. Ferulic acid has presented

**Table 3.** Urinary excretion of phenolic acids of metabolic origin by age strata.

( $\mu\text{Mol/g}$ creatinin)	Under 1 year			1–3 years			Over 3 years			Total		
	N	Mean	SD	N	Mean	SD	N	Mean	SD	N	Mean	SD
3-coumaric acid	37	0.0	0.0	27	0.0	0.0	28	0.0	0.0	92	0.0	0.0
Isoferulic acid	37	5.0	7.7	27	1.4	1.7	28	2.9	3.8	92	3.3	5.6
Dihydroferulic acid	36	5.0	6.7	27	6.2	12.4	28	3.5	3.9	91	4.9	8.2
3,4-di-hydroxy phenylpropionic acid	37	4.2	6.6	27	2.1	2.2	28	2.1	2.5	92	2.9	4.6
<i>m</i> -hydroxyphenyl propionic acid	37	1.8	4.3	27	5.1	18.4	28	2.3	3.3	92	2.9	10.5
<i>p</i> -hydroxyphenyl propionic acid	37	0.1	0.2	27	3.7	14.5	28	0.0	0.1	92	1.1	7.9
Homovanillic acid	37	116.4	39.1	27	75.7	36.8	28	50.3	22.7	92	84.4	44.1
3,4-di-hydroxyphenyl acetic acid	37	32.4	20.9	27	22.1	17.5	28	16.6	8.0	92	24.6	18.0
3-hydroxyphenyl acetic acid	37	16.1	21.3	27	48.6	55.2	28	27.3	34.2	92	29.02	39.7
4-hydroxyphenyl acetic acid	37	488.7	393	27	253.8	324	28	154.3	57.0	92	318.0	337
Vanillic acid	37	252.3	529	27	145.6	176	28	80.5	111	92	168.7	359
3-hydroxybenzoic acid	37	0.5	1.9	27	1.9	6.5	28	0.4	1.5	92	0.9	3.8
4-hydroxybenzoic acid	37	40.9	30.7	27	37.9	55.7	28	19.8	11.9	92	33.6	37.2
Total metabolic phenolic acids	37	963.1	730	27	593.6	594	28	359.7	181	92	671.0	622



in vitro activity as an inhibitor of interleukin 8,<sup>19</sup> with a pro-inflammatory and neutrophil activating effect. In consequence, various forms of traditional medicine have used the rhizome of *Cimicifuga* sp., which contains high concentrations of ferulic and isoferulic acid, as a remedy for various inflammatory processes.<sup>20</sup> It seems reasonable to believe that persistent high concentrations of ferulic acid in the urine could favour the development of urinary infections, by inhibiting the host's pro-inflammatory mechanisms.

Cranberry syrup has been found useful for treating UTI in adults<sup>5,7</sup> and children.<sup>21</sup> Various studies have related the bioactivity of cranberry with its content of proanthocyanidins.<sup>9,22</sup> Lavigne et al<sup>23</sup> observed that the anti-adherent effect of cranberry is dose-dependent, and therefore the concentration of proanthocyanidins in urine determines the anti-adherent effect and, thus, clinical efficacy. In our study, due to the lack of references to comparable studies of a paediatric population, we considered the cranberry dose recommended for adults and adjusted it according to body mass. As the determination of proanthocyanidins in urine presents results that are at the limits of sensitivity for the measuring equipment used, and as the concentrations of phenolic acids in urine are equivalent for most fractions in patients given either cranberry or trimethoprim, we believe that the doses of cranberry syrup used in this study might be insufficient for the lowest-weight infants. This age group, with urinary excretion featuring high levels of ferulic acid, should be given a fixed amount of cranberry syrup in order to ensure a minimum concentration of proanthocyanidins in the urine. The cranberry syrup used in this study was characterised and found to contain different concentrations of flavonoids, flavonols, proanthocyanidins and low concentrations of ferulic acid.<sup>12</sup> Therefore, we believe the high levels of ferulic acid detected in infants aged less than 1 year were probably due to their higher dietary intake of cereals. Although some of these compounds, and particularly the glycoside flavonoids, may be absorbed in the small intestine and eliminated in the urine,<sup>24</sup> it is accepted that while various hydroxycinnamic acids are subject to cellular metabolic metabolism, most of the polyphenolic compounds are broken down by intestinal microflora in the colon. Up to 44% of the protocatechuic acid is derived from the anthocyanins

consumed, especially the cyanidin-3-glucoside.<sup>25</sup> Dietary flavonols and especially quercetin could be metabolised, mainly into phloroglucinol and 3,4-dihydroxyphenylacetic acid.<sup>26</sup> The procyanidins in the diet are metabolised by the intestinal microflora, fundamentally into 3,4-di-dihydroxyphenylpropionic, protocatechuic, 4-hydroxybenzoic and 3,4-dihydroxyphenylacetic acids, which are eliminated in the urine.<sup>27</sup> In our study, the patients who were given cranberry syrup presented a urinary excretion of 3,4-di-dihydroxyphenylpropionic, protocatechuic and 3,4-dihydroxyphenylacetic acids which was similar to that of the patients given trimethoprim. It is noteworthy that the children aged over 3 years who developed UTI presented higher urinary concentrations of 4-hydroxybenzoic acid, which could indicate a greater metabolism by the intestinal microflora of the proanthocyanidins supplemented with the syrup.

According to the results obtained, the excretion of ferulic acid is higher in infants aged under 1 year. This is assumed to be related to the predominance of cereals in the diet and not to the ingestion of cranberry or trimethoprim. However, as we did not conduct a nutritional survey and due to problems in the randomization process, we cannot be categorical in this respect. This increased excretion of ferulic acid was associated with an increased risk of urinary infection.

### Acknowledgements

We thank Dr. Tarja Nurmi (Finland) for technical support.

### Competing Interests

Author(s) disclose no potential conflicts of interest.

### Funding

Funded as a part of a broader research project funded by the Instituto de Salud Carlos III.

### Author Contributions

Substantial contributions to conception and design, acquisition of data, or analysis and interpretation of data: JU, VFP, ARL, RRB, MMO, AMH. Drafting the article or revising it critically for important intellectual content: JU, RRB, AMC, PTP. Final approval of the version to be published: JU. All authors reviewed and approved of the final manuscript.



## Disclosures and Ethics

As a requirement of publication author(s) have provided to the publisher signed confirmation of compliance with legal and ethical obligations including but not limited to the following: authorship and contributorship, conflicts of interest, privacy and confidentiality and (where applicable) protection of human and animal research subjects. The authors have read and confirmed their agreement with the ICMJE authorship and conflict of interest criteria. The authors have also confirmed that this article is unique and not under consideration or published in any other publication, and that they have permission from rights holders to reproduce any copyrighted material. Any disclosures are made in this section. The external blind peer reviewers report no conflicts of interest.

## References

1. American Academy of Pediatrics. Committee on Quality Improvement. Subcommittee on Urinary Tract Infection. Practice parameter: the diagnosis, treatment, and evaluation of the initial urinary tract infection in febrile infants and young children. *Pediatrics*. Apr 1999;103(4 Pt 1):843-52.
2. Craig JC, Simpson JM, Williams GJ, Lowe A, Reynolds GJ, McTaggart SJ, et al. Antibiotic prophylaxis and recurrent urinary tract infection in children. *N Engl J Med*. Oct 29, 2009;361(18):1748-59.
3. Lutter SA, Currie ML, Mitz LB, Greenbaum LA. Antibiotic resistance patterns in children hospitalized for urinary tract infections. *Arch Pediatr Adolesc Med*. Oct 2005;159(10):924-8.
4. Kontiokari T, Sundqvist K, Nuutinen M, Pokka T, Koskela M, Uhari M. Randomised trial of cranberry-lingonberry juice and Lactobacillus GG drink for the prevention of urinary tract infections in women. *BMJ*. Jun 30, 2001;322(7302):1571.
5. McMurdo ME, Argo I, Phillips G, Daly F, Davey P. Cranberry or trimethoprim for the prevention of recurrent urinary tract infections? A randomized controlled trial in older women. *J Antimicrob Chemother*. Feb 2009;63(2):389-95.
6. Guay DR. Cranberry and urinary tract infections. *Drugs*. 2009;69(7):775-807.
7. Jepson RG, Craig JC. Cranberries for preventing urinary tract infections. *Cochrane Database Syst Rev*. 2008;1:CD001321.
8. Di MP, Agniel R, David K, Templer C, Gaillard JL, Denys P, et al. Reduction of Escherichia coli adherence to uroepithelial bladder cells after consumption of cranberry juice: a double-blind randomized placebo-controlled cross-over trial. *World J Urol*. Feb 2006;24(1):21-7.
9. Foo LY, Lu Y, Howell AB, Vorsa N. A-Type proanthocyanidin trimers from cranberry that inhibit adherence of uropathogenic P-fimbriated Escherichia coli. *J Nat Prod*. Sep 2000;63(9):1225-8.
10. Botto H, Neuzillet Y. Effectiveness of a cranberry (Vaccinium macrocarpon) preparation in reducing asymptomatic bacteriuria in patients with an ileal enterocystoplasty. *Scand J Urol Nephrol*. Apr 2010;44(3):165-8.
11. Manach C, Scalbert A, Morand C, Remesy C, Jimenez L. Polyphenols: food sources and bioavailability. *Am J Clin Nutr*. May 2004;79(5):727-47.
12. Iswaldi I, Gómez-Caravaca AM, Uberos J, Lardón M, Segura-Carretero A, Fernández-Gutiérrez A. Characterization by high-performance liquid chromatography with diode-array detection coupled to time-of-flight mass spectrometry of the phenolic fraction in a cranberry syrup used to prevent urinary tract diseases, together with a study of its antibacterial activity. *J Pharm Biomed Anal*. 2012;58:34-41.
13. Gonthier MP, Donovan JL, Texier O, Felgines C, Remesy C, Scalbert A. Metabolism of dietary procyanidins in rats. *Free Radic Biol Med*. Oct 15, 2003;35(8):837-44.
14. Deprez S, Brezillon C, Rabot S, Philippe C, Mila I, Lapiere C, et al. Polymeric proanthocyanidins are catabolized by human colonic microflora into low-molecular-weight phenolic acids. *J Nutr*. Nov 2000;130(11):2733-8.
15. Rios LY, Gonthier MP, Remesy C, Mila I, Lapiere C, Lazarus SA, et al. Chocolate intake increases urinary excretion of polyphenol-derived phenolic acids in healthy human subjects. *Am J Clin Nutr*. Apr 2003;77(4):912-8.
16. Ward NC, Croft KD, Puddey IB, Hodgson JM. Supplementation with grape seed polyphenols results in increased urinary excretion of 3-hydroxyphenylpropionic acid, an important metabolite of proanthocyanidins in humans. *J Agric Food Chem*. Aug 25, 2004;52(17):5545-9.
17. Combet E, Lean MEJ, Boyle JG, Crozier A, Davidson DF. Dietary flavonols contribute to false-positive elevation of homovanillic acid, a marker of catecholamine-secreting tumors. *Clin Chim Acta*. Jan 14, 2011;412(1-2):165-9.
18. Nurmi T, Mursu J, Heinonen M, Nurmi A, Hiltunen R, Vuolteen S. Metabolism of berry anthocyanins to phenolic acids in humans. *J Agric Food Chem*. Mar 25, 2009;57(6):2274-81.
19. Hirabayashi T, Ochiai H, Sakai S, Nakajima K, Teresawa K. Inhibitory effect of ferulic acid and isoferulic acid on murine interleukin-8 production in response to influenza virus infections in vitro and in vivo. *Planta Med*. 1995;61(3):221-6.
20. Sakai S, Kawamata H, Kogure T, Mantani N, Teresawa K, Umatake M, et al. Inhibitory effect of ferulic acid and isoferulic acid on the production of macrophage inflammatory protein-2 in response to respiratory syncytial virus infection in RAW264.7 cells. *Mediators Inflamm*. 1999;8(3):173-5.
21. Ferrara P, Romaniello L, Vitelli O, Gatto A, Serva M, Cataldi L. Cranberry juice for the prevention of recurrent urinary tract infections: a randomized controlled trial in children. *Scand J Urol Nephrol*. May 9, 2009;1-5.
22. Tempera G, Corsello S, Genovese C, Caruso FE, Nicolosi D. Inhibitory activity of cranberry extract on the bacterial adhesiveness in the urine of women: an ex-vivo study. *Int J Immunopathol Pharmacol*. Apr 2010;23(2):611-8.
23. Lavigne JP, Bourg G, Combescuré C, Botto H, Sotto A. In-vitro and in-vivo evidence of dose-dependent decrease of uropathogenic Escherichia coli virulence after consumption of commercial Vaccinium macrocarpon (cranberry) capsules. *Clin Microbiol Infect*. Jan 7, 2008.
24. Hollman PC, de Vries JH, van Leeuwen SD, Mengelers MJ, Katan MB. Absorption of dietary quercetin glycosides and quercetin in healthy ileostomy volunteers. *Am J Clin Nutr*. Dec 1995;62(6):1276-82.
25. Vitaglione P, Donnarumma G, Napolitano A, Galvano F, Gallo A, Scalfi L, et al. Protocatechuic acid is the major human metabolite of cyanidin-glycosides. *J Nutr*. Sep 2007;137(9):2043-8.
26. Kim DH, Jung EA, Sohng IS, Han JA, Kim TH, Han MJ. Intestinal bacterial metabolism of flavonoids and its relation to some biological activities. *Arch Pharm Res*. Feb 1998;21(1):17-23.
27. Gonthier MP, Donovan JL, Texier O, Felgines C, Remesy C, Scalbert A. Metabolism of dietary procyanidins in rats. *Free Radic Biol Med*. Oct 15, 2003;35(8):837-44.

**Jose Uberos**

---

**De:** ees.anpedia.0.2b803e.fcbb3736@eesmail.elsevier.com en nombre de Anales de  
Pediatría <analespediatria@elsevier.com>  
**Enviado el:** martes, 26 de agosto de 2014 9:24  
**Para:** joseuberos@telefonica.net; juberos@ugr.es  
**Asunto:** Ref. ANPEDIA-14-326R1: Decision articulo

Estimado autor,

Nos es grato comunicarle que el Comité de Redacción de Anales de Pediatría ha aceptado el original que Ud. nos envió para su publicación en la misma "Eficacia y perfil de seguridad del arándano americano en lactantes y niños con infección urinaria recurrente" y que fue designado con el nº ANPEDIA-14-326R1.

Recuerde que en su momento le remitiremos las pruebas de autor en formato PDF a esta misma dirección electrónica.

Agradecidos por su colaboración, reciba un cordial saludo

Luis Miguel Rodríguez Fernández  
Editor Asociado

Empar Lurbe Ferrer  
Editora Jefe  
Anales de Pediatría

**Eficacia y perfil de seguridad del arándano americano en lactantes y niños con infección urinaria recurrente**

Fernández-Puentes V<sup>1</sup>, Uberos J<sup>1</sup>, Rodríguez-Belmonte R<sup>1</sup>, Noguera-Ocaña M<sup>2</sup>, Blanca-Jover E<sup>1</sup>, Narbona-López E<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Servicio de Pediatría. Hospital Universitario San Cecilio de Granada. <sup>2</sup> Servicio de Urología. Hospital Universitario San Cecilio de Granada.

Avda. Dr. Oloriz 16, 18012 Granada (España). eMail: juberos@ugr.es

**Título corto.** Arándano Americano en infección urinaria recurrente

**Agradecimientos.** Este ensayo clínico ha sido financiado por el Fondo de Investigaciones Sanitarias del Instituto de Salud Carlos III. Madrid. A la Dra. Tarja Nurmi, Universidad Kuopio, Finlandia; por el asesoramiento en las determinaciones analíticas de este estudio.

**RESUMEN**

**Justificación.** La profilaxis con arándano americano de la infección de orina recurrente infantil se ha mostrado eficaz en el modelo experimental del adulto. Existen pocos datos sobre su eficacia, seguridad y dosis recomendadas en la población pediátrica.

**Métodos.** Se desarrolla un ensayo clínico controlado, doble ciego en Fase III en niños mayores de 1 mes de edad para evaluar la eficacia y seguridad del arándano americano en la infección urinaria recurrente infantil. Se parte del supuesto de no inferioridad del arándano americano frente a trimetoprima. El análisis estadístico se realiza mediante un análisis de Kaplan Meier.

**Resultados.** Se reclutan 85 pacientes menores de 1 año de edad y 107 mayores de 1 año. 75 pacientes reciben arándano y 117 trimetoprima. El porcentaje acumulado de infección de orina asociado a la profilaxis con arándano en menores de 1 año fue de 46% (IC95% 23-70) en niños y del 17% (IC95% 0-38) en niñas, con eficacia a las dosis utilizadas inferior a trimetoprima. En los niños mayores de 1 año de edad el arándano se mostró no inferior a trimetoprima, con un porcentaje acumulado de infección de orina de 26% (IC 95% 12-41). El arándano americano fue bien tolerado, no registrándose efectos adversos.

**Conclusiones.** Nuestro estudio confirma que el arándano americano es seguro y eficaz en la profilaxis de infección urinaria recurrente en lactantes y niños. Con las dosis utilizadas su eficacia no es inferior a la observada para trimetoprima entre los mayores de 1 año de edad. (Clinical Trials Registry ISRCTN16968287).

**Palabras clave:** Arándano americano; Infección urinaria recurrente; Trimetoprim; Reflujo vesicoureteral; Profilaxis antibiótica.

**INTRODUCTION**

Aunque controvertida, la evidencia existente en la actualidad respalda el uso de antibióticos en bajas dosis durante largos periodos de tiempo para el control de las infecciones urinarias recurrentes, con un número necesario para tratar (NNT) para evitar una infección de orina de 1.9 (1). Sin embargo, uno de los principales problemas de prescribir antibióticos a dosis bajas por largos periodos de tiempo es el incremento de las resistencias bacterianas a antibióticos y el efecto de esta terapia sobre la selección de flora bacteriana multiresistente. Desde hace varias décadas el arándano americano se utiliza en la prevención de las infecciones urinarias recurrentes del adulto (1). La mayoría de los estudios han ido dirigidos a poblaciones con mayor riesgo de desarrollar infecciones urinarias, tales como gestantes o ancianos, en todos ellos se concluye que, aunque el efecto del arándano americano parece ser beneficioso, aunque desconoce la dosis óptima y su posible utilidad en la población pediátrica, existiendo pocos datos sobre su seguridad en esta población. Las infecciones de orina son relativamente frecuentes en niños, observándose en un 8% de las niñas y en un 2% de los niños. La recurrencia de infección urinaria después de pielonefritis puede llegar a ser del 20% (2). Aunque la efectividad de la profilaxis antibiótica para la prevención de la infección del tracto urinario no ha sido demostrada, el concepto posee plausibilidad biológica (3,4). Algunas evidencias (2,5) parecen indicar que la profilaxis con antibióticos no modifica la frecuencia de cicatrices renales, incluso en los pacientes con reflujo de alto grado, cuestionándose su utilidad. Otros estudios (6), demuestran que los pacientes pediátricos con infección de orina recurrente en profilaxis con trimetoprima-sulfametoxazol a bajas dosis experimentan un descenso del riesgo de



infección de orina de un 6% comparados con placebo (IC 95% 1-11). Por otro lado, la profilaxis con cefalosporinas se relacionan con un espectro de uropatógenos productores de betalactamasas o multiresistentes, esta circunstancia ha sido utilizada por algunos autores (7) para recomendar la profilaxis con trimetoprima relacionada con menos inducción de resistencias.

El presente estudio, aborda el estudio de la eficacia y seguridad del arándano americano en la población infantil como profilaxis de la infección urinaria recurrente. Se parte del supuesto de no inferioridad con respecto a intervenciones profilácticas que ya han demostrado su eficacia, como es el caso de la trimetoprima.

#### **MÉTODOS**

El estudio se plantea como un ensayo clínico aleatorizado en Fase III con intervención enmascarada al paciente y al investigador, con dos ramas de intervención: arándano americano al 3% en jarabe de glucosa y trimetoprima. Durante un período de 2 años se reclutan niños atendidos en las consultas de nefrología y urología infantil de nuestro Hospital con edades comprendidas entre 1 mes y 13 años. La duración máxima del seguimiento de cada paciente reclutado es de 1 año. El ensayo fue aprobado por el comité de ética local y se solicitó en todos los casos consentimiento informado escrito de los padres de los pacientes.

Se valoran como criterios de inclusión un antecedente de infección urinaria recurrente (más de 2 episodios de infección en los últimos 6 meses) asociada o no a reflujo vesicoureteral de cualquier grado. Los criterios de exclusión en el reclutamiento fueron la coexistencia de la infección de orina con otras enfermedades infecciosas, coexistencia de enfermedades metabólicas, insuficiencia renal crónica, litiasis renal, insuficiencia hepática, existencia de alergia o intolerancia a alguno de los componentes del arándano o trimetoprima, existencia de discrasias sanguíneas y deseo manifiesto del responsable legal de no participar en el estudio.

Una vez seleccionado un paciente y firmado el consentimiento informado para participar en el ensayo se le asigna un número de registro. El investigador tras incluir a un paciente en el ensayo le entrega a los padres una cartulina con el número de identificación, esta cartulina se presenta en el Servicio de Farmacia hospitalaria para retirar el tratamiento asignado que esta enmascarado y etiquetado de acuerdo con la normativa de la Agencia Española del Medicamento.

El extracto de arándano fue cedido por una marca registrada. Para la preparación de las intervenciones se realiza una dispersión de extracto de arándano al 3% en jarabe de glucosa y una suspensión de trimetoprima en jarabe de glucosa a una concentración de 8 mg/ml. Se realizó una caracterización del jarabe de arándano, a fin de asegurar el contenido de proantocianidinas administrado y conocer las restantes fracciones polifenólicas (8).

El grupo experimental recibe una dosis nocturna de 0,2 ml/Kg de jarabe de arándano. El grupo de tratamiento estándar recibe una dosis nocturna de 0,2 ml/Kg de una suspensión enmascarada en color de trimetoprima, para ello se añade colorante CC-1000-WS (E-120); (Lab. CHR-Hansen) a una concentración de 0,1% (no superando las 100 ppm permitidas de carmín). La administración debe ser antes de la cena, de producirse vómito en los 30 minutos siguientes a su administración se repite la dosis íntegra.

Se mantiene en todo momento el principio de intención de tratar.

Para el seguimiento de los pacientes se realizan revisiones periódicas cada 2 meses o a demanda del paciente cuando la sintomatología así lo requiera. Se le da al paciente la instrucción de realizar un cultivo de orina ante la presencia de fiebre, síntomas urinarios, vómitos o pérdida de peso. La confirmación de infección urinaria se realiza con sedimento urinario patológico (más de 20 leucocitos por campo) y urocultivo ( $>100.000$  UFC/ml) en una muestra de orina recogida al aseo o con bolsa colectora de orina, previa asepsia de meato uretral con clorhexidina, o más de 10.000 UFC/ml si la orina se obtuvo tras sondaje.

El cultivo de orina se realiza siempre antes de iniciar cualquier tratamiento antibiótico. Se registran los datos relativos al número de la intervención asignada, los datos clínicos y analíticos de cada una de las revisiones programadas del paciente y los resultados periódicos de los cultivos de orina. La efectividad de una intervención se valora en función del tiempo de permanencia en el estudio sin recurrencia de la infección de orina. Se registra el momento en que se produce la infección de orina que motiva la salida del paciente del estudio.

Para el cálculo del tamaño muestral se estima un riesgo de recurrencia de infección urinaria del 20% durante el primer año en los pacientes que reciben profilaxis antibiótica (2,9). Se postula que la profilaxis con arándano americano es equivalente a trimetoprima. Se asume el límite de equivalencia en  $\pm 10\%$ . El error alfa se estima en 5% y la potencia del estudio en 80%. Con estos datos se obtiene un tamaño muestral de 109 pacientes por grupo.

**Control de sesgos.** La posibilidad de obtener falsos positivos o negativos en los urocultivos de control del paciente, hace que nos planteemos la ocurrencia de un sesgo de información. Existe posibilidad de obtener un urocultivo negativo en pacientes que realmente tienen una infección urinaria si han recibido de forma previa a la recogida de la muestra de orina tratamiento antibiótico. Por ello, se insistirá en la necesidad de recoger un urocultivo, de preferencia mediante sondaje, ante cualquier proceso febril antes de iniciar cualquier tratamiento antibiótico prescrito. Se pueden obtener urocultivos positivos por mala técnica en la recogida de orina y contaminación de la orina, los urocultivos positivos a más de un microorganismo acompañados de sedimentos urinarios normales se consideran contaminados y motivan su repetición.

El sesgo de información se pretende evitar además con las técnicas de depuración de los datos, el uso de bases de datos informáticas con sistemas de limitación en la entrada de datos erróneos (fechas).

**Determinación de ácidos fenólicos en orina.**

Se analizaron en orina de las 9 de la mañana y 9 de la noche, 6 ácidos fenólicos dietéticos: protocatecuico, siringico, cafeico, ferulico, sinapínico, *p*-cumárico. Las determinaciones se realizaron en el Institute of Public Health and Clinical Nutrition, Kuopio, Finland. Algunos de estos ácidos fenólicos se consideran productos de fragmentación de las procianidinas, flavonoles y catechkinas contenidas en la dieta o en el arándano (10;11).

El análisis estadístico final se plantea como un análisis de supervivencia (Kaplan-Meier) donde la aparición del evento (infección urinaria) motiva la finalización del periodo de seguimiento. En los casos donde se produce retirada voluntaria del estudio o salida del mismo por causas diferentes a la infección de orina, se considerarán censurados durante el resto del periodo de seguimiento. Se valoran las curvas de Kaplan-Meier de la intervención experimental y la del tratamiento estándar. La comparación de la excreción de polifenoles en orina entre grupos se realizó mediante un t-test para muestras independientes. Análisis de regresión lineal para las concentraciones de las diferentes componentes polifenólicos ingeridos con el jarabe de arándano americano y la excreción de ácidos fenólicos en orina.

Para el análisis de no inferioridad consideramos la diferencia de prevalencia de infección urinaria entre ambas ramas de intervención (d), calculamos el error estándar

$$SE = \sqrt{\frac{Var. arándano}{n1} + \frac{Var. trimetoprima}{n2}}$$

Como los límites de equivalencia se estimaron en  $\pm 0.15$  (15%)  $\rightarrow \delta_L = -0.10, \delta_U = 0.10$ ; para un valor  $z_{\alpha} = 1.96$ .

Analizamos el test de no inferioridad del arándano vs trimetoprima mediante una hipótesis unilateral:

$$H_{1L} = Pr \text{ arándano} - Pr \text{ trimetoprima} > \delta_L \rightarrow H_{0L} = Pr \text{ arándano} - Pr \text{ trimetoprima} \leq \delta_L$$

$$\text{Que se evidencia por } z_L = \frac{d - \delta_L}{SE} \geq Z_{\alpha}$$

$$H_{1U} = Pr \text{ arándano} - Pr \text{ trimetoprima} > \delta_U \rightarrow H_{0U} = Pr \text{ arándano} - Pr \text{ trimetoprima} \leq \delta_U$$

$$\text{Que se evidencia por } z_U = \frac{d - \delta_U}{SE} \leq -Z_{\alpha}$$

**RESULTADOS**

Se estudian 85 niños menores de 1 año de edad, 53 reciben profilaxis con trimetoprima y 32 con jarabe de arándano. 107 niños mayores de 1 año de edad son incluidos igualmente en el estudio, 64 reciben profilaxis con trimetoprima y 43 con arándano.

Entre los niños con menos de 1 año de edad, el porcentaje acumulado de infección de orina asociada a la profilaxis con trimetoprima fue de 19 % (IC95% 4-35) en niños y del 43 % (IC95% 18-68) en niñas. En los menores de 1 año de edad el porcentaje acumulado de infección de orina asociado a la profilaxis con arándano fue de 46% (IC95% 23-70) en niños y del 17% (IC95% 0-38) en niñas. Independientemente del género el porcentaje acumulado de infección urinaria en los pacientes que reciben trimetoprima fue del 28% (IC95% 13-42) y del 35% (IC95% 17-52) entre los que reciben arándano.

Globalmente los niños mayores de 1 año de edad tienen un porcentaje acumulado de infección de orina de 35% (IC95% 21-50) entre los que reciben trimetoprima y del 26% (IC 95% 12-41) entre los que reciben arándano. Por géneros, los varones que reciben trimetoprima tienen un porcentaje acumulado de infección del 33% (IC 95% 1.8 - 65) frente a un 8% (IC95% 0-26) entre los que reciben arándano.

El diagrama CONSORT (Figura 1) recoge los eventos adversos detectados durante en los menores y mayores de 1 año durante el periodo de seguimiento. Llama la atención el escaso número de reacciones adversas, no apreciándose ningún efecto adverso entre los menores de 1 año. La Tabla 1 muestra la excreción urinaria de ácidos fenólicos en pacientes menores y mayores de 1 año que reciben profilaxis con trimetoprima y arándano, no apreciándose diferencias significativas en la excreción de ácidos fenólicos entre estratos.

Los episodios de recurrencia de infección urinaria se originan en un 60% por *E. coli*, sin diferencias significativas entre los dos grupos de tratamiento. El 33,3% de los pacientes que reciben trimetoprima tienen urocultivos por bacterias multiresistentes frente al 22,9% de los que reciben arándano.

Para el conjunto de la muestra observamos que  $Z_L=2.04 > Z_\alpha$  y  $Z_U=-1.65 > -Z_\alpha$ ; por lo que podemos admitir que el tratamiento con arándano no es inferior al tratamiento trimetoprima. En lactantes menores de 1 año obtenemos  $Z_L=0.69 < Z_\alpha$  y  $Z_U=-1.9 > -Z_\alpha$ ; por lo que debemos admitir que en lactantes el arándano a la dosis administrada es inferior a trimetoprima.

En los pacientes menores de 1 año, 13 pacientes presentaban reflujo vesicoureteral (RVU) (4 con RVU grado  $\leq 2$  y 5 con RVU  $\geq 3$ , de los cuales recibieron arándano 2 y 5 respectivamente), no observamos diferencias en la recurrencia de infección urinaria entre grupos. En los pacientes mayores de 1 año observamos RVU en 27 pacientes, 11 con RVU grado  $\leq 2$  y 16 con RVU  $\geq 3$ , de los cuales recibieron arándano 3 y 8 respectivamente), no observamos diferencias en la recurrencia de infección urinaria entre grupos.

## DISCUSIÓN

Nuestro estudio confirma el arándano americano es seguro en lactantes y niños. La eficacia del arándano americano no es inferior a trimetoprima en la profilaxis de infección urinaria recurrente infantil, si bien en los lactantes con menos de 1 año de edad su eficacia puede considerarse inferior a trimetoprima a las dosis utilizadas.

En 1984 Sobota (12), observa que el extracto de arándano interfiere con la adhesión de *E. coli* P-fimbriado al epitelio, demostrando que puede ser uno de los mecanismos principales que expliquen el efecto antiadherente del arándano. La fructosa contenida en muchos zumos de fruta, también en el arándano, puede inhibir además la adhesión de *E. coli* mediada por fimbrias tipo 1 (13), sin embargo la adherencia mediada por fimbrias P se ha asociado con la lectina específica  $\alpha$ -Gal(1-4) $\beta$ -Gal contenido en el epitelio urinario que no resulta inhibida por la adición de fructosa (14;15). Foo LY y cols. (16), identifica las proantocianidinas triméricas y las procianidinas diméricas de tipo A como las responsables del efecto antiadhesivo del arándano americano. Se trata de flavonoles polifenólicos que no están presentes en otros extractos ricos en polifenoles como el té verde o el chocolate. El extracto de arándano que hemos utilizado en nuestro ensayo contiene un 22% de proantocianidinas de tipo A, lo que tiene interés de cara a comparar nuestros resultados con otros estudios, dada la gran variabilidad en las concentraciones de proantocianidina observadas en diferentes extractos de arándano (17;18).

Dos estudios evaluaron la efectividad del jarabe de arándano en los niños con vejiga neurógena pediátrica, éstos fueron controlados mediante una sonda intermitente estéril (19;20). El primero de los estudios con un diseño cruzado simple incluía 40 niños y el segundo aleatorizado y controlado con placebo incluía 15 niños. Ambos estudios concluyen que el jarabe de arándano no es más eficaz que placebo para el control de la infección de orina en pacientes con vejiga neurógena. Sin embargo, en ambos estudios queda patente la ausencia de caracterización del contenido polifenólico de los jarabes utilizados.

McMurdo M y cols. (21), realizan un ensayo clínico aleatorizado y doble ciego con arándano o trimetoprima en mujeres con riesgo de infección urinaria recurrente, los autores observan que el riesgo de recurrencia de infección urinaria es un 60% mayor en los pacientes que reciben arándano, aunque sin significación estadística. En un ensayo clínico realizado por Uberos J. y cols. (22) se demostró la no inferioridad del arándano americano frente a trimetoprima en población infantil menor de 14 años, este trabajo no estratificaba la población por edad y no tiene en cuenta las relaciones entre ingesta de arándano americano y excreción urinaria de ácido fenólicos. La revisión sistemática publicada por Jepson RG (1), sobre un total de 10 estudios (1049 pacientes) concluye que el arándano comparado con placebo/control disminuye significativamente la incidencia de infección urinaria a los 12 meses de seguimiento (RR 0,65; IC del 95%: 0,46 a 0,90). El arándano fue más efectivo en la reducción de la incidencia de infección urinaria en mujeres con infección de orina recurrente, que en hombres y mujeres de edad avanzada o en personas que requirieron sondaje.

Estudios previos (23) demostraron el efecto beneficioso del arándano americano en la prevención de infecciones urinarias en mujeres con una reducción del riesgo absoluto de infección de orina con respecto a placebo. Ferrara P. y cols (24), en un ensayo clínico controlado frente a placebo en niños mayores de 3 años demuestra que el arándano americano previene la recurrencia de infecciones de orina sintomáticas. Nuestro ensayo es el primer ensayo clínico controlado, aleatorizado y doble ciego que demuestra la seguridad del arándano americano en lactantes y niños. Howell, AB y cols (25), demostraron una mayor actividad antiadherente del arándano cuando la concentración de proantocianidina administrado con el arándano era superior a los 18 mg. En nuestro estudio al no existir referencias previas sobre el uso de arándano americano en lactantes se optó por una extrapolación de la dosis del adulto, adoptando la dosificación de 0.2 ml de jarabe por Kg de peso. Nuestros resultados demuestran que el arándano

americano no es inferior a la trimetoprima cuando se garantiza una dosis de proantocianidina superior a los 18 mg, que es la dosis que se administraría por Kg de peso a un lactante de 1 año.

Los ácidos fenólicos se consideran productos de fragmentación de las proantocianidinas, flavonoles y catechinas contenidas en la dieta o en el arándano (10;11), encontramos niveles de ácido *p*-Cumárico y ácido ferúlico en lactantes a la 9h discretamente mayores, en límite de significación estadística, en el grupo que recibe arándano. No observamos diferencias en el resto de ácidos fenólicos dietéticos estudiados. En nuestro estudio se determinaron los ácidos fenólicos considerados de origen dietético, es decir aquellos cuya excreción urinaria se ve fuertemente modificada por la dieta. Otros metabolitos fenólicos, no determinados en este trabajo, tienen una excreción que puede verse modificada además de por la dieta, por el metabolismo de otras moléculas de origen endógeno como las catecolaminas (26;27). Se analizaron las concentraciones de cianidinas eliminadas por los pacientes durante su periodo de seguimiento, observándose valores por debajo de los límites de detección (28). Los metabolitos fenólicos urinarios que se relacionaron mas con la ingestión de arándano americano fueron el ácido cafeico, dihidroferúlico, *p*-cumárico, dihidroxibenzoico y el ácido 4-O-b-D-glucuronido (28).

Dado que la actividad antiadherente del arándano americano es dependiente de la dosis y que los mejores resultados se obtienen por encima del año de edad, donde se garantiza la administración de más de 18 mg de proantocianidina, pensamos que son precisos más estudios que evalúen la eficacia de otras dosificaciones de arándano americano en lactantes por debajo de 1 año de edad.

#### REFERENCIAS

- (1) Jepson RG, Craig JC. Cranberries for preventing urinary tract infections. *Cochrane Database Syst Rev* 2008;(1):CD001321.
- (2) Garin EH, Olavarria F, Garcia N, V, Valenciano B, Campos A, Young L. Clinical significance of primary vesicoureteral reflux and urinary antibiotic prophylaxis after acute pyelonephritis: a multicenter, randomized, controlled study. *Pediatrics* 2006; 117(3):626-632.
- (3) Roberts KB. Urinary tract infection: clinical practice guideline for the diagnosis and management of the initial UTI in febrile infants and children 2 to 24 months. *Pediatrics* 2011; 128(3):595-610.
- (4) Finnell SM, Carroll AE, Downs SM. Technical report-Diagnosis and management of an initial UTI in febrile infants and young children. *Pediatrics* 2011; 128(3):e749-e770.
- (5) Mathews R, Carpenter M, Chesney R, Hoberman A, Keren R, Mattoo T et al. Controversies in the management of vesicoureteral reflux: the rationale for the RIVUR study. *J Pediatr Urol* 2009; 5(5):336-341.
- (6) Craig JC, Simpson JM, Williams GJ, Lowe A, Reynolds GJ, McTaggart SJ et al. Antibiotic prophylaxis and recurrent urinary tract infection in children. *N Engl J Med* 2009; 361(18):1748-1759.
- (7) Cheng CH, Tsai MH, Huang YC, Su LH, Tsau YK, Lin CJ et al. Antibiotic resistance patterns of community-acquired urinary tract infections in children with vesicoureteral reflux receiving prophylactic antibiotic therapy. *Pediatrics* 2008; 122(6):1212-1217.
- (8) Iswaldi I, Gomez-Caravaca AM, Arraez-Roman D, Uberos J, Lardon M, Segura-Carretero A et al. Characterization by high-performance liquid chromatography with diode-array detection coupled to time-of-flight mass spectrometry of the phenolic fraction in a cranberry syrup used to prevent urinary tract diseases, together with a study of its antibacterial activity. *J Pharm Biomed Anal* 2012; 58:34-41.
- (9) Savage DC, Howie G, Adler K, Wilson MI. Controlled trial of therapy in covert bacteriuria of childhood. *Lancet* 1975; 1(7903):358-361.
- (10) Gonthier MP, Donovan JL, Texier O, Felgines C, Remy C, Scalbert A. Metabolism of dietary procyanidins in rats. *Free Radic Biol Med* 2003; 35(8):837-844.
- (11) Deprez S, Brezillon C, Rabot S, Philippe C, Mila I, Lapierre C et al. Polymeric proanthocyanidins are catabolized by human colonic microflora into low-molecular-weight phenolic acids. *J Nutr* 2000; 130(11):2733-2738.
- (12) Sobota AE. Inhibition of bacterial adherence by cranberry juice: potential use for the treatment of urinary tract infections. *J Urol* 1984; 131(5):1013-1016.
- (13) Zafri D, Ofek I, Adar R, Pocino M, Sharon N. Inhibitory activity of cranberry juice on adherence of type I and type P fimbriated *Escherichia coli* to eucaryotic cells. *Antimicrob Agents Chemother* 1989; 33(1):92-98.

- (14) Di MP, Agniel R, David K, Templer C, Gaillard JL, Denys P et al. Reduction of *Escherichia coli* adherence to uroepithelial bladder cells after consumption of cranberry juice: a double-blind randomized placebo-controlled cross-over trial. *World J Urol* 2006; 24(1):21-27.
- (15) Salminen A, Loimaranta V, Joosten JA, Khan AS, Hacker J, Pieters RJ et al. Inhibition of P-fimbriated *Escherichia coli* adhesion by multivalent galabiose derivatives studied by a live-bacteria application of surface plasmon resonance. *J Antimicrob Chemother* 2007; 60(3):495-501.
- (16) Foo LY, Lu Y, Howell AB, Vorsá N. A-Type proanthocyanidin trimers from cranberry that inhibit adherence of uropathogenic P-fimbriated *Escherichia coli*. *J Nat Prod* 2000; 63(9):1225-1228.
- (17) Latti AK, Kamulainen PS, Hayirlioglu-Ayaz S, Ayaz FA, Riihinen KR. Characterization of Anthocyanins in Caucasian Blueberries (*Vaccinium arctostaphylos* L.) Native to Turkey. *J Agric Food Chem*. 57, 5244-5249. 2009.
- (18) Foo LY, Lu Y, Howell AB, Vorsá N. The structure of cranberry proanthocyanidins which inhibit adherence of uropathogenic P-fimbriated *Escherichia coli* in vitro. *Phytochemistry* 2000; 54(2):173-181.
- (19) Foda MM, Middlebrook PF, Gatfield CT, Potvin G, Wells G, Schillinger JF. Efficacy of cranberry in prevention of urinary tract infection in a susceptible pediatric population. *Can J Urol* 1995; 2(1):98-102.
- (20) Schlager TA, Anderson S, Trudell J, Hendley JO. Effect of cranberry juice on bacteriuria in children with neurogenic bladder receiving intermittent catheterization. *J Pediatr* 1999; 135(6):698-702.
- (21) McMurdo ME, Argo I, Phillips G, Daly F, Davey P. Cranberry or trimethoprim for the prevention of recurrent urinary tract infections? A randomized controlled trial in older women. *J Antimicrob Chemother* 2009; 63(2):389-395.
- (22) Uberos J, Noguera-Ocaña M, Fernández-Puentes V, Rodríguez-Belmonte R, Molina-Carballo A, Muñoz-Hoyos A. Cranberry syrup vs trimethoprim in the prophylaxis of recurrent urinary tract infections among children: a controlled trial. *Open Access Journal of Clinical Trials* 2012[4], 31-38. 2012.
- (23) Kontiokari T, Sundqvist K, Nuutinen M, Pokka T, Koskela M, Uhari M. Randomised trial of cranberry-lingonberry juice and *Lactobacillus GG* drink for the prevention of urinary tract infections in women. *BMJ* 2001; 322(7302):1571.
- (24) Ferrara P, Romaniello L, Vitelli O, Gatto A, Serva M, Cataldi L. Cranberry juice for the prevention of recurrent urinary tract infections: A randomized controlled trial in children. *Scand J Urol Nephrol* 2009;1-5.
- (25) Howell AB, Botto H, Combesure C, Blanc-Potard AB, Gausa L, Matsumoto T et al. Dosage effect on uropathogenic *Escherichia coli* anti-adhesion activity in urine following consumption of cranberry powder standardized for proanthocyanidin content: a multicentric randomized double blind study. *BMC Infect Dis* 2010; 10:94.
- (26) Combet E, Lean MEJ, Boyle JG, Crozier A, Davidson DF. Dietary flavonols contribute to false-positive elevation of homovanillic acid, a marker of catecholamine-secreting tumors. *Clin Chim Acta* 2011; 412(1-2):165-169.
- (27) Nurmi T, Mursu J, Heinonen M, Nurmi A, Hiltunen R, Voutilainen S. Metabolism of berry anthocyanins to phenolic acids in humans. *J Agric Food Chem* 2009; 57(6):2274-2281.
- (28) Iswaldi I, Arraez-Roman D, Gomez-Caravaca AM, Contreras MM, Uberos J, Segura-Carretero A et al. Identification of polyphenols and their metabolites in human urine after cranberry-syrup consumption. *Food Chem Toxicol* 2013; 55:484-492.

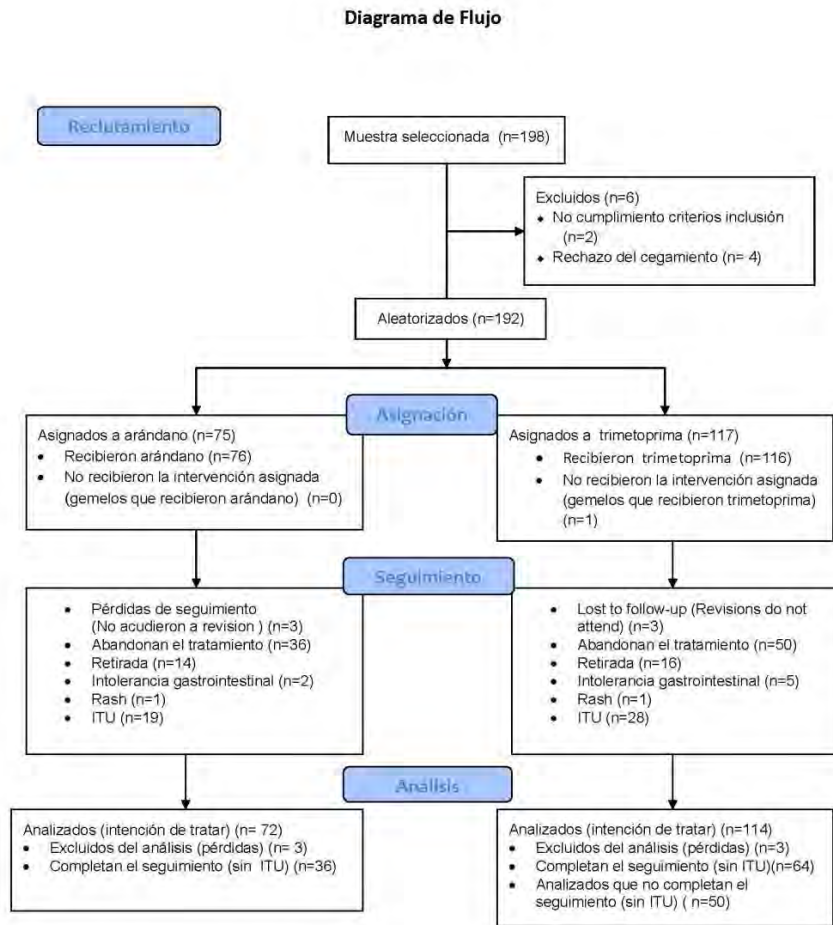


Figura 1. Diagrama de flujo

Tabla 1. Excreción urinaria de ácidos fenólicos en pacientes con profilaxis nocturna con arándano americano o trimetoprima.

(mcmol/g Creatinina)	≤ 1 año		> 1 año	
	Arándano	Trimetoprima	Arándano	Trimetoprima
Protocatecuico (9h)	3.4 (1.8-5.0)	6.1 (4.0-8.2)	3.8 (2.5-5.0)	2.7 (2.0-3.4)
Protocatecuico (21h)	4.4 (1.4-7.4)	6.6 (4.5-8.7)	4.7 (2.6-6.8)	9.4 (3.1-15.5)
Siringico (9h)	0.3 (0-0.7)	0.6 (0.2-0.9)	1.8 (0.6-3.1)	0.6 (0.4-0.8)
Siringico (21h)	2.5 (0-6.3)	1.0 (0.4-1.6)	0.7 (0.3-1.1)	2.5 (0.2-4.9)
Cafeico (9h)	1.8 (0-4.0)	1.1 (0-2.5)	1.0 (0.4-2.4)	0.4 (0.1-0.7)
Cafeico (21h)	1.1 (0-2.6)	0.5 (0.7-1.2)	0.3 (0.1-0.4)	1.0 (0-2.0)
Ferúlico (9h)	21.9 (9.3-34.4)	12.6 (7.5-17.7)	9.3 (5.2-13.4)	4.3 (1.3-5.3)
Ferúlico (21h)	15.3 (0-31.3)	13.2 (9.3-17.2)	8.1 (5.1-11.1)	13.3 (6.0-20.6)
Sinapínico (9h)	-	-	1.2 (0-3.3)	0.1 (0-0.14)
Sinapínico (21h)	0.22 (0-0.65)	-	0.2 (0-0.4)	0.4 (0-1.1)
p-Cumárico (9h)	1.8 (0.5-3.0)	0.4 (0.2-0.5)	1.6 (0-3.7)	0.7 (0.2-1.2)
p-Cumárico (21h)	1.5 (0-3.4)	0.4 (0-0.9)	0.6 (0.1-1.1)	0.7 (0-1.7)

## **5. RESUMEN**





---

## RESUMEN

---

**Justificación.** La profilaxis de la infección de orina recurrente infantil con trimetoprim se ha mostrado eficaz tanto para reducir la recurrencia de infecciones de orina como la frecuencia de gérmenes multiresistentes. Como alternativa a la profilaxis antibiótica el presente estudio plantea evaluar la eficacia del jarabe de arándano americano en la profilaxis de la infección urinaria recurrente infantil.

**Metodos.** Se desarrolla un ensayo clínico controlado, doble ciego en niños mayores de 1 mes de edad. Se parte del supuesto de equivalencia de una dosis única nocturna de jarabe de arándano americano vs trimetoprima en la profilaxis de la infección urinaria de niños con historia de infecciones recurrentes, reflujo vesicoureteral o ectasia de pelvis renal asociada a infección. Se efectúa el seguimiento de los pacientes durante un periodo máximo de 1 año. Se evalúa el efecto como recurrencia de infección urinaria diagnosticada por urocultivo mas un sedimento de orina patológico. El análisis estadístico se realiza mediante un análisis de Kaplan Meier.

**Resultados.** De 201 pacientes elegibles, se aleatorizan 192 en bloques permutados de 10 sujetos para recibir jarabe de arándano americano o trimetoprima. 75 pacientes se asignan para recibir arándano americano y 117 pacientes para recibir trimetoprima. Los pacientes en profilaxis con jarabe de arándano americano tienen recurrencia de infección de orina en el 28% de los pacientes (CI 95% 11.0-45.8) frente a 43% de los que reciben trimetoprima (CI 95% 26.9- 64.6), estas diferencias no resultaron estadísticamente significativas (dif. 15 IC 95% -5.3 a 34.9). No observamos diferencias significativas entre profilaxis en pacientes con ectasia pelvis renal e infección o reflujo vesicoureteral. Observamos una disminución significativa de la tasa de riesgo ( $e^b=0.33$ ) de infecciones urinarias en pacientes con edades comprendidas entre 1-3 años cuando reciben jarabe de arándano americano.

**Conclusiones.** Nuestro estudio confirma que en la profilaxis de infección urinaria recurrente el jarabe de arándano americano es seguro y eficaz en la población infantil, siendo su eficacia para esta indicación no inferior a trimetoprima. (European Clinical Trials Registry EuDract 2007-004397-62).

**Keywords:** Arándano americano; Infección urinaria; Trimetoprima; Reflujo vesicoureteral; Antibióticos; Profilaxis

## ABSTRACT

**Aims:** Trimethoprim prophylaxis for recurrent paediatric urinary tract infections (UTI) has been shown to be effective in reducing both the recurrence of such infections. As an alternative, the present study evaluates the effectiveness of arándano americano syrup in treating paediatric recurrent UTI.

**Methods:** A controlled, double-blind clinical trial was carried out on infants aged more than one month. The initial hypothesis was that the arándano americano syrup was equivalent to one of trimethoprim in children with a history of recurrent infections. The outcome was evaluated in terms of UTI recurrence. The statistical analysis was performed using the Kaplan Meier method. (European Clinical Trials Registry EuDract 2007-004397-62)(ISRCTN16968287).

**Results:** Of the 201 patients eligible, 192 were included to receive either arándano americano syrup or trimethoprim. Urinary tract infection observed in 47 patients, 17 were males and 30 females. We recruited 95 patients diagnosed with recurrent UTI entry, 26 patients during follow-up have a UTI (27.4%, CI 95% 18.4%-36.3%). 6 patients (6.3%) were male and 20 (21.1%) females. 18 patients (18.9% of the total, CI 95% 11%-26.3%) patients receiving trimethoprim have UTI and 8 patients (8.4% of the total, CI 95% 2.8%-13.9%) of the receiving arándano americano.

**Conclusions:** Our study confirms that arándano americano syrup is a safe for the paediatric population. Cranberry prophylaxis is not equivalent to trimethoprim, showing non-inferiority versus trimethoprim.

**Keywords:** Arándano americano; Urinary tract infections; Trimethoprim; Vesico-ureteral reflux; Antibiotic prophylaxis

## **6. INTRODUCCIÓN**



---

## INTRODUCCIÓN

---

### 6.1. Definición de infección urinaria

La infección urinaria (IU) engloba un grupo heterogéneo de problemas que tienen en común la concurrencia de bacterias en orina e inflamación de los tejidos urinarios en diferente grado.

Puede afectar a la uretra o la vejiga (vías urinarias bajas) y a los uréteres, pelvis renal, cálices y parénquima renal (vías urinarias altas). Desde el punto de vista clínico en algunas ocasiones es difícil establecer el diagnóstico topográfico, especialmente en los niños pequeños, ya que la sintomatología suele ser muy inespecífica<sup>1</sup>. Con un criterio amplio y atendiendo básicamente a los aspectos relevantes para la práctica clínica pediátrica, consideramos los siguientes términos y definiciones:

1. **Pielonefritis aguda:** es la infección del tracto urinario (ITU) que presenta fiebre  $>38,5^{\circ}$  C asociada a signos biológicos de inflamación, por ejemplo la proteína C reactiva (PCR), la procalcitonina o la velocidad de sedimentación globular (VSG) aumentadas. Comporta un riesgo potencial de lesión renal con aparición de cicatrices corticales renales. En la exploración encontraremos afectación del estado general, taquicardia, aspecto séptico, dolor a la palpación abdominal, puñopercusión renal positiva.
2. **Cistitis:** es la IU localizada en la vejiga de la orina, que acostumbra a ser afebril, con presencia de síntomas miccionales y ausencia de dolor lumbar, y que no comporta riesgo de lesión del parénquima renal. No precisaría análisis de sangre.
3. **Uretritis:** poco frecuente en pediatría como entidad aislada, se manifiesta también con síntomas miccionales sin fiebre y, a menudo, con eliminación de exudado tal y como se ve en adolescentes. En niños más pequeños puede formar parte, prácticamente indiferenciable por la clínica, de balanopostitis, de vulvovaginitis o de cistitis.
4. **Bacteriuria asintomática:** presencia de un recuento significativo de bacterias en la orina en ausencia de signos o síntomas clínicos.
5. **Infecciones recidivantes del tracto urinario.** Se habla de recidiva cuando coexisten al menos 3 episodios de ITU al año. Cada nuevo brote de infección deberá tratarse durante 10-14 días como en la infección del tracto urinario de alto riesgo. Debe distinguirse entre:
  - a. Recaídas después de tratamiento, altamente sugestivas de malformaciones del tracto urinario.

- b. Reinfecciones. Suelen presentarse dentro del primer año después de la última infección urinaria. Generalmente son expresión de una bacteriuria asintomática.

## 6.2 Epidemiología de la ITU

La ITU es la infección constatable más frecuente en la infancia <sup>1</sup> fuentes bibliográficas consultadas muestran una prevalencia total aproximada del 2% al 5% en lactantes y niños <sup>2</sup>. Alrededor del 5-8% de niños y niñas menores de 2 años con fiebre sin una focalidad definida tienen una ITU. En los primeros 4-6 meses de vida es más frecuente en varones, cuando éstos no están circuncidados como es lo habitual en Europa, con una relación niño/niña del orden de 4-5/1. Desde los 6 meses y más aún a partir de los 3 años la ITU es mucho más frecuente en niñas, de modo que la padecen cerca de un 5% de las escolares, con una relación niña/niño superior a 10/1.

Un apartado especial ocupa la incidencia de la infección urinaria en los recién nacidos que se estima de 0,5-1% en recién nacidos a término y 3-5% en prematuros. La verdadera incidencia en este colectivo es difícil de establecer porque los métodos de recogida de orina empleados sobreestiman el número de casos debidos a contaminación. En nuestro medio la prevalencia de ITU en los recién nacidos pretérmino oscila entre 4 y 25%. Estos datos varían además en función de si la infección es nosocomial o adquirida en la comunidad.

Como veremos más adelante, edad, sexo, estado de circuncisión son factores que modifican la prevalencia de ITU en la infancia después del periodo neonatal. Algunos estudios <sup>3</sup>, han sugerido que la raza podría también ser un factor relevante siendo la infección del tracto urinario más frecuente en la raza blanca en comparación con la raza negra; sin embargo, la heterogeneidad de los estudios que analizan esta variable no han permitido concluir al respecto.

La recurrencia de ITU es frecuente (15-20%), especialmente durante el primer año tras el episodio inicial, aumentando el riesgo con el número de episodios previos. El reflujo vésico-ureteral (RVU) se detecta en el 30-40% de niños y niñas menores de 2 años y en el 20-25% de las niñas escolares con ITU recurrente <sup>4</sup>.

Todos estos datos nos previenen de la magnitud potencial de la ITU, de hecho, la afectación renal y la posibilidad de desarrollo de cicatrices renales, establecida mediante gammagrafía renal con DMSA, se estima en el 40-70% de las ITUs febriles <sup>5,6</sup>. Por otra parte, la edad menor de 2 años, el retraso del tratamiento, la ITU recurrente, el RVU en grado III o superior y la uropatía obstructiva son los factores de mayor riesgo para el desarrollo de cicatriz renal cuya prevalencia se estima en un 6-15% tras ITU febril en este rango de edad.

Las cicatrices renales pueden asociarse con la presencia de hipertensión arterial (HTA) hasta un 10-20%, proteinuria persistente e insuficiencia renal crónica (IRC).

Algunas publicaciones <sup>7</sup>, son desalentadoras respecto a la precocidad del tratamiento médico en la prevención de la formación de cicatrices renales. Aunque un tratamiento adecuado en las primeras 24 horas disminuye la posibilidad de afectación

renal durante la fase aguda de ITU. Todas estas consideraciones fuerzan la idea de la importancia de la prevención en la infección de orina <sup>8</sup>.

### 6.3. Etiología de la ITU

En los primeros años de vida se dan algunas circunstancias que favorecen la contaminación perineal con flora del intestino, como son la incontinencia fecal, la exposición –a veces prolongada- a las heces en los pañales y la fimosis fisiológica.

*E. coli*, es el microorganismo que más frecuentemente invade la vía urinaria en ITUs no complicadas (90% de los casos). Accede por vía ascendente al tracto urinario y es conocida su aptitud y capacidad de adhesión al urotelio mediante sus fimbrias o pili. Una vez colonizada la vejiga, las características de la infección dependerán de factores propios del paciente así como de la cepa en cuestión. Sin embargo, es preciso tener en cuenta otros patógenos y circunstancias especiales:

Menos frecuentes:

- *Klebsiella sp* (hasta un 25% en recién nacidos).
- *Proteus mirabilis*.
- Otras enterobacterias (*Shigella*, *Salmonella*...).
- *Pseudomona aeruginosa* (frecuente en recién nacidos e infecciones nosocomiales).
- *Enterococcus faecalis*.
- *Staphilococcus coagulasa negativo* (en recién nacidos y niñas adolescentes sexualmente activas).

Raros:

- *Estreptococo del grupo B*.
- *S. aureus*.
- Otras bacterias.
- *Cándida*.
- Otros hongos (considerar en pacientes diabéticos o con sondajes repetitivos).
- *Adenovirus* (cistitis hemorrágica).

**Tabla 6.1.** Aislamientos bacteriológicos en niños con ITU no complicada <sup>2</sup>.

Microorganismo	Porcentaje
<i>E. coli</i>	75-90%
<i>Klebsiella sp.</i>	1-8%
<i>Proteus sp.</i>	0.5-6%
<i>Enterobacter sp.</i>	0.5-6%
<i>Pseudomona aeruginosa</i>	1-2%
<i>Enterococo</i>	3-8%
<i>Staphilococo</i>	2-5%
Otros	1-2%

#### 6.4. Factores de riesgo

Los factores de riesgo en el desarrollo de cicatrices renales son:

- Edad del niño. Tras revisar la literatura los datos son uniformes en cuanto a que los niños menores de 2 años son los que tienen el máximo riesgo de cicatriz pielonefrítica.
- Obstrucción al flujo urinario. La obstrucción renal de diversas causas, se asocia con un elevado riesgo de desarrollo de cicatrices pielonefríticas.
- Reflujo vesicoureteral (RVU). Es la anomalía de la vía urinaria más frecuente en niños con una prevalencia aproximada del 1%. Existe una estrecha correlación entre la existencia de infección urinaria, reflujo vesicoureteral y pielonefritis cicatrizal.

Aunque un reflujo estéril a alta presión puede inducir daño renal experimentalmente, la acción nociva se ejerce sobre todo cuando al reflujo se asocia la infección urinaria. La lesión renal parece ser favorecida por la presencia del llamado "reflujo intrarrenal" que ocurre en los grados más altos de RVU y que permite que la orina infectada refluya a través de los colectores papilares al interior del parénquima renal, poniéndose en marcha el proceso inflamatorio parenquimatoso y las reacciones inmunológicas a ese nivel y como consecuencia de ambos factores el desarrollo posterior de cicatrices renales y la atrofia renal.

Actualmente existe gran controversia en torno al tema, dado que se cuestiona la verdadera prevalencia de cicatrices renales debidas a reflujo, el manejo diagnóstico, terapéutico, y pronóstico a largo plazo.

El reflujo vesicoureteral (RVU) primario es un proceso heterogéneo que se define como el paso retrógrado no fisiológico de la orina desde la vejiga al uréter, sin que exista una causa anatómica o neurológica que lo justifique.

##### ***6.4.1. Clasificación del reflujo vesicoureteral primario***

Las clasificaciones del RVU se fundamentan en la estratificación de la magnitud del paso retrógrado de la orina de la vejiga al uréter y de la capacidad de alterar la estructura anatómica de la vía urinaria. Por tanto, son dependientes de la técnica diagnóstica utilizada.

Cuando hablamos de grados de reflujo vesicoureteral lo hacemos generalmente basándonos en la Clasificación del RVU primario, según el International Reflux Study Comité (en base a los hallazgos de la cistourografía miccional seriada –CUMS-).

I. El reflujo solo alcanza el uréter, sin dilatarlo.

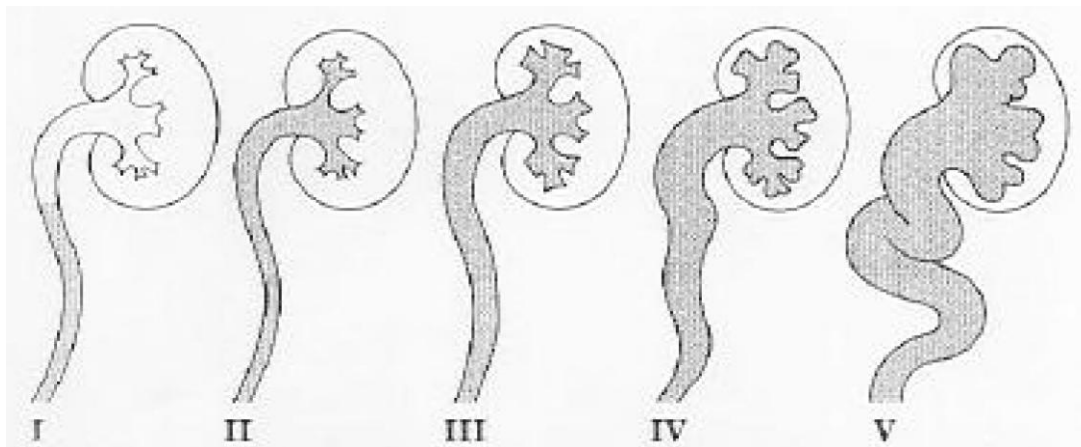
II. El reflujo alcanza el uréter, la pelvis y los cálices renales, sin dilatarlos.

III. El reflujo produce una ligera dilatación del uréter, la pelvis y los cálices renales, con preservación de los fórnix.



IV. Moderada dilatación uretero-piello-caliciliar con cierto grado de tortuosidad manteniendo la visualización de las impresiones papilares.

V. Gran dilatación uretero-piello-caliciliar con tortuosidad grave, con pérdida de la morfología calicilar normal y de la visualización de las impresiones papilares.



**Figura 6.1.** Grados de reflujo vesicoureteral <sup>9</sup>.

Clásicamente se ha estimado una prevalencia en torno al 1%, siendo la anomalía de la vía urinaria más frecuente, aunque la verdadera prevalencia del RVU en la población pediátrica general sana es desconocida, dado que no existen estudios en este sector de la población.

Una revisión sistemática realizada recientemente por Sargent *y cols.* <sup>9;10</sup>, muestra que existen datos epidemiológicos que indican que la prevalencia del reflujo en los niños normales puede ser más elevada de lo estimado hasta ahora y que muchos de los casos evolucionan de forma asintomática sin desarrollar nunca una infección urinaria. Por otro lado, existen grupos de pacientes con alto riesgo de presentar un RVU, como son los pacientes con su primer episodio de infección urinaria, los recién nacidos y lactantes diagnosticados prenatalmente de hidronefrosis, y los hijos y hermanos de pacientes con RVU.

#### **6.4.2. Factores genéticos**

Se cree que el RVU primario es una condición determinada genéticamente. Estudios epidemiológicos realizados en familias con RVU han demostrado que el 25-50% de los hermanos y el 50-66% de los hijos de pacientes con RVU también tienen reflujo.

En gemelos monocigotos, con un hermano afectado, la prevalencia del RVU es del 100% y en gemelos dicigotos, del 50% <sup>11</sup>. Basándose en estos datos, y aunque no se han identificado todavía modelos hereditarios específicos, se han sugerido diferentes formas de transmisión del RVU: autosómica dominante, autosómica recesiva o ligada al sexo, o también un modelo de transmisión poligénico. Todos estos estudios sugieren que el RVU y la displasia renal asociada pueden ser secundarios a una disregulación de

una compleja red de genes que regulan el programa del desarrollo renal y del tracto urinario. Los estudios genéticos y moleculares han permitido conocer mucho mejor el RVU, pero todavía no se han encontrado los genes responsables del RVU primario. Por otro lado, es posible que algunas variaciones genéticas influyan en la inflamación renal y en la generación de la fibrosis intersticial que se produce después de un cuadro de pielonefritis aguda (PNA). Algunos estudios<sup>12</sup>, han demostrado que el genotipo homocigoto para el gen DD del polimorfismo del gen codificador de la enzima convertidora de la angiotensina se asocia con un mayor riesgo de desarrollar cicatrices renales en lactantes con RVU y PNA, puesto que dicho genotipo daría lugar a una mayor respuesta inflamatoria y mayor grado de fibrosis en respuesta a una PNA, pero otros estudios<sup>12</sup>, no han podido demostrar esta asociación. Cuando se conozcan con mayor exactitud cuáles son las bases genéticas del RVU primario podremos, probablemente, disponer de pruebas genéticas de cribado para realizar un diagnóstico precoz más selectivo y llevar a cabo un consejo genético más apropiado.

#### **5.4.3. Raza, sexo y edad**

El RVU es más frecuente en niños de raza blanca aunque no se conoce si estas diferencias se mantienen en los niños sanos sin ITU y sin hidronefrosis prenatal. Lo que si parece claro es que a partir de los 10 años de edad desaparecen las diferencias entre la raza negra y la blanca.

En relación al sexo, no hay acuerdo en la literatura respecto a la prevalencia del RVU en función del sexo. Ello se debe a que no existen estudios que hayan abordado el problema teniendo en cuenta que, después del primer año de vida, la prevalencia de ITU es más alta en el sexo femenino. Como consecuencia, el RVU se diagnostica mucho más frecuentemente en las niñas que en los niños. Sin embargo, entre todos los pacientes con ITU, los niños tienen más probabilidad de tener RVU que las niñas, con una relación hombre: mujer de 2:1.

Con respecto a la edad, la prevalencia del RVU es mayor cuanto menor es el niño. Aunque depende del grado, la mayoría de los reflujos ceden entre los cinco y ocho años de edad. Ello se debe a la maduración del mecanismo valvular de la unión ureterovesical entre otros factores. No sucede lo mismo en la raza negra<sup>7;13</sup>.

#### **5.4.4. Cicatrices renales, insuficiencia renal crónica, insuficiencia renal terminal e HTA**

Si tenemos en cuenta la relación con el grado de reflujo, aunque la ausencia de RVU no excluye la presencia de cicatrices renales, parece existir una relación entre el grado de RVU y la presencia de cicatrices. Diversos estudios refieren que las cicatrices renales están presentes en aproximadamente la mitad de los niños con RVU de grado igual o superior a III. La ITU es el motivo más frecuente que conduce al diagnóstico de RVU y de lesión renal segmentaria no displásica con fibrosis y atrofia (NR) tanto en niños como en adultos. En general la NR es más frecuente en las mujeres; sin embargo, en el primer año de vida es más frecuente en los varones.

De acuerdo a los datos de la European Dialysis and Transplant Association (EDTA), la NR es la causa de entrada en programas de diálisis-transplante del 20-25% de los menores de 15 años y del 5% del total de todos los pacientes.

Todos los autores reconocen una estrecha relación entre el daño renal por reflujo y la HTA, considerando que la presencia de cicatrices renales incrementa el riesgo de desarrollarla.

También coinciden en estimar que la HTA afecta al 10% de los niños con nefropatía por reflujo, aunque dependiendo de los estudios la prevalencia varía entre el 0-38%.

La patogenia del RVUp es uno de los aspectos menos controvertidos en torno al tema, y parece que existe en general unanimidad en la literatura. Uno de los mecanismos patogénicos más importantes es la anomalía madurativa del sistema valvular de la unión vesico-ureteral y para entender dicha anomalía es necesario conocer la embriología del sistema genitourinario, al menos de una forma básica.

Se sabe que el sistema genitourinario procede del mesodermo embrionario el cual se divide en 3 partes: pronefros (da lugar a un riñón rudimentario que involucionará por completo) mesonefros (dará lugar a parte de la vejiga, uréteres) y finalmente el metanefros (dará lugar al riñón definitivo). El desarrollo del riñón definitivo es inducido en el blastema metanéfrico por la yema ureteral la cual se sitúa en el conducto mesonéfrico, por ello se entiende que cuando existen anomalías ureterales o de la unión vesicoureteral pueden asociarse en mayor o menor grado alteraciones renales de tipo displásicas o malformativas. Dependiendo del lugar en que se origine la yema ureteral en el conducto mesonéfrico, el orificio ureteral estará situado en un lugar más medial o lateral de la vejiga.

Esto viene determinado genéticamente. Si la yema ureteral se origina muy cerca de lo que será la futura vejiga, los orificios ureterales estarán desplazados lateralmente con lo que el túnel submucoso del uréter en la vejiga será más corto dando lugar a RVUp de tipo fetal o congénito. Cuánto más anómalo sea el lugar de origen de la yema ureteral más importante será el grado de RVU y mayor será la posibilidad de asociarse a un riñón malformado o displásico. Otro mecanismo patogénico de relevancia es la disfunción vesical / miccional que se ha relacionado el RVU con alteraciones en la función de la vejiga. Esta disfunción puede estar presente ya en la época embrionaria y favorecer la aparición de RVU congénito o bien puede ser algo adquirido como consecuencia de hábitos al adquirir la continencia. Según algunos autores <sup>14</sup>, esta característica está determinada genéticamente y tiene un carácter madurativo.

Hay que destacar dos estudios <sup>14</sup>, sobre series de casos (en uno se estudiaron 11 lactantes y en el otro 37) en los que el RVU primario grave del lactante se asociaba a una disfunción vesical con modelos diferentes según el sexo, considerándose dicha disfunción un factor asociado al defecto congénito en el mecanismo valvular de la unión ureterovesical. En los varones predomina un modelo caracterizado por una vejiga hipercontráctil, de baja capacidad y con altas presiones del detrusor durante la micción. En las mujeres, por el contrario, la vejiga es de gran capacidad, con una presión del detrusor durante la micción normal y aparición precoz del RVU durante la fase de llenado sin cambios en la presión intravesical. La disfunción vesical de estos pacientes

cambia con el tiempo, haciéndose similar a la encontrada más frecuentemente en los niños mayores con RVU o tiene un carácter transitorio, desapareciendo con la edad.

Aunque el RVU primario del niño mayor ya continente (la mayoría del sexo femenino) se puede asociar con frecuencia a una inestabilidad del detrusor con aumento de la presión intravesical durante el llenado o a una descoordinación detrusor-esfinteriana durante la micción, por los datos existentes en la literatura no se puede conocer con certeza la relación existente entre los dos procesos.

Otros factores relacionados serían las variaciones normales de la maduración del mecanismo miccional que pueden ser factores que contribuyen de forma importante a la iniciación y perpetuación del RVU y de la lesión renal. Su resolución espontánea tan elevada se explicaría por el carácter transitorio de dicha disfunción.

En pediatría, por lo general, llegamos al diagnóstico de RVUp por 2 vías: diagnóstico prenatal y diagnóstico postnatal.

- *Diagnóstico prenatal*

Diagnosticado en base a los hallazgos de ecografía prenatal, que se realiza sistemáticamente en las embarazadas, en este caso encontraremos el reflujo vesicoureteral de tipo congénito o fetal, éste afecta preferentemente al sexo masculino, es bilateral y grave en la mayoría de los casos, cursa de forma latente sin producir sintomatología y cesa espontáneamente en los primeros meses de la vida.

En 1/3 de estos pacientes existe una lesión renal displásica asociada al RVU, no relacionada con la ITU e indicativa de un desarrollo metanéfrico anómalo.

- *Diagnóstico postnatal*

La forma más frecuente mediante la cual llegamos al diagnóstico de RVUp suele ser en el contexto del estudio sistematizado tras la primera manifestación de una infección urinaria asociado o no a síntomas de disfunción vesical. En este caso se trata de un RVUp, normalmente leve o moderado, que afecta preferentemente a las niñas mayores de dos años y desarrolla una lesión renal segmentaria cicatricial no displásica.

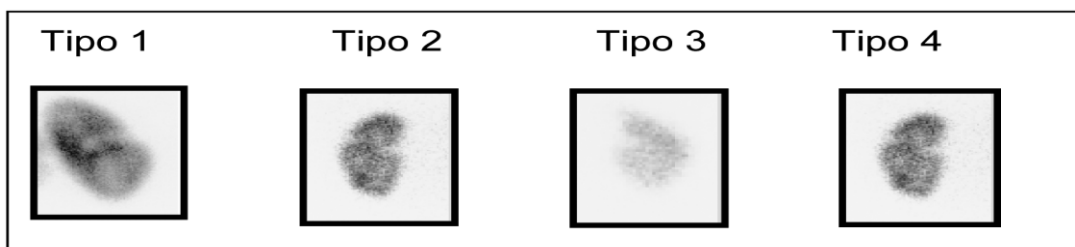
Otras formas por las cuales llegamos al diagnóstico están en el contexto de estudio por antecedentes familiares de RVU y en el contexto del estudio de otras malformaciones congénitas. Para el diagnóstico de RVU es imprescindible la realización de un estudio cistográfico mediante alguna de las siguientes técnicas:

- Cisto-Uretrografía-Miccional-Seriada (CUMS): se trata de la prueba diagnóstica de referencia. La CUMS es la técnica de elección para detectar y graduar el RVU. Esta técnica ofrece una excelente definición anatómica del tracto urinario; permite establecer con exactitud el grado de RVU y la presencia del reflujo intrarrenal. En el recién nacido y en el lactante, que no controlan la micción y vacían muy rápidamente la vejiga, se realiza una cistografía cíclica, que es más segura a la hora de diagnosticar el RVU en este grupo de pacientes. Tiene el inconveniente de ser la prueba que administra mayor dosis de radiación.

- Cistografía Isotópica Directa (CID): es la prueba diagnóstica más sensible para el diagnóstico de reflujo vesicoureteral. La dosis de radiación es menor. Su indicación sería conocer si hay reflujo en los casos que no tenemos sospecha de alteración anatómica vesical o uretral, en el seguimiento de los RVU ya diagnosticados, y en los estudios familiares de RVU con ecografía normal.
- Ecocistografía (EC): ventaja de no producir radiación, la imagen anatómica es superior a las técnicas de medicina nuclear pero no permite monitorización dinámica simultánea de riñones, uréteres y vejiga en la fase de llenado y vaciado. No está disponible en muchos centros y el tiempo de exploración es más prolongado.
- Cistografía Isotópica Indirecta (CII): permite el diagnóstico del RVU sin sondaje uretral, permitiendo estudios dinámicos durante la micción en condiciones fisiológicas. Esta técnica por ser la menos invasiva es la que se propone para el futuro como prueba inicial en niños mayores de 3 años en los que no sea imprescindible la valoración anatómica de vejiga y uretra. No es una técnica de uso rutinario en la mayoría de los hospitales.

Una vez se ha llegado al diagnóstico de RVU el paso siguiente es establecer si existe daño renal y para ello se precisa la realización de pruebas de imagen, que en este caso se trata fundamentalmente de la realización de una gammagrafía renal con ácido dimercaptosuccínico marcado con  $Tc^{99}$  (DMSA). Esta prueba de imagen nos ofrece información a cerca de masa renal funcionante, anomalías parenquimatosas y nos indica la función renal diferencial o relativa (FRR). La clasificación del daño renal en estudio DMSA se puede evaluar según Goldraich, que diferencia grados según la captación del radiofármaco, teniendo en cuenta que una hipocaptación equivaldría a hipofunción. Distinguiría entre 5 tipos:

- Tipo 1: No más de dos áreas de cicatriz.
- Tipo 2: Más de dos áreas de cicatriz con áreas de parénquima normal entre ellas.
- Tipo 3: Daño generalizado de la totalidad del riñón, similar a la nefropatía obstructiva, Ej.: contracción global del riñón con o sin cicatrices en su contorno.
- Tipo 4: Estadio final, riñones muy reducido con poca o ninguna captación del radio fármaco.



**Figura 6.2.** Clasificación del daño renal según Goldraich. <sup>9</sup>

La cuantificación de la función renal relativa (FRR) basada en la incorporación de ácido dimercaptosuccínico (DMSA) en ambos riñones es un método establecido para la determinación del nivel de funcionamiento renal. Se considera que la FRR es normal

si se encuentra en el intervalo (45–55%), es decir, un margen de variación de +/- 5% respecto a una distribución equitativa.

Un tamaño anormal del riñón puede producir una alteración en el valor de su FRR, sin que por ello el riñón en estudio tenga alguna disfunción. Por tanto, para cuantificar el nivel de funcionalidad de cada riñón resulta de utilidad corregir por volumen renal relativo los valores de la FRR, obteniendo así la función renal relativa normalizada (FRRN).

Además, del diagnóstico de daño renal con pruebas gammagráficas, estaría indicado en el momento del diagnóstico la determinación más exacta de la función renal en el caso de niños con afectación renal bilateral en la DMSA, niños con afectación unilateral con función < 40% y niños con RVU grados IV y V bilateral. En este sentido hay que tener en cuenta que las pruebas gammagráficas nos ofrecen información en parte funcional pero es preciso afinar más en cuanto al diagnóstico renal funcional, en tanto que nos permita partir de un punto con el cual comparar posteriormente las pruebas de control.

Para el diagnóstico de función renal las determinaciones que se recomiendan actualmente son:

- Antropométrica: Tensión arterial, peso y talla.
- Bioquímica en plasma: incluyendo creatinina, sodio, potasio, urea, cloro, calcio, albúmina, fosfatasa alcalina, gasometría, y osmolalidad.
- Cistatina: que se correlaciona mejor con la función renal en niños pequeños y en los que tienen cierto grado de insuficiencia renal
- Bioquímica en orina de orina 24h: creatinina, sodio, potasio, cloro, proteinuria-microalbuminuria, proteínas de bajo peso molecular.
- Osmolalidad: esta determinación nos habla de función tubular, y si se determina una osmolalidad baja estaría indicado hacer un test funcional.
- Microalbuminuria y 1  $\alpha$  microglobulina: actualmente se recomienda la realización sistemática de ambas determinaciones por considerarse los mejores marcadores de función renal.

El tratamiento del reflujo vesicoureteral incluye:

1. *Medidas generales.* En todos los casos se aconsejarán una serie de medidas generales:
  - Mantenimiento de lactancia natural en lactantes.
  - Revisión periódica de fimosis.
  - Ingesta de líquidos.
  - Hábitos higiénicos miccionales correctos.
  - Pautas para combatir estreñimiento.
  - En niños con RVU grado III-V y fimosis, que hayan sido diagnosticados previamente de ITU, se valorará la corrección de la fimosis. Inicialmente se puede probar un ciclo con corticoides tópicos, y si no se controla remitirlo a la consulta de urología para corrección quirúrgica.
2. *Tratamiento conservador: Profilaxis antibiótica.* Este aspecto está fundamentalmente discutido en la actualidad, no pareciendo encontrarse

consenso sobre cuándo hay que tratar los casos de reflujo vesicoureteral. No obstante, autores como C. Ochoa Sangrador<sup>15</sup>, Ramón Areses<sup>9</sup> indican que:

- Niños con RVU grados I-III, uni o bilateral, diagnosticados tras una primera ITU o tras estudio por dilatación de vía urinaria en época prenatal no se recomienda ningún tratamiento de profilaxis.

Si en la evolución tienen ITU recurrente según la definición de NICE, o aparece daño renal en DMSA, iniciar profilaxis. En este caso la duración será de un año. Pasado este periodo se valorará de nuevo si mantener la profilaxis o suprimirla. En caso de nuevas recurrencias valorar pasar a tratamiento quirúrgico. Esto requiere una individualización de cada caso.

- Niños con RVU grados IV-V se iniciará tratamiento profiláctico. Duración mínima durante un año. Tras repetir el estudio cistográfico, si no ha habido ninguna nueva ITU en este tiempo, se puede suprimir la profilaxis. En todo caso individualizar según la situación clínica de cada paciente.

Los medicamentos a utilizar como profilácticos en orden de preferencia:

- Niños mayorcitos que puedan tomar comprimidos: Furantoína.
- Lactantes por encima de los 2 meses, y si no hay resistencias significativas en la sensibilidad local de los urocultivos: Trimetoprim.
- Menores de dos meses: amoxicilina asociada o no clavulánico, aunque hay que tener presente que asociado a clavulánico tiene un amplio espectro y puede crear resistencias.
- Si no se pueden administrar los anteriores intentar Fosfomicina como 2ª opción o a una cefalosporina de 1ª, 2ª o 3ª generación como alternativa.

Dados los efectos secundarios resultantes de la utilización de antibioterapia profiláctica, tales como alteraciones de la flora nasofaríngea y digestiva ha surgido la necesidad de nuevas alternativas en la prevención de infecciones urinarias. En este sentido se ha propuesto el extracto de arándano americano, ya utilizado desde hace más de 100 años, aunque aún no cuenta con una evidencia sólida de su eficacia.

3. *Tratamiento quirúrgico:* El tratamiento quirúrgico se planteará de forma individualizada y normalmente se aplicará cuando fracasa tratamiento conservador. En caso de disfunción vesical asociada previamente tendrá que realizarse estudio urodinámico para valorar si el paciente es candidato a intervención quirúrgica. Las opciones serían tratamiento endoscópico y tratamiento clásico, vía abierta. El tratamiento endoscópico es de elección y en este sentido está demostrado que es indiferente el tipo de sustancia a inyectar, respecto a la resolución del RVU o la aparición de complicaciones y además consigue una menor morbilidad y coste que el tratamiento quirúrgico. En contra el tratamiento quirúrgico clásico (reimplantación ureteral) se empleará cuando fracase el tratamiento endoscópico o bien por decisión paterna, teniendo en cuenta el elevado coste y morbilidad que origina. Por tanto, se planteará esta opción terapéutica en los casos de ITU febril recurrente, preferencia de los padres, pacientes o sus cuidadores legales y en lactantes con RVU superior a grado III, ITU febriles de repetición y fimosis.

El seguimiento del RVU debe ser individualizado según situación clínica. En todos los casos de RVU los padres o cuidadores deben recibir instrucciones sobre los síntomas clínicos más importantes que puedan orientar al clínico en el diagnóstico de ITU. La evidencia de que disponemos actualmente refiere que en niños con RVU

asintomáticos no es recomendable realizar urocultivos de control dado que la bacteriuria asintomática no produce daño renal en niños con RVU y por tanto no se recomienda el tratamiento antibiótico.

Deberá tenerse en cuenta el concepto de evolución en los casos de reflujo vesicoureteral dado que en algunos casos la desaparición será espontánea, por tanto habrá que establecer un seguimiento también en relación a los estudios cistográficos. El estudio cistográfico de control estará indicado en los casos asintomáticos de RVU I-III cada 2-3 años y en los casos de RVU IV-V sin profilaxis cada 2-3 años y con profilaxis anualmente.

El seguimiento debe ser más estricto en los casos en los que se haya hecho un diagnóstico de nefropatía por reflujo, conllevando una serie de medidas generales tales como:

- Controles periódicos de tensión arterial (cada 6 meses si NR severa y/o bilateral o bien anualmente si la NR es leve y/o unilateral).
- Determinación urinaria de microalbuminuria, índice urinario albúmina/creatinina.
- Control personalizado de los episodios de infección urinaria y control personalizado de los valores de creatinina plasmática.

Las medidas específicas para el seguimiento vendrán determinadas en función del caso clínico concreto.

### **6.5. Patogenia: Virulencia bacteriana e ITU <sup>16</sup>**

Entre los diversos factores de virulencia bacteriana destacan los antígenos de la pared celular (antígeno O) y los antígenos capsulares (antígeno K). La capacidad de los microorganismos de adherirse a las células uroepiteliales constituye el principal factor condicionante de la colonización inicial de la mucosa vesical. Existen dos tipos principales de adhesinas en *E. coli*: los pili (o fimbrias) tipo 1 y los pili (o fimbrias) tipo 2; los primeros son causa fundamentalmente de cuadros de cistitis y bacteriuria asintomática, ya que los receptores celulares para estas adhesinas parecen ser más abundantes en la mucosa vesical que en el uroepitelio alto. Las fimbrias tipo 2 reconocen receptores uroepiteliales localizados preferentemente a nivel del parénquima renal.

Patogenicidad y virulencia son términos muy semejantes, aunque presentan algunas diferencias. El poder patógeno o patogenicidad se refiere a la capacidad que poseen los microorganismos de producir una enfermedad, ya sea espontánea en el hombre o experimental en los animales de laboratorio; es por tanto, un atributo general o cualitativo que se refiere a una especie microbiana y que permite compararla con las demás. (*S. typhi* y *S. pneumoniae* son patógenos y *Lactobacillus lactis* o *Bitidobacterium bifidus* no son patógenos.)

En cambio, el término virulencia se emplea para indicar el mayor o menor grado de patogenicidad entre las distintas cepas que componen una especie. Es un atributo



cuantitativo, que introduce el concepto de grado; así, dentro de las especies *S. pneumoniae* o *E. coli* pueden existir cepas de distinta virulencia. En realidad, el término virulencia se refiere a cepas y el poder patógeno, a especies. Sin embargo, en la práctica, muchas veces, ambos términos se consideran sinónimos y se utilizan indistintamente.

Por otra parte, hay que tener en cuenta que el poder patógeno o la capacidad de producir una enfermedad no dependen exclusivamente del microorganismo, sino también de características del huésped, ya que microorganismos muy patógenos para un huésped determinado pueden ser menos patógenos o no patógenos para otros, según su grado de resistencia orgánica. En consecuencia, como el poder patógeno o la enfermedad dependen de dos variables, se pueden expresar matemáticamente (Fig.6.3) en cuyo numerador se incluyen los factores dependientes del microorganismo, en especial su número y virulencia (que a su vez depende de su capacidad para colonizar, penetrar, multiplicarse, invadir y producir alteraciones patológicas), y en el denominador, el grado de resistencia del huésped (inespecífica y específica). En este sentido, la enfermedad podría producirse teóricamente, tanto por un aumento de la virulencia del microorganismo como por una disminución de los mecanismos defensivos del huésped.

Aunque en algunos casos ha podido atribuirse exclusivamente a características del agente, se ha visto que en su mayoría depende más de las condiciones del huésped, lo que ha permitido explicar que también los microorganismos poco virulentos pueden ser patógenos cuando existe una disminución de los mecanismos de resistencia del huésped. Incluso se ha llegado a sugerir que cualquier microorganismo podría ser patógeno, siempre que se produjera una disminución suficiente de estos mecanismos de defensa.

$$E = \frac{N \times V}{R} = \frac{\text{(capacidad de colonización, penetración, multiplicación, invasión y lesional)}}{\text{Resistencia inespecífica y específica}}$$

**Figura 6.3.** Factores de virulencia y del poder patógeno ( $E$ = enfermedad,  $N$ =número,  $V$ =virulencia,  $R$ =resistencia del huésped) <sup>16</sup>.

### 6.5.1. Variaciones de la virulencia

La virulencia de una cepa no es un carácter estable, sino que puede variar como consecuencia de la aparición de mutaciones en el curso de su desarrollo, cambios epigénéticos de la bacteria como respuesta de su adaptación al medio o la presencia de factores que condicionan la selección de mutantes.

La virulencia puede aumentar por pases en animales susceptibles, que seleccionan las mutantes mejor adaptadas al crecimiento, multiplicación e invasión del animal. Algo muy parecido ocurre durante el comienzo de las epidemias, cuando la frecuente transmisión de la bacteria causal incrementa progresivamente su virulencia, dado que el huésped actúa como un mecanismo de selección de las mutantes más virulentas.

### **6.5.2. Medida de la virulencia**

Se determina por la dosis mínima necesaria para producir un efecto patológico, que por lo general es la muerte del animal inoculado, o dosis letal (DL). Para reducir al mínimo las variaciones individuales de la resistencia del animal, la virulencia se ensaya inoculando un lote numeroso de animales normales de la misma especie, utilizando, por su mayor precisión, la dosis mínima que produce la muerte del 50 % de animales inoculados, dosis letal 50 (DL50); si se toma como punto final la producción de una infección, se obtiene la dosis infectiva 50 (DI50), que puede ser muy pequeña para *Mycobacterium tuberculosis* ( $1 \times 10^{-1}$ ), moderada para *S. typhi* ( $1 \times 10^{-4}$ ) o elevada para *Vibrio cholerae* ( $1 \times 10^{-8}$ ). En virología se utiliza la dosis capaz de producir alteraciones citopáticas en el 50 % de cultivos celulares (DITC50).

### **6.5.3. Factores determinantes de la acción patógena<sup>16</sup>**

Las bacterias para poder manifestar su acción patógena deben ser capaces de:

- Llegar a la superficie del huésped por una puerta de entrada, colonizar el epitelio y resistir la acción de los sistemas locales de defensa: capacidad de colonización.
- Atravesar la barrera cutaneomucosa para alcanzar los tejidos subepiteliales y ponerse en contacto con el medio interno: capacidad de penetración.
- Multiplicarse en los tejidos del huésped interfiriendo con los mecanismos defensivos humorales y celulares del medio interno, lo que les permite establecerse e invadir el organismo: capacidad de multiplicación y de invasión.
- Producir alteraciones y lesiones en las células y tejidos del huésped, responsables del cuadro patológico: capacidad lesional.

### **6.5.4. Colonización<sup>16</sup>**

Las bacterias capaces de producir una acción patógena pueden proceder:

a) Del exterior y llegar al organismo por una puerta de entrada, que puede ser la piel o con mayor frecuencia, las mucosas del aparato respiratorio, digestivo o urogenital (infección exógena),

b) Del propio organismo, en especial de la flora microbiana normal (infección endógena). En este caso se trata de bacterias potencialmente patógenas u oportunistas, capaces de manifestar su acción cuando llegan a otros tejidos o concurren circunstancias que disminuyen la eficacia de los mecanismos de defensa.

En cualquier caso, para iniciar la infección, los patógenos deben fijarse o adherirse a las células y colonizar el epitelio.

### 6.5.5. Interacciones en el epitelio cutaneomucoso

En el epitelio cutaneomucoso, el primer obstáculo que las bacterias tienen que superar está representado por el estrato córneo de la piel y el moco y gel mucoso que recubre las mucosas, en las que existen diversos mecanismos defensivos. Están constituidos fundamentalmente por los sistemas mecánicos de eliminación (descamación del estrato córneo, sistema mucociliar del aparato respiratorio, peristaltismo intestinal), la presencia de fagocitos, sustancias bactericidas y anticuerpos locales (IgA secretora), así como por la existencia de una flora normal que actúa como barrera. Las bacterias patógenas presentan mecanismos, en gran parte desconocidos, que les permiten evitar la acción de estas defensas locales, que son, en algunos casos, semejantes a los que actúan en el medio interno. En este sentido se conoce que las bacterias pueden presentar o producir:

1. Fermentos del tipo de mucinasas, glicosidasas o neuraminidasas (*Vibrio cholerae*), que descomponen las glicoproteínas del moco, facilitando la penetración.
2. Factores de superficie (capsulas, antígenos de la pared celular), que inhiben la fagocitosis y la acción de las sustancias bactericidas de la mucosa.
3. Proteasas IgA. Cierta número de bacterias patógenas (*N. meningitidis*, *N. gonorrhoeae*, *S. pneumoniae*, *H. influenzae*) son capaces de secretar enzimas proteolíticas, que descomponen las IgA subclase A<sub>1</sub>, y, por tanto, de inactivar el sistema de defensa local específico de las mucosas.
4. Sustancias inhibidoras y bactericidas, como las bacteriocinas, que les permiten competir con la flora normal. Estos factores favorecen la penetración a través del moco y la implantación y adherencia de los patógenos a las células epiteliales.

### 6.5.6. Adherencia bacteriana <sup>16</sup>

La adherencia es una propiedad de gran número de bacterias que les permite su fijación a la superficie de las células (eucariotas o procariotas) y aun a materiales inertes. Constituye uno de los factores más importantes para la colonización de la piel y mucosas por la flora normal, y para la puesta en marcha de la infección y de la enfermedad infecciosa.

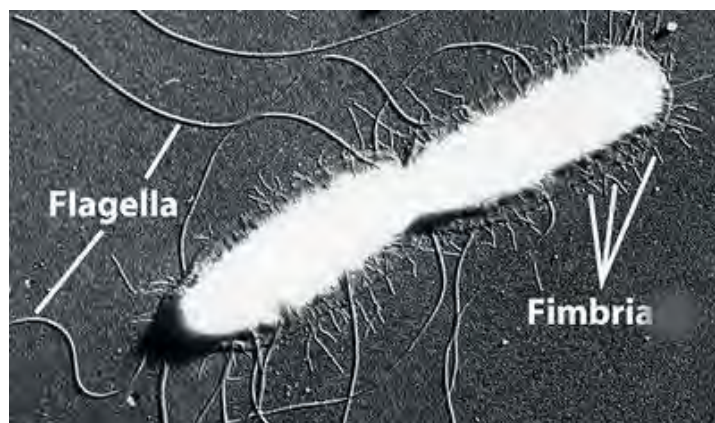
La adherencia es un fenómeno de superficie que supone la interacción de la bacteria con la célula. En la mayoría de los casos se considera como un fenómeno específico como consecuencia de la combinación de sustancias presentes en la superficie de las bacterias o adhesinas con receptores de la superficie de las células.

### 6.5.6.1. Adhesinas

Son compuestos de la superficie de las bacterias que actúan como mediadores del fenómeno de adherencia. Los estudios realizados han permitido demostrar que las adhesinas se encuentran asociadas con estructuras superficiales como las fimbrias o pili comunes, con polímeros extracelulares que forman la envoltura mucosa (glicocalix), con diversos componentes de la membrana externa (proteínas, lipopolisacáridos) e incluso con estructuras más profundas que pueden aflorar a la superficie (ácidos lipoteicoicos).

Pueden ser de naturaleza proteica (fimbrias, proteínas de la ME), hidrocarbonada (glicocalix) o lipídica (ácidos lipoteicoicos, lipopolisacáridos).

En las bacterias *gramnegativas*, la adherencia es debida en la mayoría de los casos a la presencia de adhesinas en las fimbrias o en otras estructuras de la membrana externa. Las fimbrias son apéndices filamentosos de naturaleza proteica frecuentemente portadores de adhesinas, que presentan la propiedad de combinarse con receptores de naturaleza polisacárida localizados en la superficie de las células epiteliales mediante uniones del tipo azúcar-lectina. Las fimbrias pueden estar repartidas uniformemente por toda la superficie de la célula o situadas sólo en los polos.



**Figura 6.4.** Aspecto de fimbrias y flagelos por microscopía electrónica.

La zona combinante está constituida por un pequeño segmento de las subunidades proteicas de la fimbria (región aminoterminal). Las fimbrias se pueden diferenciar por una serie de caracteres como el tamaño, peso molecular, composición en aminoácidos y poder inmunógeno, y, además y en relación con la presencia de adhesinas, por la capacidad de fijación selectiva en los receptores de diversas células y de diversas especies de hematíes responsables del fenómeno de hemaglutinación, por la naturaleza química de estos receptores y sobre todo porque la adición de receptores o de sustancias análogas presenta la propiedad de inhibir específicamente el fenómeno de adherencia a de hemaglutinación. Las fimbrias de las enterobacterias se han clasificado en 6 tipos de los cuales cuatro (tipos 1, 3, 4, 5) se encuentran asociadas con adhesinas y las adhesinas de las fimbrias. Atendiendo a su sensibilidad al monosacárido manosa se han dividido en dos grandes grupos: sensibles y resistentes a la manosa.

Las adhesinas a fimbrias *manosa-sensibles*. MS a fimbrias de tipo 1 son las más frecuentes y difundidas en las bacterias gramnegativas. Presentan la propiedad de

combinarse con receptores que contienen d-manosa que se encuentran en muchas glicoproteínas que existen en gran número de células, incluidos los fagocitos y en los hematíes de diversas especies de animales (cobayo, caballo, aves) y del hombre produciendo el fenómeno de la hemaglutinación, reacción que es inhibida por la adición de d-manosa al medio. Estas fimbrias por su capacidad de unirse a diversas células y tejidos, se consideran poco relacionadas con el poder patógeno pero intervienen en el proceso de colonización.

Las adhesinas a fimbrias manosa-resistentes a MR, son menos frecuentes y difundidas y se caracterizan porque producen la aglutinación de los hematíes. Aun en presencia de d-manosa. Recientemente se ha demostrado que las fimbrias manosa-resistentes no forman un grupo homogéneo sino que agrupan todas las fimbrias que se combinan con receptores específicos que no contienen manosa; es por tanto un grupo heterogéneo en el que se incluyen diversos tipos de fimbrias. Las fimbrias de *E. coli* más importantes asociadas con el poder patógeno en el hombre y los animales se relacionan en la tabla siguiente.

**Tabla 6.2.** *E. coli*, caracteres de algunas fimbrias que median la adherencia <sup>16</sup>.

Adhesina		Origen de la cepa	Gene	Receptor (inhibición adherencia)	Aglutinación
Fimbria	Serotipo F				
<i>Manosa-sensibles</i>					
Tipo 1	F1	Ubicuo	Cromosoma	Glicoproteínas d-Manosa	Hematies de cobayo, caballo, cordero, humanos y levaduras
<i>Manosa-resistentes</i>					
K88	F2	<i>Enteropatógenos</i> Diarrea de lechones	Plásmido	Glicolípidos Gangliósido GM1 (GalNac y GlcNac)	Hematies Pollo y cobayo
K99	F3	Diarrea de bóvidos	Plásmido	Gangliósido GM2	Caballo y cordero
987P	F4	Diarrea en lechones	Plásmido	-	-
CFAI	F5	Diarrea humana	Plásmido	Gangliósido GM2 (Gal Nac β 1-4, Gal 1-4 glc cer)	Humanos, pollo, bovinos
CFAII	F6	Diarrea humana	Plásmido	-	Bovinos, pollo
E8775	-	Diarrea humana	Plásmido	-	Bovinos
P		<i>Uropatógenos</i> Infección urinaria (90 %)	Cromosoma	Globotetraosyl ceramido (Gal α 1-4 gal)	Humano
Otras fimbrias	F7-F10	Infección urinaria (10 %)	-	-	-

Hay que señalar las fimbrias K88 y 987P relacionadas con la diarrea de los lechones. Las fimbrias K99 asociadas con la diarrea de los bóvidos y las fimbrias a factores de colonización CFA-I, CFA-II y E8775 relacionadas con la diarrea humana. Estas adhesinas reconocen receptores celulares formados por glicolípidos pero cuya composición y especificidad aún no han sido estudiadas en detalle. Mención especial merecen los *E. coli* productores de infecciones urinarias y en especial de pielonefritis que en el 90 % de casos presentan fimbrias P con la propiedad de aglutinar los hematíes humanos que contienen el antígeno P. Es un glicolípido que se ha identificado con un globósido, el globotetraosilceramide o globotriosilceramide que contiene un disacárido (Gal alfa 1-4 Gal) que constituye el receptor.

Por otra parte, se han estudiado las fimbrias sobre una base serológica y se han identificado doce serotipos de fimbrias (serotipos F) habiéndose observado que el serotipo (F1) está asociado con las fimbrias de tipo 1a MS. Los serotipos F2 a F6 y F10 están con las fimbrias MR de las cepas enteropatógenas para los animales y el hombre y

parece que los serotipos F7 a F10 están asociadas con algunas cepas uropatógenas. Las bases genéticas de la adherencia han sido especialmente investigadas en *E. coli*. Se ha visto que la síntesis de fimbrias está codificada por genes localizados en el cromosoma o en plásmidos y que su expresión fenotípica está modulada por factores ambientales (temperatura, pH, nutrientes, fase de crecimiento, presencia de antibióticos, etc). Las fimbrias MS de tipo 1 y las fimbrias P de *E. coli* vienen codificadas por genes localizados en el cromosoma mientras que las adhesinas MR asociadas con la acción patógena en el intestino del hombre y de los animales son codificadas generalmente por plásmidos. Además, de hallarse en *E. coli* se han demostrado fimbrias MS en la mayoría de enterobacterias (*Klebsiella*, *Enterobacter*, *Serratia*, *Salmonella*, *Shigella*, *Citrobacter* y *Erwinia*) y fimbrias MR en *N. gonorrhoeae*, *N. meningitidis*, *V. cholerae*, *B. pertussis*, *P. aeruginosa* y *P. mirabilis* (Tabla 6.3)

**Tabla 6.3.** Adhesinas en diversas especies bacterianas <sup>16</sup>.

Especie bacteriana	Adhesinas	Receptores
<i>Vibrio cholerae</i>	Fimbrias (¿flagelo?)	Glucosa y manosa
<i>Klebsiella aerogenes</i>	Fimbrias de tipo 3	?
<i>Proteus mirabilis</i>	Fimbrias de tipo 4	?
<i>Shigella flexneri</i>	¿Lipopolisacárido?	Fucosa-glucosa
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Fimbrias de tipo 5	?
<i>Bordetella pertussis</i>	Fimbrias	¿Esteroles?
<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	Fimbrias	Gangliósido GD1
	Proteínas ME	(Gal B1-3 Gal Nac-B1-4 Gal)
<i>Neisseria meningitidis</i>	¿Proteínas ME?	?
<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	Proteína P1 de membrana	Ácido siálico (glicoforina)
<i>Staphylococcus aureus</i>	LPT	?
<i>Streptococcus pyogenes</i>	LPT + proteína M	¿Seroalbúmina?
<i>Streptococcus mutans</i>	Proteínas fijadoras de glucano	¿Glucano?
<i>Streptococcus sanguis</i>	Fibrillas de LPT, proteína fijadora	¿Dextrano?
<i>Chlamydia</i>	?	N-acetilglucosamina

Algunas bacterias gram negativas no tienen fimbrias pero presentan la capacidad de adherirse a los tejidos humanos a animales. En estos casos se ha pensado que las adhesinas podrían encontrarse en otras estructuras de superficie, especialmente en las proteínas de la membrana externa en el lipopolisacárido e incluso en los flagelos. Así en *N. meningitidis* y *N. gonorrhoeae* se han descrito adhesinas que estarían asociadas con proteínas de la membrana externa. *Mycoplasma pneumoniae* también presenta adhesinas situadas en la membrana que reconocen receptores que contienen ácido siálico. Asimismo, se ha sugerido que los lipopolisacáridos de las enterobacterias, cuyas cadenas de polisacáridos se extienden a distancia de la membrana externa, podrían intervenir en la adherencia (*Shigella flexneri*) e incluso que, en *Vibrio cholerae*, las adhesinas podrían estar asociadas con los flagelos.

En las bacterias gram positivas, la adherencia se encuentra asociada a otros mecanismos, especialmente con la presencia de ácido lipoteicoico, glicocálix u otras estructuras en la superficie de la bacteria.

**Ácido lipoteicoico:** La adherencia de *Staphylococcus aureus* y *Streptococcus del grupo A* se encuentra asociada con la secreción de ácido lipoteicoico que, teniendo su origen en zonas profundas cercanas a la membrana citoplásmica, aflorarían a la superficie de la bacteria, facilitando su fijación a las células de la mucosa nasal a faríngea, ya directamente (*Staphylococcus*) o formando complejos insolubles con la

proteína M (*Streptococcus pyogenes*), que a manera de fibrillas los fijaría en los receptores de las células.

*Glicocálix:* Cierta número de bacterias gram positivas, cuando se desarrollan en medios apropiados, sintetizan polímeros extracelulares, en su mayoría polisacáridos insolubles, que por microscopía electrónica se observan como un entramado de fibrillas, que envuelve la bacteria formando una envoltura mucosa (glicocálix intrínseco) o se libera en los líquidos orgánicos (glicocálix extrínseco), y que intervienen en los fenómenos de adherencia. Se observa en las bacterias recién aisladas y generalmente se pierde en los subcultivos, lo que se considera como un mecanismo de fijación y de supervivencia en los medios naturales.

En *Streptococcus sanguis* y *S. mutans*, la adherencia a los coágulos de fibrina y a la superficie del diente sería debida a la secreción por la bacteria de polisacáridos extracelulares (glicocálix) del tipo dextrano o glucano, lo que representaría un ejemplo de adherencia probablemente menos específico entre un polisacárido bacteriano y una superficie orgánica. También se ha observado que las moléculas de estos polímeros (glucano) o de otros productos presentes en el medio pueden adherirse y formar una fina película en la superficie del diente o de otros materiales, comportándose como receptores específicos de proteínas superficiales de la bacteria (glucosiltransferasa, proteínas fijadoras de glucanos), que en este caso constituirían las adhesinas. De la misma manera, la adherencia de las bacterias a materiales inertes implantados en el organismo, como prótesis, catéteres y material de sutura, sería debida a la secreción de polímeros que actuarían por un mecanismo semejante.

#### **5.5.6.2. Adhesinas múltiples**

Aunque por lo general las bacterias presentan un solo tipo de adhesina, en ocasiones pueden presentar más de una al mismo tiempo. En los meningococos y gonococos se ha demostrado la existencia de adhesinas en las fimbrias y en las proteínas de la membrana externa, de manera que en una primera fase se produciría una adherencia laxa a distancia y a continuación intervendrían las proteínas de la ME, que determinarían una adherencia de membrana a membrana mucho más amplia y firme. También se ha observado que la mayoría de *E. coli* aislados de casos de pielonefritis manifiestan después del cultivo la presencia de dos tipos de fimbrias, fimbrias de tipo 1 (MS), que permiten la adherencia al moco urinario que recubre el epitelio y en particular a la glicoproteína de Horsfall y Tamm, y fimbrias P, que facilitan la adherencia a las células epiteliales del tracto urinario.

#### **6.5.6.3. Receptores de adherencia bacteriana**

Son compuestos que existen en la superficie de las células animales, que se combinan específicamente con las adhesinas bacterianas. Las células de la mucosa están recubiertas por glicoproteínas y glicolípidos, de estructura fibrilar, que forman parte de la membrana y constituyen el glicocálix de la célula, que a su vez está recubierto por

una capa de glicoproteínas ricas en mucina, secretadas por células especializadas del epitelio (células caliciformes) que forman el moco o gel mucoso.

Los receptores para las bacterias gram negativas se encuentran en los carbohidratos del glicocáliz de la membrana y también del gel mucoso, y se identifican sus lugares combinantes con residuos de azúcares (enterobacterias) o polímeros más complejos (*E. coli*, *N. gonorrhoeae*), con una configuración complementaria de las adhesinas. Los residuos de azúcares constituyen el sitio activo del receptor, que a su vez forma parte de moléculas de glicoproteínas o de glicolípidos (gangliósidos, globósidos). La naturaleza química de los lugares combinantes del receptor se ha podido determinar estudiando la capacidad inhibidora de diversas sustancias sobre la adherencia, y se ha observado que los monosacáridos u oligosacáridos que contienen d-manosa inhiben la adherencia de las enterobacterias que presentan fimbrias de tipo 1 (adhesinas MS), los que contienen l-fucosa inhiben la adherencia de *V. cholerae*, el disacárido (Gal al-4 gal) inhibe las fimbrias P de *E. coli*, los gangliósidos GM1 y GM2, las de *E. coli* K88 y K99, Y los gangliósidos con ácido siálico, las de Mycoplasma. Los receptores para las bacterias grampositivas (*S. pyogenes*) son poco conocidos. Pueden encontrarse entre las proteínas o glicoproteínas de la membrana de la célula o sustancias existentes en el medio de origen celular (mucina, fibronectina, seroalbúmina) o bacteriano (glucanos) que se adsorben en la superficie de las células. Cada vez se concede mayor importancia a la fibronectina, glicoproteína muy ubicua, que se encuentra en forma soluble en el plasma y líquidos orgánicos, y en forma insoluble en la superficie de las células, que, si bien en ocasiones enmascararía la adhesinas de la célula, en otras, como ocurre en la cavidad bucal, presentaría la propiedad de combinarse con diversas bacterias gram positivas (*S. aureus*, *S. pyogenes*, *S. mutans*, *S. salivarius*), en especial con el ácido lipoteicoico que constituye la adhesina de los estreptococos, lo que no ocurre con las bacterias gram negativas (*enterobacterias*, *pseudomonas*). La disminución del nivel de fibronectina en los enfermos hospitalizados podría explicar la colonización por gramnegativos que se observa en estos casos.

#### **6.5.6.4. Mecanismo de adherencia bacteriana**

La adherencia es un fenómeno de interacción de superficies, en el que intervienen factores fisicoquímicos y biológicos (teoría coloidal de Derjaguin y Landau, Verwey y Overbeek). La adherencia requiere el contacto de la bacteria con la célula, pero, como ambas superficies son electronegativas, se crea una fuerza de repulsión, que solo es neutralizada en parte por débiles fuerzas de atracción (fuerzas de Van der Waals, enlaces iónicos, enlaces de hidrógeno, interacciones hidrofóbicas), lo que da por resultado la formación de una barrera electrostática que dificulta la aproximación. La presencia en la superficie de la bacteria de moléculas hidrofóbicas y en especial de adhesinas, que por su pequeño tamaño no están sujetas a las fuerzas de repulsión, permite neutralizar esta barrera y facilitar el contacto. Por otra parte, se ha observado que las moléculas de adhesinas pueden presentar configuraciones complementarias de los receptores celulares, lo que les permite aproximarse a distancias cortas, combinarse en forma estereoespecífica y formar numerosos enlaces independientes que aumentarían la fortaleza de la unión. Su naturaleza no se conoce con certeza, pero se considera que, en la mayoría de los casos, la adherencia es un fenómeno específico, del tipo antígeno-anticuerpo o azúcar-lectina, pues se puede inhibir por la adición de moléculas libres de



cualquiera de los dos componentes (adhesinas o receptores purificados) o de sustancias análogas.

Una vez producida la adherencia, la bacteria puede a su vez adherirse a otras bacterias de la misma o diferente especie por un mecanismo semejante (adherencia entre células procariotas o fenómeno de coagregación), dando lugar a la formación de microcolonias o de acúmulos de bacterias en la superficie, lo que fortalece y estabiliza la colonización. Como la adherencia en la mayoría de los casos es un proceso específico, la distribución de los receptores en el hombre y los animales explicaría los tropismos y localización de las bacterias en la colonización y en la infección. Se podría distinguir una especificidad de especie cuando los receptores se encuentran en las células de una misma especie animal, de manera que solo se producirían infecciones en esta especie. Es el caso de *E. coli K88*, que solo produce diarreas en los lechones y de *E. coli CFA II* que produce diarreas en el hombre.

Dentro de una misma especie, su distribución en el organismo podría ser variable, de manera que, cuando los receptores se encontraran en las células de un determinado tejido, existiría una especificidad o tropismo tisular, como en *E. coli* con fimbrias P, cuyos receptores solo se encuentran en las células del tracto urogenital, en los meningococos que se fijan en las células secretoras de moco del tracto respiratorio superior, en *S. salivarius* que se fijan en la mucosa de la boca, en *S. sanguis* y *S. mutans* en el diente, etc., o una localización menos específica, cuando los receptores se localizaran en células de diversos tejidos e incluso en las glicoproteínas del moco, como ocurre con las fimbrias del tipo 1 o MS de la mayoría de enterobacterias. Además de su distribución, es importante la densidad de receptores en las células del organismo o en un tejido determinado, que podría estar relacionada con una mayor susceptibilidad a la infección. En los *E. coli* uropatogenos, los receptores se encuentran en los hematíes humanos y en las células del epitelio urinario de las personas que pertenecen al grupo sanguíneo P en cualquiera de sus fenotipos (PI, P2, PK), a excepción de los raros casos del fenotipo P que carecen de dicho receptor. Estudiando el fenotipo P se ha observado que las células del fenotipo PI contienen una mayor densidad de receptores, lo que estaría relacionado con una mayor predisposición genética a la infección urinaria. Por otra parte, la adherencia de las bacterias a los materiales inertes podría considerarse como un fenómeno menos específico o inespecífico, como ocurre en la adherencia a los dientes y a diversos materiales implantados en el organismo. Se ha estudiado la adherencia de los estreptococos a los dientes, especialmente de *S. mutans*, que, en presencia de una dieta con sacarosa, interviene en la formación de la placa dental y probablemente de las caries. Esta bacteria sintetiza enzimas extracelulares que desdoblan la sacarosa (invertasa) y a partir de la glucosa y por medio de la glucosiltransferasa forman polímeros insolubles, glucanos y fructanos, que intervienen en la adherencia y formación de la placa dental. Se ha observado que en la superficie del diente se forma rápidamente una fina película de productos de origen salival (mucina, lisozima, fibronectina, Ig) o bacteriano y que en presencia de una dieta rica en sacarosa se produciría un predominio en la fijación de glucanos, que en este caso actuarían como receptores de las proteínas de superficie de *S. mutans* (proteínas fijadoras de glucanos, glucosiltransferasa), fijando la bacteria al diente.

Asimismo, los glucanos de la bacteria pueden actuar como adhesinas fijando otras bacterias de la misma o diferente especie (*S. sanguis*, *S. mitis*, *Actinomyces viscosus*, *Veillonella*, etc.), que contribuyen a la formación de la placa dental.

Por otra parte, la adherencia de las bacterias a los materiales inertes implantados en el organismo (prótesis, catéteres, anastomosis, etc.) se considera debida a un mecanismo semejante. Las bacterias productoras de polímeros extracelulares (glicocálix, capa mucosa) formarían una fina película de moco en la superficie de estos materiales, dependiendo de su estructura y composición, que a su vez podrían comportarse como receptores específicos de compuestos superficiales de estas bacterias o, por sus propiedades de hidrofobia, producir la adherencia por mecanismo inespecíficos. La observación de que, cuando se extraen estos materiales del organismo, muchas veces se encuentran recubiertos por una masa bacteriana mucosa fuertemente adherida apoya esta teoría.

#### **6.5.6.5. Adherencia y colonización**<sup>16</sup>

La colonización de las mucosas es un proceso complejo, en el que además del fenómeno de adherencia, intervienen otros factores que condicionan la llegada y contacto de las bacterias con la superficie epitelial. La adherencia de la flora normal es debida probablemente a mecanismos diversos y, en gran parte, desconocidos. La mayoría de estudios se han efectuado por microscopía electrónica de barrido en el tubo digestivo de animales, y se ha observado que, en las zonas más activas de la mucosa, en continuo movimiento y recambio (movimientos peristálticos, de las microvellosidades), es necesaria la existencia de mecanismos que aseguren una adherencia firme con el glicocálix a la membrana de las células, incluso mediante la formación de estructuras especializadas, mientras que en las zonas poco activas pueden formarse adherencias menos firmes y ser suficiente en ocasiones la fijación en los receptores del gel mucosa.

La adherencia representa una ventaja ecológica para las bacterias de la flora normal, pues:

- Impide su eliminación por los factores mecánicos de la piel y mucosas, asegurando su supervivencia.
- Las sitúa en un nicho ecológico en condiciones fisicoquímicas y nutritivas adecuadas, cerca de la fuente de nutrientes, que por lo general tienden a concentrarse en las superficies y en la interfase sólido/líquido.
- Facilita su desarrollo y multiplicación, dando lugar a la formación de microcolonias, que potencian sus funciones biológicas, como comensales y mutualistas, y contribuyen a la colonización y establecimiento de una flora normal, equilibrada y estable.

#### **6.5.6.6. Adherencia e infección**

La infección es un proceso secuencial cuya primera etapa sería la fijación y colonización de las bacterias patógenas en las células epiteliales de la puerta de entrada. Supone la presencia de factores que facilitan la penetración a través del gel mucosa, los cuales ya se han considerado, y de adhesinas que les permitan competir con la flora normal por los receptores de la membrana de las células epiteliales.

La adherencia de las bacterias patógenas al epitelio evita su eliminación por los factores mecánicos y facilita su desarrollo y multiplicación, lo que representa no solo una protección frente a los agentes externos (otras bacterias, fagas, fagocitos, antibióticos, sustancias inhibidoras), sino que, además, les permite alcanzar el número crítica de bacterias a la concentración adecuada de productos (fermentos, antígenos, toxinas) para poder iniciar la infección (infección aguda a subaguda). Por otra parte, en la adherencia a los *materiales inertes* implantados en el organismo, el papel de estos materiales es el de ofrecer una superficie bien protegida, dependiendo de su estructura y composición, donde las bacterias puedan fijarse, multiplicarse y sintetizar grandes cantidades de polímeros extracelulares (glicocálix), dando lugar a la formación de microcolonias constituidas por diversas especies bacterianas fuertemente adheridas por el glicocalix a estos materiales. Esta capa mucosa se puede demostrar en las infecciones de los catéteres y prótesis, y si bien las bacterias se encuentran protegidas de los mecanismos naturales de defensa y de los antibióticos, también queda limitada su capacidad de difusión a la de sus productos (toxinas) a los tejidos vecinos, dando lugar a la producción de infecciones crónicas, persistentes y poco invasivas, en las que un tratamiento antibiótico de acuerdo con la susceptibilidad de la bacteria *in vitro* modifica poco la infección, que por lo general solo puede resolverse por la extracción del material infectado. El estudio de la relación entre adherencia e infectividad ha demostrado que en la mayoría de los casos existe un alto grado de correlación tanto en las infecciones invasivas como por toxinas (Tabla 6.4). En general se ha observado que cepas de *N. gonorrhoeae*, *Salmonella*, *Proteus mirabilis* y *E. coli* enterotoxígeno, con una buena capacidad de adherencia *in vitro*, presentan un alto grado de infectividad *in vivo*. Se ha demostrado en voluntarios que la administración de una variante de *E. coli* enterotoxígeno, que había perdido la capacidad de adherencia, pero conservaba la capacidad de producir enterotoxina, fue incapaz de producir diarrea, a diferencia de la cepa original, lo que señala la importancia de la liberación de toxina a nivel de la célula diana (enterocito) para la producción del cuadro.

Por otra parte, se ha sugerido que los fenómenos de adherencia también intervienen en las *infecciones bacterianas secundarias*, sobre todo en relación con la presencia de receptores accesibles en las células de la mucosa.

Se ha señalado que las alteraciones patológicas de las células epiteliales producidas como consecuencia de la infección primaria podrían aumentar la capacidad de adherencia de otras bacterias por pérdida de ciertas sustancias de la superficie de la célula (fibronectina), que impedirían la accesibilidad de los receptores a las bacterias, o mediante la formación de nuevos receptores, como se supone que ocurre en las células infectadas por virus. En este sentido se ha observado que, en el curso de las virosis respiratorias, las células epiteliales infectadas presentan una mayor capacidad de adherencia para determinadas especies bacterianas (*S. pneumoniae*, *S. aureus*, *H. influenzae*) y que, en los enfermos graves, las células de la mucosa orofaríngea tienen aumentada su adherencia para los bacilos gramnegativos; se ha comprobado que la adherencia de *Pseudomonas aeruginosa* se encuentra asociada con una disminución de la fibronectina celular, que actuaría como un factor modulador no inmune de la adherencia bacteriana. Estos hechos permitirían explicar la patogenia de las infecciones bacterianas secundarias en las virosis y la colonización de las vías respiratorias superiores por bacilos gramnegativos en los enfermos hospitalizados, etapa previa para el desarrollo de procesos neumónicos. Los datos anteriores indican que la capacidad de adherencia es uno de los factores determinantes de la acción patógena; sin embargo, no

constituye un factor indispensable para la infección, pues, si se anulan o reducen los mecanismos de defensa de la mucosa (factores mecánicos, fagocitos, flora normal) por cualquier causa, bacterias sin capacidad de adherencia pueden multiplicarse e incluso producir una acción patógena. En consecuencia, la capacidad de adherencia representa una ventaja ecológica para la colonización e infección, pero no constituye un requisito imprescindible.

**Tabla 6.4.** Colonización específica e infección <sup>16</sup>.

Bacteria	Adhesinas	Fijación en	Infección
<i>E. coli</i>	Fimbrias de tipo I	Epitelio urinario (ratón)	Cistitis
<i>E. coli</i>	Fimbrias P	Epitelio urinario (hombre, ratón)	Pielonefritis
	Fimbrias P + de tipo 1		
<i>E. coli</i> enterotoxigena	CFAI y CFaII	Epitelio del intestino delgado (hombre)	Diarrea
<i>N. gonorrhoeae</i>	Fimbrias y proteínas ME	Epitelio uretral y cervical	Uretritis, cervicitis
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Fimbrias	Endocardio	Endocarditis (adictos a heroína)
<i>Streptococcus sanguis</i>	Proteínas fijadoras	Endocardio	Endocarditis (ratón)
<i>Streptococcus mutans</i>	Proteínas fijadoras de glucano (glucosil-transferasa)	Esmalte dental	Caries
<i>Streptococcus pyogenes</i>	LPT + proteína M	Faringe	Faringitis
<i>Staphylococcus coagulasa-</i> <i>negativo</i>	?	Catéter	Sepsis

Por último, las bacterias también pueden adherirse a los fagocitos, lo que constituye el primer paso para su incorporación y destrucción. El carácter hidrofóbico de las superficies es el factor determinante del contacto, pero además por reacciones de inhibición con diversas sustancias, se ha observado que también intervienen fenómenos específicos (adhesinas), de manera que la misma adhesina podría facilitar la infección y más tarde la fagocitosis o estos dos fenómenos dependerían de mecanismos distintos.

Se ha señalado en algunas bacterias la existencia de adhesinas que presentan la propiedad de fijarse no sólo en las células epiteliales, sino además en la membrana de las células fagocitarias, lo que facilitaría la fagocitosis, como ocurre con las fimbrias de tipo 1 de *E. coli*, las fimbrias de *P. mirabilis* y el ácido lipoteicoico de *S. pyogenes*, y que la presencia de más de un tipo de adhesinas (adhesinas múltiples), si bien sería ventajosa para la colonización en que se precisa la máxima capacidad de adherencia, podría ser perjudicial para la bacteria en etapas más avanzadas si favorece la fagocitosis. Ahora bien, las bacterias pueden evitar la fagocitosis por dos mecanismos:

- a) La síntesis de cápsulas o capas mucosas que enmascaren las adhesinas y eviten su fijación en los receptores del fagocito.
- b) La represión de la expresión de las adhesinas, fundamentalmente por la aparición de variantes no fimbriadas.

Se ha observado que las bacterias pueden sufrir variaciones in vitro: variaciones genotípicas irreversibles por mutación o pérdida del plásmido que codifica las adhesinas, pero sobre todo variaciones fenotípicas reversibles, por la acción de factores externos. Así, es conocido que las cepas capsuladas, cuando se conservan en el laboratorio, pierden la capacidad de sintetizar la capsula que recuperan cuando se inoculan a un animal de experimentación. De la misma manera, las cepas con fimbrias

de tipo 1 de *P. mirabilis* y *E. coli* pueden sufrir variaciones fenotípicas en el curso de su ciclo de crecimiento, de manera que en la fase logarítmica se produce predominio de bacterias no fimbriadas y en la fase estacionaria, predominio de bacterias fimbriadas. Estas variaciones también se han demostrado in vivo. Así se ha observado que los meningococos virulentos aislados de la sangre en los casos de sepsis forman colonias transparentes, presentan disminuida su capacidad de adherencia y son más serorresistentes, lo que es debido a la presencia de una cápsula que enmascara las adhesinas de la ME y evitaría la fagocitosis, mientras que los aislados de portadores nasofaríngeos presentan una mayor capacidad de adherencia y se desarrollan formando colonias opacas. En la pielonefritis experimental de la rata por *P. mirabilis* se han aislado del epitelio de la pelvis renal cepas fimbriadas, mientras que del parénquima renal, solo cepas que no presentan fimbrias.

Estos hechos sugieren que, en la fase inicial de la infección urinaria, las cepas fimbriadas son las más importantes, pues son las que permiten la infección ascendente y la colonización de la pelvis renal, mientras que las no fimbriadas, al ser más resistentes a la fagocitosis, pueden multiplicarse e invadir el parénquima renal, siendo las más patógenas.

Estas variaciones permiten a la bacteria adaptarse a las diferentes condiciones ambientales. En la pielonefritis por *E. coli* uropatógenos se puede demostrar que la mayoría de las cepas eliminadas por la orina no tienen fimbrias y las adquieren después de 24 horas de cultivo en caldo, lo que indica que en el curso de su crecimiento en el parénquima renal se encontraba reprimida la capacidad de producir fimbrias. Estas cepas presentan en su mayoría adhesinas o fimbrias M5 y P. Las adhesinas M5 (fimbrias de tipo 1) parece que favorecen la persistencia de *E. coli* en el nicho intestinal y por su adherencia al moco facilitan la colonización de la vagina, uretra y vejiga en las fases iniciales de la infección, pero en periodos más avanzados la síntesis de adhesinas se reprime, lo que evita la fagocitosis, en tanto las fimbrias P que se fijan al uroepitelio facilitan la multiplicación, la infección ascendente y más tarde la invasión. Estos hechos son los que explican que, en el curso del proceso infeccioso, las condiciones ambientales son las que hacen que la bacteria exprese la síntesis de la capsula o de una, dos o ninguna adhesina, lo que determina el éxito o fracaso del patógeno para colonizar la mucosa o evitar la fagocitosis. Sin duda cambios epigenéticos al servicio de la adaptación.

#### **6.5.6.7. Prevención de la adherencia**

Teniendo en cuenta la importancia de la adherencia en la colonización e infección, se ha intentado llegar a la profilaxis de las enfermedades infecciosas en su fase inicial, interfiriendo en el proceso de adherencia, mediante tres tipos de medidas.

- *Inhibidores de la adherencia.* Se ha observado in vitro que la administración de análogos de bajo peso molecular de las sustancias que intervienen en la adherencia, en especial del carbohidrato receptor, puede interferir en el fenómeno por inhibición competitiva. Así se ha podido inhibir la adherencia de *E. coli* con fimbrias de tipo 1 manosasensibles, por la administración de análogos de la manosa (metil-d manopiranosido), y de *E. coli* uropatógenos con

fimbrias P con análogos de los globósidos (globotetraosil). También se ha podido inhibir la adherencia de *S. mutans* al diente y la formación de la placa dental administrando inhibidores de la glucosiltransferasa, que evitan la polimerización de la glucosa y la formación de glucanos. La dificultad de su empleo in vivo deriva de la necesidad de que alcancen en el organismo concentraciones susceptibles de competir con éxito con los factores de adherencia. Sin embargo, en el caso de *E. coli* uropatógenos, cuyo reservorio es el intestino, se ha sugerido la posibilidad de que puedan eliminarse selectivamente del tubo digestivo por la administración por vía oral de partículas de agarosa recubiertas de globósidos, que produciría la fijación de *E. coli* con fimbrias P y su eliminación por las heces antes de que tuvieran la oportunidad de infectar el tracto urinario.

- *Antimicrobianos*. Por otra parte, se conoce que algunos antimicrobianos pueden afectar la capacidad de adherencia in vitro. Ocurre con los inhibidores de la síntesis proteica (tetraciclinas, aminoglicósidos, cotrimoxazol) o los que modifican la estructura de la pared celular (lactaminas), que actuarían produciendo una disminución de la síntesis o expresión de adhesinas o induciendo su liberación. En estos casos se ha observado que basta la administración de dosis subinhibitorias del antimicrobiano para que se produzca la inhibición de la adherencia sin que se afecte la viabilidad de las bacterias. Parece que las tetraciclinas inhiben la adherencia por fimbrias de tipo 1 de *E. coli* y el cotrimoxazol, la adherencia de *E. coli* uropatógenos. En modelos experimentales se ha visto que dosis subinhibitorias de vancomicina confieren una protección significativa frente a la endocarditis por *S. sanguis*. Se han efectuado pocos ensayos clínicos, pero algunos autores han obtenido buenos resultados con dosis bajas de cotrimoxazol o ampicilina en las infecciones urinarias recurrentes. Estos estudios se encuentran en su fase inicial y deben ser confirmados, ya que existen observaciones contradictorias.
- *Vacunas*. Se ha estudiado la preparación de vacunas con suspensiones purificadas de adhesinas, en especial de fimbrias que induzcan la aparición de anticuerpos que inhiban específicamente la adherencia. En los animales de abasto, se ha visto que la inmunización de las madres con una vacuna de fimbrias purificadas de *E. coli* K88 y 987 puede proteger a los lechones y terneros de la gastroenteritis por *E. coli*. Este tipo de vacunación indirecta de las madres para proteger a los recién nacidos se aplica en veterinaria con buenos resultados.

Sin embargo, la vacunación indirecta de los adultos presenta dificultades, ya que la vacuna para ser eficaz debe inducir la aparición de anticuerpos locales (IgA) a nivel de la mucosa, que persistan durante largo tiempo, e incluir la mayoría de serotipos y las posibles variantes que se puedan presentar en las fimbrias. En este sentido se ensayan vacunas polivalentes que contengan los factores de colonización de *E. coli* (CFAI, CFAll y E8775) para la profilaxis de las gastroenteritis por *E. coli* enterotoxígenas y vacunas polivalentes de fimbrias P para la inmunización frente a las infecciones urinarias.

#### **6.5.6.8. Interferencia con la flora normal**

Los fenómenos de competición y antagonismo con los componentes de la flora normal son fundamentales para el establecimiento de los patógenos. La flora residente está plenamente adaptada a su habitat o biotopo, presenta mecanismos de fijación al epitelio, obtiene del medio ambiente las sustancias nutritivas adecuadas para su desarrollo y multiplicación, y como consecuencia de su potencial metabólico crea condiciones ambientales (pH, rH, sustancias bactericidas) desfavorables. Los microorganismos patógenos se caracterizan en que, a pesar de su reducido número, son capaces de bloquear estos mecanismos inhibidores de la flora normal, lo que puede facilitarse cuando se producen alteraciones de la flora por mecanismos diversos.

#### **6.5.6.9. Factores dependientes del huésped en adherencia**

Destaca como factor la mayor densidad de receptores glucolípidicos en las células epiteliales del tracto urinario (uroepitelio) en algunos individuos y que permiten la unión específica de los gérmenes con fimbrias tipo 2 con las células epiteliales del huésped, incrementándose la adhesión bacteriana. A mayor densidad de receptores uroepiteliales, más posibilidades de adhesión bacteriana y mayor riesgo de infección urinaria.

### **6.6. Diagnóstico de ITU**

El diagnóstico de sospecha inicialmente se basa en la clínica. Distinguimos las siguientes posibilidades:

#### **6.6.1. Pielonefritis**

Se debe sospechar en los niños que presenten fiebre, bacteriuria con urocultivo positivo y ascenso de reactantes de fase aguda.

#### **6.6.2. Cistitis**

En los niños mayores de 2-3 años, continentes, los síntomas de la ITU son más sugestivos, permitiendo establecer más fácilmente el diagnóstico de sospecha (Tabla 6.4).

Es necesaria la confirmación microbiológica para el diagnóstico de infección urinaria, así como la adaptación del tratamiento a los resultados del antibiograma. Para ello, resulta de gran importancia la recogida de muestras de orina adecuadas para su cultivo. Asimismo, un diagnóstico válido de ITU resulta esencial para evitar procedimientos diagnósticos o terapéuticos inapropiados por exceso o por defecto.

**Tabla 6.4.** Manifestaciones clínicas de la ITU en niños <sup>2</sup>.

<b>Importantes</b>	<b>Inespecíficas</b>
<u>1. Menores de 2 años</u>  Antecedentes familiares Ecografía prenatal anormal/ arteria umbilical única Fiebre elevada sin foco Afectación del estado general Chorro miccional anormal Llanto durante la micción Orina maloliente y turbia	Rechazo del alimento Vómitos Diarrea Detención de la curva ponderal Irritabilidad/ Apatía Convulsión febril
<u>2. Mayores de 2 años</u>  Fiebre elevada/ escalofríos Molestias urinarias ( disuria, polaquiuria, tenesmo) Orina maloliente y turbia/ hematuria Dolor lumbar <b>Síndrome de disfunción vesical</b> ( más en niñas $\geq$ 4 años) Poliaquiuria y urgencia miccional Escapes de orina, especialmente diurnos Posturas anormales ( especialmente en niñas): piernas entrecruzadas Patrones de vaciamiento vesical anormal: -Flujo urinario en “stacatto”(interrupciones con contracciones pélvicas) -Vejiga pequeña con volumen reducido* y residuo postmiccional -Vejiga perezosa con volumen aumentado* -Uso de musculatura abdominal para disminuir el tiempo de vaciado.	Dolor abdominal difuso Vómitos

\*Estimación volumen vesical: cantidad (ml) – edad (años) + 21x30 (Protocolos AEP)

### **6.6.3. Métodos de recogida de muestra**

En atención primaria se emplean habitualmente diferentes métodos de recogida de orina: en niños continentales, la orina de chorro miccional medio; niños no continentales, la bolsa adhesiva perineal, técnica mayoritariamente utilizada en España, o las compresas estériles de recolección de orina. Sin embargo, estas técnicas implican un alto riesgo de contaminación que resultará en urocultivos falsamente positivos o no interpretables. Este riesgo depende de la meticulosidad en la limpieza del área perigenital, de la periodicidad de la sustitución del dispositivo y de la vigilancia para retirar la orina emitida lo antes posible. En nuestro medio hemos realizado estudios comparativos (datos no publicados) de la orina recogida en bolsa (extremado la asepsia) y el sondaje vesical sin que observemos diferencias significativas en la sensibilidad y especificidad de ambos métodos.

La punción suprapúbica es considerada la técnica de recogida de orina de referencia, pero es una prueba invasiva, molesta para el niño y depende en gran manera de la habilidad del personal sanitario y del volumen vesical de orina disponible. El cateterismo vesical es también una técnica invasiva, más fácil de realizar que la



punción, que posibilita la recogida de pequeñas cantidades de orina, aunque no permite descartar completamente el riesgo de contaminación. Tanto la punción suprapúbica como la cateterización vesical son las técnicas de referencia y se recomiendan habitualmente como pruebas de confirmación o para pacientes en situación comprometida, que necesiten un tratamiento inmediato.

Existen pocos estudios <sup>2,17</sup> de evaluación de pruebas diagnósticas que hayan analizado las distintas técnicas disponibles con respecto a patrones de referencia válidos. Salvo las orinas recogidas de la mitad de un chorro miccional limpio, para las otras técnicas no disponemos de estimadores de validez (sensibilidad, especificidad, cocientes de probabilidades) generalizables, que nos orienten en la toma de decisiones. Por ello, tendremos que considerar información obtenida a partir de estudios descriptivos sobre riesgo de contaminación, factibilidad, seguridad y aceptabilidad de cada técnica en la toma de decisiones. Según el método de recogida de orina se establecerá un punto de corte para la consideración de la positividad del urocultivo, valorando la posibilidad de contaminación.

#### 6.6.4. Pruebas de ayuda diagnóstica

En espera de los resultados del urocultivo, la orina recolectada en buenas condiciones puede analizarse mediante tiras reactivas (reacciones químicas con cambio de color) y examen microscópico. Una prueba de nitritos positiva indica que hay bacteriuria con elevada especificidad (98%) y moderada sensibilidad (50%).

La prueba de la esterasa leucocitaria es bastante específica (80%) y sensible (85%) para la detección de leucocituria.

**Tabla 6.5.** Interpretación de los resultados del urocultivo según el método de recogida de orina utilizado<sup>2</sup>.

Método recogida orina	Recuento colonias	Probabilidad de infección
Punción suprapúbica	>100 ufc/ml	Muy probable (>99%)
Cateterismo vesical	>50.000 ufc/ml	Muy probable (>95%)
	>10.000 ufc/ml	Probable
	10.000-1000 ufc/ml	Posible
	<1000 ufc/ml	Imposible
Micción voluntaria	>10.000 ufc/ml	Probable
	<10.000 ufc/ml	Improbable
Niño	>100.000 ufc/ml	Probable
	100.000-10.000 ufc/ml	Posible
Niña	<10.000 ufc/ml	Improbable

El estudio microscópico de la orina también es útil para buscar leucocitos y bacterias. El análisis combinado mediante tira reactiva y estudio microscópico permite alcanzar una sensibilidad del 99-100% (leucocituria o nitrituria o bacteriuria) con una especificidad del 70-80% (Tabla 6.5) <sup>2</sup>.

El examen en fresco es menos utilizado, porque consume más tiempo y requiere la disponibilidad de instrumental y adiestramiento adecuados; consiste en la identificación de leucocitos o bacterias en la orina.

**Tabla 6.6.** Sensibilidad y especificidad de las diferentes pruebas diagnósticas <sup>2</sup>.

PRUEBA	SENSIBILIDAD (%) (IC 95%)	ESPECIFICIDAD (%) (IC 95%)
Esterasa leucocitaria	83 (67-94)	78 (64-92)
Nitritos	53 (15-82)	98 (90-100)
Esterasa leucocitaria o nitritos	93 (90-100)	72 (58-91)
Sedimento: leucocitos	73 (32-100)	81(45-98)
Microscopio: bacterias	81 (16-99)	83 (11-100)
Esterasa leucocitaria o nitritos o leucocitos o bacterias	99,8 (99-100)	70 (60-92)

Según la guía NICE <sup>22</sup> en los niños mayores de 3 años la utilidad de las tiras reactivas en el diagnóstico es elevada de modo que:

- Test de esterasa leucocitaria + y nitritos + Iniciar tratamiento antibiótico. Si el niño presenta algún factor de riesgo para enfermedad grave o si tiene historia de ITU a repetición, enviar también muestra para urocultivo.
- Test de esterasa leucocitaria – y nitritos + Iniciar tratamiento ATB. Enviar muestra para urocultivo. Definir continuidad de tratamiento según resultados.
- Test de esterasa leucocitaria + y nitritos - No iniciar tratamiento ATB excepto que hayas síntomas claros de ITU. Enviar muestra para urocultivo.
- Test de esterasa leucocitaria – y nitritos - No iniciar tratamiento ATB. No enviar muestra para urocultivo

#### 6.6.5. Pruebas de imagen

En ausencia de evidencia en la que sustentar estrategias concretas de diagnóstico aplicables a nuestro entorno, se ha valorado la categorización propuesta por el National

Collaborating Centre for Women's and Children's Health, comisionado por el National Institute for Health and Clinical Excellence (NICE) en 2006 <sup>2;11;18</sup>, pero incorporando indicaciones opcionales o selectivas, según el criterio del panel de expertos. Las recomendaciones se recogen en la tabla. Esta propuesta diferencia las recomendaciones en función de la edad del paciente, la capacidad del niño para controlar la micción, la existencia de ITU recurrentes o la existencia de ITU graves o atípicas. Se considera ITU atípica la que cursa con persistencia de fiebre a las 48 h de tratamiento adecuado, con flujo urinario escaso (elevación de creatinina o baja capacidad de concentración urinaria) o que es debida a un microorganismo diferente de *E. coli*. Se considera ITU recurrente cuando hay dos o más episodios de ITU con síntomas o signos, o tres o más ITU sin síntomas o signos. El nivel de evidencia está basado en meta-análisis de estudios de pruebas diagnósticas con algunas limitaciones (nivel II) y en la opinión de expertos (nivel IV). No existe evidencia suficiente en la que sustentar la estimación del impacto clínico de los diagnósticos que ofrecen estas pruebas diagnósticas. Grado de recomendación propuesto: C.

**Tabla 6.7.** Propuesta para la realización de pruebas de imagen en niños con infección del tracto urinario <sup>18</sup>.

Prueba	Buena respuesta	ITU grave o atípica	ITU recurrente
<b>ITU en niños de 0-6 meses de edad.</b>			
Ecografía precoz*	No	SÍ	Sí
Ecografía diferida**	Sí	No	No
DMSA en fase aguda	No	No	No
DMSA diferida	Opcional	Sí	Sí
CUMS***	Selectiva****	Sí	Sí
<b>ITU en niños de 6 meses hasta controlar micción</b>			
Ecografía precoz*	No	SÍ	No
Ecografía diferida**	Opcional	No	Sí
DMSA en fase aguda	No	No	No
DMSA diferida	Opcional	Sí	Sí
CUMS***	Selectiva*****	Selectiva*****	Selectiva*****
<b>ITU en niños con capacidad para controlar la micción y mayores</b>			
Ecografía precoz*	No	Sí	No
Ecografía diferida**	No	No	Sí
DMSA en fase aguda	No	No	No
DMSA diferida	No	Opcional	Sí
CUMS***	Selectiva*****	Selectiva*****	Selectiva*****

\*Realizar la ecografía dentro de las 6 semanas siguientes a la ITU. \*\*El panel de expertos asumió la escasa viabilidad y rendimiento de la DMSA en fase aguda. No obstante, para alguno de los miembros, si se dispone de DMSA en fase aguda, su resultado permitiría orientar el seguimiento y la realización o no de otras pruebas. \*\*\*Cuando se haga CUMS, administrar profilaxis antibiótica 3 días y realizar la prueba el segundo día. \*\*\*\*Sólo cuando la ecografía o la DMSA muestre alteraciones. \*\*\*\*\*Se valorará realizar CUMS si el flujo urinario es escaso, si hay antecedentes familiares de reflujo vesicoureteral, sospecha de disfunción vesical y/o esfinteriana, infección por un microorganismo diferente de *Escherichia coli*, dilatación de vías urinarias en la ecografía o cicatrices en el DMSA. \*\*\*\*\*La ecografía en los niños que controlan la micción debe realizarse con la vejiga llena, midiendo el volumen vesical antes y después de una micción. Es frecuente la existencia de disfunción vesical y/o esfinteriana asociada a ITU, por lo que si se sospecha, debería realizarse un estudio videourodinámico, si es posible, o al menos una CUMS (incluyendo placas posmiccionales). CUMS: cistouretrografía miccional seriada; ITU: infección del tracto urinario.

Tabla 6.8. Pruebas diagnósticas en la ITU <sup>19</sup>.

Edad	Prueba diagnóstica	Guía	Buena respuesta clínica	ITU grave o atípica	ITU recurrente
< 6 meses	Ecografía precoz	Ochoa	No	Sí	Sí
		NICE	No	Sí <sup>5</sup>	Sí
	Ecografía Diferida <sup>1</sup>	Ochoa	Sí	No	No
		NICE	Sí	No	No
6 meses-control miccional (Guía NICE-NHS 6 meses < 3 años)	DMSA diferida <sup>2</sup>	Ochoa	Opcional	Sí	Sí
		NICE	No	Sí	Sí
	CUMS <sup>3</sup>	Ochoa	Selectiva <sup>4</sup>	Sí	Sí
		NICE	No	Sí	Sí
Ecografía precoz	Ochoa	No	Sí	No	
	NICE	No	Sí <sup>5</sup>	No	
	Ecografía Diferida <sup>1</sup>	Ochoa	Opcional	No	Sí
		NICE	No	No	Sí
Con control miccional y niños mayores (Guía NICE-NHS ≥3 años)	DMSA diferida <sup>2</sup>	Ochoa	Opcional	Sí	Sí
		NICE	No	Sí	Sí
	CUMS <sup>3</sup>	Ochoa	Selectiva <sup>6</sup>	Selectiva <sup>6</sup>	Selectiva <sup>6</sup>
		NICE	No	No <sup>7</sup>	No <sup>7</sup>
Ecografía precoz <sup>8</sup>	Ochoa	No	Sí	No	
	NICE	No	Sí <sup>5</sup>	No	
	Ecografía Diferida <sup>1,8</sup>	Ochoa	No	No	Sí
		NICE	No	No	Sí
DMSA diferida <sup>2</sup>	Ochoa	No	Opcional	Sí	
	NICE	No	No	Sí	
	CUMS <sup>3</sup>	Ochoa	Selectiva <sup>6,9</sup>	No,selectiva <sup>6,9</sup>	No,selectiva <sup>6,9</sup>
		NICE	No	No	No

a. Se considera ITU atípica a la que cursa con persistencia de fiebre a las 48-72 horas de tratamiento adecuado, flujo urinario escaso (elevación de creatinina o baja capacidad de concentración urinaria), microorganismo diferente de *E. coli*, dolor cólico, presencia de masa, enfermedad grave o septicemia.

b Se considera ITU recurrente cuando hay 2 o más episodios de ITU con síntomas o signos de PNA, o 3 o más ITU de vías bajas; también un episodio de PNA y otro de infección de vías bajas.

1 Realizar ecografía dentro de las 6 semanas posteriores a la ITU (ambas guías).

2 4-6 meses después de la ITU (solo especifica tiempo la NICE).

3 Administrar profilaxis antibiótica 3 días y realizar la prueba en el 2º día.

4 Solo cuando la ecografía o el DSMA muestren alteraciones.

5 Si ITU por germen distinto a *E. Coli* que presente buena respuesta al tratamiento y sin otros factores de infección atípica, la ecografía puede realizarse después del plazo de 6 semanas.

6 Se valorará realizar CUMS si el flujo urinario es escaso, si hay antecedentes familiares de reflujo vesicoureteral, sospecha de disfunción vesical y/o esfinteriana, infección por microorganismo diferente a *E. Coli*, dilatación de vías urinarias en la ecografía o cicatrices en DSMA.

7 Considerar si flujo urinario es escaso, si hay antecedentes familiares de reflujo vesicoureteral, infección por microorganismo diferente a *E. Coli* o dilatación de vías urinarias en la ecografía.

8 En niños que controlan micción la ecografía se realiza con vejiga llena, midiendo volumen vesical antes y después de una micción.

9 Es frecuente la existencia de disfunción vesical y/o esfinteriana asociada a ITU, por lo que si se sospecha, debería realizarse un estudio videourodinámico, si es posible, o al menos una CUMS (incluyendo placas posmiccionales).

Las técnicas de imagen que habitualmente utilizamos son: ecografía, cistouretrografía miccional seriada (CUMS) y gammagrafía con ácido dimercaptosuccínico marcado con tecnecio 99 (DMSA). La DMSA es el procedimiento de mayor rendimiento para el diagnóstico de pielonefritis, pero su empleo rutinario no está justificado ni parece viable. En la revisión realizada por Whiting los distintos estudios analizados reflejan gran variabilidad en la utilidad de la ecografía con un limitado rendimiento diagnóstico pero suficientemente fiable, y ofrecen peores resultados para la CUMS. Por la facilidad de empleo, accesibilidad y ausencia de efectos secundarios si necesitamos realizar alguna prueba de imagen para ayudarnos a localizar una ITU realizaremos inicialmente una ecografía.

- Evaluar la estructura del tracto urinario: La ecografía es la prueba recomendada, aunque no existen estudios de calidad que evalúen la evidencia del valor diagnóstico ni la efectividad clínica de las diferentes pruebas de imagen a este respecto.
- Diagnóstico de reflujo vesicoureteral (RVU): La prueba de referencia para el diagnóstico del RVU es la CUMS. Esta presenta como principales limitaciones la alta exposición radiológica y los riesgos por la cateterización de la vía urinaria, como infección (recomendado siempre hacer profilaxis) y trauma uretral.

Diferentes estudios demuestran que la ecografía tiene escasa validez para el diagnóstico del RVU. La ecocistografía con contraste ha demostrado mejor rendimiento que la ecografía convencional, siendo una prueba sensible para el diagnóstico de RVU. Existe escasa evidencia de las implicaciones patológicas del RVU, especialmente de los grados I, II y III.

- Valoración del parénquima renal, búsqueda de cicatrices: El gold standard lo constituye la DMSA. La ecografía muestra limitaciones importantes. No existen estudios que evidencien el beneficio del diagnóstico de lesiones en el parénquima renal en lo que a efectividad clínica y coste-efectividad se refiere. Además las pruebas de imagen no permiten diferenciar si las lesiones en el parénquima renal son congénitas o adquiridas.

Tras el diagnóstico de una infección de orina las guías clásicas <sup>1;2;20;21</sup> en el manejo de la ITU nos recomendaban realizar numerosas pruebas de imagen (ecografía, CUMS, DSMA), pero dos de los pilares básicos de estas recomendaciones: la importancia del RVU y la eficacia de la profilaxis antibiótica están siendo actualmente revisados y cuestionados desde el punto de vista de la evidencias científicas. La magnífica guía publicada por la NICE <sup>22</sup>, en la que se revisa toda la bibliografía relevante al respecto, ha sido pionera a la hora de analizar y tener en cuenta estas nuevas evidencias en sus recomendaciones.

En España el grupo de trabajo dirigido por Ochoa ha realizado una revisión de la ITU <sup>11;15;18;23</sup> en la que incluyen una excelente revisión de las pruebas de imagen. Las recomendaciones que realizan sobre el uso de pruebas de imagen están basadas en metaanálisis de estudios de pruebas diagnósticas (nivel de evidencia II) y la opinión de un grupo de expertos (nivel de evidencia III) asignándole un grado de recomendación C.

## **6.7. Tratamiento del ITU**

Más adelante se presentan las recomendaciones de distintas guías de práctica clínica y protocolos extraído del Documento de la Conferencia de Consenso "Manejo Diagnóstico y Terapéutico de las Infecciones del Tracto Urinario en la Infancia"<sup>2,18</sup>. Puede comprobarse la existencia de una importante heterogeneidad, que en algunos aspectos podría estar justificada (preferencias de antibioterapia en función de distintos patrones de resistencia), pero que, en general, refleja la variabilidad existente en el tratamiento de la ITU pediátrica. Merece la pena destacar que, en su mayoría, ofrecen una visión conservadora: no recomiendan pautas de tratamiento cortas o con dosis únicas, asumen el tratamiento parenteral de las pielonefritis o ITU de alto riesgo y establecen pocas jerarquías en la elección de antibióticos.

### **6.7.1. Retraso terapéutico**

El retraso en la instauración del tratamiento en el curso de una infección urinaria se acompaña de lesiones renales más frecuentemente que en aquellos casos en los que el tratamiento se instauró precozmente. La cicatriz renal se puede prevenir si la infección se trata en las primeras 5-12 horas de la llegada de los gérmenes al parénquima renal, antes de que se forme el absceso purulento, y se puede reducir en un 50% el tamaño de la cicatriz si el tratamiento se inicia entre las 12 y 24 horas del inicio de la infección<sup>21</sup>.

### **6.7.2. Recomendaciones de tratamiento antibiótico de las distintas guías de práctica clínica**

#### **6.7.2.1. Royal College of Physicians of London (1991)**

Después de recoger una muestra de orina adecuada, debe iniciarse inmediatamente tratamiento, especialmente en menores de 2 años, con el mejor antibiótico en dosis completa. Puede ser cambiado a las 48 h en función de la respuesta y antibiograma. Los antibióticos disponibles por vía oral son cotrimoxazol, trimetoprima, nitrofurantoínas y cefalosporinas orales. Se desaconseja el uso de amoxicilina por el alto nivel de resistencia de los uropatógenos. Se recomiendan 5-7 días de antibioterapia, aunque no se conoce la duración óptima de tratamiento. Debe realizarse un nuevo análisis de orina.

En esta guía la evidencia no está jerarquizada. No se especifican los estudios valorados en cada recomendación.

### **6.7.2.2. *Guía Colombiana (1999)***

El tratamiento empírico debe cubrir gérmenes gramnegativos de tipo entérico, sin olvidar enterococos y estafilococos. Se aconseja ingreso y tratamiento intravenoso cuando exista afectación general, sepsis urinaria, el niño sea menor de 3 meses, y haya deshidratación o intolerancia oral. Si mejora a las 72 h, se puede sustituir por un antibiótico oral. Los antibióticos parenterales de elección son las cefalosporinas, solas o asociadas a los aminoglucósidos (casos graves, con evolución inadecuada o sospecha de absceso renal). Como antibióticos orales se recomiendan el cotrimoxazol y las cefalosporinas orales (nivel II-V). En los casos leves, se recomiendan 7 días de tratamiento. En los casos más graves se completará por vía oral hasta 14 días.

En esta guía se citan seis niveles de evidencia estándar (I Ensayo Clínico Aleatorizado (ECA) o Metaanálisis (MA) de calidad; II: ECA o MA con errores; III: experimento no aleatorizado; IV: cohortes o casos y controles; V: cohortes históricas o series; VI: opinión de expertos). Se usan también otros términos (sistemática poco documentada). Se citan las fuentes de algunas recomendaciones y las recomendaciones restringidas a menores de 2 años.

### **6.7.2.3. *American Academy of Pediatrics (1999)***

Si se sospecha una ITU en pacientes con aspecto tóxico, deshidratados o que no toleran líquidos, debe iniciarse tratamiento antibiótico parenteral y considerar ingreso (nivel IV). No establecen preferencias de antibióticos. En pacientes con función renal comprometida, el uso de aminoglucósidos requiere controles de función renal y niveles. Si mejoran en 24-48 h, se pasa a antibioterapia oral. En pacientes sin afectación general, si un urocultivo confirma una ITU, se inicia antibioterapia parenteral u oral (nivel II).

Se recomienda recurrir a cotrimoxazol o cefalosporinas antes que a amoxicilina (menor eficacia y más resistencia); se desaconseja el ácido nalidíxico y la nitrofurantoína (por insuficiente concentración en sangre). Si no hay una respuesta en 48 h o el microorganismo aislado muestra resistencia al tratamiento elegido, hay que reevaluar el tratamiento y repetir urocultivo (nivel II). Deben completarse 7-14 días de antibioterapia oral, incluso en los casos en que el tratamiento fue inicialmente parenteral (nivel I).

En esta guía se citan las fuentes de algunas recomendaciones, aunque faltan muchos trabajos incluidos en este documento.

Se jerarquiza el nivel de la evidencia en 4 niveles (I: fuerte; II: buena; III: débil, y IV: consenso).

Se excluye de las recomendaciones a los menores de 2 meses y mayores de 2 años.

#### **5.7.2.4. *Pediatric Nephrology Group, Indian Academy of Pediatrics (2001)***

Pacientes con ITU complicada o menores de 3 meses deben ser tratados por vía parenteral. Se prefiere la combinación ampicilina-gentamicina o una cefalosporina de tercera generación (cefotaxima o ceftriaxona). Puede darse gentamicina en una dosis diaria en mayores de 3-6 meses. Si el niño mejora puede darse antibioterapia oral, salvo en menores de 3 meses y casos con hemocultivo positivo. Puede darse antibioterapia oral en los mayores de 3 meses con una ITU simple. Se prefiere amoxicilina, cotrimoxazol o una cefalosporina oral. Las quinolonas no deben ser tratamiento de primera línea; su uso ha de guiarse por los estudios de sensibilidad. No se recomiendan el ácido nalidíxico ni la nitrofurantoína, por su baja concentración tisular y sanguínea. Repetir urocultivo y hacer ecografía si no mejoran a las 48 h.

La duración habitual es de 10-14 días en ITU complicada y de 7-10 días en ITU simple. No se recomiendan tratamientos más cortos.

Esta guía carece de jerarquización de la evidencia. No se especifican los estudios valorados en cada recomendación. ITU complicada: fiebre > 38,5 °C, aspecto tóxico, vómitos persistentes, deshidratación y dolor a la percusión renal. ITU simple: fiebre moderada, disuria, frecuencia y urgencia miccional, sin criterios de complicada.

#### **6.7.2.5. *Protocolos de la Asociación Española de Pediatría (2002)***

Los pacientes con pielonefritis o ITU febril ingresados requerirán antibioterapia parenteral. Los antibióticos más recomendados son cefotaxima, ceftriaxona, tobramicina, gentamicina y ampicilina (ésta asociada a las anteriores si hay sospecha de sepsis). Se iniciará por vía intravenosa, y se puede completar por vía oral o intramuscular si la situación clínica lo permite. En los casos en que no se requiera hospitalización o con estado general bueno puede usarse la vía oral (cefixima, ceftibuteno, cefaclor, fosfomicina o amoxicilina-ácido clavulánico). La duración del tratamiento será de 10-14 días. En las ITU bajas se emplearán antisépticos urinarios por vía oral durante 5-7 días (cotrimoxazol, trimetoprima, nitrofurantoína o amoxicilina-ácido clavulánico). Si persisten los síntomas a las 48-72 h, repetir el urocultivo.

En esta guía no hay jerarquización de la evidencia. No se especifican los estudios valorados en cada recomendación.

#### **6.7.2.6. *Guía de la Sociedad Española de Urgencias Pediátricas (2004)***

Amoxicilina-ácido clavulánico (grado A). Cefixima y ciprofloxacino (12 años) son alternativas válidas.

En lactantes de hasta 3 meses o niños con uropatía conocida, asociar gentamicina. En niños a partir de 12 años con uropatía conocida e ITU recurrente, ciprofloxacino. Si la infección es grave, cefotaxima (asociar ampicilina si se sospecha



enterococo; tratamiento antipseudomona si se sospecha *Pseudomonas*). Si hay alergia a betalactámicos: gentamicina o fosfomicina o cotrimoxazol o ciprofloxacino ( $\geq 12$  años).

La duración del tratamiento en pielonefritis o lactantes es de 10 días (grado A). En ITU bajas puede ser de 3-5 días. Ajustar el tratamiento según antibiograma.

Si tras 48 h de tratamiento la evolución no es satisfactoria, valorar la sensibilidad y el antibiograma, repetir el urocultivo, realizar ecografía renal para descartar absceso parenquimatoso (grado B).

En esta guía se establecen niveles de evidencia de las recomendaciones, aunque no precisan la sistemática de jerarquización: grado A (niveles Ia, Ib: metaanálisis y ensayos clínicos); grado B (niveles IIa, IIb, y III: estudios controlados no aleatorizados, cohortes, caso-control); grado C (nivel IV: descriptivos, opinión de expertos).

#### **6.7.2.7. Guía Prodigy (NHS) (2006)**

Ingresar niños con afectación general, que se deterioran a pesar de un tratamiento adecuado y que no mejoran al tercer día, así como neonatos y menores de 3 meses. Iniciar la antibioterapia si hay afectación. Esperar el resultado del cultivo si existen síntomas inespecíficos y sistemáticos de orina normal. Se recomiendan como tratamiento de primera línea cotrimoxazol, nitrofurantoína y cefalexina. Si ha tomado cotrimoxazol en los 3 meses previos, usar otras alternativas. Ajustar el tratamiento en función del antibiograma, considerar si es resistente a los antibióticos de primera línea: amoxicilina-ácido clavulánico, otras cefalosporinas o pivmecillinam. Se recomiendan 7 días de antibioterapia en los tratados en casa.

En esta guía se citan las fuentes de algunas recomendaciones, pero no se jerarquiza la evidencia que las sustenta.

#### **5.7.2.8. Recomendaciones actuales de la AEP (2011)**

En nuestro medio, *E. coli* presenta un alto porcentaje de resistencia a ampicilina, cotrimoxazol y cefalosporinas de 1ª generación, mientras que mantiene una alta sensibilidad a las cefalosporinas de segunda y tercera generación, fosfomicina, aminoglucósidos y amoxicilina/clavulánico.

Las últimas indicaciones de la AEP establecen las siguientes indicaciones según la edad del niño:

##### **a) Lactante < 3 meses**

- De elección. Ampicilina (100 mg/kg/d, cada 6h) + Gentamicina (4-6 mg/kg/d, cada 24h) IV.
- Alternativa. Ampicilina + Cefotaxima (150 mg/kg/d).

Pasar a vía oral en cuanto se compruebe una buena respuesta clínica y la ausencia de obstrucción al flujo urinario, y se conozca el patrón de sensibilidad antibiótica del microorganismo causal (habitualmente al cabo de 3-5 días). Duración total: 10-14 días.

**b) > 3 meses con afectación moderada/grave**

- De elección. Gentamicina IV (o im): 5-6 mg/kg/d, cada 24h.
- Alternativas. Cefotaxima IV: 150 mg/kg/d, cada 6-8h. Ceftriaxona IV o IM: 50-75 mg/kg/d, cada 12- 24h. Cefuroxima IV: 150 mg/kg/d, cada 8h.

Pasar a vía oral cuando se compruebe una buena respuesta clínica, con las pautas de antibióticos del apartado o según antibiograma cuando se conoce el patrón de sensibilidad del microorganismo causal (habitualmente al cabo de 1-3 días). Duración total: 10-14 días

**c) > 3 meses con afectación leve (o moderada en >12 meses).**

- De elección. Cefixima: 8-10 mg/kg/d, cada 12h.
- Alternativas. Cefuroxima axetilo: 30 mg/kg/d, cada 8-12h

Cuando se dispone de los resultados de las pruebas de susceptibilidad antibiótica, se puede continuar con la misma pauta o cambiarla por otros antibióticos de espectro más reducido como cotrimoxazol o cefadroxilo. Duración total de 7-10 días.

**6.7.2.9. Tratamiento empírico según las recomendaciones de la conferencia consenso del panel de expertos (2006)**

Grado de recomendación propuesto: Grado A para los tratamientos de primera elección, grado B para el resto.

**A. Tratamiento intravenoso empírico:**

- Se consideran tratamientos de primera elección gentamicina o tobramicina, en dosis única diaria, asociada en los menores de 1 mes a ampicilina (salvo que la tinción de Gram no observe cocos grampositivos). A las 48-72 h se reconsiderará el tratamiento en función de la evolución, y especialmente de los resultados del urocultivo y antibiograma. Puede optarse por un cambio de grupo de antibiótico si lo aconseja el antibiograma. En los niños con nefropatía instaurada los aminoglucósidos serán sustituidos por cefotaxima o ceftriaxona.
- Se consideran tratamientos alternativos cefotaxima o ceftriaxona, asociados a ampicilina en menores de 1 mes. Se consideran también alternativas válidas amoxicilina-ácido clavulánico o cefuroxima intravenosas, salvo en aquellas áreas con resistencia de *Escherichia coli* a estos antimicrobianos por encima del 10-20 %. Para algún miembro del panel, la jerarquización aminoglucósidos (primera elección).
- Cefalosporinas (alternativas) podría ser cuestionada si se considera la mayor toxicidad de los aminoglucósidos.
- Otros antibióticos deberán ser reservados a circunstancias especiales en las que haya información microbiológica que haga aconsejable una elección antibiótica específica (amikacina, fluoroquinolonas, ceftazidima, carbapenémicos).

- B. Tratamiento oral empírico: En aquellas ITU en que no pueda descartarse una infección de vías altas (pielonefritis) se considera tratamiento de primera elección una cefalosporina de tercera generación oral. Se consideran tratamientos alternativos en estas ITU: amoxicilina-ácido clavulánico y las cefalosporinas de segunda generación oral.
- En los niños mayores (> 2 años) con clínica de cistitis serían tratamientos de primera elección amoxicilina-ácido clavulánico, nitrofurantoína (niños mayores que tomen tabletas), fosfomicina y fosfomicina-trometamol.
  - Se considerarán tratamientos alternativos en cistitis las cefalosporinas orales de primera, segunda y tercera generaciones.
  - El uso de fluoroquinolonas queda reservado a su empleo en circunstancias seleccionadas y guiado por antibiograma.

El nivel de evidencia está basado en ensayos clínicos con alguna limitación (nivel I), en información epidemiológica sobre la etiología de las ITU y la sensibilidad de los uropatógenos en la infancia (nivel II), además de en la opinión de expertos (nivel IV).

### 6.7.3. Criterios de ingreso

- I. Según AEP: Niños con ITU/PNA potencialmente grave:
  - Lactantes menores de 3-6 meses de edad
  - Afectación general importante (cualquier edad)
  - Antecedentes de pielonefritis aguda reciente, antecedentes de nefropatía o anomalías estructurales de la vía urinaria.
  - Inmunodeficiencia.
  - Mala respuesta al tratamiento oral
  - Intolerancia al tratamiento oral o falta de cumplimiento del mismo (entorno familiar que no garantiza el control y vigilancia adecuados). Intolerancia a la alimentación oral.
- II. Según la Conferencia de Consenso del Panel de Expertos. La sospecha de pielonefritis no debe considerarse un criterio absoluto de ingreso hospitalario. Se consideran criterios generales que indican el ingreso hospitalario en pacientes con ITU (la presencia de alguno de los siguientes):
  - Edad inferior a 3 meses.
  - Afectación del estado general (signos de deshidratación, decaimiento o disminución de la respuesta a estímulos, palidez, piel moteada, etc.).
  - Intolerancia de la medicación o alimentación oral.
  - Sospecha de mal control del tratamiento en el entorno familiar
  - Antecedentes de inmunodeficiencia, uropatía o nefropatía grave (reflujo de alto grado, o alteración de la función renal).

El nivel de evidencia está basado en un metaanálisis de ensayos clínicos con alguna limitación (nivel I), estudios observacionales de series de ITU que permiten estimar bajo riesgo de sepsis urinaria (nivel III) y en la opinión de expertos (nivel IV). Grado de recomendación propuesto: B.

## 5.8. Criterios de interconsulta con nefrología/urología Infantil

Tras el tratamiento efectivo y el resultado de los estudios de imagen del episodio inicial se decide la interconsulta con Nefrología / Urología Infantil, que debe considerarse en el caso de:

- Pacientes con anomalías nefrourológicas no detectadas en la ecografía prenatal y diagnosticadas tras el primer episodio de ITU (ecografía inicial).
- Pacientes con PNA recurrente.
- Pacientes con RVU.
- Pacientes con cicatriz renal en el DMSA tardío.
- Pacientes con síndrome de disfunción vesical que no responden a las medidas generales (estreñimiento, rehabilitación vesical) o asociado con anomalías de la región dorsolumbar o con RVU.

## 5.9. Profilaxis

*E. coli* continua siendo la causa más frecuente de infecciones urinarias, si bien en los últimos años se ha observado un aumento de sus resistencias a antibióticos betalactámicos. La infección urinaria por *E. coli* requiere una primera fase de adhesión de la bacteria al uroepitelio que se realiza mediante fimbrias.

De entre los diversos tipos de fimbrias se han descrito fimbrias manosa sensibles que pueden ser bloqueadas de forma competitiva por la fructosa y fimbrias manosa resistentes que se relacionan con plásmidos de resistencia a antibióticos y pueden ser inhibidas por proantocianidinas (PAC) que se encuentran en altas concentraciones en el fruto del arándano americano (*Vaccinum macrocarpon*).

La otra alternativa utilizada hasta el momento para prevenir la recurrencia de las infecciones urinarias consiste en administrar dosis subletales diarias de antibióticos, que si bien no suponen la destrucción de la bacteria, si alteran su adherencia al uroepitelio, aunque conllevan riesgo de desarrollo de resistencia al antibiótico empleado.

Por desgracia con esta estrategia se incrementan las resistencias bacterianas y se modifica la flora bacteriana que coloniza el tracto urinario desplazándose desde *E. coli* hacia otras enterobacterias, habitualmente resistentes a los antibióticos de uso habitual  
4;24-28

Dada la incidencia de infección urinaria recurrente en pediatría y su repercusión en la población infantil, se ha hecho necesaria la utilización de quimioprofilaxis a niños con ITU pertenecientes a alguna de las siguientes categorías:

- En caso de PNA, hasta finalizar los estudios de imagen;
- Lactantes con ITU febril y lesión renal aguda, durante el primer año;
- Pacientes con RVU, mientras persiste;
- Bacteriuria asintomática recurrente ( $\geq 3$  episodios en el último año), durante 6-12 meses,

- En niños con anomalías urológicas y riesgo de PNA, hasta la cirugía.

Los fármacos empleados han sido preferentemente cotrimoxazol, trimetoprima o nitrofurantoína y, con menor frecuencia y sin una clara justificación microbiológica otros antibióticos de amplio espectro (amoxicilina-clavulánico, cefalosporinas de 1ª generación o cefixima). Aunque la nitrofurantoína se ha mostrado más efectiva, los efectos secundarios (intolerancia gástrica, anemia hemolítica en menores de 3 meses) dificultan su utilización.

En los últimos años el empleo de profilaxis antibiótica con el objetivo de disminuir el riesgo de recurrencia ha sido cuestionado, incluso en el caso de RVU, por la ausencia de datos sobre su eficacia real y por el riesgo de incrementar las resistencias bacterianas. Tampoco se han definido la dosis baja óptima del antibiótico, la frecuencia de su administración ni el período de tiempo que debe administrarse. En consecuencia, con los datos actuales no parece justificada la profilaxis prolongada de la ITU no complicada, incluso en caso de RVU de bajo grado o de lesión renal aguda sin RVU. Puede mantenerse la recomendación de profilaxis en niños menores de 2 años con ITU febril hasta finalizar los estudios de imagen (CUMS/CID), cuando están indicados, así como en niños con RVU de grado IV-V<sup>1;18;29</sup>.

Un metaanálisis publicado por Williams GJ, Lee A y Craig JC en la Biblioteca Cochrane Plus en 2006<sup>30</sup> concluye que no hay pruebas fiables que demuestren la efectividad de los antibióticos para prevenir la ITU recurrente. No existen pruebas claras acerca de la dosis baja óptima del antibiótico que debe utilizarse, ni del periodo de tiempo que debe continuar la profilaxis. La nitrofurantoína puede ser más efectiva que otros tipos de antibióticos para prevenir la ITU recurrente, pero los efectos secundarios superan sus beneficios. Los estudios publicados hasta la fecha están mal diseñados y cuentan con sesgos que sobreestiman el verdadero efecto del tratamiento.

**Tabla 6.9.** Profilaxis con antimicrobianos en la ITU del niño.

Antibiótico	Dosis diaria (mg/kg)	Vía	Observaciones
TMP-SMX No < 8 semanas edad.	2 de TMP	v.o	1 dosis nocturna.
Trimetoprima	2	v.o	Una dosis nocturna. No < 8 semanas edad.
Nitrofurantoína	1-2	v.o	Una dosis nocturna. No < 12 semanas edad.
Cefadroxilo	10	v.o	Una dosis nocturna.

Queda por definir en futuros estudios el papel real de la profilaxis en la ITU recurrente infantil. Aunque en el momento actual la evidencia existente no recomienda la profilaxis con antibióticos de forma sistemática en niños con tracto urinario normal tras un primer episodio de infección urinaria o en niños con reflujo vesicoureteral de bajo grado. En cualquier caso la indicación de profilaxis en pacientes con infecciones recurrentes o con reflujos de alto grado debe ser individualizada.

Tampoco parece indicada la profilaxis antibiótica en niños con cicatrices renales en ausencia de reflujo vesicoureteral tras un primer episodio de infección urinaria <sup>22</sup>, aunque existe información contradictoria en la que sustentan las recomendaciones sobre la utilidad de la profilaxis en pacientes ITU recurrentes. De hecho, son varios los autores que concluyen <sup>24;29;30</sup> que la profilaxis antibiótica no ha demostrado disminuir la recurrencia de ITU, pero sí el aumento de resistencia a antibióticos. La evidencia que apoya el uso prolongado de antibióticos en la prevención de la infección urinaria y el desarrollo de cicatrices renales es escasa y de baja calidad. La mayoría de los estudios <sup>25;29;30</sup> han sido realizados en niños con tracto urinario normal, y es sorprendente la escasa información existente respecto a su eficacia en los niños con reflujo vesicoureteral, precisamente el grupo en el que la mayoría de las guías de práctica clínica recomienda esta intervención terapéutica. Considerando la escasa evidencia disponible, parece prudente replantearse el uso de la profilaxis antibiótica en la infancia.

Más adelante se exponen las diferentes recomendaciones referentes a la profilaxis con antibióticos recogidas en las guías de práctica clínica o protocolos de distintas sociedades científicas o grupos de expertos. Algunas, como la de la Asociación Española de Pediatría, la de la Academia Americana de Pediatría y la Colombiana de Urología recomiendan la profilaxis hasta que se completen los estudios de imagen y, aunque dan a entender que en algunos casos estaría indicada su continuación, no especifican cuáles son estos casos, ni durante cuánto tiempo ha de mantenerse. En general, las guías aconsejan la utilización de profilaxis en niños con RVU (sólo los de mayor grado, como la guía sueca, o cualquier grado, como la guía india <sup>29</sup>, cicatrices renales o infecciones frecuentes. Se ha llegado a la conclusión de que la evidencia que apoya el uso prolongado de antibióticos en la prevención de la ITU y el desarrollo de cicatrices renales en la infancia es escasa y de baja calidad.

### ***6.9.1. Recomendaciones de las distintas guías de práctica clínica sobre la profilaxis antibiótica***

#### ***6.9.1.1. Royal College of Physicians of London (1991)***

Tras la ITU, mantener antibiótico profiláctico a dosis bajas (trimetoprima, cotrimoxazol o nitrofurantoina) hasta completar estudios en cada recomendación.

En esta guía no hay jerarquización de la evidencia. No se especifican los estudios valorados. No valoran el tratamiento a largo plazo

#### ***6.9.1.2. Guía Colombiana (1999)***

Se citan seis niveles de evidencia estándar, aunque no se han empleado en estas recomendaciones. Se usan también otros términos (sistemática poco documentada). Recomendaciones restringidas a menores de 2 años.

#### **6.9.1.3. American Academy of Pediatrics (1999)**

Recomienda profilaxis hasta completar estudios de imagen. Posteriormente no especificado la duración de la misma. Se citan las fuentes de algunas recomendaciones aunque faltan muchos trabajos incluidos en este documento. Se jerarquiza la evidencia en cuatro niveles (I: fuerte; II: buena; III: débil, y IV: consenso). Se excluye de las recomendaciones a los menores de 2 meses y mayores de 2 años

#### **6.9.1.4. Pediatric Nephrology Group, Indian Academy of Pediatrics (2001)**

Recomiendan profilaxis hasta completar estudios de imagen, en RVU (reflujo vesicoureteral), cicatrices renales aún en ausencia de reflujo, infecciones frecuentes (> 2 infecciones al año). En esta guía no hay jerarquización de la evidencia. No se especifican los estudios valorados en cada recomendación.

#### **6.9.1.5. Protocolos de la Asociación Española de Pediatría (2002)**

Profilaxis hasta completar los estudios de imagen. Posteriormente no especificado. No hay jerarquización de la evidencia. No se especifican los estudios valorados en cada recomendación.

#### **6.9.1.6. Guía de la Sociedad Europea de Nefrología Pediátrica (2002)**

Se indica profilaxis hasta completar los estudios de imagen, RVU al menos hasta al menos los 3 años de edad, cicatriz renal, hasta al menos los 3 años de edad. En esta guía no hay jerarquización de la evidencia. No se especifican los estudios valorados en cada recomendación.

#### **6.9.1.7. Guía de la Sociedad Española de Urgencias Pediátricas (2004)**

Se recomienda profilaxis:

- En la primera ITU hasta la realización de la cistografía, en los casos en los que se demore más allá del proceso agudo (grado B), en la ITU recurrente, definida como >2 episodios en 6 meses. Se ha demostrado que la profilaxis previene la ITU durante el periodo de tratamiento (grado A). En estos niños se debe mantener la profilaxis durante seis meses y valorar la respuesta (la decisión de parar el tratamiento debe basarse en la valoración de los períodos

de prueba, libres de medicación. Si vuelve a presentar una nueva ITU en los tres meses posteriores tras dejar la profilaxis, plantear de nuevo una pauta de seis meses más).

- Pacientes con uropatía obstructiva no intervenida.
- Neonatos diagnosticados prenatalmente de ectasia piélica, con un diámetro transversal de pelvis renal superior a 7 mm, hasta completar el estudio de imagen.
- RVU.
- Cuando se realiza una cistografía de control, en un paciente con RVU, independientemente del grado, y que no sigue tratamiento profiláctico habitual. En este caso es suficiente una dosis única de fosfomicina (1 g/10 kg de peso; máximo 3 g) antes o después del procedimiento.

No se recomienda profilaxis en:

- Pacientes con vejiga neurógena y sondaje intermitente (grado A).
- En pacientes con litiasis renal.
- En pacientes con válvulas uretrales.
- Tampoco en el contexto de un sondaje puntual diagnóstico.
- No hay evidencia a favor de la profilaxis después de una ITU, para evitar recurrencia.

No se aconseja utilizar para la profilaxis los mismos antibióticos que para el tratamiento de la ITU.

La profilaxis se administrará en una dosis única nocturna y de forma continuada. En casos de reinfección, tratarla y volver de nuevo a la misma pauta profiláctica previa.

Se recomienda:

- Nitrofurantoína (es el de elección) (grado A).
- Fosfomicina (a cualquier edad; dosis diaria o 2 a la semana).
- Cotrimoxazol (contraindicado en menores de 2 meses).
- En menores de 2 meses, amoxicilina-ácido clavulánico.
- En casos seleccionados puede usarse ciprofloxacino.

Se establecen niveles de evidencia de las recomendaciones, aunque no precisan la sistemática de jerarquización: grado A (niveles Ia, I: metaanálisis y ensayos clínicos), grado B (niveles IIa, IIb y III: estudios controlados no aleatorizados, cohortes, casos y controles) grado C (nivel IV: descriptivos, opinión de expertos).

#### **6.9.1.8. Guía Prodigy (NHS) (2006)**

Se indica profilaxis si existe RVU grado III-IV. Se citan las fuentes de algunas recomendaciones pero no se jerarquiza la evidencia que las sustenta.



#### **6.9.1.9. Indicaciones de profilaxis antibiótica. Conferencia consenso del panel de expertos (2006)**

**¿Está indicada la profilaxis con antibióticos en niños con tracto urinario normal tras un primer episodio de infección urinaria?** No se recomienda la profilaxis con antibióticos de forma sistemática en niños con tracto urinario normal tras un primer episodio de infección urinaria. La profilaxis no se recomienda pero no puede considerarse inapropiada, en tanto que no sepamos si existe reflujo de alto grado. Podría usarse hasta la realización de ecografía o CUMS, siempre que estas pruebas no se demoraran más de un mes.

El nivel de evidencia está basado en metaanálisis de ensayos clínicos con importantes limitaciones y un ensayo clínico posterior (nivel I)<sup>8;31;32</sup>, así como en la opinión de expertos (nivel IV). Grado de recomendación propuesto: B.

**¿Está indicada la profilaxis con antibióticos en niños con reflujo vesicoureteral tras un primer episodio de infección urinaria?** En pacientes con reflujos vesicoureterales grados I-III, no se recomienda la profilaxis antibiótica. No obstante, dado que sólo se ha evaluado en un trabajo y con período de seguimiento corto, no se puede considerar inadecuada la profilaxis, al menos en reflujos de grado II-III. A pesar de la ausencia de información suficientemente válida que lo apoye, se recomienda la utilización de profilaxis antibiótica en los casos de reflujo grados IV-V, al menos durante un año, continuando en función de la existencia de recaídas de ITU y la evolución del reflujo.

El nivel de evidencia está basado en un ensayo clínico<sup>31;33</sup> de pequeño tamaño y corto período de seguimiento (nivel I) para los reflujos de grado I-III y en la opinión de expertos (nivel IV) para los reflujos IV-V. Grado de recomendación propuesto: B para la profilaxis en reflujos grado I-III; grado C para los reflujos grado IV-V.

**¿Está indicada la profilaxis con antibióticos en niños con cicatrices renales en ausencia de reflujo vesicoureteral tras un primer episodio de infección urinaria?** No está indicada la profilaxis antibiótica en niños con cicatrices renales en ausencia de reflujo vesicoureteral tras un primer episodio de infección urinaria.

El nivel de evidencia está basado en la opinión de expertos (nivel IV).

Grado de recomendación propuesto: C.

**¿Está indicada la profilaxis con antibióticos en niños con infecciones del tracto urinario recurrentes?** No hay información en la que sustentar las recomendaciones sobre la utilidad de la profilaxis en pacientes con ITU recurrentes. Se recomienda valorar individualmente su indicación. Considerar el diagnóstico y tratamiento de disfunción vesical en estos pacientes.

El nivel de evidencia está basado en la opinión de expertos (nivel IV).

Grado de recomendación propuesto: C.

Si está indicada la profilaxis, **¿qué antibiótico utilizar y durante cuánto tiempo? ¿Qué antibióticos serían de primera elección y cuáles alternativos?** Se consideran antibióticos apropiados para profilaxis la nitrofurantoína (en niños mayores que tomen tabletas), fosfomicina, trimetoprima y cotrimoxazol (trimetoprima-sulfametoxazol). En menores de un mes, podría emplearse amoxicilina o amoxicilina-ácido clavulánico. Serían antibióticos de primera elección nitrofurantoína y trimetoprima, salvo en el neonato, que sería amoxicilina.

Dados los efectos secundarios resultantes de la utilización de antibioterapia profiláctica, tales como alteraciones de la flora nasofaríngea y digestiva ha surgido la necesidad de nuevas alternativas en la prevención de infecciones urinarias. En este sentido destaca el Extracto de Arándano Rojo Americano, ya utilizado desde hace más de 100 años.

## **6.10. Seguimiento del niño tras el primer episodio de ITU**

Tras el diagnóstico y tratamiento efectivo de la ITU deben programarse controles clínicos cada 3-6 meses, durante al menos 1-2 años, especialmente en caso de niños pequeños con ITU febril y de PNA en escolares.

Para el diagnóstico precoz de la recurrencia debe proporcionarse información adecuada, preferiblemente escrita, sobre los síntomas de ITU en lactantes y niños pequeños, especialmente en caso de fiebre ( $> 38\text{ }^{\circ}\text{C}$ ) y realizar urianálisis (tira reactiva y/o examen microscópico) cuando se produce la sospecha clínica y urocultivo, con muestra adecuada de orina, en su caso.

La investigación de bacteriuria asintomática, mediante urocultivos periódicos ha sido práctica habitual en el control ambulatorio de niños tras su primer episodio de PNA/ITU febril, especialmente en caso de RVU. Datos recientes han mostrado que, en niños pequeños, la aparición de nuevas cicatrices es consecuencia de ITU sintomática o PNA recurrente sin relación con la BA y que, en escolares, la BA no aumenta el riesgo de cicatriz dado que las cepas aisladas no causan habitualmente PNA sintomática.

Además, el tratamiento antibiótico en niñas con BA produce cambios de la flora bacteriana que pueden incrementar el riesgo de recurrencias y favorecer nuevos episodios de PNA. Por ello, la práctica de urocultivos en niños asintomáticos puede causar más confusión que beneficio y no debe ser recomendada.

### ***6.10.1. Alternativas al tratamiento antibiótico con extracto de arándano americano***

#### ***6.10.1.1. Aspectos botánicos*** <sup>34</sup>

El arándano americano (inglés: American arándano americano, large arándano americano o, simplemente, arándano americano) es el fruto pequeño y rojo de *Vaccinium macrocarpon* Aiton, una planta perenne. El fruto tiene por lo general de 1 a 2 centímetros de diámetro, pesa de 1 a 2 gramos y se distingue por su intenso color rojo

carmesí. El género *Vaccinium* pertenece a la familia de las *Ericaceae*. Entre las otras especies de *Vaccinium* se encuentra:



Figura 6.5. Arándano azul (*V. corymbosum* L., en inglés: blueberry) y arándano azul Silvestre (*V. angustifolium* Ait. en inglés: wild blueberry).



Figura 6.6. Arándano europeo (*V. oxycoccus* L., European arándano americano, small arándano americano), mirtilo o arándano (*V. myrtillus* L., bilberry, whortleberry) y arándano rojo (*V. vitis-idaea* L., ligonberry).

El arándano americano es una de las pocas bayas de cultivo autóctona de Norteamérica con un valor comercial significativo, junto con el arándano azul y la vid silvestre o labrusca (*Vitis labrusca* L. en inglés: fox grape), conocida por la variedad de uva Concord. El nombre inglés (arándano americano) evolución de arándano americano (baya de grulla), denominación que le dieron los colonos, que asociaron la forma de la flor con el cuello, cabeza y el pico de dicha ave. A pesar de que existen muchas variedades de arándano americano, comercialmente predominan nueve variedades. De ellas dos, Early Black y Stevens, ocupan la mayor parte de la superficie de cultivo. La variedad Early Black es una selección autóctona que se remonta a 1857 y la Stevens es un híbrido introducido por el Departamento de Agricultura de Estados Unidos (USDA) en 1950. La producción mundial de arándano americano, en 1999, ascendió a 333.690 toneladas, de las cuales el 85% se cultivaba en Estados Unidos y Canadá, mientras que una pequeña cantidad del fruto se cultiva en Chile.

La industria del arándano americano representa un mercado mundial de 2.000 millones de dólares (estimación del 2001), cuyos productos incluyen el fruto fresco, zumos, compotas, fruto desecado e ingredientes como el fruto congelado, concentrados de zumo y el zumo desecado por atomización<sup>34</sup>.

### **6.10.1.2. Composición del zumo**

La composición aproximada de zumo de arándano americano de concentración natural a 7,5 Brix, en 100 g es la siguiente: 92,9% agua, 7,1% sólidos, 27 calorías, 6,9 g carbohidratos, <0,1 g proteínas, <0,1 grasas, 96 mg minerales, 2 mg vitamina C. La graduación Brix es una medida de la concentración del zumo o porcentaje de sólidos solubles, que se basa técnicamente en la sacarosa y se mide por hidrometría o refractometría. Una graduación Brix de 7,5 es la normativa industrial aceptada para el zumo de arándano americano de concentración natural.

Como se puede ver, el zumo de arándano americano está constituido casi en su totalidad por agua y carbohidratos. Los 6.9 g del total de carbohidratos incluyen 3.7 g de azúcares, 3.1 g de ácidos orgánicos y 0.1 g de fibra dietética. En el zumo de arándano americano, la proporción de fructosa con respecto a la glucosa es menor a uno, lo cual es poco común comparado con muchos otros zumos de fruta en los que dicha proporción es normalmente mayor a uno. También es característico su contenido en ácido quínico, cuya valoración sirve para determinar el porcentaje de zumo de arándano americano en un producto, así como para detectar posibles adulteraciones.

Por lo que se refiere a la cantidad de ácido galacturónico, puede variar como consecuencia de la despectinización de la fruta o el zumo.

El análisis del Ácido 2-furoico (ácido furan-2-carboxílico), realizado junto con los ácidos fenólicos, en el cóctel de zumo de arándano americano dio un contenido de 2.9 ppm. El contenido de ácido oxálico, por su parte, fue de 5 ppm. El ácido oxálico, y el zumo de arándano americano por asociación, se han implicado en la formación de cálculos renales. No obstante, las investigaciones<sup>34;35</sup> han demostrado que el nivel de ácido oxálico en el zumo de arándano americano es insuficiente para la formación de cálculos renales (los minerales en 100 g de zumo de arándano americano incluyen sodio (4 mg), potasio (85 mg), calcio (7 mg) y hierro (0,3 mg)).

### **6.10.1.3. Coctel de zumo de arándano americano**

Comparado con otros zumos de fruta, se puede apreciar que el zumo de arándano americano tiene relativamente poco azúcar y mucho ácido. Esto afecta al dulzor y la palatabilidad percibidos. Este atributo de calidad a menudo viene descrito por la proporción de brix con respecto a la acidez valorable (BAR). Para los zumos de fruta de fruta que se consumen normalmente sin diluir y sin edulcorar, como el de manzana y el de uva, esta proporción puede hallarse en un intervalo de 22 a 24.

En comparación, el zumo de arándano americano tiene un BAR de aproximadamente 3.8, más parecido al zumo de limón, que tiene un BAR de 1.6. Los fabricantes de bebidas por lo general compensan el bajo contenido de azúcar y el alto contenido de ácido del zumo de arándano americano mezclándolo con agua y edulcorante para producir un cóctel de zumo de arándano americano (CZA), con un BAR aproximado de 22. De hecho, el USDA ha establecido una descripción comercial del artículo (CID, Comercial ítem descripción) para esta forma de zumo de arándano americano, especificando el CZA como bebida que contiene al menos un 25 % de zumo de

arándano americano y un 0.26 % de ácido químico. Por lo que se refiere a la cantidad de ácido galacturónico, puede variar como consecuencia de la despectinización de la fruta o el zumo.

#### **6.10.1.4. Beneficios del arándano americano para la salud**<sup>34</sup>

El arándano americano puede considerarse como uno de los primeros alimentos funcionales. Además de los usos primitivos del arándano americano como alimento, por ejemplo, en el Penmican (una mezcla de carne y bayas, ambas desecadas) y las compotas, se utilizaba por sus beneficios medicinales. Los habitantes nativos de Nueva Inglaterra utilizaban el arándano americano para tratar las heridas (en forma de emplastos), trastornos urinarios, diarrea y diabetes. El arándano americano también se consumía en travesías largas por el océano para prevenir la aparición de escorbuto entre los pasajeros y la tripulación. Hoy en día, se sabe que el arándano americano contiene muchos componentes biológicamente activos.

En la actualidad, entre la base de datos NAPRALERT de la Universidad de Illinois y las bases de datos fotoquímicas y etnobotánicas del doctor Duke, se ha publicado que existen 120 compuestos con más de 700 actividades biológicas en especies de *Vaccinium*. Por ejemplo, existen 40 compuestos con 130 efectos asociados con la actividad anticancerígena, 35 compuestos con 108 efectos asociados a la actividad antioxidante y 25 compuestos con 45 efectos asociados a la actividad antiinflamatoria. Solo unas cuantas de estas referencias son específicas de *V. macrocarpon*, pero ello se debe probablemente más a la falta de investigación con esta especie que a la falta de compuestos biológicamente activos.

Se puede dar por supuesto que dentro del género *Vaccinium* existen actividades biológicas similares en la mayoría de los casos y en diversos grados entre las especies en cuanto a bioactividad de antiadherencia bacteriana hallada tanto en el arándano americano como en el arándano azul. La primera investigación documentada acerca de este efecto data de 1923<sup>36</sup>, cuando los científicos desarrollaron la hipótesis de que el bajo pH, debido al alto contenido de ácido del zumo de arándano americano, combatía la infección al acidificar orina. Las investigaciones más recientes apuntan a otro mecanismo. En 1991<sup>37</sup>, los investigadores mostraron que el zumo de arándano americano impedía la adherencia de *Escherichia coli* a las células uroepiteliales de la pared del tracto urinario. Este trabajo suponía que el zumo de arándano americano tendría un efecto más preventivo que curativo, ayudando así a mantener sano el tracto urinario. En 1994<sup>35</sup>, un estudio clínico de 6 meses de duración, aleatorizado, doble ciego, controlado frente a placebo, en el que participaron 153 mujeres de edad avanzada, a las que se les administraban 300 ml/día de CZA, se observó una reducción significativa de la bacteriuria y número de leucocitos en orina, marcadores ambos de una infección del tracto urinario. Los investigadores también confirmaron en un bioensayo de antiadherencia in vitro, que el CZA era activo mientras que el placebo no lo era y que la orina del grupo tratado tenía menor acidez, disipando la idea de que la acidificación urinaria fuera responsable del efecto. En 1998, un grupo de investigadores<sup>34</sup> identificó, mediante fraccionamiento biodirigido, las proantocianidinas (PAC) o taninos condensados como los constituyentes responsables de la actividad antiadherente en el arándano americano.

En 2001, un grupo de investigadores demostró que la orina de ratones cuya alimentación contenía CZA o una solución acuosa de extracto PCA de arándano americano purificado mostraba actividad antiadherente, mientras que la orina de ratones alimentados con agua no la mostraban. Este trabajo proporciona las pruebas in vivo más concluyentes hasta la fecha, vinculando las PAC del zumo de arándano <sup>34</sup>.

#### **6.10.1.5. Arándano americano y antiadherencia bacteriana**

Las bacterias utilizan fimbrias y pili, estructuras de superficie proteica, para adherirse a otras superficies. Estas estructuras se consideran una característica heredada y las bacterias pueden expresar diferentes tipos de adherencias en función de la condición de cultivo. Las PAC del arándano americano impiden la adherencia de bacterias *E. coli* patógenas con fimbrias tipo P al tejido de células uroepiteliales. La *E. coli* es responsable del 85% de las infecciones sintomáticas del tracto urinario.

Existen también investigaciones preliminares que dan a entender que las PAC del arándano americano pueden impedir la adherencia de *Helicobacter pylori* a las células epiteliales del estómago. *H. pylori* provoca más del 90% de las úlceras duodenales y hasta un 80% de úlceras gástricas. Existen pruebas de que las PAC del arándano americano pueden impedir la adherencia de determinadas cadenas de bacterias responsables de la placa dental y la gingivitis en la cavidad oral. La actividad antiadherente puede medirse in vitro mediante un bioensayo de hemoaglutinación de glóbulos rojos. También se puede dirigir un ensayo de aglutinación in vitro más específico utilizando receptores de adherencia aislados adheridos a partículas de resina <sup>34,37</sup>.

#### **6.10.1.6. Efectos a nivel cardiovascular**

Investigaciones preliminares indican que el arándano americano puede desempeñar un papel beneficioso en el mantenimiento de la salud cardiovascular. Cerdos con hipercolesterolemia familiar (HF) alimentados con una dieta que contenía polvo de zumo de arándano americano mostraron un nivel de colesterol total y LDL significativamente inferior al valor inicial, el análisis de muestras de sangre tomadas semanalmente mostró una reducción general del 20% del colesterol total y un 22% del colesterol LDL. No se produjo ningún cambio en el colesterol HDL. Otro trabajo ha mostrado que los extractos de arándano americano inhiben la oxidación de LDL.

Además, cuando los flavonoides del arándano americano se fraccionaron en Sephadex LK20 y se probó su actividad antioxidante, se descubrió que las fracciones que contenían proantocianidinas oligoméricas (OPC) y poliméricas retrasaban significativamente la aparición de la oxidación in vitro de LDL humana inducida por Cu<sup>2+</sup>. No se observó oxidación de LDL hasta los 250 minutos para las fracciones oligoméricas y poliméricas, mientras que las fracciones de control y las que se incluyeron antes, que contenían antocianósidos y flavonoles, alcanzaron la oxidación máxima a unos 150 min. Puesto que este estudio se halla todavía en una etapa

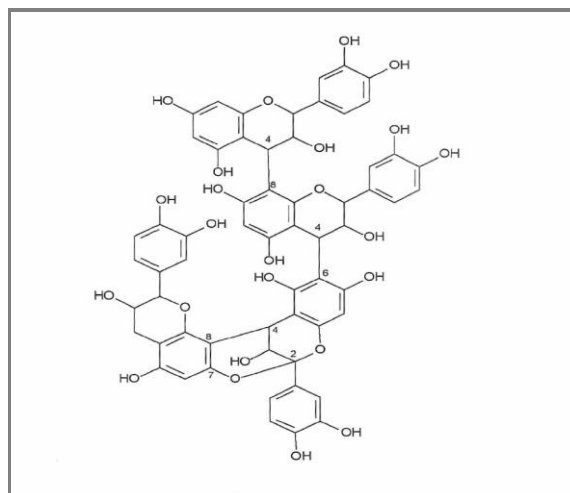
preliminar, son necesarias investigaciones adicionales para determinar la importancia de estos hallazgos para la salud humana.

### 6.10.1.7. Proantocianidinas

Las proantocianidinas (PAC) son mayoritariamente oligómeros (OPC) o polímeros de flavanoles unidos mediante uno (tipo B) o dos (tipo A) enlaces interflavano. Las PAC identificadas hasta hoy en el arándano americano son en su mayoría oligómeros y polímeros de epicatequina y epigalocatequina con uno o más enlaces interflavano del tipo A. El número de enlaces del tipo A parece incrementarse conforme aumenta el nivel de polimerización.

En la Figura 6.7 se representa una OPC tetramérica, con enlaces interflavano del tipo B 4-6 y 4-8 y un enlace interflavano de tipo A 4-8,2-0-7. Al parecer parece poca o ninguna actividad antiadherente asociada a monómeros, dímeros y oligómeros más altos de las PAC del arándano americano con todos los enlaces interflavano de tipo B.

El enlace interflavano tipo A parece necesario para que las PAC tengan actividad antiadherente contra la *E. coli* fimbriada tipo P.



**Figura 6.7.** Proantocianidina tetramérica <sup>34</sup>.

La cuantificación de PAC representa muchos retos analíticos debido a su naturaleza polimérica y la falta de sustancias de referencia. La heterogeneidad estructural basada en la presencia de diferentes unidades de monómeros, varias configuraciones de enlaces interflavano y el intervalo del grado de polimerización, complican el aislamiento y la cuantificación de compuestos individuales. Se han utilizado ensayos gravimétricos para cuantificar el contenido total de PAC, aislando la fracción de PAC mediante cromatografía de adsorción con fase inversa C18 y Sephadex LK20 o cromatografía de adsorción con Sephadex LH-20 seguida de la precipitación

con iterbio trivalente. Los procedimientos gravimétricos pueden tardar dos o más días en completarse y la escala de la cantidad de muestra fraccionada puede limitar la sensibilidad del método. La cromatografía de adsorción en Sephadex LH-20 combinada con un ensayo colorimétrico puede mejorar tanto la selectividad como la sensibilidad del método. La vanilina y 4-dimetilamino-cinamaldehído (DMAC) son dos reactivos que se han utilizado para la determinación colorimétrica de las PAC. El DMAC es más apropiado para analizar muestras de arándano americano debido a las reducidas interferencias de antocianósidos y ácido ascórbico. Lo ideal sería que un método con DMAC se estandarizara con una muestra estable del mismo tipo, para la que el contenido total de PAC hubiera sido determinado mediante el procedimiento gravimétrico. Entre otros procedimientos colorimétricos publicados en este ámbito se encuentran el de Folin-Ciocalteu, Ácido clorhídrico/n-butanol y azul prusia.

La tabla 6.10 muestra el contenido de PAC en tres productos comunes del arándano americano, determinado mediante el ensayo colorimétrico con DMAC, calibrado frente a 90-MX, un polvo atomizado de concentrado de zumo de arándano americano. Se analizaron 12 muestras de cóctel de zumo de arándano americano y 12 de arándano americano seco endulcorado, dando coeficientes de variación del 14.7% y 14.8%, respectivamente. Las ocho muestras de compota de arándano americano entero analizadas mostraron un elevado coeficiente de variación (60%), debido muy probablemente a la falta de homogeneidad del producto. Cada uno de estos productos proporciona una cantidad similar de PAC por ración. Sin embargo, puesto que tanto el método gravi-métrico como el colorimétrico no pueden facilitar información acerca de la distribución y la cantidad de PAC individuales presentes, estos datos no proporcionan ninguna indicación acerca de la diversidad de las PAC del arándano americano.

**Tabla 6.10.** Contenido de PAC en tres productos comunes del arándano americano <sup>34</sup>.

Cóctel de zumo arándano rojo americano	30 mg/240 mg
Compota de arándano americano entero	24 mg/70 g
Arándano americano seco endulcorado	32 mg/40 g

La degradación ácida de las PAC en presencia de nucleófilos como el bencilmercaptano (tiolisis) proporciona información sobre los monómeros que componen las PAC y posiblemente de su grado medio de polimerización. Combinado con el fraccionamiento también puede proporcionar información sobre la distribución de las PAC. No obstante, en estas condiciones, el enlace interflavano tipo A puede no romperse hasta producir los monómeros, lo cual puede dar lugar a conclusiones erróneas acerca de la composición monomérica y el grado medio de polimerización.

Los métodos cromatográficos se pueden utilizar para separar y cuantificar los monómeros, oligómeros y pequeños polímeros de PAC, ámbito en el cual la HPLC en fase normal proporciona una mejor separación que la HPLC en fase inversa. Sin embargo, incluso con el método HPLC en fase normal es cada vez más difícil resolver PAC superiores a los dodecámeros y, a medida que aumenta la diversidad de la composición de las PAC, también los isómeros dentro de un grado de polimerización.



Además, no existen sustancias de referencia analíticas para PAC comercialmente disponibles, aparte de los monómeros y unos cuantos dímeros.

Las sustancias de referencia para oligómeros y polímeros de PAC se aíslan de fuentes naturales y su pureza está limitada por la capacidad de resolución de los compuestos individuales. Por último, la espectrometría de masas también se puede utilizar para separar las PAC en base a su cociente masa/carga. Tanto la espectrometría de masas (MSI por electro spray (ESI) como la espectrometría de masas con analizador de tiempo de vuelo y ionización por desorción mediante láser asistida por matriz (MALDI-TOF, matrix assisted laser desorption - time of flight), pueden utilizarse para analizar las PAC. La Figura 6.8, muestra el espectro de masas de un extracto de PAC de arándano americano purificado a partir del polvo 90MX mediante el procedimiento de fraccionamiento con C18 y Sephadex LH-20 para gravimetría.

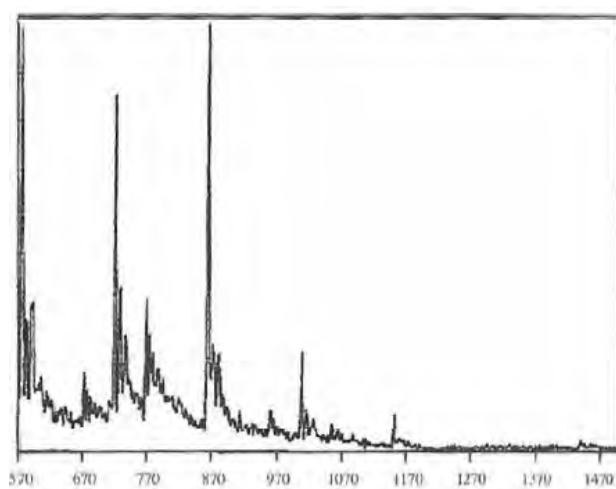


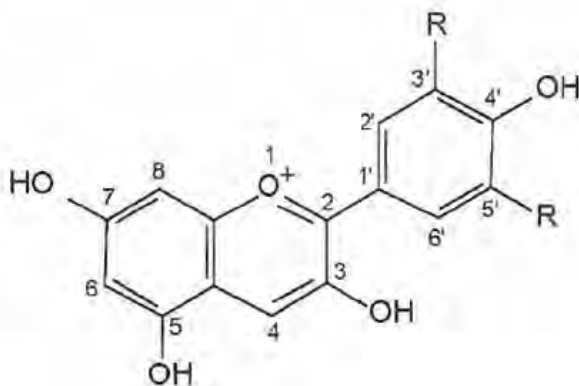
Figura 6.8. Perfil de PAC del extracto de arándano americano Fraccionado por ESI-MS <sup>34</sup>.

El extracto se redisolvió en metanol y se mezcló en una proporción de 3: 1 con acetato amónico 10 mM de y la disolución se introdujo a 5  $\mu$ l /min en la fuente de ESI-MS. El espectro de masas es la acumulación de 100 barridos individuales de 250 a 1800 (UMA) adquiridas a 3 segundos por barrido. Este perfil por MS muestra el tipo y la distribución de las OPC individuales en el arándano americano. El efecto de carga múltiple debe tenerse en cuenta al interpretar espectros de ESI-MS, en los que un tetrámero con doble carga aparecerá como la masa de un dímero de carga sencilla. Esto se puede reconocer por el hecho de que las diferencias de fragmentos de masa y grupos funcionales en los espectros se verán afectadas de forma similar. La MALDI-TOF-MS no presenta este problema y proporciona un alto grado de resolución de masas, lo cual puede ser útil para identificar PAC con enlaces interflavano tipo A y otras diferencias en la composición de las PAC.

#### 6.10.1.8. Antocianósidos

Los antocianósidos o antocianinas son compuestos clave del arándano americano por el color que transmiten al fruto y al zumo. La estructura general de antocianindinas (aglicones de los antocianósidos) aparece en la Figura 6.9. Diferentes aglicones se

originan por hidroxilación o metoxilación de las posiciones 3' y 5'. Los antocianósidos son el resultado de la glicosilación de las antocianidinas, en la posición 3 en el caso de los antocianósidos del arándano americano.



**Figura 6.9.** Estructura general de las antocianidinas (aglicones de los antocianósidos o antocianinas).

Se han descrito diversas actividades biológicas para los antocianósidos, entre las cuales se encuentran las actividades antioxidantes, antibacteriana, antifúngica y antimutagénica. Asimismo, pueden tener un efecto sobre la salud cardiovascular al mejorar la fragilidad capilar. A la fracción antocianica de los extractos de *V. mirtillo* se atribuyó la mejora de la función visual y vascular después de averiguar, durante la Segunda Guerra Mundial, que los pilotos que consumían mermelada de mirtillo tenían una mejor visión nocturna. Los datos presentados en la Tabla 6.11 se obtuvieron de 12 muestras de cóctel de zumo de arándano americano, de cuatro embotelladoras diferentes, utilizando un método de HPLC de fase inversa con detección por red de diodos (DAD). Se realizó la cromatografía utilizando una columna de C18 y un gradiente binario de ácido acético al 2 % y ácido acético al 2%: acetonitrilo 20:80 (v/v). Se utilizó cianidina-3-galactósido como estándar externo para cuantificar seis antocianósidos.

El coeficiente de variación de los resultados oscilaba entre el 40 y el 50 %. A partir de los datos presentados en la Tabla 6.11, se puede observar que el contenido total de antocianósidos era de aproximadamente 8 mg/kg para este grupo de muestras de CZA. Pese a que pueda haber variabilidad en el contenido total de antocianósidos en el zumo de arándano americano, debido a factores como la variación del cultivo de año a año, debe tenerse en cuenta que el perfil de antocianósidos y las proporciones relativas de antocianósidos individuales son muy estables y constituyen un indicador bastante claro de la calidad del zumo de arándano americano estándar. Además, de los antocianósidos, en este análisis del cóctel de zumo de arándano americano también se cuantificó la epicatequina (monómero de proantocianidina), encontrándose una cantidad de 3.5 mg/kg, con un coeficiente de variación del 27%.

**Tabla 6.11.** Antocianósidos del cóctel de zumo de arándano americano.

Cianidina-3-galactósido	2.0 mg/l
Cianidina-3-arabinósido	1,4 mg/l
Cianidina-3 -glucósido	0.1 mg/l
Peonidina-3-galactósido	2.8 mg/l
Peonidina-3-arabinósido	1.1 mg/l
Peonidina-3-glucósido	0.3 mg/l

### 6.10.1.9. Flavonoles

Los flavonoles contribuyen también al color del fruto y el zumo. Los flavonoles transmiten un color amarillento en disolución y pueden formar copigmentos con los antocianósidos. La Figura 6.10 muestra la estructura general de un aglicón de flavonol, en la que son posibles sustituciones por hidroxilo en las posiciones 3' y 5'.

En los heterósidos, se observan sustituciones de glicosídicas en la posición 3. Se ha descrito que los flavonoles poseen una serie de propiedades biológicas como: antioxidante, analgésica, captadora de radicales, antiinflamatoria y broncodilatadora, así como un potencial efecto sobre la salud cardiovascular, mediante la mejora de la fragilidad capilar.

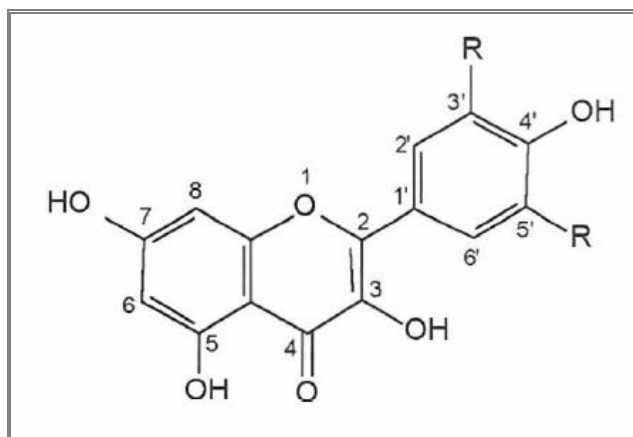


Figura 6.10. Estructura general de un flavonol <sup>34</sup>.

Los datos presentados en la Tabla 6.12 se obtuvieron mediante el mismo método y las mismas muestras que los datos de antocianósidos presentados anteriormente. La cuantificación se realizó utilizando estándares externos individuales de cada flavonol.

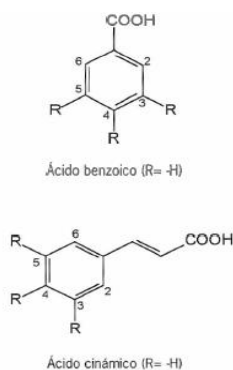
**Tabla 6.12.** Flavonoles identificados en el arándano americano <sup>34</sup>.

Hiperósido	23.2 mg/l
Quercetina	13.0 mg/l
Miricetina	5.3 mg/l
Quercitrina	5.2 mg/l
Avicularina	1.8 mg/l

#### 6.10.1.10. Ácidos fenólicos

Los ácidos fenólicos tienen también un interés cada vez mayor por sus potenciales efectos beneficiosos para la salud. La Figura 6.11 muestra las estructuras de los ácidos benzoico y cinámico ( $R = -H$ ). Los ácidos benzoico y cinámico son los dos ácidos fenólicos principales del arándano americano, junto con sus derivados por hidroxilación o metoxilación en las posiciones 3, 4 y 5. Se han descrito diversas actividades biológicas para los ácidos fenólicos, como antioxidante, antimicrobiana, captadora de radicales, inhibición de la agregación plaquetaria, supresión de la formación de la placa dental, antihipercolesterolemia y antiulcerosa.

Para obtener los datos de ácidos fenólicos presentados en la Figura 6.11, se desarrolló un método por HPLC (fase inversa) acoplado a ESI-MS, utilizando el modo MS-MS (espectrómetros de masas en tándem). El mismo grupo de 12 muestras de CZA descrito anteriormente se cromatografió en una columna de C18 utilizando un gradiente binario de ácido acético al 1% de metanol al 100%. La cuantificación se realizó mediante sustancias de referencia individuales calibradas frente a un estándar interno (ácido 4-clorobenzoico). El coeficiente de variación para los resultados osciló entre el 20 y el 36%. El ácido vanílico es un derivado del ácido benzoico, mientras que los ácidos cafeico y clorogénico son derivados del ácido cinámico.



**Figura 6.11.** Estructuras de los ácidos benzoico y cinámico ( $R = -H$ ). <sup>34</sup>.

#### **6.10.1.11. Otros componentes del arándano americano**

Además de los constituyentes descritos anteriormente, el arándano americano contiene otros componentes potencialmente beneficiosos para la salud. A continuación se facilita un análisis somero de los mismos. La pectina es una fuente de fibra para la cual se ha descrito actividad anticancerígena e hipocolesterolemizante. La pectina también es un ingrediente muy importante en relación con el procesamiento del arándano americano para la obtención de compota, por sus propiedades gelificantes.

Al igual que las PAC, la pectina también presenta retos significativos para su cuantificación y descripción cualitativa.

Se ha descrito la presencia de ácido eláxico en el arándano americano en concentraciones de 120 mg/kg. En la literatura se han descrito actividades antioxidante, antimutagénica, anticarcinogénica y antiviral para el ácido eláxico. El resveratrol es otro compuesto detectado en el arándano americano, a concentraciones similares a las del zumo de uva, de 1.07 y 1.56 nmol/g, respectivamente. El resveratrol se ha relacionado con actividad anticancerígena e inhibidora de COX<sub>1</sub> y COX<sub>2</sub>. Es un antioxidante y es el componente del vino tinto que se ha relacionado con la salud cardiovascular, en base a su capacidad de inhibir la agregación plaquetaria y su actividad antiinflamatoria.

En las semillas del arándano americano se ha descrito la presencia de secoisolariciresinol, un lignano, en una concentración de 10.54 mg/kg en relación a peso seco. Los lignanos tienen una estructura relacionada con la de los estrógenos, por lo que se comportan como estrógenos débiles y antagonistas de estrógenos. Además muestran actividad antioxidante, antimutagénica, antiviral y antitumoral. Los estudios experimentales en animales sugieren que puede tratarse de factores dietéticos protectores frente a la patología vascular aterosclerótica, reduciendo el colesterol total y el colesterol LDL. El Ácido ursólico se encuentra en concentraciones relativamente altas en la piel del arándano americano y se ha utilizado como componente de un bálsamo para lesiones dérmicas y quemaduras. Los estudios experimentales en animales y humanos han demostrado que el ácido ursólico y otros triterpenos muestran actividades biológicas significativas, incluidas la hepatoprotectora, antiinflamatoria, antitumoral, antihiperlipidémica, antimicrobiana, anticariogénica y antiulcerosa<sup>34</sup>.

Finalmente, en el aceite de la semilla de arándano americano se han aislado e identificado tocotrienoles y ácidos grasos omega3, grupos de compuestos conocidos por su actividad antioxidante, y su efecto sobre la carcinogénesis y la salud cardiovascular.

#### **6.10.1.12. Variabilidad de la composición**

La composición química del arándano americano y los productos derivados del mismo es variable, como en cualquier producto agrícola. Esta variabilidad se debe a muchos factores diferentes, como la variedad, la madurez, el emplazamiento del cultivo, estrés ambiental y efectos del procesado. Por ejemplo, el contenido medio total de antocianos (mg/100 g del fruto cosechado) puede variar significativamente: de 31 a 62 en función de la región, de 18 a 66 en función de la variedad y de 36 a 42 en función

del año (estudio de calidad de la cosecha durante seis años, datos no publicados). El proceso de despectinización podría afectar al contenido de ácido galacturónico del zumo de arándano americano, entre otras cosas.

## **7. JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVOS**





## JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVOS

---

Dada la incidencia de infección urinaria recurrente en pediatría y su repercusión en el desarrollo de nefropatía postpielonefritis, es de uso habitual recomendar la utilización de quimioprofilaxis en niños con ITU pertenecientes a alguna de las siguientes categorías:

- En caso de PNA, hasta finalizar los estudios de imagen.
- Lactantes con ITU febril y lesión renal aguda, durante el primer año.
- Pacientes con RVU del alto grado, mientras persista.
- En niños con anomalías urológicas y riesgo de PNA, hasta la cirugía.

El origen de estas recomendaciones está en el mayor riesgo de recurrencia infecciosa durante el primer mes. Aunque controvertida la indicación de profilaxis antibiótica en infección urinaria recurrente y reflujo vesicoureteral se ha establecido como una práctica habitual en pediatría en las últimas décadas. Aunque el tratamiento profiláctico de la infección urinaria con antibiótico no elimina por completo el riesgo de nuevas infecciones urinarias, si origina un cambio en los patógenos responsables habituales. Se considera que el 87% de todas las infecciones urinarias se deben a *E. coli*, porcentaje que disminuye hasta un 58% cuando el paciente ha recibido profilaxis antibiótica. De igual forma, se observa resistencia a cefotaxima en el 3% de los microorganismos aislados en pacientes con infección urinaria que no han recibido profilaxis con antibióticos frente a un 27% de resistencias en los pacientes que recibieron profilaxis con antibióticos.

Por otro lado, existe en el momento actual controversia a la hora de justificar la profilaxis antibiótica en niños con infecciones urinarias de repetición o reflujo vesicoureteral, dada la aparente poca repercusión sobre el desarrollo de cicatrices renales. Como alternativa se han realizado ensayos clínicos en adultos donde se evalúa la utilidad de la profilaxis con extracto de arándano americano en pacientes con infección urinaria recurrente. En estos estudios se observó una disminución en la prevalencia de infección urinaria en el grupo tratado con extracto de arándano del 20% (CI 95%: 3-36%). El arándano americano contiene al menos dos componentes con propiedades antiadherentes para las fimbrias de *E. coli* a los epitelios. Las proantocianidinas del arándano rojo (principal principio activo) se fijan a los pili de *E. coli* e impide que las bacterias puedan fijarse al epitelio del tracto urinario, eliminándose de forma pasiva con la micción. Sin embargo cabe pensar que en los pacientes con profilaxis antibiótica ya instaurada la administración de extracto de arándano americano sea menos efectiva al disminuir la prevalencia de infecciones urinarias por *E. coli*. Diversos estudios, han encontrado escasa utilidad de la profilaxis antibiótica en pacientes con infección urinaria recurrente, además el uso continuado de antibióticos a dosis inferiores a las terapéuticas se ha relacionado con aumento de las resistencias bacterianas a los

antibióticos de uso habitual por tanto y puesto que hasta el presente son escasos los ensayos clínicos que evalúan la efectividad del extracto de arándano en las infecciones recurrentes en niños. Por todo ello, se hace necesario determinar la utilidad del extracto de arándano americano en la prevención de las infecciones urinarias recurrentes en niños y comprobar si es factible sustituir la actual profilaxis con antibióticos que ha mostrado una utilidad limitada.

A la vista de los hechos anteriores y dado el estado de incertidumbre sobre la utilidad de la profilaxis antibiótica en niños con reflujo vésicoureteral y en los casos de infección urinaria recurrente, nos planteamos las siguientes hipótesis:

1. El extracto de arándano americano podría resultar de utilidad en la prevención de las infecciones urinarias recurrentes en niños.

2. Si el extracto de arándano demuestra ser de utilidad en niños la flora bacteriana a diferencia de lo observado con la profilaxis antibiótica no se modificaría. Sabemos por estudios previos que la profilaxis antibiótica puede modificar el tipo y las resistencias bacterianas a antibióticos de los microorganismos aislados en infecciones urinarias recurrentes.

El objetivo general del presente estudio podemos desglosarlo en:

1. Comprobar si el extracto de arándano americano es seguro y eficaz en la profilaxis de la infección urinaria recurrente infantil
2. Comparar la eficacia del extracto de arándano con la profilaxis antibiótica con trimetoprima.

Como objetivo secundario nos planteamos:

1. Identificar y comparar la flora bacteriana aislada en las infecciones urinarias detectadas durante la profilaxis con arándano americano y con trimetoprima,
2. Analizar la diferente resistencia a los antibióticos de los microorganismos aislados en pacientes que reciben profilaxis con arándano o con trimetoprima.

## **8. MATERIAL Y MÉTODOS**



## MATERIAL Y MÉTODO

---

### 8.1. Caracterización del jarabe de arándano

Dada la gran variabilidad en cuanto a su composición de los diferentes preparados comerciales de arándano americano existentes en el mercado, de forma previa al inicio de este ensayo se consideró necesario realizar una caracterización del jarabe utilizado.

#### 8.1.1. Material

Los estándares de ácido p-cumárico, miricetina, 7-hidroxycumarina y proantocianidina A2 fueron de Extrasynthese (Genay, Francia). El reactivo de fenol de Folin-Ciocalteu era de Fluka, Sigma-Aldrich (Steinheim, Alemania). El ácido fórmico y acetonitrilo utilizado para preparar las fases móviles fueron de Fluka, Sigma-Aldrich (Steinheim, Alemania) y Lab-Scan (Gliwice, Sowinskiego, Polonia), respectivamente. El agua destilada con una resistencia de 18.2M $\Omega$  fue desionizada en un sistema Milli-Q (Millipore, Bedford, MA, EE.UU.). Los disolventes se filtraron antes de su uso con un disolvente 58.061 en un aparato de filtración (Supelco, Bellefonte, PA, EE.UU.).

#### 8.1.2. Preparación de la muestra

Se utilizaron 200  $\mu$ l de jarabe de arándano, elaborado como una dispersión de extracto de arándano al 3% en jarabe de glucosa. El jarabe se disolvió en 4 ml de metanol, se realizó vórtice durante 2 minutos en un G560E Vortex-Genie 2 (Scientific Industries, Bohemia, NY, EE.UU.) y se filtró con un filtro de politetrafluoroetileno (PTFE) (0.2  $\mu$ m de tamaño de poro) y se inyecta directamente en el sistema HPLC.

#### 8.1.3. Medición de polifenoles totales, y proantocianidinas

Para cuantificar el contenido fenólico total en el jarabe de arándano, se utilizó el método de Folin-Ciocalteu<sup>38</sup>. La proantocianidina (taninos condensados) y el total de antocianina se determinaron de acuerdo con el método de la vainillina-HCl<sup>39</sup> y los métodos descritos por Fuleki y Francis, respectivamente<sup>40</sup>.

### 8.1.4 Separación cromatográfica

El análisis HPLC se realizó con un sistema Agilent 1200 serie LC de rápida resolución (Agilent Technologies, Palo Alto, CA, EE.UU.) equipado con una bomba binaria, un muestreador automático y un detector de red de diodos (DAD). La separación se lleva a cabo con una columna analítica, ZORBAX Eclipse Plus C18 150 mm × 4.6 mm, tamaño de partícula de 1.8 μm). La elución en gradiente se llevó a cabo usando dos programas diferentes. Un programa de gradiente 1 se utiliza para el modo de ionización negativo MS que consta de un 1% de ácido fórmico en acetonitrilo - agua (90:10, v/v) (fase A) y acetonitrilo (fase B) a un caudal constante de 0,5 ml / min usando el siguiente gradiente: 0-20 min, gradiente lineal de 5 % B a 20 % de B; 20-25 min, gradiente lineal desde 20 % de B a 40 % de B; 25-30 min, gradiente lineal de 40% B a 5 % de B; y 30-35 min, isocrático de 5 % de B. Posteriormente un método cromatográfico diferente (programa de gradiente 2) se utilizó para el modo de ionización positivo MS. Debido a su equilibrio ácido-base, las antocianinas necesitan un pH más ácido, por lo que el gradiente se modificó de la siguiente manera: ácido fórmico - agua (90:10, v/v) (fase A) y acetonitrilo (fase B) en una velocidad de flujo constante de 0.5 ml / min usando el siguiente gradiente: 0-13 min, gradiente lineal de 0% de B a 20 % de B; 13-20 min, gradiente lineal desde 20% de B a 30% de B; 20-25 min, gradiente lineal desde 30% de B a 80% de B; 25-30 min, gradiente lineal desde 80% de B a 0 % de B; y 30-35 min, isocrático de 0% de B.

La adición de ácido fórmico dio mejores resultados para la ionización de los compuestos en modo positivo. El volumen de inyección fue 10 μl para ambos programas de elución de gradiente. Los dos métodos diferentes fueron elegidos ya que los dos proporcionaron tiempos de análisis cortos y buenas separaciones cromatográficas. Datos de UV se recogieron usando DAD fijo en 280, 320, 360 y 520 nm.

### 8.1.5. Condiciones ESI -TOF -MS

El TOF-MS se realizó utilizando un microTOFTM (Bruker Daltonics, Bremen, Alemania) ortogonal con aceleración TOF espectrómetro de masas equipados con una interfaz (ESI) de ionización en electrospray. Los parámetros para el análisis se establecen utilizando los modos de iones negativos y positivos con espectros adquiridos en un rango de masas de 50 -1000 m/z. Los otros valores óptimos de los parámetros ESI -MS fueron: tensión capilar, 4500 V; temperatura del gas seco, 190°C; flujo de gas seco, 9.0 L / min; la presión del nebulizador, 2.0 bar; y la tasa de espectros 1 Hz. El flujo suministrado en el detector de MS de HPLC se dividió usando un divisor de flujo (01:02) para lograr ionización por electrospray estable y obtener resultados reproducibles. El calibrador era un clúster de formiato sódico que contiene hidróxido de sodio 5 mM y ácido fórmico al 0.2 % en isopropanol - agua (01:01, v / v), se inyecta en él al comienzo de cada serie con una bomba Cole Palmer 74900-00-05, jeringa (Vernon Hills, IL, EE.UU.), conectado directamente a la interfaz. Todos los espectros fueron calibrados antes en el compuesto de identificación. Todas las operaciones se controlaron mediante el analizador de datos software 3.4 (Bruker Daltonik), que proporciona una lista de posibles fórmulas elementales mediante el uso de la GeneraMolecularFormula TM Editor.

### 8.1. 6. Evaluación del método

La cuantificación se hizo de acuerdo con las curvas de calibración lineales de los compuestos estándar. Cuatro curvas de calibración se prepararon usando los siguientes estándares: miricetina, ácido p-cumárico, 7 - hidroxycumarina y procianidina A<sub>2</sub>. Los diferentes parámetros de cada compuesto estándar se resumen en la Tabla 8.1. Todas las curvas de calibración muestran una buena linealidad entre las diferentes concentraciones dependiendo de los analitos en cuestión. Las curvas de calibración revelaron buena correlación entre áreas de los picos y las concentraciones de analito, y los coeficientes de regresión fueron siempre superiores a 0.995. LOD siempre estuvo dentro de la gama 0.053-0.233 µg/mL mientras que el límite de cuantificación estuvo dentro de 0.175-0.679 µg/ml. Se desarrollaron dentro del mismo día y entre días precisiones para evaluar la repetibilidad/reproductibilidad del método. Se inyectó un extracto de jarabe (n = 6) durante el mismo día (precisión intradía) durante 3 días consecutivos (precisión entre días, n = 18). Se determinaron las desviaciones estándar relativas (RSD) del tiempo de análisis y el área del pico. La repetibilidad intradía del área del pico, expresada por el RSD, fue de 1.2 %, mientras que la repetibilidad interdía era 3.8 %. La precisión del ensayo se pudo determinar por la cercanía del valor de la prueba para el valor nominal y se evaluó con soluciones preparadas por separado, individuales stock primario, mezclas y soluciones de trabajo de todos los estándares.

Se calculó sobre el rango lineal dinámico a tres niveles de concentración: bajo (LC), medio (valor de concentración intermedia de la gama de calibración lineal), alto (valor de la concentración más alta de la gama de calibración lineal) a través de tres ensayos por concentración en días diferentes. Las concentraciones de analito se calcularon a partir de curvas de calibración y la exactitud se calculó por la relación de esta concentración calculada con respecto al teórico.

**Tabla 8.1.** Método de parámetros analíticos.

Analito	RSD	LOD (g/mL)	LOQ (g/mL)	Rango calibración (g/mL)	Ecuación calibración	r <sup>2</sup>	Precisión
Miricetina	0,23	0,053	0,175	LOQ-25	$y = 22.852x + 21.117$	0.996	98.7
A.p-cumarínico	0,31	0,204	0,679	LOQ-250	$y = 127.13x + 7.2384$	0.999	99.2
Proantocianidina A <sub>2</sub>	0,36	0,152	0,287	LOQ-100	$y = 5.8648x + 3.8544$	0.997	101.3

## **8.2. Definición de la muestra**

Entre los años 2009 y 2010, se reclutan niños atendidos en las consultas de nefrología y urología infantil de nuestro Hospital con edades comprendidas entre 1 mes y 13 años. El área hospitalaria de referencia comprende una población de 273.000 habitantes de los que al menos 35.000 tienen una edad inferior a 14 años y son atendidos en el servicio de pediatría. La incidencia acumulada de infección urinaria en los primeros 5 años de vida es del 5%. De estas infecciones urinarias se considera que el 25% asocian algún grado de reflujo y que al menos un 20% van a tener una segunda infección urinaria en el año siguiente. Ello supone que son diagnosticadas todos los años 2600 nuevas infecciones de orina, en las que se detectará algún grado de reflujo vesicoureteral en 650 niños y en 520 se presentará recurrencia de la infección urinaria.

## **8.3. Selección de la muestra y criterios de inclusión y exclusión.**

Se valoran como criterios de inclusión un antecedente de infección urinaria recurrente (más de 2 episodios de infección en los últimos 6 meses) asociada o no a reflujo vesicoureteral de cualquier grado o cualquier otra alteración nefrourológica. La confirmación de infección urinaria se realiza por urocultivo ( $>100.000$  UFC/ml) en una muestra de orina recogida al acecho o con bolsa colectora de orina, previa asepsia de meato uretral con clorhexidina o más de  $10.000$  UFC/ml si la orina se obtuvo tras sondaje. En ambos casos se valora la existencia de un sedimento de orina con más de 20 leucocitos por campo.

Se consideran como criterios de exclusión en el estudio las siguientes situaciones:

- Coexistencia de otras enfermedades infecciosas.
- Coexistencia de enfermedades metabólicas.
- Insuficiencia renal.
- Insuficiencia hepática.
- Existencia de alergia o intolerancia a alguno de los componentes del extracto de arándano o amoxicilina.
- Deseo manifiesto del responsable legal de no participar en el estudio.



**Tabla 8.2.** Relación de pacientes incluidos en el estudio.

Identificación	Nombre (encriptado)	Fecha de nacimiento	Historia
1	☪☪☪☪ ☪☪☪☪ ☪☪☪☪☪☪	02.02.2010	760118
2	☪☪☪☪☪☪ ☪☪☪☪ ☪☪☪☪	19.03.2009	728756
3	☪☪☪☪ ☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪	10.11.2004	663012
4	☪☪☪☪ ☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪	19.02.2005	373934
5	☪☪☪☪ ☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪	08.02.2003	722250
6	☪☪☪☪ ☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪	15.01.2006	619809
7	☪☪☪☪ ☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪	30.11.2007	714735
8	☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪	02.08.2000	.
9	☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪	28.02.2006	625079
10	☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪	09.07.2010	763822
11	☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪	01.11.2007	702953
12	☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪	17.11.2008	720509
13	☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪	02.09.2010	767526
14	☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪	24.03.2010	755448
15	☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪	25.02.2005	590662
16	☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪	19.10.2007	704684
17	☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪	09.03.2008	701186
18	☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪	23.08.2007	733223
19	☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪	31.05.2009	746213
20	☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪	23.05.2009	731396
21	☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪	07.03.2010	755232
22	☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪	13.07.2010	764116
23	☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪	10.11.2001	329212
24	☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪	05.03.1999	502804
25	☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪	17.10.2009	751560
26	☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪	05.06.2009	732794
27	☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪	12.02.2002	535246
28	☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪	18.12.2000	744894
29	☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪	06.04.2006	730027
30	☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪	07.06.2010	761457
31	☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪	12.06.2010	765579
32	☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪	31.07.2009	740678
33	☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪	27.12.2007	688907
34	☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪	19.06.2000	725592
35	☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪	17.02.2009	724093
36	☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪	22.07.2007	671122
37	☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪	07.08.2008	727745
38	☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪	23.12.2008	723828
39	☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪	17.08.2009	739268
40	☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪	18.04.2009	760020
41	☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪	18.10.2002	527747
42	☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪	05.12.2005	728924
43	☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪	17.09.1997	415877
44	☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪	17.12.2009	749095
45	☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪	01.02.2008	688849
46	☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪☪	11.01.2009	722680

**Tabla 8.2.** Relación de pacientes incluidos en el estudio.

Identificación	Nombre (encriptado)	Fecha de nacimiento	Historia
47	*□□□□ ♡□□□□□ *□□□□□	15.07.2001	733956
48	*□□□□ ♡□□□□□ *□□□□□ ↗□□□□□	17.01.2002	730585
49	*□□□□□ □□□□□ □□□□□□	06.10.2008	722655
50	*□□□□□ ♡□□□□ □□□□□ *□□□□□□□	17.06.2010	763104
51	*□□□□□ □□□□□ ♡□□□□□□□□□	25.07.2008	.
52	*□□□□□□□ □□□□□ □□□□□□	13.11.2009	745221
53	☼□□□□ □□□□□□□□ □□□□□□	21.04.2009	728639
54	☼□□□□ □□□□□ □□□□□	16.10.2009	745854
55	☼□□□□ □□□□□□□□ □□□□□	15.07.2009	740572
56	☼□□□□□ *□□□□□□□ ♡□□□□	31.10.2010	772344
57	☼□□□□□ *□□□□□ ↗□□□□□□	06.10.2007	697159
58	☼□□□□□ □□□□□ □□□□□□□	07.01.2009	719196
59	☼□□□□□ □□□□□□ □□□□□	16.08.2009	739560
60	☼□□□□ *□□□□□ ↗□□□□□	24.06.2010	762713
61	☼□□□□ *□□□□□ *□□□□□	27.01.2009	720957
62	☼□□□□ *□□□□□ *□□□□□	06.01.2009	719104
63	☼□□□□ □□□□□ ♡□□□□□□	19.03.2006	723865
64	☼□□□□ ↗□□□□□ □□ □□□□ □□□□□	22.05.2010	760439
65	☼□□□□ ↗□□□□□ □□□□□□□	30.09.2008	710709
66	☼□□□□□ □□□□□□□ □□□□□□□	18.06.2008	715539
67	☼□□□□ □□□□ □□□□□□□	07.03.2008	693387
68	☾□□□□ □□□□ *□□□□□	11.09.2010	768121
69	☾□□□□□□□ *□□□□□ ↗□□□□□	24.05.2008	733226
70	☾□□□□ *□□□□□□ □□□□□	27.09.2008	712947
71	☾□□□□□ ♡□□□□□ *□□□□□□	25.04.2002	512786
72	☾□□□□ *□□□□□□ □□□□□□	17.01.2006	728236
73	☾□□□□□ □□□□ □□□□□□	08.08.2009	765580
74	*□□□□□ ☾□□□□□□ □□□□□□□	19.05.2002	707306
75	*□□□□□□□ *□□□□□ ♡□□□□□	18.12.2009	758508
76	*□□□□□□□ □□□□□ □□□□□ ↗□□□□□	22.06.2009	748754
77	↗□□□□□ □□□□□□ *□□□□□□□□	24.11.2009	749800
78	↗□□□□□□□ ↗□□□□□ *□□□□	17.04.2009	732657
79	↗□□□□□□ □□□□□ □□□□□□□	26.08.2007	675827
80	↗□□□□□□□ □□□□ □□□□□□	01.03.2009	752695
81	□□□□□□ ↗□□□□□□□ ↗□□□□□□ □□□□□	13.10.2008	714688
82	□□□□□ *□□□□□□□ □□□□□	17.01.2010	752064
83	□□□□□ *□□□□□□□ □□□□□	28.10.2008	718339
84	□□□□ □□□□□ □□□□□	05.07.2010	763477
85	□□□□ □□□□□□ *□□□□□	26.07.2010	764931
86	□□□□ □□□□□ □□□□□	17.02.2010	752579
87	□□□□□□□□□ ↗□□□□□□□ ♡□□□□□	02.06.2004	649362
88	□□□□□ □□□□□□ ↗□□□□□□	17.01.2007	654243
89	□□□□□□ □□□□□ □□□□□	13.11.2009	745220
90	□□□□□□ □□□□ □□□□□	21.08.2004	575804
91	□□□□ □□□□□ □□□□□	13.09.2010	768353
92	□□□□ □□□□□ *□□□□□ □□□□□	19.09.2003	593070
93	□□□□□□□ *□□□□□□ *□□□□□	09.01.2009	723684

**Tabla 8.2.** Relación de pacientes incluidos en el estudio.

Identificación	Nombre (encriptado)	Fecha de nacimiento	Historia
94	██████ *██████████ ↗██████████	19.12.2007	700581
95	██████████████████ ☹██████████	19.04.2008	.
96	██████████████████ ↗██████████	09.11.2002	529747
97	██████ *██████ *██████████████████	06.10.2007	677880
98	██████████ ██████████ ██████████	27.12.2009	751108
99	██████████████████ ██████████	09.09.2007	677383
100	██████████████████ ████████████████████	14.10.2007	678918
101	██████ ☹██████████ *██████ ☹██████████	06.06.2008	719427
102	██████ ███████ *██████████████████	02.06.2009	743516
103	██████ ██████████ ██████████	22.06.2008	702855
104	██████ ████████████████████████████████	17.12.2009	747857
105	██████████ *██████████ ██████████	09.12.2008	716892
106	██████████████████████████████ *██████████ ↗██████████	08.11.2006	644135
107	██████████████████ ☹██████	31.07.2003	600756
108	██████████████████ *██████████	08.03.2010	755406
109	██████ ███████ *██████████████████	13.08.2003	558951
110	██████████ *██████████ ☹██████████	17.05.2002	512287
111	██████████████████ ██████████	08.10.2002	531963
112	██████████████████ ↗██████████████████	23.06.2005	633683
113	██████████████████████████████ *██████████	04.04.2009	727194
114	██████████████████ ████████████████████	14.11.2008	715394
115	██████████████████ ↗██████████████████	14.09.2008	710180
116	██████████████████ ██████████	10.03.2008	696665
117	██████████████████ ↗██████████	06.04.2007	748312
118	██	16.07.2004	759405
119	██████████ *██████████████████ ██████████	31.12.2004	588004
120	██████████████████ ██████████ *██████████	15.11.2008	740327
121	██████████ ☹██████████████████████████████████████	05.08.2000	474293
122	██████████ ☹██████████████████████████████████████	14.08.2006	749267
123	██████████ *██████████████████ ██████████	10.04.2005	.
124	██████████ *██████████████████ ██████████	12.06.2007	678295
125	██████████ *██████████████████ ██████████	09.12.2008	716888
126	██████████ ↗██████████████████ ☹██████████	16.03.2009	726461
127	██████████ ███████ ████████████████████████████████	03.04.2010	760994
128	██	01.03.2007	704502
129	██████████████████ ██████████	15.10.1999	439970
130	██████████████████ ██████████	23.10.2002	542049
131	██████████████████ ████████████████████	11.12.2007	684759
132	██	22.05.2009	731640
133	██████████████████ ████████████████████	04.02.2010	751429
134	██████████████████ ████████████████████	06.11.2001	502227
135	██████████ ↗██████████████████ ██████████	04.10.2009	745920
136	██████████████████ ████████████████████	12.11.2005	765194
137	██████████████████ ██████████ *██████████	22.07.2007	684243
138	██ *██████████████████	29.08.2006	747183
139	██████████ *██████████████████ ☹██████████	10.08.2007	630643
140	██████████████████ ██████████ *██████████	01.08.2001	739008

**Tabla 8.2.** Relación de pacientes incluidos en el estudio.

Identificación	Nombre (encriptado)	Fecha de nacimiento	Historia
141	██████ ██████ ██████ ██████	06.06.2006	635190
142	██████ ██████ ██████ ██████	09.07.2009	737861
143	██████ ██████ ██████	29.09.2008	721691
144	██████ ██████ ██████ ██████	24.08.2006	686879
145	██████ ██████ ██████ ██████	17.02.2009	.
146	██████ ██████ ██████	23.12.2008	719612
147	██████ ██████ ██████	05.03.2003	543459
148	██████ ██████ ██████ ██████	26.09.2006	645325
149	██████ ██████ ██████	12.10.2009	744309
150	██████ ██████ ██████	19.11.2005	572978
151	██████ ██████ ██████ ██████	16.06.2008	701757
152	██████ ██████ ██████ ██████	05.11.2005	609649
153	██████ ██████ ██████	13.12.2009	749975
154	██████ ██████ ██████ ██████	02.02.2008	696442
155	██████ ██████ ██████	30.12.2004	701389
156	██████ ██████ ██████ ██████	03.05.2006	550388
157	██████ ██████ ██████	17.05.2008	703436
158	██████ ██████ ██████	22.03.2006	627178
159	██████ ██████ ██████ ██████	29.09.2007	759402
160	██████ ██████ ██████ ██████	08.12.2004	582788
161	██████ ██████ ██████ ██████	20.09.2006	642819
162	██████ ██████ ██████	20.03.2008	693590
163	██████ ██████ ██████	10.11.2004	553244
164	██████ ██████ ██████ ██████	27.06.2008	709804
165	██████ ██████ ██████ ██████	03.01.2010	748950
166	██████ ██████ ██████ ██████	27.03.2009	727454
167	██████ ██████ ██████ ██████	02.01.2008	726895
168	██████ ██████ ██████ ██████	07.09.1999	747946
169	██████ ██████ ██████ ██████	22.06.2008	716809
170	██████ ██████ ██████ ██████	09.04.2009	727588
171	██████ ██████ ██████ ██████	14.10.2007	679305
172	██████ ██████ ██████ ██████	06.03.2005	593006
173	██████ ██████ ██████ ██████	19.11.2008	716798
174	██████ ██████ ██████ ██████	17.08.2008	707525
175	██████ ██████ ██████ ██████	19.09.2008	715075
176	██████ ██████ ██████ ██████	27.02.2007	669127
177	██████ ██████ ██████ ██████	08.11.2007	688992
178	██████ ██████ ██████ ██████	30.06.2009	734656
179	██████ ██████ ██████ ██████	04.06.2007	667824
180	██████ ██████ ██████ ██████	31.10.2000	468505
181	██████ ██████ ██████ ██████	29.09.2006	660829
182	██████ ██████ ██████ ██████	06.11.2007	680501
183	██████ ██████ ██████ ██████	30.06.2007	675636
184	██████ ██████ ██████ ██████	16.10.2006	659390
185	██████ ██████ ██████ ██████	04.10.2003	556336
186	██████ ██████ ██████ ██████	28.08.2008	721842

**Tabla 8.2.** Relación de pacientes incluidos en el estudio.

Identificación	Nombre (encriptado)	Fecha de nacimiento	Historia
187	□□□□□ □□□□□ □□□□□	01.11.2008	713607
188	□□□□□ □□□□□□ □□□□□	22.08.2009	741004
189	□□□□□ □□□□□ *□□□□□□□ □□□□□□□	16.07.2008	730317
190	□□□□□ □□□□□ □□□□□	27.02.2008	716136
191	□□□□□ □□□□□ □□□□□	13.08.2003	691979
192	□□□□□ □□□□□ □□□□□□□	27.01.2009	721185

#### 8.4. Calculo del tamaño muestral

Aun cuando los cálculos proporcionan datos aproximados, estos son importantes porque permiten tener una idea de cuántos sujetos deberían participar en el estudio y si sólo se dispone de un número fijo de estos, nos puede indicar si realmente vale la pena emprender la investigación dado que la población a la que tenemos acceso puede ser inferior a la recomendada para alcanzar significación estadística.

Un conjunto de variables deberán ser consideradas en esta estimación <sup>41</sup>:

##### a) *Error alfa:*

Corresponde, según la definición usual a "la probabilidad de rechazar la hipótesis nula cuando esta es verdadera". El investigador deberá establecer hasta qué punto estará dispuesto a aceptar que los hallazgos de interés pudieran ser justificados por variaciones explicables por el azar. Convencionalmente, se considera en estudios clínicos un error alfa aceptable de 5% o menor, aunque más precisamente inferior a 5%. Ello significa que si bien los resultados pudieran ser explicados por el azar en 5 o menos de cada 100 veces que se repitiera la experiencia, se decidirá interpretarlos, en tales circunstancias, como no atribuibles al azar, es decir, "significativos". La elección de un error alfa más pequeño (por ejemplo 1%) proporciona mayor probabilidad que los resultados de interés correspondan a una situación real. Sin embargo, aumenta el riesgo de atribuir al azar hallazgos que no debieran ser interpretados de tal modo (puesto que sólo sería "significativo" un valor de "p" igual o menor a 0,01 (1%)).

En los cálculos se emplea el valor "Z de alfa" ( $Z_{\alpha}$ ) que corresponde en la curva normal estandarizada al número de desviaciones estándar que aplicadas en ambos lados del promedio cero dejan fuera un área de 5% (correspondiente al error alfa elegido) (en cada cola queda entonces 2,5%).  $Z_{\alpha}$  para alfa 5% (0,05) en prueba bilateral es igual a 1,96 y para prueba unilateral es 1,64.

##### b) *Error beta*

Este error corresponde a la probabilidad de no detectar un hallazgo como importante y atribuirlo al azar. Habitualmente se le define como "la probabilidad de no rechazar la hipótesis nula cuando esta es falsa". En estudios clínicos se considera apropiado un nivel de error beta de 20%. Naturalmente, se puede utilizar un nivel menor. Como sea, el poder del estudio, es decir la probabilidad de rechazar la hipótesis

nula cuando es falsa, es igual a 100 menos el error beta. Esto significa que habitualmente se trabaja con un poder de 80%.

Es importante destacar que la reducción del error beta invariablemente va acompañada de aumento del error alfa, para un mismo tamaño muestral. Una reducción de ambos errores sólo es posible aumentando el tamaño de la muestra.

En los cálculos se emplea el valor "Z de beta" ( $Z\beta$ ) que corresponde al número de desviaciones estándar de la curva normal estandarizada que deja fuera, unilateralmente, un área igual al error beta escogido, 20% si empleamos poder de 80%.  $Z\beta$  en este caso es igual a 0,84 y si el error beta es 10% (0,10) el valor es 1,28.

#### c) *Diferencia clínicamente significativa*

Aquí se puede suponer una comparación entre dos grupos en un ensayo clínico, donde se espera poder detectar una diferencia en los resultados. Esta diferencia no es cualquiera, sino una igual o mayor a cierto nivel que desde un punto de vista clínico sea de relevancia.

Un criterio similar se utiliza para elegir detectar razón de ventaja (OR), riesgo relativo (RR) o razón de verosimilitud (LR). Es importante tener presente que una misma diferencia inducirá a tamaños de muestra variables de acuerdo con los valores entre los que tal diferencia se establece. Así, 15% no opera igual si es entre 20% y 35% o entre 45% y 60%, por lo que no basta con plantear en qué magnitud serán diferentes los resultados. Si no se dispone de más información respecto a este asunto, la solución es ensayar diferentes cálculos y utilizar el tamaño muestral que resulte mayor. Si la falta de información no es solucionable con relativa facilidad, se puede efectuar un estudio piloto para obtener una aproximación. En tales circunstancias se recurriría a los intervalos de confianza de los estadígrafos de interés para obtener tamaño mínimo y máximo probable requerido para el estudio.

Mucho interés tiene la orientación que se requiere al pretender verificar "igualdad de resultados". Esta situación, planteada en nuestro estudio, podría corresponder a la comparación de un tratamiento ya aceptado con otro que tiene varias ventajas (requiere menos dosis al día, es menos costoso, etc.), aunque se supone que genera resultados iguales. Si se establece "cero" como diferencia a detectar, el tamaño de la muestra ascendería a infinito, por ello es necesario plantear la detección de la diferencia más grande que no sea clínicamente significativa. Así, si se plantea que cualquier diferencia igual o menor a 6% se considerará como sin importancia, el estudio será diseñado como capaz de pesquisar esta última cifra. Entonces, si ambos tratamientos aparecen como comparables ( $p > 0,05$ ), se podrá pensar que o son iguales o difieren en una cuantía igual o menor que 6%, lo que ya fue declarado como sin importancia clínica.

#### d) *Hipótesis uni o bilateral*

Un aspecto muy importante a considerar es si el tamaño de la muestra se está estimando para la verificación de una hipótesis uni o bilateral. Esto se refiere a que si al comparar dos grupos la hipótesis es que los resultados diferirán sin poder predecir de seguro cuál grupo resulta mejor o más favorable (bilateral, porque A puede ser mejor

que B o viceversa), o definitivamente se postula que, específicamente, uno de los grupos dará mejores resultados. El problema planteado corresponde a lo siguiente: si se realiza un ensayo clínico controlado para probar un nuevo tratamiento, comparándolo con aquel generalmente aceptado, sólo es éticamente aceptable que el investigador, aunque tenga sus esperanzas puestas en que el nuevo tratamiento es mejor, no sabe si ello es así y por tanto la hipótesis debe contemplar la posibilidad que el nuevo tratamiento resulte comparable o aun inferior al generalmente utilizado. Se entiende que si el investigador está razonablemente convencido que el nuevo tratamiento es mejor, simplemente no puede someter al grupo control a una terapia que considera inferior, menos efectiva. Esta es una de las razones por las que en el diseño de nuestro estudio se considera el comparador con trimetoprim en lugar de placebo.

En los ensayos clínicos controlados y randomizados, la intención más común es evaluar si un tratamiento es mejor que otra estrategia o un placebo establecido como control. La pretensión en este caso es demostrar la eventual “*superioridad*” de un tratamiento respecto de otro.

Un problema cada vez mas frecuente en el diseño de ensayos clínicos es la necesidad de comparar intervenciones no contra placebo, sino contra procedimientos o fármacos que ya han demostrado su utilidad en ensayos previos contra placebo, o que en la práctica son considerados como estrategias standard de tratamiento. En algunos casos el estudio puede mantener la hipótesis de que el nuevo tratamiento será “superior” al previo frente a la reducción de eventos clínicos relevantes (internaciones, recidivas de tumores, mortalidad) lo que permite mantener un diseño clásico. En otras circunstancias no se esperan ventajas sobre estos puntos finales, pero algunas características de la nueva medicación la hacen preferible (facilidad de la administración, menores costos o efectos adversos). En este caso el ensayo se orienta a demostrar que la nueva intervención tiene efectos “similares” o “no inferiores” sobre el evento clínico relevante, lo que permitirá luego su utilización clínica sobre la base de otras ventajas colaterales o simplemente como una alternativa frente a quienes no pueden recibirlo por intolerancia o hipersensibilidad.

La expectativa consiste en que la nueva estrategia, aun sin ser superior, conserve una “equivalencia clínica”. Esta propuesta guarda similitud conceptual con los ensayos farmacológicos de biodisponibilidad de nuevas formas farmacéuticas o genéricos, que deben demostrar que conservan las propiedades bioquímicas de la droga o la forma de administración original, es decir, son “bioequivalentes”.

El concepto de “equivalencia clínica” tiene valor conceptual, porque transmite la idea de una similitud en la acción del fármaco. Desde el punto de vista estadístico, la demostración de una “equivalencia” implica que la nueva intervención no es superior ni inferior. La mayoría de los autores prefieren no utilizar actualmente el concepto de equivalencia por un motivo entendible: si la nueva estrategia es superior a la previa, no es equivalente. Y si no demuestra superioridad, nuestro único interés es establecer que no sea inferior. De tal manera que cuando se proyecta un ensayo con una nueva intervención que se estima no superará a la previa, todo el diseño se aplica a demostrar que no es inferior. Este diseño de ensayo es el denominado de “no inferioridad”.

Del análisis de estudios previos <sup>42,42,43</sup>, se parte de un riesgo de recurrencia de infección urinaria del 20% durante el primer año de vida. El presente estudio considera

que el arándano americano es equivalente a la profilaxis de la infección urinaria con trimetoprima. El límite de equivalencia se estima en  $\pm 10\%$ . El error alfa se estima en  $5\%$  y la potencia del estudio en  $80\%$ . De acuerdo con estos parámetros el tamaño muestral se estimó en 109 pacientes en cada grupo.

Para el análisis de no inferioridad se consideró una diferencia de la prevalencia del efecto (d) de 0.105

( $18.9\% - 8.4\% = 10.5\%$ ),

$$SE = \sqrt{\frac{\text{Var.cranberry}}{n1} + \frac{\text{Var.trimethoprim}}{n2}};$$

$$SE = \sqrt{\frac{0.174}{37} + \frac{0.203}{58}} = 0.09.$$

El límite de equivalencia se estimó como  $\pm 0.1$  ( $10\%$ )  $\rightarrow \delta_L = -0.1, \delta_U = 0.1$ ;  $z_\alpha = 1.96$ .

En nuestro estudio evaluamos la no inferioridad del arándano americano sobre el trimetoprim en la profilaxis de la infección urinaria recurrente. Contemplamos un hipótesis unilateral, es decir de no inferioridad:

$$H_{1L} = \text{Pr}_{\text{arándano americano}} - \text{Pr}_{\text{trimethoprim}} > \delta_L \rightarrow H_{0L} = \text{Pr}_{\text{arándano americano}} - \text{Pr}_{\text{trimethoprim}} \leq \delta_L$$

Que se evidencia por el estadístico  $z_L = \frac{d - \delta_L}{SE}$ ;  $z_U = \frac{d - \delta_U}{SE}$

## 8.5. Definición de variables.

Seguidamente se describen las variables estudiadas en el presente proyecto de Tesis doctoral.

### 8.5.1. Creatinina urinaria

La creatinina es una sustancia que es excretada por los riñones en individuos sanos. Constituye uno de los productos intermedios del metabolismo energético muscular y es producido a una velocidad constante, de acuerdo con la masa muscular de cada individuo, deriva concretamente de la creatina muscular. La producción de creatinina es constante siempre y cuando la masa permanece íntegra. Debido a que la creatinina es filtrada por el riñón en cualquier intervalo de tiempo es excretada en la orina, la cifra de la creatinina es equivalente a la velocidad de filtración glomerular (VFG). Las alteraciones de la función renal impiden la excreción máxima de creatinina por lo que aumentará en sangre, se mide en mg/dl.



La prueba de la depuración de creatinina (medición de la creatinina urinaria) forma parte de muchas pruebas urinarias cuantitativas. Se mide al mismo tiempo otros componentes urinarios y sirve para interpretar la excreción global de varios componentes urinarios. La depuración de creatinina urinaria se mide en forma de ml/min.

### **8.5.2. Urea urinaria**

La urea es el producto final del metabolismo de las proteínas en los seres humanos. Con una excreción diaria de 20 a 35 gramos supone la mayor cantidad de todas las sustancias eliminadas por los riñones. Un aumento de la degradación de proteínas conduce a un aumento en la excreción de urea. Se mide en gr/l. En sangre se mide en mg/dl.

### **8.5.3. Glucosa urinaria**

La glucosa es un azúcar simple, la principal fuente de energía utilizada por las células del organismo. Normalmente no hay glucosa en la orina o se encuentra en cantidades muy escasas (0-0.8 mmol/l o 0-15 mg/dl). Se mide en mg/dl. La presencia de glucosa en orina se denomina glucosuria y obliga a estudio de la glucosa sanguínea y detección de la causa de aumento.

### **8.5.4. Acido úrico urinario**

Es un producto de desecho del metabolismo de nitrógeno en el cuerpo humano (el producto de desecho principal es la urea), en concreto es el producto principal derivado del metabolismo de las purinas (sustancias que se encuentran en gran parte de alimentos y bebidas así como en el organismo, siendo parte de los ácidos nucleicos de las células) y se encuentra en la orina en pequeñas cantidades. La presencia de ácido úrico en orina se denomina uricosuria y se mide en mg/24 horas. En sangre se denomina uricemia y se mide en mg/dL.

### **8.5.5. Sodio urinario**

Es el principal catión del líquido extracelular y la principal partícula osmótica fuera de la célula, es liberado en el filtrado glomerular y aproximadamente el 60% de esta cantidad es filtrada y reabsorbida isotómicamente por el túbulo proximal. Se denomina natriuria y se mide en mg/24 horas o mEq/día. En sangre se denomina natremia y se mide en mEq/L. La excreción de sodio urinario puede verse afectada por diversas situaciones patológicas, fisiológicas así como determinados fármacos y bebidas.

### **8.5.6. Potasio urinario**

Es el principal catión intracelular, el 2% del potasio total del cuerpo es extracelular, los riñones excretan 80-90% del potasio ingerido. La cantidad de potasio urinario excretado varía relativamente con la dieta (alimentos y/o medicinas), hiperaldosteronismo, acidosis tubular renal. Aunque la excreción del potasio en la orina varía con la ingesta y la concentración se ve afectada por la ingesta de líquidos, la determinación del potasio en orina de 24 horas proporciona un valor más consistente.

Se denomina caliuuria y se mide en mEq/día. En sangre se denomina calemia y se mide en mEq/L.

#### **8.5.7. Cloro urinario**

El cloro es una molécula cargada negativamente conocida como electrolito. Funciona con otros electrolitos, como el potasio, el sodio y el dióxido de carbono para ayudar a conservar equilibrio apropiado de líquidos corporales y mantener el equilibrio ácido-básico del cuerpo. Se denomina cloruria y normalmente presenta grandes variaciones, en relación con la ingesta de sal, pudiendo alcanzar cifras que oscilan entre los 5 y los 20 g en las 24 horas (80 a 200 mEq de cloro y de sodio). Se mide en mEq/24 horas o gr/24 horas.

#### **8.5.8. Calcio urinario**

Se denomina también calciuria y se mide en mg/ 24 horas. Evalúa la velocidad de absorción de calcio intestinal, resorción por el hueso y pérdida renal. Aquellos procesos relacionados con la hormona Paratiroidea y los niveles de Vitamina D. Los valores son dependientes de la ingesta de calcio en la dieta.

#### **8.5.9. Microalbuminuria**

El hallazgo de albúmina en orina es un fenómeno normal en todos los individuos que con métodos sensibles de medición, su valor normal es de menos de 30 mg/día. Valores persistentes entre 30 y 300 mg/día se consideran como microalbuminuria y mayores a 300 mg/día se consideran macroproteinuria o proteinuria clínica. La orina de 24 horas es el patrón de oro para la medición de albuminuria, pero se acepta que para escrutinio, pueden usarse colecciones de menor tiempo o una muestra aislada de orina. Por la mañana si se va a utilizar una muestra aislada, es mejor relacionar la albuminuria con la creatininuria (albumina mg/mg creatinina) ya que ésta última se elimina en forma casi constante durante todo el día.

La microalbuminuria es el hallazgo clínico más temprano de la enfermedad renal y es considerado un marcador independiente de enfermedad cardiovascular.

#### **8.5.10. Cociente albumina/creatinina**

La medición del cociente albúmina-creatinina o de proteínas-creatinina en una muestra aislada de orina ofrece una estimación adecuada de la excreción urinaria de proteínas o albúmina en 24 horas, dado que se compara la excreción de albúmina en relación a la creatinina que se excreta de una forma constante a lo largo del día, de este modo podemos valorar si la excreción de albúmina está siendo proporcionalmente más alta a la de creatinina. Se mide en mg/g.

### 8.5.11. Urocultivo y antibiograma

El urocultivo es el cultivo de una muestra de orina, que determina la existencia o no de crecimiento bacteriano en dicha muestra, debe permitir el aislamiento y recuento cuantitativo de unidades formadoras de colonias (UFC) bacterianas en relación a los mililitros de muestra. Se considerará positivo o no según el mayor o menor grado de esterilidad de la muestra cultivada que dependerá del método de recolección.

En este proyecto de tesis doctoral se han recogido las muestras de orina mediante bolsa colectora por lo que se considera positivo un recuento bacteriano de >100.000 ufc/ ml.

El antibiograma es la prueba microbiológica que se realiza para determinar la susceptibilidad (sensibilidad o resistencia) de una bacteria a un grupo de antibióticos. Las técnicas de antibiograma son las utilizadas en el laboratorio de microbiología para estudiar la actividad de los antimicrobianos frente a los microorganismos aislados en un cultivo.

### 8.5.12. Fechas de nacimiento, fecha de reclutamiento y fecha de alta en el estudio.

### 8.5.13. Tipo de alimentación.

**8.5.14. Edad (meses).** Se calcula la edad del paciente en el momento del reclutamiento como la diferencia entre la fecha de reclutamiento y la fecha de nacimiento.

**8.5.15. Tiempo de permanencia en el estudio (días).** Se calcula como la diferencia entre la fecha de alta y la fecha de reclutamiento.

**8.5.16. Tipo de intervención.** Define si el paciente recibe tratamiento experimental (arándano americano) o tratamiento estándar (trimetoprim).

**8.5.17. Dosis (ml).** Hace referencia a la cantidad de tratamiento administrado.

**8.5.18. Infección urinaria febril.** Variable cualitativa indica si existe fiebre en el momento de detectarse infección de tracto urinario por urocultivo con sedimento patológico.

## 8.6. Recogida de datos somatométricos

La exploración somatométrica se realizó conforme a los estándares habitualmente recomendados y que a continuación se resumen:

*a) Peso.* Se utilizó una báscula Atlántida calibrada antes de cada medida. El individuo se coloca encima de la plataforma de la báscula, sin apoyarse en sitio alguno, desprovisto de ropa, a excepción de la ropa interior. Su valor se expresa en Kg con un decimal.

*b) Talla.* La talla se obtuvo con un antropómetro de Harpenden-Holtain. En pie, de manera que sus tobillos, nalgas y hombros estén en contacto con la pieza vertical del aparato medidor. Los tobillos deben situarse juntos, de manera que los maleolos

internos contacten o estén muy próximos. Las manos y los brazos deben estar relajados, con las palmas vueltas hacia adentro. La cabeza debe situarse con el plano de Frankfurt paralela al suelo. Se debe deslizar la tabla horizontal del tallímetro hasta tocar la cabeza del sujeto, aplastar el pelo, realizando entonces la medición. Su valor se recoge en cm con un decimal.

b) *Índice de Masa Corporal de Quetelec (Peso/Talla<sup>2</sup>)*. Obtenido mediante el cociente del valor del peso (Kg) y el valor de la talla (m) elevada al cuadrado.

## 8.7. Enmascaramiento de las intervenciones

El acondicionamiento de los medicamentos en investigación se hace individualmente para cada paciente del ensayo clínico. El promotor comunicará semanalmente al Servicio de Farmacia del Hospital Clínico San Cecilio de Granada los números de Registro de los Cuadernillos de recogida de datos distribuidos a los Centros colaboradores, de forma que el Servicio de Farmacia tendrá conocimiento por anticipado de cuales serán las demandas de tratamiento.

Tras detenidos estudios, realizados en gran medida por CHR Hansen Farmaceutica, se obtiene que las propiedades organolépticas del jarabe de arándano americano pueden igualarse tras la adicción al jarabe de trimetoprima de los siguientes colorantes: CC 1000 WS (Carmin) al 1.2% y CA-50.000D-WS al 1% (caramelo); esta proporción de carmín superaba sobradamente los límites permitidos en el RD 2001/95 de 7 Diciembre. Por lo que finalmente optamos por añadir únicamente 0.1% de carmín (concentración permitida en dicho RD) y que confiere al jarabe un color rojo, que si bien no es exactamente igual que el del extracto de arándano, dado que las intervenciones se administran en botes opacos y cada participante sólo va a recibir una intervención consideramos poco probable que se rompa el enmascaramiento.

### 8.7.1. Acondicionamiento primario del jarabe de Trimetoprima (Tediprima®)

- i) Suspensión de Trimetoprima a 16 mg/ml en jarabe de glucosa.
- ii) Agua purificada.
- iii) Colorante CC-1000-WS (E-120); Lab CHR-Hansen).
- iv) Envases de color caoba de plástico, 150 ml.

El jarabe de trimetoprima que contiene 16 mg/ml de trimetoprima se diluye con agua purificada hasta alcanzar una concentración de 8 mg/ml. Se añadirá para enmascarar el color CC-1000-WS; Lab CHR-Hansen) (E-120) a una concentración de 0.1% (no superando las 100 ppm permitidas de carmín).

Se mezcla todo bien en el agitador mecánico (RZR 2041, Heidolph) y posteriormente se reenvasan en botes opacos (150 ml) con la máquina reenvasadora semiautomática (Repeater™ Pum, Baxa).

### **8.7.2. Acondicionamiento primario del jarabe de extracto de arándano**

- i) Extracto de arándano americano en jarabe de glucose al 3% suministrado por Laboratorios Pharmatoka (Francia).
- ii) Envases de color caoba de plástico, 150 ml (Guinama).

Reenvasado en botes de color caoba opacos de 150 ml.

### **8.7.3. Periodo de validez, conservación y registro**

Se efectuarán por parte del responsable del Servicio de Farmacia los registros de los lotes con el suficiente detalle para que pueda reconstruirse adecuadamente la secuencia de operaciones. Estos registros deben contener todas las observaciones pertinentes que incrementen el conocimiento del producto, mejoren las operaciones de fabricación, y justifiquen los procedimientos utilizados y cualquier cambio realizado.

La fecha de validez de cada intervención tras su reenvasado será de 1 mes. Una vez reenvasados ambas intervenciones se mantendrán refrigeradas hasta su distribución.

Los registros de fabricación de lotes se conservarán al menos durante los periodos especificados en la Directiva 2003/94/CE.

Las intervenciones (extracto de arándano y trimetoprima) se suministran para 1 mes y deben conservarse refrigerados para garantizar las máximas condiciones de estabilidad.

Se liberarán mensualmente lotes de ambas intervenciones en función del número de pacientes que se vayan incorporando al estudio. El promotor del ensayo facilitará en la última semana de cada mes un listado de los números de Registro que precisan tratamiento en cada Hospital Asociado al estudio.

El Servicio de Farmacia del Hospital Clínico San Cecilio a través de su Jefe de Servicio será la encargada de la Liberación de los Lotes, dicha evaluación incluye:

- Verificar el registro de los lotes liberados mensualmente.
- Verificar la Fecha de etiquetado y Acondicionamiento primario.
- Se realizará un examen visual de los lotes para que exista homogeneidad tanto en el contenido como en el etiquetado.
- Verificar la Fecha de envío y el destino al que corresponde.
- Verificación de las condiciones de almacenamiento y transporte.

El contenido de cada una de las intervenciones y su número de registro se extraerán del listado de aleatorización elaborado al efecto.

La documentación de los lotes se conservara 2 años después de la finalización del ensayo y en cumplimiento de la Directiva 2003/94/CE, además de muestras control.

### **8.7.4. Análisis de estabilidad de placebo**

- **Objetivo general**

El objetivo general del presente estudio es determinar la estabilidad química del antibiotico trimetoprima en jarabe preparado por dilución con agua a la mitad, a partir

de la especialidad farmacéutica “Tediprima 100 mL suspensión”. Se determinará la estabilidad del antibiótico durante un periodo de cuatro meses almacenado a temperatura ambiente y a 4 °C en frigorífico.

Este objetivo general se está desarrollando a través de los siguientes objetivos particulares:

- **Objetivos particulares**

1. Puesta a punto y caracterización de un método basado en cromatografía líquida para la determinación del antibiótico trimetoprima en presencia del conservante nipagín (*p*-hidroxibenzoato de metilo), atendiendo a la consecución de una adecuada separación del conservante nipagín, así como a una adecuada sensibilidad y reproducibilidad para este problema concreto.

2. Estudio de la estabilidad química de la trimetoprima almacenada en botellas opacas a temperatura ambiente y a 4 °C en frigorífico durante un periodo de 4 meses.

## **PLAN DE TRABAJO**

El plan de trabajo seguido para la consecución de los objetivos arriba indicados, se desarrolló a partir de dos bloques bien diferenciados, que se indican a continuación:

A. Desarrollo del procedimiento cromatográfico para la determinación del antibiótico trimetoprima.

- A.1. Estudio y evaluación del procedimiento propuesto por el Laboratorio Estedi, S.L. para la determinación de este compuesto mediante cromatografía líquida de alta resolución (HPLC).

- A.2. Adaptación de dicho proceso cromatográfico para la determinación de la trimetoprima en presencia del conservante nipagín. Selección de las condiciones cromatográficas y optimización de los parámetros químicos e instrumentales influyentes sobre la separación cromatográfica.

- A.3. Caracterización analítica del método cromatográfico (intervalo de linealidad, función de calibrado, límite de detección, límite de cuantificación, exactitud, precisión, etc) y validación del procedimiento analítico propuesto.

B. Estudio de estabilidad del antibiótico trimetoprima almacenada en botellas opacas a temperatura ambiente y a 4 °C en frigorífico durante un periodo de 4 meses.

## **MATERIALES Y MÉTODOS**

Este estudio se realizó en los laboratorios acondicionados para la realización de experimentación química e instrumentación que el Grupo de Investigación Espectrometría en Fase Sólida dispone en el Departamento de Química Analítica de la Universidad de Granada, así como en instalaciones de elaboración de mezclas intravenosas propias del Servicio de Farmacia del Hospital Universitario San Cecilio.

Todos los productos químicos usados en este estudio son de grado reactivo y el agua empleada es de tipo ósmosis inversa (Equipo Milli-RO 12 y Milli-Q de Millipore).

### *Reactivos*

Los estándares de referencia empleados han sido la trimetoprima y el nipagín amablemente cedidos por Laboratorio Estedi S.L. (Barcelona). También se han utilizado acetonitrilo y metanol calidad HPLC (Lab-Scan, Gliwice, Polonia).

Las disoluciones estándar de trimetoprima y nipagín de 250,0 mg/L fueron preparadas en metanol. A partir de estas disoluciones y mediante dilución también con metanol se prepararon las disoluciones intermedias y de trabajo. Se chequeó periódicamente la estabilidad de estas disoluciones, siendo estables durante al menos un mes guardadas en botellas opacas y refrigeradas a 4 °C.

La especialidad farmacéutica empleada en la elaboración de las muestras que se someten al estudio de estabilidad, es *Tediprima 100 mL suspensión* (Laboratorio Estedi, S.L.)

### *Instrumentación empleada*

Cromatógrafo de líquidos Agilent, serie 1100 equipado con bomba cuaternaria, desgasificador on-line, inyector automático, compartimento de termostatación de la columna y con detector de fila de diodos (DAD). Columna cromatográfica C-18 Agilent de 5 µm de tamaño de partícula y dimensiones 125 x 4,6 mm. Espectrofotómetro de diodos Hewlett Packard 8453. Balanzas analíticas Mettler AE 163, con rango de pesada 0,0001-160 g y precisión 0,1 mg, y AND GR 200, con rango de pesada 0,001-210 g y precisión de 1 mg. Frigorífico Indesit. Termómetros: Testo 175-t1 v01.02 Logger. Campana de flujo laminar horizontal clase 100 Telstar BH-10.

Además, se dispone de diferente material de uso común en un laboratorio de química analítica, así como de material de vidrio, normal y calibrado y reactivos químicos diversos.

### *Preparación de las muestras y almacenamiento*

Para el estudio de estabilidad se preparó un volumen adecuado de jarabe por dilución con agua a la mitad de la especialidad farmacéutica *Tediprima 100 mL suspensión*. Este volumen se almacenó a temperatura ambiente y a 4 °C en frigorífico en botellas ámbar de vidrio.

### *Estudio de estabilidad*

El estudio de estabilidad se realizó durante cuatro meses analizando el jarabe almacenado a temperatura ambiente y a 4 °C los días: 0, 1, 3, 5, 7, 15, 30, 45, 60, 75, 90, 105 y 120. Las condiciones de almacenamiento utilizadas fueron las siguientes: a temperatura ambiente y protegidas de la luz ambiental, y en frigorífico a temperatura de 4° C.

## CONTROLES DE CALIDAD

En cuanto al equipo cromatográfico, se ha verificado la deriva del detector, la linealidad del inyector, así como la reproducibilidad del inyector, encontrándose todos los valores dentro de los niveles de tolerancia establecidos previamente.

El control de temperatura de almacenamiento se realiza con el empleo de termómetros Testo 175-t1 v01.02 Logger colocados tanto en la habitación como en el frigorífico donde se conservaron los analitos.

## RESULTADOS

### Optimización de las variables cromatográficas.

En primer lugar se procedió a la adaptación del método propuesto por Laboratorio Estedi S.L. para la determinación cuantitativa del antibiótico trimetoprima en presencia del conservante nipagín. Para ello se tuvieron que modificar, el volumen de inyección, el intervalo de linealidad de la función de calibrado y el volumen de muestra de jarabe a analizar. También se procedió a ajustar el valor de pH de la fase móvil de manera que permitiera una correcta separación cromatográfica del antibiótico trimetoprima del conservante nipagín.

Así pues, las condiciones instrumentales empleadas para la determinación de la trimetoprima fueron:

- Volumen de inyección: 5  $\mu$ L.
- Velocidad de flujo: 1,0 mL/min.
- Composición fase móvil: Agua/acetonitrilo/trietilamina (175:50:0.25) ajustada a pH 5,45 con ácido acético diluido (1/100 en agua).
- Columna: C-18, 150 x 4,6 mm diámetro interno, 5  $\mu$ m tamaño de partícula, comuna analítica ODS (Agilent Technologies, USA).
- Temperatura de la columna: 25 °C.
- Longitud de onda: 250 nm.

### Determinación de parámetros característicos del método

Al objeto de caracterizar los parámetros analíticos del método de análisis empleado en el estudio de estabilidad, se obtuvo la función de calibrado, el intervalo de linealidad, y los límites de detección y cuantificación. Debido a la modificación introducida en el método inicialmente propuesto por Laboratorio Estedi S.L. en cuanto al volumen de muestra de jarabe a analizar, se procedió a un nuevo estudio de su repetibilidad (reproducibilidad para un mismo día) y su reproducibilidad (estudiada a 5 días).

#### *Función de calibrado e intervalo de linealidad*

El intervalo lineal de concentraciones es aquel en donde se cumple que la respuesta de la señal analítica con la concentración se ajusta a una función matemática



lineal del tipo  $y = a + bx$ . Para determinar este intervalo de concentraciones se emplearon disoluciones patrón de la trimetoprima, preparadas según el procedimiento indicado anteriormente, conteniendo concentraciones crecientes de la misma y replicando cuatro veces cada nivel de concentración ensayado. De esta manera, se pueden aplicar a los datos diversos test estadísticos para corroborar la linealidad de la función de calibrado así obtenida. El primer punto del intervalo de linealidad establecido fue el límite de cuantificación, mientras que el límite superior del intervalo de cuantificación se ajustó a las necesidades del problema. La Tabla 8.3 muestra el valor del intervalo de linealidad estudiado, así como la función de calibrado establecida y los parámetros estadísticos relacionados con ellas.

**Tabla 8.3.** Función de calibrado.

Parámetro	Trimetoprima
Intervalo de linealidad estudiado (mg/L)	15,0 – 250,0
b (pendiente)	8
$S_b^{(1)}$	0,11
a (ordenada en el origen)	22,3
$S_a^{(2)}$	16,3
$R^2$ (%) <sup>(3)</sup>	99,6
Linealidad (%)	98,6

(1) Desviación estándar de la pendiente

(2) Desviación estándar de la ordenada en el origen

(3) Coeficiente de correlación en porcentaje

De los valores obtenidos en el estudio tanto de los residuos de la función de calibrado así como del test del fallo de ajuste a la linealidad, se pudo afirmar que la respuesta de la señal obtenida con la concentración de la trimetoprima es lineal en el intervalo de concentraciones estudiado, y que su comportamiento se ajusta a la función que se muestra en la tabla anterior (Tabla 8.3).

#### *Límite de detección*

El límite de detección se obtuvo a partir de los datos del calibrado, y su valor es: 4,1 mg/L.

#### *Límite de cuantificación*

De forma análoga al límite de detección, este se obtuvo también a partir de los datos del calibrado: 8.2 mg/L.

#### *Exactitud y precisión del método*

Se caracterizó el método en cuanto a su exactitud y precisión, dado que se modificó el volumen de jarabe empleado para la extracción. Esto fue por que en el método propuesto por el Laboratorio Estedi S.L. el volumen de jarabe era de 100 mL, el total de un preparado, lo cual permite el lavado y posterior arrastre del jarabe que queda en las paredes del envase. En el problema objeto de estudio, la toma de 100 ml de una muestra de jarabe diluida preparada a partir de un volumen mayor, introducía pérdidas de dicha muestra de jarabe en las paredes del material de laboratorio empleado con tal fin. Este hecho se traducía en bajos resultados en los estudios de recuperación y reproducibilidad, con valores inferiores al 90 % en el primer caso y superiores al 7 % en el segundo caso.

Por otra parte, al tratarse de una suspensión y no poder emplear todo el volumen preparado para su posterior análisis, se optimizó el tiempo de sonicación en baño de ultrasonidos para la homogenización de la suspensión previo a la toma de muestra. Así, el tiempo de sonicación establecido ha de ser como mínimo de 15 minutos, y el volumen de muestra que se analiza de jarabe es de 10 ml. En función de estos 10 ml, se adecuó el procedimiento del tratamiento de la muestra previo a la inyección en el cromatógrafo. Este quedó finalmente como se detalla a continuación:

*Se toma el jarabe y se somete a sonicación durante 15 minutos. A continuación, se toman con pipeta 10 mL de muestra del jarabe diluido y se llevan a un matraz de 25 mL. Se pasan 10 mL de metanol por la pipeta para recoger los restos de jarabe que quedan en las paredes y se transfieren al matraz de 25 ml. Este matraz se enrasa a 25 mL con metanol y se somete a agitación mecánica durante 20 minutos. Se toman 25 mL de esta disolución y se someten a centrifugación durante 10 minutos a 10.000 rpm. Se toma 1 ml del sobrenadante y se llevan a un matraz de 25 mL enrasando con metanol. De esta disolución se toma un volumen que se filtra con filtros de 5 µm de tamaño de poro y se inyectan 5 µL en el cromatógrafo para su análisis.*

La exactitud y la reproducibilidad se evaluaron mediante el cálculo del porcentaje de recuperación y el coeficiente de variación obtenido en un mismo día y a lo largo de medidas obtenidas en 5 días sucesivos. La concentración del principio activo trimetoprima ensayada en este estudio fue la misma que se emplea en el estudio de estabilidad, 0.80 g/100 mL. Los resultados obtenidos en este estudio se exponen en la siguiente tabla (tabla 8.4).

**Tabla 8.4.** Estudio de exactitud y precisión del método propuesto para la determinación de trimetoprima en la especialidad farmacéutica Tediprima 100 ML Suspensión.

Concentración Trimetoprima (g/100 mL)	Recuperación (%)	Reproducibilidad (C.V. %)	
		Intra-día (n = 16)	Inter-día (n = 5)
0,800	99,97	1,9	3,1

Puede comprobarse por los datos de la anterior tabla, que el método propuesto es exacto y reproducible para la determinación del principio activo trimetoprima en la especialidad farmacéutica Tediprima 100 ML Suspensión, diluida ésta a la mitad (0.8 g/100 mL).

**Estudio de estabilidad durante 120 días (4 meses) del principio activo trimetoprima en la especialidad farmacéutica Tediprima 100 ML suspensión, diluida esta a la mitad (0,8 g/100 mL).**

Una vez comprobada la validez del método propuesto para la determinación del principio activo trimetoprima en la especialidad farmacéutica Tediprima 100 ML Suspensión, diluida ésta a la mitad (0.8 g/100 mL), se procedió a evaluar su estabilidad en la citada especialidad farmacéutica durante un periodo de cuatro meses, conservado a temperatura ambiente sin protección de la luz solar, y en frigorífico a 4.0 °C. Para ello, se preparó suficiente volumen de jarabe diluido, del cual se fueron tomando alícuotas de 10 mL y se procedió a su análisis periódico, partiendo del día cero correspondiente a su preparación y almacenamiento, y posteriormente se analizaron los días 1, 3, 5, 7, 15, 30, 45, 60, 75, 90, 105 y 120 (cuatro meses). Para el cálculo de la recuperación se empleó la concentración determinada el día cero correspondiente a su preparación.

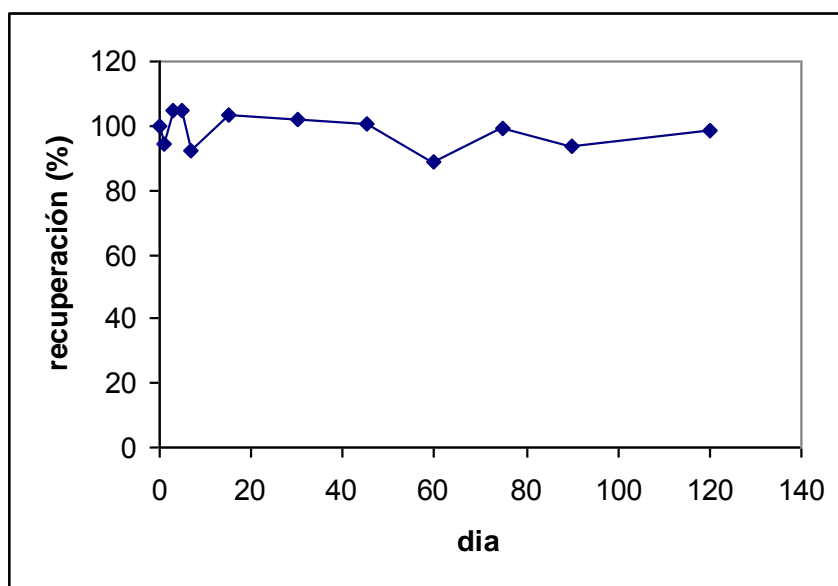
En las tablas 8.5 y 8.6 se recogen los resultados de concentración obtenidos y las correspondientes recuperaciones para la estabilidad de la trimetoprima conservado durante un cuatro meses a temperatura ambiente (tabla 8.5) y en frigorífico a 4,0 °C (tabla 4). En las figuras 8.1 y 8.2 se muestran estos resultados gráficamente.

**Tabla 8.5.** Estabilidad del principio activo trimetoprima conservado durante 120 días a t<sup>a</sup> ambiente. Dilución a la mitad de la especialidad farmacéutica Tediprima 100 ML Suspensión. Datos de concentración y recuperación.

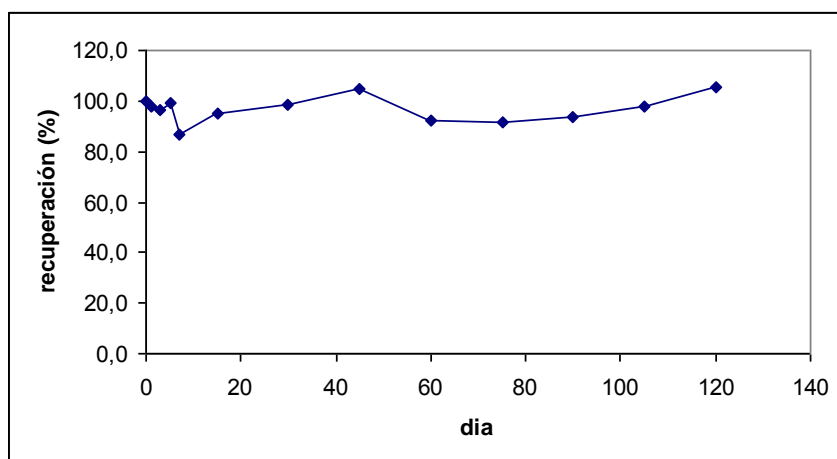
Día	Concentración Trimetoprima (g/100 mL)	Recuperación (%)
0	0,7910	100,0
1	0,7488	94,7
3	0,8280	104,7
5	0,8287	104,8
7	0,7314	92,5
15	0,8168	103,5
30	0,8068	102,0
45	0,7941	100,4
60	0,6997	88,5
75	0,7858	99,3
90	0,7381	93,3
120	0,7792	98,5

**Tabla 8.6.** Estabilidad del principio activo trimetoprima conservado durante 120 días a 4 °C en frigorífico. Dilución a la mitad de la especialidad farmacéutica Tediprima 100 ML Suspensión. Datos de concentración y recuperación.

<b>Día</b>	<b>Concentración Trimetoprima (g/100 mL)</b>	<b>Recuperación (%)</b>
0	0,7910	100,0
1	0,7760	98,9
3	0,7603	96,1
5	0,7821	98,9
7	0,6865	86,8
15	0,7503	94,9
30	0,7815	98,8
45	0,8284	104,7
60	0,7309	92,4
75	0,7266	91,9
90	0,7382	93,3
105	0,7752	98,0
120	0,8347	105,5



**Figura 8.1.** Estabilidad del principio activo trimetoprima conservado durante 120 días a  $t^{\circ}$  ambiente. Dilución a la mitad de la especialidad farmacéutica Tediprima 100 ML Suspensión.



**Figura 8.2.** Estabilidad del principio activo trimetoprima conservado durante 120 días a 4,0 °C en frigorífico. Dilución a la mitad de la especialidad farmacéutica Tediprima 100 ML Suspensión.

Del análisis de los datos y gráficos anteriores puede concluirse que el principio activo trimetoprima en la especialidad farmacéutica Tediprima 100 mL Suspensión, diluida ésta a la mitad (0.8 g/100 mL), es estable durante el tiempo estudiado de 120 días (cuatro meses).

#### 8.7.5. Análisis de bioactividad del jarabe de arándano

Se adjunta informe de bioactividad:

**October 8, 2009**

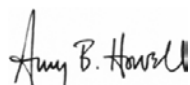
**Activity Report on GIKACRAN Samples**

**Testing performed at Rutgers University in Amy Howell's laboratory**

GIKACRAN samples were tested for *in vitro* bacterial anti-adhesion activity on a per weight basis. Samples were suspended (60 mg/ml) in PBS, neutralized with 1 N NaOH, diluted serially (2-fold), and tested for bacterial anti-adhesion activity utilizing an HRBC hemagglutination assay specific for uropathogenic P-fimbriated *E. coli* according to Foo y cols. (*Phytochemistry*, 2000). A 30-uL drop of each dilution was incubated with 10 uL of bacterial suspension on a 24-well polystyrene plate for 10 min at room temperature on a rotary shaker. Freshly drawn HRBCs (A1, Rh+) were suspended (3%) in PBS and added separately (10-uL drops) to test suspensions, which were then incubated for 20 min on a rotary shaker at room temperature and evaluated microscopically for the ability to prevent agglutination. The concentration at which hemagglutination activity was suppressed by 50% was recorded as an indicator of the strength of the bacterial anti-adhesion activity. Anti-adhesion assays were repeated three times and the results averaged. Controls included wells containing bacteria + PBS, HRBC + PBS, bacteria + test compound, HRBC + test compound, and bacteria + HRBC.

Date	Sample ID	Bioactivity ( <i>in vitro</i> ) Threshold (mg/mL)
12/12/2006	4-JKC-2576	0.234
2/23/2006	5-JKC-0157	0.468 - 0.937
5/21/2007	6-JKC-0747	0.468
10/3/2007	7-JKC-1917	0.468
5/27/2008	8-JK-C-3237	0.468
4/16/2008	9-JK-C-0608	0.468
8/8/2008	10-JK-C-2058	0.234
11/10/2008	11-JK-C-2958	0.234
4/2/2009	12-JK-C-0839	0.234
10/8/2009	13-JK-C-2439	0.234

The bioassay results on the GIKACRAN samples indicate that they possess potent bacterial anti-adhesion activity against P-fimbriated uropathogenic strains of *E. coli*. The bioactivity threshold of 0.234-0.937 mg/mL is exceptionally high compared to other arándano americano powders we have tested. Most whole arándano americano powders have a bioactivity threshold of between 3 and 30 mg/mL.



Amy Howell, Ph.D.  
Research Scientist, Rutgers University

#### **8.7.6. Autorización del ensayo clínico por la Agencia Española del Medicamento y Productos Sanitarios (AEMYS)**

Es de aplicación la siguiente normativa legal:

- LEY 29/2006, de 26 de Julio, de garantías y uso racional de los medicamentos y productos sanitarios. (BOE 178, de 27 de julio).
- REAL DECRETO 223/2004, de 6 de febrero, por el que se regulan los ensayos clínicos con medicamentos
- REAL DECRETO 824/2010, de 25 de junio, por el que se regulan los laboratorios farmacéuticos, los fabricantes de principios activos de uso farmacéutico y el comercio exterior de medicamentos y medicamentos en investigación. (BOE núm. 165, de 8 de julio de 2010). (Modificado por la Disposición final primera del Real Decreto 782/2013, de 11 de octubre, sobre distribución de medicamentos de uso humano).
- ORDEN SCO/362/2008, de 4 de febrero. Modifica la ORDEN SCO/256/2007, de 5 de febrero, por la que se establecen los principios y las directrices detalladas de buena práctica clínica y los requisitos para autorizar la fabricación o importación de medicamentos en investigación de uso humano (BOE 41, de 16 de febrero)
- ORDEN SCO/256/2007, de 5 de febrero, por la que se establecen los principios y las directrices detalladas de buena práctica clínica y los requisitos para autorizar la fabricación o importación de medicamentos en investigación de uso humano (BOE 38, de 13 de febrero).

La norma básica que regula los ensayos clínicos en España es la Ley 29/2006, de 26 de julio, de garantías y uso racional de los medicamentos y productos sanitarios.

<http://www.agemed.es/actividad/legislacion/espana/general.htm>

En ella, el título III es específico sobre ensayos clínicos con medicamentos. Las tasas se establecen en el título X, y el capítulo II fija las infracciones y sanciones. La normativa comunitaria se traspone mediante el Real Decreto 223/2004,

<http://www.agemed.es/actividad/legislacion/espana/ensayos.htm> de 6 de febrero, por el que se regulan los ensayos clínicos con medicamentos, y la ORDEN SCO/256/2007, de 5 de febrero, por la que se establecen los principios y las directrices detalladas de buena práctica clínica y los requisitos para autorizar la fabricación o importación de medicamentos en investigación de uso humano.

<http://www.agemed.es/actividad/legislacion/espana/ensayos.htm>

Algunos de los artículos del Real Decreto 223/2004, remiten a las “Instrucciones para la realización de ensayos clínicos” o a las directrices de la Comisión Europea, que incluyen las guías detalladas sobre el formato de solicitud y documentación referente a las solicitudes de autorización de ensayos clínicos por las autoridades competentes y de dictamen sobre ensayos clínicos con medicamentos dirigidas a un comité ético, y la guía detallada sobre la recogida, verificación y presentación de las notificaciones de reacciones adversas ocurridas en ensayos clínicos con medicamentos de uso humano.

Todas las Directivas y guías de desarrollo europeas en materia de ensayos clínicos están incluidas en el volumen 10:

<http://ec.europa.eu/enterprise/pharmaceuticals/eudralex/homev10.htm>

El promotor es la persona física o jurídica responsable de la realización del ensayo clínico en España tal como establece el Real Decreto 223/2004. Por tanto, a los efectos de la solicitud de autorización de ensayo clínico ante la AEMPS el promotor debe ser único, y es imprescindible que conste el promotor indicado en el protocolo en todos los documentos referentes al ensayo clínico. El promotor puede ser uno de los investigadores del ensayo.

Toda solicitud de autorización de ensayo clínico presentada a la AEMPS así como toda solicitud de dictamen sobre un ensayo clínico presentada a un CEIC debe estar firmada por el promotor o por una persona o entidad autorizada por el mismo que constará en el apartado “solicitante” del formulario de solicitud. Cuando la solicitud no sea firmada por el promotor, se deberá presentar un documento en el que el promotor autorice a la persona o entidad correspondiente a firmar en su nombre. Quien conste en el apartado “solicitante” del formulario de solicitud será a todos los efectos el interlocutor con la AEMPS o los CEICs y será quien reciba los documentos oficiales relacionados con el ensayo. La persona de contacto que se indique en el apartado solicitante será la que se contacte en relación con posibles cuestiones a aclarar sobre el ensayo.

Cada ensayo clínico se deberá identificar mediante dos códigos invariables que figurarán en toda la documentación del ensayo: el código de protocolo del promotor y el número EudraCT.

- Código de protocolo del promotor: Código asignado por el promotor al ensayo. Será alfanumérico con una extensión mínima de 5 y máxima de 35 caracteres, en el que no se tendrán en cuenta las mayúsculas. Podrá incluir cualquier carácter del alfabeto internacional, excepto espacios en blanco. No incluirá la fecha o número de versión.
- Número EudraCT: Con el fin de proporcionar una identificación única para los ensayos clínicos en los que participe al menos un centro ubicado en la

Comunidad europea, cada ensayo deberá identificarse por un número único - el número EudraCT-, que deberá constar en todas las solicitudes de ensayo clínico que se presenten en algún Estado Miembro y se utilizará como elemento para identificar el ensayo en la documentación correspondiente (ej. en las notificaciones de reacciones adversas graves e inesperadas). El número EudraCT se otorgará de forma centralizada en <http://eudract.emea.europa.eu/> siguiendo los pasos indicados en el apartado 22 de este documento.

Para el ensayo clínico que nos ocupa el número de Eudract 2007-004397-62

### **8.7.7. Registro Internacional de ensayos clínicos**

A finales del siglo pasado se crearon diversos registros públicos para ensayos clínicos. Destacan algunas iniciativas: en Estados Unidos se creó un registro financiado con dineros públicos ([www.clinicaltrials.gov](http://www.clinicaltrials.gov)); en Europa se estableció un metarregistro ([www.controlled-trials.com](http://www.controlled-trials.com)) con el respaldo del Consejo de Investigación Médica (MRC) y del Programa de Investigación y Desarrollo del Sistema Nacional de Salud (NHS) del Reino Unido, y la Colaboración Cochrane también asumió un papel pionero con su Cochrane Central Register of Controlled Trials (CENTRAL). En julio de 2004 los Institutos de Investigación Sanitaria de Canadá (Canadian Institutes of Health Research, CIHR) pidieron que todos sus estudios se registraran en [www.controlled-trials.com](http://www.controlled-trials.com) y convocaron una reunión en Ottawa donde se originó la llamada Declaración de Ottawa, cuya primera parte, traducida al castellano, se ha incluido como primicia en este número de la Revista Panamericana de Salud Pública/Pan American Journal of Public Health (RPSP/PAJPH) <sup>44</sup>. La Declaración, de carácter internacional, pide el registro temprano y detallado de todos los ensayos clínicos, de las enmiendas de sus protocolos, y de todos sus resultados. Dicha Declaración fue instrumental, a su vez, para el desarrollo de la Plataforma Internacional de Registro de Ensayos Clínicos (ICTRP), que la Organización Mundial de la Salud (OMS) gestó con el aval de la Asamblea Mundial de la Salud y que se describirá en mayor detalle en párrafos subsiguientes. La Plataforma también ha sido respaldada por una declaración del Comité Internacional de Directores de Revistas Médicas (ICMJE) y por la Federación Internacional de la Industria del Medicamento (IFPMA, por International Federation of Pharmaceutical Manufacturers and Associations).

Las revistas biomédicas y sus directores están en una posición idónea para fomentar la transparencia y las prácticas éticas en el campo de la investigación. Estimuladas por la Plataforma de la OMS, muchas revistas médicas han impuesto el registro como requisito para la publicación de estudios. El registro obligatorio se aplica a ensayos clínicos con seres humanos, con o sin grupo testigo o aleatorización, sin importar el tipo de intervención realizada o la fase en que se encuentre el ensayo. Por "intervención" se entiende cualquier medicamento, tratamiento quirúrgico o psiquiátrico, dispositivo o prótesis, técnica de modificación conductual, asesoramiento u otra medida con que se busca un resultado sanitario en particular. Por lo pronto no es preciso registrar estudios epidemiológicos o ecológicos que evalúan retrospectivamente o prospectivamente los efectos sanitarios de exposiciones naturales, sin una intervención deliberada.



Welcome [Home](#) [Feedback](#) [Support](#) [Log on / Register](#) 10 March 2011

**ISRCTN** REGISTER

- Trial registration
- Unique identification scheme
- International databases

[home](#) | [my details](#) | [ISRCTN Register](#) | [mRCT](#) | [links](#) | [information](#) | [press](#)

[Find trials](#) [\[ Print-friendly version \]](#)

ISRCTN Register >

tips on searching >

**Registration**

New application >

Updating record >

**Information**

introduction >

governing board >

ISRCTN FAQs >

data set >

letter of agreement >

request information >

guidance notes >

**The usefulness of Cranberry Syrup versus antibiotic prophylaxis with trimethoprim in infantile Recurrent Urinary Tract Infection**

**ISRCTN** ISRCTN16968287

**ClinicalTrials.gov identifier**

**Public title** The usefulness of Cranberry Syrup versus antibiotic prophylaxis with trimethoprim in infantile Recurrent Urinary Tract Infection

**Scientific title** Randomised, double-blind analysis of the usefulness of Cranberry Syrup versus antibiotic prophylaxis with trimethoprim in infantile Recurrent Urinary Tract Infection

**Acronym** CSRTUI

**Serial number at source** PI070274

**Study hypothesis** Given the state of uncertainty about the usefulness of antibiotic prophylaxis in children with vesicoureteral reflux we propose the following hypothesis:  
1. How effective is the cranberry syrup in preventing recurrent urinary tract infections in children?  
2. What organisms are mainly responsible for recurrent urinary tract infections in patients receiving prophylaxis with cranberry syrup?

**Ethics approval** Ethical Committe Clinical San Cecilio Hospital-dalucia (Spain) approved on 4th January 2008

**Study design** Randomised double-blind trial

**Countries of recruitment** Spain

**Disease/condition/study domain** Recurrent urinary tract infection

**Participants - inclusion criteria** 1. Children 0 to 5 years consulting for any of the points 2, 3 and 4 of this paragraph, on any visits to specialists of the Hospital Virgen de las Nieves, Clinico San Cecilio de Granada and Baza County Hospitals and Motril  
2. More than a urinary tract infection confirmed by urine culture (> 100,000 colonies / ml) and sediment with more than 20 leukocytes per field, in a urine sample collected on the prowl or urine collection bag after urethral meatus asepsis with chlorhexidine  
3. Existence of any degree vesicoureteral reflux confirmed by cystography or dilatation of the renal pelvis or urinary tract confirmed by ultrasound  
4. Existence of any anatomical abnormality of the urinary tract that current protocols of action to justify continued antibiotic prophylaxis

**Participants - exclusion** 1. Coexistence of other infectious diseases

[Publish your protocol](#)

**TRIALS**  
Open Access Journal

Follow us on [twitter](#)

ISRCTN16968287 - The usefulness of Cranberry Syrup versus antibiotic prophylaxis with trimethoprim in infantile Recurrent Urinary Tract Infection

<b>criteria</b>	2. Coexistence of metabolic diseases 3. Renal failure 4. Hepatic impairment 5. Existence of allergy or intolerance to any component of cranberry or trimethoprim 6. I want to show the legal responsibility not to participate in the study
<b>Anticipated start date</b>	01/01/2009
<b>Anticipated end date</b>	31/12/2010
<b>Status of trial</b>	Completed
<b>Patient information material</b>	Not available in web format, please use the contact details below to request a patient information sheet
<b>Target number of participants</b>	210
<b>Interventions</b>	Experimental group receive an evening dose of 3 ml of cranberry syrup which ensures a fixed concentration of 36 mg of proanthocyanidins. The administration is done before dinner. If vomiting occurs within 30 minutes after administration, the dose is repeated in full.  Standard treatment group receive an standard treatment with trimethoprim at 0.2 ml / kg and masked with red cochineal. Management should be before dinner. If vomiting occur within 30 minutes after administration, the dose is repeated in full.
<b>Primary outcome measure(s)</b>	Recurrence of urinary tract infection
<b>Secondary outcome measure(s)</b>	Secondary resistance to antibiotics
<b>Sources of funding</b>	Carlos III Institute of Health (Instituto de Salud Carlos III) (Spain)- Health Research Fund (Fondo de Investigaciones Sanitarias)
<b>Trial website</b>	
<b>Publications</b>	
<b>Contact name</b>	<b>Prof JOSE UBEROS</b>
Address	Servicio de Pediatría Hospital Clínico San cecilio Avda Dr. Oloriz 16
City/town	Granada
Zip/Postcode	18012
Country	Spain
<b>Sponsor</b>	Carlos III Institute of Health (Instituto de Salud Carlos III) (Spain)
Address	Subdirección General Evaluación y Fomento de la Investigación. Instituto de Salud Carlos III. C/ Sinesio Delgado, 6 28029 Madrid
City/town	Madrid
Zip/Postcode	28029
Country	Spain

<http://www.controlled-trials.com/ISRCTN16968287/>[10/03/2011 22:46:02]

<b>Date applied</b>	24/02/2011
<b>Last edited</b>	10/03/2011
<b>Date ISRCTN assigned</b>	10/03/2011

© 2011 ISRCTN unless otherwise stated.

## 8.8. Dosis y administración

Se administrará una dosis nocturna de 0.2 ml/Kg/día máximo 5 ml por vía oral tanto del control (Trimetoprima) como en el grupo experimental (extracto de arándano rojo). La administración debe ser antes de la cena, de producirse vómito en los 30 min siguientes a su administración se repetirá la dosis íntegra.

## 8.9. Etiquetado

Se conservará un inventario detallado de los envíos realizados por los fabricantes de los jarabes de trimetoprima (Tediprima®) y extracto de arándano antes de su reenvasado y etiquetado, consignando fechas de recepción, dirección de envío, lotes y fechas de caducidad de los medicamentos.

De acuerdo al Anexo 13 de la Normativa de la AEMYPS referente a etiquetado de medicamentos en investigación las etiquetas recogerán información relativa a:

- a) Nombre, dirección y teléfono del promotor, de la organización de investigación por contrato o del investigador (del principal contacto para informar sobre el producto, el ensayo clínico y forma de actuación ante un desenmascaramiento de urgencia);
- b) Forma farmacéutica, vía de administración, número de unidades y, en el caso de ensayos abiertos, nombre o identificación del medicamento y concentración o potencia;
- c) Número de lote y /o código para identificar el contenido y la operación de acondicionamiento;
- d) Código de referencia del ensayo, que permita identificar al ensayo, el centro de ensayo, investigador y promotor si no figura en otro lugar.
- e) Número de identificación del sujeto del ensayo/número de tratamiento.
- f) Nombre del investigador (si no se incluye en el apartado (a) o (d)).
- g) Instrucciones para el uso (se entregará por el médico que reclute al paciente para el estudio);
- h) “Exclusivamente para uso en ensayo clínico” o una advertencia similar;
- i) Manténgase refrigerado.
- j) Período de validez o fecha límite de uso (1 mes tras fecha de reenvasado).
- k) “Manténgase fuera del alcance de los niños”

Medicamento para uso exclusivo en el ensayo **PI070274**  
 Promotor: Dr. José Uberos – Fondo de Investigaciones Sanitarias. I. Salud Carlos III de Madrid. Grupo CTS-190, Universidad de Granada y Servicio Andaluz de Salud. Teléfono contacto: 958-023996

**Nº Registro del tratamiento: 180x – xxx**

**Lote: xxx**

**Nº identificativo del paciente: 180x – xxx**

**Uso exclusivo por vía oral a la dosis facilitada por su médico**

Manténgase refrigerado una vez abierto. Manténgase fuera del alcance de los niños

Fecha de caducidad: \_\_\_\_\_

### 8.10. Protocolo de apertura del ciego

En los casos que se requiera por trastorno grave podrá revelarse la medicación administrada al médico que atiende el paciente. Para ello se consultará en el listado de aleatorización adjunto al presente protocolo el número de registro de la medicación y se comprobará que concuerda con el número de lote y el nombre del paciente en la ficha de Farmacia que se almacenará en la Sección de ensayos clínicos del Servicio de Farmacia del Hospital Clínico (Responsable Dra. Susana Raya)

Además en caso de que no exista personal en el Servicio de Farmacia se facilitará a los investigadores unos Sobres de Aleatorización que irán sellados y cerrados, para que puedan abrirlos en caso de urgencia.

### 8.11. Retirada de la medicación

La Retirada de la medicación se gestiona bajo el Protocolo de actuación de alertas farmacéuticas. Se dará en el caso de que exista algún defecto en la calidad y se considere que no se cumplen todas las condiciones para que la medicación sea de óptimo consumo. Por tanto, en un primer momento se hará una trazabilidad de los lotes implicados, y una vez identificados se apartaran en cuarentena de modo de que no exista riesgo de que se puedan mezclar con el resto de medicación.

En caso de verificarse que no se cumplen las condiciones correctas se procederá a la Destrucción de la medicación bajo las mismas condiciones que el resto de medicamentos del Servicio de Farmacia. Se llevará un registro donde conste la fecha de destrucción, la cantidad destruida y la justificación de dicha destrucción.

**Tabla 8.3.** Tabla de trabajo para la devolución de la medicación.

Fecha de dispensación	Paciente	Medicación	Cantidad	Lote	Caducidad	Fecha de devolución en farmacia	Justificación

## **8.12. Memoria técnica del Servicio de Farmacia**

### **8.12.1. Personal**

El servicio de farmacia cuenta con 7 farmacéuticos formados específicamente en tareas a realizar en un servicio por la especialidad de Farmacia Hospitalaria. Además en el servicio se encuentran 5 farmacéuticos residentes y 2 becarios farmacéuticos.

En el estudio trabajaran el Farmacéutico responsable del área de ensayos clínicos, el jefe de servicio y la farmacéutica becaria de ensayos clínicos. Además el personal de limpieza se encargará de la limpieza general y los auxiliares de farmacia del material de laboratorio.

### **8.12.2. Locales y Equipos**

Los locales son adecuados par ala elaboración y almacenamiento de la medicación del ensayo clínico. El desarrollo del estudio se llevará a cabo en el laboratorio de farmacotecnia, que es una sala dotada de material, equipos y armarios para la elaboración de medicamentos. Se emplearán los siguientes equipos: balanza de precisión, agitador y dispensador.

La limpieza de la sala, los equipos y los utensilios se lleva por el personal de farmacia. El material del laboratorio emplea agua de calidad farmacéutica.

Cuenta además con una sala independiente de ensayos clínicos, donde se almacena la documentación y la medicación. Existe un control adecuado de temperatura de la sala y de la nevera de la sala. Se lleva registro informático de la temperatura de sala y nevera. El ordenador tiene entrada controlado por usuario y contraseña y se hacen copias de seguridad.

## **8.13. Tabla de aleatorización**

Se propone realizar aleatorización total de las intervenciones. En función de la población atendida por cada uno de los Centros hospitalarios de la provincia se asignan 2/3 de los reclutamientos a los hospitales de tercer nivel (Hospital Clínico San Cecilio (código 1801) y Hospital Virgen de las Nieves (código 1802)) y 1/3 a los hospitales comarcales (Hospital de Baza (código 1803) y H. de Motril (código 1804)). Se utiliza la macro para SPSS editada por JM. Domenech, A. Bonillo & R. Granero (!RNDPB V2005.03.07 (c) que aleatoriza bloques permutados de 5 sujetos. El número de sujetos correspondientes y las Tablas de aleatorización se muestran a continuación, estarán en posesión exclusiva del Servicio de Farmacia hospitalaria.

<b>Hospital Clínico San Cecilio</b> <b>Número de sujetos: 218</b> <b>44 Bloques permutados de 5 sujetos</b>		
1801001	H CLINICO	TRIMETOPRIMA
1801002	H CLINICO	TRIMETOPRIMA
1801003	H CLINICO	ARANDANOS
1801004	H CLINICO	ARANDANOS
1801005	H CLINICO	TRIMETOPRIMA
1801006	H CLINICO	ARANDANOS
1801007	H CLINICO	TRIMETOPRIMA
1801008	H CLINICO	TRIMETOPRIMA
1801009	H CLINICO	ARANDANOS
1801010	H CLINICO	TRIMETOPRIMA
1801011	H CLINICO	TRIMETOPRIMA
1801012	H CLINICO	ARANDANOS
1801013	H CLINICO	TRIMETOPRIMA
1801014	H CLINICO	ARANDANOS
1801015	H CLINICO	TRIMETOPRIMA
1801016	H CLINICO	TRIMETOPRIMA
1801017	H CLINICO	TRIMETOPRIMA
1801018	H CLINICO	ARANDANOS
1801019	H CLINICO	ARANDANOS
1801020	H CLINICO	TRIMETOPRIMA
1801021	H CLINICO	ARANDANOS
1801022	H CLINICO	TRIMETOPRIMA
1801023	H CLINICO	TRIMETOPRIMA
1801024	H CLINICO	ARANDANOS
1801025	H CLINICO	TRIMETOPRIMA
1801026	H CLINICO	TRIMETOPRIMA
1801027	H CLINICO	ARANDANOS
1801028	H CLINICO	TRIMETOPRIMA
1801029	H CLINICO	ARANDANOS
1801030	H CLINICO	TRIMETOPRIMA

.....

### 8.14. Formato de Prescripción de los investigadores

Se realizará a través de una Hoja de Dispensación de la medicación que el investigador deberá rellenar para cada paciente en concreto. Seguidamente se reproduce el modelo utilizado para este fin por los investigadores.

<b>Código de protocolo: PI070274</b>		
<b>Versión 2</b>		
Dr. José Uberos	Revisado:18/09/2014	Página 151 de 282

**SERVICIO DE FARMACIA  
ENSAYOS CLINICOS**

### PRESCRIPCIÓN DE MEDICAMENTOS EN ENSAYOS CLINICOS

Fecha.....

Nombre del ensayo.....

Nº Protocolo.....Promotor.....

Nombre paciente:.....Nº scre.:.....Nº ran:.....

Investigador:.....Servicio:.....

Número medicación	Medicamento	Dosis	Duración tto	Nº de envases	Lote	Fecha caducidad

Firma investigador

Firma farmacéutico

### 8.15. Formato de inventario de los envíos que se realizaran a los investigadores

SERVICIO DE FARMACIA  
ENSAYOS CLÍNICOS

#### INVENTARIO DE LOS ENVÍOS

Fecha Fabricación	Fabricado por (nombre)	Fecha envío	Destino	Lote	Números Registro

### 8.16. Sistema de quejas y reclamaciones

Se van a analizar conjuntamente las conclusiones de toda la investigación realizada sobre una reclamación relacionada con la calidad del producto. Esta responsabilidad corresponde al Dr. José Uberos y a los responsables del ensayo clínico, que deberán evaluar cualquier efecto potencial sobre el ensayo, el desarrollo del producto y los sujetos del ensayo

Para dicha tarea se facilitará una Hoja de Quejas y Reclamaciones que será archivada junto al resto de documentación del ensayo.

<b>Hoja de Quejas y Reclamaciones</b>	
<b>PERSONAS FÍSICAS:</b>	
Nombre y Apellidos: _____	D.N.I: _____
Domicilio: _____	Población : _____
Provincia : _____	C.P: _____
Teléfono: _____	
En caso de representación:	
Nombre y Apellidos de la persona representada: _____	
El representante lo hace en calidad de: _____	



**PERSONAS JURÍDICAS:**

Razón social: \_\_\_\_\_  
 C.I.F.: \_\_\_\_\_ Domicilio: \_\_\_\_\_  
 Población : \_\_\_\_\_ Provincia : \_\_\_\_\_ C.P.: \_\_\_\_\_  
 Teléfono: \_\_\_\_\_ Datos del registro público de la entidad: \_\_\_\_\_

Datos de la persona que presenta la queja o reclamación:

Nombre y Apellidos: \_\_\_\_\_  
 D.N.I.: \_\_\_\_\_ Actúa en calidad de: \_\_\_\_\_

**IDENTIFICACIÓN DEL DEPARTAMENTO U OFICINA A LA QUE SE REFIERE LA QUEJA:**

Nombre de la sociedad: \_\_\_\_\_ Departamento: \_\_\_\_\_

**QUEJA O RECLAMACIÓN:**

Describe los hechos y motivos de la queja o reclamación que presenta ante el Servicio de Atención al Cliente:

---



---



---



---



---

**PETICIÓN QUE REALIZA:**

Describe la petición que realiza en relación a los hechos anteriormente descritos:

---



---

Por la presente declaro no tener conocimiento de que la materia objeto de la queja o reclamación está siendo sustanciada a través de un procedimiento administrativo, arbitral o judicial.

Acepto expresamente la inclusión de los datos proporcionados en este formulario, así como los derivados de la propia tramitación de mi expediente, en el fichero automatizado de datos de carácter personal cuyo titular es Cevs Gestión de Redes, S.L situada en la calle López de Hoyos 190 de Madrid con código postal 28002. La inclusión de mis datos en dicho fichero tendrá como única finalidad tramitar mi queja o reclamación ante la Compañía o Correduría de Seguros según lo dispuesto en la Orden Ministerial Eco/734/2004, en todo momento podré ejercitar mi derecho de acceso, rectificación o cancelación de datos y oposición, siempre que resultase pertinente, así como el de revocación del consentimiento para la cesión de mis datos o para cualquiera de los usos antes señalados.

En cumplimiento de la legislación vigente, se me ha informado en caso de que mi queja o reclamación llegase al Comisionado para la Defensa del Asegurado y del Participe en Planes de Pensiones, Cevs Gestión de Redes S:l esta obligada legalmente a informar de los datos (incluidos los personales) a esta figura de la Dirección General de Seguros y Fondos de Pensiones para que pueda tramitar mi expediente.

En \_\_\_\_\_ a \_\_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ de 201\_\_

Firma del reclamante:

**8.17. Hoja de responsabilidades y firmas****PROTOCOLO N°: PEDIATRIA PI070274****Nombre del investigador: Dr. xxx**

<b>FECHA</b>	<b>NOMBRE</b>	<b>INICIALES</b>	<b>FUNCION</b>	<b>RESPONSABILIDADES</b>	<b>FIRMA</b>
				1,2,5,8,10,11	
				2,4,5,6,7,8,9	
				3,4,6,7,8,9	
				3,6,7,8,9	

1. Visita Clínica y exploración del enfermo
2. Recogida y análisis de datos
3. Elaboración y Etiquetado de los lotes
4. Liberación de los lotes
5. Pedido de nuevos lotes
6. Dispensación y Custodia de la medicación
7. Registro de entrada y salida de la medicación
8. Apertura del ciego
9. Retirada de la medicación
10. Orden de destrucción de la medicación
11. Análisis de Quejas y reclamaciones

**8.18. Solicitud de envío de nuevos lotes de medicación**

D. ...., como promotor del ensayo clínico con código de protocolo PI070274 “: Análisis aleatorizado y doble ciego sobre la utilidad del extracto de arándano rojo vs profilaxis antibiótica con Trimetoprima en la infección urinaria recurrente infantil.”

**SOLICITA**

Al Jefe de Servicio de Farmacia del Hospital Clínico San Cecilio de Granada la liberación y el envío de los lotes n°..... al Servicio de Farmacia del Hospital ..... a fin de poder dar continuidad al estudio antes citado.

Granada a .....de.....de 2008

## **8.19. Método clínico, seguimiento de pacientes**

### **8.19.1. Diseño global del estudio**

La incidencia acumulada de infección urinaria en los primeros 5 años de vida es del 5%. De estas infecciones urinarias se considera que el 25% asocian algún grado de reflujo y que al menos un 20% van a tener una segunda infección urinaria en el año siguiente. La población de niños de 0-5 años en la provincia de Granada era de 52000 en 2005. Sobre esta población se realizará nuestro estudio. Ello supone que son diagnosticadas todos los años 2600 nuevas infecciones de orina, en las que se detectará algún grado de reflujo vésicoureteral en 650 niños y en 520 se presentará recurrencia de la infección urinaria. Según protocolo de actuación en la infección urinaria recomendado por la AEP en niños con una primera infección de orina confirmada por urocultivo se debe realizar una ecografía renal y de vías urinarias y todos aquellos pacientes con hallazgos patológicos en la misma deben ser remitidos a una consulta de nefrología/urología pediátrica para completar estudio, incluyéndose entre las exploraciones complementarias recomendadas la realización de una cistourografía miccional seriada (CUMS). Presuponemos un reclutamiento de al menos el 50% de los casos diagnosticados en nuestra Área, porcentaje motivado fundamentalmente por la dispersión de algunos municipios (Alpujarras y Área Norte de la Provincia) y el difícil acceso a los Centros Hospitalarios.

### **8.19.2. Periodo de preinclusión o lavado, seguimiento, etc**

Una vez incluido el paciente en el estudio, firmado el consentimiento informado y asignada la intervención, se procederá a determinar la recurrencia de infección urinaria mediante un programa de revisiones periódicas cada 2 meses o a demanda del paciente cuando la sintomatología así lo demande. Se le dará al paciente la instrucción de realizar un cultivo de orina ante la presencia de fiebre, síntomas urinarios, vómitos o pérdida de peso; cultivo que deberá realizar antes de iniciar cualquier tratamiento antibiótico. Con este objeto se le facilitarán al paciente las peticiones de analítica pertinentes y las instrucciones para la realización del mismo; así mismo se le facilitará al paciente (padres/tutor) un teléfono de contacto para solicitar instrucciones complementarias si fuesen precisas. En el cuaderno de recogida de datos, se registran los datos relativos al número de la intervención asignada, los datos clínicos y analíticos de cada una de las revisiones programadas del paciente y los resultados periódicos de los cultivos de orina que se irán realizando. La efectividad de una intervención se valora en función del tiempo de permanencia en el estudio sin recurrencia de la infección de orina. Para ello se registra el momento en que se produce la infección de orina que motiva la salida del paciente del estudio. En cumplimiento de los objetivos secundarios planteados en el ensayo se debe registrar el resultado del urocultivo positivo que ha motivado la salida del paciente del estudio y las resistencias del microorganismo aislado a los antibióticos.

### **8.19.3. Criterios diagnósticos**

Una vez seleccionado un paciente (según los criterios de inclusión del punto anterior) que cumpla los criterios de inclusión anteriormente descritos se cumplimentará el Registro

inicial del Cuaderno de recogida de datos y se le comunicará al Coordinador del estudio su inclusión en el ensayo, quien procederá a asignarle un número de Registro. Las siguientes referencias realizadas sobre este paciente, así como sus incidencias relativas a recidivas infecciosas, bajas voluntarias en el estudio o finalización del mismo se harán con este número de identificación asignado. El investigador que incluya al paciente en el ensayo le entregará a los padres del paciente una cartulina con el número de identificación, esta cartulina deberá presentarla en el Servicio de Farmacia hospitalaria para retirar el tratamiento asignado que no deberá llevar etiquetas identificativas de la intervención asignada.

#### **8.19.4. Criterios de retirada**

Cualquier paciente podrá solicitar salir del estudio de forma voluntaria, considerándose en ese caso como casos censurados. La efectividad de una intervención se valora en función del tiempo de permanencia en el estudio sin recurrencia de la infección de orina. Para ello se registra el momento en que se produce la infección de orina que motiva la salida del paciente del estudio. En cumplimiento de los objetivos secundarios planteados en el ensayo se debe registrar el resultado del urocultivo positivo que ha motivado la salida del paciente del estudio y las resistencias del microorganismo aislado a los antibióticos.

#### **8.19.5. Duración aproximada del periodo de reclutamiento**

La duración del periodo de reclutamiento será de 1 año, con 1 año de seguimiento máximo.

#### **8.19.6. Desarrollo del ensayo**

La posibilidad de obtener falsos positivos o negativos en los urocultivos de control del paciente, hace que nos planteemos la ocurrencia de un sesgo de información. Existe posibilidad de obtener un urocultivo negativo en pacientes que realmente tienen una infección urinaria si han recibido de forma previa a la recogida de la muestra de orina tratamiento antibiótico. Por ello, se insistirá en la necesidad de recoger un urocultivo ante cualquier proceso febril antes de iniciar cualquier tratamiento antibiótico prescrito. En los casos donde se constate la recogida de la muestra de orina después del inicio del tratamiento antibiótico y que se observe un sedimento de orina muy patológico con leucocituria marcada, bacteriuria y nitritos positivos con clínica sugerente de infección de vías urinarias se considerará finalizado el periodo de seguimiento valorando el proceso como infección de orina sin confirmación bacteriológica.

Además se pueden obtener urocultivos positivos por mala técnica en la recogida de orina y contaminación de la orina. En estos casos se valorará igualmente el sedimento de orina valorándose los urocultivos como contaminados si no se acompañan de la constatación de leucocituria en el sedimento de orina.

El sesgo de información se pretende evitar además con las técnicas de depuración de los datos, el uso de bases de datos informáticas con sistemas de limitación en la entrada de datos erróneos (fechas).

La metodología de selección de los pacientes y la imposibilidad de seleccionar todos las infecciones urinarias reclutables durante el periodo de estudio por razones

sobre todo geográficas hace que nos planteemos la posibilidad de ocurrencia de un sesgo de selección. Para intentar controlarlo, durante el periodo de estudio se contactará mensualmente con los pediatras del Área sanitaria recabando información sobre infecciones de orina diagnosticadas y que no se hallan podido incluir en el estudio. Los aspectos que se considerarán serán los relativos a edad, sexo, peso y talla y municipio de residencia que se registrarán en una base de datos de “infecciones de orina no reclutadas”.

El seguimiento de pacientes lo realizará el investigador colaborador que ha realizado el reclutamiento. El investigador principal será el encargado de recibir y ordenar toda la documentación facilitada por los investigadores colaboradores y facilitar esta documentación a un colaborador ajeno al estudio para introducción en la base de datos como paso previo para la fase de análisis.

## **8.20. Garantía de confidencialidad**

El monitor y los investigadores que colaboren en el estudio tendrán acceso a los datos de los pacientes, disponibles en el cuaderno de recogida de datos. El investigador principal garantizará la confidencialidad de cualquier información acerca de los sujetos del ensayo.

## **8.21. Responsabilidades de todos los participantes en el ensayo**

Las responsabilidades del promotor, monitor e investigadores, serán las que se desarrollaron en los artículos 35, 36, 37 respectivamente, del Real Decreto 223/2004 por el que se establecen los requisitos para la realización de ensayos clínicos con medicamentos.

### ***8.21.1. Condiciones de archivo de datos, su manejo y procesamiento, correcciones...***

El promotor será responsable del archivo de la documentación del ensayo incluyendo: protocolo, procedimientos normalizados de trabajo, informes, manual del investigador, carpeta de recogida de datos e informe final, el cual deberá conservar hasta 15 años después de haberse agotado el plazo de validez del medicamento. Se asegurará la confidencialidad de los datos y documentos contenidos en el archivo y se documentará cualquier cambio que se produzca en la posesión de los datos. Todos los documentos y los datos se pondrán a disposición de las autoridades competentes si estas lo solicitan.

### ***8.21.2. Identificación de muestras para investigación clínica y responsables de su suministro y conservación***

Todas las muestras del fármaco estarán etiquetados tal y como marca el Real Decreto. El servicio de Farmacia del Hospital Clínico Universitario de Granada será responsable de su conservación, preparación y suministro en caso de que el diseño del ensayo así lo especifique y en función del número de aleatorización del paciente en caso de existir aleatorización.

### **8.22. Condiciones de publicación**

La publicación de los resultados del ensayo se realizará en revistas científicas indexadas, mencionando los CEIC y haciendo constar la fuente de financiación que ha permitido la realización de estudio. En todo momento se mantendrá el anonimato de los sujetos participantes.

### **8.23. Seguridad**

El arándano se ha mostrado seguro en los diversos ensayos clínicos publicados<sup>45;46</sup>, también entre la población pediátrica<sup>46;47</sup>, mostrando una tasa de efectos adversos similar a placebo.

#### ***8.23.1. Acontecimientos adversos***

##### ***Información mínima***

##### ***Acontecimientos adversos (AA)***

La información sobre todos los AA, tanto si son comunicados voluntariamente por el paciente, descubiertos por el investigador, como resultado de un cuestionario general, o detectados en exámenes físicos, en tests de laboratorio o en otros tests, se recogerá y se registrará en el cuaderno de recogida de datos, y se controlarán adecuadamente. Un AA es cualquier signo, síntoma o estado clínico indeseable que tenga lugar después del inicio de la medicación del estudio (o terapia), incluso aunque se considere que no está relacionado con el tratamiento del estudio (o terapia). La medicación del estudio (o terapia) incluye el fármaco (o terapia) en estudio y cualquier fármaco de referencia o placebo (o terapia) administrado durante cualquier fase del ensayo.

Las enfermedades/condiciones médicas que estuvieran presentes antes de iniciar la medicación en estudio, solo se considerarán AA si empeoran después de iniciado el tratamiento del estudio (cualquier procedimiento especificado en el protocolo). Los AA (pero no los acontecimientos adversos graves) que ocurran antes de iniciar la medicación en estudio, pero después de firmar el consentimiento informado, se

registraran en el cuaderno de recogida de datos. Los valores de laboratorio o resultados de tests anormales solo se considerarán AA si causan signos o síntomas clínicos, se consideran clínicamente significativos o requieren tratamiento, y se registraran en el cuaderno de recogida de datos utilizando los signos, síntomas o diagnósticos asociados con ellos.

En la medida de lo posible, cada AA también se describirá en función de:

- 1.- Su duración (fecha de inicio y de finalización)
- 2.- Su grado de gravedad (leve, moderado, grave, muy grave)
- 3.- Su relación con la medicación en estudio (sospechada/no sospechada)
- 4.- La(s) acción(es) tomadas y, si es relevante, el resultado

#### ***Instrucciones para completar los cuadernos de recogida de datos en el apartado de AA***

Cada AA ha de ser registrado en el cuaderno de recogida de datos proporcionado. Para más detalles, remitase al cuaderno de recogida de datos.

#### ***Acontecimientos adversos graves (AAG)***

La información sobre todos los AAG se recogerá y se registrará en el formulario de AAG. Un AAG se define como un signo, síntoma o condición médica indeseable que:

- 1.- Es mortal o amenaza la vida del paciente.
- 2.- Requiere o prolonga la hospitalización.
- 3.- Causa incapacidad/discapacidad permanente o significativa.
- 4.- Causa anomalía congénita o un defecto de nacimiento.

5.- Es clínicamente significativo, puede poner en peligro al paciente y puede requerir intervención quirúrgica o médica para evitar una de las consecuencias listadas anteriormente.

Los acontecimientos que no se considerarán que son AAG son las hospitalizaciones para:

- Tratamiento o monitorización de rutina de la indicación estudiada, no asociada con ningún deterioro de la enfermedad.
- Tratamiento electivo o planificado previamente, para una condición preexistente que no está relacionada con la indicación en estudio y que no empeoró.

- Ingreso en un hospital o en otro centro de asistencia sanitaria, no asociado con ningún deterioro de la condición.
- Tratamiento en una urgencia, en base ambulatoria, para un acontecimiento que no cumple ninguna de las definiciones de grave, descritas anteriormente, y no causa el ingreso en el hospital.

Deberán notificarse todas las reacciones adversas graves e inesperadas (RAGI) asociadas a medicamentos en investigación que hayan ocurrido en el ensayo tanto en España como en otros países tanto si el medicamento en investigación está autorizado en la UE como si no lo está. Además, cuando el medicamento en investigación que se utiliza en el ensayo no esté autorizado en ningún país de la UE el promotor deberá notificar también aquellas RAGI de las que tenga conocimiento que ocurran fuera del ensayo (i.e. en otros ensayos clínicos realizados con el medicamento en investigación, notificación espontánea si el medicamento está autorizado en un tercer país, uso compasivo, etc.). El plazo máximo de notificación es de 15 días naturales desde que el promotor tiene conocimiento de la sospecha de RAGI y de 7 días, si la RAGI ha ocasionado la muerte o puesto en peligro la vida del sujeto.

#### **8.23.2. Procedimientos para la notificación rápida de AAG**

Cada AAG debe ser notificado por el investigador al CIEC y AEMPS si se considera que está relacionado con la medicación en estudio puede requerirse urgentemente más información al investigador para la notificación a las autoridades sanitarias.

Los AA clasificados como graves deben cumplir las exigencias legales. Al producirse un AAG, según la definición anterior, el investigador, además de efectuar el apropiado registro en la página correspondiente del CRD, deberá notificarlo inmediatamente a las autoridades sanitarias y al CIEC todos los efectos adversos que sean a la vez graves, inesperados y posiblemente relacionados con los tratamientos en estudio.

Asimismo el promotor deberá comunicar cualquier AAG posiblemente relacionado con los tratamientos en estudio, a los respectivos propietarios de la autorización de comercialización de los fármacos utilizados en el ensayo.

Se aceptará la notificación en español o en inglés y se podrá utilizar el formulario CIOMS I. Las notificaciones habrán de enviarse en soporte digital (<http://www.agemed.es/aplicaciones/home.htm>), o cuando esto no sea viable en papel, por correo postal o bien ser entregadas personalmente en la Unidad de Registro y Tasas de la AEMPS (**Parque Empresarial Las Mercedes Edificio 8, C/ Campezo 1 - 28022 Madrid**) dirigidas a:

a) Cuando se trate de sospechas de reacciones adversas que ocurran con medicamentos no autorizados en España o con medicamentos autorizados en España que se utilicen en indicaciones no autorizadas, la notificación se dirigirá al Área de Ensayos clínicos de la Subdirección General de Medicamentos de Uso Humano. Las



notificaciones se acompañarán de la carta de acompañamiento indicada en el anexo A4 o A5 según corresponda.

b) Cuando se trate de sospechas de reacciones adversas que ocurran con medicamentos autorizados en España que se utilicen en las indicaciones autorizadas, la unidad de destino será la División de Farmacoepidemiología y Farmacovigilancia de la Subdirección General de Medicamentos de Uso Humano. Las notificaciones se acompañarán de la carta de acompañamiento A4.

## **8.24. Declaración de Helsinki de la asociación médica mundial: Principios éticos para las investigaciones médicas en seres humanos**

Adoptada por la

18ª Asamblea Médica Mundial, Helsinki, Finlandia, junio 1964

y enmendada por la

29ª Asamblea Médica Mundial, Tokio, Japón, octubre 1975

35ª Asamblea Médica Mundial, Venecia, Italia, octubre 1983

41ª Asamblea Médica Mundial, Hong Kong, septiembre 1989

48ª Asamblea General Somerset West, Sudáfrica, octubre 1996

52ª Asamblea General, Edimburgo, Escocia, octubre 2000

Nota de Clarificación, agregada por la Asamblea General de la AMM, Washington 2002

Nota de Clarificación, agregada por la Asamblea General de la AMM, Tokio 2004

59ª Asamblea General, Seúl, Corea, octubre 2008

64ª Asamblea General, Fortaleza, Brasil, octubre 2013

### **8.24.1. Introducción**

1. La Asociación Médica Mundial (AMM) ha promulgado la Declaración de Helsinki como una propuesta de principios éticos para investigación médica en seres humanos, incluida la investigación del material humano y de información identificables.

La Declaración debe ser considerada como un todo y un párrafo debe ser aplicado con consideración de todos los otros párrafos pertinentes.

2. Conforme al mandato de la AMM, la Declaración está destinada principalmente a los médicos. La AMM insta a otros involucrados en la investigación médica en seres humanos a adoptar estos principios.

### **8.24.2. Principios generales**

3. La Declaración de Ginebra de la Asociación Médica Mundial vincula al médico con la fórmula "velar solícitamente y ante todo por la salud de mi paciente", y el Código Internacional de Ética Médica afirma que: "El médico debe considerar lo mejor para el paciente cuando preste atención médica".

4. El deber del médico es promover y velar por la salud, bienestar y derechos de los pacientes, incluidos los que participan en investigación médica. Los conocimientos y la conciencia del médico han de subordinarse al cumplimiento de ese deber.

5. El progreso de la medicina se basa en la investigación que, en último término, debe incluir estudios en seres humanos.

6. El propósito principal de la investigación médica en seres humanos es comprender las causas, evolución y efectos de las enfermedades y mejorar las intervenciones preventivas, diagnósticas y terapéuticas (métodos, procedimientos y tratamientos). Incluso, las mejores intervenciones probadas deben ser evaluadas continuamente a través de la investigación para que sean seguras, eficaces, efectivas, accesibles y de calidad.

7. La investigación médica está sujeta a normas éticas que sirven para promover y asegurar el respeto a todos los seres humanos y para proteger su salud y sus derechos individuales.

8. Aunque el objetivo principal de la investigación médica es generar nuevos conocimientos, este objetivo nunca debe tener primacía sobre los derechos y los intereses de la persona que participa en la investigación.

9. En la investigación médica, es deber del médico proteger la vida, la salud, la dignidad, la integridad, el derecho a la autodeterminación, la intimidad y la confidencialidad de la información personal de las personas que participan en investigación. La responsabilidad de la protección de las personas que toman parte en la investigación debe recaer siempre en un médico u otro profesional de la salud y nunca en los participantes en la investigación, aunque hayan otorgado su consentimiento.

10. Los médicos deben considerar las normas y estándares éticos, legales y jurídicos para la investigación en seres humanos en sus propios países, al igual que las normas y estándares internacionales vigentes. No se debe permitir que un requisito ético, legal o jurídico nacional o internacional disminuya o elimine cualquiera medida de protección para las personas que participan en la investigación establecida en esta Declaración.

11. La investigación médica debe realizarse de manera que reduzca al mínimo el posible daño al medio ambiente.

12. La investigación médica en seres humanos debe ser llevada a cabo sólo por personas con la educación, formación y calificaciones científicas y éticas apropiadas. La

investigación en pacientes o voluntarios sanos necesita la supervisión de un médico u otro profesional de la salud competente y calificada apropiadamente.

13. Los grupos que están subrepresentados en la investigación médica deben tener un acceso apropiado a la participación en la investigación.

14. El médico que combina la investigación médica con la atención médica debe involucrar a sus pacientes en la investigación sólo en la medida en que esto acredite un justificado valor potencial preventivo, diagnóstico o terapéutico y si el médico tiene buenas razones para creer que la participación en el estudio no afectará de manera adversa la salud de los pacientes que toman parte en la investigación.

15. Se debe asegurar compensación y tratamiento apropiados para las personas que son dañadas durante su participación en la investigación.

#### **8.24.3. Riesgos, Costos y Beneficios**

16. En la práctica de la medicina y de la investigación médica, la mayoría de las intervenciones implican algunos riesgos y costos.

La investigación médica en seres humanos sólo debe realizarse cuando la importancia de su objetivo es mayor que el riesgo y los costos para la persona que participa en la investigación.

17. Toda investigación médica en seres humanos debe ser precedido de una cuidadosa comparación de los riesgos y los costos para las personas y los grupos que participan en la investigación, en comparación con los beneficios previsibles para ellos y para otras personas o grupos afectados por la enfermedad que se investiga.

Se deben implementar medidas para reducir al mínimo los riesgos. Los riesgos deben ser monitoreados, evaluados y documentados continuamente por el investigador.

18. Los médicos no deben involucrarse en estudios de investigación en seres humanos a menos de que estén seguros de que los riesgos han sido adecuadamente evaluados y de que es posible hacerles frente de manera satisfactoria.

Cuando los riesgos que implican son más importantes que los beneficios esperados o si existen pruebas concluyentes de resultados definitivos, los médicos deben evaluar si continúan, modifican o suspenden inmediatamente el estudio.

#### **8.24.4. Grupos y personas vulnerables**

19. Algunos grupos y personas sometidas a la investigación son particularmente vulnerables y pueden tener más posibilidades de sufrir abusos o daño adicional.

Todos los grupos y personas vulnerables deben recibir protección específica.

20. La investigación médica en un grupo vulnerable sólo se justifica si la investigación responde a las necesidades o prioridades de salud de este grupo y la investigación no puede realizarse en un grupo no vulnerable. Además, este grupo podrá beneficiarse de los conocimientos, prácticas o intervenciones derivadas de la investigación.

#### **8.24.6. Requisitos científicos y protocolos de investigación**

21. La investigación médica en seres humanos debe conformarse con los principios científicos generalmente aceptados y debe apoyarse en un profundo conocimiento de la bibliografía científica, en otras fuentes de información pertinentes, así como en experimentos de laboratorio correctamente realizados y en animales, cuando sea oportuno. Se debe cuidar también del bienestar de los animales utilizados en los experimentos.

22. El proyecto y el método de todo estudio en seres humanos deben describirse claramente y ser justificados en un protocolo de investigación.

El protocolo debe hacer referencia siempre a las consideraciones éticas que fueran del caso y debe indicar cómo se han considerado los principios enunciados en esta Declaración. El protocolo debe incluir información sobre financiamiento, patrocinadores, afiliaciones institucionales, posibles conflictos de interés e incentivos para las personas del estudio y la información sobre las estipulaciones para tratar o compensar a las personas que han sufrido daños como consecuencia de su participación en la investigación.

En los ensayos clínicos, el protocolo también debe describir los arreglos apropiados para las estipulaciones después del ensayo.

#### **8.24.7. Comités de ética de investigación**

23. El protocolo de la investigación debe enviarse, para consideración, comentario, consejo y aprobación al comité de ética de investigación pertinente antes de comenzar el estudio. Este comité debe ser transparente en su funcionamiento, debe ser independiente del investigador, del patrocinador o de cualquier otro tipo de influencia indebida y debe estar debidamente calificado. El comité debe considerar las leyes y reglamentos vigentes en el país donde se realiza la investigación, como también las normas internacionales vigentes, pero no se debe permitir que éstas disminuyan o eliminen ninguna de las protecciones para las personas que participan en la investigación establecidas en esta Declaración.

El comité tiene el derecho de controlar los ensayos en curso. El investigador tiene la obligación de proporcionar información del control al comité, en especial sobre todo incidente adverso grave. No se debe hacer ninguna enmienda en el protocolo sin la consideración y aprobación del comité. Después que termine el estudio, los

investigadores deben presentar un informe final al comité con un resumen de los resultados y conclusiones del estudio.

#### **8.24.8. Privacidad y confidencialidad**

24. Deben tomarse toda clase de precauciones para resguardar la intimidad de la persona que participa en la investigación y la confidencialidad de su información personal.

#### **8.24.9. Consentimiento informado**

25. La participación de personas capaces de dar su consentimiento informado en la investigación médica debe ser voluntaria. Aunque puede ser apropiado consultar a familiares o líderes de la comunidad, ninguna persona capaz de dar su consentimiento informado debe ser incluida en un estudio, a menos que ella acepte libremente.

26. En la investigación médica en seres humanos capaces de dar su consentimiento informado, cada individuo potencial debe recibir información adecuada acerca de los objetivos, métodos, fuentes de financiamiento, posibles conflictos de intereses, afiliaciones institucionales del investigador, beneficios calculados, riesgos previsibles e incomodidades derivadas del experimento, estipulaciones post estudio y todo otro aspecto pertinente de la investigación. La persona potencial debe ser informada del derecho de participar o no en la investigación y de retirar su consentimiento en cualquier momento, sin exponerse a represalias. Se debe prestar especial atención a las necesidades específicas de información de cada individuo potencial, como también a los métodos utilizados para entregar la información.

Después de asegurarse de que el individuo ha comprendido la información, el médico u otra persona calificada apropiadamente debe pedir entonces, preferiblemente por escrito, el consentimiento informado y voluntario de la persona. Si el consentimiento no se puede otorgar por escrito, el proceso para lograrlo debe ser documentado y atestiguado formalmente.

Todas las personas que participan en la investigación médica deben tener la opción de ser informadas sobre los resultados generales del estudio.

27. Al pedir el consentimiento informado para la participación en la investigación, el médico debe poner especial cuidado cuando el individuo potencial está vinculado con él por una relación de dependencia o si consiente bajo presión. En una situación así, el consentimiento informado debe ser pedido por una persona calificada adecuadamente y que nada tenga que ver con aquella relación.

28. Cuando el individuo potencial sea incapaz de dar su consentimiento informado, el médico debe pedir el consentimiento informado del representante legal. Estas personas no deben ser incluidas en la investigación que no tenga posibilidades de beneficio para ellas, a menos que ésta tenga como objetivo promover la salud del grupo

representado por el individuo potencial y esta investigación no puede realizarse en personas capaces de dar su consentimiento informado y la investigación implica sólo un riesgo y costo mínimos.

29. Si un individuo potencial que participa en la investigación considerado incapaz de dar su consentimiento informado es capaz de dar su asentimiento a participar o no en la investigación, el médico debe pedirlo, además del consentimiento del representante legal. El desacuerdo del individuo potencial debe ser respetado.

30. La investigación en individuos que no son capaces física o mentalmente de otorgar consentimiento, por ejemplo los pacientes inconscientes, se puede realizar sólo si la condición física/mental que impide otorgar el consentimiento informado es una característica necesaria del grupo investigado. En estas circunstancias, el médico debe pedir el consentimiento informado al representante legal. Si dicho representante no está disponible y si no se puede retrasar la investigación, el estudio puede llevarse a cabo sin consentimiento informado, siempre que las razones específicas para incluir a individuos con una enfermedad que no les permite otorgar consentimiento informado hayan sido estipuladas en el protocolo de la investigación y el estudio haya sido aprobado por un comité de ética de investigación. El consentimiento para mantenerse en la investigación debe obtenerse a la brevedad posible del individuo o de un representante legal.

31. El médico debe informar cabalmente al paciente los aspectos de la atención que tienen relación con la investigación. La negativa del paciente a participar en una investigación o su decisión de retirarse nunca debe afectar de manera adversa la relación médico-paciente.

32. Para la investigación médica en que se utilice material o datos humanos identificables, como la investigación sobre material o datos contenidos en biobancos o depósitos similares, el médico debe pedir el consentimiento informado para la recolección, almacenamiento y reutilización. Podrá haber situaciones excepcionales en las que será imposible o impracticable obtener el consentimiento para dicha investigación. En esta situación, la investigación sólo puede ser realizada después de ser considerada y aprobada por un comité de ética de investigación.

#### ***8.24.10. Uso del placebo***

33. Los posibles beneficios, riesgos, costos y eficacia de toda intervención nueva deben ser evaluados mediante su comparación con las mejores intervenciones probadas, excepto en las siguientes circunstancias:

Cuando no existe una intervención probada, el uso de un placebo, o ninguna intervención, es aceptable; o cuando por razones metodológicas científicamente sólidas y convincentes, sea necesario para determinar la eficacia y la seguridad de una intervención el uso de cualquier intervención menos eficaz que la mejor probada, el uso de un placebo o ninguna intervención.

Los pacientes que reciben cualquier intervención menos eficaz que la mejor probada, el placebo o ninguna intervención, no correrán riesgos adicionales de daño grave o irreversible como consecuencia de no recibir la mejor intervención probada.

Se debe tener muchísimo cuidado para evitar abusar de esta opción.

#### ***8.24.11. Estipulaciones post ensayo***

34. Antes del ensayo clínico, los auspiciadores, investigadores y los gobiernos de los países anfitriones deben prever el acceso post ensayo a todos los participantes que todavía necesitan una intervención que ha sido identificada como beneficiosa en el ensayo. Esta información también se debe proporcionar a los participantes durante el proceso del consentimiento informado.

#### ***8.24.12. Inscripción y publicación de la investigación y difusión de resultados***

35. Todo estudio de investigación con seres humanos debe ser inscrito en una base de datos disponible al público antes de aceptar a la primera persona.

36. Los investigadores, autores, auspiciadores, directores y editores todos tienen obligaciones éticas con respecto a la publicación y difusión de los resultados de su investigación. Los investigadores tienen el deber de tener a la disposición del público los resultados de su investigación en seres humanos y son responsables de la integridad y exactitud de sus informes. Todas las partes deben aceptar las normas éticas de entrega de información. Se deben publicar tanto los resultados negativos e inconclusos como los positivos o de lo contrario deben estar a la disposición del público. En la publicación se debe citar la fuente de financiamiento, afiliaciones institucionales y conflictos de intereses. Los informes sobre investigaciones que no se ciñan a los principios descritos en esta Declaración no deben ser aceptados para su publicación.

#### ***8.24.13. Intervenciones no probadas en la práctica clínica***

37. Cuando en la atención de un enfermo las intervenciones probadas no existen u otras intervenciones conocidas han resultado ineficaces, el médico, después de pedir consejo de experto, con el consentimiento informado del paciente o de un representante legal autorizado, puede permitirse usar intervenciones no comprobadas, si, a su juicio, ello da alguna esperanza de salvar la vida, restituir la salud o aliviar el sufrimiento. Tales intervenciones deben ser investigadas posteriormente a fin de evaluar su seguridad y eficacia. En todos los casos, esa información nueva debe ser registrada y, cuando sea oportuno, puesta a disposición del público.

### **8.25. Seguro de responsabilidad civil**





#### TRATAMIENTO DE DATOS DE CARÁCTER PERSONAL

El tomador del seguro autoriza el tratamiento de los datos personales suministrados voluntariamente a través del presente documento y la actualización de los mismos para:

- \* El cumplimiento del propio contrato de seguro.
- \* La realización de estudios estadísticos.
- \* Remitirle información, incluso por vía electrónica, sobre productos y servicios de MAPFRE EMPRESAS, Cia. Seguros S.A. y de las distintas entidades del Sistema MAPFRE.
- \* Realizar análisis de siniestralidad.
- \* La prevención del fraude en la selección del riesgo y en la gestión de siniestros.
- \* La gestión de otras solicitudes o contratos de seguro de cualquiera de las distintas entidades del Sistema MAPFRE.
- \* Remitirle información sobre sistemas de seguridad.

Asimismo, acepta que sus datos puedan ser cedidos, exclusivamente para las finalidades indicadas anteriormente, a otras entidades del Sistema MAPFRE así como a otras personas físicas o jurídicas con las que las distintas entidades del Sistema concluyan acuerdos de colaboración, todo ello tanto si se formalizase o no operación alguna como, en su caso, una vez extinguida la relación contractual existente, respetando en todo caso, la legislación española sobre protección de datos de carácter personal y sin necesidad de que le sea comunicada cada primera cesión que se efectúe a los referidos cesionarios.

Todos los datos son tratados con absoluta confidencialidad, no siendo accesibles a terceros para finalidades distintas para las que han sido autorizados.

El fichero creado está bajo la supervisión y control de MAPFRE EMPRESAS, Compañía de Seguros y Reaseguros, S.A.

, con domicilio en Avda. General Perón Nº 40 (28020 MADRID), quien asume la adopción de las medidas de seguridad de índole técnica y organizativa para proteger la confidencialidad e integridad de la información, de acuerdo con lo establecido en la Ley Orgánica 15/1999, de 13 de diciembre, de Protección de Datos de Carácter Personal y demás legislación aplicable y ante quien el titular de los datos puede ejercitar sus derechos de acceso, rectificación, oposición y cancelación de sus datos de carácter personal suministrados, mediante comunicación escrita.

En caso de que los datos facilitados se refieran a personas físicas distintas del tomador, éste deberá, con carácter previo a facilitar los mismos, informarles de los extremos contenidos en los párrafos anteriores.



0221809707700772950003

**CONDICIONES PARTICULARES  
DEL SEGURO DE  
RESPONSABILIDAD CIVIL  
PROFESIONAL**

Póliza nº: , cuya vigencia se acuerda desde el 20/07/2007 hasta el 19/07/2008 con duración: temporal-anual.

Mediante la firma del presente contrato el TOMADOR DEL SEGURO:


- \* Reconoce expresamente que, con anterioridad a la celebración de este contrato, la aseguradora le ha facilitado la información referente a la legislación aplicable al mismo y las diferentes instancias de reclamación.
- \* Acepta expresamente las cláusulas limitativas de los derechos del Asegurado, que se resaltan en letra negrita en las Condiciones Especiales anexas, las cuales reconoce recibir en este acto, así como las Condiciones Generales del contrato (ME-097/01-06.) del Seguro de Responsabilidad civil profesional.
- \* Autoriza la utilización de sus datos incluidos en el presente documento, al efecto de remitirle información sobre productos y servicios ofrecidos por las distintas entidades del SISTEMA MAPFRE, a través de su Servicio de Atención al Cliente (C/ Bárbara de Braganza, 14 28004 Madrid). EL TOMADOR DEL SEGURO se reserva el derecho de conocer, rectificar e incluso cancelar los datos que obren en poder de dicho Servicio en cualquier momento.

En cumplimiento de lo ordenado por el art.60.1 de la Ley 30/1995 de 8 de Noviembre, de Ordenación y Supervisión de los Seguros Privados, se hace constar que el Asegurador tiene su domicilio en España, siendo el órgano de control de la actividad la Dirección General de Seguros y Fondos de Pensiones del Ministerio de Economía.

Edo.: El Tomador del Seguro.

En Malaga, a 20 de julio de 2007.

Edo.: MAPFRE EMPRESAS, Cia. Seguros S.A.

  
DIRECTOR GENERAL

CLAVES DE LA ENTIDAD: / 0000000// / /

1

El tomador del seguro conoce y acepta expresamente las cláusulas limitativas de los derechos del asegurado destacadas de forma especial en letra negrita.

Avda. General Perón, 40 - 28020 Madrid España  
T 902 365 242 - F 91 209 74 47



DOMICILIO SOCIAL: Avda. General Perón, 40  
28020 MADRID  
Tlfno.: 902365242 Fax:915815318

CONDICIONES PARTICULARES  
SEGURO DE  
RESPONSABILIDAD CIVIL PROFESIONAL

TOMADOR DEL SEGURO

Tomador: \*\*\*\*\* NIF : 999999  
Domicilio: ! - - - - -

Carácter con el que actúa: Tomador y Asegurado

DATOS DE LA PÓLIZA N° 000

Vigencia : Efecto: 0 horas del 20-07-2007 Vencimiento: 24 horas del 19-07-2008  
Duración: temporal-anual

Importe total del seguro (incluidos impuestos legales sin aplicar recargo por fraccionamiento de pago): 27.638 euros.

Esta póliza carece de validez si no va acompañada del recibo de pago de la prima, en Euros, nº 00000001 que se emite por separado.

Plan de pagos de la póliza N.: 0970770077295 N. SPTO.: 000


Datos de los recibos

Facturar a: 1 NIF: 999999

Fecha cobro	Prima neta	Impuestos Legales	Consortio	Prima Total
20/07/07	26.000	1.638	0	27.638

Fdo.: El Tomador del Seguro.

En Malaga, a 20 de julio de 2007.  
Fdo.: MAPFRE EMPRESAS, Cia. Seguros S.A.

  
DIRECTOR GENERAL

2

El tomador del seguro conoce y acepta expresamente las cláusulas limitativas de los derechos del asegurado destacadas de forma especial en letra negrita.

Avda. General Perón, 40 - 28020 Madrid España  
 F 917 248 242 - F 917 248 147

 MAPFRE EMPRESAS

POLIZA N°:	N. SPTO.: 000	EFEECTO: 20/07/2007
TOMADOR DEL SEGURO:		

I. DATOS DEL RIESGO

Riesgo: Único

DESCRIPCIÓN DEL RIESGO

ANÁLISIS ALEATORIZADO Y DOBLE CIEGO SOBRE LA UTILIDAD DEL EXTRACTO DE ARANDANO ROJO VS PROFILAXIS ANTIBIOTICA CON AMOXICILINA EN LA INFECCION URINARIA RECURRENTE INFANTIL.

II. SUMAS ASEGURADAS Y COBERTURAS (cifras expresadas en euros).

- MÁXIMO DE INDEMNIZACIÓN POR SINIESTRO: 2.500.000

MÁXIMO DE INDEMNIZACIÓN POR SINIESTRO: Cantidad máxima que, en cualquier caso, se verá obligado a indemnizar el Asegurador por cada siniestro amparado por la póliza, sea cual fuese el número de coberturas afectadas y el número de víctimas o perjudicados.

- LÍMITE POR ANUALIDAD O PERIODO DE SEGURO: 2.500.000

LÍMITE POR ANUALIDAD: La cantidad máxima a cargo del Asegurador por cada periodo de seguro, con independencia de que sea consumida en uno o varios siniestros, entendiéndose por periodo de seguro el comprendido entre la fecha de efecto y de vencimiento, expresadas en las Condiciones Particulares o en el periodo anual establecido en el último recibo de primas.

Lo anterior con independencia de los límites y sublímites que específicamente se puedan establecer para las coberturas que a continuación se indican.

En los casos en que cualquier cobertura aparezca con la leyenda NO CONTRATADA, el Tomador / Asegurado asume plenamente la total carencia de cobertura y garantía por la presente póliza.

Límite de indemnización de 250.000 Euros por sujeto sometido a ensayo clínico; en caso de que la indemnización se fije como renta anual constante o creciente, el límite de la cobertura del seguro será de al menos 25.000 euros anuales por cada sujeto sometido al ensayo clínico.

COBERTURAS SUMA ASEGURADA/SUBLÍMITES

COBERTURA BÁSICA	CONTRATADA
R.C. ACCIDENTES DE TRABAJO	NO CONTRATADA
R.C. PRODUCTOS	NO CONTRATADA

III. FRANQUICIAS

- Sin franquicia específica

IV. CÁLCULO DE PRIMAS Y BASES DE APLICACIÓN

BASE DE CÁLCULO	VOLUMEN	TASA	PRIMA NETA
UNIDADES RIESGO	1	26000 U	26.000

PRIMA NETA MÍNIMA Y DE DEPÓSITO: 26.000 Euros

El tomador del seguro conoce y acepta expresamente las cláusulas limitativas de los derechos del asegurado destacadas de forma especial en letra negrita.

3

Avda. General Perón, 40 - 28020 Madrid España  
T 91 245 742 - F 91 699 7447



POLIZA Nº: 0	N. SPTO.: 000	EFECTO: 20/07/2007
TOMADOR DEL SEGURO:		

**V. CLÁUSULAS APLICABLES.**

Son de aplicación las Condiciones Especiales adjuntas en las cuales queda definida la extensión de las coberturas de la presente póliza.

**V. OBSERVACIONES.**

**OBJETO DEL SEGURO:** LA PRESENTE POLIZA GARANTIZA AL ASEGURADO, DENTRO DE LOS LIMITES ECONOMICOS SUSCRITOS, EL PAGO DE LAS INDEMNIZACIONES PECUNIARIAS DE QUE PUDIERA RESULTAR CIVILMENTE RESPONSABLE POR LOS DAÑOS CAUSADOS A PACIENTES SOMETIDOS A ENSAYO EN EL EJERCICIO DE LAS ACTIVIDADES DERIVADAS DEL ENSAYO DESCRITO ANTERIORMENTE.

**TENDRAN LA CONSIDERACION DE ASEGURADOS A EFECTOS DE LA PRESENTE POLIZA:**

- EL PROMOTOR DEL ENSAYO
- LOS INVESTIGADORES INTERVINIENTES EN EL ENSAYO.

Fdo.: El Tomador del Seguro.

En Malaga, a 20 de julio de 2007.  
Fdo.: MAPFRE EMPRESAS, Cia Seguros S.A.

M.

DIRECTOR GENERAL

COPIA NO VALIDA

El tomador del seguro conoce y acepta expresamente las cláusulas limitativas de los derechos del asegurado destacadas de forma especial en letra negrita.

4 (Continúa en el Anexo)

SEGURO DE RESPONSABILIDAD CIVIL PROFESIONAL		CLAUSULA RC582
PÓLIZA Nº:	N. SPTO.: 000	EFEECTO: 20/07/2007
TOMADOR DEL SEGURO: I		

## CONDICIONES ESPECIALES

## ENSAYO CLÍNICO

## PREAMBULO

El presente contrato se rige por lo dispuesto en la Ley 50/1980, de 8 de Octubre, de Contrato de Seguro, y por lo convenido en estas Condiciones Especiales y en las Particulares de la póliza, sin que tengan validez las cláusulas limitativas de los derechos del Asegurado que éste no haya aceptado específicamente por escrito.

Si el contenido de la póliza difiere de la proposición de seguro o de las cláusulas acordadas, el Tomador del seguro podrá reclamar a la entidad Aseguradora en el plazo de un mes a contar desde la entrega de la póliza para que se subsane la divergencia existente. Transcurrido dicho plazo sin efectuar la reclamación, se estará a lo dispuesto en la póliza.

## 1. DEFINICIONES

1.1 **ASEGURADO:** Persona titular del interés expuesto al riesgo a quien corresponden en su caso los derechos derivados del contrato. El Asegurado podrá asumir las obligaciones y deberes del Tomador del seguro.

1.2 **TERCERO:** Cualquier persona física o jurídica distinta de:

1. El Tomador del Seguro, el Asegurado o el causante del siniestro.
2. Los familiares que convivan con las personas enunciadas en el apartado anterior.
3. Los socios y directivos del Tomador y del Asegurado.
4. Los asalariados del Tomador y Asegurado así como los trabajadores de los mismos que no teniendo la consideración de asalariados si sean considerados como tales por la normativa legal.

## 1.3. DAÑOS:

Sólo serán indemnizables por esta póliza los daños:

**CORPORALES:** Las lesiones, enfermedades o fallecimiento sufrido por personas físicas.

**MATERIALES:** El daño, deterioro o destrucción de una cosa, así como el daño ocasionado a animales.

**PERJUICIOS:** La pérdida económica consecuencia directa de los daños corporales o materiales sufridos por el reclamante de dicha pérdida.

1.4 **SINIESTRO:** Todo hecho de que pueda resultar legalmente responsable el Asegurado, siempre que sea objeto de este contrato de seguro y ponga en juego las garantías de la póliza de conformidad a los términos y condiciones pactados.

1.5 **UNIDAD DE SINIESTRO:** Se considerará como un sólo y único siniestro la sucesión de hechos o circunstancias que se deriven de un mismo origen o igual causa, con independencia del número de perjudicados y reclamaciones formuladas. Se considerará como fecha del siniestro la del momento de consumación del evento dañoso.

5

El tomador del seguro conoce y acepta expresamente las cláusulas limitativas de los derechos del asegurado destacadas de forma especial en letra negrita.

EL TOMADOR:

- 1.6 **MAXIMO DE INDEMNIZACION POR SINIESTRO:** Cantidad máxima que, en cualquier caso, se verá obligado a indemnizar el Asegurador por cada siniestro amparado por la póliza, sea cual fuese el número de coberturas afectadas y el número de víctimas o perjudicados.
- 1.7 **SUBLIMITES:** Cantidades indicadas en las Condiciones Particulares que representan los límites máximos asumidos por el Asegurador para cada una de las garantías especificadas en dichas condiciones, a tal efecto se entenderá como sublímite por víctima la cantidad máxima indemnizable por la póliza por cada persona física afectada por lesiones, enfermedad e incluso la muerte, sin perjuicio del límite máximo por siniestro definido en Condiciones Particulares como suma asegurada.
- 1.8 **LIMITE POR ANUALIDAD:** La cantidad máxima a cargo del Asegurador por cada periodo de seguro, con independencia de que sea consumida en uno o varios siniestros, entendiéndose por periodo de seguro el comprendido entre la fecha de efecto y de vencimiento, expresadas en las Condiciones Particulares o en el periodo anual establecido en el último recibo de primas.
- 1.9 **FRANQUICIA:** La cantidad o procedimiento para su deducción establecido en las Condiciones Particulares de esta póliza, que no será de cuenta del Asegurador por ser asumida directamente por el Asegurado o por otro seguro distinto. Por tanto, el Asegurador sólo indemnizará los siniestros hasta el límite de la suma asegurada en exceso de las cantidades resultantes como franquicias.
- 1.10 **RECLAMACION:** El requerimiento judicial o extrajudicial formulado con arreglo a derecho contra el Asegurado como presunto responsable de un hecho dañoso amparado por la póliza, o contra el Asegurador, en el ejercicio de la acción directa, por tal motivo. Así como la comunicación del Asegurado al Asegurador de cualquier hecho o circunstancia de la que pudieran derivarse responsabilidades.
2. **OBJETO DEL SEGURO**
- El Seguro cubre la Responsabilidad Civil Legal del Tomador del seguro y/o Asegurados que se derive de la realización del ensayo clínico, descrito en las Condiciones Particulares, por los daños causados en la salud (lesión o muerte) de la persona sujeta a la experimentación, así como por los perjuicios económicos que se deriven directamente de aquellos, siempre y cuando los daños sean consecuencia del tratamiento con los medicamentos o sustancias empleadas en la experimentación autorizada o de las medidas terapéuticas o diagnósticas adoptadas para la realización del ensayo.
3. **ALCANCE DEL SEGURO**
- 3.1 Esta cobertura se extiende exclusivamente a la Responsabilidad Civil legal derivada del ensayo clínico, identificado en las Condiciones Particulares, que se derive de las reclamaciones que pudieran formularse al asegurado en base al artículo 62 de la Ley 25/1990 de 20 de Diciembre, del Medicamento que prescribe la contratación obligatoria de la correspondiente cobertura de seguro y el RD 561/93, de Abril, sobre requisitos para la realización de ensayos clínicos que la desarrolla.
- 3.2 Quedan comprendidos, dentro del límite máximo de la cobertura, los gastos de defensa jurídica (abogado, peritos, etc.) y la prestación de fianzas que por la responsabilidad civil cubierta por la póliza, fuera exigida al asegurado.
4. **UNIDAD DE SINIESTRO**
- 4.1 A los efectos de la presente póliza se conceptúa como siniestro la reclamación o reclamaciones formuladas al asegurado o al Asegurador en ejercicio de la acción directa conforme a los términos recogidos en el punto 5.-Delimitación Temporal de la cobertura.
- 4.2 Se entenderá por reclamación:

6

El tomador del seguro conoce y acepta expresamente las cláusulas limitativas de los derechos del asegurado destacadas de forma especial en letra negrita.

EL TOMADOR:

www.mapfre.es | 11 de junio

- a) Un procedimiento judicial o administrativo.
- b) Un requerimiento formal y por escrito dirigido al Asegurado o Asegurador en ejercicio de las acciones legales que correspondan.
- c) La comunicación al Asegurador de cualquier hecho o circunstancia concreta conocida por primera vez por el Asegurado y notificada fehacientemente que pueda razonablemente determinar la ulterior formulación de una petición de rescabimiento o hacer entrar en juego las garantías de la póliza.
- d) La constatación de cualquier clase de "acontecimiento adverso", tal y como se define este término en las disposiciones vigentes en la materia.

4.3 Se considerará como un solo y único siniestro:

- a) El conjunto de reclamaciones que directa o indirectamente se produjeran en el curso de un mismo ensayo clínico, con independencia del número de afectados.
- b) Todas las reclamaciones que tengan su origen en una misma causa común, producto, sustancia, ingrediente o medicamento concreto sujeto a un mismo protocolo, ya se trate de un primer ensayo o de un ensayo clínico posterior.

4.4 Se considerará como fecha del siniestro, la del momento de la primera reclamación, cualquiera que sea previa en el tiempo, en los términos contemplados en el punto 4.2.

4.5 Todas las reclamaciones derivadas de un mismo siniestro se reconducirán a la fecha expresada en el punto anterior, a los efectos de la consideración del momento del siniestro.

5. DELIMITACIÓN TEMPORAL DE LA COBERTURA

La cobertura del seguro sólo ampara las reclamaciones que sean formuladas por daños derivados del ensayo clínico cubierto, siempre que las mismas se formulasen durante el periodo de realización de aquel, o como máximo el Asegurador tenga constancia de ellas, de manera fehaciente y por escrito, dentro de los dos años siguientes a la finalización del ensayo clínico.

6. DELIMITACIÓN GEOGRÁFICA DE LA COBERTURA

La cobertura del seguro sólo ampara la Responsabilidad Civil Legal que se derive de los ensayos clínicos realizados en España.

7. OBLIGACIONES DEL TOMADOR DEL SEGURO Y ASEGURADOS

- 7.1 El Tomador del seguro o Asegurados, comunicarán al Asegurador cualquier modificación del protocolo de ensayo.
- 7.2 El Tomador del seguro o las personas que tienen consideración de asegurados notificarán inmediatamente la suspensión del ensayo clínico en caso de que ésta sea acordada por la autoridad competente, así como su reanudación. La forma de cumplimiento de esta obligación consistirá en el envío inmediato al Asegurado de copia de la resolución administrativa de suspensión o la de su levantamiento según proceda.
- 7.3 El investigador principal del ensayo o en su defecto el Promotor del mismo en calidad de Asegurado y Tomador del seguro, respectivamente, notificará inmediatamente al Asegurador cualquier reacción adversa grave o inesperada que se observe en el sentido del artículo 65.8 de la Ley 25/1990, de 20 de Diciembre, del medicamento y las disposiciones complementarias de la misma.
- 7.4 El incumplimiento de las obligaciones anteriormente descritas tendrá las consecuencias legales que se establecen en los artículos: 11, 12 y 17 de la Ley 50/1980 de 8 de Octubre, de Contrato de Seguro, según proceda.

7

El tomador del seguro conoce y acepta expresamente las cláusulas limitativas de los derechos del asegurado destacadas de forma especial en letra negrita.

EL TOMADOR:



## 8.- EXCLUSIONES

En ningún caso quedan cubiertos por el Asegurador:

### 8.1 Los daños y perjuicios ocasionados por aquellos ensayos clínicos:

- a) No autorizados previa y expresamente por el Ministerio de Sanidad y Consumo o que incumplan manifiestamente las condiciones de su autorización.
- b) Para los que no se dispone de la experimentación preclínica suficiente que garantice que los riesgos que implica en la persona son admisibles.
- c) Realizados sin el consentimiento previo y libremente expresado del sujeto de la experimentación, cuando no se hayan cumplido las prescripciones legales en esta materia en especial el Artículo 12.5 y 12.6 del Real Decreto 561/93, de 16 de Abril, sobre requisitos para la realización de ensayos clínicos.
- d) Que infrinjan en su realización los postulados éticos que afectan a la investigación sobre seres humanos, contenidas en la declaración de Helsinki o aquellas otras sucesivas que actualicen dichos postulados.

### 8.2 Los gastos en que incurra el Comité Ético.

### 8.3 Daños que no estén en relación causal con el ensayo, aunque estos daños ocurran temporalmente durante la realización del mismo (p.e.; intoxicaciones alimentarias en el hospital, lesiones, etc.).

### 8.4 Reclamaciones procedentes del sujeto del ensayo basados en que el producto no alcance los fines curativos previstos.

### 8.5 Reclamaciones derivadas de daños causados directa o indirectamente por el denominado VHI así como las variaciones, modificaciones o mutaciones del mismo, en relación con la adquisición o transmisión del síndrome de inmunodeficiencia adquirida (SIDA) o cualquier enfermedad similar, aunque se denomine de diferente forma, o bien por error de diagnóstico de las citadas dolencias.

### 8.6 Daños nucleares de cualquier clase.

### 8.7 Daños genéticos y enfermedades genéticas o hereditarias, tales como las cromosopatías, metabolopatías, anomalías del óvulo, embrión o feto, así como la malformación o deformaciones congénitas del niño.

### 8.8 Responsabilidades resultantes de la aplicación de técnicas de reproducción asistida, Inseminación Artificial (IA), Fecundación in Vitro (FIV), Transferencia de Embriones (TE) y la Transferencia Intratubárica (TIG) y de la denominada ingeniería genética.

### 8.9 Reclamaciones derivadas de daños causados por la utilización en el ensayo clínico de cualquiera de los productos farmacéuticos siguientes:

- DIETHYLSTILBESTROL
- STILBESTROL/D.E.S.
- PRIMODOL
- AMENORONE FORTE
- SWINE FLU VACCINE
- METRONIDAZOLE
- CLINDAMYCIN
- LINCOMYCIN
- DEBENDOX
- ORAL CONSUMPTION OF HALOGENATED 8/HIDROXY/QUINOLINES
- DICYCOMINE
- DORBANEX/CANTHAXANTHIN
- PERTUSSIS VACCINE
- SKIN LIGHTENING AND/OR WHITENING PRODUCTS

### 8.10 Daños a la salud del sujeto sometido a ensayo cuando éstos sean inherentes a la

8

El tomador del seguro conoce y acepta expresamente las cláusulas limitativas de los derechos del asegurado destacadas de forma especial en letra negrita.

EL TOMADOR:

Avenida General Parón, 40 - 28020 Madrid España  
T 902 365 262 - F 91 709 76 67



patología objeto de estudio.

8.11 Daños o perjuicios derivados de los efectos secundarios propios de la medicación prescrita para la patología objeto de estudio, o cuando sean consecuencia de que el sujeto sometido a ensayo desoiga intencionadamente las prescripciones realizadas por las personas encargadas de llevar a cabo el mismo.

8.12 La evolución propia de su enfermedad como consecuencia de la ineficacia del tratamiento.

9.- OTROS SEGUROS


De acuerdo con lo establecido en el artículo 32 de la Ley 50/1980 de 8 de Octubre de Contrato de Seguro podrá el Tomador del seguro y/o Asegurados contratar otros seguros adicionales al presente contrato con el fin de aumentar el límite de la suma asegurada.

Mediante la firma de este documento, en el lugar y fecha indicados más abajo, el Tomador del Seguro y el Asegurado aceptan expresamente las cláusulas limitativas de los derechos del Asegurado que se resaltan en letra negrita en el texto de estas Condiciones Especiales.

En Málaga, a 20 de Julio de 2007.

EL TOMADOR DEL SEGURO

Fdo.: MAPFRE EMPRESAS, Cia. Seguros S.A.



DIRECTOR GENERAL

El tomador del seguro conoce y acepta expresamente las cláusulas limitativas de los derechos del asegurado destacadas de forma especial en letra negrita.

EL TOMADOR:

## 8.26. Análisis estadístico

La prevalencia de portadores de *N. meningitidis* se calculó de forma global en la cohorte de estudio. Posteriormente se procedió a un análisis descriptivo de las variables, cálculo de la media e intervalos de confianza 95%. Inferencia estadística mediante la comparación de medias para variables independientes, análisis de regresión lineal y regresión logística. Todos los cálculos se realizaron con el paquete estadístico SPSS 12.

### 8.26.1. Estadística descriptiva

#### 8.26.1.1. Medidas de centralización

Con el fin de dar una idea aproximada de los valores más representativos de un conjunto de datos se utilizan, en estadística, las **medidas de centralización**. Se definen como aquellos valores que tienden a situarse en el centro del conjunto de datos ordenados respecto a su magnitud. Las distintas medidas de centralización son la media aritmética, la mediana y la moda, las dos primeras de las cuales hemos utilizado en nuestro estudio. A continuación pasamos a describirlas y detallarlas:

- Media aritmética: se trata de una medida de centralización de tamaño. La media aritmética de un conjunto de datos es el valor medio que los representa. Sus características son las siguientes:
- Es un valor numérico que está entre el menor y el mayor de un conjunto de datos.
- Puede no coincidir con ninguno de los datos y ser un número decimal.
- Sólo se puede obtener con datos cuantitativos.

La media aritmética de un conjunto de datos se obtiene dividiendo la suma de los datos por el número total de ellos, o bien, si los datos vienen en una tabla con sus frecuencias absolutas  $f_i$ , se multiplica cada dato  $x_i$  por su frecuencia y se suman los resultados obtenidos. Este resultado se divide por el número total de datos  $N$ .

$$\bar{X} = \frac{\sum f_i x_i}{\sum f_i} = \frac{f_1 x_1 + f_2 x_2 + f_n x_n}{f_1 + f_2 + f_n} = \frac{f_i x_i}{N}$$

- Mediana: es una medida de centralización de posición. En un conjunto de datos ordenados de menor a mayor, la mediana es aquel valor que ocupa una posición media en la distribución estadística. Si el conjunto de datos tiene un número de valores impar, se ordenan en orden creciente y la mediana es el término que ocupa el lugar central; si, por el contrario, el conjunto de datos es par, la mediana es la media aritmética de los valores centrales. Su cálculo se realiza según la siguiente fórmula:

$$M = L_i + \left( \frac{\frac{N}{2} - (\sum f)_i}{f_{\text{mediana}}} \right)$$

donde  $L_i$  es el límite inferior real de la clase mediana,  $N$  es el número total de datos,  $(\sum f)_i$  es la suma de las frecuencias absolutas de todas las clases anteriores a la clase mediana y  $f_{mediana}$  es la frecuencia absoluta de la clase mediana.

### 8.26.1.2. Medidas de dispersión

En ocasiones el conocimiento de los valores centrales de una muestra no es suficiente, y es preciso conocer en qué medida los datos numéricos están agrupados o no alrededor de la media. Este hecho se conoce como **dispersión**. De esta forma, para medir el grado de dispersión que existe en la distribución se utilizan las **medidas de dispersión**. En nuestro estudio hemos utilizado las siguientes medidas de dispersión:

- Error estándar de la media: es la media aritmética de las diferencias, tomadas en valor absoluto, entre los valores de cada observación y su media aritmética.
- Desviación típica: se conoce también como **desviación estándar** o **desviación cuadrática** de la media. La desviación típica nos informa sobre la dispersión de los datos respecto al valor de la media; cuanto mayor sea su valor, más dispersos estarán los datos. Se calcula como la raíz cuadrada de la media aritmética de los cuadrados de las desviaciones respecto a la media, según la siguiente fórmula:

$$S = \sqrt{\frac{\sum f_i (x_i - \bar{x})^2}{N}}$$

- Varianza: se define como el cuadrado de la desviación típica. La varianza es una variable estadística que mide la dispersión de los valores respecto a un valor central (media), es decir, la media de las diferencias cuadráticas de las puntuaciones respecto a su media aritmética. Se calcula de la siguiente forma.

$$S^2 = \frac{\sum f_i (x_i - \bar{x})^2}{N}$$

- Rango: se define como la medida de dispersión que surge de la diferencia entre el valor máximo y mínimo del conjunto de datos, según la siguiente fórmula:

$$R = X_{\max.} - X_{\min.}$$

- Amplitud intercuartil: los cuartiles resultan de dividir la distribución en cuatro partes iguales. Así, el primer cuartil (Q1) deja por debajo de él una cuarta parte de las mediciones y tres cuartas partes por encima, mientras que el tercer cuartil (Q3) deja por debajo de este valor las tres cuartas partes de las mediciones y una cuarta parte por encima. Así, la amplitud intercuartil se define como la distancia que hay entre el tercer cuartil y el primer cuartil, según la siguiente fórmula:

$$\text{Amplitud intercuartil} = Q3 - Q1$$

### 8.26.1.3. Medidas de forma

Además de las medidas de centralización y de dispersión conviene al estudiar una distribución conocer su forma mediante un índice lo más simplificado posible. En el presente estudio hemos utilizado como medida de forma el **sesgo**, también denominado **asimetría** o **curtosis**. Se define como la mayor o menor simetría o asimetría de una distribución. Al hablar de curtosis nos referimos al grado de "apuntamiento" de una distribución. Generalmente, se compara el mayor o menor apuntamiento de una distribución con la curtosis de la distribución normal, por lo que viene expresado como:

$$\gamma_2 = \frac{m_4}{s^4} - 3$$

De esta forma, el coeficiente de curtosis es nulo para una distribución normal. Si es negativo se trata de una distribución menos apuntada que la normal y recibe el nombre de **planicúrtica**. Si es positivo se trata de una distribución más apuntada que la normal y recibe el nombre de **leptocúrtica**. A las distribuciones con coeficientes de curtosis nulo se les denomina **mesocúrticas**.

### 8.26.1.4. Pruebas de normalidad

La **prueba de Kolmogorov-Smirnov** de una muestra es una medida de bondad de ajuste. Esto es, se interesa en el grado de acuerdo entre la distribución de un conjunto de valores de la muestra y alguna distribución teórica específica. Determina si razonablemente puede pensarse que las mediciones muestrales provengan de una población que tenga esa distribución teórica. En la prueba se compara la distribución de frecuencia acumulativa de la distribución teórica con la distribución de frecuencia acumulativa observada. Se determina el punto en el que estas dos distribuciones muestran la mayor divergencia.

En esta prueba se determina el grado de concordancia entre la distribución de frecuencia muestral y la distribución de frecuencia teórica, bajo la hipótesis nula de que la distribución de la muestra es  $f_0(x,q)$  e interesa probar que no existe diferencia significativa. En la prueba de Smirnov-Kolmogorov se está interesado en la mayor desviación entre la función de distribución teórica y la empírica, es decir entre  $F_0(x)$  y  $S_n(x)$ , para todo el rango de valores de  $x$ . Bajo la hipótesis nula se espera que estas desviaciones sean pequeñas y estén dentro de los límites de errores aleatorios.

La **prueba de Shapiro-Wilks** es menos conocida que la anterior, es la que se recomienda para contrastar el ajuste de nuestros datos a una distribución normal, sobre todo cuando la muestra es pequeña ( $n < 30$ ). Mide el ajuste de la muestra a una recta, al dibujarla en papel probabilístico normal.

En escala probabilística normal se representa en el eje horizontal, para cada valor observado en nuestros datos, la función de distribución o probabilidad acumulada observada, y en el eje vertical la prevista por el modelo de distribución normal. Si el ajuste es bueno, los puntos se deben distribuir aproximadamente según una recta a 45°.

#### **8.26.1.5. Representación gráfica. Boxplot**

El gráfico de caja, conocido con el nombre de **boxplot** o **box and whisker plot**, es una representación basada en un rectángulo, la caja, en cuyos extremos se añaden unas líneas o bigotes. Esta gráfica informa sobre la tendencia central, forma y asimetría, y sobre la existencia de valores atípicos.

Para construir un boxplot, se construye un rectángulo sobre uno de los ejes, cuya longitud es igual a la amplitud intercuartil cuyos extremos se sitúan en los valores correspondientes al primer cuartil, Q1, y el tercer cuartil, Q3.

En el interior de la caja está situado el 50 % central de los valores de la variable, y fuera el 50 % restante. Se marca en el interior de la caja, con una línea, el lugar del valor de la mediana, y ésta divide la caja en dos partes, del 25 % de los valores.

A continuación se representan los bigotes, a ambos lados de la caja, cuya longitud a partir de los extremos de la caja debe ser igual a 1,5 veces la amplitud intercuartil si hay valores de la variable superiores a este límite; si no es así, el extremo de cada bigote coincide con los valores mínimo y máximo, respectivamente, de la variable representada.

Si la variable es, aproximadamente, simétrica, los bigotes tendrán una longitud similar; si la variable tiene una acumulación de valores a uno de los lados, los bigotes no tendrán la misma longitud y uno será más largo que el otro.

### **8.26.2. Contraste de hipótesis**

#### **8.26.2.1. Test de comparación de dos medias independientes (*t* de Student)**

Aceptada la hipótesis de la normalidad, empleamos test paramétricos para la comparación de dos medias a partir de dos tipos de muestras diferentes:

Dadas dos muestras de tamaño  $n_1$  y  $n_2$ , con  $X_1$  y  $X_2$  de medias muestrales; al tratarse de muestras independientes la variable  $X_1 - X_2$  tendría por media la diferencia de las medias y por varianza la suma de las varianzas. Por tanto, se cumpliría que:

$$\bar{x}_1 - \bar{x}_2 \rightarrow \left( \mu_1 - \mu_2; \sqrt{\frac{\xi_1^2}{n_1} + \frac{\xi_2^2}{n_2}} \right)$$

En consecuencia, puede resumirse la regla del test de la siguiente forma:

$$t_{\text{exp}} = \frac{|\bar{x}_1 - \bar{x}_2|}{\sqrt{\frac{\xi_1^2}{n_1} + \frac{\xi_2^2}{n_2}}}$$

Comparada con una  $t_a$  en la distribución T de Student. Si la  $t_{\text{exp}}$  es menor o igual que  $t_a$ ...se acepta la hipótesis nula (las medias son iguales); si  $t_{\text{exp}}$  es mayor que  $t_a$  se acepta la hipótesis alternativa (las medias son distintas).

### 8.26.2.2. Recta de regresión lineal y coeficiente de correlación

Partiendo de “n” valores pares de valores cuantitativos  $(x_1, y_1)$ ,  $(x_2, y_2)$ ,  $(x_n, y_n)$ , pertenecientes a una muestra de n individuos, en los cuales  $(x_i)$  corresponden a una variable e  $(y_i)$  a otra, se puede obtener una nube de puntos sencillamente representando en un sistema de ordenadas, los valores correspondientes a cada uno de los pasos citados. Concuera la ecuación de la recta de regresión de y sobre x:

$$y - \bar{y} = \frac{s_{xy}}{s_x^2}(x - \bar{x})$$

en la que  $S^2_x$  es la varianza de los valores muestrales  $x_1, x_2, \dots, x_n$ ,  $y$ ,  $s_{sxy}$  la covarianza, que se obtiene según el cálculo siguiente:

$$s_{xy} = \frac{\sum (x_i - \bar{x})(y - \bar{y})}{n}$$

con una pendiente igual a:

$$\frac{s_{xy}}{s_x^2}$$

y un valor correspondiente a la ordenada en el origen, que se obtendrá adjudicando a x el valor cero, quedando la recta:

$$r = \frac{s_{xy}}{s_x^2 \bar{x}}$$

Para medir el grado de relación entre las variables se utiliza el coeficiente de correlación de Pearson, que corresponde a la siguiente expresión:

$$r = \frac{s_{xy}}{s_x s_y}$$

Para conocer la dependencia/independencia de las variables a partir del coeficiente de correlación ( $r$ ) se parte de un test de hipótesis en el que:

$$\begin{aligned} H_0 & r=0 \text{ (independiente).} \\ H_1 & r \neq 0 \text{ (dependiente).} \end{aligned}$$

Obteniéndose una

$$t_{\text{exp}} = \sqrt{\frac{(n-2)r^2}{1-r^2}}$$

donde ( $n$ ) no es el número de parejas y ( $r$ ) la correlación muestral, que se contrastara con una  $t_{\alpha}$  (teórica con  $(n-2)$  grados de libertad y las variables  $x$  e  $y$  son independientes en un error alfa).

De manera que si:

$$t_{\text{exp}} > t_{\alpha}; r \neq 0$$

El modelo de regresión lineal también se puede presentar en dos etapas muy bien diferenciadas: una descriptiva y otra inferencial. La regresión lineal como técnica descriptiva consiste en realizar un procedimiento matemático de mínimos cuadrados para hallar la ecuación de la recta que mejor se ajuste a los datos, esta recta recibe el nombre de recta de regresión. La vertiente inferencial, supone que los datos son una muestra al azar y permite evaluar si en la población las variables están relacionadas y en caso afirmativo, estimar la recta de regresión que mejor predice la variable dependiente. Debido a la variabilidad de los datos, existe una diferencia entre los valores estimados por la recta de regresión para la variable dependiente a unos valores dados de la variable independiente y los valores observados en la realidad; esta diferencia se conoce con el nombre de residual. Este error o residual equivale a:

$$e_i = y_i - \bar{y}_i = y_i - (a + bx_i)$$

Para hallar la recta de regresión primero se debe establecer un criterio de ajuste y luego se determina los coeficientes  $a$  y  $b$  de esta recta, de manera que cumpla los criterios establecidos. Utilizando el criterio de mínimos cuadrados y disponiendo de la matriz de datos con  $n$  pares de valores  $(x_i; y_i)$ , se trata de determinar los coeficientes  $a$  y  $b$  de la recta de ajuste  $y=a+bx$  que hagan la mínima suma de los residuales al cuadrado.

Los valores  $a$  y  $b$  que minimizan esta función se hallan aplicando un teorema fundamental de cálculo infinitesimal:

$$\begin{aligned} \frac{\delta}{\delta a} \sum [y_i - (a + bx_i)]^2 &= \sum_{i=1}^n 2[y_i - a - bx_i](-1) = 0 \\ \frac{\delta}{\delta b} \sum [y_i - (a + bx_i)]^2 &= \sum_{i=1}^n 2[y_i - a - bx_i](-x_i) = 0 \end{aligned}$$

Despejando  $a$  y  $b$  se obtiene:

$$\begin{aligned} a &= \sum \frac{y_i}{n} - b \sum \frac{x_i}{n} = \bar{y} - b\bar{x} \\ b &= \frac{\sum x_i y_i - \sum x_i \sum \frac{y_i}{n}}{\sum x_i^2 - \frac{(\sum x_i)^2}{n}} = \frac{SP_{xy}}{SC_x} \end{aligned}$$



Donde  $SP_{xy}$  equivale a la suma de productos cruzados:  $\sum(x_i - \bar{x})(y_i - \bar{y})$ .  
 y  $SC_x$  equivale a la suma de cuadrados:  $\sum(x_i - \bar{x})^2$

### 8.26.2.3. *Test de Chi cuadrado. Prueba de Mantel-Haenszel*

Analizar la distribución de una variable con relación a otra u otras es una tarea corriente en Salud Pública, vinculada, la mayoría de las veces, a la búsqueda de un patrón que indique la relación, (o la falta de ella) entre las variables estudiadas. Este es un proceso clave en la identificación de las posibles causas de los problemas de salud, y también de factores que resulten estar asociados con las variables consideradas dependientes en nuestro estudio. El estudio de la influencia de una variable (variable independiente) sobre la forma en que se modifica otra (variable dependiente) es conocido como análisis bivariado; y será multivariado cuando el estudio evalúe de forma simultánea el efecto sobre una variable dependiente de dos o más variables independientes.

Las tablas de contingencia (tablas de doble entrada) son una herramienta fundamental para este tipo de análisis. Están compuestas por filas (horizontales), para la información de una variable y columnas (verticales) para la información de otra variable. Estas filas y columnas delimitan *celdas* donde se vuelcan las frecuencias de cada combinación de las variables analizadas. Ocasionalmente, por su estructura teórica, el problema analizada permite hablar de una variable dependiente y de variables independientes. Salvo en situaciones muy especiales, la simple inspección de la información contenida en las tablas de contingencia no permite ser concluyente sobre cuál de la hipótesis es la que ha de elegirse como válida (ausencia o presencia de asociación). Las pruebas de significación estadística que acompañan el análisis basan su examen en comparar los resultados observados con los esperados (bajo el supuesto de que no hay asociación). Cuanto mayor sea la diferencia entre la distribución observada y la esperada, menos razonable es suponer que la distribución observada sea solo producto del azar. El cálculo de los valores esperados se realiza usando los valores marginales de la tabla, asumiendo que la probabilidad para cada categoría es la misma que la de todo el grupo y que no existe asociación entre las variables estudiadas.

La relación entre un factor de riesgo (supuesto o real) y un efecto es en ocasiones “modificada” por la presencia de un tercer factor. Esta situación, conocida como *efecto de confusión*, podría definirse como la que producen aquellos factores que, estando relacionados con el factor de riesgo en estudio, condicionan la aparición del efecto (siempre que no se trate de un factor que se halle en el trayecto causal que va del factor de riesgo al daño, en cuyo caso hablaríamos de variable intermedia). El análisis individual de cada estrato debe ser complementado con un análisis que estime el efecto general considerando los valores de cada estrato. El método de Mantel-Haenszel es uno de los más útiles para este análisis. La existencia de diferencias entre los resultados de un análisis no estratificado y uno estratificado indica que el factor por el que se estratifica ejerce un efecto de confusión en la relación que exhiben los factores estudiados. Los resultados incluyen una tabla global (suma de los estratos), el *odds ratio* e intervalo de confianza (calculado según el método de Woolf) para cada estrato, el

*odds ratio* de la tabla global (*odds ratio* crudo) y el *odds ratio* combinado (método de Mantel-Haenszel) y ponderado por el método del inverso de la varianza.

#### 8.26.2.4. Regresión no lineal. Regresión logística

No siempre está justificado el intentar sustituir una nube de puntos obtenida al estudiar la relación existente entre dos variables por una recta que represente el fenómeno biológico que se analiza, ya que multitud de fenómenos no se ajustan a ecuaciones lineales rectilíneas y siguen, preferentemente, otro tipo de curvas de ecuaciones más o menos complejas.

El estudio de la regresión no lineal presenta dos partes diferenciadas: la primera, la selección de la forma general de curva teórica que se pretende ajustar a los resultados del experimento, y la segunda, la aplicación, una vez seleccionada, del procedimiento de los mínimos cuadrados para determinar los coeficientes de la curva. La primera parte consiste en elegir, de entre las ecuaciones generales de curvas habituales que estudia la geometría analítica aquella que, por su forma cualitativa, piense el investigador que presenta una semejanza o tendencia más parecida con la nube experimental de puntos obtenida en el ensayo real. La observación detenida de esta nube o diagrama de dispersión permitirá decidir la forma de qué tipo de curva sigue su tendencia o desarrollo.

La **regresión logística** viene definida por la existencia de una variable dependiente con dos o más categorías y una o más variables independientes que pueden ser tanto categóricas como cuantitativas.

En ocasiones el modelo de regresión logística precisa incluir como variable dependiente más de dos categorías ( $c$ ); en este caso se definen  $c-1$  logit o ecuaciones simultáneas, cada uno de ellos comparando una determinada categoría con la definida como de referencia, que en el caso particular de la regresión logística multinomial debe ser la categoría de valor más bajo.

$$\text{Logit}(Y = s) = \ln \left( \frac{\Pr(Y = s)}{1 - \Pr(Y = 0)} \right) = \beta_{0s} + \beta_{1s}x$$

Es importante tener claro que el modelo más simple de esta regresión, donde la variable independiente es categórica binaria, equivale a una tabla de contingencia ( $\chi^2$ ). Sin embargo el modelo se va a ir complicando conforme añadamos categorías a la variable independiente o introduzcamos un predictor (variable independiente) cuantitativo.

La regresión logística ordinal supone asumir que las categorías de la variable dependiente tienen un orden dado, lo que supone una información que desestimaríamos si la considerásemos solo como una variable cuantitativa (regresión lineal) o categórica no binaria (multinomial). Este tipo de regresión no supone definir logits respecto a una categoría de referencia, sino que se trabaja con una categoría no representada y codificada con el valor mayor. Para que la categoría de referencia sea la más baja debe recodificarse.

Se han desarrollado varios modelos de regresión ordinal que difieren entre sí en la manera en que definen los logits de respuesta, a saber:

- Modelo de odds proporcionales o modelo de odds acumulativas.
- Modelo de razones de continuidad.
- Modelo de categorías adyacentes.

De ellos, el más usado es el modelo de odds proporcionales. En él, la  $\Pr(Y \leq s)$  se denomina **probabilidad acumulativa** de la respuesta  $s$ ; lo que permite definir la **odds acumulativa** de la respuesta  $s$ :

$$\left( \frac{\Pr(Y \leq s)}{1 - \Pr(Y \leq s)} \right)$$

$$\text{Logit}(Y \leq s) = \ln \left( \frac{\Pr(Y \leq s)}{1 - \Pr(Y \leq s)} \right) = \alpha_s + \beta_1$$

A la hora de interpretar los parámetros de un modelo de odds proporcionales hay que tener presente la particular definición de probabilidad realizada, que contrapone probabilidades inferiores o iguales a un valor de respuesta *versus* las superiores al mismo. El valor  $e^\beta$ , siendo  $\beta$  el coeficiente de estimación obtenido, es la razón de odds acumulativas entre una y otra categoría de la variable independiente. La significación global del modelo se obtiene mediante la prueba de razón de verosimilitud global, mientras que la significación individual de los parámetros del modelo se obtiene mediante la prueba de Wald o mediante la prueba de razón de verosimilitud parcial.

#### 8.26.2.5. Análisis de supervivencia (Kaplan-Meier)

Es un método no paramétrico (no asume ninguna función de probabilidad) y por máxima verosimilitud, es decir se basa en maximizar la función de verosimilitud de la muestra. Una muestra aleatoria de tamaño  $n$ , extraída de una población, estará formada por  $k$  ( $k \leq n$ ) tiempos  $t_1 < t_2 < \dots < t_k$  en los que se observan eventos. En cada tiempo  $t_i$  existen  $n_i$  "individuos en riesgo" (elementos de la muestra para los que el evento puede ocurrir, o que  $T \geq t_i$ ) y se observan  $d_i$  eventos. Además en el intervalo  $[t_i, t_{i+1})$  se producen  $m_i$  pérdidas.

Se puede demostrar que la función de verosimilitud para toda la muestra es:

$$L = \prod_{i=1}^k h_i^{d_i} (1 - h_i)^{n_i - d_i}$$

Para construir esta función se ha asumido que la información contenida en las pérdidas es que, para cada una de ellas, el evento ocurre en un tiempo mayor que el tiempo en que se observa la pérdida. Maximizando esta función se encuentra que el estimador de la función de riesgo es

$$\hat{h}_i = \frac{d_i}{n_i} \quad i = 1, 2, \dots, k$$

y para la función de supervivencia, el denominado estimador *producto límite* o de *Kaplan-Meier*:

$$\hat{S}(t_i) = \prod_{j | t_j \leq t_i} \left(1 - \frac{d_j}{n_j}\right)$$

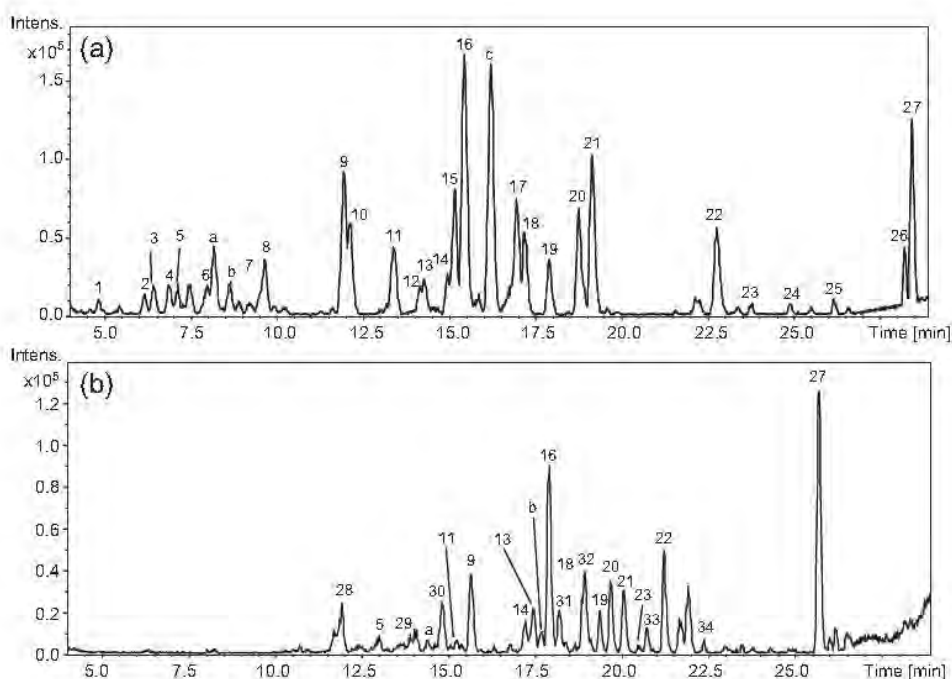
## **9. RESULTADOS**



## RESULTADOS

### 9.1. Caracterización del extracto de arándano americano.

Los cromatogramas del jarabe de arándano americano en modo de ionización negativo y positivo se muestran en la figura 9.1. El intento de identificar componentes fenólicos se resume en las Tablas 9.1 y 9.3 (modos de ionización negativos y positivos respectivamente), incluyendo tiempos de retención, m/z experimental y calculada, fórmula molecular, error, valor sigma (comparación de los patrones isotópicos medidos con los teóricos), seguida de la identidad propuesta.



**Figure 9.1.** Perfil cromatográfico usando los programas de gradiente: (a) cromatograma para el programa de gradiente 1 en modo de ionización negativo; (b) cromatograma para el programa de gradiente 2 en modo de ionización positivo.

Los componentes fenólicos fueron identificados a través su espectro de masas que se complementó con su espectro ultravioleta que brinda una información adicional en función de las bandas de absorción. Todos estos datos se compararon con los datos existentes en la literatura.

**Tabla 9.2.** Componentes fenólicos en el jarabe de arándano americano caracterizado por HPLC-DAD-TOF-MS en modo de ionización negativa <sup>48</sup>.

Peak number	Class/phenolic compounds	RT (min)	Selected ion	m/z experimental	m/z calculated	Fragments	Error (ppm)	Sigma	Molecular formula
<b>Phenolic acid derivatives</b>									
1	Coumaroyl-hexose	4.85	[M-H] <sup>-</sup>	325.0929	325.0929	163.0406	0.0	0.0213	C <sub>15</sub> H <sub>18</sub> O <sub>8</sub>
2	Sinapoyl-hexose	6.19	[M-H] <sup>-</sup>	385.1127	385.1140	223.0596	3.3	0.0176	C <sub>17</sub> H <sub>22</sub> O <sub>10</sub>
3	Caffeoyl glucose	6.44	[M-H] <sup>-</sup>	341.0888	341.0878	179.0351	2.9	0.0107	C <sub>15</sub> H <sub>18</sub> O <sub>9</sub>
4	Chlorogenic acid	6.89	[M-H] <sup>-</sup>	353.0867	353.0878	191.0558	3.0	0.0561	C <sub>16</sub> H <sub>18</sub> O <sub>9</sub>
5	Coumaroyl-hexose	7.16	[M-H] <sup>-</sup>	325.0918	325.0929	163.0398	3.4	0.0298	C <sub>15</sub> H <sub>18</sub> O <sub>8</sub>
7	Canthoside A	8.92	[M-H] <sup>-</sup>	445.1355	445.1351		0.8	0.0238	C <sub>19</sub> H <sub>26</sub> O <sub>12</sub>
<b>Flavonols</b>									
9	Myricetin 3-O-hexose	11.94	[M-H] <sup>-</sup>	479.0835	479.0831	317.0301	0.8	0.0204	C <sub>21</sub> H <sub>20</sub> O <sub>13</sub>
10	Dihydroferulic acid 4-O-β-D-glucuronide	12.16	[M-H] <sup>-</sup>	371.0989	371.0984	175.0283	1.5	0.0131	C <sub>16</sub> H <sub>20</sub> O <sub>12</sub>
14	Myricetin 3-O-arabinoside	14.94	[M-H] <sup>-</sup>	449.0739	449.0725	317.0286	2.9	0.0217	C <sub>20</sub> H <sub>18</sub> O <sub>12</sub>
15	Cavinunin glucoside	15.15	[M-H] <sup>-</sup>	535.1482	535.1457	373.0907	4.7	0.0109	C <sub>25</sub> H <sub>28</sub> O <sub>13</sub>
16	Quercetin 3-O-hexose	15.44	[M-H] <sup>-</sup>	463.0894	463.0882	301.0293	2.5	0.0107	C <sub>21</sub> H <sub>20</sub> O <sub>12</sub>
18	Quercetin 3-O-xylopyranoside	17.14	[M-H] <sup>-</sup>	433.0784	433.0776	301.0350	1.9	0.0113	C <sub>20</sub> H <sub>18</sub> O <sub>11</sub>
19	Quercetin 3-O-arabinopyranoside	17.88	[M-H] <sup>-</sup>	433.0797	433.0776	301.0302	4.8	0.0238	C <sub>20</sub> H <sub>18</sub> O <sub>11</sub>
20	Quercetin 3-O-arabinofuranoside	18.75	[M-H] <sup>-</sup>	433.0781	433.0776	301.0332	1.0	0.0132	C <sub>20</sub> H <sub>18</sub> O <sub>11</sub>
21	Quercetin 3-O-rhamnoside	19.13	[M-H] <sup>-</sup>	447.0937	447.0933	301.0325	0.9	0.0021	C <sub>21</sub> H <sub>20</sub> O <sub>11</sub>
22	Myricetin	22.73	[M-H] <sup>-</sup>	317.0292	317.0303		3.6	0.0178	C <sub>15</sub> H <sub>10</sub> O <sub>8</sub>
23	Methoxyquercetin 3-O-galactoside	23.75	[M-H] <sup>-</sup>	477.1033	477.1038		1.2	0.0271	C <sub>22</sub> H <sub>22</sub> O <sub>12</sub>
26	Kaempferol 3-O-β-D-(6"-p-hydroxybenzoyl)-galactopyranoside	28.15	[M-H] <sup>-</sup>	567.1143	567.1144		0.2	0.0104	C <sub>28</sub> H <sub>24</sub> O <sub>13</sub>
27	Quercetin	28.36	[M-H] <sup>-</sup>	301.0337	301.0354		5.5	0.0196	C <sub>15</sub> H <sub>10</sub> O <sub>7</sub>
<b>Flavanols</b>									
6	Procyanidin B type isomer 1	8.00	[M-H] <sup>-</sup>	577.1328	577.1351	289.0687	4.1	0.0405	C <sub>30</sub> H <sub>26</sub> O <sub>12</sub>
8	(+)-Catechin	9.65	[M-H] <sup>-</sup>	289.0714	289.0718		1.3	0.0033	C <sub>15</sub> H <sub>14</sub> O <sub>6</sub>
11	Procyanidin A2 type isomer 1	13.35	[M-H] <sup>-</sup>	575.1211	575.1195	423.0631	3.0	0.0156	C <sub>30</sub> H <sub>24</sub> O <sub>12</sub>
12	Procyanidin B type isomer 2	14.15	[M-H] <sup>-</sup>	577.1306	577.1351	425.0761	5.5	0.0263	C <sub>30</sub> H <sub>26</sub> O <sub>12</sub>
13	Procyanidin A2 type isomer 2	14.28	[M-H] <sup>-</sup>	575.1216	575.1195	423.0631	3.7	0.0476	C <sub>30</sub> H <sub>24</sub> O <sub>12</sub>
17	Procyanidin A2 type isomer 3	16.94	[M-H] <sup>-</sup>	575.1218	575.1195	423.0733	4.0	0.0290	C <sub>30</sub> H <sub>24</sub> O <sub>12</sub>
25	Prodelfinidin B4	26.11	[M-H] <sup>-</sup>	609.1238	609.1250		1.9	0.0355	C <sub>30</sub> H <sub>26</sub> O <sub>14</sub>
<b>Isoflavonoids</b>									
24	Biochanin A-7-O-glucoside	24.82	[M-H] <sup>-</sup>	445.1156	445.1140		3.5	0.0284	C <sub>22</sub> H <sub>22</sub> O <sub>10</sub>
<b>Unknown compounds</b>									
a		8.20	[M-H] <sup>-</sup>	431.1554	431.1559		1.1	0.0138	C <sub>19</sub> H <sub>28</sub> O <sub>11</sub>
b		8.67	[M-H] <sup>-</sup>	431.1923	431.1923		0.1	0.0247	C <sub>20</sub> H <sub>22</sub> O <sub>12</sub>
c		16.19	[M-H] <sup>-</sup>	537.1641	537.1614		5.2	0.0109	C <sub>25</sub> H <sub>20</sub> O <sub>13</sub>

**Tabla 9.3.** Componentes fenólicos en el jarabe de arándano americano caracterizado por HPLC-DAD-TOF-MS en modo de ionización positiva <sup>48</sup>.

Peak number	Class/phenolic compounds	RT (min)	Selected ion	m/z experimental	m/z calculated	Fragments	Error (ppm)	Sigma	Molecular formula
<b>Phenolic acid derivatives</b>									
5	Coumaroyl-hexose	13.01	[M+K] <sup>+</sup>	365.0575	365.0633	203.0028	15	0.0225	C <sub>15</sub> H <sub>18</sub> O <sub>8</sub>
29	2-Hydroxybenzoic acid	13.90	[M+H] <sup>+</sup>	139.0401	139.0390		7.8	0.0113	C <sub>7</sub> H <sub>6</sub> O <sub>3</sub>
30	Digallic acid	14.82	[M+H] <sup>+</sup>	323.0438	323.0398	140.9858	12.4	0.0131	C <sub>14</sub> H <sub>10</sub> O <sub>9</sub>
<b>Flavonols</b>									
9	Myricetin 3-O-hexose	15.66	[M+H] <sup>+</sup>	481.0973	481.0977	319.0446	0.9	0.0293	C <sub>21</sub> H <sub>20</sub> O <sub>13</sub>
14	Myricetin 3-O-arabinoside	17.19	[M+H] <sup>+</sup>	451.0872	451.0871	319.0439	0.2	0.0352	C <sub>20</sub> H <sub>18</sub> O <sub>12</sub>
16	Quercetin 3-O-hexose	17.91	[M+H] <sup>+</sup>	465.1023	465.1028	303.0491	1.0	0.0294	C <sub>21</sub> H <sub>20</sub> O <sub>12</sub>
18	Quercetin 3-O-xylopyranoside	18.85	[M+H] <sup>+</sup>	435.0933	435.0922	303.0485	2.5	0.0351	C <sub>20</sub> H <sub>18</sub> O <sub>11</sub>
19	Quercetin 3-O-arabinopyranoside	19.33	[M+H] <sup>+</sup>	435.0936	435.0922	303.0509	3.4	0.0440	C <sub>21</sub> H <sub>18</sub> O <sub>11</sub>
20	Quercetin 3-O-arabinofuranoside	19.67	[M+H] <sup>+</sup>	435.0934	435.0922	303.0494	2.7	0.0355	C <sub>20</sub> H <sub>18</sub> O <sub>11</sub>
21	Quercetin 3-O-rhamnoside	20.04	[M+H] <sup>+</sup>	449.1063	449.1078	303.0495	3.4	0.0340	C <sub>21</sub> H <sub>20</sub> O <sub>11</sub>
23	Methoxyquercetin 3-O-galactoside	20.45	[M+H] <sup>+</sup>	479.1191	479.1184	317.0663	2.1	0.0773	C <sub>22</sub> H <sub>22</sub> O <sub>12</sub>
33	Syringetin (3',5'-O-Dimethylmyricetin)	20.69	[M+H] <sup>+</sup>	347.0765	347.0761		1.1	0.0214	C <sub>17</sub> H <sub>14</sub> O <sub>8</sub>
22	Myricetin	21.19	[M+H] <sup>+</sup>	319.0445	319.0448		1.2	0.0123	C <sub>15</sub> H <sub>10</sub> O <sub>8</sub>
27	Quercetin	25.66	[M+H] <sup>+</sup>	303.0500	303.0499		0.2	0.0078	C <sub>15</sub> H <sub>10</sub> O <sub>7</sub>
<b>Flavanols</b>									
11	Procyanidin A2-type isomer 1	15.20	[M+H] <sup>+</sup>	577.1342	577.1341	425.0875/287.0542	0.2	0.0713	C <sub>30</sub> H <sub>24</sub> O <sub>12</sub>
13	Procyanidin A2-type isomer 2	17.41	[M+H] <sup>+</sup>	577.1336	577.1341	425.0858/287.0532	0.9	0.0127	C <sub>30</sub> H <sub>24</sub> O <sub>12</sub>
<b>Coumarins</b>									
28	7-Hydroxycoumarin	11.94	[M+H] <sup>+</sup>	163.0395	163.0390		3.1	0.0168	C <sub>9</sub> H <sub>6</sub> O <sub>3</sub>
31	Coumarin	18.21	[M+H] <sup>+</sup>	147.0447	147.0441		4.6	0.0058	C <sub>9</sub> H <sub>6</sub> O <sub>2</sub>
32	Scopoletin	18.90	[M+H] <sup>+</sup>	193.0415	193.0417	177.0538/147.0446	0.4	0.0271	C <sub>10</sub> H <sub>8</sub> O <sub>4</sub>
<b>Anthocyanin</b>									
34	Petunidin	22.34	[M+H] <sup>+</sup>	317.0629	317.0656		8.5	0.0252	C <sub>16</sub> H <sub>14</sub> O <sub>7</sub>
<b>Unknown compounds</b>									
a		14.37	[M+H] <sup>+</sup>	441.1104	441.1086		4.1	0.0258	C <sub>30</sub> H <sub>16</sub> O <sub>4</sub>
b		17.68	[M+H] <sup>+</sup>	397.1375	397.1341		8.7	0.0248	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub> O <sub>12</sub>



### 9.1.1. Componentes identificados en el modo de ionización negativo

Veintisiete componentes fenólicos se identificaron en este modo, incluyendo 6 nuevos componentes identificados por primera vez en *V. macrocarpon*.

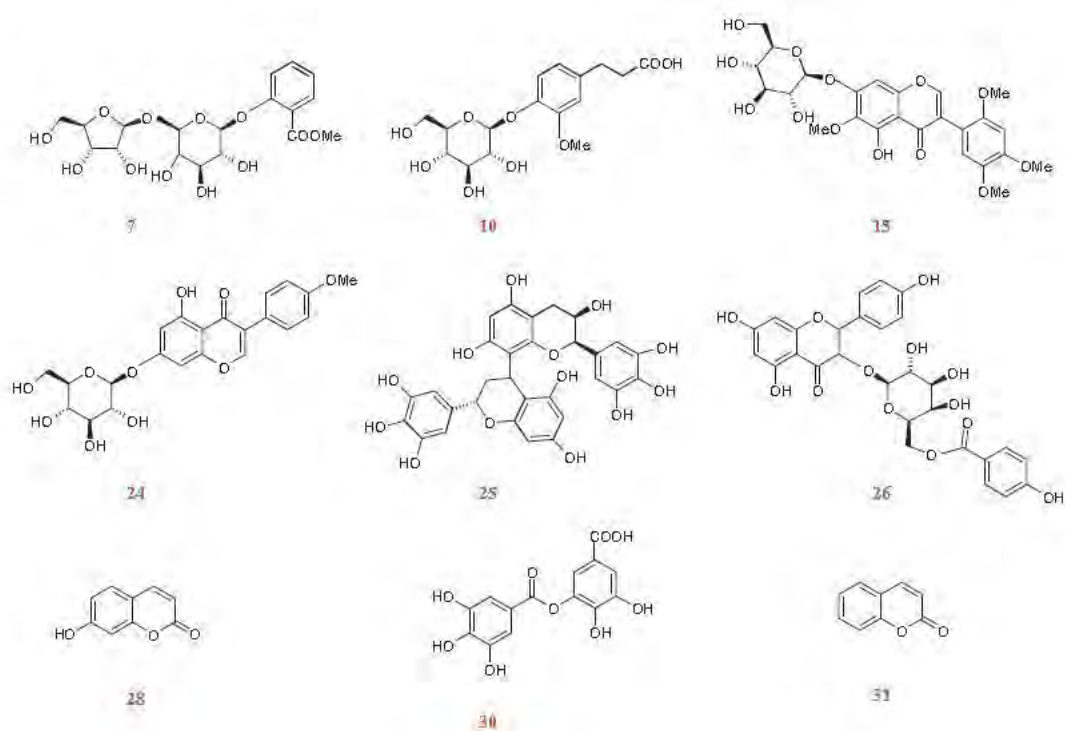
#### *Derivados de ácidos fenólicos*

El primer grupo de picos que migra entre 4.85 y 8.92 min se relacionó con componentes de la familia de los ácidos fenólicos. El pico 1 (RT 4.85 min) tiene una masa molecular  $m/z$  de 325.0929 que se identificó como cumaril-hexosa en base a su fórmula molecular prevista para su masa <sup>49</sup>. El pico 2 (RT 6.19 min) tiene una masa molecular  $m/z$  de 385.1127 y se ha identificado como sinapoil-hexosa. El ión a RT 6.44 min se corresponde con cafeoil glucosa. El pico 4 (RT 6.89 min.) se identificó como ácido clorogénico. La presencia de otras formas isoméricas de cumaroilhexosa se identificaron en el pico 5 (RT 7.16 min). El pico 7 (RT 8.92 min) fue identificado como cantósido A, se trata de la primera vez que este componente se identifica en el arándano americano <sup>48</sup>.

#### *Flavonoides*

Se han identificado un total de 20 flavonoides que se recogen en la Tabla 9.1. Para la mayoría de los flavonoides el modo de ionización negativo aporta la mayor sensibilidad y especificidad <sup>50</sup>. Los siguientes flavonoides se han identificado en el jarabe de arándano americano utilizado en nuestro ensayo: miricetina-3-O-hexosa (pico 9), miricetina-3-O-arabinosido (pico 14), quercetina-3-O-hexosa (pico 16), quercetina-3-Oxil-piranosido (pico 18), quercetina-3-O-arabinopiranosido (pico 19) quercetina-3-O-arabinopiranosido (pico 19), quercetina-3-O-arabinofuranosido (pico 20), quercetina-3-O-ramnosido (pico 21), miricetina (pico 22), metoxiquercetina-3-O-galactosido (pico 23) y quercetina (pico 27). Como se aprecia en la Tabla 9.1 la quercetina y sus derivados con enlaces hidrocarbonados tienen fragmentos iónicos de masa molecular  $m/z$  301.

Se identificaron tres isómeros diferentes de tipo procianidina A en el jarabe de arándano americano en los tiempos 13.35, 14.28 y 16.94 min, con  $m/z$  de 575.12 (picos 11, 13 y 17). Se detectaron dos isómeros de procianidinas tipo B con  $m/z$  de 577.13 (picos 6 y 12). El pico 8 se identificó como (+)-catechquina. También se identificaron por primera vez en extractos de arándano americano: ácido dihidroferulico 4-O- -d-glucuronido (pico 10), caviunina-glucosido (pico 15), biochanina A-7-O-glucósido (pico 24), prodelfinidina B4 (pico 25) y Kemferol-3-O- -d-(6\_-phidrobenzoi)-galactopiranosido (pico 26). La figura 9.2 muestra la estructura molecular de los nuevos componentes identificados en el extracto de arándano americano utilizado en el ensayo.



**Figura 9.2.** Estructura de los nuevos componentes identificados en el jarabe de arándano americano (7) cantosido A, (10) ácido dihidroferulico 4-O- $\beta$ -D-glucuronido, (15) caviunina glucosido, (24) biochanina A-7-O-glucosido, (25) prodelfinidina B4, (26) kempferol 3-O- $\beta$ -d-(6-p-hidroxibenzoil)-galactopiranosido, (28) 7-hidroxicumarina, (30) ácido digalico y (31) cumarina<sup>48</sup>.

### 8.1.2. Componentes identificados en el modo de ionización positivo

La presencia de antocianinas en el arándano americano se ha comunicado en la literatura, su detección tiene la máxima sensibilidad en el modo de ionización positivo, lo cual está ligado a su carga positiva (Figura 9.2)<sup>50</sup>. Se identificaron 20 compuestos fenólicos con este modo de ionización. Dado que algunos de los compuestos identificados también lo fueron en el modo de ionización negativo, tan solo la petunidina (pico 34). Algunos de los ácidos fenólicos identificados fueron: cumarilhexosa (pico 5) que también se identificó en el modo negativo, 2-ácido hidroxibenzoico (pico 29). Diversos flavonoides identificados en el modo de ionización negativo también lo han sido en el modo positivo. La siringetina (pico 33) un flavonoide que habitualmente no se detecta en el modo de ionización negativo fue también identificado. Se identificaron dos isómeros de procianidina tipo A (picos 11 y 13).

### 9.1.3. Cuantificación de los polifenoles

La cuantificación de los compuestos polifenólicos se realizó utilizando las curvas de calibración que se muestran en la Tabla 9.6. La calibración de la curva de miricetina a  $\lambda=280$  nm se utilizó para cuantificar flavonoides; mientras que los derivados de ácidos fenólicos se cuantificaron con la curva de calibración de ácido-p-cumárico a  $\lambda=280$  nm. Las concentraciones de componentes fenólicos identificados en el jarabe de arándano americano se recogen en la Tabla 9.3. El total de componentes fenólicos encontrados en el jarabe es de 5.47 mg/ml. La familia de los flavonoides (Catechina y procianidina) fueron los más frecuentes (2.37 mg/ml), seguida de los

flavanoles (1.91 mg/ml). Los derivados del ácido fenólico se encontraron en menor concentración (0.15 mg/ml).

**Tabla 9.4.** Componentes fenólicos presentes en el jarabe de arándano americano <sup>48</sup>.

Class/phenolic compounds	µg/ml cran berry syrup
<b>Phenolic-acid derivatives</b>	
Coumaroyl-hexose	56.70 ± 2.05
Sinapoyl-hexose	10.72 ± 0.37
Caffeoyl glucose	19.63 ± 0.62
Chlorogenic acid	19.35 ± 0.53
Coumaroyl-hexose	40.18 ± 1.15
Canthoside A	1.61 ± 0.04
2-Hydroxybenzoic acid	49.40 ± 1.45
Gallic acid 3-O-gallate	58.36 ± 1.63
<b>Flavonols</b>	
Myricetin 3-O-hexoside	125.87 ± 4.87
Dihydro ferulic acid 4-O-β-D-glucuronide	23.96 ± 1.21
Myricetin 3-O-arabinoside	226.63 ± 8.83
Caviunin glucoside	297.30 ± 13.43
Quercetin 3-O-hexoside	391.13 ± 19.29
Quercetin 3-O-xylopiranoside	68.13 ± 2.37
Quercetin 3-O-arabinopyranoside	66.39 ± 2.17
Quercetin 3-O-arabinofuranoside	120.53 ± 4.31
Quercetin 3-O-rhamnoside	130.51 ± 4.23
Myricetin	114.78 ± 3.79
Methoxyquercetin 3-O-galactoside	nq <sup>a</sup>
Kaempferol 3-O-β-D-(6'-p-hydroxybenzoyl)-galactopyranoside	30.70 ± 1.39
Quercetin	303.27 ± 12.81
Syringetin	24.72 ± 0.83
<b>Flavanols</b>	
Procyanidin B type isomer 1	202.84 ± 7.39
(+)-Catechin	374.31 ± 15.43
Procyanidin A2 type isomer 1	364.03 ± 14.89
Procyanidin B type isomer 2	215.64 ± 9.10
Procyanidin A2 type isomer 2	356.99 ± 12.88
Procyanidin A2 type isomer 3	644.37 ± 49.71
Prodelfinidin B4	209.98 ± 7.37
<b>Isoflavonoids</b>	
Biochanin A-7-O-glucoside	nq
<b>Coumarins</b>	
7-Hydroxycoumarin	246.91 ± 8.77
Coumarin	174.90 ± 6.21
Scopoletin	449.99 ± 19.82
<b>Anthocyanin</b>	
Petunidin	9.59 ± 2.90
Total	5469.35 ± 194.81

<sup>a</sup> Not quantified.

Los métodos espectrofotométrico son los habitualmente utilizados para medir el contenido fenólico. Para cuantificar el total del contenido fenólico se utilizó el método de Folin Ciocalteu utilizando ácido cafeico para la calibración de la curva. El total del contenido polifenólico fue de 15.26±0.08 mg/ml de jarabe. Las proantocianidinas totales fueron de 9.9±0.1 mg/ml de jarabe. El contenido de antocianidina del jarabe de arándano fue de 1.35±0.04 mg/ml.

## 9.2. Seguimiento de los pacientes

El diagrama de flujo CONSORT que se muestra en la Figura 9.3 permite visualizar de una forma sencilla el proceso de seguimiento de nuestros pacientes. Se incluyeron inicialmente en el estudio 198 pacientes elegibles, de los que hubo que excluir a 6 al no cumplir con los criterios de inclusión (en 2 ocasiones) o rechazar el ciego (en 4 ocasiones). La intolerancia digestiva se observó en 5 casos asignados al trimetoprima y en 2 casos asignados al arándano americano. Se observaron igual número de pérdidas en el seguimiento an ambos brazos del estudio (n=3). Apreciamos eritema cutáneo en relación probable con la toma del jarabe en 1 ocasión en cada rama de tratamiento. 47 pacientes presentaron infección urinaria durante el seguimiento, 17 niños y 30 niñas. En un caso de pacientes gemelos, se rompió la aleatorización a fin de poder mantener el ciego, en este caso se asignó a uno de los hermanos arándano, en lugar el trimetoprima que le correspondía según Tabla de ateatorización. En la rama del arándano 36 pacientes no completan el periodo de seguimiento por diversas razones:

- Abandono del tratamiento ante la ausencia de infecciones (n=14).
- Abandono del tratamiento debido a intolerancia digestiva (n=2).
- Abandono del tratamiento debido a la aparición de un eritema cutáneo (n=1).
- Salida del estudio por ITU (n=19).

En la rama de tratamiento que recibe trimetoprima 50 pacientes no completan el periodo de seguimiento la presentar:

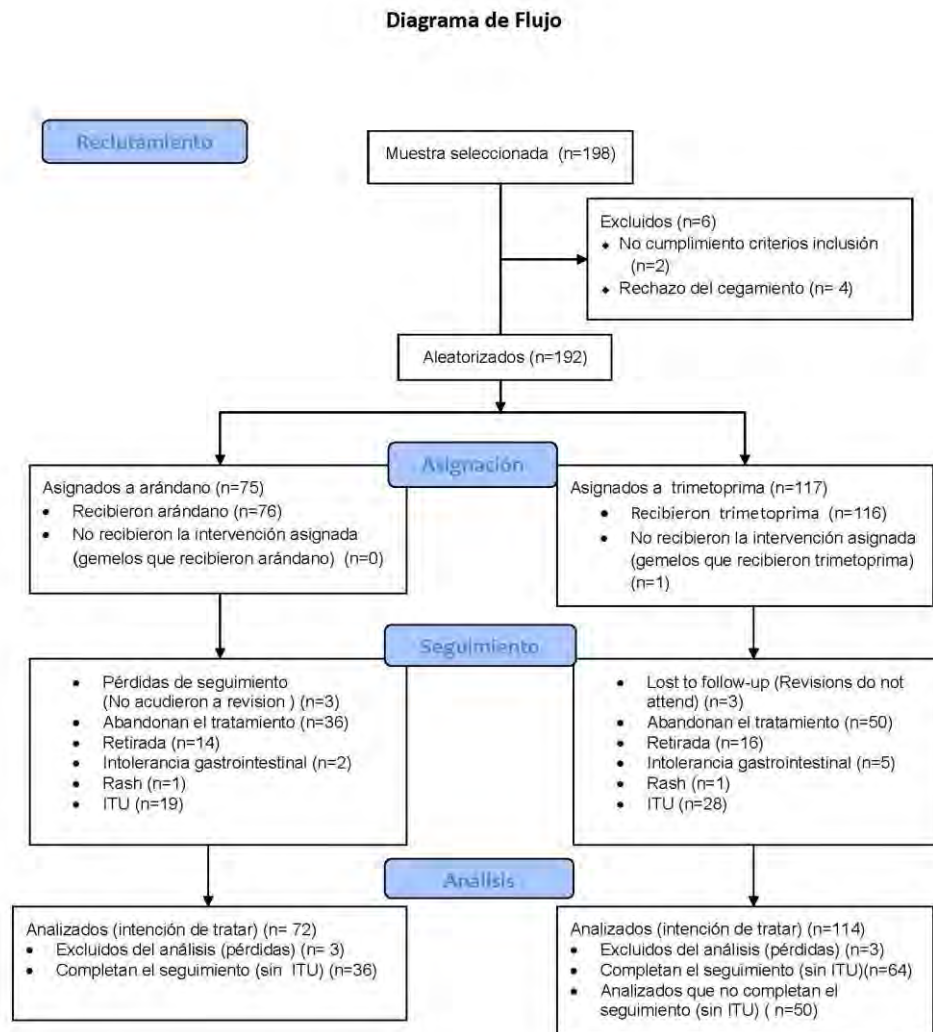
- Salida del estudio por ITU (n=28).
- Abandono del tratamiento por la aparición de rash cutáneo (n=1).
- Abandono del tratamiento por intolerancia digestiva (n=5).
- Abandono del tratamiento ante la ausencia de infecciones (n=16).

**Tabla 9.4.** Nº (%) de pacientes con ITU en cada grupo de tratamiento.

	Arándano (n=75)	Trimetoprima (n=117)
Edad, meses ( media, DS)	28.3 (30.7)	30.7 (33.9)
Sexo, niñas (n)	43	69
<b>ITU recurrente</b>		
ITU, n (%)	8 (8.4)	18 (18.9)
Días sin infección ,media (DS)	229 (128)	207(129)
<b>Reflujo vesicoureteral</b>		
ITU, n (%)	5 (12.8)	4 (10.3)
Días sin infección ,media (DS)	240 (139)	281 (128)
<b>Dilatación de pelvis renal o hidronefrosis</b>		
ITU, n (%)	5 (9.8)	5 (9.8)
Días sin infección ,media (DS)	192 (120)	207 (128)
<b>Duplicación ureteral y otros defectos anatómicos</b>		
ITU, n (%)	1 (33.3)	1(33.3)
Días sin infección ,media (DS)	29 (13)	159 (137)

**Notas:** tiempo promedio en días (DS)sin infección en cada grupo de tratamiento.

**Abreviaturas:** ITU, infección del tracto urinario.



**Figura 9.3.** Diagrama CONSORT para el seguimiento de los pacientes incluidos en el ensayo clínico.

De los pacientes reclutados, 40 pacientes tenían menos de 6 meses de edad, de ellos 24 completaron el periodo de seguimiento sin infección. Entre los pacientes menores de 6 meses, 8 recibieron arándano con buena tolerancia digestiva, siendo 2 de ellos menores de 2 meses.

Durante el periodo de aleatorización, desgraciadamente ocurrieron problemas de logística que motivaron que 117 pacientes recibieran trimetoprima y 75 pacientes se asignaran al arándano. Sin embargo, el ciego se pudo garantizar en todos los casos. La Tabla 9.4 muestra el porcentaje y el número de UTI en cada rama de tratamiento al final del periodo de seguimiento.

### 9.3. Análisis descriptivo

En este apartado se hace un análisis descriptivo de las características fundamentales de cada variable incluida en el estudio, tanto en el grupo experimental como en el grupo control.

En las Tablas siguientes se muestra la descripción de los principales estadígrafos para las variables cuantitativas incluidas en este proyecto. Las hemos agrupado en función de la intervención asignada a cada niño.

**Tabla 9.5.** Descripción general de la cohorte de estudio para las variables edad, peso y talla.

	Grupo Control (n=117)			Grupo experimental (n=75)		
	Peso (Kg)	Talla (cm)	Edad (meses)	Peso (Kg)	Talla (cm)	Edad (meses)
Media (DS)	11.242	79.17	25.156	14.844	87.07	32.784
Intervalo confianza 95%, media	8.6-13.8	70.7-87.5	12.5-37.8	9.7-19.9	74.5-99	16.4-49.1
Error estándar media	1.2	4.0	6.1	2.3	5.8	7.6
Mediana (DS)	9.00	71	9.867	13.00	87	29.433
Varianza	43.2	452.9	1021.6	85.5	512.2	874.0
Valor mínimo	4.2	54	0.9	4.9	58	1.3
Valor máximo	30.0	125	106.7	39	124	91.5
Asimetría	1.5	1.0	1.5	1.3	0.2	0.8
Error estándar asimetría	0.4	0.4	0.4	0.5	0.5	0.5
Curtosis	1.9	-0.04	1.01	2.04	-1.39	-0.08
Error estándar curtosis	0.87	0.87	0.87	1.12	1.12	1.12
Amplitud intercuartil (IQC)	7.2	31	41.4	1.3	42	44.6
Test de Kolmogorov-	0.24	0.26	0.32	0.16	0.18	0.19
Smirnov, (P)	(0.001)	(0.001)	(0.001)	(0.2)	(0.17)	(0.12)
Percentiles 10 - 90	5.1/22.9	56/119	1.9/85	5.3/30.6	58/121	2.1/90

Las Tablas 9.5 a 9.8 nos muestran una descripción general de las características somatométricas de los pacientes reclutados en el estudio. Se muestran las características de los subgrupos considerados en el estudio. Tabla 9.6 pacientes con ectasia pieloureteral-hidronefrosis. Tabla 9.7 pacientes con reflujo vesicoureteral. Tabla 9.8 pacientes con infecciones urinarias recurrentes.

**Tabla 9.6.** Descripción estadística de la cohorte de estudio de ectasia pieloureteral para las variables edad, peso, talla.

	Grupo Control (n=117)			Grupo experimental (n=75)		
	Peso (Kg)	Talla (cm)	Edad (meses)	Peso (Kg)	Talla (cm)	Edad (meses)
Media (DS)	9.009	77.78	15.135	8.076	63.67	10.630
Intervalo confianza 95%, media	7.145- 10.873	59.64- 95.92	6.993- 23.277	5.494- 10.657	41.40- 85.93	3.498- 17.761
Error estándar media	0.9182	7.867	4.106	1.2236	5.175	3.3800
Mediana (DS)	8.050	68	6.083	5.850	59	3.350
Varianza	30.348	556.94	579.046	26.947	80.333	205.639
		4				
Valor mínimo	4	54	0.9	3.2	58	1.0
Valor máximo	34.0	118	106.7	23.5	74	52.0
Asimetría	2.979	0.789	2.649	1.905	1.708	1.929
Error estándar asimetría	0.393	0.717	0.393	0.536	1.225	0.536
Curtosis	11.786	-0.962	6.653	3.692	.	3.286
Error estándar curtosis	0.768	1.400	0.768	1.038	.	1.038
Amplitud intercuartil (IQC)	4.3	44	8.7	5.3	.	14.7
Test de Kolmogorov-	0.23	0.23	0.36	0.32	0.36	0.35
Smirnov, (P)	(0.17)	(0.18)	(0.001)	-	-	-
Percentiles 10 – 90	4.1/15.7	54/102	0.86/67	4.8/5.7	58/59	1.3/2.6

**Tabla 9.7.** Descripción estadística de la cohorte de estudio de reflujo vesicoureteral para las variables edad, peso, talla.

	Grupo Control (n=117)			Grupo experimental (n=75)		
	Peso (Kg)	Talla (cm)	Edad (meses)	Peso (Kg)	Talla (cm)	Edad (meses)
Media (DS)	12.463	77.42	26.656	11.750	86.86	25.496
Intervalo confianza 95%, media	10.012- 14.914	58.52- 96.31	16.689- 36.622	9.096- 14.404	70.37- 103.34	13.090- 37.902
Error estándar media	1.1752	7.351	4.7778	1.2578	6.738	5.8801
Mediana (DS)	12	71.50	20.800	11.150	87	18.733
Varianza	29.001	324.24	479.381	28.476	317.810	622.365
Valor mínimo	3.7	57	1.2	4.6	65	2.5
Valor máximo	22	109	76.4	22.5	111	100.3
Asimetría	0.466	1.167	0.966	0.591	0.115	1.704
Error estándar asimetría	0.501	0.845	0.501	0.536	0.794	0.536
Curtosis	-0.524	1.611	0.091	-0.530	-1.828	3.658
Error estándar curtosis	0.972	1.741	0.972	1.038	1.587	1.038
Amplitud intercuartil (IQC)	7	25	32.7	7.6	34	31.3
Test de Kolmogorov-	0.29	0.28	0.24	0.14	0.19	0.22
Smirnov, (P)	(0.1)	(0.13)	(0.2)	(0.2)	(0.2)	(0.2)
Percentiles 10 – 90	5.2/14.5	57/91	1.9/29	8/17	65/104	7.4/46

**Tabla 9.8.** Descripción estadística de la cohorte de estudio de infecciones urinarias recurrentes para las variables edad, peso, talla.

	Grupo Control (n=117)			Grupo experimental (n=75)		
	Peso (Kg)	Talla (cm)	Edad (meses)	Peso (Kg)	Talla (cm)	Edad (meses)
Media (DS)	16.242	83.92	41.406	15.881	101.40	37.451
Intervalo confianza 95%, media	13.510- 18.973	69.46- 98.39	31.236- 51.577	12.678- 19.083	70.78- 132.02	25.642- 49.261
Error estándar media	1.3640	6.640	5.0789	1.5776	11.030	5.8229
Mediana (DS)	12	73.50	23.550	13	107	23.967
Varianza	107.915	573.202	1496.136	89.600	608.300	1254.517
Valor mínimo	4.5	62	1.3	6	63	4.8
Valor máximo	44	125	155.2	39	124	125.3
Asimetría	1.134	1.040	0.874	1.014	-1.085	1.220
Error estándar asimetría	0.314	0.616	0.314	0.393	0.913	0.388
Curtosis	0.436	-0.668	-0.252	-0.111	0.651	0.403
Error estándar curtosis	0.618	1.191	0.618	0.768	2.00	0.759
Amplitud intercuartil (IQC)	14.7	41	65.5	16.8	44	42.4
Test de Kolmogorov-	0.32	0.34	0.39	0.30	0.20	0.21
Smirnov, (P)	(0.02)	(0.01)	(0.001)	(0.1)	(0.2)	(0.2)
Percentiles 10 - 90	4.1/19	54/118	1.9/76	8/28	65/114	7.4/68

Las Tablas 9.9 a 9.16 muestran los valores bioquímicos urinarios en la cohorte de estudio y en cada uno de los subgrupos considerados.

**Tabla 9.9.** Descripción general de la cohorte de estudio para las variables glucosa, creatinina (Cr), urea en orina.

	Grupo Control (n=117)			Grupo experimental (n=75)		
	Glucosa (mg/dl)	Cr (mg/dl)	Urea (mg/dl)	Glucosa (mg/dl)	Cr (mg/dl)	Urea (mg/dl)
Media (DS)	6,09	63,90	1886	6,95	54,28	1596,33
Intervalo confianza 95%, media	4,81-7,37	49,4- 78,3	1482- 2289	5,07- 8,82	39,99- 68,57	2074,31- 228,36
Error estándar media	0.62	7,07	197,93	0.89	6,82	228,36
Mediana (DS)	6,00	63,45	1842,2	6,50	54,60	1656,50
Varianza	12,60	1603,9	1253732	16,05	932,17	1043040
Valor mínimo	1,0	3,00	179,0	1,0	3,80	3319,4
Valor máximo	16,0	165,1	4448,2	19,0	106,6	3248,4
Asimetría	0.80	0.42	0.31	1,58	0.10	0.11
Error estándar asimetría	0.41	0.41	0.41	0.51	0.51	0.51
Curtosis	0.71	-0.11	-0.48	3,63	-1,01	-1,33
Error estándar curtosis	0.80	0.80	0.80	0.99	0.99	0.99
Amplitud intercuartil (IQC)	5,0	63,8	1599,4	3,8	55,6	1922,5
Test de Kolmogorov-	0.12	0.06	0.06	0.19	0.12	0.14
Smirnov, (P)	0.20	0.20	0.20	0.04	0.20	0.20
Percentiles 10 - 90	2,0-11,4	11,6- 112,9	285,8- 3591,4	1,1-13,6	15,4- 103,9	410,4- 3047,2



**Tabla 9.10.** Descripción estadística de la cohorte de estudio de ectasia pieloureteral para las variables glucosa, creatinina (Cr), urea en orina.

	Grupo Control (n=117)			Grupo experimental (n=75)		
	Glucosa (mg/dl)	Cr (mg/dl)	Urea (mg/dl)	Glucosa (mg/dl)	Cr (mg/dl)	Urea (mg/dl)
Media (DS)	6,25	59,55	1997,45	5,28	40,21	1183,07
Intervalo confianza 95%, media	4,26-8,23	34,33- 84,77	1131,93- 2862,96	2,52-8,04	8,65- 71,76	116,30- 2249,83
Error estándar media	0.83	10.66	366,02	0.12	12,89	435,96
Mediana (DS)	6,50	58,55	2028,75	5,00	33,10	570.70
Varianza	5,64	910.06	1071812,68	8,90	1164,10	1330455,57
Valor mínimo	2,0	11,6	232,2	1,0	3,8	71,0
Valor máximo	10.0	104,8	3446,0	10.0	105,6	3051,3
Asimetría	-0.30	0.08	-0.33	0.19	0.79	0.98
Error estándar asimetría	0.75	0.75	0.75	0.79	1,52	0.79
Curtosis	0.90	-0.23	-0.25	-0.22	1,58	-0.75
Error estándar curtosis	1,48	1,48	1,48	1,58	1,58	1,58
Amplitud intercuartil (IQC)	2,8	47,8	1586,1	4,0	44,5	2111,4
Test de Kolmogorov-	0.17	0.16	0.11	0.14	0.18	0.27
Smirnov, (P)	0.20	0.20	0.20	0.20	0.20	0.12
Percentiles 10 - 90	2,00-7,75	11,60- 87,37	232,20- 2871,10	1,0-7,0	3,8- 59,30	71,0- 2517,70

**Tabla 9.11.** Descripción estadística de la cohorte de estudio de reflujo vesicoureteral para las variables glucosa, creatinina (Cr), urea en orina.

	Grupo Control (n=117)			Grupo experimental (n=75)		
	Glucosa (mg/dl)	Cr (mg/dl)	Urea (mg/dl)	Glucosa (mg/dl)	Cr (mg/dl)	Urea (mg/dl)
Media (DS)	9,00	65,76	1858,00	10.60	54,92	1380.020
Intervalo confianza 95%, media	-6,11- 24,11	-63,72- 195,25	-2239,16- 5955,16	3,32- 17,87	28,69- 81,14	432,75- 2327,28
Error estándar media	3,51	30.09	952,24	2,61	9,44	341,18
Mediana (DS)	12,00	69,00	1509,30	9,00	59,90	1531,90
Varianza	37,00	2717,04	2720293,87	34,30	446,13	582020.63
Valor mínimo	2,00	12,1	410.9	5,00	21,2	447,9
Valor máximo	13,00	116,2	3653,8	19,00	73,2	2345,3
Asimetría	-1,68	-0.27	0.90	0.73	-1,21	-0.04
Error estándar asimetría	1,22	1,22	1,22	0.91	0.91	0.91
Curtosis	.	.	.	-1,04	1,33	-1,47
Error estándar curtosis	.	.	.	2,00	2,00	2,00
Amplitud intercuartil (IQC)	.	.	.	11	36,7	1442,3
Test de Kolmogorov-	0.35	0.19	0.25	0.20	0.21	0.17
Smirnov, (P)	.	.	.	0.20	0.20	0.20
Percentiles 10 - 90	2-12	12,10-69	410.90- 2063,20	5-16,5	21,20- 72,50	447,90- 2063,20

**Tabla 9.12.** Descripción estadística de la cohorte de estudio de infecciones urinarias recurrentes para las variables glucosa, creatinina (Cr), urea en orina.

	Grupo Control (n=117)			Grupo experimental (n=75)		
	Glucosa (mg/dl)	Cr (mg/dl)	Urea (mg/dl)	Glucosa (mg/dl)	Cr (mg/dl)	Urea (mg/dl)
Media (DS)	5,50	58,070	1896,47	3,80	31,22	829,02
Intervalo confianza 95%, media	3,55-7,44	35,87- 80,27	1167,86- 2625,07	0,96- 6,63	-10,14- 72,58	-135,98- 1794,02
Error estándar media	0,85	9,81	322,08	1,01	14,89	347,56
Mediana (DS)	5,50	58,55	1842,20	3,00	22,40	478,70
Varianza	7,38	963,04	1037384,53	5,20	1109,73	604019,79
Valor mínimo	1,0	3,0	202,3	1,0	3,8	71,0
Valor máximo	10,0	94,6	3769,4	7,0	88,8	2023,5
Asimetría	0,00	-0,44	0,22	0,40	1,36	1,05
Error estándar asimetría	0,68	0,68	0,68	0,91	0,91	0,91
Curtosis	-0,43	31,22	0,34	-0,17	3,81	0,31
Error estándar curtosis	1,33	14,89	1,33	2,00	2,00	2,00
Amplitud intercuartil (IQC)	5,0	58,2	1368,9	4,0	48,3	1355,9
Test de Kolmogorov– Smirnov, (P)	0,12 0,20	0,16 0,20	0,15 0,20	0,23 0,20	0,35 0,03	0,27 0,20
Percentiles 10 - 90	1,20-9,80	5,36- 94,23	276,22- 3689,82	1,00- 6,00	3,8- 57,55	71,00- 1594,55

**Tabla 9.13.** Descripción general de la cohorte de estudio para las variables sodio (Na), potasio (K), cloro (Cl) en orina.

	Grupo Control (n=117)			Grupo experimental (n=75)		
	Na (mEq/L)	K (mEq/L)	Cl (mEq/L)	Na (mEq/L)	K (mEq/L)	Cl (mEq/L)
Media (DS)	83,35	53,54	80,75	80,69	54,21	79,57
Intervalo confianza 95%, media	67,27- 99,44	44,11- 62,97	64,99- 96,52	60,07- 101,32	44,17- 64,25	60,47- 98,67
Error estándar media	8,04	4,71	7,89	10,21	4,97	9,46
Mediana (DS)	75,50	42,62	68,95	65,0	46,58	65,5
Varianza	4144,01	1424,94	3984,82	4490,26	1064,89	3852,09
Valor mínimo	2	4,3	5,4	3	10,9	7,5
Valor máximo	281	161	220,2	229	151,7	253,3
Asimetría	0,89	1,39	0,72	0,61	1,16	1,08
Error estándar asimetría	0,29	0,29	0,29	0,36	0,36	0,36
Curtosis	0,65	1,37	-0,46	-0,87	0,97	0,86
Error estándar curtosis	0,59	0,59	0,59	0,70	0,70	0,70
Amplitud intercuartil (IQC)	92,3	35,7	98,8	122	41,8	84,9
Test de Kolmogorov– Smirnov, (P)	0,10 (0,08)	0,17 (0,00)	0,12 (0,02)	0,13 (0,05)	0,16 (0,00)	0,12 (0,10)
Percentiles 10 - 90	8-179,5	17,86- 118,82	9,8-180,8	6,8-174,6	21,08- 110,59	12,8- 173,98

**Tabla 9.14.** Descripción estadística de la cohorte de estudio de ectasia pieloureteral para las variables sodio (Na), potasio (K), cloro (Cl) en orina.

	Grupo Control (n=117)			Grupo experimental (n=75)		
	Na (mEq/L)	K (mEq/L)	Cl (mEq/L)	Na (mEq/L)	K (mEq/L)	Cl (mEq/L)
Media (DS)	64,06	58,92	70,55	26,07	55,33	32,03
Intervalo confianza 95%, media	38,38- 90,81	39,75- 78,10	45,65- 95,45	10,82- 41,32	32,38- 78,27	18,13- 45,94
Error estándar media	12,52	9,16	11,89	6,99	10,53	6,38
Mediana (DS)	61	47,96	77,09	16	51,03	25,70
Varianza	3138,46	1678,48	2831,04	636,91	1441,46	529,73
Valor mínimo	3	10,8	7,2	3	16,9	7,5
Valor máximo	180	144,8	151,7	81	151,7	77,5
Asimetría	0,74	0,94	0,13	1,13	1,4	0,82
Error estándar asimetría	0,51	0,51	0,51	0,61	0,61	0,61
Curtosis	-0,21	-0,05	-1,60	0,23	2,40	-0,50
Error estándar curtosis	0,99	0,99	0,99	1,19	1,19	1,19
Amplitud intercuartil (IQC)	88	57,2	102,3	42,5	53,4	36
Test de Kolmogorov– Smirnov, (P)	0,15 (0,20)	0,17 (0,10)	0,22 (0,01)	0,25 (0,01)	0,15 (0,20)	0,22 (0,08)
Percentiles 10 - 90	3,5-174,5	12,01- 139,10	8,63- 142,81	3,4-73,4	17,53- 127,57	9,1- 72,70

**Tabla 9.15.** Descripción estadística de la cohorte de estudio de reflujo vesicoureteral para las variables sodio (Na), potasio (K), cloro (Cl) en orina.

	Grupo Control (n=117)			Grupo experimental (n=75)		
	Na (mEq/L)	K (mEq/L)	Cl (mEq/L)	Na (mEq/L)	K (mEq/L)	Cl (mEq/L)
Media (DS)	88,45	55,82	87,45	93,83	41,04	90,36
Intervalo confianza 95%, media	53,94- 122,96	37,57- 74,08	42,03- 132,87	56,04- 131,62	23,85- 5,24	53,69- 127,03
Error estándar media	15,48	8,19	20,38	17,17	7,81	16,66
Mediana (DS)	87,00	53,11	66	92,50	32,15	88,85
Varianza	2638,67	738,27	4570,60	3538,15	732,59	3331,45
Valor mínimo	3	14	10,3	8	10,9	10,6
Valor máximo	156	108,2	209	174	112,5	182,1
Asimetría	-0,40	0,29	0,78	-0,09	1,94	0,10
Error estándar asimetría	0,66	0,66	0,66	0,63	0,63	0,63
Curtosis	-0,94	0,14	-0,52	-1,56	4,20	-1,28
Error estándar curtosis	1,27	1,27	1,27	1,23	1,23	1,23
Amplitud intercuartil (IQC)	98	37,1	103,2	103,8	19,3	100,9
Test de Kolmogorov– Smirnov, (P)	0,16 (0,20)	0,12 (0,20)	0,17 (0,20)	0,18 (0,20)	0,26 (0,02)	0,12 (0,20)
Percentiles 10 - 90	6,20- 154,40	15,35- 102,89	12,30- 135,80	11-172,80	14,79- 44,80	11,92- 140,92

**Tabla 9.16.** Descripción estadística de la cohorte de estudio de infecciones urinarias recurrentes para las variables sodio (Na), potasio (K), cloro (Cl) en orina.

	Grupo Control (n=117)			Grupo experimental (n=75)		
	Na (mEq/L)	K (mEq/L)	Cl (mEq/L)	Na (mEq/L)	K (mEq/L)	Cl (mEq/L)
Media (DS)	70,93	53,34	74,20	72	44,63	69,81
Intervalo confianza 95%, media	35,14- 106,73	28,94- 77,74	37,77- 110,62	-6,27- 150,27	27,22- 62,03	-1,84- 141,47
Error estándar media	16,79	11,44	17,08	31,98	7,11	29,28
Mediana (DS)	54	38,70	42,10	35	0,43	56,10
Varianza	4512,19	2096,28	4671,90	7162,33	354,33	6004,10
Valor mínimo	3	4,3	5,4	3	16,9	7,5
Valor máximo	250	153,7	220,2	204	73	220,5
Asimetría	1,58	1,53	0,85	0,91	-0,22	1,48
Error estándar asimetría	0,56	0,56	0,56	0,79	0,79	0,79
Curtosis	2,46	1,14	-0,50	-1,06	-0,09	1,82
Error estándar curtosis	1,09	1,09	1,09	1,58	1,58	1,58
Amplitud intercuartil (IQC)	82,3	29,1	115,4	170	27,7	109,3
Test de Kolmogorov– Smirnov, (P)	0,19 (0,12)	0,33 (0,00)	0,24 (0,01)	0,24 (0,20)	0,23 (0,20)	0,28 (0,09)
Percentiles 10 - 90	7,9- 102,75	14,20- 55,60	8,13- 134,97	3-174	7,5-121,5	13,25- 89,05

#### 9.4. Descripción de los microorganismos identificados.

La Tabla 9.17 resume los microorganismos aislados en la ITU previa a la entrada en el estudio. El 44.2 % de todas las infecciones se deben a *E. coli*. y se producen en niñas en el 54.1 % de las ocasiones. El siguiente microorganismo en frecuencia es la *Klebsiella* que se observa en el 5% de las ocasiones.

**Tabla 9.17.** Frecuencia de aislamientos bacterianos en las ITU previas al ingreso en el ensayo.

Microorganismo	No infección	Intervención		Total
		Trimetoprima	Arándano	
primera infección (entrada en el estudio)		50	25	75
	<i>E. coli</i>	47	38	85
	<i>Proteus mirabilis</i>	3	3	6
	<i>Klebsiella</i>	4	6	10
	<i>Pseudomona aeruginosa</i>	2	0	2
	<i>S. aureus</i>	3	2	5
	<i>S. epidermidis</i>	1	0	1
	<i>Enterobacter</i>	4	1	5
	<i>Morganella Morganii</i>	2	0	2
	<i>Enterococo</i>	1	0	1
Total		117	75	192

**Tabla 9.18.** Frecuencia de aislamientos bacterianos en las ITU durante el periodo de seguimiento del ensayo.

		Intervención		Total
		Trimetoprima	Arándano	
Microorganismo última infección (salida del estudio)	Sin infección	94	57	151
	<i>E. coli</i>	14	11	25
	<i>Proteus mirabilis</i>	3	3	6
	<i>Klebsiella</i>	1	3	4
	<i>S. epidermidis</i>	0	1	1
	<i>Enterococo</i>	3	0	3
	<i>Enterobacter</i>	1	0	1
	<i>S. haemolyticus</i>	1	0	1
Total		117	75	192

Como se aprecia en la Tabla 9.18 la frecuencia de infecciones por *E. coli* en pacientes que reciben profilaxis (arándano o trimetoprima) disminuye hasta el 13% en el periodo de seguimiento. La presencia de infección urinaria, por cuestiones de diseño del estudio, motivó la salida del paciente del seguimiento. La prevalencia de ITU por *E. coli* disminuyó tras el seguimiento en un 9.3% entre los pacientes que reciben trimetoprima y un 14.9% entre los que reciben arándano.

La prevalencia de infección de orina en nuestra cohorte de estudio durante el periodo de seguimiento (periodo en que reciben profilaxis) es del 21.3%, lo que supone una reducción de la prevalencia de ITU de 39.6% durante el periodo de seguimiento. Hay que reseñar que el 72% de los pacientes con ITU por *E. coli* fueron niñas. Durante el periodo de seguimiento la prevalencia de ITU por microorganismos distintos a *E. coli* fue del 8.3%, frente al 16.6% observado al inicio del ensayo en nuestra cohorte.

## 9.5. Resultados del análisis de supervivencia

Para estimar la probabilidad de infección en un tiempo  $t_j$  durante el periodo de seguimiento utilizamos el método de Kaplan-Meier que aplica la ley multiplicativa de probabilidades, es decir multiplica la probabilidad de no tener infección en el tiempo anterior  $t_{j-1}$  por la probabilidad (condicionada) de que los pacientes lleguen al tiempo  $j$  también sin infección. Como puede verse en las siguientes Tablas, esta probabilidad al inicio vale 1 porque a su entrada en el estudio todos los sujetos no tienen infección, hemos codificado el tiempo de permanencia en el estudio en días, conforme vamos avanzando en el seguimiento vamos observando la disminución de la probabilidad permanecer sin infección. Estas probabilidades se detallan para los pacientes que reciben arándano americano o placebo.

### 9.5.1. Estimación de la probabilidad ITU en la cohorte

Las Tablas 9.18 y 9.19 muestran los resultados del análisis de Kaplan-Meier en la cohorte completa (niños y niñas) y para el conjunto de los criterios de inclusión considerados.

**Tabla 9.19.** Resultados de la estimación de Kaplan-Meier para la probabilidad de permanecer en el estudio sin infección urinaria en pacientes que han recibido profilaxis con trimetoprima (cohorte completa).

Intervención	Tiempo (días)	Estado	Proporción acumulada de permanencia sin infección		Nº acumulado de eventos	Nº de casos restantes	
			Estimado	EE			
Trimetoprima	1	33	Infección	0.991	0.009	1	107
	2	37	Infección	.	.	2	106
	3	37	Infección	.	.	3	105
	4	37	Infección	0.963	0.018	4	104
	5	37	Intolerancia digestiva	.	.	4	103
	6	38	Tiempo completo	.	.	4	102
	7	41	Retirada voluntaria	.	.	4	101
	8	46	Infección	0.953	0.020	5	100
	9	47	Infección	0.944	0.022	6	99
	10	49	Infección	0.934	0.024	7	98
	11	49	Tiempo completo	.	.	7	97
	12	49	Perdido	.	.	7	96
	13	49	Retirada voluntaria	.	.	7	95
	14	56	Infección	0.925	0.026	8	94
	15	63	Tiempo completo	.	.	8	93
	16	63	Tiempo completo	.	.	8	92
	17	64	Infección	0.914	0.027	9	91
	18	68	Retirada voluntaria	.	.	9	90
	19	75	Infección	0.904	0.029	10	89
	20	80	Infección	0.894	0.030	11	88
	21	87	Tiempo completo	.	.	11	87
	22	91	Tiempo completo	.	.	11	86
	23	92	Retirada voluntaria	.	.	11	85
	24	94	Tiempo completo	.	.	11	84
	25	97	Infección	0.884	0.032	12	83
	26	98	Infección	0.873	0.033	13	82
	27	98	Tiempo completo	.	.	13	81
	28	98	Retirada voluntaria	.	.	13	80
	29	98	Tiempo completo	.	.	13	79

**Tabla 9.19 (2).** Resultados de la estimación de Kaplan-Meier para la probabilidad de permanecer en el estudio sin infección urinaria en pacientes que han recibido profilaxis con trimetoprima (cohorte completa).

Intervención	Tiempo (días)	Estado	Proporción acumulada de permanencia sin infección		Nº acumulado de eventos	Nº de casos restantes
			Estimado	EE		
30	99	Infección	0.862	0.034	14	78
31	112	Infección	0.851	0.036	15	77
32	114	Infección	0.840	0.037	16	76
33	123	Perdido	.	.	16	75
34	127	Infección	0.829	,038	17	74
35	132	Retirada voluntaria	.	.	17	73
36	141	Retirada voluntaria	.	.	17	72
37	144	Tiempo completo	.	.	17	71
38	148	Infección	0.817	0.039	18	70
39	152	Retirada voluntaria	.	.	18	69
40	153	Infección	0.805	0.040	19	68
41	154	Tiempo completo	.	.	19	67
42	161	Retirada voluntaria	.	.	19	66
43	161	Tiempo completo	.	.	19	65
44	162	Infección	0.793	0.042	20	64
45	163	Retirada voluntaria	.	.	20	63
46	175	Infección	0.780	0.043	21	62
47	189	Infección	.	.	22	61
48	189	Infección	0.755	0.045	23	60
49	190	Retirada voluntaria	.	.	23	59
50	196	Tiempo completo	.	.	23	58
51	196	Retirada voluntaria	.	.	23	57
52	196	Tiempo completo	.	.	23	56
53	202	Infección	0.741	0.046	24	55
54	216	Retirada voluntaria	.	.	24	54
55	218	Tiempo completo	.	.	24	53
56	220	Tiempo completo	.	.	24	52
57	228	Tiempo completo	.	.	24	51

**Tabla 9.19 (3).** Resultados de la estimación de Kaplan-Meier para la probabilidad de permanecer en el estudio sin infección urinaria en pacientes que han recibido profilaxis con trimetoprima (cohorte completa).

Intervención	Tiempo (días)	Estado	Proporción acumulada de permanencia sin infección		Nº acumulado de eventos	Nº de casos restantes
			Estimado	EE		
58	247	Retirada voluntaria	.	.	24	50
59	262	Tiempo completo	.	.	24	49
60	268	Infección	0.726	0.048	25	48
61	283	Tiempo completo	.	.	25	47
62	290	Tiempo completo	.	.	25	46
63	297	Infección	0.710	0.049	26	45
64	304	Tiempo completo	.	.	26	44
65	304	Tiempo completo	.	.	26	43
66	317	Infección	0.694	0.051	27	42
67	318	Retirada voluntaria	.	.	27	41
68	324	Tiempo completo	.	.	27	40
69	327	Intolerancia digestiva	.	.	27	39
70	333	Tiempo completo	.	.	27	38
71	344	Tiempo completo	.	.	27	37
72	346	Tiempo completo	.	.	27	36
73	351	Tiempo completo	.	.	27	35
74	357	Tiempo completo	.	.	27	34
75	364	Tiempo completo	.	.	27	33
76	365	Infección	0.673	0.053	28	32
77	365	Tiempo completo	.	.	28	31
78	365	Tiempo completo	.	.	28	30
79	365	Tiempo completo	.	.	28	29
80	365	Tiempo completo	.	.	28	28
81	365	Tiempo completo	.	.	28	27



**Tabla 9.19 (4).** Resultados de la estimación de Kaplan-Meier para la probabilidad de permanecer en el estudio sin infección urinaria en pacientes que han recibido profilaxis con trimetoprima (cohorte completa).

Intervención	Tiempo (días)	Estado	Proporción acumulada de permanencia sin infección		Nº acumulado de eventos	Nº de casos restantes
			Estimado	EE		
82	365	Tiempo completo	.	.	28	26
83	365	Tiempo completo	.	.	28	25
84	365	Tiempo completo	.	.	28	24
85	365	Tiempo completo	.	.	28	23
86	365	Tiempo completo	.	.	28	22
87	365	Tiempo completo	.	.	28	21
88	365	Tiempo completo	.	.	28	20
89	365	Tiempo completo	.	.	28	19
90	365	Tiempo completo	.	.	28	18
91	365	Tiempo completo	.	.	28	17
92	365	Tiempo completo	.	.	28	16
93	365	Tiempo completo	.	.	28	15
94	365	Tiempo completo	.	.	28	14
95	365	Tiempo completo	.	.	28	13
96	365	Tiempo completo	.	.	28	12
97	365	Tiempo completo	.	.	28	11
98	365	Tiempo completo	.	.	28	10
99	365	Tiempo completo	.	.	28	9
100	365	Tiempo completo	.	.	28	8
101	365	Tiempo completo	.	.	28	7
102	365	Tiempo completo	.	.	28	6
103	365	Tiempo completo	.	.	28	5

**Tabla 9.19 (5).** Resultados de la estimación de Kaplan-Meier para la probabilidad de permanecer en el estudio sin infección urinaria en pacientes que han recibido profilaxis con trimetoprima (cohorte completa).

Intervención	Tiempo (días)	Estado	Proporción acumulada de permanencia sin infección		Nº acumulado de eventos	Nº de casos restantes
			Estimado	EE		
104	365	Tiempo completo	.	.	28	4
105	365	Tiempo completo	.	.	28	3
106	365	Tiempo completo	.	.	28	2
107	365	Tiempo completo	.	.	28	1
108	365	Tiempo completo	.	.	28	0

**Tabla 9.20.** Resultados de la estimación de Kaplan-Meier para la probabilidad de permanecer en el estudio sin infección urinaria en pacientes que han recibido profilaxis con arándano americano (cohorte completa).

Intervención	Tiempo (días)	Estado	Proporción acumulada de permanencia sin infección		Nº acumulado de eventos	Nº de casos restantes	
			Estimado	EE			
Arándano	1	15	Infección	0.986	0.014	1	71
	2	16	Infección	0.972	0.019	2	70
	3	20	Infección	0.958	0.024	3	69
	4	27	Infección	0.944	0.027	4	68
	5	30	Retirada voluntaria	.	.	4	67
	6	37	Infección	0.930	0.030	5	66
	7	43	Retirada voluntaria	.	.	5	65
	8	63	Perdido	.	.	5	64
	9	69	Infección	0.916	0.033	6	63
	10	75	Infección	0.901	0.035	7	62
	11	78	Tiempo completo	.	.	7	61
	12	79	Infección	0.886	0.038	8	60
	13	84	Infección	0.872	0.040	9	59
	14	84	Retirada voluntaria	.	.	9	58
	15	91	Alergia	.	.	9	57
	16	94	Infección	0.856	0.042	10	56
	17	95	Intolerancia digestiva	.	.	10	55

**Tabla 9.20 (2).** Resultados de la estimación de Kaplan-Meier para la probabilidad de permanecer en el estudio sin infección urinaria en pacientes que han recibido profilaxis con arándano americano (cohorte completa).

Intervención	Tiempo (días)	Estado	Proporción acumulada de permanencia sin infección		Nº acumulado de eventos	Nº de casos restantes
			Estimado	EE		
18	136	Infección	0.841	0.044	11	54
19	139	Perdido	.	.	11	53
20	140	Tiempo completo	.	.	11	52
21	141	Infección	0.825	0.046	12	51
22	150	Tiempo completo	.	.	12	50
23	151	Infección	0.808	0.048	13	49
24	152	Retirada voluntaria	.	.	13	48
25	153	Retirada voluntaria	.	.	13	47
26	154	Infección	0.791	0.050	14	46
27	158	Retirada voluntaria	.	.	14	45
28	163	Intolerancia digestiva	.	.	14	44
29	168	Tiempo completo	.	.	14	43
30	168	Tiempo completo	.	.	14	42
31	171	Infección	0.772	0.052	15	41
32	183	Retirada voluntaria	.	.	15	40
33	185	Tiempo completo	.	.	15	39
34	194	Retirada voluntaria	.	.	15	38
35	196	Infección	0.752	0.055	16	37
36	205	Infección	0.732	0.057	17	36
37	207	Retirada voluntaria	.	.	17	35
38	226	Infección	0.711	0.059	18	34
39	234	Tiempo completo	.	.	18	33
40	240	Retirada voluntaria	.	.	18	32
41	243	Retirada voluntaria	.	.	18	31
42	264	Retirada voluntaria	.	.	18	30

**Tabla 9.20 (3).** Resultados de la estimación de Kaplan-Meier para la probabilidad de permanecer en el estudio sin infección urinaria en pacientes que han recibido profilaxis con arándano americano (cohorte completa).

Intervención	Tiempo (Días)	Estado	Proporción acumulada de permanencia sin infección		N° acumulado de eventos	N° de casos restantes
			Estimado	EE		
43	286	Retirada voluntaria	.	.	18	29
44	318	Tiempo completo	.	.	18	28
45	330	Perdido	.	.	18	27
46	365	Infección	0.684	0.062	19	26
47	365	Tiempo completo	.	.	19	25
48	365	Tiempo completo	.	.	19	24
49	365	Tiempo completo	.	.	19	23
50	365	Tiempo completo	.	.	19	22
51	365	Tiempo completo	.	.	19	21
52	365	Tiempo completo	.	.	19	20
53	365	Tiempo completo	.	.	19	19
54	365	Tiempo completo	.	.	19	18
55	365	Tiempo completo	.	.	19	17
56	365	Tiempo completo	.	.	19	16
57	365	Tiempo completo	.	.	19	15
58	365	Tiempo completo	.	.	19	14
59	365	Tiempo completo	.	.	19	13
60	365	Tiempo completo	.	.	19	12
61	365	Tiempo completo	.	.	19	11
62	365	Tiempo completo	.	.	19	10
63	365	Tiempo completo	.	.	19	9
64	365	Tiempo completo	.	.	19	8
65	365	Tiempo completo	.	.	19	7

**Tabla 9.20 (4).** Resultados de la estimación de Kaplan-Meier para la probabilidad de permanecer en el estudio sin infección urinaria en pacientes que han recibido profilaxis con arándano americano (cohorte completa).

Intervención	Tiempo (días)	Estado	Proporción acumulada de permanencia sin infección		Nº acumulado de eventos	Nº de casos restantes
			Estimado	EE		
66	365	Tiempo completo	.	.	19	6
67	365	Tiempo completo	.	.	19	5
68	365	Tiempo completo	.	.	19	4
69	365	Tiempo completo	.	.	19	3
70	365	Tiempo completo	.	.	19	2
71	365	Tiempo completo	.	.	19	1
72	365	Tiempo completo	.	.	19	0

De las Tablas anteriores se deduce que la probabilidad acumulada de permanencia sin infección de orina en los pacientes que reciben una intervención se puede calcular según la expresión:

$$S(t_j) \pm z_{\alpha/2} EE S(t_j)$$

La probabilidad acumulada de permanencia sin infección a los 6 meses de los pacientes que reciben arándano es de un 77.2%:

$$IC\ 95\%: 0.772 \pm 1.96 \times 0.052 = 0.67 \text{ a } 0.87 \text{ (67 a 87\%)}$$

La probabilidad acumulada de permanencia sin infección a los 6 meses de los pacientes que reciben trimetoprim es de un 78%:

$$IC\ 95\%: 0.780 \pm 1.96 \times 0.043 = 0.69 \text{ a } 0.86 \text{ (69 a 86\%)}$$

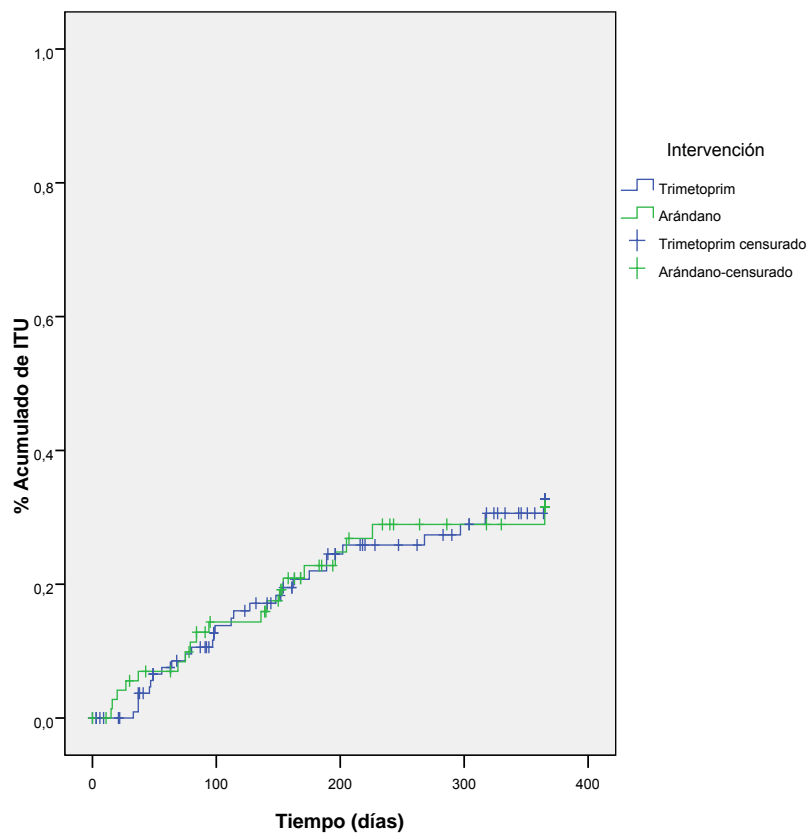
Como se aprecia en la siguiente Tabla, finalizan el año de seguimiento un total de 100 pacientes, 64 de los cuales corresponden al grupo que recibe trimetoprim y 36 al grupo que recibe arándano. Existen un número similar de retiradas voluntarias del estudio, pérdidas y alergia en ambos grupos. La intolerancia digestiva se observa en 5 casos de los que reciben trimetoprim frente a 2 que reciben arándano. Se observan 28 infecciones en el grupo que recibe trimetoprim, frente a 19 en el grupo que recibe arándano

**Tabla 9.21.** Recuento del estado de pacientes al finalizar el periodo de seguimiento.

		Intervención		Total
		Trimetoprima	Arándano	
Estado	Tiempo completo	64	36	100
	Retirada voluntaria	16	14	30
	Perdido	3	3	6
	Intolerancia digestiva	5	2	7
	Infección	28	19	47
	Alergia	1	1	2
Total		117	75	192

**Tabla 9.22.** Estimación del tiempo medio sin infección urinaria para cada intervención.

Intervención	Media	IC 95%
Trimetoprima	295.1	271.3- 318.7
Arándano	292.5	262.6-322.4
Todos	294.1	275.7-312.4

**Figura 9.4.** Curva de supervivencia (1-supervivencia) equivalente al % acumulado de ITU en cada intervención del estudio (Cohorte completa).

**Tabla 9.23.** Comparación de las curvas de supervivencia (Permanencia sin infección).

	Chi-Cuadrado	gl	Sig.
Log Rank (Mantel-Cox)	0.003	1	0.954

### 9.5.2. Estimación de la probabilidad ITU en la cohorte según género

Las siguientes Tablas describen la probabilidad de ITU en niños y niñas de nuestra cohorte.

**Tabla 9.24.** Resumen de casos al final del periodo de seguimiento.

Género	Intervención	Nº de Eventos		Censurado	
		Nº casos	%	Nº casos	%
Varón	Trimetoprim	48	8	40	83.3
	Arándano	32	9	23	71.9
	Ambos	80	17	63	78.8
Hembra	Trimetoprim	69	20	49	71.0
	Arándano	43	10	33	76.7
	Ambos	112	30	82	73.2
Total		192	47	145	75.5

**Tabla 9.25.** Resultados de la estimación de Kaplan-Meier para la probabilidad de permanecer en el estudio sin infección urinaria en pacientes que han recibido profilaxis con trimetoprima (cohorte de niños).

Intervención	Nº	Tiempo (días)	Estado	Proporción acumulada de permanencia sin infección		Nº acumulado de eventos	Nº de casos restantes
				Estimado	EE		
Trimetoprima	1	33	Infeción	0.977	0.023	1	42
	2	49	Tiempo completo	.	.	1	41
	3	63	Tiempo completo	.	.	1	40
	4	63	Tiempo completo	.	.	1	39
	5	64	Infeción	0.952	0.033	2	38
	6	75	Infeción	0.927	0.041	3	37
	7	80	Infeción	0.902	0.047	4	36
	8	87	Tiempo completo	.	.	4	35
	9	94	Tiempo completo	.	.	4	34
	10	97	Infeción	0.875	0.052	5	33

**Tabla 9.25. (1)** Resultados de la estimación de Kaplan-Meier para la probabilidad de permanecer en el estudio sin infección urinaria en pacientes que han recibido profilaxis con trimetoprima (cohorte de niños).

Intervención	N°	Tiempo (días)	Estado	Proporción acumulada de permanencia sin infección		N° acumulado de eventos	N° de casos restantes
				Estimado	EE		
	11	98	Tiempo completo	.	.	5	32
	12	98	Retirada voluntaria	.	.	5	31
	13	98	Tiempo completo	.	.	5	30
	14	99	Infección	0.846	0.058	6	29
	15	132	Retirada voluntaria	.	.	6	28
	16	141	Retirada voluntaria	.	.	6	27
	17	144	Tiempo completo	.	.	6	26
	18	152	Retirada voluntaria	.	.	6	25
	19	154	Tiempo completo	.	.	6	24
	20	161	Tiempo completo	.	.	6	23
	21	162	Infección	0.809	0.066	7	22
	22	216	Retirada voluntaria	.	.	7	21
	23	218	Tiempo completo	.	.	7	20
	24	228	Tiempo completo	.	.	7	19
	25	262	Tiempo completo	.	.	7	18
	26	283	Tiempo completo	.	.	7	17
	27	297	Infección	,762	,078	8	16
	28	304	Tiempo completo	.	.	8	15
	29	344	Tiempo completo	.	.	8	14
	30	346	Tiempo completo	.	.	8	13
	31	365	Tiempo completo	.	.	8	12
	32	365	Tiempo completo	.	.	8	11
	33	365	Tiempo completo	.	.	8	10



**Tabla 9.25. (2)** Resultados de la estimación de Kaplan-Meier para la probabilidad de permanecer en el estudio sin infección urinaria en pacientes que han recibido profilaxis con trimetoprima (cohorte de niños).

Intervención	Nº	Tiempo (días)	Estado	Proporción acumulada de permanencia sin infección		Nº acumulado de eventos	Nº de casos restantes
				Estimado	EE		
	34	365	Tiempo completo	.	.	8	9
	35	365	Tiempo completo	.	.	8	8
	36	365	Tiempo completo	.	.	8	7
	37	365	Tiempo completo	.	.	8	6
	38	365	Tiempo completo	.	.	8	5
	39	365	Tiempo completo	.	.	8	4
	40	365	Tiempo completo	.	.	8	3
	41	365	Tiempo completo	.	.	8	2
	42	365	Tiempo completo	.	.	8	1
	43	365	Tiempo completo	.	.	8	0

**Tabla 9.26.** Resultados de la estimación de Kaplan-Meier para la probabilidad de permanecer en el estudio sin infección urinaria en pacientes que han recibido profilaxis con arándano americano (cohorte de niños).

Intervención	Nº	Tiempo (días)	Estado	Proporción acumulada de permanencia sin infección		Nº acumulado de eventos	Nº de casos restantes
				Estimado	EE		
Arándano	1	20	Infección	0.969	0.031	1	31
	2	27	Infección	0.938	0.043	2	30
	3	37	Infección	0.906	0.052	3	29
	4	63	Perdido	.	.	3	28
	5	69	Infección	0.874	0.059	4	27
	6	78	Tiempo completo	.	.	4	26
	7	79	Infección	0.840	0.066	5	25
	8	84	Infección	0.807	0.071	6	24
	9	91	Alergia	.	.	6	23
	10	94	Infección	0.772	0.076	7	22
	11	136	Infección	0.737	0.080	8	21
	12	152	Retirada voluntaria	.	.	8	20

**Tabla 9.26 (2).** Resultados de la estimación de Kaplan-Meier para la probabilidad de permanecer en el estudio sin infección urinaria en pacientes que han recibido profilaxis con arándano (cohorte de niños).

Intervención	Nº	Tiempo (días)	Estado	Proporción acumulada de permanencia sin infección		Nº acumulado de eventos	Nº de casos restantes
				Estimado	EE		
	13	158	Retirada voluntaria	.	.	8	19
	14	163	Tiempo completo	.	.	8	18
	15	168	Tiempo completo	.	.	8	17
	16	171	Infección	0.693	0.087	9	16
	17	183	Retirada voluntaria	.	.	9	15
	18	194	Retirada voluntaria	.	.	9	14
	19	207	Retirada voluntaria	.	.	9	13
	20	264	Retirada voluntaria	.	.	9	12
	21	365	Tiempo completo	.	.	9	11
	22	365	Tiempo completo	.	.	9	10
	23	365	Tiempo completo	.	.	9	9
	24	365	Tiempo completo	.	.	9	8
	25	365	Tiempo completo	.	.	9	7
	26	365	Tiempo completo	.	.	9	6
	27	365	Tiempo completo	.	.	9	5
	28	365	Tiempo completo	.	.	9	4
	29	365	Tiempo completo	.	.	9	3
	30	365	Tiempo completo	.	.	9	2
	31	365	Tiempo completo	.	.	9	1
	32	365	Tiempo completo	.	.	9	0

**Tabla 9.27.** Resultados de la estimación de Kaplan-Meier para la probabilidad de permanecer en el estudio sin infección urinaria en pacientes que han recibido profilaxis con trimetoprima (cohorte de niñas).

Intervención	Nº	Tiempo (días)	Estado	Proporción acumulada de permanencia sin infección		Nº acumulado de eventos	Nº de casos restantes
				Estimado	EE		
Trimetoprima	1	37	Infección	.	.	1	64
	2	37	Infección	.	.	2	63
	3	37	Infección	0.954	0.026	3	62
	4	37	Intolerancia digestiva	.	.	3	61
	5	38	Tiempo completo	.	.	3	60
	6	41	Retirada voluntaria	.	.	3	59
	7	46	Infección	,938	,030	4	58
	8	47	Infección	0.922	0.034	5	57
	9	49	Infección	0.905	0.037	6	56
	10	49	Perdido	.	.	6	55
	11	49	Retirada voluntaria	.	.	6	54
	12	56	Infección	0.889	0.040	7	53
	13	68	Retirada voluntaria	.	.	7	52
	14	91	Tiempo completo	.	.	7	51
	15	92	Retirada voluntaria	.	.	7	50
	16	98	Infección	0.871	0.043	8	49
	17	112	Infección	0.853	0.045	9	48
	18	114	Infección	0.835	0.048	10	47
	19	123	Perdido	.	.	10	46
	20	127	Infección	0.817	0.050	11	45
	21	148	Infección	0.799	0.052	12	44
	22	153	Infección	0.781	0.054	13	43
	23	161	Retirada voluntaria	.	.	13	42

**Tabla 9.27 (2).** Resultados de la estimación de Kaplan-Meier para la probabilidad de permanecer en el estudio sin infección urinaria en pacientes que han recibido profilaxis con trimetoprima (cohorte de niñas).

Intervención	N°	Tiempo (días)	Estado	Proporción acumulada de permanencia sin infección		N° acumulado de eventos	N° de casos restantes
				Estimado	EE		
	24	163	Retirada voluntaria	.	.	13	41
	25	175	Infección	0.762	0.056	14	40
	26	189	Infección	.	.	15	39
	27	189	Infección	0.724	0.059	16	38
	28	190	Retirada voluntaria	.	.	16	37
	29	196	Tiempo completo	.	.	16	36
	30	196	Retirada voluntaria	.	.	16	35
	31	196	Tiempo completo	.	.	16	34
	32	202	Infección	0.702	0.061	17	33
	33	220	Tiempo completo	.	.	17	32
	34	247	Retirada voluntaria	.	.	17	31
	35	268	Infección	0.680	0.063	18	30
	36	290	Tiempo completo	.	.	18	29
	37	304	Tiempo completo	.	.	18	28
	38	317	Infección	0.655	0.066	19	27
	39	318	Retirada voluntaria	.	.	19	26
	40	324	Tiempo completo	.	.	19	25
	41	327	Intolerancia digestiva	.	.	19	24
	42	333	Tiempo completo	.	.	19	23
	43	351	Tiempo completo	.	.	19	22
	44	357	Tiempo completo	.	.	19	21
	45	364	Tiempo completo	.	.	19	20
	46	365	Infección	0.623	0.070	20	19
	47	365	Tiempo completo	.	.	20	18
	48	365	Tiempo completo	.	.	20	17
	49	365	Tiempo completo	.	.	20	16
	50	365	Tiempo completo	.	.	20	15
	51	365	Tiempo completo	.	.	20	14

**Tabla 9.27 (3).** Resultados de la estimación de Kaplan-Meier para la probabilidad de permanecer en el estudio sin infección urinaria en pacientes que han recibido profilaxis con trimetoprima (cohorte de niñas).

Intervención	Nº	Tiempo (días)	Estado	Proporción acumulada de permanencia sin infección		Nº acumulado de eventos	Nº de casos restantes
				Estimado	EE		
	52	365	Tiempo completo	.	.	20	13
	53	365	Tiempo completo	.	.	20	12
	54	365	Tiempo completo	.	.	20	11
	55	365	Tiempo completo	.	.	20	10
	56	365	Tiempo completo	.	.	20	9
	57	365	Tiempo completo	.	.	20	8
	58	365	Tiempo completo	.	.	20	7
	59	365	Tiempo completo	.	.	20	6
	60	365	Tiempo completo	.	.	20	5
	61	365	Tiempo completo	.	.	20	4
	62	365	Tiempo completo	.	.	20	3
	63	365	Tiempo completo	.	.	20	2
	64	365	Tiempo completo	.	.	20	1
	65	365	Tiempo completo	.	.	20	0

**Tabla 9.28.** Resultados de la estimación de Kaplan-Meier para la probabilidad de permanecer en el estudio sin infección urinaria en pacientes que han recibido profilaxis con arándano americano (cohorte de niñas).

Intervención	Nº	Tiempo (días)	Estado	Proporción acumulada de permanencia sin infección		Nº acumulado de eventos	Nº de casos restantes
				Estimado	EE		
Arándano	1	15	Infeción	0.976	0.024	1	40
	2	16	Infeción	0.951	0.034	2	39
	3	43	Retirada voluntaria	.	.	2	38

**Tabla 9.28 (2).** Resultados de la estimación de Kaplan-Meier para la probabilidad de permanecer en el estudio sin infección urinaria en pacientes que han recibido profilaxis con arándano americano (cohorte de niñas).

Intervención	N°	Tiempo (días)	Estado	Proporción acumulada de permanencia sin infección		N° acumulado de eventos	N° de casos restantes
				Estimado	EE		
	4	75	Infección	0.926	0.041	3	37
	5	84	Retirada voluntaria	.	.	3	36
	6	95	Intolerancia digestiva	.	.	3	35
	7	139	Perdido	.	.	3	34
	8	140	Tiempo completo	.	.	3	33
	9	141	Infección	0.898	0.048	4	32
	10	150	Tiempo completo	.	.	4	31
	11	151	Infección	0.869	0.055	5	30
	12	153	Retirada voluntaria	.	.	5	29
	13	154	Infección	0.839	0.061	6	28
	14	163	Intolerancia digestiva	.	.	6	27
	15	168	Tiempo completo	.	.	6	26
	16	183	Retirada voluntaria	.	.	6	25
	17	185	Tiempo completo	.	.	6	24
	18	196	Infección	0.804	0.067	7	23
	19	205	Infección	0.769	0.073	8	22
	20	226	Infección	0.734	,078	9	21
	21	234	Tiempo completo	.	.	9	20
	22	240	Retirada voluntaria	.	.	9	19
	23	243	Retirada voluntaria	.	.	9	18
	24	286	Retirada voluntaria	.	.	9	17
	25	318	Tiempo completo	.	.	9	16
	26	330	Perdido	.	.	9	15
	27	365	Infección	,685	,086	10	14

**Tabla 9.28 (3).** Resultados de la estimación de Kaplan-Meier para la probabilidad de permanecer en el estudio sin infección urinaria en pacientes que han recibido profilaxis con arándano americano (cohorte de niñas).

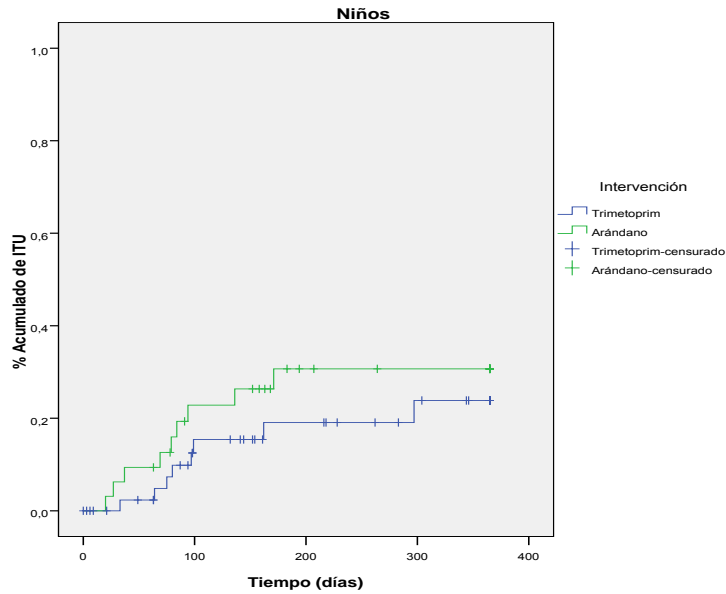
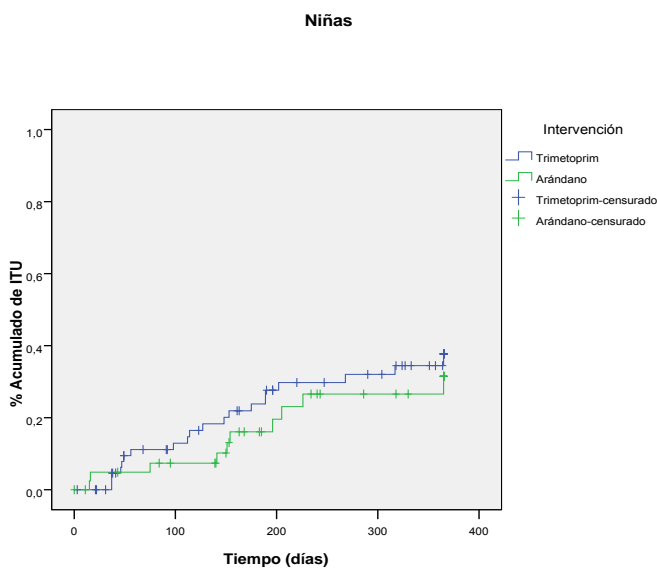
Intervención	Nº	Tiempo (días)	Estado	Proporción acumulada de permanencia sin infección		Nº acumulado de eventos	Nº de casos restantes
				Estimado	EE		
	28	365	Tiempo completo	.	.	10	13
	29	365	Tiempo completo	.	.	10	12
	30	365	Tiempo completo	.	.	10	11
	31	365	Tiempo completo	.	.	10	10
	32	365	Tiempo completo	.	.	10	9
	33	365	Tiempo completo	.	.	10	8
	34	365	Tiempo completo	.	.	10	7
	35	365	Tiempo completo	.	.	10	6
	36	365	Tiempo completo	.	.	10	5
	37	365	Tiempo completo	.	.	10	4
	38	365	Tiempo completo	.	.	10	3
	39	365	Tiempo completo	.	.	10	2
	40	365	Tiempo completo	.	.	10	1
	41	365	Tiempo completo	.	.	10	0

**Tabla 9.29.** Tiempo sin infección en la cohorte de estudio por géneros.

		Media	EE	IC 95%
Varón	Trimetoprima	309,7	17,8	274,7-344,7
	Arándano	278,8	24,3	231,1-326,4
	Ambos	296,7	14,6	268,1-325,4
Hembra	Trimetoprima	286,3	16,0	254,8-317,7
	Arándano	305,5	18,5	269,0-341,9
	Ambos	294,0	11,9	270,5-317,4
Todos		294,7	9,21	276,5-312,9

**Tabla 9.30.** Comparación de las curvas de supervivencia (permanencia sin infección).

Género		Chi-Cuadrado	gl	Sig.
Varón	Log Rank (Mantel-Cox)	0.869	1	0.351
Hembra	Log Rank (Mantel-Cox)	0.555	1	0.456
Agrupados	Log Rank (Mantel-Cox)	0.001	1	0.977

**Figura 9.5.** Curva de supervivencia (1-supervivencia) equivalente al % acumulado de ITU en cada intervención del estudio (Cohorte de niños).**Figura 9.6.** Curva de supervivencia (1-supervivencia) equivalente al % acumulado de ITU en cada intervención del estudio (Cohorte de niñas).



### 9.5.3. Estimación de la probabilidad ITU en lactantes menores de 12 meses.

Uno de los objetivos planteados al inicio del estudio es analizar la seguridad y eficacia del arándano en la profilaxis de infección urinaria en lactantes, por tratarse de pacientes donde la probabilidad de lesiones renales postpielonefritis y donde la prevalencia de infección urinaria es más elevada. Existen pocos estudios que analicen la eficacia del arándano como profilaxis de la infección urinaria en lactantes, tampoco existen datos sobre su seguridad. La Tabla 9.31 muestra los diagnósticos que motivaron el reclutamiento al inicio del estudio en este grupo de población.

**Tabla 9.31.** Diagnósticos que motivaron el reclutamiento de los lactantes menores de 12 meses.

Diagnostico	Intervención		Total
	Trimetoprima	Arándano	
RVU grado 1	0	1	1
RVU grado 2	3	1	4
RVU grado 3	2	4	6
RVU grado 4	0	1	1
Ectasia pelvica / Hidronefrosis	27	12	39
ITU de repetición	19	12	31
Otras alteraciones anatómicas	1	1	2
<b>Total</b>	<b>53</b>	<b>32</b>	<b>85</b>

**Tabla 9.32.** Diagnósticos a la salida del ensayo en lactantes menores de 12 meses.

Estado	Intervención		Total
	Trimetoprima	Arándano	
Tiempo completo	31	12	43
Retirada voluntaria	8	8	16
Perdido	0	1	1
Intolerancia digestiva	3	1	4
Infección urinaria	11	10	21
<b>Total</b>	<b>53</b>	<b>32</b>	<b>85</b>

Como puede verse en la Tabla 9.32 existe igual número de abandonos de la profilaxis en ambas ramas de tratamiento. No se aprecian más intolerancias digestivas al arándano y el número de infecciones urinarias es similar. El resultado del análisis de supervivencia en ambas intervenciones en este grupo de edad demuestra que no existen diferencias significativas en el tiempo de permanencia en el estudio entre ambos tratamientos.

**Tabla. 9.33.** Resultados de la estimación de Kaplan-Meier para la probabilidad de permanecer en el estudio sin infección urinaria en pacientes que han recibido profilaxis con trimetoprima (lactantes con menos de 12 meses).

Intervención	Tiempo (días)	Estado	Proporción acumulada sin ITU hasta el momento		Nº eventos acumulados	Nº de casos que permanecen	
			Estimación	Error típico			
Trimetoprima	1	33	Infección	0.980	0.020	1	48
	2	37	Intolerancia digestiva	.	.	1	47
	3	38	Tiempo completo	.	.	1	46
	4	41	Retirada voluntaria	.	.	1	45
	5	46	Infección	0.958	0.029	2	44
	6	49	Infección	0.936	0.036	3	43
	7	63	Tiempo completo	.	.	3	42
	8	64	Infección	0.914	0.041	4	41
	9	80	Infección	0.891	0.046	5	40
	10	87	Tiempo completo	.	.	5	39
	11	91	Tiempo completo	.	.	5	38
	12	94	Tiempo completo	.	.	5	37
	13	97	Infección	0.867	0.051	6	36
	14	98	Tiempo completo	.	.	6	35
	15	98	Retirada voluntaria	.	.	6	34
	16	98	Tiempo completo	.	.	6	33
	17	112	Infección	0.841	0.055	7	32
	18	114	Infección	0.815	0.060	8	31
	19	127	Infección	0.789	0.063	9	30
	20	132	Retirada voluntaria	.	.	9	29
	21	141	Retirada voluntaria	.	.	9	28
	22	144	Tiempo completo	.	.	9	27
	23	154	Tiempo completo	.	.	9	26
	24	161	Tiempo completo	.	.	9	25
	25	162	Infección	0.757	0.068	10	24
	26	189	Infección	0.725	0.072	11	23

**Tabla 9.33 (2).** Resultados de la estimación de Kaplan-Meier para la probabilidad de permanecer en el estudio sin infección urinaria en pacientes que han recibido profilaxis con trimetoprima (lactantes con menos de 12 meses).

Intervención	Tiempo (días)	Estado	Proporción acumulada sin ITU hasta el momento		Nº eventos acumulados	Nº de casos que permanecen
			Estimación	Error típico		
27	190	Retirada voluntaria	.	.	11	22
28	196	Tiempo completo	.	.	11	21
29	196	Retirada voluntaria	.	.	11	20
30	216	Retirada voluntaria	.	.	11	19
31	218	Tiempo completo	.	.	11	18
32	228	Tiempo completo	.	.	11	17
33	283	Tiempo completo	.	.	11	16
34	324	Tiempo completo	.	.	11	15
35	344	Tiempo completo	.	.	11	14
36	351	Tiempo completo	.	.	11	13
37	365	Tiempo completo	.	.	11	12
38	365	Tiempo completo	.	.	11	11
39	365	Tiempo completo	.	.	11	10
40	365	Tiempo completo	.	.	11	9
41	365	Tiempo completo	.	.	11	8
42	365	Tiempo completo	.	.	11	7
43	365	Tiempo completo	.	.	11	6
44	365	Tiempo completo	.	.	11	5
45	365	Tiempo completo	.	.	11	4
46	365	Tiempo completo	.	.	11	3
47	365	Tiempo completo	.	.	11	2
48	365	Tiempo completo	.	.	11	1
49	365	Tiempo completo	.	.	11	0

**Tabla 9.34.** Resultados de la estimación de Kaplan-Meier para la probabilidad de permanecer en el estudio sin infección urinaria en pacientes que han recibido profilaxis con arándano americano (lactantes con menos de 12 meses).

Intervención	Tiempo (días)	Estado	Proporción acumulada sin ITU hasta el momento		Nº eventos acumulados	Nº de casos que permanecen	
			Estimación	Error típico			
Arándano	1	15	Infección	0.968	0.032	1	30
	2	20	Infección	0.935	0.044	2	29
	3	27	Infección	0.903	0.053	3	28
	4	37	Infección	0.871	0.060	4	27
	5	69	Infección	0.839	0.066	5	26
	6	75	Infección	0.806	0.071	6	25
	7	78	Tiempo completo	.	.	6	24
	8	79	Infección	0.773	0.076	7	23
	9	84	Infección	0.739	0.079	8	22
	10	94	Infección	0.706	0.083	9	21
	11	95	Intolerancia digestiva	.	.	9	20
	12	139	Perdido	.	.	9	19
	13	140	Tiempo completo	.	.	9	18
	14	152	Retirada voluntaria	.	.	9	17
	15	153	Retirada voluntaria	.	.	9	16
	16	158	Retirada voluntaria	.	.	9	15
	17	168	Tiempo completo	.	.	9	14
	18	171	Infección	,655	,091	10	13
	19	183	Retirada voluntaria	.	.	10	12
	20	185	Tiempo completo	.	.	10	11
	21	207	Retirada voluntaria	.	.	10	10
	22	234	Tiempo completo	.	.	10	9
	23	243	Retirada voluntaria	.	.	10	8
	24	264	Retirada voluntaria	.	.	10	7
	25	286	Retirada voluntaria	.	.	10	6
	26	318	Tiempo completo	.	.	10	5
	27	365	Tiempo completo	.	.	10	4

**Tabla 9.34 (2).** Resultados de la estimación de Kaplan-Meier para la probabilidad de permanecer en el estudio sin infección urinaria en pacientes que han recibido profilaxis con arándano americano (lactantes con menos de 12 meses).

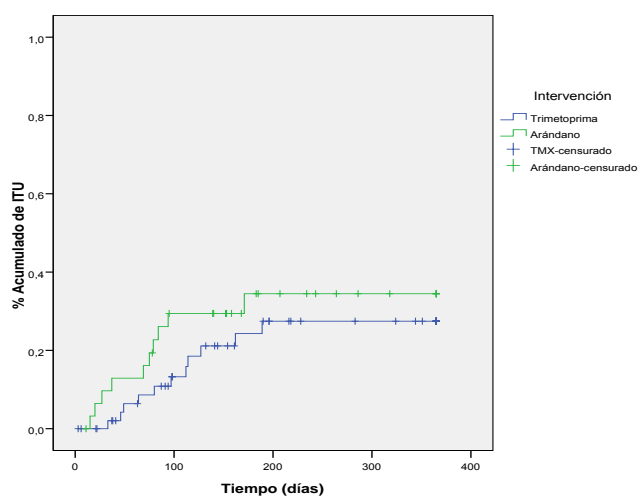
Intervención	Tiempo (días)	Estado	Proporción acumulada sin ITU hasta el momento		Nº eventos acumulados	Nº de casos que permanecen
			Estimación	Error típico		
28	365	Tiempo completo	.	.	10	3
29	365	Tiempo completo	.	.	10	2
30	365	Tiempo completo	.	.	10	1
31	365	Tiempo completo	.	.	10	0

**Tabla 9.35.** Tiempo medio de permanencia (días) sin infección en lactantes con menos de 12 meses.

Intervención	Media			
	Intervalo de confianza al 95%			
	Estimación	Error típico	Límite inferior	Límite superior
Trimetoprima	293,4	18,6	256,8	330,0
Arándano	264,2	26,2	212,8	315,6
Global	282,5	15,3	252,4	312,5

**Tabla 9.36.** Prueba de igualdad de distribuciones para diferentes niveles de intervención entre lactantes menores de 12 meses.

	Chi-cuadrado	gl	Sig.
Log Rank (Mantel-Cox)	0.982	1	0.322



**Figura 9.7.** Curva de supervivencia (1-supervivencia) equivalente al % acumulado de ITU en cada intervención del estudio (Cohorte de niñas).

#### 9.5.4. Estimación de la probabilidad ITU en pacientes con recurrencia de infección urinaria

Al inicio del estudio 95 pacientes se diagnosticaron de infección urinaria recurrente, de ellos 26 pacientes desarrollaron infección urinaria en el transcurso del seguimiento (27.4%, IC 95%: 18.4%–36.3%). Por géneros, seis pacientes (6.3%) fueron niños y 20 (21.1%) fueron niñas. Recibieron trimetoprima 18 pacientes (18.9%, IC 95%: 11%–26.3%) y 8 (8.4%, IC 95%: 2.8%–13.9%) recibieron arándano.

Como  $zU = 0.23 \geq -z_{\alpha} = -1.96$ , no podemos aceptar el principio de equivalencia entre intervenciones, pero si la no inferioridad del arándano frente al trimetoprima como ya se expuso en el apartado de Material y Método. La figura 8.8 muestra la curva de Kaplan–Meier para pacientes diagnosticados a su entrada en el estudio de infección urinaria recurrente, de estos pacientes el tiempo medio sin infección entre los que tomaron trimetoprima fue de 271 días (IC 95%: 233–309 days) y entre los que tomaron arándano fue de 312 days (IC 95%: 275–350 days). Test Logrank (Mantel–Cox): 2.14 ( $P = 0.14$ ).

**Tabla. 9.37.** Resultados de la estimación de Kaplan–Meier para la probabilidad de permanecer en el estudio sin infección urinaria en pacientes que han recibido profilaxis con trimetoprima (pacientes con diagnóstico de entrada de infección urinaria recurrente).

Intervención	Tiempo (días)	Estado	Proporción acumulada sin ITU hasta el momento		Nº de eventos acumulados	Nº de casos que permanecen	
			Estimación	Error típico			
Trimetoprima	1	37	Infección	.	.	1	51
	2	37	Infección	0.962	0.027	2	50
	3	41	Retirada voluntaria	.	.	2	49
	4	47	Infección	0.942	0.033	3	48
	5	49	Infección	0.922	0.037	4	47
	6	49	Tiempo completo	.	.	4	46
	7	49	Perdido	.	.	4	45
	8	49	Retirada voluntaria	.	.	4	44
	9	56	Infección	0.901	0.042	5	43
	10	64	Infección	0.880	0.046	6	42
	11	68	Retirada voluntaria	.	.	6	41
	12	80	Infección	0.859	0.050	7	40
	13	92	Retirada voluntaria	.	.	7	39
	14	98	Infección	0.837	0.053	8	38
	15	98	Retirada voluntaria	.	.	8	37
	16	99	Infección	0.814	0.056	9	36
	17	112	Infección	0.792	0.059	10	35
	18	114	Infección	0.769	0.061	11	34
	19	123	Perdido	.	.	11	33
	20	127	Infección	0.746	0.064	12	32

**Tabla 9.37 (2).** Resultados de la estimación de Kaplan-Meier para la probabilidad de permanecer en el estudio sin infección urinaria en pacientes que han recibido profilaxis con trimetoprima (pacientes con diagnóstico de entrada de infección urinaria recurrente).

Intervención	Tiempo (días)	Estado	Proporción acumulada sin ITU hasta el momento		Nº de eventos acumulados	Nº de casos que permanecen
			Estimación	Error típico		
21	148	Infección	0.722	0.066	13	31
22	152	Retirada voluntaria	.	.	13	30
23	153	Infección	0.698	0.068	14	29
24	163	Retirada voluntaria	.	.	14	28
25	189	Infección	0.673	0.070	15	27
26	196	Tiempo completo	.	.	15	26
27	202	Infección	0.647	0.072	16	25
28	216	Retirada voluntaria	.	.	16	24
29	220	Tiempo completo	.	.	16	23
30	247	Retirada voluntaria	.	.	16	22
31	262	Tiempo completo	.	.	16	21
32	283	Tiempo completo	.	.	16	20
33	297	Infección	0.615	0.075	17	19
34	304	Tiempo completo	.	.	17	18
35	324	Tiempo completo	.	.	17	17
36	327	Intolerancia digestiva	.	.	17	16
37	333	Tiempo completo	.	.	17	15
38	351	Tiempo completo	.	.	17	14
39	357	Tiempo completo	.	.	17	13
40	365	Infección	0.568	0.083	18	12
41	365	Tiempo completo	.	.	18	11
42	365	Tiempo completo	.	.	18	10
43	365	Tiempo completo	.	.	18	9
44	365	Tiempo completo	.	.	18	8

**Tabla 9.37 (3).** Resultados de la estimación de Kaplan-Meier para la probabilidad de permanecer en el estudio sin infección urinaria en pacientes que han recibido profilaxis con trimetoprima (pacientes con diagnóstico de entrada de infección urinaria recurrente).

Intervención	Tiempo (días)	Estado	Proporción acumulada sin ITU hasta el momento		N° de eventos acumulados	N° de casos que permanecen
			Estimación	Error típico		
45	365	Tiempo completo	.	.	18	7
46	365	Tiempo completo	.	.	18	6
47	365	Tiempo completo	.	.	18	5
48	365	Tiempo completo	.	.	18	4
49	365	Tiempo completo	.	.	18	3
50	365	Tiempo completo	.	.	18	2
51	365	Tiempo completo	.	.	18	1
52	365	Tiempo completo	.	.	18	0

**Tabla 9.38.** Resultados de la estimación de Kaplan-Meier para la probabilidad de permanecer en el estudio sin infección urinaria en pacientes que han recibido profilaxis con arándano americano (pacientes con diagnóstico de entrada de infección urinaria recurrente).

Intervención	Tiempo (días)	Estado	Proporción acumulada sin ITU hasta el momento		N° de eventos acumulados	N° de casos que permanecen	
			Estimación	Error típico			
Arándano	1	15	Infeción	0.972	0.027	1	35
	2	69	Infeción	0.944	0.038	2	34
	3	84	Retirada voluntaria	.	.	2	33
	4	95	Intolerancia digestiva	.	.	2	32
	5	136	Infeción	0.915	0.047	3	31
	6	139	Perdido	.	.	3	30
	7	141	Infeción	0.884	0.054	4	29
	8	150	Tiempo completo	.	.	4	28
	9	151	Infeción	0.853	0.061	5	27
	10	153	Retirada voluntaria	.	.	5	26
	11	154	Infeción	0.820	0.067	6	25
	12	158	Retirada voluntaria	.	.	6	24



**Tabla 9.38 (2).** Resultados de la estimación de Kaplan-Meier para la probabilidad de permanecer en el estudio sin infección urinaria en pacientes que han recibido profilaxis con arándano americano (pacientes con diagnóstico de entrada de infección urinaria recurrente).

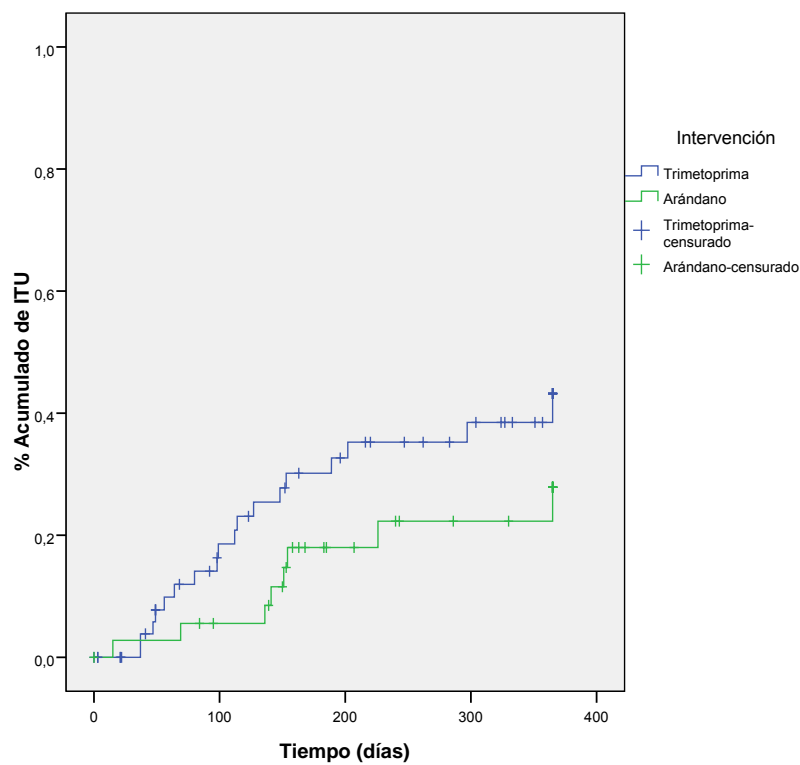
Intervención	Tiempo (días)	Estado	Proporción acumulada sin ITU hasta el momento		Nº de eventos acumulados	Nº de casos que permanecen
			Estimación	Error típico		
13	163	Tiempo completo	.	.	6	23
14	168	Tiempo completo	.	.	6	22
15	183	Retirada voluntaria	.	.	6	21
16	185	Tiempo completo	.	.	6	20
17	207	Retirada voluntaria	.	.	6	19
18	226	Infección	0.777	0.076	7	18
19	240	Retirada voluntaria	.	.	7	17
20	243	Retirada voluntaria	.	.	7	16
21	286	Retirada voluntaria	.	.	7	15
22	330	Perdido	.	.	7	14
23	365	Infección	0.721	0.089	8	13
24	365	Tiempo completo	.	.	8	12
25	365	Tiempo completo	.	.	8	11
26	365	Tiempo completo	.	.	8	10
27	365	Tiempo completo	.	.	8	9
28	365	Tiempo completo	.	.	8	8
29	365	Tiempo completo	.	.	8	7
30	365	Tiempo completo	.	.	8	6
31	365	Tiempo completo	.	.	8	5
32	365	Tiempo completo	.	.	8	4
33	365	Tiempo completo	.	.	8	3
34	365	Tiempo completo	.	.	8	2
35	365	Tiempo completo	.	.	8	1
36	365	Tiempo completo	.	.	8	0

**Tabla 9.39.** Tiempo medio de permanencia (días) sin infección en pacientes reclutados por infección urinaria recurrente.

Intervención	Media			
	Estimación	Error típico	Límite inferior	Límite superior
Trimetoprima	271,2	19,2	233,4	309,0
Arándano	313,7	18,7	277,0	350,5
Global	289,1	13,5	262,6	315,7

**Tabla 8.40.** Prueba de igualdad de distribuciones de supervivencia para diferentes niveles de Intervención en pacientes con infección urinaria recurrente.

	Chi-cuadrado	gl	Sig.
Log Rank (Mantel-Cox)	2,316	1	0.128

**Figura 9.8.** Curva de supervivencia (1-supervivencia) equivalente al % acumulado de ITU en cada intervención del estudio (Pacientes con infección urinaria recurrente).

### 9.5.5. Estimación de la probabilidad ITU en pacientes con reflujo vesicoureteral.

Del total de pacientes reclutados, 39 presentaban reflujo vesicoureteral (19 niños y 20 niñas), de ellos 9 presentaron UTI durante el periodo de seguimiento, 4 tras recibir trimetoprima (10.3%, IC 95%: 7.6%–19.8%) y 5 tras recibir arándano (12.8%, IC 95%: 2.3%–23.2%).

El pequeño tamaño muestral en este subgrupo posiblemente condiciona no observar diferencias entre grupos. El tiempo medio sin infección fue de 318 días (IC 95%: 274–362) y de 281 días (IC 95%: 317–344) después de recibir arándano. Test Logrank (Mantel–Cox): 0.5 ( $P=0.4$ ).

**Tabla 9.41.** Resultados de la estimación de Kaplan-Meier para la probabilidad de permanecer en el estudio sin infección urinaria en pacientes que han recibido profilaxis con trimetoprima (pacientes con diagnóstico de reflujo vesicoureteral).

Intervención	Tiempo (días)	Estado	Proporción acumulada sin ITU hasta el momento		Nº de eventos acumulados	Nº de casos que permanecen	
			Estimación	Error típico			
Trimetoprima	1	37	Infección	0.947	0.051	1	18
	2	97	Infección	0.895	0.070	2	17
	3	189	Infección	0.842	0.084	3	16
	4	196	Tiempo completo	.	.	3	15
	5	196	Retirada voluntaria	.	.	3	14
	6	268	Infección	0.782	0.097	4	13
	7	290	Tiempo completo	.	.	4	12
	8	344	Tiempo completo	.	.	4	11
	9	346	Tiempo completo	.	.	4	10
	10	364	Tiempo completo	.	.	4	9
	11	365	Tiempo completo	.	.	4	8
	12	365	Tiempo completo	.	.	4	7
	13	365	Tiempo completo	.	.	4	6
	14	365	Tiempo completo	.	.	4	5
	15	365	Tiempo completo	.	.	4	4
	16	365	Tiempo completo	.	.	4	3
	17	365	Tiempo completo	.	.	4	2
	18	365	Tiempo completo	.	.	4	1
	19	365	Tiempo completo	.	.	4	0

**Tabla 9.42.** Resultados de la estimación de Kaplan-Meier para la probabilidad de permanecer en el estudio sin infección urinaria en pacientes que han recibido profilaxis con arándano americano (pacientes con diagnóstico de reflujo vesicoureteral).

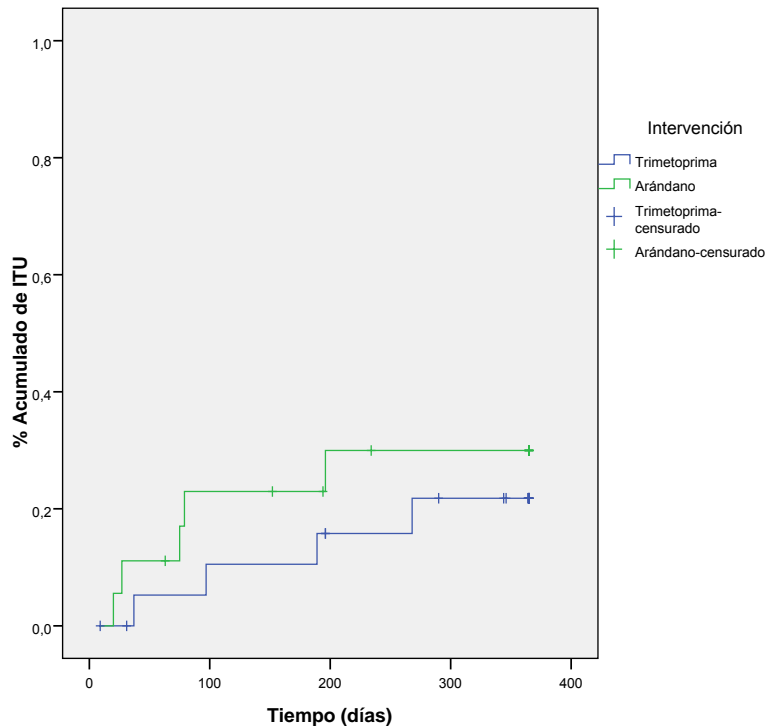
Intervención	Tiempo (días)	Estado	Proporción acumulada sin ITU hasta el momento		N° de eventos acumulados	N° de casos que permanecen	
			Estimación	Error típico			
Arándano	1	20	Infección	0.944	0.054	1	17
	2	27	Infección	0.889	0.074	2	16
	3	63	Perdido	.	.	2	15
	4	75	Infección	0.830	0.090	3	14
	5	79	Infección	0.770	0.101	4	13
	6	152	Retirada voluntaria	.	.	4	12
	7	194	Retirada voluntaria	.	.	4	11
	8	196	Infección	0.700	0.114	5	10
	9	234	Tiempo completo	.	.	5	9
	10	365	Tiempo completo	.	.	5	8
	11	365	Tiempo completo	.	.	5	7
	12	365	Tiempo completo	.	.	5	6
	13	365	Tiempo completo	.	.	5	5
	14	365	Tiempo completo	.	.	5	4
	15	365	Tiempo completo	.	.	5	3
	16	365	Tiempo completo	.	.	5	2
	17	365	Tiempo completo	.	.	5	1
	18	365	Tiempo completo	.	.	5	0

**Tabla 9.43.** Tiempo medio de permanencia (días) sin infección en pacientes reclutados por reflujo vésicoureteral.

Intervención	Media(a)			
	Estimación	Error típico	Intervalo de confianza al 95%	
			Límite inferior	Límite superior
Trimetoprima	318.5	22.4	274.5	362.4
Arándano	281.0	32.2	217.8	344.3
Global	301.1	19.4	263.1	339.2

**Tabla 9.44.** Prueba de igualdad de distribuciones de supervivencia para diferentes niveles de Intervención en pacientes con reflujo vesicoureteral.

	Chi-cuadrado	gl	Sig.
Log Rank (Mantel-Cox)	0.535	1	0.465



**Figura 9.9.** Curva de supervivencia (1-supervivencia) equivalente al % acumulado de ITU en cada intervención del estudio (Pacientes con reflujo vésicoureteral).

#### 9.5.6. Estimación de la probabilidad ITU en pacientes con ectasia pelvis renal/hidronefrosis

Se reclutaron 51 pacientes que presentaban al inicio del seguimiento esta anomalía. 34 recibieron profilaxis con trimetoprima y 17 recibieron profilaxis con arándano. En cada una de las ramas de tratamiento, 5 pacientes desarrollaron ITU (9.8%), de las cuales 7 (13.7%) ocurrieron en varones y 3 (5.9%) ocurrieron en niñas. El periodo medio sin ITU entre los pacientes que recibieron trimetoprima fue de 315 días (IC 95%: 275–354), y de 270 días (IC 95%: 204–337) entre los pacientes que recibieron arándano. Test de Logrank (Mantel–Cox): 1.33 ( $P = 0.24$ ). Sin diferencias significativas entre intervenciones.

**Tabla 9.45.** Resultados de la estimación de Kaplan-Meier para la probabilidad de permanecer en el estudio sin infección urinaria en pacientes que han recibido profilaxis con trimetoprima (pacientes con diagnóstico de ectasia pelvis renal / hidronefrosis).

Intervención	Tiempo (días)	Estado	Proporción acumulada sin ITU hasta el momento		Nº de eventos acumulados	Nº de casos que permanecen	
			Estimación	Error típico			
Trimetoprima	1	33	Infección	0.970	0.030	1	32
	2	37	Intolerancia digestiva	.	.	1	31
	3	38	Tiempo completo	.	.	1	30
	4	46	Infección	0.937	0.043	2	29
	5	63	Tiempo completo	.	.	2	28
	6	75	Infección	0.904	0.053	3	27
	7	91	Tiempo completo	.	.	3	26
	8	94	Tiempo completo	.	.	3	25
	9	98	Tiempo completo	.	.	3	24
	10	132	Retirada voluntaria	.	.	3	23
	11	141	Retirada voluntaria	.	.	3	22
	12	144	Tiempo completo	.	.	3	21
	13	154	Tiempo completo	.	.	3	20
	14	161	Retirada voluntaria	.	.	3	19
	15	161	Tiempo completo	.	.	3	18
	16	162	Infección	0.854	0.070	4	17
	17	175	Infección	0.803	0.082	5	16
	18	190	Retirada voluntaria	.	.	5	15
	19	218	Tiempo completo	.	.	5	14
	20	228	Tiempo completo	.	.	5	13
	21	304	Tiempo completo	.	.	5	12
	22	318	Retirada voluntaria	.	.	5	11
	23	365	Tiempo completo	.	.	5	10

**Tabla 9.45 (2).** Resultados de la estimación de Kaplan-Meier para la probabilidad de permanecer en el estudio sin infección urinaria en pacientes que han recibido profilaxis con trimetoprima (pacientes con diagnóstico de ectasia pelvis renal / hidronefrosis).

Intervención	Tiempo (días)	Estado	Proporción acumulada sin ITU hasta el momento		Nº de eventos acumulados	Nº de casos que permanecen	
			Estimación	Error típico			
	24	365	Tiempo completo	.	.	5	9
	25	365	Tiempo completo	.	.	5	8
	26	365	Tiempo completo	.	.	5	7
	27	365	Tiempo completo	.	.	5	6
	28	365	Tiempo completo	.	.	5	5
	29	365	Tiempo completo	.	.	5	4
	30	365	Tiempo completo	.	.	5	3
	31	365	Tiempo completo	.	.	5	2
	32	365	Tiempo completo	.	.	5	1
	33	365	Tiempo completo	.	.	5	0

**Tabla 9.46.** Resultados de la estimación de Kaplan-Meier para la probabilidad de permanecer en el estudio sin infección urinaria en pacientes que han recibido profilaxis con arándano americano (pacientes con diagnóstico de ectasia pelvis renal / hidronefrosis).

Intervención	Tiempo (días)	Estado	Proporción acumulada sin ITU hasta el momento		Nº de eventos acumulados	Nº de casos que permanecen	
			Estimación	Error típico			
Arándano	1	37	Infección	0.938	0.061	1	15
	2	78	Tiempo completo	.	.	1	14
	3	84	Infección	0.871	0.086	2	13
	4	91	Alergia	.	.	2	12
	5	94	Infección	0.798	0.105	3	11
	6	140	Tiempo completo	.	.	3	10
	7	163	Intolerancia digestiva	.	.	3	9

**Tabla 9.46 (2).** Resultados de la estimación de Kaplan-Meier para la probabilidad de permanecer en el estudio sin infección urinaria en pacientes que han recibido profilaxis con arándano americano (pacientes con diagnóstico de ectasia pelvis renal / hidronefrosis).

Intervención	Tiempo (días)	Estado	Proporción acumulada sin ITU hasta el momento		N° de eventos acumulados	N° de casos que permanecen
			Estimación	Error típico		
8	168	Tiempo completo	.	.	3	8
9	171	Infección	0.698	0.131	4	7
10	205	Infección	0.598	0.145	5	6
11	264	Retirada voluntaria	.	.	5	5
12	318	Tiempo completo	.	.	5	4
13	365	Tiempo completo	.	.	5	3
14	365	Tiempo completo	.	.	5	2
15	365	Tiempo completo	.	.	5	1
16	365	Tiempo completo	.	.	5	0

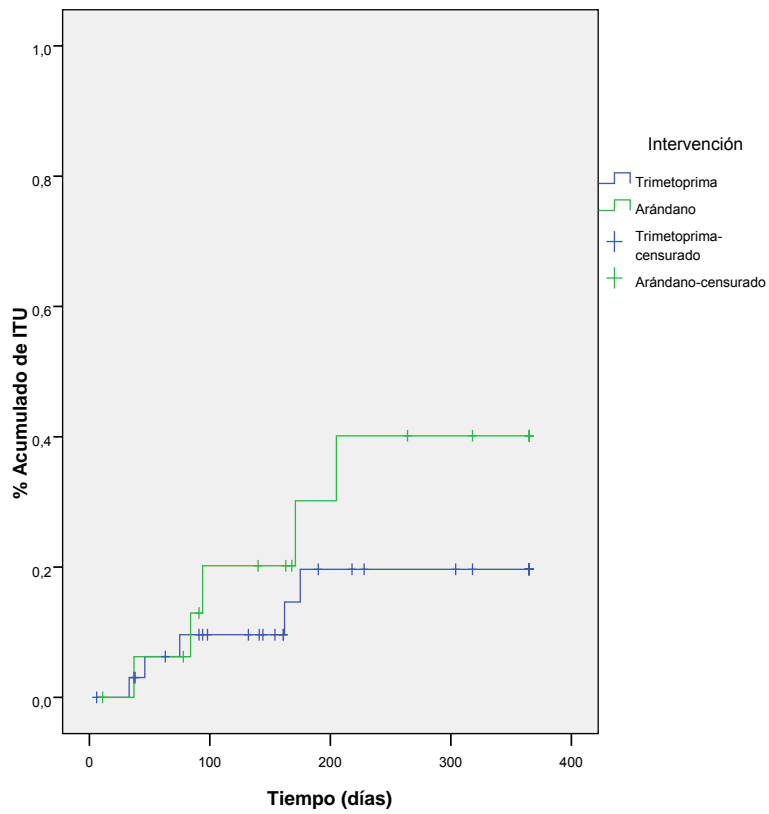
**Tabla 9.47.** Tiempo medio de permanencia (días) sin infección en pacientes reclutados por ectasia / hidronefrosis.

Intervención	Media(a)			
	Estimación (días)	Error típico	Intervalo de confianza al 95%	
			Límite inferior	Límite superior
Trimetoprima	315.1	20.2	275.4	354.8
Arándano	270.7	33.8	204.3	337.0
Ambos	300.9	17.7	266.1	335.7

**Tabla 9.48.** Prueba de igualdad de distribuciones de supervivencia para diferentes niveles de Intervención en pacientes con ectasia / hidronefrosis.

	Chi-Cuadrado	gl	Sig.
Log Rank (Mantel-Cox)	1.333	1	0.248





**Figura 9.10.** Curva de supervivencia ( $1$ -supervivencia) equivalente al % acumulado de ITU en cada intervención del estudio (Pacientes con ectasia / hidronefrosis).



## **10. DISCUSSION**



---

## DISCUSION

---

### 10.1. Resumen y discusión de los principales hallazgos

Nuestro estudio confirma que el jarabe de arándano es seguro y eficaz en la población infantil en la profilaxis de infección urinaria recurrente. No observamos diferencias estadísticamente significativas en las recurrencias de infección urinaria entre pacientes que reciben trimetoprima y jarabe de arándano. Estudios previos<sup>51</sup> han demostrado el efecto beneficioso del jarabe de arándano en la prevención de infecciones urinarias en mujeres con una reducción del riesgo absoluto de infección de orina con respecto a placebo. Efecto que se ha explicado<sup>25</sup>, por el efecto antiadherente del arándano americano sobre las fimbrias P de *E. coli*. Ferrara P. y cols<sup>52</sup>, en un ensayo clínico controlado frente a placebo en niños mayores de 3 años demuestra que el jarabe de arándano previene la recurrencia de infecciones de orina sintomáticas. Nuestro ensayo es el primer ensayo clínico controlado, aleatorizado y doble ciego que demuestra la seguridad del jarabe de arándano americano en lactantes de hasta 1 mes de edad, comparando eficacia con un antibiótico de uso habitual en profilaxis de infección de orina recurrente.

En 1984 Sobota<sup>53</sup>, observa que el extracto de arándano americano interfiere con la adhesión de *E. coli* P-fimbriado al epitelio, demostrando que puede ser uno de los mecanismos principales que expliquen el efecto antiadherente del arándano americano. La fructosa contenida en muchos zumos de fruta, también en el arándano americano, puede inhibir además la adhesión de *E. coli* mediada por fimbrias tipo 1<sup>54</sup>, sin embargo la adherencia mediada por fimbrias P se ha asociado con la lectina específica  $\alpha$ -Gal(1-4) $\beta$ -Gal contenido en el epitelio urinario que no resulta inhibida por la adición de fructosa<sup>55</sup>. Foo LY y cols.<sup>26</sup>, identifica las proantocianidinas triméricas y las proantocianidinas diméricas de tipo A como las responsables del efecto antiadhesivo del arándano americano. Se trata de flavonoles polifenólicos que no están presentes en otros extractos ricos en polifenoles como el té verde o el chocolate. El jarabe de arándano americano que hemos utilizado en nuestro ensayo contiene un 22% de proantocianidinas de tipo A, lo que tiene interés de cara a comparar nuestros resultados con otros estudios, dada la gran variabilidad en las concentraciones de proantocianidina observadas en diferentes extractos de arándano americano<sup>27;56</sup>. El efecto antiadherente de arándano americano frente a *E. coli* es dependiente de la dosis, Howell, A y cols.<sup>57</sup> demuestran que la administración de jarabe de arándano americano con un contenido equivalente a 72 mg/día de PAC tiene un efecto antiadherente medido en orina frente a *E. coli* proporcionalmente superior que los pacientes que reciben 18 o 36 mg. Di Martino P y cols.<sup>25</sup>, comprueban en orina el efecto antiadherente del jarabe de arándano americano administrado a 10 voluntarios sanos frente a 10 voluntarios que reciben placebo.

Dos estudios evaluaron la efectividad del jarabe de arándano en los niños con vejiga neurógena pediátrica, éstos fueron controlados mediante una sonda intermitente estéril<sup>58;59</sup>. El primero de los estudios con un diseño cruzado simple incluía 40 niños y

el segundo aleatorizado y controlado con placebo incluía 15 niños. Ambos estudios concluyen que el jarabe de arándano no es más eficaz que placebo para el control de la infección de orina en pacientes con vejiga neurógena. Sin embargo, en ambos estudios queda patente la ausencia de caracterización del contenido polifenólico de los jarabes utilizados.

McMurdo y cols.<sup>60</sup>, realizan un ensayo clínico aleatorizado y doble ciego con arándano americano o trimetoprima en mujeres con riesgo de infección urinaria recurrente, los autores observan que el riesgo de recurrencia de infección urinaria es un 60% mayor en los pacientes que reciben arándano americano, aunque sin significación estadística. La revisión sistemática publicada por Jepson RG<sup>61</sup>, sobre un total de 10 estudios (1049 pacientes) concluye que el arándano americano disminuye significativamente la incidencia de infección urinaria a los 12 meses (RR 0.65; IC del 95%: 0.46 a 0.90) comparados con placebo/control. El arándano americano fue más efectivo en la reducción de la incidencia de infección urinaria en mujeres con infección de orina recurrente, que en hombres y mujeres de edad avanzada o en personas que requirieron sondaje.

Nuestros resultados demuestran que el jarabe de arándano americano no es inferior en eficacia a trimetoprima para la prevención de infección urinaria recurrente en edad pediátrica, se asocie o no a patologías nefrourológicas con mayor riesgo de infección urinaria. La profilaxis con arándano americano puede ser una alternativa para controlar el creciente aumento de resistencia a los antibióticos.

## 10.2 Caracterización del extracto de arándano americano utilizado en el ensayo clínico

Desde las primeras hipótesis sobre el efecto protector del arándano americano (*Vaccinium macrocarpon*) en la infección urinaria, propuestas por Blatherwick y Long<sup>62</sup> en 1923 se han desarrollado múltiples hipótesis para intentar explicar su efecto. En un principio demostró un aumento de la excreción de ácido hipúrico y de la acidez urinaria tras la ingesta de arándano americano, se sugirió que una dieta que contuviese arándano americano podía disminuir la frecuencia de infecciones urinarias a través de un mecanismo que implicaba a la acidez urinaria. Lo cierto es que el arándano americano es un elemento utilizado en la medicina popular norteamericana por las poblaciones autóctonas para prevenir y tratar las infecciones urinarias<sup>63</sup>. Este conocimiento popular ha llevado a su generalización como remedio en las cistitis en mujeres desde tiempos ancestrales. Bodel, Cotran, and Kass<sup>64</sup> en 1959, revisan la hipótesis de la acidez urinaria como mecanismo de acción del arándano americano y encuentran que tan solo la ingestión de ácido hipúrico puro puede contribuir a disminuir el pH urinario por debajo de 5, nivel por debajo del cual si se obtendría un efecto bacteriostático sobre *E. coli*. Se desestima por tanto la acidez urinaria como mecanismo probable para explicar el efecto protector del arándano americano en la infección del tracto urinario. La dilución del zumo de arándano americano disminuía el efecto antiadherente, lo que sugería un efecto dosis dependiente. Es bien conocido que la adherencia de *E. coli* al uroepitelio está mediada por las fimbrias tipo 1 y las adhesinas tipo P. En este sentido D. Zafriri y cols.<sup>65</sup>, demuestran que el arándano americano inhibe la actividad de hemaglutinación de *E. coli* de origen urinario que expresa

fimbrias tipo 1 y adhesinas P, pero no afecta la actividad hemaglutinante de *E. coli* de muestras entéricas que expresan la adhesina CFA/I. Además observan que efecto de inhibición de la hemaglutinación dependiente de las adhesinas P depende de la concentración del zumo de arándano americano.

El arándano americano contiene dos componentes químicos que se han implicado en la prevención de la adhesión bacteriana, el monosacárido fructosa y las proantocianidinas (PAC). La fructosa inhibe la adhesión de las fimbrias tipo 1 (manosa sensibles) a las células uroepiteliales. Diversos estudios han demostrado que los PAC de arándano americano inhiben la adhesión de *E. coli* P-fimbriado al uroepitelio, con efectos poco relevantes sobre las fimbrias tipo 1<sup>54;66</sup>. *E. coli* es una especie bacteriana con gran diversidad genética, lo que se debe sin duda a su intercambio de material genético con otras especies bacterianas del tracto gastrointestinal. Algunas cepas de *E. coli* han adquirido atributos de virulencia que le permiten colonizar y adaptarse a distintos nichos biológicos del huésped, así *E. coli* puede observarse como agente responsable de enfermedad gastrointestinal, infección del aparato urinario, sepsis o meningitis neonatal.

La adherencia de *E. coli* a los epitelios se considera el primer paso en el desarrollo de infección, de forma que la relación existente entre su poder patógeno y la capacidad del tejido para fijarla son dos factores de gran importancia para el desarrollo de enfermedad<sup>67</sup>. Las cadenas de oligosacáridos que contienen manosa son un rasgo muy frecuente en las oligoproteínas de la superficie de las células, de ahí que muchas bacterias hayan desarrollado fimbrias de adherencia a estas moléculas (fimbrias tipo 1) que pueden bloquearse de forma competitiva en el laboratorio con la adición de manosa al medio. Acompañando a la expresión de las fimbrias tipo 1, algunas cepas de *E. coli* expresan una lectina específica ( $\alpha$ -Gal(1  $\rightarrow$ 4) $\beta$ -Gal) asociada con fimbrias P, que median la adherencia específica de *E. coli* a células uroepiteliales<sup>54</sup>. Tanto las fimbrias tipo 1 (manosa sensibles) como las fimbrias P (manosa resistentes) de *E. coli* están reguladas por genes localizados en el cromosoma de la bacteria, y su expresión puede verse modificada dependiendo de las características del medio de cultivo o de las características del medio interno del huésped. Algunos autores<sup>63</sup>, sugieren que el extracto de *Vaccinium macrocarpon* induce cambios conformacionales en las macromoléculas de superficie de las fimbrias P, reduciendo tanto la longitud como la densidad de las fimbrias. De esta forma, la cambiante expresión de lectinas en la superficie de la bacteria condiciona de un lado la adherencia específica a receptores de las células epiteliales, y de otro la modificación de algunas características físicas de la bacteria (hidrofobicidad) que favorecen o dificultan su acercamiento a la superficie epitelial y por tanto su adherencia.

El principal motivo de controversia surge en relación a la variabilidad de concentración de los diferentes componentes polifenólicos contenidos en los extractos de arándano, en especial el contenido en proantocianidinas. De igual forma se observa mayor variabilidad en sus concentraciones dependiendo de la técnica de medida utilizada.

Como se expone en el apartado de Métodos el extracto de arándano utilizado en el ensayo, consistía en una dilución de extracto en jarabe de glucosa. La revisión de la literatura<sup>46;52;68</sup> nos permitió conocer la heterogeneidad de los extractos existentes en el mercado, de ahí la necesidad de caracterizar y cuantificar los componentes polifenólicos

del jarabe utilizado en este ensayo clínico. Como se expone en Resultados la caracterización del jarabe permitió identificar 6 nuevos componentes polifenólicos no descritos hasta el momento<sup>69</sup> (Figura 9.2).

### **10.3. Eficacia y seguridad del extracto de arándano en infección urinaria recurrente**

En el modelo experimental el arándano americano americano se ha mostrado eficaz en la profilaxis de la infección urinaria<sup>51;52</sup>; aunque la heterogeneidad de los preparados de arándano americano utilizados, sus dosis y la población estudiada hace difícil extrapolar resultados<sup>61</sup>.

El trabajo de Guay y cols.<sup>70</sup>, plantea además el desconocimiento de la dosis adecuada. Sabemos por otros estudios realizados in vitro<sup>57</sup> que el arándano posee un efecto dosis dependiente y que tras sufrir los diversos metabolitos un primer paso hepático donde hasta el 50% de los polifenoles ingeridos se metabolizan a metabolitos intermedios y se excretan posteriormente a nivel renal casi en su totalidad. La excreción renal depende exclusivamente de los mecanismos de filtración glomerular, no parece existir secreción o resorción tubular activa para las moléculas polifenólicas. De ahí que la determinación de la dosis efectiva debería hacerse sobre estas consideraciones farmacodinámicas<sup>71-73</sup>. Revisando la literatura no encontramos un consenso fuerte sobre que dosis debemos utilizar y más aún si nos referimos a la población pediátrica, objeto de este trabajo de Tesis doctoral. Dado que en nuestro estudio pretendíamos evaluar además de eficacia. La seguridad del arándano en una población y a una edad (lactantes) en la que no teníamos evidencias previas recurrimos a una extrapolación de la dosis sobre la que más referencias disponíamos.

El efecto dosis dependiente del arándano americano también ha sido referido por otros autores<sup>74</sup>, quienes observan que el urotelio vesical cultivado y epitelio vaginal incubado con *E.coli* IA2 y y tras adicionar diferentes productos de arándano americano, observan que la adherencia bacteriana a estos tipos celulares antes y después de la adición de los productos de arándano americano disminuye en relación directa a la cantidad de arándano adicionado.

Super EA y cols.<sup>75</sup>, publica en 2005 un estudio de diseño transversal que realiza a los padres (en forma de encuesta anónima) de los niños que acuden a consulta de nefrología infantil del Hospital Infantil Brenner en un periodo de 3 meses. Recoge 117 encuestas anónimas de niños con una edad media de 10.3 años de edad y con una prevalencia del 15% de ITU recurrente. De todos los padres encuestados un 29% administraba productos de arándano americanos de forma profiláctica, de todos los que administraban arándano americano en un 23% de los casos habían sido recomendados por su médico. Los resultados obtenidos sugieren que en niños mayores puede aumentar la susceptibilidad a las caries dentales por interferencia con la dentina, no obstante no se ha demostrado dicha asociación, ya que no se puede inferir causalidad a partir de los resultados de un estudio transversal. Además, sólo se notifica como efecto secundario la presencia de náuseas. Los sesgos de este trabajo son los inherentes a su diseño de tipo transversal, además de la falta de uniformidad entre las diferentes marcas comerciales de arándano administradas.



Ran D. Goldman <sup>76</sup>, publican en abril de 2012 un artículo de revisión de la literatura publicada hasta el momento en relación a la utilidad del extracto de arándano americano en la prevención de la infección urinaria infantil. Encuentran que el arándano americano se ha mostrado seguro en la mayoría de los estudios revisados, sin embargo la palatabilidad debido a su acidez disminuye la adhesión al tratamiento entre los niños. Además, concluyen que aún no conocemos cual es la dosis óptima para la prevención de la infección urinaria, también desconocemos cual sería la duración óptima del tratamiento. En nuestro estudio el inconveniente de la mala palatabilidad del arándano se disminuyó añadiendo un saborizante de fresa a la solución de jarabe .

El trabajo de Terris, M.K <sup>77</sup>, publicado en 2001, ensayo clínico de pequeño tamaño y con deficiencias metodológicas. Recoge una muestra compuesta por 5 voluntarios sanos a los que se les indica un suplemento con arándano americano a la dosis habitual recomendada para profilaxis de ITU que se administra durante una semana. Recogen la orina de los participantes del estudio el primer y último día de tratamiento y se realizan mediciones bioquímicas, incluyendo oxalato y los parámetros bioquímicos que intervienen en la génesis de la nefrolitiasis. Como resultado principal obtienen un aumento de la oxaluria tras la administración de extracto de arándano americano ( $p < 0.01$ ) de lo cual se puede deducir que incrementaría el teórico riesgo de litiasis oxálica. Justifican el anterior resultado debido a que el zumo de arándano americano contiene una gran concentración de oxalato. Esta circunstancia podría evitarse utilizando extractos de arándano en los que mediante mecanismos de depuración adecuados se aumenta la concentración de PAC y se eliminan otras fracciones no deseadas, el extracto utilizado en nuestro ensayo reuniría estas características de fabricación. En esta línea algunos autores utilizando extractos de arándano observan un efecto protector en la formación de litiasis urinaria <sup>78</sup>.

David R.P. Guay <sup>70</sup>, de la Universidad de Minnesota, publica en 2009 un artículo de diferentes aspectos de eficacia, mecanismo de acción, tolerabilidad, reacciones adversas e interacciones con otras drogas. Se trata de un artículo de revisión que muestra resultados contradictorios en cuanto a la relación con la nefrolitiasis de diferente etiología. En relación a la génesis de nefrolitiasis nombra 4 trabajos, el anterior trabajo de Terris M.K <sup>77</sup> en el que se concluye que el concentrado de arándano americano podría aumentar el riesgo de litiasis oxálica; el trabajo de Kessler T. y cols. <sup>79</sup> que concluye que el arándano americano podría aumentar el riesgo de litiasis úrica pero tendría un papel protector en la litiasis de apatita, brusita y estruvita; el trabajo de McHarg T. <sup>80</sup>, que evidencia una disminución en la excreción urinaria de oxalato y de fosfatos así como un incremento en la excreción de citrato, que dotaría al arándano de propiedades potencialmente antilítogénica; y por último de trabajo de Gettman MT y cols. <sup>81</sup> que concluye que el arándano americano como máximo tendría efectos modestos en la prevención de la infección urinaria y aumentaría el riesgo de nefrolitiasis de oxalato cálcico y de urato, aunque disminuiría el riesgo de nefrolitiasis de brusita.

Se concluye de la revisión que realiza Guay y cols. <sup>70</sup> que los resultados comunicados no son concluyentes ni homogéneos por lo que son difícilmente extrapolables a la práctica clínica y deberían realizarse más estudios en este sentido. Además, los estudios anteriores no son comparables porque la población de estudio es además de pequeña, distinta en sus características, es distinto el tipo de concentrado de arándano americano utilizado y su caracterización. No obstante en lo que coinciden todos los autores es en la seguridad del arándano americano utilizado en la población

general. Se revisan así mismo las posibles interacciones medicamentosas, su mecanismo de acción, el origen farmacocinético o farmacodinámico y su importancia clínica. Se concluye que en los estudios realizados “in vivo” en humanos no se han observado interacciones clínicamente relevantes entre arándano americano y otros fármacos que son sustratos del citocromo CYP 2C9, CYP 1A2, CYP 3A. Únicamente se ha descrito interacción farmacodinámica entre el arándano americano y la warfarina, conclusiones que han sido parcialmente desmontadas en el estudio de Srinivas, NR<sup>82</sup>. Como ya se ha comentado con anterioridad y en la línea con lo expuesto hasta este punto, en nuestro estudio tampoco se describieron reacciones adversas. Otro trabajo de revisión realizado por Srinivas, NR<sup>82</sup> en 2013, analiza las interacciones farmacológicas del arándano americano. Se observa un efecto “in vitro” del arándano americano como potente inhibidor del citocromo CYP 2C9 y CYP3A similar al efecto inhibidor que tiene el ketoconazol (CYP3A) y el fluconazol (CYP2C9). Compara el arándano americano con el zumo de uva, granada o té y se muestra menos potente en la inhibición del CYP2C9 pero similar o incluso mayor que el pomelo.

A pesar de las inhibiciones encontradas “in vitro”, en los ensayos realizados “in vivo” no se ha comprobado ninguna traducción clínica en las pruebas de farmacocinética de ciclosporina, warfarina, diclofenaco, flurbiprofeno, tiazanidina, amoxicilina y cefaclor; a excepción de un único informe<sup>83</sup> sobre el midazolam que notifica que se produjo un incremento moderado en la exposición/efecto del midazolam en sujetos pre-tratados con zumo de arándano americano. De forma contrapuesta otro estudio<sup>84</sup>, concluyó la falta de relevancia clínica de la interacción entre jugo de arándano americanos y midazolam.

En general existe una falta de traducción “in vivo” de la capacidad inhibitoria del CYP por parte del arándano americano, que podría explicarse en base a los siguientes supuestos:

- Debido a la biodisponibilidad de las antocianidinas las concentraciones conseguidas “in vivo” no tienen suficiente potencia como para inhibir el CYP.
- La velocidad de eliminación “in vivo” de los principios activos de las proantocianidinas pueden dar lugar a niveles efectivos clínicamente pero que no alcancen el umbral para inhibir los CYP.
- Puede tener relevancia “in vivo” la unión a proteínas y la velocidad de absorción, limitando de esta manera la disponibilidad de la droga para inhibir estas enzimas.

El consumo de gran cantidad de zumo de arándano americano (1-2 litros/día) o el concentrado de 1000 mg durante un tiempo superior a 3 o 4 semanas se correlaciona con niveles alterados de INR; el mecanismo de acción que justificaría este efecto parece ser que cantidades elevadas de arándano americano enlentecerían la absorción de la warfarina provocando niveles pico menores al 20% con respecto al agua, lo cual podría modificar los valores de INR, en general disminuyendo el efecto de la warfarina. A la luz de la literatura actual, no se puede justificar la supresión del extracto de arándano americano en estos pacientes, pero si estaría indicado vigilar la variación de los niveles de INR, algo que por otro lado no parece una dificultad adicional puesto que los pacientes que siguen un tratamiento con warfarina ya precisan un seguimiento estrecho y frecuente de los niveles de INR.

Al igual que se observó *in vitro*, Di Martino y cols.<sup>25</sup> demuestran que el efecto antiadherente del arándano es dosis-dependiente y que los estudios farmacocinéticos de las PAC son difíciles de realizar por la inestabilidad de esta molécula. Para determinar la eficacia del consumo de zumo de arándano americano versus placebo con respecto a la actividad antiadherente bacteriana *in vitro*. Para ello estudian la orina de voluntarios sanos a los que se les administra tras la cena una dosis única de 750 ml de una bebida compuesta de:

1. 250 ml de placebo y 500 ml de agua mineral
2. 750 ml de placebo
3. 250 ml de jugo de arándano americano y 500 ml de agua mineral
4. 750 ml de jugo de arándano americano

Cada voluntario tomó los cuatro regímenes sucesivamente en un orden al azar, con un período de lavado de al menos 6 días entre cada cambio de régimen. Se recoge la primera orina de la mañana que se incubó con seis cepas de *E. coli* uropatógeno (todas expresan pili tipo 1, tres positivos para el marcador de gen para papC - fimbrias P y tres negativos para papC), cepas que habían sido previamente aisladas de pacientes con infecciones del tracto urinario sintomáticos. Se analiza la capacidad de las bacterias para adherirse a la línea celular T<sub>24</sub> de vejiga *in vitro*. No hubo diferencias significativas en el pH o la densidad específica entre las muestras de orina recogidas después de la ingestión de arándano americano o el consumo de placebo. Se observó una disminución significativa dependiente de la dosis en la adhesión bacteriana asociada con el consumo de arándano americano. La inhibición de la adherencia se observó independientemente de la presencia de genes que codifican tipo pili P y fenotipos de resistencia a antibióticos. Los autores concluyen con estos resultados que el consumo de zumo de arándano americano proporciona una actividad antiadherente dosis dependiente frente a diferentes cepas de *E. coli* uropatógenos.

Se ha asumido que el efecto antiadherente del arándano americano se debe mayoritariamente a su contenido en proantocianidina de tipo A. Los ensayos de laboratorio realizados por diversos autores así parecen sugerirlo<sup>26</sup>. Sin embargo, los estudios de cuantificación de proantocianidina urinaria en los que ha colaborado nuestro Grupo de Investigación no han permitido establecer niveles detectables de PAC tras consumo de cantidades variables de extracto de arándano<sup>85</sup>. Estos hallazgos podrían indicar que los PAC excretados en orina se metabolizan rápidamente hacia metabolitos intermedios o bien que otros metabolitos diferentes a los PAC o derivados de su metabolismo ejercerían igualmente actividad antiadherente.

Howell y cols.<sup>57</sup>, realiza dos bioensayos separados, uno de hemaglutinación manosa-resistente y un nuevo ensayo original de una línea de células epiteliales T<sub>24</sub> humano. Evalúa la actividad antiadherente bacteriana “*ex vivo*” urinaria en muestras recogidas de 32 voluntarios. Se realizó un estudio con placebo, aleatorizado, doble ciego. Tras el consumo de arándano americano se analizaron los mismos parámetros biológicos, físico-químicos que en la primera muestra y además se midió “*ex vivo*” la capacidad antiadherente de la orina de los pacientes que habían consumido diferentes cantidades de PAC. Los resultados indicaron una actividad antiadherente bacteriana significativa en las muestras de orina de voluntarios que consumieron polvo de arándano americano en comparación con placebo ( $p < 0.001$ ). Esta inhibición era claramente dependiente de la dosis, prolongada (hasta 24 h con 72 mg de PAC) y

aumenta proporcionalmente con la cantidad de equivalentes de PAC consumidos. Además demostraron en un modelo vivo que el arándano americano era capaz de disminuir la virulencia del *E. coli* fimbriada. Concluyeron por tanto que la administración de extracto de arándano americano en dosis que contienen 72 mg de PAC por día pueden ofrecer cierta protección contra la adhesión bacteriana, esta protección es superior que la observada en pacientes que recibieron 18 o 36 mg de PAC.

Una cuestión importante y que parece actualmente no estar bien definida es la idoneidad del tratamiento profiláctico con antibióticos a largo plazo, dado que los riesgos asociados parecen superar los beneficios de este tratamiento. Estas indicaciones se recogen en la Guía de Práctica Clínica del SNS <sup>86</sup>. En 2010, Dai B y cols. <sup>87</sup>, publican una revisión sistemática y metaanálisis, que ha sido traducida y revisado críticamente por González Rodríguez MP del grupo Evidencias en Pediatría <sup>88</sup>, que valora la eficacia y la seguridad de los antibióticos utilizados como tratamiento profiláctico para prevenir la recurrencia de las infecciones urinarias. En esta revisión se consideraron seleccionables los ensayos clínicos aleatorios (ECA) y cuasiexperimentales que valorasen la profilaxis antibiótica a largo plazo frente a placebo o no tratamiento en niños sin otra enfermedad de base predisponente. Se definió como profilaxis a largo plazo la administración diaria de antibióticos durante al menos dos meses. El resultado principal fue la proporción de pacientes que durante el periodo de tratamiento tuviesen al menos una recurrencia de infección urinaria sintomática, confirmada. Se valoraron como objetivos secundarios la recurrencia de urocultivo positivo, la tasa de cicatrices renales nuevas o el empeoramiento de las anteriores y cualquier efecto adverso durante y tras el tratamiento. Los estudios incluidos evaluaron varios antibióticos con varias pautas de dosificación. La duración de la profilaxis antibiótica fue de 10 semanas a 24 meses. Todos los estudios menos uno incluyeron pacientes con reflujo vesicoureteral. Tres cuartos de los participantes fueron mujeres, con una media de edades de 8.3 a 8.7 años. La calidad de los estudios de esta revisión se valoró en función del cegamiento en la asignación, la estandarización y el cegamiento de la valoración de los resultados, el análisis por intención de tratar y las pérdidas durante el seguimiento. Cuando fue aplicable, se contactó con los autores de los estudios para obtener los datos adicionales. Como resultados de la revisión obtuvieron siete estudios (n=1717 niños), sin heterogeneidad aparente entre ellos. El efecto de la profilaxis antibiótica en la recurrencia de la infección urinaria sintomática no fue estadísticamente significativo en comparación con placebo o no tratamiento (RR 0.83; IC 95%: 0.66 a 1.05). La profilaxis antibiótica redujo de forma significativa los cultivos de orina positivos en comparación con placebo o no tratamiento (RR:0.50; IC 95%: 0.34 a 0.74) en 11 estudios; n=2046 niños. No hubo diferencia significativa en la aparición de nuevas cicatrices renales o el empeoramiento de las existentes entre el grupo de profilaxis antibiótica y el de placebo o sin tratamiento (RR: 0.95; IC 95%: 0.5 a 1.78) en siete estudios (n=1093 niños). Los efectos adversos se describen en 3 estudios. La incidencia de los mismos fue baja (del 2 al 7,3%), y fueron sobre todo leves. El análisis de sensibilidad en subgrupos no modificó los resultados en cuanto a recurrencia de infección urinaria sintomática excepto en cuanto a la calidad de los estudios; estudios cegados de forma adecuada encontraron una reducción estadísticamente significativa en las infecciones urinarias recurrentes (RR: 0.68; IC 95%: 0.48 a 0.95%). El análisis de subgrupos de pacientes sin reflujo vesicoureteral demostró una reducción no significativa en el riesgo de recurrencia de ITU. En conjunto los autores de esta revisión concluyen que no existe evidencia de que la profilaxis antibiótica en los niños se asocie con una disminución significativa de la incidencia de infección urinaria

recurrente o con la aparición de nuevas cicatrices renales. La búsqueda que realizan los autores incluye las bases de datos apropiadas, pero no se realizaron intentos de recuperar estudios no publicados, por lo que puede que algunos datos importantes no se hayan incluido. No hubo pruebas de que hubiese sesgo de publicación. Analizaron la calidad de los estudios incluidos, y se utilizó para interpretar los resultados de esta revisión. Se describen las características de los estudios individuales. Los métodos utilizados para combinar los resultados fueron apropiados, aunque no se informa del número de estudios (y participantes) que contribuyen a algunos análisis. Además, los autores no distinguieron entre los estudios que utilizaron placebo y aquellos en los que el grupo control no recibió tratamiento, lo que dificulta la interpretación de los resultados de los estudios individuales. Finalmente los autores afirman que, teniendo en cuenta la falta de pruebas de la utilización de antibióticos en la prevención de la infección urinaria, los beneficios potenciales de los antibióticos en la práctica clínica deben ser ponderados frente al riesgo de desarrollo de resistencias bacterianas al antibiótico. Así pues, afirman que es preciso realizar ECA en pacientes con reflujo vesicoureteral grados III a V, puesto que el riesgo de daño renal en el reflujo vesicoureteral de alto grado es de cuatro a seis veces mayor que en los grados I y II, y de ocho a diez veces mayor que en aquellos sin reflujo vesicoureteral. Sería también importante reflejar más detalles de los estudios (como la incidencia de infección urinaria y la aparición de cicatrices nuevas a diferentes edades, sexo y tipo de antibióticos), registrarse y tener suficiente potencia para detectar diferencias significativas.

Nuestro estudio fue diseñado como una prueba de equivalencia o no inferioridad de una rama frente a la otra, por razones éticas, dado que las guías de práctica clínica recomiendan el uso de profilaxis con trimetoprim en niños con reflujo grado III y IV. Los principios de la Declaración de Helsinki, no permiten la realización de un ensayo clínico con placebo en estas circunstancias<sup>89</sup>. Además, los ensayos clínicos realizados en población adulta<sup>60;90</sup> y sobre un tamaño muestral adecuado han demostrado la eficacia de la profilaxis antibiótica en la infección urinaria recurrente del reflujo vesicoureteral.

El SNS elaboró una GPC publicada en 2011 sobre el manejo de la ITU infantil<sup>86</sup>, en ella se establecen las recomendaciones de profilaxis antibiótica que actualmente están aceptadas por la comunidad científica en España, al menos hasta que tengamos más estudios controlados en este campo. El equipo de elaboración de la GPC ha considerado que, dada la escasez de estudios y/o estudios de buena calidad metodológica, no existe evidencia científica suficiente para apoyar una recomendación a favor del uso de ninguna de estas medidas preventivas, estableciendo una recomendación de incrementar la investigación en este campo.

En nuestro estudio el arándano americano ha mostrado no inferioridad frente a profilaxis con trimetoprima en la infección recurrente del tracto urinario. Los ensayos clínicos controlados con placebo realizados por Craig J.C<sup>91</sup>, en 2009 han demostrado los beneficios de la trimetoprima-sulphametoxazol para la profilaxis de infecciones urinarias recurrentes. Craig J.C y cols.<sup>91</sup> publican en 2009 un ensayo clínico controlado con placebo realizado en niños menores de 18 años con historia de uno o más episodios de infección urinaria probada microbiológicamente. Los pacientes se distribuyeron en dos ramas, una que recibió TMP-SMX en suspensión a dosis de 2 mg/kg de trimetoprima y 10 mg/kg de sulfametoxazol o placebo durante 12 meses. Se realizó un análisis por intención de tratar, midiendo el tiempo hasta la presentación del

evento infección urinaria. Se observó ITU en 36 de 288 pacientes (13%) del grupo que recibía TMP-SMX y 55 de 288 pacientes (19%) en el grupo placebo (OR: 0.61; IC 95% 0.40 a 0.93;  $p=0.02$ ). En el grupo del antibiótico la reducción absoluta del riesgo (RAR) de ITU fue de 6 puntos porcentuales. Como conclusión del estudio anterior los autores refieren que a largo plazo las dosis de TMP-SMX se asociaron a un menor número de infecciones del tracto urinario en niños predispuestos. El efecto del tratamiento parece ser consistente pero modesto entre los subgrupos. Por tanto, los resultados deberán valorarse de forma cuidadosa dado el modesto beneficio y el potencial alto riesgo de resistencias bacterianas del trimetoprim-sulfametoxazol.

Otros estudios <sup>51</sup>, han informado del efecto beneficioso de jarabe de arándano americano en la prevención de las infecciones urinarias en mujeres, logrando una reducción del riesgo absoluto de infecciones urinarias con respecto al tratamiento con placebo. Este efecto ha sido explicado en relación a la capacidad antiadherente de arándano americano sobre *E. coli* <sup>25</sup>. Ferrara y cols. <sup>52</sup>, en un ensayo clínico controlado con placebo en niños mayores de 3 años, observaron que el jarabe arándano americano evita la recurrencia de ITU sintomática.

Jepson y Craig <sup>61</sup>, publican en la Cochrane Library un meta-análisis en relación a la utilidad del extracto de arándano americano en la infección urinaria. Para ello seleccionaron todos los ensayos clínicos aleatorizados y controlados (entre los que se incluye el nuestro) así como los cuasi-experimentales. Se recopiló información sobre los métodos, los participantes, las intervenciones y los resultados (incidencia de ITU sintomáticas, resultados de los cultivos positivos, efectos secundarios, adherencia al tratamiento). Esta revisión actualizada incluye un total de 24 estudios (seis estudios cruzados, 11 estudios de grupos paralelos, y dos estudios con un diseño factorial) con un total de 4.473 participantes. Diez estudios fueron incluidos en la actualización de 2008 y 14 estudios se han añadido a la actualización de 2012. Trece estudios (2380 participantes) evaluaron sólo zumo de arándano americano/concentrado; nueve estudios (1032 participantes) evaluaron sólo arándano americano pastillas/cápsulas; un estudio comparó zumo de arándano americano y tabletas; y un estudio comparó cápsulas de arándano americano y tabletas. Los brazos de comparación / control fueron con placebo, ningún tratamiento, agua, hipurato de metenamina, antibióticos, o lactobacillus. Once estudios no se incluyeron en el meta-análisis ya sea porque el diseño fue un estudio cruzado y los datos no se informaron por separado o por falta de datos pertinentes. Los datos incluidos en el metaanálisis mostraron que, en comparación con placebo, el agua o no tratamiento, los productos de arándano americano no redujeron significativamente la incidencia de infección urinaria sintomática general (RR 0.86; IC 95 %: 0.71 a 1.04). No hubo diferencia significativa entre los efectos adversos gastrointestinales por arándano americano en comparación con los de placebo / ningún tratamiento (RR 0.83; IC 95 %: 0.31 a 2.27). La mayoría de los estudios no informaron sobre la composición del producto, a diferencia del nuestro donde si se realizó una caracterización completa. Los autores coinciden con nosotros en que preciso conocer la composición de los diferentes extractos disponibles en el mercado.

En nuestro estudio se utiliza como antibiótico profiláctico la trimetoprima. Estudios como el de Nguyen, H.T <sup>92</sup> estudian la idoneidad o no de la adición de sulfametoxazol al tratamiento profiláctico partiendo de que la combinación de trimetoprima / sulfametoxazol a menudo se utiliza para tratar infecciones de las vías urinarias no complicadas en niños. El fundamento para la combinación de trimetoprim y

sulfametoxazol es que pueden actuar de manera sinérgica para aumentar la actividad antibacteriana. Sin embargo, aproximadamente el 3% de los pacientes presentan reacciones alérgicas al sulfametoxazol, de los cuales algunas son graves (insuficiencia hepática y el síndrome de Stevens-Johnson). En el estudio se determinó si la adición de sulfametoxazol aumenta la actividad antibacteriana in vitro en comparación con trimetoprima sola. Prospectivamente identificaron 1.298 niños con infección del tracto urinario (más de 100.000 ufc / ml de *E. coli*) de un total de 4 regiones de América. La susceptibilidad in vitro de *E. coli* al sulfametoxazol, trimetoprim y trimetoprim / sulfametoxazol se determinó a través de difusión en disco, observándose que *E. coli* tenía una susceptibilidad a trimetoprim del 70 %, comparable con el 70 % de trimetoprim / sulfametoxazol ( $p = 0.9$ ) y mayor del 56.9 % del sulfametoxazol solo ( $p < 0,05$ ). Sobre la base de estos resultados se podía concluir que en los niños con infección del tracto urinario la susceptibilidad in vitro a la trimetoprima fue comparable a la de trimetoprima / sulfametoxazol y significativamente más alto que la de sulfametoxazol. Por tanto, la adición de sulfametoxazol parece innecesaria y puede representar un riesgo para los pacientes, motivo por el que decidimos utilizar en nuestro ensayo trimetoprima sola frente a la opción trimetoprima/sulfametoxazol.

La composición jarabe de arándano americano utilizada en nuestro estudio <sup>69</sup> puede ser de interés para futuras comparaciones de nuestros resultados con los de otros estudios, dada la gran variabilidad en las concentraciones de proantocianidinas observadas en los distintos extractos de arándano americano que se utilizan en los diversos estudios <sup>27;56</sup>. Para la caracterización del jarabe de arándano americano se ha desarrollado un método espectrometría de masas (HPLC- DAD- TOF – MS) usando modos de ionización negativa y positiva mediante los cuales fue posible identificar 34 compuestos diferentes, nueve de los cuales se han caracterizado provisionalmente por primera vez en nuestro jarabe. También es importante destacar que algunas cumarinas no descritas en el arándano americano también fueron identificadas.

McMurdo y cols. <sup>60</sup>, publicaron en 2009 un ensayo clínico aleatorizado, doble-ciego con arándano americano o trimetoprima en mujeres con riesgo de infecciones urinarias recurrentes. Para ello reclutaron ciento treinta y siete mujeres con dos o más infecciones urinarias tratada con antibióticos en los 12 meses anteriores. Obtuvieron los siguientes resultados: 39 de 137 participantes (28 %) tuvieron una infección urinaria tratada con antibióticos (25 en el grupo de arándano americano y 14 en el grupo de trimetoprima). El tiempo hasta la primera recurrencia de infección del tracto urinario no fue significativamente diferente entre los grupos ( $p < 0.1$ ). La mediana del tiempo hasta la recurrencia de la ITU fue de 84.5 días para el grupo de arándano americano y 91 días para trimetoprima. Hubo 17/137 (12%) retiradas del estudio, 6 /69 (9 %) del grupo de arándano americano y 11/ 68 (16 %) del grupo trimetoprima, con un riesgo relativo de la retirada del grupo de arándano americano de 0.54 (IC del 95 % 0.19 a 1.37). Concluyeron que la trimetoprima tenía una ventaja muy limitada sobre el extracto de arándano americano en la prevención de ITU recurrente en mujeres y tenía más efectos adversos.

La revisión sistemática publicada por Jepson <sup>61</sup> en 2004, de un total de 10 estudios (1049 pacientes) llegó a la conclusión de que jarabe arándano americano redujo significativamente la incidencia de infecciones urinarias tras 12 meses de seguimiento (OR: 0.65; IC 95% 0.46-0.90) en comparación con el grupo control que recibió placebo.

El arándano americano fue más eficaz en la reducción de la incidencia de infecciones urinarias en mujeres con infección recurrente que en hombres, mujeres de tercera edad o personas que requieren sondaje. Jepson <sup>61</sup>, en 2012 vuelve a publicar una revisión de la literatura con la que adición de 14 nuevos estudios a la revisión y observa que el zumo de arándano americano es menos eficaz de lo indicado anteriormente. Los productos de arándano americano no fueron significativamente diferentes a los antibióticos para prevenir las infecciones urinarias en tres estudios pequeños.

De forma general, al revisar la literatura se encuentran estudios muy heterogéneos en todos los aspectos, tanto metodológicos-científicos como interpretativos. Por otro lado, la metodología Cochrane que se ha mostrado como una herramienta útil en la evaluación de la eficacia de medicamentos podría no ser tan útil cuando comparamos suplementos alimenticios dada la gran variabilidad en cuanto a composición de las intervenciones ensayadas, unos estudios utilizan zumos, otros extractos. Es fundamental la detección de los sesgos que se han producido para realizar una correcta interpretación de los resultados. En este sentido faltan trabajos homogéneos en la caracterización-cuantificación de los componentes del arándano americano a fin de poder determinar cuál es la dosis correcta y la duración óptima del tratamiento profiláctico.

#### ***10.4. Evidencias de eficacia y seguridad en población infantil***

Nuestro estudio confirma que el arándano americano es seguro para la población pediátrica, se muestra seguro en lactantes de hasta 2 meses de edad. Como se expone en el apartado de Resultados, sólo un 3,6% de los pacientes presentó algún tipo de reacción adversa (5 casos en la rama de tratamiento con trimetoprima y 2 casos en la rama del arándano americano), que se clasificaron como intolerancia gástrica o gastrointestinal y rash cutáneo. No se evidenciaron reacciones adversas graves. Es especialmente importante resaltar que el 20.8% de los pacientes reclutado eran menor de 6 meses y de estos el 60% completaron el año de seguimiento sin presentar infección del tracto urinario o alguna otra reacción adversa. Salo y cols. <sup>93</sup>, realizan un ensayo clínico aleatorizado y doble ciego para determinar si el zumo de arándano americano puede prevenir la ITU recidivante en la población pediátrica. El ensayo clínico se emplaza en las consultas de pediatría de 7 hospitales de Finlandia de 2001 a 2008, se estudian 263 niños de ambos géneros de 1 a 16 años de edad que presentaron un episodio de ITU en los dos meses previos. El análisis se realizó finalmente en 255 niños que cumplían los criterios de inclusión. Se excluyeron los niños con profilaxis antibiótica previa por reflujo vesicoureteral grado III-IV o bien por otro motivo. Se analizaron 126 niños en el grupo de intervención (GI) y 129 niños en el grupo control (GC) de los cuales el 91% eran niñas. Durante el estudio se perdieron 16 niños en el GI (13%) y 11 niños en GC (9%). La dosis utilizada fue de 5 ml/Kg con un máximo de 300 ml de zumo al día (zumo de arándano americano 41 g/l) o de placebo enmascarado. Esta dosis se distribuyó en 1 o 2 dosis diarias durante 6 meses. El seguimiento se realizó durante 1 año, registrando el consumo de zumo y los síntomas compatibles con ITU. Si se observaban 3 o más ITUs se instauraba profilaxis antibiótica durante 6 meses sin suspender el tratamiento con zumo. Tras 12 meses de seguimiento los autores observan una reducción absoluta del riesgo (RAR) de -6% (IC del 95%: -16% a 4%), odds ratio (OR): 0.71 (IC del 95%: 0.38-1.36) con p=0,21. Los autores concluyen que la proporción de niños que tuvieron una recidiva de infección urinaria fue similar en ambos grupos. Sin embargo, la densidad de incidencia por persona-año en riesgo fue



significativamente más baja en el GI (GI: 0.25; GC: 0.41) RAR: -0.16 (IC del 95%: -0.31 a 0.01)  $p=0.03$ . Los niños del GI usaron menos antibióticos, presentaron 11.6 días/año frente a 17.6 días/año en el GC (diferencia: -6 con IC del 95%: -7 a -5 días/año;  $p<0.001$ ). A la luz de estos datos, los autores concluyeron que el zumo de arándano americano disminuye el número de episodios totales de ITU en la muestra, aunque no ha demostrado disminuir el número de niños con recidivas de ITU. En este estudio hay un importante número de niños que rechazan la ingesta del zumo de arándano americanos por su sabor, pero no se detectan reacciones adversas lo cual apoya la seguridad del preparado.

Ferrara y cols.<sup>52</sup>, realizan un ensayo clínico que publican en 2009, compara el efecto del zumo de arándano americano y el *Lactobacillus* GG en la prevención de las ITUs recidivantes en niños. Se trata de un ensayo clínico aleatorizado no cegado en niños derivados a las consultas externas de Nefrología Pediátrica de un hospital de Roma. La población de estudio incluye 84 niñas entre 3 y 14 años de edad derivadas por haber sufrido más de una ITU por *E. coli* en el año anterior y que no han recibido profilaxis previa. Se excluyeron los pacientes que presentaron lesiones obstructivas o malformaciones del tracto urinario, así como alteraciones de la función renal. Se perdió un 4.7% de los participantes de la muestra. La intervención consistió en asignar a las niñas en 3 grupos diferentes. El grupo I (G1,  $n=28$ ), recibió 7.5 gr de arándano americano rojo y 1.7 gr de arándano americano azul en 50 ml/día de zumo concentrado durante 6 meses. El grupo 2 (G2,  $n=27$ ) se le administró 100 ml de *Lactobacillus* GG ( $4 \times 10^7$  ufc), 5 días al mes, durante 6 meses. El grupo 3 (G3,  $n=29$ ) fue el grupo control y no consta que se administrara placebo. Todos los grupos eran similares en cuanto al riesgo de ITU. La adherencia al tratamiento se controló mediante cuestionario trimestral. Todos los niños con 3 o más ITUs se trataron con profilaxis antibiótica. Los autores observan una reducción en la recurrencia de ITU del 10%, teniendo en cuenta que el 30% de las niñas sufrían una recurrencia. El resultado principal fue la presencia o no de ITU en los 6 meses de seguimiento. Las variables secundarias medidas fueron la necesidad de iniciar tratamiento profiláctico y la evaluación de la tolerancia y efectos adversos al zumo de arándano americano. En el ensayo clínico no se notificaron reacciones adversas en ninguno de los pacientes. No obstante, anotan la posibilidad de diarrea y algunas otras alteraciones gastrointestinales leves en lactantes y niños pequeños, por lo cual justifican la edad de la población de estudio entre 3 y 14 años de edad. En nuestro ensayo se utilizó el extracto de arándano en lactantes por debajo de los 12 meses y desde el mes de edad, sin que se aprecien efectos adversos comunicables. Parece destacable en favor de nuestro estudio que no utilizamos zumo de arándano, sino una dispersión de extracto de arándano en jarabe de glucosa. No podemos considerar el preparado experimental utilizado en nuestro estudio como zumo de fruta, ya que por otro lado no estaría indicada en lactantes por debajo de los 4 meses de edad. El estudio de Ferrara y cols.<sup>52</sup>, aborda el efecto de la intervención en un escenario clínico diferente, dado que solo estudia a niñas con ITUs recurrentes. Es un ensayo aleatorizado, no cegado, con dos grupos de comparación, en los que la intervención fue claramente diferente, y además un tercer grupo de no tratamiento. El estudio no deja claro el protocolo de estudio realizado, aunque se excluyeron pacientes con deformidades del tracto urinario y obstrucciones estructurales. La adherencia al tratamiento se valoró por cuestionario. Otra fuente de heterogeneidad entre los estudios nombrados es la concentración del zumo de arándano americano administrado.

En 2009, Nishizaki y cols.<sup>94</sup>, publican un estudio cuasiexperimental cuyo objetivo fue valorar si el zumo de arándano americano puede sustituir a la profilaxis antibiótica en la prevención de ITUs en los niños con RVU. El ensayo clínico se realiza en varios hospitales de Japón, y la población de estudio incluye 31 niños reclutados entre marzo de 2003 y julio de 2008. 12 niños se incluyeron en el GI (7 niños y 5 niñas) y 19 niños en el GC (11 niños y 8 niñas), todos ellos con RVU de grado I-IV diagnosticado por cistografía y con antecedente de ITU en el mes anterior. No consta si hubo pérdidas aunque al menos un paciente al parecer rechazó la ingesta de zumo. La intervención consistió en administrar al GI 100 ml de zumo de arándano americano al 50%, una vez al día con un periodo de observación medio de  $17.2 \pm 7.9$  meses (rango: 3 a 27 meses). El GC recibió 5-10 mg/Kg de cefaclor al día con un periodo de observación medio de  $10.2 \pm 3.3$  meses (rango: de 5 a 15 meses). En caso de recurrencia de ITU, se sustituía el zumo de arándano americano por un tratamiento antibiótico y el niño salía del estudio. Se observó una reducción en la recurrencia de ITU del 50%. La variable principal medida fue la recurrencia de ITU, definiendo ésta según criterios clínicos y de laboratorio. En el GI se observaron 2 ITUs en 206 meses-estudio (1 por cada 103 meses-estudio) y en el GC 2 ITUs en 194 meses-estudio (1 cada 97 meses-estudio) no existiendo diferencias significativas entre los dos grupos. El riesgo relativo (RR) de recurrencia de ITU fue de 1.58 (IC al 95%: 0.26-9.79). Los autores no comunican efectos secundarios en el grupo de intervención y concluyen que el zumo de arándano americano es comparable a la profilaxis antibiótica con cefaclor en la prevención de ITUs recidivantes en niños con RVU.

El interés clínico de la medida principal (episodios de ITU) en los estudios anteriormente referidos, Salo<sup>93</sup> y Ferrara<sup>52</sup>, es importante, sin embargo hay discrepancia entre los resultados, que puede ser explicado en parte por el mayor rigor metodológico del primero, pero también porque la población de estudio es diferente (destacar que el estudio de Ferrara<sup>52</sup> solo incluye niñas de mayor edad, por lo que el efecto de la intervención podría ser mayor ya que la prevalencia de recurrencia sería a priori más alta) así como la duración del estudio y la cantidad de principio activo ingerido.

Un estudio observacional publicado por JM. Garat Barredo y cols.<sup>95</sup>, en 2011 analiza la utilidad del extracto de arándano americano en la prevención de la infección urinaria (ITU) en el niño como contrapartida a la quimioprofilaxis antibiótica. Utilizan un extracto de arándano americano con 118 mg de proantocianidinas (PAC). Se trataba de un estudio prospectivo (observacional, clínico-bacteriológico) realizado en niños durante 1 año. Se incluyeron 70 pacientes de ambos sexos, de 5-17 años de edad (media: 9.3 años). El estudio fue completado por 62 pacientes (51 niñas y 11 niños); 8 pacientes no tomaron con regularidad la medicación, por lo que se consideraron casos de abandono (11.42%). Los criterios de inclusión fueron los siguientes:

1. Más de 2 ITUs recidivantes con clínica en el año anterior a la inclusión.
2. Bacteriurias asintomáticas en 4 o más análisis el año previo, con presencia de más de 100.000 UFC de *E. coli* en el urocultivo.
3. Reflujo vesicoureteral con o sin quimioprofilaxis.

4. Infecciones recidivantes (más de 2 en el año anterior), con disfunción vesical no neuropática confirmada mediante un estudio urodinámico.

No se incluyeron en el estudio los pacientes en los concurrían:

1. Niños con malformaciones orgánicas del aparato urinario (p.ej., ureterocele, extrofía vesical, epispadias-hipospadias, divertículos vesicales, etc.).
2. Niños previamente operados de afecciones en el aparato urinario (p. ej., cirugía antirreflujo, pielolitotomía, operaciones uretrales o vesicales, etc.).
3. Pacientes con vejiga neuropática secundaria a mielomeningocele o disrafias espinales (lipomeningocele, etc.).
4. Pacientes con litiasis urinaria.
5. Niños con insuficiencia renal moderada o grave.

Todos recibieron un comprimido diario de extracto de arándano americano (118 mg de PAC), fragmentado y mezclado con agua o yogur. La dosis administrada fue igual en todos los pacientes, independientemente de su edad y peso. Se controló a los pacientes cada 2 meses, y se realizaron visitas con un análisis de orina previo (sedimento y cultivo).

Solamente 8 pacientes no tomaron con regularidad el tratamiento (11,42% de abandonos) y no se incluyeron en el análisis estadístico posterior. Los autores consideran seis grupos para el análisis:

- *Grupo 1.* Bacteriurias asintomáticas. Se incluyeron en este grupo 18 niños (un 29% del total), 11 mujeres y 7 varones. Ninguno recibió antibioterapia durante 1 año. Todos ellos mantuvieron la bacteriuria. En el 92% de las bacteriurias el agente causal era *E. coli*. En ningún caso (100%) se produjo durante el año de tratamiento ninguna ITU sintomática ni febril.
- *Grupo 2.* Reflujos vesicoureterales (grados II-III) con quimioprofilaxis con cefadroxilo (un tercio diario de la dosis terapéutica según el peso). Se incluyeron 9 pacientes (8 niñas y 1 niño), que representaban el 14.5% del total del estudio. Ninguno presentó pielonefritis aguda (PNA) ni ITU sintomática en el año de tratamiento (100%).
- *Grupo 3.* Reflujos vesicoureterales (grados II-III) sin quimioprofilaxis. Se incluyeron 7 pacientes (6 niñas y 1 niño) (11.3% del total). Un niño tuvo una infección sintomática (14.3%). Ninguno (100%) tuvo una PNA febril.
- *Grupo 4.* Niños con PNA recidivantes (más de 2 episodios por año) sin reflujo vesicoureteral. Cinco niños (8%), todos de sexo femenino, siguieron profilaxis con comprimidos de extracto de arándano americanos en la dosis indicada. Uno (20%) tuvo una ITU sintomática. Ninguno tuvo una PNA febril (100%). Una de las niñas presentó en un urocultivo una bacteriuria asintomática por *E. coli*.
- *Grupo 5.* ITU bajas recidivantes (sin fiebre). Este grupo estuvo constituido por 17 pacientes (15 niñas y 2 niños) (27.4% del total). Tres niñas (17.6%) tuvieron una ITU sintomática que requirió antibioterapia, prosiguiendo luego con

extracto de arándano americano; 14 niños (82.3%) no tuvieron ninguna ITU sintomática en el año de tratamiento. Ninguno presentó una ITU febril.

- *Grupo 6.* Niños con infecciones recidivantes (más de 2 episodios por año) y disfunción vesical comprobada urodinámicamente (detrusor hiperactivo). Este grupo estaba constituido por 6 niñas (9.7% del total). Recibieron tratamiento con un anticolinérgico (tolterodina 4 mg/día) más extracto de arándano americano, 118 mg de PAC. Ninguna (100%) presentó una ITU sintomática ni febril durante el año de observación.

En este estudio mientras los pacientes recibieron tratamiento con extracto de arándano americano, ninguno (100%) presentó una PNA y sólo el 8% tuvo una ITU sintomática, lo que arroja un resultado global de eficacia superior al 90%. En ninguno de los grupos de pacientes se constataron efectos adversos durante el año de tratamiento. Estos hallazgos corroboran nuestros propios resultados sobre la eficacia y efectividad del arándano en la profilaxis de la ITU. Pero además permite extraer otras conclusiones

1. Uno de los aspectos más llamativos es la gran aceptación por parte de los padres. Teniendo en cuenta que este trabajo fue realizado con comprimidos que debían ser fragmentados por los padres, con el inconveniente práctico que esto conllevaba, sólo obtuvieron en 1 año una tasa de abandonos del 11,42%.
2. Las evidencias existentes llevaron a los autores a iniciar este estudio con pacientes a partir de 5 años. Sin embargo, no hay referencias sobre la aparición de efectos adversos en niños menores<sup>75</sup>, pero tampoco estudios de seguridad suficientes.
3. Los autores concluyen que el extracto de arándano americano carece de acción bactericida, por lo que no suprime la bacteriuria, aunque impide la fijación de *E.coli* a la pared de la vejiga. También concluyen la necesidad de realizar estudios prospectivos, doble ciego, aleatorizados y controlados con placebo para poder establecer recomendaciones con un alto grado de evidencia.

En relación a este último punto cabe destacar otros trabajos realizados in vitro donde se evidencia que el arándano utilizado a altas dosis es capaz de inhibir el crecimiento bacteriano (actividad bacteriostática) y la formación de biofilm<sup>68</sup>.

Jepson y Craig<sup>61</sup>, en 1998 publican en la Cochrane Library la primera de las 4 revisiones sistemáticas existentes en relación a la utilidad del extracto de arándano americano para la prevención de la infección urinaria. En 2012 vuelven a publicar una revisión de la literatura existente hasta el momento, en la Cochrane Library en la cual se concluye que el arándano americano hasta el momento se ha mostrado seguro en la población pediátrica, sin mostrar efectos adversos relevantes.

En 2005 Kontiokari y cols.<sup>96</sup>, llevan a cabo otro ensayo clínico aleatorizado en el que se reclutan 341 niños, con edad media 4,3 años, procedentes de colegios finlandeses a los cuales se administró zumo de arándano americano frente a un placebo para intentar evaluar la seguridad del zumo de arándano americano y la posible afectación de la flora nasofaríngea, digestiva-fecal y la aceptabilidad del producto. Este ensayo clínico confirma que el zumo de arándano americano no altera la flora

nasofaríngea ni digestiva-fecal, que es bien tolerado por la población pediátrica y que no produce efectos adversos. Observaciones que van en la línea de nuestras observaciones.

Si es importante destacar que en ninguno de los anteriores estudios se notifican efectos secundarios de importancia pero sí el rechazo de algunos niños por su sabor, por lo que la industria se ha visto obligada a fabricar preparados en formato jarabe, comprimidos y cápsulas, que haría más fácil su administración. En nuestro estudio se emplea el formato jarabe para intentar eliminar el rechazo por sabor de algunos niños. En ninguno de los estudios tampoco se han valorado los costes que se exponen en la memoria económica que se desarrolla en el apartado de Material y Método.

Fanos y cols.<sup>97</sup>, demuestran buenos resultados en 20 niños (entre 18 meses y 14 años de edad) tratados con una cápsula de extracto por la noche, con plena tolerancia y sin efectos adversos. No obstante se trata de un estudio realizado con un tamaño muestral pequeño. Un trabajo posterior insiste en la seguridad y preconiza estos preparados con garantías en la población pediátrica<sup>75</sup>.

Dos estudios han evaluado la eficacia del jarabe de arándano americano en niños con vejiga neurogénica, controlada a través de un catéter estéril intermitente. El primero de estos estudios, realizado por Foda y cols.<sup>58</sup> tenía un diseño transversal simple, incluía a 40 niños, a los que se administró un cocktail de zumo de arándano americano a dosis de 15 mg/kg/día repartido en 4 dosis durante 6 meses y posteriormente 6 meses con agua, sin periodo de lavado entre ambas intervenciones. El segundo estudio realizado por Schlager y cols.<sup>59</sup> fue un ensayo aleatorizado y controlado con placebo donde se incluyeron 15 niños a los que se administró un concentrado de arándano americano equivalente a 300 ml de zumo de arándano americano, durante 3 meses y posteriormente 3 meses con placebo con una duración total de 6 meses y sin periodo de lavado entre ambas intervenciones. Ambos estudios concluyeron que el jarabe de arándano americano no es más eficaz que un placebo para controlar infecciones urinarias en los pacientes con vejiga neurogénica. Sin embargo, en ambos estudios no se ha podido caracterizar el contenido de polifenoles de los jarabes.

En nuestro ensayo clínico ha llamado la atención tras romper el ciego para analizar los resultados, que 75 pacientes recibieron profilaxis con arándano americano y 117 con trimetoprima. Este tamaño diferente en los brazos de tratamiento puede explicarse por un desafortunado problema con la aleatorización de los pacientes, debido a la alteración del orden de un montón de carpetas de aleatorización en las consultas médicas. En nuestro estudio detectamos un error en la asignación ordenada de las carpetas que se correspondían con cada número de asignación, previamente aleatorizado a cada intervención, de forma que algunas carpetas quedaron sin asignar en el orden que les correspondía. Entendemos que estos errores, que se produjeron al final del estudio, suponen un sesgo en la aleatorización, aunque no una pérdida del enmascaramiento, dado que los investigadores no sabían a qué intervención correspondía cada carpeta.

## **10.5. Arandano americano como alternativa a la profilaxis antibiótica**

La profilaxis de las infecciones del tracto urinario se ha asociado según la opinión de algunos autores<sup>98</sup>, con mayor resistencia bacteriana a los antibióticos.

Cheng C.H y cols.<sup>98</sup> publican en 2008 en *Pediatrics*, un artículo cuyo objetivo era examinar la resistencia bacteriana a los antimicrobianos de los niños con infección urinaria recurrente que recibieron profilaxis con antibióticos debido a la presencia de reflujo vesicoureteral primario. Se recogieron retrospectivamente los datos de los niños con reflujo vesicoureteral documentado en 2 hospitales durante un período de seguimiento de 5 años. Los pacientes pudieron recibir cotrimoxazol, cefalexina, cefaclor o profilaxis con una secuencia de diferentes antibióticos (monoterapia alternativa). Se obtuvieron los datos demográficos, grado del reflujo vesicoureteral, antibióticos profilácticos prescritos, y la sensibilidad a los antibióticos que se determinaron en los resultados de las primeras infecciones de las vías urinarias e infecciones urinarias intercurrentes que se registraron. Como resultados obtuvieron 324 pacientes que fueron sometidos a profilaxis con antibióticos (109 con cotrimoxazol, 100 con cefalexina, 44 con cefaclor y 71 con monoterapia alternativa). Se produjeron infecciones urinarias intercurrentes en pacientes de ambos hospitales (20.4% y 25%, respectivamente). La infección por *E. coli* fue significativamente menos frecuente en los niños que recibieron profilaxis con antibióticos, en comparación con sus episodios iniciales de la infección del tracto urinario. En este estudio los autores concluyeron que los niños que recibieron profilaxis con cefalosporina son más propensos a ampliar el espectro de bacterias productoras de lactamasa o uropatógenos multirresistentes distintos de *E. coli* en las infecciones intercurrentes del tracto urinario; Por lo tanto, estos antibióticos no son apropiados para el uso profiláctico en pacientes con reflujo vesicoureteral. El cotrimoxazol sigue siendo el agente profiláctico preferido para el reflujo vesicoureteral.

En nuestro estudio, no observamos un incremento significativo de las resistencias bacterianas a los antibióticos entre los dos brazos del estudio. Nuestros resultados muestran la no-inferioridad del jarabe de arándano americano frente a trimetoprima en la profilaxis de las infecciones recurrentes del tracto urinario. Además, el jarabe de arándano americano como tratamiento es seguro en la población pediátrica y puede constituir una alternativa válida, especialmente en vista de la creciente resistencia a los antibióticos.

## **11. CONCLUSIONES**





## CONCLUSIONES

---

1. Sobre la base de nuestros resultados y considerando el progresivo incremento de las resistencias bacterianas a antibióticos, además de la cada vez mas cuestionada indicación de la profilaxis antibiótica en la infección urinaria recurrente y el reflujo vesicoureteral, podemos afirmar:
  - a. Que la profilaxis con extracto de arándano americano es segura en la población infantil, inclusive por debajo de los 12 meses de edad, no evidenciándose acontecimientos adversos graves y apreciándose tasas de acontecimientos adversos solicitados similares a las del tratamiento antibiótico.
  - b. Que la profilaxis con extracto de arándano americano en la presentación galénica que hemos utilizado en el presente ensayo es bien tolerada en la población infantil, presentando un porcentaje de abandonos similar al tratamiento antibiótico.
2. Dada la gran variabilidad en la composición de los diferentes extractos de arándano americano comercializados así como en sus métodos de medida, y a fin de aumentar la comparabilidad entre estudios parece recomendable incluir en las especificaciones de cada producto una caracterización de todas las moléculas polifenólicas, especificando el método de medida.
3. Puesto que diversas Guías de práctica clínica recomiendan la profilaxis antibiótica en el reflujo vesicoureteral de alto grado, con la reserva derivada del pequeño tamaño muestral que para esta patología aporta nuestro estudio, podemos concluir que:
  - a. Que en los pacientes pediátricos con reflujo vesicoureteral el extracto de arándano americano no es inferior en eficacia a la profilaxis con trimetoprima.
  - b. Que la prevalencia de reinfecciones por *E. coli* en esta patología es discretamente inferior a la observada tras profilaxis con trimetoprima.
4. De modo general e independientemente de que concurren o no alteraciones anatómicas o nefrourológicas, la profilaxis con arándano americano en la

infección urinaria recurrente infantil a demostrado no ser inferior a trimetoprima.

5. Por último, tras contrastar nuestros propios resultados con los publicados en la literatura, podemos afirmar que el extracto de arándano americano a las dosis que proponemos es una alternativa útil a la profilaxis antibiótica en pacientes pediátricos con recurrencia de la infección urinaria.

## **12. ABREVIATURAS**



---

**ABREVIATURAS**

---

- AA: acontecimiento adverso
- AAG: acontecimiento adverso grave
- AEMYPS, AEMPS: agencia española de medicamento y productos sanitarios
- AEP: Asociación Española de Pediatría
- AMM: Asamblea Médica Mundial
- ATB: antibiótico
- BA: Bacteriuria asintomática
- BAR: proporción de brix con respecto a la acidez valorable
- Brix: medida de concentración de zumo
- CE: comunidad europea
- CEIC: comité ético de investigación clínica
- CENTRAL: Cochrane Central Register of Controlled Trials
- CI: Consentimiento informado
- CID: Cistografía Isotópica Directa
- CID: item comercial de descripción.
- CIHR: Canadian Institutes of Health Research
- CII: Cistografía Isotópica Indirecta
- CIOMS: Council for international organizations of medical sciences
- COX: ciclooxigenasa
- CRD: cuaderno de recogida de datos
- Cu<sup>2+</sup>: cobre
- CUMS: cistourografía miccional seriada
- CYP: citocromo
- CZA: cóctel de zumo de arándano
- DAD: detección por red de diodos
- DI50: Dosis infectiva 50
- DITC50: Dosis capaz de producir alteraciones citopáticas al 50% cultivos celulares
- DL: Dosis letal
- DL50: Dosis letal 50

DMAC: 4- dimetilamino-cinamaldehído.  
DMSA: ácido dimercaptosuccínico  
EC: Ecocistografía  
ECA: ensayos clínicos aleatorizados  
EDTA: European Dyalysis and Transplant Association  
EE: error estándar  
ESI: electrospray  
ESI-TOF-MS: espectrometría de masas con analizador de tiempo de vuelo con interfaz de ionización en electrospray  
FRR: Función renal diferencial o relativa  
FRRN: Función renal diferencial normalizada  
GC: grupo control.  
GI: grupo de intervención  
GPC: guía de práctica clínica  
Gr: gramos  
HDL: High density lipoprotein , lipoproteína de alta densidad  
HF: hipercolesterolemia familiar  
HLPC: cromatografía líquida del alta resolución.  
HTA: hipertensión arterial  
IC o CI: intervalo de confianza  
ICMJE: Comité internacional de directores de revistas médicas  
ICTRP: plataforma internacional de registro de ensayos clínicos  
IFPMA: Federación Internacional de la Industria del Medicamento  
Ig: inmunoglobulina  
IMC: índice masa corporal  
INR: international normalized ratio  
IRC: insuficiencia renal crónica  
IU; ITU: infección tracto urinario  
LDL: Low density lipoprotein, lipoproteína de baja densidad  
LOD: Límite de detección  
LOQ: Límite de cuantificación  
LR: Razón de verosimilitud  
M: mediana  
MA: metaanálisis

MALDI-TOF: espectrometría de masas con analizador de tiempo de vuelo e ionización por desorción mediante láser asistida por matriz.

ME: membrana externa

Mg: miligramos

ml: mililitros

MR: manosa resistente

MRC: consejo de investigación médica

MS: manosa sensible

MSI: espectrometría de masas

MS-MS: espectómetros de masas en tándem

NHS: Sistema nacional de salud

NICE: National Institute for Health and Care Excellence

NR: lesión renal segmentaria no displásica con fibrosis y atrofia

OMS: Organización Mundial de la Salud

OPC: Proantocianidinas oligoméricas.

OR: Razón de ventaja

PAC: proantocianidinas

PCR: Proteína C reactiva

PNA: Pielonefritis aguda

Ppm: partes por millón

PTFE: politetrafluoroetileno

R: rango

RAGI: reacciones adversas graves inesperadas

RAR: reducción absoluta del riesgo

RPSP/PAJPH: Revista panamericana de salud pública.

RR: Riesgo relativo

RSD: Desviación estándar relativa

RVU: reflujo vesicoureteral

S: desviación estándar

S<sup>2</sup>: varianza

SE: desviación estándar

SNS: Sistema Nacional de Salud

TMP-SMX: trimetoprim-sulfametoxazol

UFC: unidades formadoras de colonias

USDA: U.S. Department of Agriculture.

VFG: velocidad de filtrado glomerular

VI/min: vuelo/minuto

VSG: velocidad sedimentación globular

$\bar{X}$ : media aritmética



## **12. REFERENCIAS**



---

**REFERENCIAS**

---

- (1) Carlos Rodrigo Gonzalo-de-Liria, María Méndez Hernández, Marta Azuara Robles. Infección Urinaria. En: Protocolos Diagnóstico Terapéuticos de Infectología de la Asociación Española de Pediatría. Editorial Ergon 3ª Ed. Barcelona: 2011. En: <http://www.aeped.es/documentos/protocolos-infectologia>
- (2) Hernandez Marco r, Daza A, Marín Serra J. Infeccion urinaria en el niño (1 mes-14 años). En: Protocolos Diagnóstico Terapéuticos de Nefrología de la Asociación Española de Pediatría. <http://www.aeped.es/documentos/protocolos-nefrologia>, 2008 (2ª edición). Asociación española de Pediatría. En: <http://www.aeped.es/documentos/protocolos-nefrologia>
- (3) Orejón de Luna G, Ochoa Sangrador C. Los lactantes con fiebre y los niños con síntomas urinarios tienen una prevalencia de infección urinaria cercana al 7 %. <http://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=2769183> [serial online] 2009;4.
- (4) Fenández Puentes V, Hidalgo Calero A, Uberos Fernández J. Extracto de Arándano Americano en la Prevención de las infecciones urinarias pediátricas. Boletín SPAO 2009 3 (2): 52-57.
- (5) Pecile P, Miorin E, Romanello C, Vidal E. Age-Related Renal Parenchymal Lesions in Children With First Febrile Urinary Tract Infections. Pediatrics 2009;124(1): e922-e928.
- (6) Doganis D, Siafas K, Mavrikou M, Issaris G, Martirosova A, Perperidis G. Does early treatment of Urinary Tract Infection Prevent Renal Damage? Pediatrics 2007;120(4): e922-e928.
- (7) Garin EH, Campos A, Homsy Y. Primary vesicoureteral reflux: review of current concepts. Pediatr Nephrol 1998; 12(3):56-249..
- (8) Le Saux N , ham B, Moher D. Evaluating the benefits of antimicrobial prophylaxis to prevent urinary tract infections in children: A systematic review. CMAJ 2000; 163, 9-523..
- (9) Espino Hernandez M, Loris Pablo C. Reflujo vesicoureteral primario. 2008. Asociación Española de Pediatría. En: Protocolos Diagnóstico Terapéuticos de Nefrología de la Asociación Española de Pediatría. <http://www.aeped.es/documentos/protocolos-nefrologia>, 2008 (2ª edición). Asociación española de Pediatría. En: <http://www.aeped.es/documentos/protocolos-nefrologia>

- (10) Sargent MA. What is the normal prevalence of vesicoureteral reflux? *Pediatr Radiol* 2000; 30(9): 93-587.
- (11) Ochoa Sangrador C, Formigo Rodriguez.E, Grupo Investigador del Proyecto. Pruebas diagnósticas de imagen recomendadas en la infección urinaria. *An.Pediatr.(Barc.)* 2007; 67:498-516.
- (12) Woolf AS. A molecular and genetic view of human renal and urinary tract malformations. *kidney Int* 2000; 58(2):12-500.
- (13) Melhem RE, Harpen MD. Ethnic factors in the variability of primary vesicoureteral reflux with age. *Pediatr Radiol* 1997; 27(9):1-750.
- (14) Carlos José Miguélez Lago, Flavia Salcedo Fernández, Juan Ignacio Martín Sanchez, Montserrat Salas Valero, Eukene Ansuategui Zengotitabengoa, Juan Ramón García Mata. Guía Práctica Clínica, Manejo del Paciente con Reflujo Vesicoureteral Primario o Esencial. Instituto Aragonés de Ciencias de la Salud, editor. diciembre 2008, 39-41.
- (15) Ochoa SC. [Methodology of the consensus conference "diagnostic and therapeutic management of urinary tract infection in childhood"]. *An Pediatr (Barc)* 2007;67:435-441.
- (16) Agustín Pumarola. Microbiología y Parasitología Médica, Relación huésped-bacteria, capítulo 14: Poder patógeno y virulencia. Factores determinantes de la acción patógena, colonización. En: *Bacteriología general*. MASSON SA, editor. 1999, Págs.161-170.
- (17) J.Benito Fernández, J.Sánchez Echániz, S.Mintegui Raso, M.Montejo Fernández. Infección Urinaria en el lactante : Comprobación por punción suprapúbica del rendimiento del cultivo de orina obtenido por bolsa perineal. *An.Esp.Pediatr.* 1996;45 (2), 149-152.
- (18) Ochoa SC, Malaga GS. [Recommendations of the consensus conference "diagnostic and therapeutic management of urinary tract infection in childhood"]. *An Pediatr (Barc)* 2007;67:517-525.
- (19) Juan Luis Santos Pérez, Francisco Javier Garrido Torrecillas. Evidencia de las pruebas complementarias de uso frecuente. *AEPap.* 2009; .29-305.
- (20) Areses Trapote R, Escribano Subía J, Fraga Rodriguez GM. Guía Práctica Clínica sobre el manejo de pacientes con Reflujo Vesicoureteral Primario o esencial. *Sociedad Española de Nefrología Pediátrica, Sistema Nacional de Salud* [serial online] 2009.
- (21) Aristegui Fernandez J, Rodrigo Gonzalo de Liria C. Infeccion urinaria. 2009. *Asociacion Española de Pediatria.*

- (22) NICE: Commissioned by the National Institute for Health and Clinical Excellence, National Collaborating Centre for Women's and Children's Health. Urinary tract infection in children, diagnosis, treatment and long-term management. Andrew Welsh, editor. First edition, 2007.
- (23) Ochoa SC, Brezmes RM. [Recommended antibiotic therapy in episodes of urinary tract infection]. *An Pediatr (Barc)* 2007;67:485-497.
- (24) Conway PH, Cnaan A, Zaoutis T, Henry BV, Grundmeier RW, Keren R. Recurrent urinary tract infections in children: risk factors and association with prophylactic antimicrobials. *JAMA* 2007;298:179-186.
- (25) Di Martino P, Agniel R, David K y cols. Reduction of Escherichia coli adherence to uroepithelial bladder cells after consumption of arándano americano juice: a double-blind randomized placebo-controlled cross-over trial. *World J Urol* 2006;24:21-27.
- (26) Foo LY, Lu Y, Howell AB, Vorsa N. A-Type proanthocyanidin trimers from arándano americano that inhibit adherence of uropathogenic P-fimbriated Escherichia coli. *J Nat Prod* 2000;63:1225-1228.
- (27) Foo LY, Lu Y, Howell AB, Vorsa N. The structure of arándano americano proanthocyanidins which inhibit adherence of uropathogenic P-fimbriated Escherichia coli in vitro. *Phytochemistry* 2000;54:173-181.
- (28) Howell AB, Reed JD, Krueger CG, Winterbottom R, Cunningham DG, Leahy M. A-type arándano americano proanthocyanidins and uropathogenic bacterial anti-adhesion activity. *Phytochemistry* 2005;66:2281-2291.
- (29) Perez MC, Ochoa SC. [Indications for antibiotic prophylaxis in urinary tract infections]. *An Pediatr (Barc)* 2007;67:478-484.
- (30) Williams GJ, Lee A, Craig JC. Uso prolongado de antibióticos para la prevención de infecciones urinarias recurrentes en niños. *Cochrane.Database.Syst.Rev.* 2006;3. La biblioteca Cochrane Plus.
- (31) Granados EA. ¿Qué tratamiento deben recibir los niños con infecciones de orina recurrentes, sin anomalías anatómicas? *ArchEsp Urol.*1998; 51, 7-354. 1998.
- (32) Williams GJ, Lee A, Craig JC. Long-term antibiotics for preventing recurrent urinary tract infection in children. *Cochrane Database Syst Rev* 2001;CD001534.
- (33) Wheeler DM, Vimalachandra D, Hodson EM, Roy LP, Smith GH, Craig JC. Interventions for primary vesicoureteric reflux. *Cochrane.Database.Syst.Rev.* 2004.
- (34) David G.Cunningham, Sarah A.Vannozzi, Richard Turk, Robin Roderic, Elisabeth O'Shea, Kate Brilliant. Constituyentes fitoquímicos del arándano

- americano ( *Vaccinium Macrocarpon*) y sus beneficios para la salud. *Revista Fitoterapia* 2005 5(1): 5-16.
- (35) Massey L, Roman Smith H, Surton Ral. Ácido oxálico en concentrado de arándano, relación con cálculos renales. *J Am Diet Assoc* 1993;93: 901-906.
- (36) Blatherwick NR, Long ML. Arándano rojo americano en la prevención de la Infección Urinaria. *J Biol Chem* 1923;57: 815-818..
- (37) Ofek I, Goldhar J, Zafiri D, Lis H, Adar R, Sharon N. Arándano rojo americano y antiadherencia bacteriana. *N Engl J Med* 1991;394: 1599.
- (38) Singleton Y, Rossi JA. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *Am J Enol Vitic* 1965;16:144-158.
- (39) Julkunen-Tiitto R, Sorsa S. Testing the effects of drying methods on willow flavonoids, tannins, and salicylates. *J Chem Ecol* 2001;27:779-789.
- (40) Fuleki T, Francis FJ. A new developing solvent for paper chromatography of various phenolic compounds, sugars and amino acids. *J Chromatogr* 1967;26:404-411.
- (41) Wald ER. Vesicoureteral reflux: the role of antibiotic prophylaxis. *Pediatrics* 2006;117:919-922.
- (42) Garin EH, Olavarria F, Garcia N, V, Valenciano B, Campos A, Young L. Clinical significance of primary vesicoureteral reflux and urinary antibiotic prophylaxis after acute pyelonephritis: a multicenter, randomized, controlled study. *Pediatrics* 2006;117:626-632.
- (43) Savage DC, Howie G, Adler K, Wilson MI. Controlled trial of therapy in covert bacteriuria of childhood. *Lancet* 1975;1:358-361.
- (44) Tonks A. A clinical trials register for Europe. *BMJ* 2002;325:1314-1315.
- (45) Ferrara P, Romaniello L, Vitelli O, Gatto A, Serva M, Cataldi L. Arándano americano juice for the prevention of recurrent urinary tract infections: A randomized controlled trial in children. *Scand J Urol Nephrol* 2009;1-5. 911076305 [pii];10.1080/00365590902936698 [doi]
- (46) Afshar K, Stothers L, Scott H, MacNeily AE. Arándano americano Juice for the Prevention of Pediatric Urinary Tract Infection: A Randomized Controlled Trial. *J Urol* 2012. S0022-5347(12)00386-2 [pii];10.1016/j.juro.2012.02.031 [doi]
- (47) Uberos J, Rodríguez-Belmonte R, Fernández-Puentes V, Narbona-López E, Molina-Carballo A, Muñoz-Hoyos A. Arándano americano syrup vs. Trimethoprim in the prophylaxis of recurrent urinary infection: a double-blind randomized clinical trial. [abstract]Uberos J, Rodríguez-Belmonte R, Fernández-Puentes V, Narbona-López E, Molina-Carballo A, Muñoz-Hoyos A. *Acta Paediatrica* 2011;99:48

- (48) Iswaldi I, Gómez-Caravaca AM, Arraez-Roman D y cols. Characterization by high-performance liquid chromatography with diode-array detection coupled to time-of-flight mass spectrometry of the phenolic fraction in a arándano americano syrup used to prevent urinary tract diseases, together with a study of its antibacterial activity. *J Pharm Biomed Anal* 2012;58:34-41.
- (49) Cote J, Caillet S, Doyon G, Sylvain JF, Lacroix M. Analyzing arándano americano bioactive compounds. *Crit Rev Food Sci Nutr* 2010;50:872-888.
- (50) Olsen H, Aaby K, Borge GI. Characterization, Quantification, and Yearly Variation of the Naturally Occurring Polyphenols in a Common Red Variety of Curly Kale ( *Brassica oleracea* L. convar. *acephala* var. *sabellica* cv. 'Redbor'). *J Agric Food Chem* 2010;58:11346-11354.
- (51) Kontiokari T, Sundqvist K, Nuutinen M, Pokka T, Koskela M, Uhari M. Randomised trial of arándano americano-lingonberry juice and Lactobacillus GG drink for the prevention of urinary tract infections in women. *BMJ* 2001;322:1571.
- (52) Ferrara P, Romaniello L, Vitelli O, Gatto A, Serva M, Cataldi L. Arándano americano juice for the prevention of recurrent urinary tract infections: a randomized controlled trial in children. *Scand J Urol Nephrol* 2009;43:369-372.
- (53) Sobota AE. Inhibition of bacterial adherence by arándano americano juice: potential use for the treatment of urinary tract infections. *J Urol* 1984;131:1013-1016.
- (54) Zafriri D, Ofek I, Adar R, Pocino M, Sharon N. Inhibitory activity of arándano americano juice on adherence of type 1 and type P fimbriated *Escherichia coli* to eucaryotic cells. *Antimicrob Agents Chemother* 1989;33:92-98.
- (55) Salminen A, Loimaranta V, Joosten JA y cols. Inhibition of P-fimbriated *Escherichia coli* adhesion by multivalent galabiose derivatives studied by a live-bacteria application of surface plasmon resonance. *J Antimicrob Chemother* 2007;60:495-501.
- (56) Latti AK, Kainulainen PS, Hayirlioglu-Ayaz S, Ayaz FA, Riihinen KR. Characterization of anthocyanins in caucasian blueberries (*Vaccinium arctostaphylos* L.) native to Turkey. *J Agric Food Chem* 2009;57:5244-5249.
- (57) Howell AB, Botto H, Combescure C y cols. Dosage effect on uropathogenic *Escherichia coli* anti-adhesion activity in urine following consumption of arándano americano powder standardized for proanthocyanidin content: a multicentric randomized double blind study. *BMC Infect Dis* 2010;10:94.
- (58) Foda MM, Middlebrook PF, Gatfield CT, Potvin G, Wells G, Schillinger JF. Efficacy of arándano americano in prevention of urinary tract infection in a susceptible pediatric population. *Can J Urol* 1995;2:98-102.
- (59) Schlager TA, Anderson S, Trudell J, Hendley JO. Effect of arándano americano juice on bacteriuria in children with neurogenic bladder receiving intermittent catheterization. *J Pediatr* 1999;135:698-702.

- (60) McMurdo ME, Argo I, Phillips G, Daly F, Davey P. Arándano americano or trimethoprim for the prevention of recurrent urinary tract infections? A randomized controlled trial in older women. *J Antimicrob Chemother* 2009;63:389-395.
- (61) Jepson RG, Williams G, Craig JC. Cranberries for preventing urinary tract infections. *Cochrane Database Syst Rev* 2012;10:CD001321.
- (62) Blatherwick N, Long M. Studies on urinary acidity. II. The increased acidity produced by eating prunes and cranberries. *J Biol Chem* 1923;57:815-818.
- (63) Howell AB. Bioactive compounds in cranberries and their role in prevention of urinary tract infections. *Mol Nutr Food Res* 2007;51:732-737.
- (64) Bodel PT, Cotran R, Kass EH. Arándano americano juice and the antibacterial action of hippuric acid. *J Lab Clin Med* 1959;54:881-888.
- (65) Zafiri D, Ofek I, Adar R, Pocino M, Sharon N. Inhibitory activity of arándano americano juice on adherence of type 1 and type P fimbriated *Escherichia coli* to eucaryotic cells. *Antimicrob Agents Chemother* 1989;33:92-98.
- (66) Foo LY, Lu Y, Howell AB, Vorsa N. The structure of arándano americano proanthocyanidins which inhibit adherence of uropathogenic P-fimbriated *Escherichia coli* in vitro. *Phytochemistry* 2000;54:173-181.
- (67) Sellwood R, Gibbons RA, Jones GW, Rutter JM. Adhesion of enteropathogenic *Escherichia coli* to pig intestinal brush borders: the existence of two pig phenotypes. *J Med Microbiol* 1975;8:405-411.
- (68) Laplante KL, Sarkisian SA, Woodmansee S, Rowley DC, Seeram NP. Effects of arándano americano extracts on growth and biofilm production of *Escherichia coli* and *Staphylococcus* species. *Phytother Res* 2012;26:1371-1374.
- (69) Iswaldi I, Gomez-Caravaca AM, Arraez-Roman D y cols. Characterization by high-performance liquid chromatography with diode-array detection coupled to time-of-flight mass spectrometry of the phenolic fraction in a arándano americano syrup used to prevent urinary tract diseases, together with a study of its antibacterial activity. *J Pharm Biomed Anal* 2012;58:34-41.
- (70) Guay DR. Arándano americano and urinary tract infections. *Drugs* 2009;69:775-807.
- (71) Bahadoran Z, Mirmiran P, Azizi F. Dietary polyphenols as potential nutraceuticals in management of diabetes: a review. *J Diabetes Metab Disord* 2013;12:43.
- (72) Larrosa M, Luceri C, Vivoli E y cols. Polyphenol metabolites from colonic microbiota exert anti-inflammatory activity on different inflammation models. *Mol Nutr Food Res* 2009;53:1044-1054.
- (73) Walle T. Absorption and metabolism of flavonoids. *Free Radical Biology and Medicine* 2004;36:829-837.



- (74) Gupta K, Chou MY, Howell A, Wobbe C, Grady R, Stapleton AE. Arándano americano products inhibit adherence of p-fimbriated *Escherichia coli* to primary cultured bladder and vaginal epithelial cells. *J Urol* 2007;177:2357-2360.
- (75) Super EA, Kemper KJ, Woods C, Nagaraj S. Arándano americano use among pediatric nephrology patients. *Ambul Pediatr* 2005;5:249-252.
- (76) Goldman RD. Arándano americano juice for urinary tract infection in children. *Can Fam Physician* 2012;58:398-401.
- (77) Terris MK, Issa MM, Tacker JR. Dietary supplementation with arándano americano concentrate tablets may increase the risk of nephrolithiasis. *Urology* 2001;57:26-29.
- (78) McHarg T, Rodgers A, Charlton K. Influence of arándano americano juice on the urinary risk factors for calcium oxalate kidney stone formation. *BJU Int* 2003;92:765-768.
- (79) Kessler T, Jansen B, Hesse A. Effect of blackcurrant-, arándano americano- and plum juice consumption on risk factors associated with kidney stone formation. *Eur J Clin Nutr* 2002;56:1020-1023.
- (80) McHarg T, Rodgers A, Charlton K. Influence of arándano americano juice on the urinary risk factors for calcium oxalate kidney stone formation. *BJU Int* 2003;92:765-768.
- (81) Gettman MT, Ogan K, Brinkley LJ, Adams-Huet B, Pak CY, Pearle MS. Effect of arándano americano juice consumption on urinary stone risk factors. *J Urol* 2005;174:590-594.
- (82) Srinivas NR. Arándano americano juice ingestion and clinical drug-drug interaction potentials; review of case studies and perspectives. *J Pharm Pharm Sci* 2013;16:289-303.
- (83) Ngo N, Brantley SJ, Carrizosa DR y cols. The warfarin-arándano americano juice interaction revisited: A systematic in vitro-in vivo evaluation. *J Exp Pharmacol* 2010;2010:83-91.
- (84) Lilja JJ, Backman JT, Neuvonen PJ. Effects of daily ingestion of arándano americano juice on the pharmacokinetics of warfarin, tizanidine, and midazolam--probes of CYP2C9, CYP1A2, and CYP3A4. *Clin Pharmacol Ther* 2007;81:833-839.
- (85) Iswaldi I, Arraez-Roman D, Gomez-Caravaca AM y cols. Identification of polyphenols and their metabolites in human urine after arándano americano-syrup consumption. *Food Chem Toxicol* 2013;55:484-492.
- (86) Areses Trapote R, Castillo Laita JA, Escribano Subía J, Fraga Rodriguez GM. Guía de Práctica Clínica sobre Infección del Tracto Urinario en la Población Pediátrica (SNS). GPC, Sistema Nacional de Salud. 2011.

- (87) Dai B, Liu Y, Jia J, Mei C. Long-term antibiotics for the prevention of recurrent urinary tract infection in children: a systematic review and meta-analysis. *Arch Dis Child* 2010;95:499-508.
- (88) González Rodríguez MP. Antibióticos a largo plazo para la prevención de las recurrencias de las infecciones urinarias en niños: revisión sistemática y metaanálisis. *Evid Pediatr.* 2012;8:45[1885-7388]. 2012.
- (89) Braga LH, Bagli DJ, Lorenzo AJ. Placebo-controlled trials in pediatric urology: a cautionary view from an ethical perspective. *J Pediatr Urol* 2010;6:435-442.
- (90) Beerepoot MA, Ter RG, Nys S y cols. Cranberries vs Antibiotics to Prevent Urinary Tract Infections: A Randomized Double-blind Noninferiority Trial in Premenopausal Women. *Arch Intern Med* 2011;171:1270-1278.
- (91) Craig JC, Simpson JM, Williams GJ y cols. Antibiotic prophylaxis and recurrent urinary tract infection in children. *N Engl J Med* 2009;361:1748-1759.
- (92) Nguyen HT, Hurwitz RS, Defoor WR y cols. Trimethoprim in vitro antibacterial activity is not increased by adding sulfamethoxazole for pediatric *Escherichia coli* urinary tract infection. *J Urol* 2010;184:305-310.
- (93) Salo J, Uhari M, Helminen M y cols. Arándano americano juice for the prevention of recurrences of urinary tract infections in children: a randomized placebo-controlled trial. *Clin Infect Dis* 2012;54:340-346.
- (94) Nishizaki N, Someya T, Hirano D y cols. Can arándano americano juice be a substitute for cefaclor prophylaxis in children with vesicoureteral reflux? *Pediatr Int* 2009;51:433-434.
- (95) Barredo JMG. Tratamiento de las infecciones urinarias en pediatría con extracto de arándano rojo americano. *Acta Pediátrica Española* Vol. 2011;69[3]: 117-120.
- (96) Kontiokari T, Salo J, Eerola E, Uhari M. Arándano americano juice and bacterial colonization in children--a placebo-controlled randomized trial. *Clin Nutr* 2005;24:1065-1072.
- (97) Fanos V, Atzei A, Zaffanello M, Piras A, Cataldi L. Arándano americano and prevention of urinary tract infections in children. *J Chemother* 2006;18 Spec nº 3:21-24.
- (98) Cheng CH, Tsai MH, Huang YC y cols. Antibiotic resistance patterns of community-acquired urinary tract infections in children with vesicoureteral reflux receiving prophylactic antibiotic therapy. *Pediatrics* 2008;122:1212-1217.