

Aspectos clínicos y microbiológicos en pacientes diabéticos con infecciones en miembros inferiores

Clinical and Microbiological Aspects in Diabetic Patients with Infections in Inferior Limbs

**Valero Leal, Kutchynskaya¹;
Valero Leal, Kattyuska² y Ávila, Iris³**

¹Cátedra de Bacteriología Clínica, Escuela Bioanálisis, Facultad Medicina, La Universidad del Zulia. ²Residente de Medicina Interna, Hospital General del Sur de Maracaibo, Edo. Zulia.
³Instituto Zuliano de Diabetes (INZUDIABETES), Hospital General del Sur de Maracaibo, Edo. Zulia.

Resumen

Entre Octubre de 2001 y Febrero de 2002, se estudiaron 45 pacientes diabéticos con infección en los miembros inferiores, para determinar los aspectos clínicos y microbiológicos presentes. Las características clínicas más relevantes fueron: el 86,67% eran diabéticos tipo 2. Los valores promedios para la edad, duración de la diabetes, niveles de glucosa sanguínea e índice de masa corporal fueron: 57 ± 12 años, 12,55 años, 274 mg/dl y 21,73 ± 4,24 kg/talla², respectivamente. La mayoría de las lesiones se presentaron en los dedos (45%), el 48% fueron úlceras profundas. Se aislaron 124 microorganismos; el 64% eran bacilos Gram negativos con predominio de *Pseudomonas aeruginosa* y *Klebsiella pneumoniae*, 31% fueron cocos Gram positivos, 4% bacilos Gram positivos (*Corynebacterium spp*), se aisló un solo coco Gram positivo anaerobio estricto (1%). El 84% de las muestras tuvieron aislamiento polimicrobiano.

Palabras clave: Pie diabético, características clínicas, características microbiológicas.

Abstract

Between October 2001 and February 2002, 45 diabetic patients with infections in inferior limbs were studied to determine their clinical and microbiological aspects. The most relevant clinical characteristics were: 86,67% suffered type 2 diabetes; the average age of the patients, years suffering

diabetes, blood glucose levels and corporal mass index were: 57 ± 12 years, 12,55 years, 274 mg/dl and $21,73 \pm 4,24$ kg/size², respectively. The majority of the infections lesions were in the toes (45%); 48% were deep ulceration; 124 microorganisms were isolated; 64% were Gram negative bacilli with a predominance of *Pseudomonas aeruginosa* and *Klebsiella pneumoniae*; 31% were Gram positive cocci; 4% were bacilos Gram positive bacillis (*Corynebacterium spp*); only one Gram positive cocci anaerobic strict (1%) was isolated; 84% of the samples had a polymicrobial isolate.

Key words: Diabetic foot, clinical characteristic, microbiological characteristics.

Introducción

En los pacientes diabéticos los traumatismos del miembro inferior, sobre todo en el pie son propensos a las infecciones y una vez establecidas se transforman rápidamente en graves y difíciles de tratar, debido a que se caracterizan por ser polimicrobianas y por el compromiso que existe en la función granulocítica y de la quimiotaxis en este tipo de pacientes (29). Las infecciones triviales se tornan en algunos casos en un reto para el medico tratante ya que por lo general existe compromiso sistémico y su tratamiento es complejo y por consiguiente lento en sus resultados (10).

Se ha estimado que aproximadamente el 10% de los pacientes diabéticos desarrollan úlceras en los pies en algún momento de su vida y que entre 20 y 25% de los ingresos hospitalarios obedecen a complicaciones en el miembro inferior (5). Además, más del 50% de los diabéticos amputados necesitan una amputación en el miembro contralateral dentro de los 4 años después de la pérdida de la primera pierna (1). Tales amputaciones implican una amenaza real para la vida del paciente porque el pronóstico de sobrevida se reduce a un 65% a los 3 años y a un 41% a los 5 años, luego de haber cercenado un miembro inferior (5).

La siguiente investigación se realizo con el fin de conocer cuales son los aspectos clínicos y microbiológicos en las infecciones de miembros inferiores en pacientes diabéticos

que acuden al Hospital General del Sur de Maracaibo.

Materiales y Métodos

Pacientes seleccionados

Durante el periodo comprendido entre Octubre de 2001 y Febrero de 2002, se estudiaron 45 pacientes diabéticos con lesiones en la piel y tejidos blandos en los miembros inferiores, con tratamiento antimicrobiano previo o no. Los pacientes seleccionados ameritaban atención médica en forma ambulatoria en la Consulta Medica Especializada de Pie Diabético del Instituto Zuliano de Diabetes (INZU-DIABETES) o estaban internados en el Servicio de Medicina Interna del Hospital General del Sur. El criterio de exclusión fue: pacientes diabéticos menores de 15 años. Los pacientes fueron entrevistados y evaluados clínicamente, para tal fin se diseño una encuesta clínica donde se registraron los siguientes datos: identificación del paciente, sexo, edad, tipo de diabetes, tipo de tratamiento utilizado para la diabetes, lesiones previas en los miembros inferiores, antecedentes personales sobre la evolución de la diabetes, amputación previa de un miembro, índice de masa corporal (IMC) y valores de glucosa sérica.

Muestra bacteriológica

La muestra fue tomada por hisopado del lecho quirúrgico obtenido después de la limpieza, debridamiento y resección de tejido

necrótico (curetaje). Las muestras así obtenidas fueron colocadas en medios de transporte de Cary & Blair para su posterior traslado al Laboratorio de la Cátedra de Bacteriología Clínica de la Escuela de Bioanálisis de La Universidad del Zulia donde fueron procesadas de inmediato.

Métodos microbiológicos

Todas las muestras se cultivaron en condiciones aerobias, microaerofílicas y anaerobias. Las muestras se inocularon en diversos medios microbiológicos para el aislamiento de microorganismos los medios utilizados fueron: Agar Mac Conkey, Agar Sangre, Agar Gelsosa Chocolate, Agar Sabouraud. Para la recuperación de los microorganismos anaerobios estrictos se utilizó el medio líquido de Caldo Tioglicolato y los medios sólidos de Agar Sangre con hemina y menadione y Agar Sangre con hemina, menadione y kanamicina.

La identificación bacteriana de las especies aisladas se realizó siguiendo los esquemas diagnósticos propuestos en Koneman (12) y Murray (19).

Análisis de los resultados

Se utilizaron medidas de tendencia central, tales como: frecuencia, promedio y desviación estándar. Los resultados se expresaron en número y porcentaje, los cuales se presentan en gráficos y tablas para cada caso.

Resultados

Evaluación clínica

Se estudiaron 45 pacientes diabéticos de ambos sexos 19 mujeres y 26 hombres. Con edades comprendidas entre 32 y 87 años (media 57,23 años). De estos pacientes, 28 (62%) eran ambulatorios y asistían a la consulta médica especializada de pie diabético en INZUDIABETES y 17 (38%) estaban ad-

mitidos en el Servicio de Medicina Interna del Hospital General del Sur de Maracaibo.

Las características clínicas de los pacientes estudiados se muestran en la Tabla 1. Al agrupar los pacientes en cinco categorías de acuerdo a la edad, el mayor número de casos (42,2%) se presentó en los pacientes entre los 52 a 61 años. Treinta y nueve pacientes (86,67%) tenían diabetes tipo 2, mientras que solo 6 tenían diabetes mellitus tipo 1 (13,33%). El promedio de duración de la diabetes en estos pacientes fue $12,55 \pm 10,07$ años (rango, 1-36 años).

En relación, al tipo de tratamiento utilizado para el control de la diabetes, prevaleció el uso de hipoglicemiantes orales (24/45; 53,33%). Los niveles sanguíneos de glucosa en el momento de la consulta o el ingreso hospitalario variaron entre 74 y 714 mg/dl, solo 2 pacientes (4,44%) presentaron valores normales (70 a 110 mg/dl), los mayores porcentajes (38%) estaban ubicados en valores de 111-200 y > 300 mg/dl.

El promedio del IMC $21,73 \pm 4,24$ kg/talla² clasificó a los pacientes en la categoría de peso normal. La mayoría de las lesiones estaban ubicadas en los dedos del pie principalmente en el dedo hallux (20/45, 45%). El tipo de lesión fue clasificado siguiendo la propuesta de Wagner (4) en los siguientes: úlceras profundas (19 pacientes, 48%, grado 2), lesiones gangrenosas (18 pacientes, 45%, grado 4) y abscesos con osteomielitis (3 pacientes, 7%, grado 3).

Evaluación microbiológica

Un total de 124 microorganismos (2,75 microorganismos por paciente) se aislaron de cultivos de miembros inferiores en 45 pacientes estudiados, de los cuales el 99% estuvo representado por bacterias anaerobias facultativas y el 1% restante a anaerobio estricto. Los grupos bacterianos predominan-

Tabla 1. Características descriptivas de 45 pacientes diabéticos con lesiones en miembros inferiores. Hospital General del Sur, Maracaibo-Venezuela.

Características	Casos
Sexo	
Femenino, N° (%)	19 (42)
Masculino, N° (%)	26 (58)
Edad media ± DS	
Agrupación por edades (años)	57,23 ± 12,29
32 - 41	5 (11,11)
42 - 51	7 (15,56)
52 - 61	19 (42,22)
62 - 71	7 (15,56)
> 72	7 (15,56)
Diabetes Mellitus	
Tipo 2, N° (%)	39 (87)
Tipo 1, N° (%)	6 (13)
Duración media de la diabetes en años (media ± DS).	
Rango	12,55 ± 10,07 1 - 36
Tipo de Tratamiento, N° (%)	
Hipoglicemiantes orales	24 (53)
Insulina	8 (18)
Sin tratamiento	6 (13)
Dieta	3 (7)
Dieta/hipoglicemiante oral	3 (7)
Dieta/insulina	1 (2)
Amputación previa, N° (%)	
	8 (18)
Tipo de lesión, N° (%)	
Traumática	19 (42)
No traumática	26 (58)
Niveles de glucosa sérica (mg/dl)	
Media ± DS	274,88 ± 144
Rango	74 - 714
Índice de masa corporal (kg/talla²), N° (%)	
Normal	20 (44)
Peso bajo	17 (38)
Obeso tipo 1	7 (16)
Obeso	1 (2)
Localización de la lesión, N° (%)	
Dedos	20 (45)
Antepié-mediopie	7 (16)
Plantar	6 (13)
Pierna	5 (11)
Talón	4 (9)
Antepié-plantar	2 (4)
Glúteo-muslo	1 (2)
Clasificación de la lesión según Wagner, N° (%)	
Wagner 2	19 (48)
Wagner 3	3 (7)
Wagner 4	18 (45)

tes fueron los bacilos Gram negativos (80/124, 64%), seguido en orden decreciente por los cocos Gram positivos (38/124, 31%), los bacilos Gram positivos (5/124, 4%) y 1 (1%) coco Gram positivo anaerobio estricto.

Los aislamientos más frecuentes fueron *Pseudomonas aeruginosa* y *Klebsiella pneumoniae*, los cuales se aislaron en 14 muestras (11,29%) respectivamente, seguido por *Proteus mirabilis* (9,67%) y *Escherichia coli* (8,06%), en el grupo de los cocos

Gram positivos anaerobios facultativos predominaron *Staphylococcus aureus* y *Enterococcus faecalis* con 9 aislamientos (7,25%), respectivamente (Tabla 2).

Los aislamientos polimicrobianos fueron observados en 38 pacientes (84%), en 7 pacientes (16%) se aisló un solo microorganismo (Figura 1). En las infecciones monomicrobianas no se observó diferencia entre el aislamiento de bacilos Gram negativos y cocos Gram positivos, (4 vs 3, respectivamente).

Tabla 2. Microorganismos aislados por orden de frecuencia en 45 pacientes diabéticos con infecciones en miembros inferiores.

Especies aisladas	Nº (%)
Bacilos Gram negativos facultativos (n=80; 64%)	
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	14(11,29)
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	14 (11,29)
<i>Proteus mirabilis</i>	12 (9,67)
<i>Escherichia coli</i>	10 (8,06)
<i>Morganella morganii</i>	7(5,64)
<i>Enterobacter cloacae</i>	5 (4,03)
<i>Acinetobacter baumannii</i>	3 (2,41)
<i>Proteus vulgaris</i>	3 (2,41)
<i>Alcaligenes xylosoxidans</i>	3 (2,41)
Otros (<i>A. junii</i> , <i>S. maltophilia 1</i> , <i>Ps. fluorescens</i> , <i>E. agglomerans</i> , <i>C. freundii</i> , <i>C. diversus</i> , <i>P. stuartii</i> , <i>E. aerogenes</i> , <i>A. caviae</i>)	9 (7,27)
Cocos Gram positivos facultativos (n=38; 31%)	
<i>Staphylococcus aureus</i>	9 (7,27)
<i>Enterococcus faecalis</i>	9 (7,27)
<i>Streptococcus agalactiae</i>	3 (2,41)
<i>Streptococcus Grupo D</i>	2 (1,61)
<i>Streptococcus no A no B no D</i>	2 (1,61)
<i>Streptococcus pyogenes</i>	1 (0,8)
Estafilococo coagulasa negativa	10 (8,06)
<i>Streptococcus grupo viridans</i>	2 (1,61)
Bacilos Gram positivos facultativos (n= 5; 4,03%)	
<i>Corynebacterium spp</i>	
Coco Gram positivo anaerobio (n= 1; 1%)	
Total	124 (100)

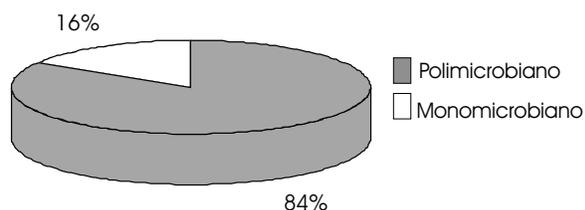


Figura 1. Frecuencia del tipo de aislamiento en infecciones de miembro inferiores en pacientes diabéticos.

Discusión

Los resultados obtenidos en relación al grupo etáreo prevalente en pacientes diabéticos con infección en miembros inferiores y el tipo de diabetes (tipo 2), coinciden con otros autores (3, 6, 13, 16, 17, 18, 20, 21, 25), quienes han reportado que el riesgo a la formación de úlceras y la amputación se incrementa con la edad. Los pacientes con Diabetes tipo 2 frecuentemente viven por muchos años sin el diagnóstico de la enfermedad debido a que en el estadio inicial no se presentan síntomas clásicos de diabetes, por lo tanto tales pacientes tienen un riesgo elevado de desarrollar complicaciones macrovasculares y microvasculares (30).

El tiempo de evolución de la Diabetes Mellitus por más de 10 años y el sexo masculino se han asociado significativamente con la presencia de úlceras en el pie (9, 13, 16, 18, 22, 24). Numerosos factores pueden jugar un papel en el efecto del sexo sobre la morbilidad en la extremidad inferior, estos incluyen nivel de actividad, conducta fumadora, diferencia hormonal, nivel de irrigación, prevalencia y severidad de la enfermedad vascular, neuropatía y Diabetes (13).

La variabilidad que se observó en los niveles sanguíneos de glucosa facilita el establecimiento de un proceso infeccioso y/o inflamatorio, debido a la habilidad disminuida

que tienen estos pacientes para combatir la infección (2).

Los resultados obtenidos en el índice de masa corporal (media $21,73 \pm 4,24$ kg/talla²) discrepan con los obtenidos por investigadores en otras latitudes (13, 14) quienes clasificaron a sus pacientes de acuerdo al IMC como obesos tipo 1. Reiber (23) trató de establecer la relación entre el IMC menor de 25 kg/talla² con déficit nutricional y deterioro en el proceso de cicatrización de úlceras y mayor riesgo de amputación, obteniendo resultados no significantes estadísticamente.

En referencia a la ubicación de las lesiones, nuestros resultados (45% en el primer dedo) no coinciden con otros autores (22, 24), quienes observaron que el mayor porcentaje de las lesiones se ubicaban en el antepié, talón y el dorso de los dedos. Las ulceraciones en la parte anterior del pie con frecuencia suceden sobre la cara plantar medial del primer dedo y estas son úlceras que se forman por presión al soportar peso al estar de pie y caminar (28).

Según la revisión de trabajos previos (9, 11, 15, 27, 31), las infecciones polimicrobianas fluctúan entre el 58 y 90% y coinciden con nuestros hallazgos (84%). La literatura señala que las infecciones que ponen en riesgo la extremidad se caracterizan por ser mixtas, estas infecciones son graves y afectan estructuras más profundas como hueso y articulaciones. Por su parte, los aislamientos monomicrobianos no representan riesgo para la extremidad, son superficiales, no afectan hueso ni articulaciones (4, 28).

Nuestros resultados concuerdan con otras publicaciones (3, 7, 8, 9, 20, 22, 31), en relación con el aislamiento de microorganismos aerobios, donde prevalecieron *Ps.aeruginosa*, *K.pneumoniae*, *P.mirabilis*, *E.coli*, *S.aureus* y *E.faecalis* la importancia de estos microorganismos en complicaciones sépticas

de pacientes con pie diabético han sido reportadas previamente (15, 26, 27).

Es importante mencionar con relación a los aislamientos de estafilococos coagulasa negativa, estreptococos del grupo *viridans* y *Corynebacterium* spp (difteroides), que en la actualidad no se sabe precisar con exactitud el significado clínico de su aislamiento en este tipo de pacientes. En muchas ocasiones son simples contaminantes al desaparecer y curar las lesiones con el uso de antibióticos que no son activos contra ellos; pero también se ha sugerido que solos o de forma sinérgica con otros agentes claramente patógenos, pudieran ser los elementos causales del proceso, sobre todo cuando se aíslan repetida y persistentemente en las muestras obtenidas (4).

En cuanto a la frecuencia de aislamiento de microorganismo anaerobio, esta es variable, oscilando entre el 7,5 y el 90% (11, 15, 27, 31). Es posible que la variación en los datos publicados se deba a que se estudiaron poblaciones diferentes y al tipo de muestra recolectada la cual ejerce una influencia sobre el tipo de microorganismo aislado.

Sapico (27), estudiaron diferentes tipos de muestras en pacientes diabéticos, los autores observaron que el aislamiento de anaerobios a partir de muestras obtenidas por curetaje y por aspirado presentaban una mejor correlación que las muestras de hisopado previo a la amputación.

Es posible que la detección de anaerobio en un solo paciente (1%) en el presente estudio, se deba a que deliberadamente se evitó incluir material necrótico y por aspiración en las muestras bacteriológicas. Este resultado es similar a lo reportado por el Centro de Referencia Bacteriológica del Servicio Autónomo Hospital Universitario de Maracaibo (7, 8), quienes para el periodo de Julio a Diciembre de 1999 no reportaron aislamiento de anaerobio en muestras provenientes de pie

diabético y entre Enero y Junio de 2000, aislaron un bacilo Gram negativo anaerobio representando este el 4,35%.

Conclusiones

Los resultados de este estudio indican que las infecciones en miembros inferiores en pacientes con Diabetes Mellitus se presentan sobre todo en individuos con edades comprendidas entre 52 a 61 años, el tipo de lesiones observadas fueron en un 48% úlceras profundas seguida de lesiones gangrenosas, ubicadas principalmente en el primer dedo (45%), estas infecciones se caracterizaron por ser polimicrobianas, prevaleciendo en los aislamientos los bacilos Gram negativo frente a los cocos Gram positivos, el aislamiento de bacterias anaerobias fue bajo, recomendándose la toma de muestra de material necrótico y por aspiración en las lesiones para aumentar las posibilidades de aislamiento.

Referencias Bibliográficas

- (1) Abbot, C.; Vileikyte, L.; Williamson, S.; Carrington A.; Boulton, A. Multicenter study of the incidence of and predictive risk factors for diabetic neuropathic foot ulceration. *Diabetes Care*. 1998; 21: 1071-1075.
- (2) American Diabetes Association. Foot care in patients with diabetes mellitus. *Diabetes Care*. 1998; 21 (Suppl 1): 1-5.
- (3) Arismendi, L.; De Los Rios, Y.; Millan, Y.; Ramirez, I. Gérmenes patógenos más frecuentes en pie diabético. Hospital Universitario Dr. Luis Razetti Barcelona 2000 – 2002. XII Congreso Venezolano de Medicina Interna. Caracas, Venezuela. 2003.
- (4) Barberán, J Y Gomis, M. Pie del diabético: un camino hacia la amputación que puede evitarse. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 1998; 16: 190-196.
- (5) Camejo, M. Prevención de ulceraciones y amputaciones del pie en la diabetes mellitus. En: *Diabetes Mellitus Complicaciones*.

- Ed. Rull J., Zorilla E., Jadzinsky M., Santiago J. Interamericana McGraw Hill. México DF. pp 355-371. 1992.
- (6) Castillo, D.; Castillo, Z.; Cancini, L.; Caraballo, A.; Acosta, S.; Espinal, R.; Rosendo, J.; Valente, L.; Sifontes, O. Hallazgos microbiológicos en pacientes con pie diabético y el tratamiento con clindamicina y ciprofloxacina. II Congreso Latinoamericano de Medicina Interna. Nueva Esparta, Venezuela. 2001.
 - (7) Centro de Referencia Bacteriológica del Servicio Autónomo Hospital Universitario de Maracaibo: Boletín sobre Etiología y Resistencia Bacteriana. Tercera Edición. Ed Pineda, M., Bonilla, X., Vargas, J. Maracaibo – Venezuela. pp 41 y 98. 2000.
 - (8) Centro de Referencia Bacteriológica del Servicio Autónomo Hospital Universitario de Maracaibo: Boletín sobre Etiología y Resistencia Bacteriana. Cuarta Edición. Ed Pineda, M., Bonilla, X., Vargas, J. Maracaibo – Venezuela. pp 48 y 132. 2001.
 - (9) Díaz, G.; Altclas, J.; Jasovich, A.; Mikaelian, G.; Fiks, G.; Caro, E. Microbiología y cirugía conservadora en infecciones graves del pie diabético. *Enf Infec Microbiol Clin.* 1992; 10: 451–455.
 - (10) Fry, D.; Marek, J.; Langsfeld, M. Infección en la extremidad inferior isquémica. En: *Clínicas quirúrgicas de Norteamérica tratamiento no operatorio de la enfermedad arterial de la extremidad inferior. Parte I.* Ed. Kerstein, M., White, J. Mc Graw-Hill Interamericana. Vol 3 Philadelphia, Pennsylvania, USA. pp 439-453. 1998.
 - (11) Goldstein, E.; Citron, D.; Nesbit, C. Diabetic foot infections. Bacteriology and activity of 10 oral antimicrobial agents against bacteria isolated from consecutive cases. *Diabetes Care* 1996; 19: 638 641.
 - (12) Komeman, E.; Allen, S.; Janda, W.; Schreckenberger, P.; Winn, W. *Color Atlas and textbook of Diagnostic Microbiology.* Fifth edition. Lippincott. United States of American. 1997.
 - (13) Lavery, L.; Armstrong, D.; Vela, S.; Quebedeaux, T.; Fleischli, J. Practical criteria for screening patients al high risk for diabetic foot ulceration. *Arch Intern Med.* 1998; 158: 157–162.
 - (14) Litzelman D.; Slemenda, C.; Langefeld, C.; Hays, L.; Welch, M.; Bild, D.; Ford, E.; Viniacor, F. Reduction of lower extremity clinical abnormalities in patients with non-insulin-dependent diabetes mellitus. *Ann Intern Med.* 1993; 119: 36–41.
 - (15) Louie, T.; Bartlett, J.; Tally, F.; Gorbach, S. Aerobic and anaerobic bacteria in diabetic foot ulcers. *Ann Intern Med.* 1976; 85: 461–463.
 - (16) Mayfield, J.; Reiber, G.; Sanders, L.; Janisse, D.; Pogach, L. Preventive foot care in people with diabetes. *Diabetes Care.* 1998; 21: 2161–2177.
 - (17) Mcnelly, M.; Boyko, E.; Ahroni, J.; Stensel, V.; Reiber, G.; Smith, D.; Pecoraro, R. The independent contributions of diabetic neuropathy and vasculopathy in foot ulceration. *Diabetes Care.* 1995; 18: 216–219.
 - (18) Moreno, J.; Valdivieso, F.; Gonzalez, J.; Melendez, A.; Marulanda, M.; Gastelo, A. Diabetes y sus complicaciones. XII Congreso Venezolano de Medicina Interna. Caracas, Venezuela. 2003.
 - (19) Murray P., Baron, E., Pfaller, M., Tenover, F., Tenover, R. *Manual of Clinical Microbiology.* 7th edition. ASM. Washington DC. 1999.
 - (20) Ortiz, I.; Sayago, D.; Ojeda, A.; Martinez, Y. Pie diabético. Manejo en el Hospital Universitario Dr. Luis Razetti de Barcelona durante el período comprendido entre Enero 1997 a Diciembre 2001. XII Congreso Venezolano de Medicina Interna. Caracas, Venezuela. 2003.
 - (21) Pham, H.; Armstrong, Harvey, C.; Harkless, L.; Giurini, J.; Veves, A. Screening techniques to identify people at high risk for diabetic foot ulcerations. *Diabetes Care.* 200; 23: 606–611.
 - (22) Pittet, D.; Wyssa, B.; Herter-Clavel, C.; Kursteiner, K.; Vaucher, J.; Lew, D. Outcome of diabetic foot infections treated conservatively. *Arch Intern Med.* 1999; 159: 851–856.
 - (23) Reiber, G., Pecoraro, R., Koepsell, T. Risk factors for amputation in patients with diabetes mellitus. *Ann Intern Med.* 1992; 117: 97-105.

- (24) Reiber, G.; Vileikyte, L.; Boyko, M.; Smith, D.; Lavery, L.; Boulton, A. Causal pathways for incident lower-extremity ulcers in patients with diabetes from two settings. *Diabetes Care*. 1999; 22: 157–162.
- (25) Rith-Najarian, S.; Stolusky, T.; Gohdes, D. Identifying diabetic patients at high risk for lower-extremity amputation in a primary health care setting. *Diabetes Care*. 1992; 15: 1386-1389.
- (26) Sapico, F.L.; Canawati, H.N.; Witte, J.L.; Montgomerie, J.Z.; Wagner, F.W.; Bessman, A.N. Quantitative aerobic and anaerobic bacteriology of infected diabetic feet. *J Clin Microbiol*. 1980; 12: 413–20.
- (27) Sapico, F.; Witte, J.; Canawati, H.; Montgomerie, J.; Bessman, A. The infected foot of the diabetic patient: Quantitative microbiology and analysis of clinical features. *Rew Infect Dis*. 1984; 6: S171–S177.
- (28) Slovenkai, M. Problemas del pie en la diabetes. En: *Clínicas medicas de Norteamérica*. Tomo IV. Prevención y tratamiento de la diabetes y sus complicaciones. Eds. Skyler, J. Mc Graw-Hill Interamericana Editores S.A. pp 881–901. 1998.
- (29) Singer, A.; Clark, R. Cutaneous wound healing. *N Engl J Med*. 1999; 341: 738-746.
- (30) The Expert Committee On The Diagnosis And Classification Of Diabetes Mellitus. Report of the expert committee on the diagnosis and classification of diabetes mellitus. 2001; 24: S5–S20.
- (31) Wheat, J.; Allen, S.; Henry, M.; Kernek, C.; Siders, J.; Kuebler, T.; Fineberg, N.; Norton, J. Diabetic foot infections. Bacteriologic analysis. *Arch Intern Med*. 1986; 146: 1935-1940.