



UNIVERSIDAD DE LOS ANDES
FACULTAD DE FARMACIA Y BIOANÁLISIS
ESCUELA DE BIOANÁLISIS
CÁTEDRA DEL COMPONENTE DE INVESTIGACIÓN
“JOSÉ RAFAEL LUNA”
TRABAJO DE GRADO II



**COLONIZACIÓN DE *STAPHYLOCOCCUS* COAGULASA NEGATIVO
PROVENIENTES DEL TRACTO GENITAL MASCULINO PRODUCTOR
DE DIFERENTES FACTORES DE VIRULENCIA**

Trabajo presentado como requisito para optar al grado de Licenciado en Bioanálisis

www.bdigital.ula.ve

Autores:

Suárez, Anggiela G.

C.I. 20.847.422

Torres, Génesis P.

C.I. 21.224.523

Tutor:

Prof(a).Alviarez, María Evelyn.

Mérida, Mayo de 2021



UNIVERSIDAD DE LOS ANDES
FACULTAD DE FARMACIA Y BIOANÁLISIS
ESCUELA DE BIOANÁLISIS
CÁTEDRA DEL COMPONENTE DE INVESTIGACIÓN
“JOSÉ RAFAEL LUNA”
TRABAJO DE GRADO II



**COLONIZACIÓN DE *STAPHYLOCOCCUS* COAGULASA NEGATIVO
PROVENIENTES DEL TRACTO GENITAL MASCULINO PRODUCTOR
DE DIFERENTES FACTORES DE VIRULENCIA**

Trabajo presentado como requisito para optar al grado de Licenciado en Bioanálisis

www.bdigital.ula.ve

DEDICATORIA

Agradezco a Dios y a San Judas Tadeo, quienes me dieron salud, sabiduría, fortaleza, esperanza, y me guiaron para culminar esta etapa de mi vida

A mis padres pilares fundamentales Gisela y Angelmiro, gracias a su amor, confianza, enseñanzas y apoyo incondicional, me han dado fuerzas para alcanzar esta meta, gracias por cuidar mis pasos. Los Amo con todo mi corazón.

A mi Hermano Ángel Emiro, a pesar de ya no estar presente físicamente, sé que donde te encuentre estás muy orgulloso de mí, fuiste mi motivación e inspiración para seguir esta última etapa de mi carrera y así culminar el camino forjado por nuestros padres. Siempre estarás conmigo y en mi corazón, Te Amo y extraño.

A mi abuelo Pepe Suárez y a mis tíos y tías quienes representan gran inspiración y ejemplo a seguir en mi vida, gracias por brindarme su apoyo, amor desinteresado y sobre todo por confiar en mí.

A mis abuelos Jesús Manuel, Arcelia y María, quienes a pesar de no estar presentes físicamente, sé que donde se encuentren están orgullosos de mí.

A mis primos, quienes son como mis hermanos, son parte de mi motivación e inspiración para seguir un buen camino en mi vida.

A mis amigos y vecinos, gracias por brindarme su apoyo, cariño y amistad, espero que perdure toda la vida.

A mi compañero fiel Sam, mi gordito hermoso siempre acompañándome en todo momento. Lo amo con todo mi corazón.

Al resto de mis familiares y amigos que siempre han estado al tanto de cada uno de los pasos dados por mí en esta etapa.

A las amigas que me deja la vida universitaria, que hoy en día comparten conmigo este mismo sueño “ser Bioanalista”, por compartir sus conocimientos y experiencias conmigo, Daniela P, Anni A, Karina A, Genesis A, Angernis S, Nelsy M, Angely R, Leslie C, Anyie M y Genesis T, por aceptar ser mi compañera de tesis Gracias, aunque hoy la distancia nos separa siempre ha estado cuando más la he necesitado.

A la ilustre Universidad de Los Andes y a cada uno de los profesores a quienes tuve la oportunidad de conocer, por haber compartido sus conocimientos a lo largo de la preparación de nuestra profesión, de manera especial, principalmente a mi tutora Alviarez, María E, por su gran dedicación y apoyo, quien ha guiado con paciencia, y rectitud este trabajo para así lograr la culminación de esta etapa.

www.bdigital.ula.ve

Anggiela Suárez Guillén

DEDICATORIA

Este trabajo de grado va dedicado primeramente a DIOS, ya que confié en que sus planes son perfectos y que gracias a él hoy estoy aquí escribiendo estas líneas.

A mi mami Yanelis Sánchez, por ser mi pilar y mi apoyo incondicional en este largo camino, por siempre tener las palabras de aliento necesarias para darme fuerzas cuando el agotamiento hacía estragos en mí, por sus gestos de amor y sus inmensas alegrías por cada uno de mis logros, por ser mi mejor ejemplo, por demostrarme que no hay barrera que no podamos superar y que con amor y dedicación todo se puede. Espero llegar a ser una mujer tan fuerte, generosa y excelente madre como lo eres tú, te amo con toda mi vida, esto y mucho mas es todo tuyo.

A mi papi Francisco Torres, que desde el cielo siempre me ha estado acompañando, gracias por darme la vida y los mejores años de mi infancia, gracias por demostrarme lo que es ser un buen hombre, porque en definitiva no pude haber tenido un mejor padre que tu y espero que donde quiera que estés te sientas muy orgulloso de lo que se ha convertido tu hija. Te amo y te extraño por el resto de mis días.

A mi abuela Rubia Sánchez, doy a gracias a dios por permitirme tenerte aquí conmigo, para que me veas culminar esta etapa por la que tanto le pediste a dios, gracias por siempre estar pendiente de mí y de cada día asegurarte de que no me fuera a clases sin mi termo de agua, espero que la vida nos permita seguir celebrando mil logros más, Te amo mama.

A mi esposo Andrés Trejo, gracias por tu apoyo, ejemplo y dedicación para ayudarme a cumplir mis sueños, tu amor es un motorcito que me empuja cada día a ser mejor, gracias por todo lo que haces por mí y por nosotros, un solo corazón por siempre, taiyma.

A mi Flia. Garrido Sánchez, solo doy gracias a dios el haberlos traído a Vzla, no podría imaginar mi vida sin ustedes, gracias a mi tia Yaslenys por ser una segunda madre y por haberme regalo a mis dos amores. Gracias a mi tío Jose Luis por todo su amor y ocurrencia, por hacer de nuestras reuniones familiares un momento único, gracias a Fer y Gaby por ser mis hermanos, los cuido, los valoro y los amo con todo mi corazón.

A mi abuela mama Nina, tíos, tías, primos y demás familiares, por ser parte de mi vida, por ser ejemplo y apoyo en cada etapa que me ha tocado vivir, mi corazón también es de ustedes.

A mi mejor amiga Ariana Sosa, gracias por tu valiosa amistad, por estar presente en mi vida aun en la distancia, deseo que dios nos permita volver a reencontrarnos y recuperar todo el tiempo que nos ha faltado, Te amo.

A mis amigas Yusle y Yose, por todos los años de Amistad, por ser mis comadres en uno de los momentos más especiales de mi vida, las amo.

A la Flia. Trejo Andrade, por aceptarme en su familia y quererme como una hija mas, gracias por todo el cariño y apoyo. He aquí un motivo más para celebrar.

A mis fieles compañeras Gusita y Pina, gracias por recibirme con tanta felicidad al llegar a casa y por ese amor tan único y especial, espero hacerlas tan felices como ustedes me hacen a mí, las amo mis bebes.

A nuestra tutora Prof. María Evelyn Alviarez, por su dedicación, paciencia y conocimientos aportados.

A los amigos que marcaron mi vida universitaria, Alejandro B, Rossemary A, Ricardo L, Yunior T, Anggiela S, Argenis S, Nelsy M, Leslie C, Anyi M, Angely R, gracias por hacer que la carga académica se sintiera más ligera.

Génesis Paola Torres Sánchez

AGRADECIMIENTOS

Expresamos nuestro agradecimiento a quienes nos acompañaron y motivaron afectivamente y académicamente para que pudiéramos alcanzar esta meta:

A Dios todo poderoso, por mantenernos firmes y unidas en este largo camino y poder culminar esta meta con satisfacción.

A nuestros Padres por su constancia y dedicación, los amamos.

A nuestras Familias por el apoyo y alentarnos en momentos de dificultades.

A nuestra Tutora y apreciada Prof. Evelyn Alviarez, lo logramos profe gracias por el apoyo y la paciencia.

Al Jurado por sus conocimientos y apoyo académico a esta investigación.

A nuestra casa de estudio la Escuela de Bioanálisis de la ilustre Universidad de Los Andes.

ÍNDICE

	Pág.
ÍNDICE DE CONTENIDO	viii
ÍNDICE DE FIGURAS	x
ÍNDICE DE TABLAS	xi
RESUMEN	1
INTRODUCCION	2
CAPÍTULO I. EL PROBLEMA	6
Planteamiento del Problema	6
Justificación de la Investigación	9
Objetivos de la Investigación	12
<i>Objetivo General</i>	12
<i>Objetivos Específicos</i>	12
Alcances de la Investigación	13
Limitaciones de la Investigación	13
CAPITULO II. MARCO TEÓRICO	14
Trabajos Previos	14
Antecedentes Históricos	19
Bases Teóricas	21
Aproximación teórica sobre el Género <i>Staphylococcus</i>	21
Aproximación teórica sobre las Principales Especies de <i>Staphylococcus</i>	
coagulasa negativo	22
Aproximación teórica sobre el Diagnostico Microbiológico	24
Aproximación teorica sobre los Factores de Virulencia	25
<i>Hemolisinas</i>	26
<i>DNAsas</i>	26
<i>Producción de Ureasas</i>	26
<i>Biopelículas</i>	27

<i>Formación de Biopelícula</i>	28
Aproximación teórica sobre las Infecciones Asociadas a la Microbiota	
Bacteriana	31
Aproximación teórica sobre el Tracto Genital Masculino	32
Definición Operacional de Términos	34
<i>Infecciones Urinarias</i>	34
<i>Uretritis</i>	34
<i>Prostatitis</i>	37
<i>Epididimitis</i>	38
<i>Orquitis</i>	39
Operacionalización de Variables	40
CAPITULO III. MARCO METODOLOGICO	41
Tipo de Investigación	41
Diseño de Investigación	42
Población y Muestra	42
<i>Unidad de Investigación</i>	42
<i>Selección del Tamaño Muestral</i>	43
Procedimiento o Metodología	44
Cepas bacterianas	44
Reactivación de las cepas bacterianas	44
Identificación de los aislados clínicos	44
Determinación de la coagulasa	47
Determinación de la catalasa	47
<i>Método del portaobjeto</i>	48
<i>Método del tubo de ensayo</i>	48
Identificación de virulencia	49
Determinación de la urea	49
Producción de hemolisina	49
Producción de DNasa	49
Producción de Biofilma o Biopelícula	50

Diseño de Análisis	50
CAPITULO IV. RESULTADOS Y DISCUSION	56
Resultados	56
Discusión	64
CAPÍTULO V. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	69
Conclusiones	69
Recomendaciones	70
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	73

www.bdigital.ula.ve

ÍNDICE DE FIGURAS

CONTENIDO	Pp.
FIGURA 1. Fases de Formación de Biopelícula	31
FIGURA 2. Aparato Reproductor Masculino	33
FIGURA 3. Resultado de las pruebas positivas y negativas para el sistema comercial API® STAPH (BioMérieux).	46
FIGURA 4. Ejemplo de la hoja de resultados de un sistema API®.	46
FIGURA 5. Pruebas bioquímicas convencionales para el aislamiento de cepas de <i>Staphylococcus</i> coagulasa negativa.	51
FIGURA 6. Producción de hemolisinas utilizando placas de agar sangre.	52
FIGURA 7. Producción de DNAsa utilizando un medio adecuado para su identificación.	53
FIGURA 8. Producción de Ureasa	54
FIGURA 9. Producción de Biopelícula (Biofilm)	55

ÍNDICE DE TABLAS

CONTENIDO	Pp.
TABLA 1. . Identificación de las diferentes especies aisladas según origen de la muestra	23
TABLA 2. Factores de virulencia de <i>Staphylococcus</i> coagulasa negativa	26
TABLA 3. Pruebas bioquímicas de identificación de <i>S. aureus</i> y algunas especies de SCN	27
TABLA 4. Tracto urinario bajo	35
TABLA 5. Tracto urinario alto	36
TABLA 6. Operacionalización de variables	40
TABLA 7. Identificación de especie de <i>Staphylococcus</i> coagulasa negativa, provenientes del tracto genital masculino.	57
TABLA 8. Pruebas microbiológicas confirmatorias catalasa y coagulasa	59
TABLA 9. Factores de Virulencia en cepas de <i>Staphylococcus</i> coagulasa negativo provenientes del tracto genital masculino.	61
TABLA 10. Producción de Biofilm en cepas de <i>Staphylococcus</i> coagulasa negativo provenientes del tracto genital masculino.	62



UNIVERSIDAD DE LOS ANDES
FACULTAD DE FARMACIA Y BIOANALISIS
ESCUELA DE BIOANALISIS
LABORATORIO DE INVESTGACIONES EN
BACTERIOLOGIA
"DR. ROBERTO GABALDON"
LINEA DE INVESTIGACION:



**COLONIZACIÓN DE *STAPHYLOCOCCUS* COAGULASA NEGATIVO
PROVENIENTES DEL TRACTO GENITAL MASCULINO PRODUCTOR
DE DIFERENTES FACTORES DE VIRULENCIA**

Trabajo de Grado para optar por el título de Licenciada en Bioanálisis

Autores: Anggiela Suárez
Génesis Torres

Tutor: MSc. Evelyn Alviárez

RESUMEN

Staphylococcus coagulasa negativa (SCN) se encuentran entre los microorganismos más frecuentemente aislados en el laboratorio de microbiología. Su significado clínico en muchas situaciones es difícil de establecer, ya que son comensales de la piel y de las mucosas y generalmente se han considerado inocuos o patógenos oportunistas con escasa virulencia. El objetivo de este estudio fue evaluar la producción de factores de virulencia en cepas de *Staphylococcus* coagulasa negativo procedentes de pacientes con diferentes patologías del tracto genital masculino en el Laboratorio de Investigaciones bacteriológicas "Roberto Gabaldon" de la Facultad y Bioanálisis de la Universidad de los Andes. Se identificaron a nivel de especie 9 cepas de SCN, aisladas de las muestras de semen de pacientes que asistieron a la consulta en el Centro de Diagnóstico de Infertilidad y Enfermedades Ginecológicas (CEDIEG) "Dr. Giovanny Vivas Acevedo", con problemas de infertilidad, durante el período de enero de 2020 a abril de 2021. Los resultados de esta investigación revelaron que La producción de factores de virulencia en cepas de *Staphylococcus* coagulasa negativo, del 100% de las muestras arrojaron resultado negativo para la producción de DNasa y Hemolisinas, mientras que para la producción de Ureasa se obtuvo que el 77,77% de las muestras dieron negativo y el 22,22% mostraron resultados indeterminados, el 55,5 % de las cepas, presentaron producción de Biopelícula alta o fuerte según el método cualitativo de tubo, 22,2% moderada y 22,2 % restante muy débil o no produjo.

Palabras clave: *Staphylococcus* coagulasa negativo, Líquido seminal, Tracto genital masculino, Infecciones urinarias, Factores de virulencia

INTRODUCCIÓN

Staphylococcus coagulasa negativa (SCN) se encuentran entre los microorganismos más frecuentemente aislados en el laboratorio de microbiología. Su significado clínico en muchas situaciones es difícil de establecer, ya que son comensales de la piel y de las mucosas y generalmente se han considerado inocuos o patógenos oportunistas con escasa virulencia. Las infecciones por SCN suelen asociarse a la presencia de dispositivos artificiales como prótesis y sondas.

Existen numerosas infecciones bacterianas que afectan el tracto reproductor masculino, donde están implicados una gran variedad de agentes etiológicos, por ello es de vital importancia determinar la presencia de SCN como agente causal de infecciones en el tracto genital masculino, ya que esto nos ayudaría a comprender los factores implicados en el éxito reproductivo, así como su diagnóstico, tratamiento y prevención.

Entre las parejas en edad reproductiva se considera que del 10% al 15% son infértiles, alrededor de un 50% de ellas se puede detectar la participación del hombre como causa única o asociada de la infertilidad, dentro de las posibles causas, se discute el rol que pueden tener las infecciones agudas y crónicas del aparato genital masculino. Un proceso infeccioso que lo afecte puede causar daño testicular primario, obstruir el tracto de salida de la vía seminal o afectar la funcionalidad de los espermatozoides (Davaro M y Greco M, 2020).

Las infecciones del tracto reproductivo masculino se pueden clasificar en tres tipos: 1) las infecciones de transmisión sexual, 2) las infecciones del tracto urinario,

debido a que ambos tractos, genital y urinario, comparten varias porciones anatómicas, y 3) las infecciones asociadas a desequilibrios en la microbiota bacteriana. Un gran número de bacterias puede colonizar el tracto reproductivo masculino y desencadenar procesos infecciosos con múltiples consecuencias. Este tipo de infecciones se caracterizan por ser comunes pero generalmente autolimitadas y en la gran mayoría de los casos asintomáticos, lo que le da el carácter de infección crónica acompañada en algunas ocasiones de inflamación persistente, que puede finalmente generar alteraciones en la fertilidad. Estas alteraciones pueden desarrollarse bien sea por daño directo de la célula espermática o de su nicho, o como vehículo para el ascenso de un gran número de microorganismos en el tracto reproductivo lo que promovería procesos infecciosos e inflamatorios. (Davaro M y Greco M, 2020).

www.bdigital.ula.ve

Diversos organismos se han identificado en el semen de hombres infértiles donde se destacan *Ureaplasma urealyticum*, *Chlamydia trachomatis*, *Escherichia coli*, *Klebsiella*, *Proteus*, *Enterococcus*, *Staphylococcus* y *Neisseria gonorrhoeae*, entre otros. Sin embargo la presencia de *Staphylococcus* o *Streptococcus* sigue generando dudas en relación a la patogenicidad, ya que su presencia en semen puede deberse a contaminación o colonización.(Lozano R, 2017). Esta situación genera incertidumbre sobre la importancia de SCN asociado a la infertilidad y sobre el tratamiento de la infección, lo cual podría empeorar el estado de infertilidad. En este sentido, se considera relevante conocer las características fenotípicas de los aislados clínicos de especies del grupo SCN de pacientes que acudieron a consulta en el Centro de diagnóstico de infertilidad y enfermedades ginecológicas CEDIEG “Dr. Giovanni Vivas-Acevedo” por problemas de fertilidad y determinar sus factores de virulencia. (Lozano R, 2017).

Los SNC poseen una serie de factores de virulencias, que si bien no los hace ser tan agresivos como *S. aureus*, pero que si contribuyen al desarrollo de la infección. Las infecciones por SNC ocurren debido a algunas características fisiopatológicas: están presentes en toda la superficie cutánea del cuerpo, en cantidades variables, desde 10 a 10^3 UFC/cm² en áreas más secas como son las extremidades hasta 10^3 a 10^6 UFC/cm² en fosa nasal anterior, axilas, ingle o región perineal.

Los avances tecnológicos y la mayor supervivencia de pacientes graves hacen que se produzcan numerosas disrupciones de la barrera cutánea mucosa, debido a la implantación de marcapasos, válvulas cardiacas, prótesis traumatológicas, catéter, sondas, tratamientos quimioterapicos que agrietan las mucosas, entre otros., situaciones que aprovechan los SNC que colonizan esas regiones anatómicas. (Hidalgo O, 2016).

Esta tesis estuvo sistematizada bajo las normas de la Academia Americana de Psicología (APA), y está estructurado en III Capítulos; el Capítulo I, denominado el problema, contiene el planteamiento del problema, justificación e importancia, objetivos, alcances y limitaciones de la investigación. El Capítulo II, llamado marco teórico abarca trabajos previos, antecedentes históricos y bases teóricas. El Capítulo III, titulado marco metodológico comprende el tipo de investigación, diseño de investigación, población y muestra, procedimientos de la investigación y diseño de análisis. Así mismo el capítulo IV llamado Resultados y discusión, el cual engloba ambos elementos y por último el capítulo V, Conclusiones y Recomendaciones.

En el presente trabajo de investigación, tiene como objetivo evaluarla colonización de *Staphylococcus coagulasa* negativa causante de infección del tracto

genital masculino así como la producción de diferentes factores de virulencia en muestras recibidas en el laboratorio de investigaciones en bacteriológica ``Roberto Gabaldón`` de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis de la Universidad de los Andes durante el mes de Enero de 2020.

www.bdigital.ula.ve

CAPÍTULO I

EL PROBLEMA

Planteamiento del problema

En todas las regiones del mundo, hay una elevada proporción de bacterias responsables de infecciones frecuentes que son capaces de resistir la acción de los antibióticos (por ejemplo, muchas bacterias son causantes de infecciones de las vías urinarias, pulmonares e infecciones sanguíneas). Estos microorganismos afectan la integridad física y constituyen una de las formas de vida más numerosas en la tierra (OMS, 2011).

www.bdigital.ula.ve

Los microorganismos están presentes en todas las superficies de los utensilios, el aire, agua, alimentos y en las cavidades internas del cuerpo que tienen conexión con el exterior (tracto respiratorio y tracto digestivo). En condiciones normales, los órganos y cavidades internas carecen de microorganismos, ya que son estériles (OMS, 2011).

Hidalgo M.(2016), Señala que el género *Staphylococcus* fue identificado en 1880 por Pasteur y Ogston, quienes describieron cocos agrupados en racimos a los que llamaron "Staphylococcus" en una muestra de pus. Son cocos Gram positivos con un diámetro aproximado de una micra, catalasa positiva, oxidasa y coagulasa negativos (salvo *S. aureus* que es coagulasa positivo), no móviles, no formadores de esporas, no capsulados y aerobios y anaerobios facultativos.

Actualmente están descritas un total 47 especies de las que 38 son *Staphylococcus* coagulasa negativo (SCN). Las últimas especies identificadas son *S. jettensis*, *S. massiliensis*, *S. petrasii* y *S. pettenkoferi* (Beker, Heilmann y Peters, 2014).

Los SCN son un grupo de microorganismos muy heterogéneo y complejo, por lo que representa un gran desafío para su diagnóstico y tratamiento, ya que actúan silenciosa y lentamente, pero con firmeza y virulencia.

El *Staphylococcus* coagulasa negativa se encuentra entre los microorganismos más frecuentemente aislados en el laboratorio de microbiología; sin embargo, su significado clínico en muchas ocasiones es difícil de establecer, puesto que pueden ser comensales inofensivos o patógenos invasores. El protagonismo de este grupo de bacterias como patógeno ha ido en aumento y se le ha asociado con el progreso de la tecnología médica (Aties L., et al 2020).

La infección del tracto urinario (ITU) es considerada generalmente como la existencia de microorganismos patógenos en el tracto urinario con o sin presencia de síntomas. El origen bacteriano de la ITU es el más frecuente (80%-90%); en este caso, la definición exacta exige no solo la presencia de gérmenes en las vías urinarias, sino también su cuantificación en al menos 10^5 unidades formadoras de colonias (UFC)/mL de orina. Sin embargo, varios estudios han establecido que un tercio o más de los pacientes, mayoritariamente mujeres sintomáticas, tiene conteos de UFC por debajo de este nivel y presentan ITU. En los hombres –tienen menor probabilidad de contaminación– sintomáticos, se considera como indicativo de infección una cifra de 10^3 UFC/mL. El diagnóstico de bacteriuria significativa en pacientes cateterizados se hace con valores de 10^2 UFC/mL (Echeverría, Aguilar y Osóres, 2006).

Entre las infecciones más importantes del ser humano, la ITU constituye un importante problema de salud que afecta a millones de personas cada año. Es la segunda causa de infección más frecuente en los humanos, es solo superada por las infecciones del tracto respiratorio (Echeverría, Aguilar y Osorio 2006).

Las infecciones del tracto urinario son producidas generalmente por bacterias y en menor proporción por hongos y virus. Estudios recientes han comprobado que un porcentaje de las infecciones del tracto urinario son producidas por bacterias del grupo SCN, posibles causantes de infertilidad en hombres (Pigrau y cols., 2002; Hooton, 2000).

La infertilidad masculina afecta alrededor del 35% al 45% de las parejas, la cual puede deberse a patologías urológicas, congénitas, de función sexual, traumáticas, inmunológicas, genéticas, neurológicas, tumorales, idiopáticas o infecciosas, además se destacan los agentes externos como los ambientales y tóxicos (Teppa y Palacios; 2004).

Los SCN son microorganismos que forman parte de la microbiota habitual del tracto reproductor masculino, se han aislado frecuentemente en cultivos espermáticos cuando las muestras de semen son pre tratadas (remoción de agentes bacteriostáticos), lo cual despierta interés en su estudio para poder precisar si su presencia en cultivos de muestras anormales de semen se debe a contaminación, infección o colonización. (Koneman et al, 2008).

En muestras espermáticas de hombres con problemas de infertilidad se han encontrado especies como: *Streptococcus*, *Staphylococcus* coagulasa negativa (SCN), *Staphylococcus aureus*, diferentes especies de coliformes, *Corynebacterium*,

Chlamydia trachomatis, *Neisseria gonorrhoeae* y *Ureaplasma urealyticum*, entre otros (Teppa y Palacios, 2004; Abeysundara y cols., 2013).

Dentro del grupo de los SCN como *Staphylococcus epidermidis*, y *Staphylococcus capitis* son los principales responsables de las infecciones del tracto reproductor masculino, ya que poseen una serie de factores de adherencia, toxinas y poli péptidos implicados en su patogenicidad, como por ejemplo las entero toxinas, la hemolisina, y las leucocidinas. Existe una importante relación entre la bacteriospermia y el daño a nivel espermático, causando un incremento en espermatozoides no móviles, daño morfológico y vitalidad espermática (Galarzo et al. 2015).

La virulencia está fundamentalmente relacionada con la capacidad de ciertas cepas de expresar adhesinas y formar biopelícula en los dispositivos protésicos y catéteres, en cuya intimidad los microorganismos se agregan y forman macro colonias que crecen protegidas de la acción de antimicrobianos, anticuerpos, y de otros mecanismos de defensa del hospedero. La producción de biopelícula es considerada un factor importante de virulencia en algunas cepas de SCN habiéndose reportado mayor dificultad en erradicar una infección crónica asociada a este fenómeno como también la frecuente asociación con una disminución de la susceptibilidad a los antimicrobianos.

Después de describir la situación actual del problema de esta investigación, se plantea el siguiente enunciado holopráxico:

¿Habrá presencia de SCN productores de diferentes factores de virulencia aislados en cultivos de muestras procedentes del tracto genital masculino con diferentes patologías infecciosas?

Justificación de la investigación

La justificación de un trabajo de investigación, nos permite señalar las razones por las cuales se lleva a cabo el mismo, así como también, sus aportes desde el punto de vista teórico o práctico. (Arias, 2012).

Los SCN están implicados en infecciones del torrente sanguíneo relacionados con la implementación de cuerpos extraños (catéteres y sondas), como es el caso de *S. epidermidis*, el cual es causante de endocarditis y bacteriemia con complicaciones valvulares. En casos de meningitis asociadas a drenaje nosocomial, los SCN son responsables del 73% de las infecciones así como en casos de peritonitis en el cual demostró ser el más frecuente representando alrededor del 30% de todos los episodios (Beker, Heilmann y Peters, 2014).

Los SCN son también aislados en los casos de endoftalmitis en inicio tardío, luego de la implantación de lentes intraoculares artificiales después de la catarata; en el caso de los neonatos pueden presentarse infecciones invasivas debido a su sistema inmunitario inmaduro, así como la alteración de piel y mucosas ya que regularmente están expuestos a procedimientos invasivos, incluyendo la inserción durante el cuidado intensivo neonatal donde las especies más prevalentes son *S. epidermidis*, *S. warneri* y *S. haemolyticus* (Beker, Heilmann y Peters, 2014).

Los SCN se encuentran principalmente asociados a infecciones intrahospitalarias, estas son cepas de la propia microbiota (infecciones endógenas) o provenientes del personal de salud (contaminación exógena) en pacientes inmunocomprometidos o debilitados y en neonatos (Pedrari C, 2007).

En el caso de *S. saprophyticus* es considerado causante de la infección del tracto urinario, las complicaciones incluyen pielonefritis aguda y nefrolitiasis, en el caso de pacientes masculinos, uretritis, epididimitis y prostatitis (Beker, Heilmann y Peters, 2014).

En décadas anteriores, los aislamientos microbiológicos de SCN no eran centro de atención, pues la gran mayoría de casos eran considerados contaminación, a través del tiempo se les ha reconocido como causa importante de infecciones, entre ellas las del tracto genital masculino. Actualmente en los países desarrollados la gran mayoría de aislamientos microbiológicos intrahospitalarios en sangre son de cocos Gram positivos, incluyendo los aislamientos de SCN (Rogers K, Fey and Rupp, 2009)

Se estima que globalmente ocurren al menos 150 millones de casos de ITU por año (Echeverría, Aguilar y Osorio, 2006). La infertilidad masculina y las infecciones del tracto urinario son una entidad médica frecuente que compromete aproximadamente a uno de cada 20 hombres y en la que las infecciones del tracto reproductivo son consideradas como la principal causa etiológica (Lu et al., 2013).

Un gran número de bacterias puede colonizar el tracto reproductivo masculino y desencadenar procesos infecciosos con múltiples consecuencias como la infertilidad, por ello es de vital importancia determinar la presencia de SCN productores de diferentes factores de virulencia como agente causal de infecciones en el hombre, para contribuir al diagnóstico, tratamiento y prevención de las mismas. Finalmente, se debe resaltar la importancia de estudiar con mayor profundidad los procesos infecciosos e inflamatorios que se dan a nivel del tracto masculino, esto nos ayudaría a comprender aún más los factores implicados en el éxito reproductivo.

Objetivos de la investigación

Objetivo General

Evaluar la producción de factores de virulencia en cepas de *Staphylococcus coagulasa* negativo procedentes de pacientes con diferentes patologías del tracto genital masculino en el Laboratorio de Investigaciones bacteriológicas “Roberto Gabaldon” de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis de la Universidad de Los Andes, durante el período de

Objetivos específicos

- ✓ Establecer la producción de hemolisinas como factor de virulencia utilizando el medio de agar sangre en cepas de SCN provenientes de pacientes con diferentes patologías del tracto reproductor masculino.
- ✓ Determinar la producción de DNasa como factor de virulencia utilizando un medio adecuado para su identificación en cepas de SCN provenientes de pacientes con diferentes patologías del tracto reproductor masculino.
- ✓ Demostrar la producción de Ureasa como factor de virulencia utilizando un medio adecuado para su identificación en cepas de SCN provenientes de pacientes con diferentes patologías del tracto reproductor masculino.
- ✓ Detectar la producción de Biopelícula (Biofilm) en cepas de SCN provenientes de pacientes con diferentes patologías del tracto reproductor masculino.

Alcances y Limites de la Investigación

Alcances de la Investigación

El alcance de una investigación se relaciona con la profundidad del conocimiento sobre el fenómeno de estudio. Establece la visión que posee el investigador para lograr los objetivos. Del alcance depende la estrategia de investigación, así, el diseño, los procedimientos y otros componentes del proceso serán distintos en estudios con alcances exploratorio, descriptivo, correlacionar, o explicativo (Hernández, Fernández y Batista 2010).

El alcance de esta investigación, fue evaluar la producción de factores de virulencia por parte de los SCN en muestras provenientes de pacientes con patologías en el tracto genital masculino.

Limitaciones de la Investigación

Según Hernández, Fernández y Batista. (2010), las limitaciones de una investigación están relacionadas con los recursos teóricos, técnicos y de presupuesto económico. En tal sentido, durante esta investigación se presentaron algunas limitaciones en cuanto a la disponibilidad y adquisición de reactivos y antibióticos. Otra de las limitaciones estuvo relacionada con los recursos monetarios debido al conflicto económico del país. Sin embargo, las limitaciones mencionadas no impidieron la realización de la investigación.

CAPÍTULO II

MARCO TEÓRICO

Trabajos Previos

En una investigación es de suma importancia examinar los trabajos previos referentes al tema que se estudió, para utilizarlos de soporte y lograr un buen desarrollo del mismo. Es por ello que Arias (2006) expresó lo siguiente: “los antecedentes reflejan los avances y el estado actual del conocimiento en un área determinada y sirven de modelo o ejemplo para futuras investigaciones” (p.106). De acuerdo a lo expresado por el autor, se afirma la importancia de los mismos para evitar redundancias en investigaciones a futuro.

Ortega et al., 2019, desarrollaron un trabajo de investigación titulado: Prevalencia y factores de virulencia de *Staphylococcus* coagulasa negativo de infección de prótesis articulares en un hospital ortopédico de México. El objetivo fue estudiar la prevalencia y los factores de virulencia de *Staphylococcus* coagulasa negativos (SNC) de infecciones de prótesis articular (IPA). Los SNC se aislaron de 66 pacientes con IPA de cadera y rodilla. Se determinaron la sensibilidad antimicrobiana y la producción de biopelícula de los SNC. En los resultados obtenidos, la IPA de cadera fue el 80%. Se aislaron en alta proporción *S.epidermidis* (82%) y *S. hominis* (80%), y en baja frecuencia *S.lugdunensis*, *S. haemolyticus*, *S.capitis*, *S. caprae*, *S. sciuri* y *S. lentus*. La mayoría de los aislamientos fueron resistentes a los betalactamicos, las fluoroquinolonas y la eritromicina. Los autores concluyeron que *S. haemolyticus*, *S. sciuri* y *S. lentus* son aislamientos nuevos de IPA

no reportados que poseen factores de virulencia, igual que las otras especies de SNC aisladas.

Lozano et al. (2017). Publico un trabajo titulado: Impacto de los *Staphylococcus* coagulasa negativa y otros gérmes en las formas espermáticas. Se estudiaron muestras de semen de 281 hombres infértiles; estos hombres fueron atendidos en el Centro de Diagnóstico de Infertilidad y Enfermedades ginecológicas "Dr. Giovanni Vivas-Acevedo"(CEDIEG), en la Facultad de Farmacia y Bioanálisis, Universidad de Los Andes. En este estudio, comparan la morfología del espermatozoide mediante el manual de la OMS y el criterio de David modificado en hombres infértiles, con presencia de *Staphylococcus* coagulasa negativa y otros gérmes presentes en diferentes concentraciones. Se observaron en los diferentes grupos con resultados de cultivos negativos, microbiota residente, y otros microorganismos con concentraciones $\geq 10^4$ UFC/mL incluyendo SCN así como muestras con anticuerpos anti*Chlamydia trachomatis*. En casi todos los grupos positivos con bacteriospermia. Las cabezas alargadas se elevan en dos puntos positivos, grupos de especies bacterianas y en la microbiota del grupo. Los defectos de cola se encuentran en los grupos SCN, *C. trachomatis*, *Enterobacter* spp. y *Enterococcus* spp. Las características de los espermatozoides se analizaron en relación con la concentración bacteriana expresada en CFU/mL para todos los cultivos positivos independientemente de las especies encontradas. Cuatro grupos fueron categorizados: Negativo, $\leq 10^3$ (Microbiota residente), 10^4 y $\geq 10^5$ UFC/mL. Los altos valores de células redondas se encontraron en muestras con concentraciones bacterianas iguales a o mayor que 10^4 UFC/mL ($p \leq 0.005$). Usando el criterio morfológico de David, la microcefalia aumenta cuando las concentraciones bacterianas están por encima de 10^4 UFC/mL independientemente de la especie bacteriana ($p \leq 0.05$). Alteraciones principales se observaron en el flagelo anormal ($p \leq 0.05$), defectos de cola: doblez, ausente, enrollado, corto, múltiple ($p \leq 0.05$), irregular y citoplasma residual anormal

($p \leq 0.05$) cuando las concentraciones bacterianas fueron superiores a 10^5 UFC/mL. Concluyendo que el predominio de una forma anormal se debe informar en las evaluaciones seminales, incluso con formas normales $\geq 4\%$. La alta concentración de SCN en el semen puede tener un impacto negativo en la celularidad, la morfología de los espermatozoides y probablemente en fertilidad. En el estudio del semen del hombre infértil, sería muy útil describir las alteraciones morfológicas de la cabeza del espermatozoide según lo indicado por el criterio morfológico de David como datos adicionales para identificar la causa de la infertilidad.

Por otro lado, Aties et al., 2016, desarrollaron un trabajo de investigación titulado; Detección de biofilm en *Staphylococcus* coagulasa negativa y su relación con variables clínicas epidemiológicas. El objetivo fue determinar la relación entre la producción de biofilm por cepas de *Staphylococcus* coagulasa negativa y variables clínicas epidemiológicas. Se realizó un estudio observacional, analítico y transversal, en cepas de *Staphylococcus* coagulasa negativa y la relación entre la producción de biofilm y variables clínico-epidemiológicas seleccionadas de los pacientes infectados, en el laboratorio de Microbiología del Hospital Provincial Saturnino Lora de Santiago de Cuba, de enero a diciembre de 2012. En los resultados se observó que en el grupo de edades donde más aislamientos hubo a *Staphylococcus* coagulasa negativa, tanto en el sexo masculino como femenino, en rangos de edades entre 50 y 60 años. Respecto a las enfermedades crónicas no transmisibles asociadas que presentaron los pacientes, se observó que el mayor número de personas afectadas fueron las que presentaron diabetes mellitus y nefropatías crónicas. La mayor cifra de aislamientos de *Staphylococcus* coagulasa negativa correspondió a pacientes que amerita servicio de nefrología. Los antimicrobianos que mostraron menor porcentaje de resistencia fueron la vancomicina, cloranfenicol y doxiciclina. Los autores concluyeron que la infección por *Staphylococcus* coagulasa negativa, es frecuente en pacientes con edad

avanzada, con diabetes mellitus y nefropatías, estos son factores a tener en cuenta. Se demostró que el medio agar rojo Congo por su sencillez, alta sensibilidad y especificidad, puede sumarse al arsenal diagnóstico de los laboratorios para la detección de biofilm.

Galarzo et al., 2015, desarrollaron un trabajo de investigación titulado; Efectos de los factores solubles de *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus capitis* y *Staphylococcus epidermidis* sobre la funcionalidad espermática. El objetivo fue determinar el efecto de los factores solubles (productos del metabolismo bacteriano) en cepas de *S. aureus*, *S. capitis* y *S. epidermidis* sobre la funcionalidad espermática. Incubaron los factores solubles producto del metabolismo bacteriano de las cepas de *S. aureus* y *S. capitis* sensible a oxacilina y *S. aureus* y *S. epidermidis* resistente a oxacilina con las muestras de semen de 20 voluntarios y se cuantificaron los parámetros seminales convencionales y funcionales por microscopía y citometría de flujo, respectivamente. En los resultados obtenidos, se observó una disminución en la movilidad espermática con los factores solubles de *S. aureus*, Los factores solubles de las cuatro cepas de bacterias, se obtuvieron incubando durante 30 minutos un inóculo de cada bacteria a una concentración de 0,5 Macfarland en solución salina. Posteriormente, el medio se centrifugó a 600 g/10 minutos, se recolectó el sobrenadante y se filtró por una membrana de 0,2 μm (Advantec Industries, China), se alicuotó y se almacenó a -20°C hasta su uso, esta disminución fue mayor con la cepa sensible y el efecto negativo sobre la movilidad fue inmediato. Concluyeron que al incubar los espermatozoides con los factores solubles de *S. aureus* sensible a oxacilina, se afectaron todos los parámetros funcionales excepto la integridad de la cromatina y se observó menor liberación de especies reactivas de oxígeno; con los factores solubles de la cepa de *S. aureus* resistente a oxacilina se observó una disminución en la lipoperoxidación de membrana y en la expresión de anexina V. Los autores concluyeron, este estudio da cuenta del efecto negativo de los factores

solubles de la bacteria *S. aureus* tanto sensible como resistente a oxacilina sobre los parámetros espermáticos convencionales y funcionales, y por ende en su función reproductiva.

En consiguiente, Pinilla et al., 2017, desarrollaron un trabajo de investigación titulado; Determinación de factores de adhesión asociados a la formación de biopelícula en aislamientos clínicos de *Staphylococcus aureus* y *Staphylococcus epidermidis*. Los factores de adhesión son determinantes de virulencia que se expresan en microorganismos que tienen la capacidad de formar biopelícula, contribuyendo a la gravedad de infecciones intrahospitalarias. Dentro de estos componentes de la superficie microbiana que reconocen moléculas de adhesión de matriz conocidas como MSCRAMMs, se incluyen el factor de unión a fibronectina A y B, (FnbA y B) factor de aglutinación A y B (ClfA y B) y factor de unión a fibrinógeno (Fib), que se han descrito en *Staphylococcus aureus* y reaccionan con proteínas de la matriz extracelular humana. El objetivo de este estudio fue determinar la presencia de estos factores de adhesión relacionados con la formación de biopelícula en *Staphylococcus*. Se caracterizaron fenotípica y genotípicamente 30 aislamientos clínicos de *Staphylococcus aureus* y *Staphylococcus epidermidis*, provenientes de pacientes inmunocomprometidos en tres instituciones hospitalarias de Bogotá. La producción de Biopelícula se determinó mediante Rojo Congo y Cristal violeta y mediante PCR convencional y múltiplex se amplificaron los genes *FnbA* y *B*, *ClfA* y *B* y *Fib*, así como los genes del operón *ica* *ADBC*. Los resultados obtenidos fueron, todos los aislamientos clínicos fueron positivos genotípica y fenotípicamente para la producción de Biopelícula, encontrándose la presencia del operón completo en el 88.9%, los factores *ClfA* y *ClfB* en un 70%; *Fib* en un 60%, *FnbB* en un 23% y *FnbA* en el 17%. Los autores concluyeron, En este estudio se evidenció la presencia de estos factores de virulencia en *S. epidermidis*, los cuáles hasta el momento se han reportado únicamente en *S.*

aureus. Este hallazgo es importante ya que se sugiere la relación con transferencia horizontal de genes entre estas especies, siendo el *S. epidermidis* un importante reservorio genético, y un importante patobionte causal de infecciones nosocomiales, asociado con dispositivos médicos.

Antecedentes Históricos

Han transcurrido más de 100 años desde que por primera vez Robert Koch en 1878 fue el primero en describir estafilococos en pus humano y en el año de 1880 Luis Pasteur los cultivó en medio líquido donde se observaron cocos en heridas y en pus procedente de abscesos humanos. Pero hasta 1880, fecha en la que Alexander Ogston publica sus datos donde mostraba la existencia de numerosas infecciones piogénicas causadas por cocos, no se empieza a utilizar el término *Staphylococcus*, nombre derivado de las palabras griegas staphyle y coccus cuyo significado etimológico es respectivamente, racimo de uvas y grano (Pedrari C, 2007).

Rosenbach en 1884, fue probablemente la primera persona que creció el *Staphylococcus* en un cultivo puro y que estudió sus características en el laboratorio. Observó que los aislados formaban dos tipos de colonias, únicamente diferenciables por el color: naranjas y blancas. Propuso el nombre de *Staphylococcus aureus* para la primera y *Staphylococcus pyogenes* para la segunda.(Murray, Rosenthal y Pfaller 2017).

Hucker en 1948, al realizar la revisión de la sexta edición del Manual de Bergey concluyó que los estafilococos y micrococos no eran distintos, dio prioridad al nombre genérico de *Micrococcus* e incluyó a los *Staphylococcus* dentro de éste género, a pesar de que el manual había reconocido al género *Staphylococcus* en todas sus ediciones anteriores, desde la primera a la quinta (1939). En este mismo año,

Abd-El-Malek y Gibson (1948) llamaron al grupo de *Staphylococcus* y micrococos “complejo *Staphylococcus-Micrococcus*, considerando a los *Staphylococcus* como patógenos y a los micrococos como saprofitos” (Murray, Rosenthal y Pfaller 2017).

Baird-Parker (1963), fue el primero en reconocer tipos específicos dentro del grupo heterogéneo de los SCN. Dividió a los *Staphylococcus* en seis subgrupos basándose en pruebas fisiológicas y bioquímicas; así, el subgrupo 1 contenía la especie *S. aureus*: coagulasa y fosfatasa positivas que generalmente producían ácido a partir de manitol aeróbica y anaeróbicamente; los subgrupos II hasta VI contenían una única especie: *S. epidermidis*, que se diferenciaba en la producción de fosfatasa y acetoína, así como en la capacidad de producir ácido aeróbicamente a partir de la lactosa, maltosa y manitol. En 1965, Baird Parker definió al subgrupo del II hasta el VI como biotipos del 1 al 5, e indicó que la mayoría de estos biotipos merecerían tener el rango de especies. Luego en la octava edición del Manual de Bergey, *Micrococcus saprophyticus* fue transferido al género *Staphylococcus*. En esta misma edición, basándose en la producción de acetoína, actividad fosfatasa y producción anaeróbica de ácido a partir de la lactosa, maltosa y manitol, se reconocen tres especies de *Staphylococcus*: *aureus*, *epidermidis*, biotipos 1-4, y *S. saprophyticus*. En las décadas de los años 80 y los 90 es donde tiene lugar la descripción de una gran cantidad de nuevas especies de SCN. Así Skerman y cols., en 1980, determinan la existencia de trece especies dentro del género *Staphylococcus*. La última reseña de una nueva especie de SCN la encontramos en 1995, año en el que Zakrzewska y colaboradores describen la especie *S. pulvereri* aislada tanto en hombre como en animales. En la actualidad, el género *Staphylococcus* comprende más de cuarenta especies diferentes. (Murray, Rosenthal y Pfaller 2017)

ANTECEDENTES TEÓRICOS

Bases teóricas

Aproximación teórica sobre el Género *Staphylococcus*

El género *Staphylococcus* está formado por cocos Gram positivos, con un diámetro de 0.5 a 1.5 μm , agrupados como células únicas, en pares, tétradas, cadenas cortas o formando racimos de uvas. Ogston introdujo el nombre de *Staphylococcus*, del griego *staphyle* que significa racimo de uvas, para describir a los cocos responsables de inflamación y supuración. Son bacterias no móviles, no esporuladas, no poseen cápsula, aunque existen algunas cepas que desarrollan una cápsula de limo, son anaerobias facultativas. La mayoría de los *Staphylococcus* producen catalasa (enzima capaz de desdoblar el peróxido de hidrógeno en agua y oxígeno libre); característica que se utiliza para diferenciar el género *Staphylococcus* de los géneros *Streptococcus* y *Enterococcus* que son catalasa negativos. Los *Staphylococcus* fueron clasificados inicialmente en un género común en la familia Micrococcaceae además de los géneros *Micrococcus*, *Stomacoccus* y *Planococcus*. Sin embargo, en estudios recientes se observaron diferencias con estos géneros, una de las principales es la cantidad de guanina-citocina (G+C de 30 a 39%), mientras que los *Micrococcus* tienen un contenido mayor de G+C de 63 a 73%. Los estudios de homología genética, secuenciación del DNA, hibridación DNA-rRNA, y la secuenciación comparativa del RNAr 16S, han permitido demostrar que los géneros *Staphylococcus* y *Micrococcus* están poco relacionados. Por otro lado, la pared celular de los *Staphylococcus* tienen unidos los ácidos teicoicos, los cuales no existen en los micrococcos; otra diferencia es la composición del citocromo y menaquinona de la cadena respiratoria presentes en los *Staphylococcus*. Estudios recientes demuestran que el género *Staphylococcus* se encuentra más cercano a los géneros *Bacillus* y *Streptococcus*. El género

Staphylococcus contiene 32 especies, de las cuales 16 de ellas se localizan en los humanos, algunas forman parte de la microbiota de piel y mucosas en humanos, y otras se encuentran sólo entre la flora de otros mamíferos y aves. Algunas de estas especies son patógenas cuando existe predisposición e inmunosupresión en el huésped o en presencia de cuerpos extraños. Por lo general, cada especie tiende a ocupar una localización anatómica específica en el huésped que coloniza. Entre las especies que colonizan al humano, las de mayor importancia clínica son: *S. aureus* y *Staphylococcus lugdunensis*; en tanto que en animales se encuentra además de *S. aureus* a *Staphylococcus intermedius*. El *Staphylococcus epidermidis* y el *Staphylococcus saprophyticus* son comúnmente responsables de infecciones relacionadas con dispositivos e infecciones del tracto urinario, siendo éstos menos infecciosos que *S. aureus*. Algunas especies tienen preferencia por sitios específicos, los cuales son indicados por su nombre como *Staphylococcus epidermidis* que coloniza la piel, *Staphylococcus capitis* que coloniza el cuero cabelludo, el *S. aureus* se encuentra ampliamente distribuido entre los primates, pero no está restringido únicamente a ellos; por ejemplo, les produce mastitis en el ganado bovino y ovino. En el hombre, la localización nasal del *S. aureus* permite su diseminación y, como consecuencia, la multirresistencia a los antibióticos como a la meticilina. (Cervantes-García E, García-González R y Salazar-Schettino. 2014).

Aproximación teórica sobre las Principales especies de *Staphylococcus coagulasa* negativo

Las especies más frecuentemente involucradas en patología humana son: *Staphylococcus epidermidis*, *S. haemolyticus* y *S. saprophyticus* que, en conjunto, alcanzan hasta 80% de los casos; el resto se debe a colonización por *S. lugdunensis*, *S. hominis*, *S. warneri*, *S. simulans*, *S. capitis*, *S. auricularis*, *S. cohnii* y

otros. La patogenicidad de SCN varía entre las diferentes especies; así, (Thean Yen Tan et al.,2006) identificaron a *S. lugdunensis* como la especie más virulenta, con 91% de los aislados asociados con infecciones clínicamente significativas (Fariña et al., 2013).

Tabla N°1. Identificación de las diferentes especies aisladas según origen de la muestra

	Orina	Secreciones purulentas, abscesos, heridas	Hemocultivos, punta de catéteres, huesos	Total
<i>S. epidermidis</i>	10 (45.5%)	7 (25.9%)	9 (60.0%)	26
<i>S. haemolyticus</i>	6 (27.3%)	5 (18.5%)	2 (13.3%)	13
<i>S. lugdunensis</i>	0	10 (37.0%)	0	10
<i>S. capitis</i>	3 (13.6%)	0	2 (13.3%)	5
<i>S. warneri</i>	1 (4.5%)	1 (3.7%)	1 (6.7%)	3
<i>S. caprae</i>	1 (4.5%)	1 (3.7%)	0	2
<i>S. simulans</i>	0	2 (7.4%)	0	2
<i>S. xylosus</i>	1 (4.5%)	1 (3.7%)	0	2
<i>S. hominis</i>	0	0	1 (6.7%)	1
Total	22	27	15	64

Fuente: Fariña et al. 2013

Aproximación teórica sobre el Diagnóstico Microbiológico

Actualmente, la identificación bacteriana se realiza por medio de métodos convencionales, basados en las características fenotípicas que se basan en las características observables de las bacterias, como su morfología, desarrollo, propiedades bioquímicas y metabólicas, además de que se trata de pruebas sencillas y de bajo costo. El sitio y tipo de infección es de gran ayuda en la identificación del microorganismo así como la experiencia del microbiólogo que también juega un papel importante para la elección de una prueba o una batería de pruebas, el método diagnóstico de elección más factible es el cultivo, ya que permite el aislamiento del microorganismo implicado, su identificación y el estudio de sensibilidad a los antimicrobianos (Fernández et al., 2010).

www.bdigital.ula.ve

Inicialmente se seleccionan aquellas que se consideran pruebas primarias, que son rápidas y sencillas de realizar, como la morfología en la tinción de Gram u otras tinciones, crecimiento en varios tipos de medios de cultivo, un ejemplo de ello son los medios que son diferenciales y selectivos al mismo tiempo, es el caso del agar manitol, selectivo para bacterias del género *Staphylococcus* y diferencial para *Staphylococcus aureus* (fermenta el manitol y sus colonias aparecen de color amarillo sobre el agar como resultado de la acidificación del medio). Para la identificación del género *Staphylococcus* se utilizan pruebas, con lectura inmediata como la prueba de la catalasa, una enzima presente en la mayoría de los microorganismos que poseen citocromos. Las bacterias que sintetizan catalasa hidrolizan el peróxido de hidrógeno en agua y oxígeno gaseoso que se libera en forma de burbujas, el principal objetivo de esta prueba es separar *Staphylococcus* (positiva) de *Streptococcus* spp y *Enterococcus* spp. (negativa). Otra prueba de lectura rápida es la coagulasa que permite determinar la capacidad de coagular el plasma por la acción de la enzima

coagulasa, se utiliza para diferenciar *S. aureus* (coagulasa positivo) de otras especies de *Staphylococcus* (coagulasa negativo) (Fernández et al., 2010).

Aproximación teórica sobre los Factores de Virulencia

Los factores de virulencia son los mecanismos con los que cuenta un microorganismo para ingresar al organismo, invadir los tejidos y provocar alguna infección. La virulencia está fundamentalmente relacionada con la capacidad de ciertas cepas de expresar adhesinas y formar biofilms en los dispositivos protésicos y catéteres, en cuya intimidad los microorganismos se agregan y forman macro colonias que crecen protegidas de la acción de antibióticos, anticuerpos, y del resto de los mecanismos de defensa del huésped. También pueden sintetizar enzimas como lipasas, proteasas, hemolisinas y demás exoenzimas que degradan los tejidos y contribuyen a la persistencia de la infección (Pedrari C., 2007).

Estos microorganismos cuentan con la capacidad de colonizar e infectar humanos ya que poseen estrategias para permitir la adhesión, la agresión, la invasión, la persistencia y la evasión de la inmunidad innata y adaptativa. Sin embargo, en comparación con *S. aureus*, se sabe menos sobre mecanismos de virulencia responsables de la agresión en SCN, con excepción de la expresión de adhesinas por parte de *S. epidermidis* (Beker, Heilmann y Peters, 2014).

Tabla N°2. Factores de virulencia de SCN

Hemolisinas	DNASA	Producción de Ureasa
La α-hemolisina tiene efectos letales sobre una gran variedad de tipos celulares, incluidos los leucocitos polimorfonucleares y eritrocitos. La β-hemolisina es una esfingomielinasa activa en una gran variedad de células ya que es una exotoxina proteica que tiene actividad hemolítica. La δ-hemolisina actúa como un agente tensoactivo que rompe la membrana celular, por lo cual posee actividad hemolítica lisando células de forma eficiente	Actúa como una enzima hidrolítica reduciendo la viscosidad de los residuos de células muertas del hospedero (pus) y por lo tanto, ayuda a la propagación de la bacteria a un área más extensa de daño en el hospedero.	La ureasa es una enzima que cataliza la hidrolisis de urea a amonio y carbamato, este último se hidroliza espontáneamente y genera bicarbonato y un segundo ion amonio. La actividad de la ureasa permite que las bacterias sobrevivan a ambientes ácidos, condición que impera en los tejidos preferentemente colonizados por estas bacterias, de allí que la ureasa juega un papel importante en la patogénesis de estas bacterias. Durante la colonización del tracto urinario, el amonio producido por la actividad ureasa causa daño celular e inflamación, condición que favorece el establecimiento de la infección.

Fuente: Fariña et al., 2013; Aguirre et al. 2016

Tabla N°3. Pruebas bioquímicas de identificación de *S. aureus* y algunas especies de SCN

	<i>S. aureus</i>	<i>S. epidermidis</i>	<i>S. schleiferi</i>	<i>S. haemolyticus</i>	<i>S. lugdunensis</i>
Clumping factor	+	-	+	-	+
DNAasa	+	-	+	-	-
Coagulasa en porta	+	-	+	-	+
Coagulasa en tubo	+	-	-	-	-
Fosfatasa alcalina	+	+	+	-	-
PYR	-	-	+	+	-
ODC	-	V	-	-	+
Ureasa	V	+	+	-	V
B-galactosidasa	-	-	+	-	-

Símbolos. -: prueba negativa; +: prueba positiva; V: variable. Abreviaturas en el texto. **Fuente:** Molinos S y Gimenez M. (2006)

Biofilm (Biopelícula)

Las biopelícula son comunidades microbianas complejas que contienen bacterias y hongos, su función es proteger a los microorganismos de las amenazas externas. Los microorganismos sintetizan y secretan una matriz de protección que adhiere firmemente la biopelícula a una superficie biótica o abiótica, pueden consistir en una sola especie bacteriana o fúngica o, más comúnmente, pueden ser polimicrobiana, es decir, contienen muchas especies distintas. Al nivel más básico, una biopelícula puede describirse como un conjunto de bacterias incrustadas en una barrera densa y viscosa de azúcares y proteínas (Phillips et al. 2010).

En el biofilm, los aglomerados de células bacterianas están encerrados en un medio extracelular amorfo el cual consta de un material compuesto de productos bacterianos, tales como ácidos teicoicos, proteínas, polisacáridos, ADN extracelular y productos hospedadores. Para facilitar la adhesión intercelular, los miembros del género *Staphylococcus* producen diversas proteínas y no proteínas adhesinas; las adhesinas proteínicas se agrupan en proteínas covalentemente ancladas en la superficie, también denominadas células (CWA), incluyendo las autolisinas, a su vez las adhesinas no proteínicas incluyen la adhesina intercelular de polisacárido (PIA), también conocida como poli-N-acetilglucosamina, así como los ácidos teicoicos y lipoteicoicos. Por su parte la adhesión a las superficies abióticas está determinada por las propiedades superficiales de las bacterias y los cuerpos extraños, se trata de fuerzas fisicoquímicas tales como interacciones hidrofóbicas, fuerzas de van der Waals y cargas, estas interacciones pueden estar mediadas por las proteínas CWA que están covalentemente unidas al peptidoglicano (Beker, Heilmann y Peters, 2014).

La adherencia inicial se atribuye a las proteínas bacterianas tales como la adhesina autolisina (AtlE) de *S. epidermidis*, dicha proteína se divide en dos dominios activos como el complejo amidasa (AM) y una glucominidasa (GL), en la porción central de la proteína contiene tres repeticiones (R1, R2 y R3) que parecen mediar la orientación de la superficie celular bacteriana. La adhesión inicial probablemente no sólo es mediada directamente por la proteína AtlE, sino también indirectamente, a través de su enzima la cual hidroliza la pared celular de peptidoglicano que conduce a la autólisis y por lo tanto a la liberación de DNA, que es un componente importante de los biofilms estafilocócicos, lo que sugiere que el DNA es de gran importancia como una matriz durante las primeras etapas de la formación de biofilm de *S. epidermidis*. La adhesión a las superficies bióticas tiene lugar poco después de la inserción o implantación de un dispositivo médico ya que

este se cubre con proteínas del plasma, tales como fibrinógeno, fibronectina, trombospondina, colágeno, vitronectina o con células del huésped, tales como plaquetas por lo cual algunos de estos factores del huésped pueden servir como receptores para fijar específicamente estafilococos que expresan las respectivas adhesinas sobre la superficie celular, así en la última etapa del proceso de adhesión de SCN in vivo los factores del huésped pueden ser cruciales (Beker, Heilmann y Peters, 2014).

Formación de Biopelículas

En la primera fase ocurre la adhesión reversible a la superficie, los microorganismos normalmente se perciben como seres solitarios que flotan libremente, es decir, en estado planctónico. Sin embargo, en condiciones naturales, la mayoría de microorganismos tiende a adherirse a superficies y finalmente conforman las biopelícula. La adherencia inicial esta mediada por una adhesina polisacárida llamada (PS/A) la cual, se trata de un polímero de galactosa-arabinosa de alto peso molecular y otras proteínas de superficie (SSP-1, SSP-2, Bhp) (Phillips et al. 2010). En la segunda fase ocurre la adhesión irreversible a la superficie a medida que las bacterias se multiplican, se adhieren más firmemente y se diferencian, cambiando los patrones de expresión génica en formas que promueven la supervivencia, esto suele ser el resultado de un tipo de comunicación bacteriana conocida como detección de quórum o de autoinducción. (Phillips et al. 2010).

En la tercera fase se forma una biopelícula o matriz protectora viscosa, una vez bien adheridas, las bacterias comienzan a segregar una matriz circundante conocida como sustancia polimérica extracelular (SPE), se trata de una matriz protectora o “limo”. A partir de ahí, las pequeñas colonias bacterianas empiezan a

formar una biopelícula inicial, la composición exacta de la SPE varía según los microorganismos presentes, pero por lo general, consta de polisacáridos, proteínas, glucolípidos y ADN bacteriano, se cree que el ADN bacteriano que liberan las bacterias vivas o muertas proporciona un componente estructural importante para la matriz de la SPE de la biopelícula (Phillips et al. 2010).

Varias proteínas y enzimas secretadas facilitan la adhesión a la herida, de esta manera el biofilm crece y madura en una capa gruesa y estructurada. Un biofilm maduro contiene canales que están llenos de líquido para asegurar la entrada de oxígeno y nutrientes a las células bacterianas localizadas en las capas más profundas de la biopelícula (Beker, Heilmann y Peters, 2014).

Las biopelículas se forman de manera rápida ya que las bacterias planctónicas se adhieren al cabo de unos minutos, formando micro colonias fuertemente adheridas, en un plazo de 2 a 4 horas desarrollan la SPE inicial y presentan cada vez más resistencia a los antibióticos, antisépticos y desinfectantes, en un plazo de 6 a 12 horas evolucionan en colonias de biopelícula maduras extremadamente resistentes y excretan bacterias planctónicas (Phillips et al. 2010).

La virulencia está fundamentalmente relacionada con la capacidad de ciertas cepas de expresar adhesinas y formar biopelícula (*slime*) en los dispositivos protésicos y catéteres, en cuya intimidad los microorganismos se agregan y forman macro colonias que crecen protegidas de la acción de antimicrobianos, anticuerpos, y de otros mecanismos de defensa del hospedero. La producción de esta biopelícula es considerada un factor importante de virulencia en algunas cepas de SCN habiéndose reportado mayor dificultad en erradicar una infección crónica asociada a este fenómeno como también la frecuente asociación con una disminución de la

susceptibilidad a los antimicrobianos. Además los SCN pueden sintetizar enzimas como lipasas, ADNasas, term nucleasas, hemolisinas y demás exoenzimas que degradan los tejidos y contribuyen a la persistencia de la infección. (Fariña et al., 2013).

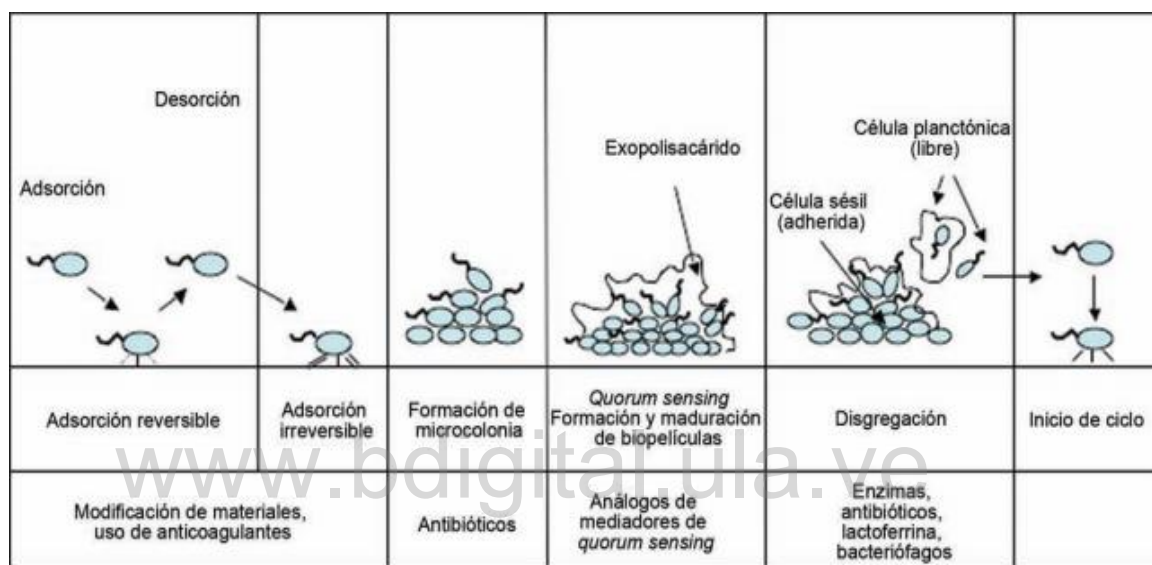


Figura 1; Fases de formación de biopelícula y estrategias de dispersión. La formación de biopelícula ocurre como una serie de eventos secuenciales que dependen de la interacción de microorganismos sobre superficies inertes o vivas, venciendo las fuerzas de repulsión hasta lograr la adsorción irreversible seguida de la formación de una micro colonia. Al alcanzar una densidad de población determinada, se induce la síntesis de metabolitos secundarios (quorum sensing) que produce la formación de un exopolisacárido hasta lograr la maduración de la biopelícula. La disgregación permite la formación de una nueva colonia o su eliminación. Se muestran las opciones de tratamiento según la fase de desarrollo de la biopelícula. (Castillón L, Palma Alejandro y Padilla M. 2010).

Aproximación teórica sobre las Infecciones asociadas a la Microbiota Bacteriana

Algunos sitios anatómicos presentan un recubrimiento especial con bacterias conocidas como microorganismos saprofitos, los cuales se aprovechan de los nutrientes que les proporciona el hospedero sin causarle daño alguno; estos microorganismos actúan por inhibición competitiva y ocupación de un sitio anatómico determinado en los cuales generalmente impiden la colonización por otros microorganismos patógenos que puedan alterar la arquitectura e integridad de los epitelios. Un ejemplo lo establecen los cocos Gram positivos, los cuales en su mayoría hacen parte de la microbiota normal de la piel y de gran cantidad de sitios anatómicos, entre ellos especialmente los denominados SCN como *S. saprophyticus* y *S. epidermidis*, relacionados ampliamente con infecciones del tracto urinario, pero solo se establecen como importantes durante el diagnóstico cuando el paciente presenta una sintomatología claramente definida o un recuento mayor a 100.00 UFC/mL en cultivos cuantitativos de orina. (Puerta et al., 2014).

Aproximación teórica sobre el Tracto Genital Masculino

El sistema reproductor masculino está formado por un conjunto de órganos: testículos, epidídimo, conductos deferentes, vesícula seminal, conducto eyaculador, próstata y pene, este conjunto de estructuras cumplen un rol importante en el proceso de reproducción del hombre destacándose el espermatozoide, célula altamente especializada encargada de llevar el material genético paterno hasta el tracto reproductivo femenino en búsqueda del ovocito, no obstante durante su desplazamiento puede interactuar con sustancias, otras células e incluso microorganismos que puede transportar desencadenando procesos infecciosos, ocasionando consecuencias que alteran el éxito reproductivo. (Puerta et al., 2014).

Diferentes factores etiológicos están implicados en la alteración funcional del tracto genital masculino, entre los cuales se destacan los procesos infecciosos de tipo bacteriano, los cuales producen diversas patologías: orquitis, uretritis, prostatitis y epididimitis ocasionando deterioro de la función espermática. (Puerta et al., 2014).

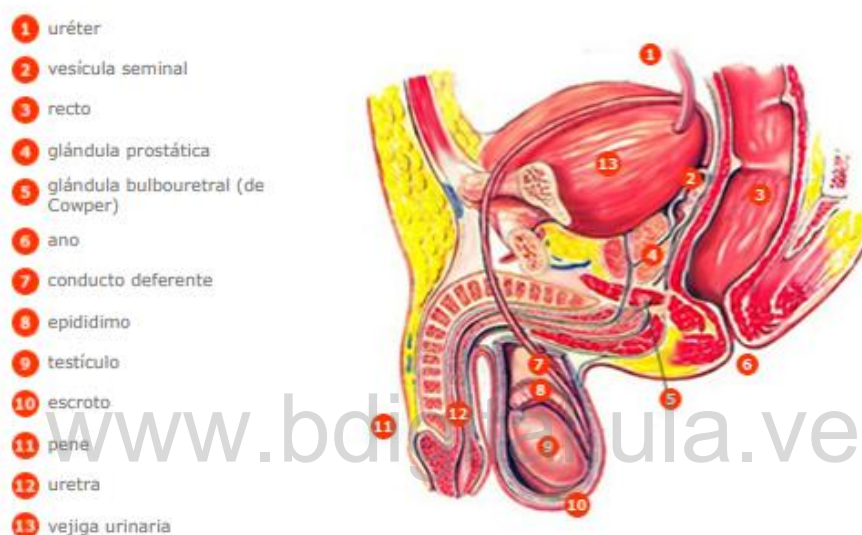


Figura 2. Aparato reproductor masculino. (Thibodeau GA y Patton KT. 1998)

Las infecciones bacterianas en los hombres son una causa común de infertilidad. La infección bacteriana de los órganos del aparato reproductor puede afectar la producción de espermatozoides o causar obstrucción de los tubos que transportan el espermatozoides, causando la infertilidad (Puerta et al, 2014).

La Organización Mundial de la Salud (OMS) define la infección como la presencia de más de 1.000 bacterias por ml de semen. La presencia de un gran número de leucocitos polimorfo nucleares en el semen (más de un millón por ml) también puede indicar que hay una infección.

Definición operacional de términos

Infecciones urinarias

En las personas sanas, la orina de la vejiga es estéril, no hay en ella bacterias ni otros microorganismos infecciosos. El conducto que lleva la orina desde la vejiga hacia el exterior del cuerpo (uretra) no contiene bacterias o contiene muy pocas, por lo que no es posible que causen infección. Sin embargo, cualquier segmento de las vías urinarias puede infectarse; la infección en cualquier punto a lo largo de las vías urinarias se denomina infección urinaria (IU) (Talha, 2020). Por lo general, las infecciones urinarias se clasifican en altas y bajas (ver tablas 3 y 4) según el lugar de las vías urinarias donde se producen, aunque a veces a los médicos les resulta difícil e incluso imposible determinar el lugar exacto.

Uretritis

La uretritis es la infección de la uretra, el conducto que transporta la orina desde la vejiga hacia el exterior del cuerpo que puede ser causada por bacterias, hongos o virus. Tanto en hombres como en mujeres la micción suele ser dolorosa y la necesidad de orinar se vuelve más frecuente y urgente, en algunos casos se pueden presentar secreción mucosa ((Talha, 2020).

Tabla N°4. Tracto urinario bajo

Sitio Anatómico		Situación Clínica	Agente etiológico
TRACTO	Uretra	Uretritis	<i>Escherichia coli</i> <i>Chlamydia</i> <i>Neisseria gonorrhoeae</i>
		Síndrome uretral	<i>Candida spp</i> <i>Trichomonas</i> Virus del herpes simple
	Vejiga	Cistitis	<i>Escherichia coli</i> <i>Klebsiella y Proteus</i> <i>Staphylococcus saprophyticus</i> <i>Serratia marcescens</i> <i>Pseudomonas aeruginosa</i> <i>Enterococcus faecalis</i>
	Próstata	Prostatitis	<i>Enterococcus spp</i> <i>Escherichia coli</i> <i>Klebsiella pneumoniae</i> <i>Proteus mirabilis</i> <i>Pseudomona aeruginosa</i> <i>Staphylococcus aureus</i>

Fuente; Puerta et al., 2014

Tabla N°5. Tracto urinario alto

TRACTO URINARIO ALTO	Uréteres	Uretritis	<i>Neisseria gonorrhoeae</i> <i>Chlamydia trachomatis</i> <i>Mycoplasma genitalium</i>
	Riñón	Pielitis y Pielonefritis enfisematosa	<i>Corynebacterium urealyticum</i> <i>Escherichia coli</i> <i>Klebsiella</i> spp <i>Proteus</i> spp
		Pielonefritis aguda	<i>Escherichia coli</i> <i>Klebsiella</i> spp <i>Proteus</i> spp <i>Enterococcus</i> spp <i>Streptococcus agalactiae</i> <i>Staphylococcus</i> spp
		Glomerulonefritis	<i>Streptococcus pyogenes</i> <i>Staphylococcus</i> spp <i>Salmonella</i> spp <i>Mycoplasmas</i> spp <i>Klebsiella</i> spp

Fuente; Puerta et al., 2014

Prostatitis

La prostatitis se refiere a un grupo dispar de trastornos prostáticos que se manifiestan con una combinación de síntomas urinarios principalmente irritativos u obstructivos y dolor perineal. Algunos casos se deben a una infección bacteriana de la próstata y otros, más frecuentes, a una combinación poco comprendida de factores inflamatorios no infecciosos o espasmo de músculos del diafragma urogenital. El diagnóstico es clínico, junto con la observación microscópica y el cultivo de muestras de orina obtenidas antes y después de un masaje prostático. Se desconoce cómo estos patógenos entran en la próstata y la infectan. Las infecciones crónicas pueden estar causadas por bacterias atrapadas que los antibióticos no han erradicado.

La prostatitis se clasifica en 4 categorías. Estas categorías se diferencian por las manifestaciones clínicas y por la presencia o ausencia de signos de infección e inflamación en 2 muestras de orina. La primera muestra corresponde al chorro medio de la micción. Luego se realiza un masaje prostático digital, y el paciente orina inmediatamente; los primeros 10 mL de orina constituyen la segunda muestra. La infección se define como el crecimiento bacteriano en el urocultivo; la inflamación se define como la presencia de leucocitos en la orina. Se desaconseja el uso del término prostatodinia para la prostatitis sin inflamación, típicamente involucran algún grado de irritación u obstrucción urinaria y dolor. La irritación se manifiesta con polaquiuria y tenesmo, obstrucción, sensación de vaciamiento incompleto de la vejiga, necesidad de orinar nuevamente poco después de haberlo hecho o nocturia. El dolor típico se presenta en el periné, pero puede percibirse en el extremo del pene, la zona lumbar o los testículos. Algunos pacientes informan sentir dolor durante la eyaculación.

Entre las categorías de mayor interés tenemos:

La **prostatitis bacteriana aguda** a menudo causa síntomas sistémicos como fiebre, escalofríos, malestar y mialgias. La próstata está extremadamente sensible al dolor y edematosa en forma focal o difusa, pastosa, indurada, o una combinación. Puede producirse un síndrome de sepsis generalizada, caracterizado por taquicardia, taquipnea y, a veces, hipotensión.

La **prostatitis bacteriana crónica** se manifiesta con episodios recurrentes de infección con o sin resolución completa entre los brotes. Los signos y síntomas tienden a ser más leves que en la prostatitis aguda.

La **prostatitis crónica/síndrome de dolor pélvico crónico** típicamente se manifiesta con dolor como síntoma principal, a menudo incluyendo dolor durante la eyaculación. La incomodidad puede ser muy importante, y a menudo interfiere con la calidad de vida del paciente. Pueden presentarse síntomas de irritación u obstrucción urinaria. En el examen, la próstata puede ser dolorosa, pero en general no se la nota pastosa ni edematosa. Clínicamente, los tipos inflamatorio y no inflamatorio de la prostatitis crónica/síndrome de dolor pélvico crónico son similares (Gerald A, 2019)

Epididimitis

La epididimitis consiste en un proceso inflamatorio y/o infeccioso localizado en el epidídimo testicular, que en caso de progresar puede extenderse al testículo, denominándose orquiepididimitis. En la mayoría de los casos en pacientes menores de 35, los agentes son *Neisseria gonorrhoeae* y *Chlamydia trachomatis*, y la infección suele comenzar como una uretritis. Las causas no bacterianas son poco habituales. El diagnóstico es fundamentalmente clínico, sin embargo debe considerarse la posibilidad de una torsión testicular y realizarse una ecografía para

descartarlo. Clínica habitual: escroto hinchado, hiperémico, dolor testicular a menudo localizado, síndrome miccional y tenesmo, dolor en parte inferior del abdomen y secreción uretral. Para el tratamiento habitualmente se emplean antibióticos de amplio espectro, como ceftriaxona + doxiciclina, o levofloxacin, junto a antiinflamatorios (Cifuentes et al., 2018)

Orquitis

Se define como la inflamación del testículo, es muy común en hombres sexualmente activos por *C. trachomatis* y *N. gonorrhoeae* y en hombres mayores con menor actividad sexual y con antecedentes de patología obstructiva urinaria o instrumentación reciente debido a patógenos urinarios como *E. coli*, *Pseudomonas* y SCN. En cuanto a síntomas el paciente describe hemospermia, secreción a través del pene, fiebre, dolor inguinal, dolor en la relación sexual o durante la eyaculación, disuria, inflamación del escroto, área inguinal inflamada, testículo sensible, inflamado y con sensación de pesadez, dolor testicular que empeora por las defecaciones o el esfuerzo al defecar (Borregales, Giordano y Contreras, 2011).

Operacionalización de variables

Tabla N°6: Operacionalización de variables

variable	Definición conceptual	Definición operacional	Dimensiones	Indicadores
Variable independiente <i>Staphylococcus coagulasa negativo</i>	Son cocos Gram positivos, agrupados en pare, tétradas, cadenas, forma de racimos de uvas. No son móviles, no esporuladas, no poseen capsula, son anaerobios facultativos. Producen catalasa, coagulasa negativo.	Son colonizantes habituales de la piel y las mucosas y han recibido nombres como <i>Staphylococcus epidermidis</i> y <i>Staphylococcus saprophyticus</i> que pueden llevar a la creencia que no causan enfermedades	- Coloración de Gram. - Medios de cultivos, diferencial y selectivo - Prueba de la catalasa y coagulasa.	- Morfología - Diferencial de género y especie
Variable dependiente <i>Factores de virulencia</i>	Son los mecanismos con los que cuenta un microorganismo para ingresar al organismo, invadir los tejidos y provocar alguna infección.	Son moléculas producidas por un patógeno, que influye específicamente en las funciones del hospedante, para permitir al patógeno crecer; eso aumenta su efectividad y les permite lograr la colonización de un nido en el huésped.	- Capacidad de ciertas cepas de expresar adhesinas y formar Biofilm - Formación de macro colonias	- Hemolisinas - DNAsa - Ureasa - Biofilm

FUENTE: Alviárez, Suárez y Torres 2021

CAPÍTULO III

MARCO METODOLÓGICO

En este capítulo se presenta de forma detallada cada uno de los aspectos relacionados con la metodología que se seleccionó para llevar a cabo la investigación. Al respecto Arias (2006) afirma que: “La metodología del proyecto incluye el tipo o tipos de investigación, las técnicas y los instrumentos que serán utilizados para llevar a cabo la indagación”; es el cómo se realizó el estudio para responder al problema planteado”.

Tipo de Investigación

Pertenece al tipo de investigación evaluativa. La cual Hurtado (2010), refirió que “su objetivo es evaluar los resultados de uno o más programas, que han sido, o están siendo aplicados dentro de un contexto determinado”. Este tipo de investigación se diferencia de la confirmatoria en que los resultados que intenta obtener son más específicos y se orientan hacia la solución de un problema concreto en un contexto social o institucional determinado”.

Por consiguiente, la investigación planteada es de tipo Evaluativa, ya que consistió en indagar si los objetivos que se plantearon fueron o no alcanzados, y descubrir cuales aspectos del proceso contribuyeron o entorpecieron el logro de dichos objetivos.

Diseño de la Investigación

Arias Fidias, (2012), “el diseño de investigación es la estrategia general que adopta el investigador para responder al problema planteado”. Con base a esto, se recolectaron datos en la realidad directamente del fenómeno para así analizar la causa-efecto del SCN sobre el tracto genital masculino, por lo tanto se realizó un diseño experimental, el cual, según Arias (2012), define la investigación experimental como un proceso que consiste en someter a un objeto o grupo de individuos, a determinadas condiciones, estímulos o tratamiento (variable independiente), para observar los efectos o reacciones que se producen (variable dependiente). Es decir, se pretende establecer con precisión una relación causa-efecto.

Población y Muestra

Población: Conjunto de pacientes del centro diagnóstico de infertilidad y enfermedades ginecológicas CEDIEG de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis de la Universidad de los Andes.

Muestra: Líquido espermático proveniente del centro diagnóstico de infertilidad y enfermedades ginecológicas CEDIEG de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis de la Universidad de los Andes, que firmaron estar de acuerdo con la participación en la investigación.

Unidad de investigación

La unidad de estudio estuvo representada por cepas de SCN previamente identificadas de espermocultivos provenientes de pacientes masculinos en edad fértil

que acudieron a consulta en el centro diagnóstico de infertilidad y enfermedades ginecológicas CEDIEG de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis de la Universidad de los Andes.

Criterios de inclusión:

Muestras de líquido seminal de paciente que asistieron al centro diagnóstico de infertilidad y enfermedades ginecológicas CEDIEG de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis de la Universidad de los Andes.

- Los pacientes no deben estar recibiendo tratamientos médicos que puedan alterar los resultados de dicho estudio.
- Pacientes con edades comprendidas entre 15 y 60 años.

Criterios de exclusión:

- Pacientes menores de 15 años.
- Pacientes mayores de 60 años.
- Pacientes que no deseen participar en dicha investigación

Selección del tamaño muestral

El tamaño de la muestra se seleccionó a conveniencia, es decir, se analizaron un número de muestras de acuerdo a la disponibilidad de reactivos en el laboratorio. Por lo tanto se tomó la decisión de trabajar con 9 cepas de SCN provenientes de una colección previamente identificada proveniente de pacientes masculinos en edad fértil.

Procedimiento o Metodología

Cepas bacterianas

Se identificaron a nivel de especie 9 cepas de SCN, aisladas de las muestras de semen de pacientes que asistieron a la consulta en el Centro de Diagnóstico de Infertilidad y Enfermedades Ginecológicas (CEDIEG) "Dr. Giovanny Vivas Acevedo", con problemas de infertilidad, durante el período enero 2015 – diciembre 2016. Y como cepa de referencia se utilizó *S. aureus* ATCC 25923.

Reactivación de las cepas bacterianas

Las cepas de SCN se reactivaron en caldo infusión cerebro corazón (BHI de sus siglas en inglés), a partir del agar conservación descrito por (Weng, Junco y Díaz 2003), el cual se encontraba a temperatura ambiente. Los caldos BHI inoculados con cada cepa se incubaron a 37 °C durante 24 horas, luego se sembraron en agar manitol salado para verificar pureza, posteriormente se mantuvieron en agar tripticasa soya (TS) para realizar todas las pruebas.

Identificación de los aislados clínicos

La identificación de los aislados clínicos se realizó empleando el sistema comercial API® STAPH(BioMérieux). El sistema miniaturizado API® STAPH es un método rápido que permite la identificación a nivel de especie de miembros del género *Staphylococcus*, a través de la realización de diferentes pruebas bioquímicas con sustratos deshidratados contenidos en microtubos individuales en una tira comercial.

El API®STAPH consta de 20 micro tubos, incluye la producción de ácido a partir de: D-glucosa, D-trehalosa, D-manitol, D-manosa, xilosa, maltosa, lactosa, sucrosa, N-acetilglucosamina, raffinosa, D-fructosa, D-melibiosa, xilitol y metilglucosamina; reducción de nitrato, fosfatasa alcalina, arginina dihidrolasa, ureasa y producción de acetoina.

La inoculación de los micro tubos y las condiciones de incubación y lectura se realizaron según las instrucciones del fabricante, las cuales se describen a continuación: Cada micro tubo del sistema se inoculó con una suspensión de cada aislado clínico de SCN (cultivo fresco) en solución salina al 0,85%, con una turbidez equiparable al Patrón de Mac Farland N° 0,5 ($1,5 \times 10^8$ UFC/mL). En algunos casos estos micro tubos se llenaron completamente con la suspensión, mientras que en otros se requirió del añadido de parafina líquida estéril, que proporcionó las condiciones anaeróbicas necesarias. Previo a la inoculación, al envase donde se colocó la galería se le adicionó agua para proporcionar la humedad requerida. La galería se incubó a 37 °C durante 24 horas.

La presencia de enzimas y/o de productos metabólicos generados durante el Período de incubación reaccionaron con los sustratos contenidos en los micro tubos y desarrollaron en los mismos una coloración que pudo aparecer en forma espontánea o con el agregado del reactivo para su revelado. La interpretación de los resultados se basó en la observación de las coloraciones desarrolladas, ésta se llevó a cabo mediante la comparación del color obtenido en cada micro tubo con el que muestra la carta de colores. De acuerdo a esa interpretación se logró establecer un resultado positivo (+) o negativo (-) como se observa en la Fig. 1.

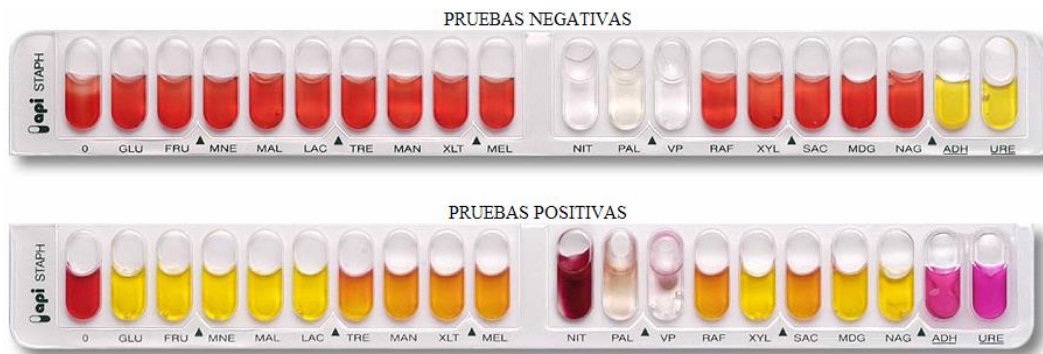


FIGURA 3. Resultado de las pruebas positivas y negativas para el sistema comercial API® STAPH (BioMérieux).

Después del periodo de incubación y comparar, con la carta de colores, los resultados obtenidos en cada microtubo se colocaron en la hoja de resultados que suministra el fabricante (Fig. 3).

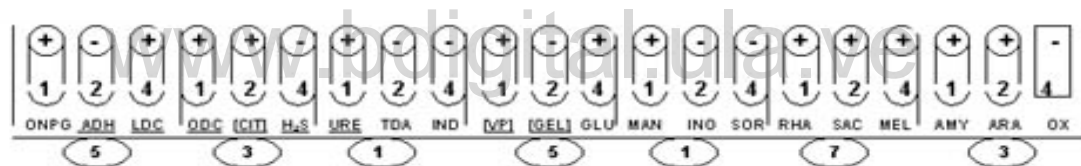


FIGURA 4. Ejemplo de la hoja de resultados de un sistema API®.

Los datos así obtenidos pueden transformarse en un código de 7 dígitos denominado “perfil numérico” que resulta de la suma de los valores correspondientes a las pruebas positivas asignados previamente en la planilla. El código obtenido se corresponderá a un determinado género o especie de acuerdo a la información contenida en las bases de datos suministradas por el fabricante y que pueden encontrarse disponibles en forma impresa y/o electrónica.

Determinación de la coagulasa

Esta prueba se emplea para determinar y diferenciar especies dentro del género *Staphylococcus*, así como para probar la existencia de *Staphylococcus aureus*. Dicho microorganismo tiene la capacidad de coagular dicha enzima. La coagulasa es un factor de agregación y constituye una prueba muy sensible y específica para esta bacteria. Esta proteína representa un importante factor de virulencia. La coagulasa puede unirse al fibrinógeno y convertirlo en fibrina insoluble, la cual tiende a formar depósitos donde los *Staphylococcus* pueden agregarse. La prueba puede hacerse de dos maneras: en portaobjeto, en la cual la solución se ha tratado previamente con ácido etilendinitrilo tetraacético (EDTA) y plasma de conejo. Por otra parte, la prueba se puede realizar en tubo, para lo cual se inoculan 0.5 ml de una dilución de plasma de conejo con la colonia sospechosa. (Zendejas-Manzo, Avalos-Flores & Soto-Padilla, 2014)

Determinación de la catalasa

Seguidamente, al observar la presencia de cocos Gram positivos se realizó la prueba clave para este grupo de microorganismos “prueba de la catalasa”, permitiendo diferenciar las catalasas positivas de las catalasas negativo, siendo de interés para efectos de esta investigación las bacterias catalasa positivas correspondientes al género *Staphylococcus*.

Se utiliza para probar la capacidad del microorganismo para producir la enzima catalasa, la cual facilita la conversión de peróxido de hidrógeno en agua y oxígeno, siendo de utilidad para evitar la formación de radicales tóxicos por el sistema de la mieloperoxidasa en las células fagocíticas. La prueba es positiva cuando la bacteria

reacciona produciendo la liberación de burbujas, que es la característica dada por la descomposición del peróxido de hidrógeno en agua y oxígeno.(Zendejas et al., 2014)

Método del portaobjetos:

Es una prueba de rutina de la catalasa a temperatura ambiente. Procedimiento En un portaobjetos se depositan una o dos gotas de agua oxigenada al 30% y se pone en contacto con ella una colonia de los microorganismos a estudiar. La muestra se recoge con el asa de siembra y se toma preferentemente el centro de una colonia pura de 18-24 horas. Revelado Observar la formación inmediata de una efervescencia rápida con desprendimiento de burbujas (resultado positivo). Desechar el portaobjetos en un recipiente con desinfectante. Si se invierte el orden del método (extender la colonia sobre el agua oxigenada) pueden producirse falsos positivos. Precauciones: Si se utilizan para esta prueba cultivos procedentes de agar sangre, se debe tener la precaución de no retirar algo de agar con el asa al retirar la colonia ya que los eritrocitos del medio contienen catalasa y su presencia dará un falso resultado positivo.

Método del tubo de ensayo:

Agregar 1 ml de H₂O₂ al 3% directamente a un cultivo de agar densamente inoculado. Observar la formación inmediata de burbujas (resultado positivo).

Identificación de factores de virulencia

Determinación de la ureasa

Algunos SCN son ureasa positivos, incluidos *S. epidermidis*, *S. intermedius* y la mayoría de las cepas de *S. saprophyticus*. Para esta prueba se puede usar el caldo ureasa común o el cultivo inclinado de agar urea. Cualquiera de ellos se inocula y se incuba a 35°C durante 18-24 horas (Koneman et al., 2008).

Producción de hemolisina

Se determinó en placas de agar sangre, incubada en una atmósfera de 5% de CO₂, a 35 °C. La formación de una zona de hemólisis alrededor de las colonias aisladas se interpreta como una prueba positiva.

Producción de DNasa

Se determinó en placas de agar DNA, se incubó durante 48 h a 35° C, con el objetivo de detectar la producción de pequeñas cantidades y se reveló con ácido clorhídrico 1N, el aclaramiento del medio alrededor de la estría se consideró positivo.

Producción de Biofilm o Bipelícula

Método de tubo: Descrito por Christensen et al.1982 Método cualitativo en la detección de biofilm. Se incubó el microorganismo estudiado en 10 mL de medio de caldo de soya trupticosa con 1% de glucosa en tubos. Se incubó a 37°C por 24 hrs. Posterior a incubación, los tubos se decantan y lavan con sol salina buffer fosfato (pH7.3) y se seca. Se tiñen los tubos con cristal violeta (0.1%) El exceso de tinción se lava con agua desionizada, Se secan los tubos y se invierte su posición. Se considera formación de biofilm positivo cuando se visualiza una película en la pared en el fondo del tubo. La cantidad de biofilm formada se mide como 1- débil/ninguna, 2- moderada y 3- alta/fuerte. El experimento se realiza en triplicado.

www.bdigital.ula.ve

Diseño de Análisis

Los resultados de esta investigación fueron analizados a través del enfoque cuantitativo. Tal como lo propusieron Palella y Martins (2010), se recolectaron los datos relacionados con el problema de investigación: en relación a la detección de *Staphylococcus* coagulasa negativa en el tracto genital masculino. En tal sentido, los datos obtenidos fueron medidos numéricamente y se interpretaron mediante técnicas estadísticas.

Pruebas de identificación

Cepas de SCN procedentes de espermocultivos de pacientes que asisten al CEDIEG con diferentes patologías en el tracto reproductor masculino.



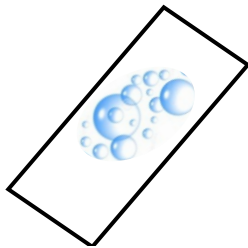
Reactivación

Caldo BHI 37°C



www.bdigital.ula.ve

Prueba de la catalasa



(+) *Staphylococcus* sp

Prueba de la coagulasa



(+) *Staphylococcus aureus*
Coagulasa positiva
(-) *Staphylococcus*
Coagulasa negativa

Fermentación del manitol



(+) Amarillo: *S. aureus*
(-) Rosado: *Staphylococcus*
coagulasa negativa

Figura 5. Pruebas bioquímicas convencionales para el aislamiento de cepas de *Staphylococcus coagulasa negativa*

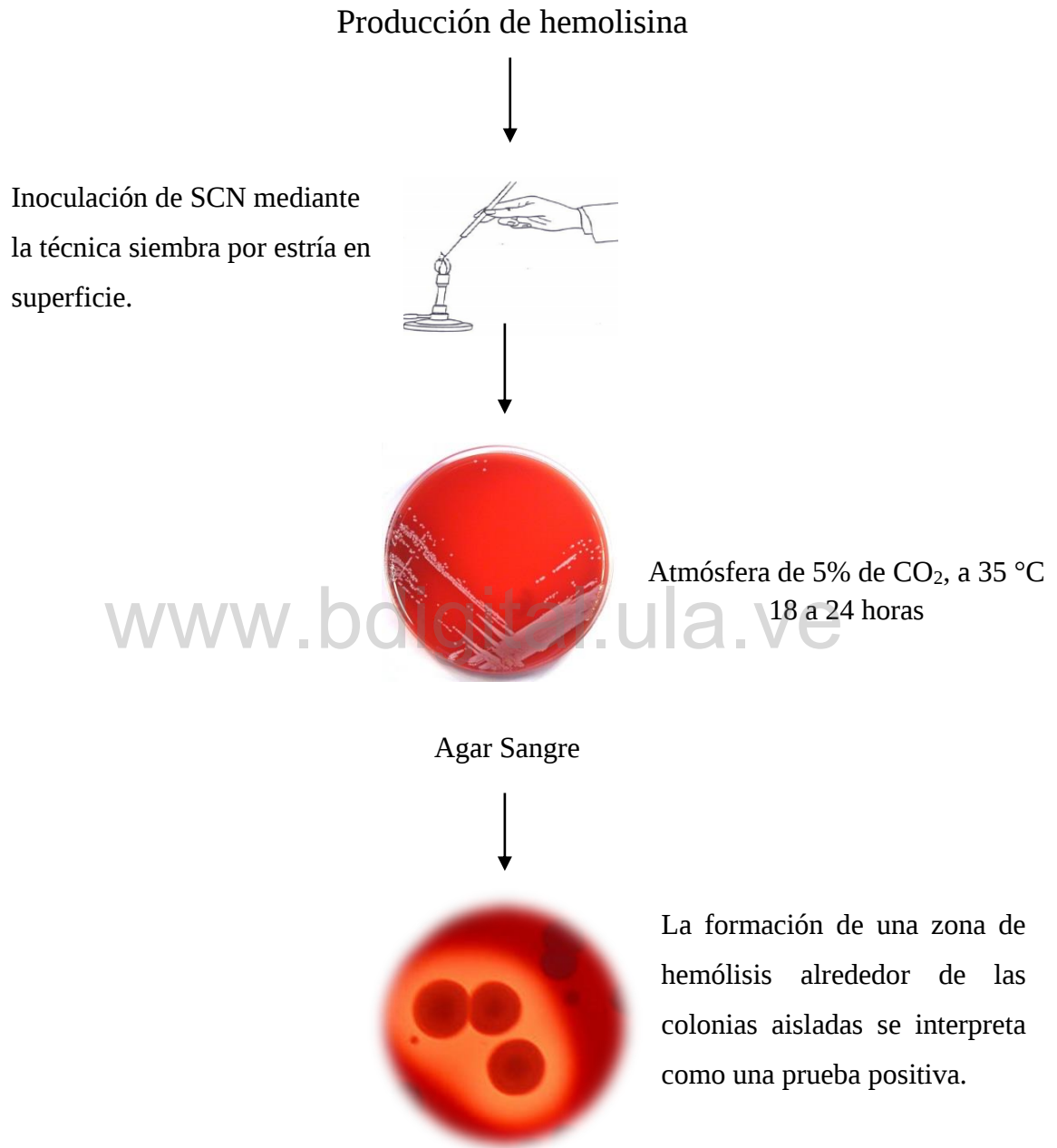


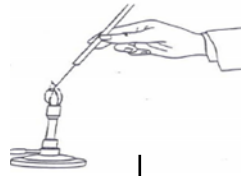
FIGURA 6. Producción de hemolisinas utilizando placas de agar sangre.



FIGURA 7. Producción de DNAsa utilizando un medio adecuado para su identificación.

Producción de Ureasa

Inoculación de SCN
mediante estría en la
superficie inclinada



Se incuba a 37°C durante
24 horas

www.bdigital.ula.ve

Agar urea de Christensen.



Las bacterias que
hidrolizan la urea hacen
que el medio de cultivo
tome color fucsia,
considerándose como
positiva la prueba.

FIGURA 8. Producción de Ureasa utilizando un medio adecuado para su identificación.

Formación de Biofilm

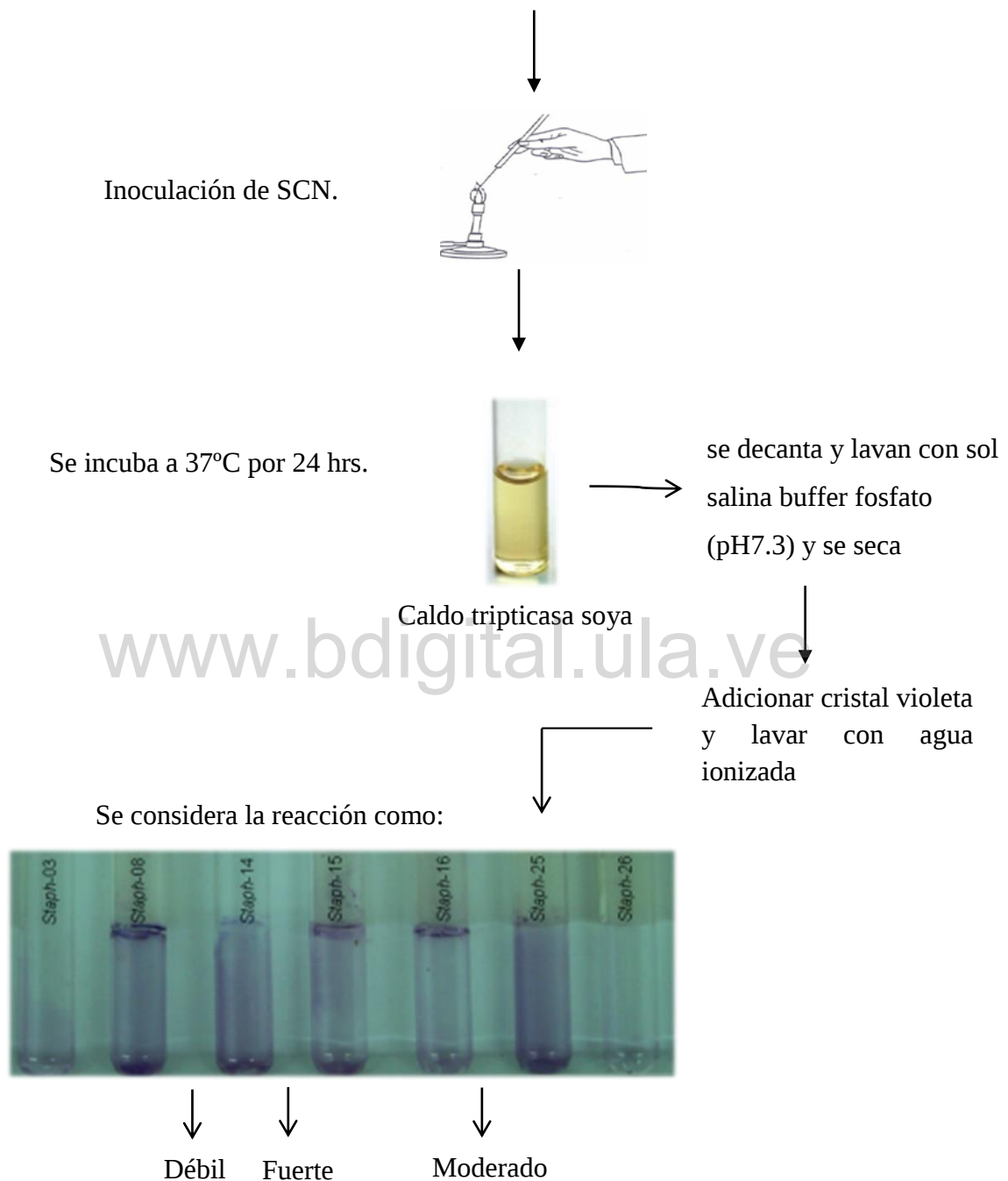


FIGURA 9. Formación de Biofilm utilizando un medio adecuado para su identificación.

CAPÍTULO IV

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Resultados

En el Laboratorio de Investigaciones Bacteriológicas “Dr Roberto Gabaldon”. Adscrito al departamento de bacteriología y parasitología, de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis de la Universidad de los Andes, se procesaron 9 cepas de SNC, que cumplían con los criterios de inclusión provenientes del Centro Diagnóstico de Infertilidad y Enfermedades Ginecológicas CEDIEG, las cuales se estudiaron y analizaron utilizando diferentes metodologías, con el fin de desarrollar los objetivos del presente trabajo de investigación.

En la identificación de especie, realizada previamente por Mendoza, Suárez H y Velasco 2018, se obtuvo una prevalencia de *Staphylococcus epidermidis* (44,44%), seguido por *Staphylococcus caprae* (22,22%), *Staphylococcus haemolyticus* (11,11%), *Staphylococcus schleiferi* (11,11%) y *Staphylococcus lugdunensis* (11,11%), las muestras provenían del tracto genitourinario y tracto genital masculino, dichas muestras fueron identificadas mediante la Galería Api 20Staph (**Tabla N°7**).

Tabla N° 7: Identificación de especie de *Staphylococcus* coagulasa negativo, provenientes del tracto genital masculino.

N° de Cepa	Fecha de procedencia	Especie
692	19/09/2018	<i>Staphylococcus caprae</i>
898	05/11/2018	<i>Staphylococcus haemolyticus</i>
4780	30/06/2018	<i>Staphylococcus caprae</i>
3538	21/07/2018	<i>Staphylococcus schleiferi</i>
3983	11/06/2018	<i>Staphylococcus epidermidis</i>
698	17/09/2018	<i>Staphylococcus lugdunensis</i>
373	17/07/2018	<i>Staphylococcus epidermidis</i>
1792	27/10/2018	<i>Staphylococcus epidermidis</i>
1781	25/10/2018	<i>Staphylococcus epidermidis</i>

Fuente: Mendoza, Suarez y Velasco, 2018.

Referente a las pruebas confirmatorias, en la prueba de la catalasa se observó que 9/9 (100%) de las muestras dieron resultados positivos confirmando el crecimiento puro de cepas pertenecientes al género *Staphylococcus*, mientras que para la prueba de la coagulasa 9/9 (100%) de las muestras arrojaron resultado negativo demostrando la presencia de *Staphylococcus* coagulasa negativo. **(Tabla N° 8).**

Continuando con la determinación de los factores de virulencia, el 100% de las muestras arrojaron resultado negativo para la producción de DNasa y Hemolisinas, mientras que para la producción de Ureasa se obtuvo que el 77,77% de las muestras dieron negativo y el 22,22% mostraron resultados variables **(Tabla N° 9).**

En relación a la producción de Biofilm o biopelícula por las cepas de SCN, provenientes de patologías del tracto genital masculino, de los pacientes que asisten a la consulta del CEDIEG, el 55,5 % de las cepas, presentaron producción de Biopelícula según el método cualitativo de tubo, alta o fuerte , 22,2% moderada y 22,2 % restante no produjo o muy débil. En cuanto a la especie de SCN que más estuvo relacionada con la producción de Biofilm esta *S. epidermidis* con un porcentaje del 57,14% , que corresponde a 4 cepas, de las 7 que verdaderamente formaron biopelícula. **(Tabla N° 10.)**

Tabla N° 8: Pruebas microbiológicas confirmatorias catalasa y coagulasa
Negativo proveniente del tracto genital masculino.

N° de Cepa	Especie de SNC	Catalasa	Coagulasa
692	<i>Staphylococcus caprae</i>	Positivo	Negativo
898	<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	Positivo	Negativo
4780	<i>Staphylococcus caprae</i>	Positivo	Negativo
3538	<i>Staphylococcus schleiferi</i>	Positivo	Negativo
3983	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	Positivo	Negativo
698	<i>Staphylococcus lugdunensis</i>	Positivo	Negativo
373	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	Positivo	Negativo
1792	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	Positivo	Negativo
1781	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	Positivo	Negativo
ATCC 25923	<i>S. aureus sub esp. aureus</i>	Positivo	Positivo

Fuente: Alviárez, Suarez y Torres, 2018.

Tabla N° 9: Factores de Virulencia en cepas de *Staphylococcus* coagulasa negativo provenientes del tracto genital masculino.

N° de Cepa	Especie	DNasa	Hemolisina	Ureasa
692	<i>Staphylococcus caprae</i>	Negativo	Negativo	Positivo(débil)
898	<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	Negativo	Negativo	Negativo
4780	<i>Staphylococcus caprae</i>	Negativo	Negativo	Negativo
3538	<i>Staphylococcus schleiferi</i>	Negativo	Negativo	Positivo(débil)
3983	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	Negativo	Negativo	Negativo
698	<i>Staphylococcus lugdunensis</i>	Negativo	Negativo	Negativo
373	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	Negativo	Negativo	Negativo
1792	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	Negativo	Negativo	Negativo
1781	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	Negativo	Negativo	Negativo
ATCC 25923	ATCC 25923	Negativo	Positivo (Beta)	Negativo

Fuente: Alviárez, Suarez y Torres, 2018.

Tabla N° 10. Producción de Biofilm en cepas de *Staphylococcus* coagulasa negativo provenientes del tracto genital masculino.

N° de Cepa	Especie de SCN	Biofilm 1er Tubo	Biofilm 2do Tubo
692	<i>Staphylococcus caprae</i>	3	3
898	<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	3	3
4780	<i>Staphylococcus caprae</i>	1	1
3538	<i>Staphylococcus schleiferi</i>	1	1
3983	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	2	2
698	<i>Staphylococcus lugdunensis</i>	2	2
373	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	3	3
1792	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	3	3
1781	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	3	3
ATCC 25923	<i>S. aureus sub esp. Aureus</i>	1	1

1: Débil o ninguna, 2: Moderada, 3: Alta/fuerte.

Fuente: García-Diego P. 2013; Alviarez, Suarez y Torres, 2018.

Discusión

Un gran número de bacterias puede colonizar el tracto reproductivo masculino y desencadenar procesos infecciosos con múltiples consecuencias como la infertilidad, por ello es importante, los objetivos planteados en este trabajo de investigación que permiten determinar la presencia de SCN productores de diferentes factores de virulencia como agente causal de infecciones en el hombre, para contribuir al diagnóstico, tratamiento y prevención de las mismas. Es importante mencionar que en países en vías de desarrollo como el nuestro, la identificación del género *Staphylococcus* se realiza en la mayoría de los laboratorios de microbiología, con pruebas sencillas de identificación como la catalasa, uso del manitol salado, y con la prueba de coagulasa en tubo; si ésta es positiva se informa como *S. aureus* y si resulta negativa se identifica como SCN. Sin embargo, debido al aumento de las infecciones producidas por estos microorganismos, se deberían identificar a nivel de especie, por lo menos los más frecuentemente asociadas con patologías. Coincidimos con numerosos trabajos que han enfatizado la importancia de realizar identificación de especie en todo aislado que se considere significativo, por lo que se propone la implementación del método simple y económico, que utiliza medios con lo que habitualmente cuentan los laboratorios de microbiología y que permite diferenciar las especies más frecuentemente implicadas en infecciones como son *S. epidermidis*, *S. haemolyticus*, *S. lugdunensis* e inclusive, *S. capitis* subesp. *capitis*. Las demás especies como *S. hominis*, *S. warneri*, *S. simulans* y *S. capitis* subesp. *ureolyticus* son más difíciles de identificar por esquemas simples, pues dan variables a algunas de las pruebas y muchas veces son necesarias otras pruebas suplementarias. En esta investigación, se estudió 9 muestras que cumplieran con los criterios de inclusión

provenientes del Centro Diagnóstico de Infertilidad y Enfermedades Ginecológicas CEDIEG, con la finalidad de realizar su identificación a nivel de especie, empleando el método comercial miniaturizado API® STAPH. La identificación arrojó cinco especies siendo *Staphylococcus epidermidis* (44,44%), seguido por *Staphylococcus caprae* (22,22%), *Staphylococcus haemolyticus* (11,11%), *Staphylococcus schleiferi* (11,11%) y *Staphylococcus lugdunensis* (11,11%), este resultado es consistente con lo reportado en la literatura, al respecto Ortega et al (2019) en un estudio realizado de infecciones de prótesis articulares en un hospital ortopédico de México, observaron que las especies más frecuentes de SCN fueron *S. epidermidis* (82%) y *S. hominis* (80%). En este estudio nuestros hallazgos coinciden con numerosos trabajos que reportan a *S. epidermidis* como el SCN más frecuentemente implicado en infecciones, seguido por *S. haemolyticus*. *S. lugdunensis* fue identificado en 11% de las cepas, frecuencia que consideramos alta cuando la comparamos con lo reportado por estos mismos autores, de 3 a 6%. Esta especie está reportándose cada vez con mayor frecuencia y se la ha asociado a un amplio espectro de infecciones, principalmente de piel y tejidos blandos, como celulitis y abscesos subcutáneos. Además, ha sido señalada como causa de endocarditis, artritis, infecciones de prótesis, osteomielitis, infección urinaria y de heridas, en los que se describe la naturaleza agresiva de esta bacteria, considerada más virulenta que otros SCN. El incremento de infecciones debidas a *S. lugdunensis* puede deberse tanto a un mejor conocimiento de sus características, o a un mayor índice de sospecha; sin embargo, es posible que su incidencia siga aún subestimada e incluida dentro del grupo de los SCN no identificados, o identificado como *S. aureus*, debido a que comparte con este último, la capacidad de producir coagulasa ligada y la similitud de sus colonias. En frecuencia de aislamiento sigue *S. capitis subesp. capitis*, frecuencia comparable a lo encontrado por otros autores, quienes lo reportan como causante de infecciones varias, abscesos y endocarditis. Como era de esperarse, las demás especies, *S.*

warneri, *S. caprae*, *S. hominis subespecie hominis* y *S. simulans*, fueron aisladas en baja frecuencia; existen, en cambio, reportes que revelan un aumento de *S. hominis* y *S. warneri* como causantes de bacteriemia e infecciones intrahospitalarias. No se obtuvo aislamiento de *S. schleiferi*, que, si bien no es frecuente, comparte con *S. lugdunensis* la capacidad de producir coagulasa unida e infecciones similares a las de *S. aureus* (Fariña N et al. 2013).

Referente a las pruebas confirmatorias, en la prueba de la catalasa se observó que 9/9 (100%) de las muestras dieron resultados positivos confirmando el crecimiento puro de cepas pertenecientes al género *Staphylococcus*, mientras que para la prueba de la coagulasa 9/9 (100%) muestras arrojaron resultado negativo demostrando la presencia de *Staphylococcus* coagulasa negativo. (Fariña N et al. 2013). En relación a los métodos de identificación del género *Staphylococcus* se realiza en la mayoría de los laboratorios de microbiología, con la prueba de coagulasa en tubo; si ésta es positiva se informa como *S. aureus* y si resulta negativa se identifica como SCN. Sin embargo, debido al aumento de las infecciones debidas a estos agentes se los debería identificar a nivel de especie, por lo menos a las más frecuentemente asociadas con patologías. Coincidimos con numerosos trabajos que han enfatizado la importancia de realizar identificación de especie en todo aislado que se considere significativo, por lo que se propone la implementación del método simple y económico, que utiliza medios con lo que habitualmente cuentan los laboratorios de microbiología y que permite diferenciar las especies más frecuentemente implicadas en infecciones como son *S. epidermidis*, *S. haemolyticus*, *S. lugdunensis* e inclusive, *S. capitis* sub especie *capitis*.

En relación a los factores de virulencia, el 100% de las muestras arrojaron resultado negativo para la producción de DNasa y Hemolisinas, mientras que para la

producción de Ureasa se obtuvo que el 77,77% de las muestras dieron negativo y el 22,22% mostraron resultados variables, las cuales fueron *S. caprae* (11,11%) y *S. schleiferi*. En consiguiente, (Fariña N et al. 2013). Si bien la prueba de ADNasa, utilizada para la identificación de especies de *Staphylococcus* es negativa para *S. lugdunensis* como para *S. haemolyticus* con incubación de 24 h, al estudiar ALDNasa como un factor de virulencia, con una incubación prolongada de 48 h, se encontró que todos los aislados, tanto de *S. lugdunensis* como de *S. haemolyticus*, produjeron ADNasa, observándose una producción menor con respecto a *S. aureus*. En relación a la producción de Biofilm o biopelícula por las cepas de SCN, provenientes de patologías del tracto genital masculino, de los pacientes que asisten a la consulta del CEDIEG, el 55,5 % de las cepas, presentaron producción de Biopelícula según el método cualitativo de tubo, alta o fuerte, resultando: 22,2% moderada y 22,2 % restante no produjo o muy débil. En cuanto a la especie de SCN que más estuvo relacionada con la producción de Biofilm esta *S. epidermidis* con un porcentaje del 57,14%, que corresponde a 4 cepas, de las 7 que verdaderamente formaron biopelícula. Por otro lado, Fariña et al. 2013, además determinaron la expresión de varios factores de virulencia en los aislados clínicos de SCN como la producción de biopelícula, hemolisinas, lipasas, lecitinasas, ADNasas. Con los siguientes resultados: El 73,1% de *S. epidermidis*, 53,8% de *S. haemolyticus* y 40% de *S. lugdunensis* fueron productores de biopelícula. La producción de lipasa y lecitinasa fue de 53,8% para *S. epidermidis* y *S. haemolyticus* de 61,5 y 46,2%, respectivamente. *S. lugdunensis* sólo fue positiva para la producción de lipasa en 60% y ningún aislado produjo lecitinasa. La nucleasa de tipo ADNasa se detectó en 100% de las cepas de *S. haemolyticus* y de *S. lugdunensis*. En consiguiente (Ortega et al. 2019) Finalmente sugieren que la identificación a nivel de especie sea una práctica habitual en los laboratorios de rutina de microbiología clínica, incluso los que no cuentan con equipos automatizados de identificación, para ayudar a valorar a esta

bacteria en su justa medida. Encontramos que la producción de biopelícula es uno de los más importantes, especialmente en *S. epidermidis*, causante de infecciones de implantes de dispositivos médicos, lo cual está directamente relacionado a la capacidad que posee de expresar adhesinas y formar multicapas de biopelícula en cuerpos extraños como superficies lisas de plástico, catéteres, válvulas cardíacas protésicas y marcapasos.

Ortega et al. En el 2019 señalaron en su investigación que los factores de virulencia que han sido identificados en SCN son la producción de biopelícula y la resistencia antimicrobiana. Con respecto a la producción de biopelícula, los estudios han demostrado que puede variar entre especies e intraespecie. En nuestros aislamientos de *S. epidermidis* encontramos variaciones de producción de biopelícula, e inclusive hubo más casos de aislamientos no productores de biopelícula que de aislamientos productores de biopelícula ($p = 0.0021$), y esta fue la única especie que produjo biopelícula de nivel fuerte. Los cinco casos de aislamiento de *S. hominis* fueron más consistentes, ya que todos fueron productores de biopelícula de nivel débil.

Lasa et al. en el 2005, encontraron que la formación de biofilms representa un problema para aquellos pacientes que requieran un implante. Los microorganismos del biofilm son muy difíciles de tratar con agentes antimicrobianos y la liberación de bacterias desde el biofilm puede provocar una infección, sobre todo si el paciente está inmunocomprometido. Es necesario desarrollar nuevos métodos para detectar la presencia de biofilms en el implante y nuevos métodos para evaluar la respuesta frente a las estrategias de control. Finalmente, necesitamos desarrollar nuevas estrategias de control que en combinación con los antibióticos nos ayuden a combatir biofilms ya formados. Todos los esfuerzos dirigidos a la identificación de genes que

sean necesarios para la formación del biofilm, la búsqueda de enzimas capaces de degradar específicamente la matriz polisacáridica del biofilm, métodos físicos como ultrasonidos que perturben la estabilidad de la matriz o los estudios dirigidos a descifrar los patrones de expresión génica entre las bacterias plactónicas y las bacterias del biofilm deben de ser considerados como fuente de posibles estrategias que nos ayudarán a comprender y combatir mejor las infecciones producidas por biofilms bacterianos.

En cuanto a la formación de biopelícula como factor de virulencia de los estafilococos mediante su adherencia y colonización de células, tejidos y materiales inertes, su determinación in vitro en cepas clínicas ha evolucionado e incluye desde métodos poco reproducibles, como el agar de rojo Congo, hasta los métodos espectrofotométricos semicuantitativos sobre superficies inertes. El método empleado en el presente trabajo presentó una buena reproducibilidad y permitió establecer en los dos grupos tres niveles de formación de biopelícula, predominantemente el moderado. En diversos estudios se ha demostrado que tanto *S. aureus* como y los *Staphylococcus coagulasa* negativa de origen clínico tienen la misma capacidad de formar biopelícula. En cepas clínicas de *S. aureus*, resistentes y sensibles a meticilina se ha detectado un nivel moderado de formación de biopelícula, en menor medida, un nivel alto, y en muy pocas cepas, un nivel bajo, sin que se pudiera establecer una correlación entre la resistencia a la meticilina y la capacidad de producción de biopelícula. Las cepas de *S. aureus* aisladas de la piel de pacientes presentaron una mayor capacidad de producir biopelícula, hecho que favorecería las condiciones para la colonización y la persistencia en el humano si se considera que se trata de uno de los principales microorganismos de la microbiota de la piel. El operón *ica* es un elemento importante en la formación y acumulación de biopelícula; consta de cuatro genes que codifican para la adhesina intercelular de polisacárido de las bacterias. En

este estudio se encontró que el 91 % de las cepas del grupo de *S. aureus* y el 92 % de las del grupo de *Staphylococcus coagulasa* negativa presentaron los genes icaADBC. La capacidad de formar biopelícula depende, en parte, de la actividad del locus icaADBC y del gen icaR implicados en la producción de la adhesina intercelular de polisacárido la cual es necesaria funcionalmente para la adherencia entre células y para la acumulación de biopelícula. Estos resultados coinciden con los de otro estudio, en el que se obtuvo una alta frecuencia de genes icaADBC en todos los aislamientos clínicos. Aunque esta adhesina es un factor muy importante en la formación de biopelícula, se identificaron cepas que no codificaron para los genes icaADBC y, por lo tanto, no sintetizan el polisacárido. Este resultado no implica que no tengan la capacidad de formar biopelícula, sino que otros genes no incluidos en el estudio citado, como el SigB , el SarA y el LuxS, que también participan en la producción de biopelícula, podrían estar implicados. (Garcia et al, 2019).

CAPITULO V

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

Conclusiones

- 1- Las especie de SNC aisladas con más frecuencia en cepas provenientes de pacientes con diferentes patologías del tracto genital masculino mediante el diagnóstico microbiológico convencional, son *Staphylococcus epidermidis* (44,44%), seguido por *Staphylococcus caprae* (22,22%), *Staphylococcus haemolyticus* (11,11%), *Staphylococcus schleiferi* (11,11%) y *Staphylococcus lugdunensis* (11,11%),
- 2- La producción de factores de virulencia en cepas de *Staphylococcus* coagulasa negativo procedentes de pacientes con diferentes patologías del tracto genital masculino en el Laboratorio de Investigaciones bacteriológicas “Roberto Gabaldon” de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis, del 100% de las muestras arrojaron resultado negativo para la producción de DNasa y Hemolisinas, mientras que para la producción de Ureasa se obtuvo que el 77,77% de las muestras dieron negativo y el 22,22% mostraron resultados indeterminado.
- 3- El 55,5 % de las cepas, presentaron producción de Biopelícula según el método cualitativo de tubo, alta o fuerte, 22,2% moderada y 22,2 % restante no produjo o muy débil.

Recomendaciones

- 1- Con este estudio contribuimos al conocimiento de un patógeno emergente que puede causar enfermedades graves, muchas veces difícil de erradicar. Proponemos que la identificación a nivel de especie sea una práctica habitual en los laboratorios de rutina de microbiología clínica, incluso los que no cuentan con equipos automatizados de identificación, para ayudar a valorar a esta bacteria en su justa medida.
- 2- La investigación fue limitada por la situación económica actual que vive el país de manera general, afectando la utilización de los insumos necesarios para la realización de pruebas más avanzadas, recomendando a futuros estudios buscar apoyo de organismos públicos y privados, para aportar mayores conocimientos en el área de microbiología, significando un avance intelectual para las Escuelas de Bioanálisis del país.
- 3- Realizar un diagnóstico microbiológico certero y oportuno es fundamental para conocer la incidencia y las posibles estrategias terapéuticas para los pacientes.
- 4- Tener precaución con el contacto y la consecuente dispersión de patógenos resistentes.
- 5- Para trabajos posteriores, el CLSI del 2020 indica sustituir el nombre de *Staphylococcus coagulasa negativo* por *Staphylococcus* sp.
- 6- Se recomienda realizar otras pruebas confirmatorias, ya sea por microscopia electrónica o por medición de absorbancia.
- 7- Se debe resaltar la importancia de estudiar con mayor profundidad los procesos infecciosos e inflamatorios que se dan a nivel del tracto

masculino, esto nos ayudaría a comprender aún más los factores implicados en el éxito reproductivo.

www.bdigital.ula.ve

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abeyesundara PK, Dissanayake D, Wijesinghe PS, Perera R. y Nishad A. (2013) **Eficacia de dos técnicas de preparación de espermatozoides para reducir especies bacterianas inespecíficas del semen humano.** *J Hum Reprod Sci*; 6: 152-7. <https://www.jhsonline.org/text.asp?2013/6/2/152/117169>
- Abós S. y Giménez P. (2005). **Pruebas bioquímicas de identificación de S. aureus y algunas especies de ECN. Características Clínico-Microbiológicas de las Infecciones por Staphylococcus schleiferi y otros Estafilococos coagulasa-negativos.** (Pp1 de 4).
- Arias Fidias. (2012). **El proyecto de investigación.** 6ta edición 2012. Caracas-Venezuela.
- Arias Fidias. (2006). **Diseño de investigación.** En el Proyecto de Investigación (5ª ed.). Caracas-Venezuela.
- Aties López, Leonor, Río Caballero, Germán del, Escalona Veloz, Rafael, Brossard Alejo, Gardenia, Figueredo Acosta, Ileana del Carmen, y Duret Gala, Yadmila. (2016). **Detección de biofilm en estafilococo coagulasa negativa y su relación con variables clínicas epidemiológicas.** *Rev. Arch. Méd. Camagüey*, 20(4), 351-358. Recuperado en 06 de abril de 2021, de http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1025-02552016000400003&lng=es&tlng=es

Aties López, Leonor, Moya Jústiz, Gilberto, Antúnez Coca, José, y Milá Pascual, Milagros de la Caridad.(2020). **Significación clínica y aspectos microbiológicos para el diagnóstico de pacientes con *Staphylococcus lugdunensis*.** *MEDISAN* vol.24 no.2 Santiago de Cuba mar.-abr. 2020 Epub 24-Abr-2020.

Aguirre Luis, Ramos Miguel, Orozpe J. Aline, Orozco Ernesto, Lobo Naun, Plenge Luis, Valero Josa, Álvarez Emilio, Martínez Alejandro y Díaz Ángel. (2016). **Aspectos estructurales y mecanísticos de la enzima ureasa y sus proteínas accesorias.** *Ciencia en la frontera revista de ciencia y tecnología de la UACJ*. Volumen especial. Pp. 19-36.2016/impresa en México.

Becker Karsten, Christine Heilmann y Georg Peters, (2014). **Coagulase-negative *Staphylococci*.** *Clin. Microbiol. Rev.* 27(4), (Pp.885-886).

Borregales L, Giordano F. y Contreras L. (2011). **Primer consenso venezolano de infección urinaria.** Editorial Ateproca, Caracas, Venezuela. (Pp.65-83).

Castillón L, Palma Alejandro y Padilla M. (2010). **Importancia de las biopelículas en la práctica medica.** *Dermatologia Rev Mex* 2010;54(1):14-24.

Cervantes-García E, García-González R y Salazar-Schettino PM. **Características generales del *Staphylococcus aureus*.** *Rev Mex Patol Clin Med Lab.* 2014;61(1):28-40.

Chans G. (2002). ***Estafilococos*.** Disponible en www.higiene.edu.uy/cefa/libro2002/cap%17.pdf. Revisado, 25 de marzo del 2016.

Cifuentes L, Naharro P, Real H y García M, (2018). **Epididimitis**. Urología, Comunicación Urología. Medicina de Familia. *SEMERGEN*.

Davaro Mónica y Greco Marta, (2020). **Recomendaciones de diagnóstico y tratamiento de las Infecciones de Transmisión Sexual de la comisión de HIV/SIDA y de ITS de la Sociedad Argentina de Infectología S.A.D.I.** *Soc. Argent. Infect.*

Echevarría Juan, Aguilar Elsa, y Osorio Fernando. (2006). **Infección del tracto urinario y manejo antibiótico.** *Act. Méd. Per.*, 23(1), 26-31.

Fariña N, Carpinelli L, Sarmudio M, Guillen R, Laspina F, Sanabria R, Abente S, Rodas L, González P. y Kaspar H, (2013). **Staphylococcus coagulasa-negativa clínicamente significativos, Especies más frecuentes y factores de virulencia.** Instituto de Investigaciones en Ciencias de la Salud Asunción, Paraguay: Asunción.

Fernández A, García C, Sáez J. y Valdezate S. (2010). **Métodos de identificación bacteriana en el laboratorio de microbiología.** Procedimientos en microbiología clínica. (Pp 3-4).

Galarzo S, Cano A, Puerta J, Giraldo M, Mayorga B. Cadavid A. y Cadona W. (2015). **Efecto de los factores solubles de Staphylococcus aureus, Staphylococcus capitis y Staphylococcus epidermidis sobre la funcionalidad espermática.** *Rev. Chil. Obst. Ginecol.* (vol.80 no.4.) Universidad de Antioquia, Escuela de Microbiología, Colombia: Medellín.

Gerald L. Andriole, (2019). **Prostatitis**. MD, Barnes-Jewish Hospital, Washington University School of Medicine Última modificación del contenido oct. 2019.

García A, Martínez C, Juárez R, Tellez R, Paredes M, Herrera M. y Giono S. (2019). **Resistencia a la meticilina y producción de biopelícula en aislamientos clínicos de *staphylococcus aureus* y *staphylococcus coagulasa* negativa en Mexico.** *Biomédica* 2019;39:513-23. Doi: <https://doi.org/10.7705/biomedica.4131>.

Christensen GD , Simpson WA, Bisno AL. y Beachey EH. **Adherence of slime producing strains of *Staphylococcus epidermidis* to smooth surfaces.** *Infect. Immunol.* 1982; 37:318-26.

Hernández R., Fernández, C, Baptista, P. (2010). **Definición del alcance de la investigación a realizar: exploratoria, descriptiva, correlacional o explicativa.** En Metodología de la investigación, Chile: Mc Graw Hill. (Pp. 76).

Hidalgo Orozco Rocio, (2016). **Significación clínica y determinantes de patogenicidad de "*Staphylococcus*" coagulasa negativos aislados en hemocultivos .** Tesis para optar al título de Doctora en Microbiología. Universidad de Extremadura de Madrid. España (Pp 25-26).

Hooton T. (2000). **Pathogenesis of urinary tract infections: An update.** *J Antimicrob Chemother*, 46, (Pp 1-7).

Hurtado J. (2010). **El proyecto de investigación, comprensión holística de la metodología y la investigación.** Bogotá-Caracas: Ediciones Quirón. (Pp. 147-151).

Koneman E, Allen S, Janda W, Schreckenberger P. y Winn W. (2008). **Diagnóstico Microbiológico/ Microbiological diagnosis: Texto y atlas en color/ text and color atlas**: Ed. Médica Panamericana.

Lasa I, Pozo L, Penadéz R, Leiva J. (2005). **Biofilms bacterianos e infección**. *An. Sist. Sanit. Navar*, 28 (2), (Pp 163-175).

Lozano Ricardo, Velasco Judith, Pacheco Liliana, Sayago Alba y Peña Juliana. (2018). **Impacto de los *Staphylococcus coagulasa negativa* y otros gérmenes en las formas espermáticas**. Centro Diagnostico de Infertilidad y Enfermedades Ginecológicas (CEDIEG) “Dr. Giovanny Vivas-Acevedo”. “Departamento de Microbiología y Parasitología. Facultad de Farmacia y Bioanálisis. Universidad de los Andes. Mérida, Venezuela.

Lu Yongning., Bhushan Sudhanshu., Tchatalbachev Svetlin., Marconi Marcelo., Bergmann Martin., Weidner Wolfgang, Chakrabodorty Trinad y Meinhardt Andreas. (2013). **Necrosis is the dominant cell death pathway in uropathogenic *Escherichia coli* elicited epididymo-orchitis and is responsible for damage of rat testis**. *PloSone*, 8(1), e52919.

Molinos Abos Sonia y Giménez Pérez Montserrat. (2006) **Pruebas bioquímicas de identificación de *S. aureus* y algunas especies de ECN**. Características clínico-microbiológicas de las infecciones por *Staphylococcus schleiferi* y otros estafilococos coagulasa-negativos. Página 1 de 4.

Morosini M. et al. (2012). **Detección fenotípica de mecanismos de resistencia en microorganismos grampositivos.** *Enf. Inf. y Microbiol. Clin.*, 30(6), (Pp 326-327).

Murray, Rosenthal & Pfaller (2009). **Microbiología Médica.** 6ta Ed. Editorial ELSEVIER, Barcelona, España.

Murray, Rosenthal & Pfaller (2017). **Microbiología Médica.** 8va Ed. Editorial ELSEVIER, Barcelona, España.

Nazar J. (2007). **Biofilms Bacterianos.** *Rev. Otorrinolaringol. Cir. Cabeza. Cuello.* 67, (Pp 61-72).

Organización Mundial de la Salud. **Infecciones de transmisión sexual.** Nota descriptiva N°110 de agosto de 2011. 2011; Disponible en: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs110/es/>. Acceso 12 de septiembre de 2017.

Ortega Peña S, Franco Cendejas R, Salazar Sáenz B, Rodríguez Martínez S, Cancino Díaz ME y Cancino Díaz JC. (2019). **Prevalencia y factores de virulencia de Staphylococcus coagulasa negativo de infección de prótesis articulares en un hospital ortopédico de México.** Laboratorio de Infectología, Instituto nacional de Rehabilitación Luis Guillermo Ibarra, Departamento de Microbiología e Inmunología, Escuela Nacional de Ciencias Biológicas, Instituto Politécnico Nacional. Ciudad de Mexico, Mexico.

O'Toole G, et al. (2000). **Biofilm Formation As Microbial development.** *Annu. Rev. Microbiol.* 54. (Pp 49-79).

Palella S, Martins F. (2010). **Tratamiento y análisis de la información.** En Metodología Cuantitativa, Caracas: *FEDUPEL*. (Pp. 171-184).

Pedrari Silva Carla (2007). **Estafilococos coagulasa negativa: el enemigo silencioso.** *Rev. Argent. Microbiol.* V39 (1). Argentina, Buenos aires.

Pigrau C, Horcajada, J, Cartón, J, Pujol M. y Mensa, J. (2002). **Infección urinaria.** Protocolos Clínicos SEIMC. www.seimc.org/protocolos/clínicos/proto4.htm.

Pinilla G, Bautista A, Cruz C, Chavarro B, Navarrete J, Muñoz L y Gutiérrez J, (2017). **Determinación de factores de adhesión asociados a la formación de biopelícula en aislamientos clínicos de *Staphylococcus aureus* y *Staphylococcus epidermidis*.** *Nova* (vol.15 no.27) Bogotá Jan./June 2017.

Phillips PL, Wolcott RD, Fletcher J. y Schulz GS. (2010). **Biofilms.** *Mad. Eas. Woun. Internal.*1(1), Edición 3. Disponible en www.woundsinternational.com.

Potenziani J y cols. (2002). **Tópicos en urología.** 1era Ed. Editorial Ateproca, Caracas, Venezuela. (Pp 333- 356).

Puerta J., Giraldo M., Cadavid A. y Cardona W. (2014). **Infecciones bacterianas del tracto reproductivo masculino y su papel en la fertilidad.** *Rev. Chil. Obst. Ginecol*, (vol.79 no.3). Universidad de Antioquia. Colombia: Medellín.

Puerta S., Villegas A., Quintana S., Martínez G., Romero P., Giraldo J., Cadavid A, y Cardona W. (2015). **Espermocultivo: crecimiento bacteriano del eyaculado y su relación con los parámetros seminales.** *Rev. Chil. Obst. Ginecol.* 80(1), 33-40. <https://dx.doi.org/10.4067/S0717-75262015000100005>.

Pulverer G, Pillich J.(1971) **Pathogenic significance of coagulase-negative staphylococci.** In: Finland M, Marget W, Bartmann K, editors. Bacterial infections: changes in their causative agents; trends and possible basis. *New York, Springer-Verlag*, (Pp. 91-6).

Rogers K., Paul DF. y Rupp M. (2009). **Coagulase-negative Staphylococcal infections.** *Infect Dis Clin North Am.*;23, (Pp73-98).

Schoysman R. **Epididimal causes of male infertility.** En Bollack y Clavert (eds): Progress in Reproductive Biology. Karger, Basilea, (Pp102-9).

Souvenir D, Anderson DE Jr, Palpant S, Mroch H, Askin S, Anderson J, Claridge J, Eiland J, Malone C, Garrison MW, Watson P. y Campbell DM. (1998) **Blood cultures positive for coagulase-negative staphylococci: antisepsis, pseudobacteremia, and therapy of patients.** *J Clin Microbiol.* Jul;36(7):1923-6. doi: 10.1128/JCM.36.7.1923-1926.1998. PMID: 9650937; PMCID: PMC104953.

TalhaH.Imam(2020). **Infecciones urinarias bacterianas.** MD, University of Riverside School of Medicine Última modificación del contenido feb. 2020.

Teppa D y Palacios A. (2004). **Evaluación actual de la infertilidad masculina.** *Inv. Clín*, 45(4), 355-370.

Thibodeau GA, Patton KT. (1998). **Estructura y función del cuerpo humano**. 10^a ed. Madrid: Harcourt Brace; p. 384.

Weng Z, Junco M. y Díaz O. (2003). **Microbiología sanitaria**. *Rev. Cub. Hig.* 41 (1).

Zendejas-Manzo GS, Avalos-Flores H. y Soto-Padilla MY.(2014). **Microbiología general de Staphylococcus aureus: Generalidades, patogenicidad y métodos de identificación**. *Rev Biomed.* 25(3):129-143.

www.bdigital.ula.ve