UNIVERSIDAD DE LOS ANDES

FACULTAD DE FARMACIA Y BIOANÁLISIS

ESCUELA DE BIOANALISIS

DEPARTAMENTO DE BIOANÁLISIS CLÍNICO

LABORATORIO DE ANALISIS BIOTECNOLÓGICO Y MOLECULAR (AMBIOMOL)

Caracterización de cepas de *Staphylococcus* sp en pacientes con sinusitis crónica en el estado Mérida – Venezuela

www.bdigital.ula.ve

Autoras:
Kevin José Anchundia Hernández
Jhosxana María Moreno Meneses
Tutor:
Dra. Elizabeth Mariana Pérez
Co-tutora
Msc. Maria Evelyn Alviarez

Mérida, Julio 2024

Atribución - No Comercial-Compartir Igual 3.0 Venezuela (CC BY - NC - SA 3.0 VE)

UNIVERSIDAD DE LOS ANDES

FACULTAD DE FARMACIA Y BIOANÁLISIS

ESCUELA DE BIOANALISIS

DEPARTAMENTO DE BIOANÁLISIS CLÍNICO

LABORATORIO DE ANALISIS BIOTECNOLÓGICO Y MOLECULAR (AMBIOMOL)

Caracterización de cepas de *Staphylococcus* sp en pacientes con sinusitis crónica en el estado Mérida – Venezuela

Trabajo de Grado como requisito para optar por el título de Licenciados en Bioanálisis

www.bdigital.ula.ve

Autoras:
Kevin José Anchundia Hernández
Jhosxana María Moreno Meneses
Tutor:
Dra. Elizabeth Mariana Pérez
Co-tutora
Msc. Maria Evelyn Alviarez

Mérida, Julio 2024

Atribución - No Comercial-Compartir Igual 3.0 Venezuela (CC BY - NC - SA 3.0 VE)

DEDICATORIA

A Dios padre y a la virgen de Guadalupe, por darme el don de la vida y amor de madre, salud y la infinidad de bendiciones para alcanzar la meta propuesta.

Con mucho amor a mis padres que me permitieron vivir y han estado conmigo en todo momento; han sido ejemplo de esfuerzo, lucha y dedicación, su apoyo incondicional se refleja en cada parte de este proceso académico. Madre y padre gracias por creer en mí, por apoyarme y brindarme todo su amor.

A mis ángeles, mi amada abuela Irene Meneses, mi tía Blanca Doris Meneses, por enseñarme en vida que la constancia también se trabaja. De aquí al cielo para ustedes con todo mi amor.

A mis hermanos, Kendy Dianella, Karin Dayana, Lubín Jesús, José Luis Rodríguez, quienes han sido mi apoyo y guía incondicional, cargados de mucho amor y regaños para conducirme por el camino del bien con la fe siempre puesta en Dios.

www.bdigital.ula.ve

A mi familia Meneses, Moreno Márquez, Morillo Maldonado, Ortiz Roa, Pernía Sánchez, por su apoyo y estimulo constante en todo momento.

A mi amiga y compañera de muchas batallas a nivel académico y personal, Idania Morillo, quien en situaciones de gran reto siempre has estado presente aún cuando quise soltar la toalla, infinitas gracias.

A mi compañero de tesis, Kevin Anchundia, que con su apoyo, paciencia, confianza logramos este gran reto.

A todas aquellas personas que de una u otra manera contribuyeron con este esfuerzo, por su apoyo incondicional y oración en momentos difíciles, amigos fieles y colaboradores, los quiero mucho.

Jhosxana Moreno Meneses

Atribución - No Comercial-Compartir Igual 3.0 Venezuela (CC BY - NC - SA 3.0 VE)

DEDICATORIA

Primeramente, a la fuerza suprema que nos labra el camino de la vida donde las buenas costumbres y las ganas de ser una mejor persona se instan en nuestro día a día.

A mí, la dedicación, disciplina, el deseo de aprender y el apetito del aprendizaje que me permitieron llegar a este escalón.

A mi madre Olga por su amor incondicional siendo un pilar fundamental de apoyo y constancia para empujarme a cumplir en los momentos más difíciles.

A mi hermana Michele que sin sus enseñanzas sin sus palabras de aliento y su respaldar, este camino no se labraba.

A Isis mi mascota que su compañía fue precisa en muchas circunstancias.

www.bdigital.ula.ve

A mis amistades Heidy, Elvis, Eduardo, Orlando, Rigo, Jhosxana, Andrea, Susana, Javier, Kike, Yunior, Nelson, Cepeda personas que en esta vida universitaria aportaron su grano de arena.

A todo el personal que hace vida en nuestra casa de estudio desde las representaciones de la facultad, profesores, personal ato y estudiantes que gracias a ellos persiste en el tiempo y el espacio la casa que vence a las sombras.

Kevin Anchundia Hernández

Atribución - No Comercial-Compartir Igual 3.0 Venezuela (CC BY - NC - SA 3.0 VE)

AGRADECIMIENTO

A Dios padre y a la virgen de Guadalupe, por darme el don de la vida y amor de madre, salud y la infinidad de bendiciones para alcanzar la meta propuesta.

A la ilustre Universidad de los Andes, mi casa de estudios, por permitirme hacer vida académica.

A mi tutora Dra. Elizabeth Mariana Pérez, por su apoyo y conocimientos durante la elaboración de este trabajo de investigación, por su orientación, paciencia y sabios consejos.

A mis Co-Tutores Msc. Miguel Sulbaran, Msc. Evelyn Alviarez por brindarme su apoyo, dedicación y orientación durante la investigación.

A mis queridos profesores, María Alejandra Blanco, Clara Diaz, Carolina Mata, Rima Bashas, Ana Ramírez, Mager Hamdam, Judith Velazco, quienes fueron apoyo y guía en diferentes partes de mi proceso académico, gracias infinitas por su cariño, tiempo y dedicación.

A mis amigos y familia, que en cada paso de este caminar, una mano amiga, su comprensión, respeto, una palabra de aliento, siempre han estado presente aun en la distancia para animarme y decirme “todo estará bien”.

Jhosxana Moreno Meneses

www.bdigital.ula.ve

Atribución - No Comercial-Compartir Igual 3.0 Venezuela (CC BY - NC - SA 3.0 VE)

AGRADECIMIENTO

A la ilustre Universidad de los Andes, mi casa de estudios, por permitirme hacer vida académica.

A mi tutora Dra. Elizabeth Mariana Pérez, por su apoyo y conocimientos durante la elaboración de este trabajo de investigación, por su orientación, paciencia y acompañamiento.

A mis Co-Tutores Msc. Miguel Sulbarán, Msc. Evelyn Alviarez por brindarme su apoyo, dedicación y orientación durante la investigación.

A mis queridos profesores, María Alejandra Blanco, Clara Diaz, Ana Ramírez, Ángela Lugo, Johanna Hernández, Cesar Rangel, quienes con su formación académica y sus consejos no me permitieron desistir.

www.bdigital.ula.ve

Kevin Anchundia Hernández

Atribución - No Comercial-Compartir Igual 3.0 Venezuela (CC BY - NC - SA 3.0 VE)

ÍNDICE DE CONTENIDO

	Pág.
DEDICATORIAS	**iii**
AGRADECIMIENTOS	**v**
INDICE DE CONTENIDO	**vii**
INDICE DE TABLAS	**ix**
RESUMEN	**x**
INTRODUCCIÓN	**1**
CAPITULO I. EL PROBLEMA	**3**
Planteamiento del problema	**3**
Justificación e Importancia de la investigación	**10**
Objetivos	**12**
Objetivo General	**12**
Objetivos específicos	**12**
Alcances y Limitaciones	**13**
CAPITULO II. MARCO TEÓRICO	**14**
Trabajos Previos	**14**
Antecedentes históricos	**18**
Bases Teóricas	**20**
Infecciones Respiratorias	**20**
Sinusitis	**21**
Fisiopatología de la sinusitis crónica	**22**
Diagnostico microbiológico de la sinusitis crónica: aislamiento e identificación de microbiota por métodos convencionales	**23**
Agar manitol salado	**25**
Prueba de coagulasa	**26**
Prueba de catalasa	**26**
Cocos grampositivos	**26**

www.bdigital.ula.ve

Atribución - No Comercial-Compartir Igual 3.0 Venezuela (CC BY - NC - SA 3.0 VE)

Género Staphylococcus 27
Definición de términos 28
Operacional de variables 29
CAPITULO III. MARCO METODOLÓGICO 31
Tipo de investigación 31
Diseño de investigación 31
Población y muestra 32
Unidad de investigación 32
Selección y tamaño de la muestra 32
Procedimiento de la investigación 33
Características fenotípicas 33
Estudio preliminar a la resistencia de antibióticos 35
Estudio preliminar de la resistencia a sales 35
Diseño de análisis 36
CAPITULO IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN 38
Resultados 38
Discusión 47
CAPITULO V. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES 55
Conclusiones 55
Recomendaciones 56
REFERENCIAS BIBLIHEMOROGRÁFICAS 57
ANEXOS 64

www.bdigital.ula.ve

Atribución - No Comercial-Compartir Igual 3.0 Venezuela (CC BY - NC - SA 3.0 VE)

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Agentes causales más frecuentes de las rinosinusitis. 5

Tabla 2. Operacionalización del criterio de clasificación caracterización fenotípica de bacilos gramnegativos aeróbicos aislados en pacientes con sinusitis crónica. 30

Tabla 3. Variables estadísticas según la naturaleza, escala de medida e indicadores estadísticos. 37

Tabla 4. Descripción de la población de pacientes muestreada. 39

Tabla 5. Características macromorfológicas de las colonias sembradas en el medio Mueller-Hinton. 40

www.bdigital.ula.ve

Tabla 6. Características bioquímicas de las cepas bacterianas. 42

Tabla 7. Estudio de la resistencia a antibióticos en medio Mueller-Hinton a las 48 horas de incubación. 44

Tabla 8. Estudio de la resistencia a sales en medio Muelle-Hinton. 46

Atribución - No Comercial-Compartir Igual 3.0 Venezuela (CC BY - NC - SA 3.0 VE)

UNIVERSIDAD DE LOS ANDES
FACULTAD DE FARMACIA Y BIOANÁLISIS
ESCUELA DE BIOANALISIS
DEPARTAMENTO DE BIOANÁLISIS CLÍNICO
LABORATORIO DE ANALISIS BIOTECNOLÓGICO Y MOLECULAR (AMBIOMOL)
Línea de Investigación: Estudio de cocos grampositivos

Caracterización de cepas de *Staphylococcus* sp en pacientes con sinusitis crónica en el estado Mérida – Venezuela

Trabajo de Grado

Autoras:
Kevin José Anchundia Hernández
Jhosxana María Moreno Meneses
Tutor:
Dra. Elizabeth Mariana Pérez
Co-tutora
Msc. Maria Evelyn Alviarez

RESUMEN

Las infecciones respiratorias constituyen la primera causa de consultas médicas y de morbilidad, tanto en los países desarrollados como en los países en vías de desarrollo. La resistencia a antibióticos está asociada principalmente al abuso y uso inadecuado de los mismos, generando microorganismos multirresistentes. En género *Staphylococcus*, en particular S. aureus, son capaces de colonizar la piel y las mucosas nasales, atravesando la barrera del sistema inmunitario capaz de modificarse y adaptarse al medio del huésped, instaurando así una infección, desarrollando mecanismos de virulencia y resistencia, adquiriendo genes de resistencia a los antibióticos. El objetivo de esta investigación será: caracterizar las cepas de *Staphylococcus* sp. aisladas del tracto superior respiratorio de pacientes adultos con rinosinusitis crónica que asisten con frecuencia a consulta privada durante el período septiembre-noviembre del 2014 en el Estado Mérida, Venezuela. El diseño de estudio fue de campo. Obteniendo 29 muestras de pacientes con padecimientos sinusales. Esta investigación es descriptiva y el diseño: de campo, Los procedimientos serán: Estudiar fenotípicamente los cocos grampositivos aislados en pacientes con sinusitis crónica, identificar microbiológicamente los aislados bacterianos aislados, analizar la respuesta fisiológica de las cepas aisladas a distintas variables ambientales.

Palabras clave: *Staphylococcus*, **sinusitis, organismos multirresistentes, mecanismos de resistencia, aislados bacterianos, patógeno.**

www.bdigital.ula.ve
Atribución - No Comercial-Compartir Igual 3.0 Venezuela (CC BY - NC - SA 3.0 VE)

INTRODUCCIÓN

La microbiología estudia agentes que son imperceptibles al ojo humano, es por ello que se define como la ciencia que se ocupa de estudiar microorganismos como los virus, bacterias, algas, hongos, y protozoos. Su importancia se basa en el impacto que ejerce en varios aspectos de la vida cotidiana, desde los relacionados con la salud humana, llegando a abarcar áreas como la industria y recursos energéticos. Por ello es necesario establecer criterios para la identificación partiendo de la caracterización fenotípica y genotípica de microorganismos, en especial de aquellos microorganismos que afectan de manera negativa la salud humana.

La existencia de microorganismos no ha pasado desapercibida, siendo el médico alemán Robert Koch (1843-1910) quien desarrolló medios adecuados para cultivar bacterias aisladas del cuerpo basados en extractos de carnes y productos proteicos digeridos como fuentes nutritivas. Entre los años 30 y 40 se aislaron los principales agentes patógenos bacterianos. Hoy en día, se emplean métodos microbiológicos para la identificación de microorganismos patógenos, causantes de múltiples infecciones en el organismo, combinando diferentes ensayos y reacciones bioquímicas.

www.bdigital.ula.ve

Las bacterias son organismos resistentes que sobreviven a condiciones adversas y poseen gran número de factores de virulencia que les permiten provocar enfermedades graves a través de diversos mecanismos, siendo uno de los principales problemas asociados la aparición de resistencia a antibióticos, debido principalmente al abuso y uso inadecuado de los mismos, generando microorganismos multirresistentes, los cuales tienen importantes repercusiones en los pacientes como en los sistemas de salud, entre los que se pueden mencionar brotes epidémicos, elevación de la morbilidad y mortalidad y elevación de los costos asociados al tratamiento de dichas infecciones.

Atribución - No Comercial-Compartir Igual 3.0 Venezuela (CC BY - NC - SA 3.0 VE)

La resistencia bacteriana de los miembros del género *Staphylococcus* inició con la aparición de la resistencia a la penicilina, que posteriormente conllevó al desarrollo de la resistencia a meticilina, un poco tiempo después de la introducción de este antibiótico para el tratamiento de infecciones por *Staphylococcus*. En los últimos años se ha observado un incremento considerable de la resistencia a múltiples antibióticos por parte de especies bacterianas pertenecientes al género *Staphylococcus*, favorecida principalmente por el uso indiscriminado de los antibióticos. Esto provoca la diseminación de cepas de *Staphylococcus* en todo el mundo, lo que conlleva a uno de los mayores retos terapéuticos de la medicina actual. Las cepas del género *Staphylococcus* son las bacterias aisladas con mayor frecuencia en infecciones hospitalarias y comunitarias, siendo unos de los patógenos nosocomiales de mayor importancia y causantes de una gran variedad de enfermedades en humanos y animales como foliculitis, forunculitis, endocarditis, septicemias, meningitis, neumonías y bacteriemias.

www.bdigital.ula.ve

En virtud del impacto que tienen estas distintas pruebas microbiológicas para la determinación de patógenos como herramienta que mejora la calidad de vida de los seres humanos, es que surge la inquietud de realizar este estudio en base a la caracterización fenotípica, microbiológica y fisiológica de *Staphylococcus* grampositivos aislados de vías respiratorias superiores, específicamente de pacientes adultos con sinusitis crónica de Mérida, Estado Mérida, con el propósito de realizar una correcta identificación y descripción de este tipo de patógenos.

Atribución - No Comercial-Compartir Igual 3.0 Venezuela (CC BY - NC - SA 3.0 VE)

CAPÍTULO I

EL PROBLEMA

Planteamiento del problema

A pesar de que la sinusitis en una enfermedad frecuente, existe una falta de consenso con respecto a su definición y la clasificación de sus diversas formas clínicas. La sinusitis se define como el proceso inflamatorio o infeccioso de la mucosa de los senos paranasales, la cual es una prolongación de la mucosa nasal, con la que constituye una unidad indivisible. Por lo tanto, cualquier proceso inflamatorio de las fosas nasales, incluida la rinitis aguda simple, implica cierto grado de participación sinusal. Dada la estrecha relación con la fosa nasal, en la actualidad la mayoría de los autores prefieren el término rinosinusitis (García y col., 2003; Meltzer y Hamilos, 2011).

www.bdigital.ula.ve

Por otra parte, la rinosinusitis se ha dividido en: cuadros agudos, que duran generalmente días; y crónicos, los cuales persisten por meses. Sin embargo, esta clasificación no siempre ha estado clara desde el punto de vista clínico, por lo que se recomienda clasificarla en términos fisiopatológicos, proponiendo de la siguiente clasificación: (i) rinosinusitis aguda, infección sinusal cuyos síntomas no persisten más allá de 8 semanas (entre 10 a 15 días); (ii) rinosinusitis aguda recurrente, cuadros repetidos de rinosinusitis aguda que se resuelven con tratamiento médico y cursan con intervalos libres de enfermedad; y (iii) rinosinusitis crónica, una infección sinusal cuyos síntomas persisten por más de ocho semanas (Van Bunchen y col., 1997; García y col., 2003). Los padecimientos sinusales se originan debido a cierto grado de bloqueo de los espacios de drenaje de los senos paranasales hacia el interior de la nariz, que pueden ser causados por infecciones virales, reacciones alérgicas, infecciones bacterianas o por irritación simple

Atribución - No Comercial-Compartir Igual 3.0 Venezuela (CC BY - NC - SA 3.0 VE)

ocasionada por el humo del tabaco o algún otro irritante químico. Las alergias son agente etiológico especial de la rinosinusitis, presentando una mayor incidencia en pacientes alérgicos en comparación con pacientes no alérgicos (García y col., 2003).

Los virus respiratorios y un reducido número de bacterias causan la inmensa mayoría de las rinosinusitis agudas adquiridas en la comunidad, tanto en niños como en adultos. Los virus desempeñan un importante papel, no solo como agentes etiológicos, sino también como promotores de la infección bacteriana. Los más habituales son los retrovirus (15%), virus de influenza (5%), virus de parainfluenza (3%), adenovirus (2%), virus sincicial respiratorios (3%), y menor proporción coronavirus, metaneumovirus y virus del sarampión (Chow y col., 2012; Mahdyoun y col., 2015).

En la Tabla 1 se presenta un resumen de los agentes etológicos de las clases de sinusitis más importantes. Se puede observar que en afecciones recurrentes como la sinusitis se ha descrito la presencia de virus y bacterias, estas últimas de morfología cocácea, es decir, bacterias con forma de bastón alargado, con bordes redondeados que se pueden encontrar en cualquier ambiente, de las que se han descrito varias familias y géneros de interés científico y médico. En la actualidad, los estudios microbiológicos garantizan la identificación y caracterización de una amplia variedad de micrioorganismos a través de diferentes ensayos, con el objetivo de lograr la detección de los agentes etiológicos de las enfermedades (Torralba y col., 2006).

www.bdigital.ula.ve

Atribución - No Comercial-Compartir Igual 3.0 Venezuela (CC BY - NC - SA 3.0 VE)

Tabla 1. Agentes causales más frecuentes de las rinosinusitis.

Rinosinusitis aguda bacteriana	
Niños	**Adultos**
***Streptococcus pneumoniae* 21 – 33%** ***Haemophilus influenzae* no tipificable 31– 32%** ***Moxarella catarrhalis* 8 – 11%** **Anaerobios 2 – 5%** **Sin desarrollo bacteriano 29%**	*Streptococcus pneumoniae* 38% *Haemophilus influenzae* no tipificable 36% *Moxarella catarrhalis* 16% *Staphylococcus aureus* 13% *Streptococcus pyogenes* 4% Otros 4% Sin desarrollo bacteriano 36%
Rinosinusitis crónica bacteriana	
Niños	**Adultos**
Streptococcus pneumoniae ***Haemophilus influenzae* no tipificable** ***Moxarella catarrhalis*** **Anaerobios** ***Staphylococcus aureus*** ***Pseudomonas aeruginosas y enterobacterias*** **Pacientes inmunosuprimidos, con fibrosis quística o poliposis**	**Aerobios** *Staphylococcus aureus* 4% Otros *Staphylococcus* (coagulasa negativos) *Streptococcus* a-hemolíticos 6% *Streptococcus pyogenes* (β-hemolíticos) 3% *Streptococcus pneumoniae* 2% Otros *Streptococcus* 4% *Haemophilus* spp 4% *Moxarella catarrhalis* 4% *Klebsiella pneumoniae* *Pseudomonas* (poliposis y fibrosis quísticas) **Anaerobios** *Peptostreptococcus* sp 22% *Prevotella* spp 15% *Bacteroides* spp 8% *Propionibacterium* spp 7% *Fusobacterium* spp Otros anaerobios menos comunes 5%
Hongos	
Aspergillus flavus, fumigatus ***Bipolaris specifera*** ***Exserhilum rostratum*** ***Curvularia lunata*** ***Altemaria* spp**	

Fuente: Hadley y col. (2010); Kaur y col. (2010).

www.bdigital.ula.ve

Atribución - No Comercial-Compartir Igual 3.0 Venezuela (CC BY - NC - SA 3.0 VE)

La sobreinfección bacteriana sólo se produce en el 0,5-2% de los casos: se trata de la rinosinusitis aguda bacteriana. Las bacterias implicadas con más frecuencia son: *Streptococcus pneumoniae* (neumococo), *Haemophilus influenzae, Moraxella catarrhalis, Staphylococcus aureus* en las sinusitis frontales y maxilares; *Staphylococcus* y *Streptococcus* en las formas etmoidales y esfenoidales; se pueden encontrar microorganismos anaerobios en las esfenoiditis y las infecciones de origen dental. La importancia de estas formas bacterianas infrecuentes radica en sus posibles complicaciones por afectación de los órganos vecinos, sobre todo el sistema nervioso central. Son responsables del 5% de las meningitis bacterianas extrahospitalarias y de dos tercios de los abscesos cerebrales. Su tratamiento específico con antibióticos debe tener en cuenta la ecología bacteriana local y los perfiles de resistencia (Mahdyoun y col., 2015).

En lo que se refiere al tratamiento con antibióticos de la rinosinusitis aguda bacteriana, se ha determinado que puede ser suficiente la ingesta de amoxicilina por un periodo de 7 a 14 días, sin encontrar diferencias con otros antibióticos como los macrólidos y las cefalosporinas. La dificultad en la práctica clínica consiste en diferenciar el grupo muy limitado de pacientes que obtendrán un beneficio individual de una antibioticoterapia, respecto al grupo mucho más amplio en el que este tratamiento no hará más que agravar los problemas de resistencias bacterianas a escala colectiva. Si se debe prescribir una antibioticoterapia en la rinosinusitis maxilar aguda extrahospitalaria, dando prioridad a la amoxicilina como primera elección, en dosis de 2-3 g/día, en dos o tres tomas, durante 7-10 días. Los otros antibióticos tienen una relación beneficio/riesgo menos favorable, sin embargo, se pueden proponer en situaciones precisas como la utilización de amoxicilina-ácido clavulánico en los fracasos del tratamiento de una sinusitis aguda maxilar con amoxicilina, en la sinusitis aguda maxilar de origen dental, en la sinusitis frontal, etmoidal o esfenoidal; cefalosporinas en caso de alergia a la penicilina sin alergia a las

www.bdigital.ula.ve

Atribución - No Comercial-Compartir Igual 3.0 Venezuela (CC BY - NC - SA 3.0 VE)

cefalosporinas; pristinamicina o telitromicina si existen contraindicaciones para los betalactámicos (penicilinas y cefalosporinas); levofloxacino o moxifloxacino (fluoroquinolonas activas sobre el neumococo) se deben reservar a las situaciones clínicas más graves y susceptibles de complicaciones graves, como las sinusitis frontales, esfenoidales, etmoidales, pansinusitis o en los fracasos de una primera antibioticoterapia en las sinusitis maxilares (Mahdyoun y col., 2015).

En el caso de cepas del género *Staphylococcus,* en particular *S. aureus,* son capaces de colonizar la piel y las mucosas nasales, y en el momento en que atraviesa las barreras del sistema inmunitario, deja de ser una bacteria comensal y se convierte en un patógeno, capaz de modificarse y adaptarse al medio del huésped, instaurando así una infección. Debido a que tiene la capacidad de evadir el sistema inmunológico, *S. aureus* ha desarrollado varios mecanismos de virulencia y resistencia, presentando altos niveles de morbilidad y mortalidad en las infecciones asociadas a la atención de la salud. Al penetrar en el huésped, *S. aureus* tiene adaptabilidad en diferentes condiciones ambientales, adquiriendo genes de resistencia a los antibióticos, incluidos los mecanismos reguladores para adaptarse a concentraciones crecientes de antibióticos, lo que ha provocado un incremento en los casos clínicos de multirresistencia a antibióticos por parte de *S. aureus*, especialmente debido al uso indiscriminado de antibióticos (Penna y col., 2022).

www.bdigital.ula.ve

Por otra parte, la identificación bacteriana depende de la interpretación correcta de los ensayos realizados: reacción en cadena polimerasa (PCR), cultivos y antibiograma. Estos ensayos expresan perfiles característicos de las bacterias a través de esquemas de clasificación que marcan el orden de las pruebas a ejecutar. Específicamente, dependen de las características fenotípicas o genotípicas observadas (Rogers y col., 2009). En la actualidad, la detección del agente causal de la rinosinusitis bacteriana se ha

Atribución - No Comercial-Compartir Igual 3.0 Venezuela (CC BY - NC - SA 3.0 VE)

revolucionado por los recientes avances de la biología molecular, los cuales proporcionan excelente sensibilidad, superior a la de las técnicas microbiológicas convencionales. Además, estas pruebas moleculares permiten la detección simultánea de una amplia gama de patógenos, en su mayoría virus, pero también de bacterias atípicas. Aunque las técnicas moleculares son consideradas las más específicas a nivel mundial, es difícil identificar un método preciso como referencia para un patógeno o una familia de agentes patógenos. Adicionalmente, la sensibilidad puede variar cuando las pruebas se adaptan a toda la familia del microorganismo (Pillet y col., 2013). Por ejemplo, Benson y col. (2008) desarrollaron y evaluaron una nueva tecnología de PCR Multiplex diferencial para la detección de bacterias respiratorias causantes de enfermedades patógenas, por medio de la cual amplificaron y detectaron el ADN de seis patógenos bacterianos respiratorios y compararon este nuevo método con el de PCR en tiempo real, concluyendo que la PCR multiplex era ligeramente menos sensible que la PCR en tiempo real, pero ofrece la ventaja de poder realizar múltiples ensayos en una sola reacción de PCR.

www.bdigital.ula.ve

A pesar de las ventajas significativas del diagnóstico molecular, todavía no se puede sustituir a los métodos convencionales para una gama de enfermedades infecciosas, ya que muchas pruebas comunes que se realizan en el laboratorio de microbiología clínica son aún rápidas y económicas, además que aportan información relevante sobre la bioquímica y fisiología de los aislados bacterianos. Los avances en la tecnología convencional han dado lugar a muchas pruebas antigénicas rápidas que requieren solo unos minutos para obtener resultados, y los de sistema de cultivo automatizados modernos permiten una rápida identificación y alta sensibilidad. A diferencia de los cultivos bacterianos, que puede detectar un gran número de bacterias cultivables sin conocer en principio el organismo específico responsable, todas las pruebas de PCR, excepto algunas muy específicas, solo pueden detectar

Atribución - No Comercial-Compartir Igual 3.0 Venezuela (CC BY - NC - SA 3.0 VE)

a un organismo cuyo ADN sea complementario con la de los cebadores utilizados. Es por lo antes mencionado que para realizar una correcta identificación y caracterización de microorganismos patógenos es necesaria la combinación de las técnicas moleculares y microbiológicas (Speers, 2006).

Una vez descrita la situación actual del problema, los autores de esta investigación, proponen el siguiente enunciado holopráxico: ¿Cuáles son las características fenotípicas, microbiológicas y fisiológicas propias de *Staphylococcus* sp. aislados en los adultos con rinosinusitis crónica, que asistirán a un laboratorio privado de la ciudad de Mérida (Venezuela), desde septiembre hasta noviembre del 2014?

www.bdigital.ula.ve

Atribución - No Comercial-Compartir Igual 3.0 Venezuela (CC BY - NC - SA 3.0 VE)

Justificación e importancia de la investigación

Al igual que otras infecciones respiratorias de adquisición en la comunidad, la rinosinusitis ha alcanzado durante los últimos 10 a 15 años una indiscutible notoriedad, imputable en gran medida al reconocimiento de que es una enfermedad frecuente y tiene, por tanto, un impacto considerable sobre la salud publica general y los recursos económicos destinados a mantenerla. La rinosinusitis crónica afecta entre el 10 y 14% de la población mundial, tiene una alta incidencia, afecta tanto adultos como a niños, y se posiciona entre las primeras causas de morbilidad, siendo una enfermedad que compromete la mucosa de la nariz y de los senos paranasales (Wang y col., 2011).

Venezuela no cuenta con estadísticas relativas de la incidencia de la rinosinusitis aguda y crónica en la comunidad, por lo que resulta difícil hacer estimaciones de su impacto, tanto en términos de morbilidad como económicos, sin embargo, puede intuirse que la situación no difiere mucho de lo que ocurre en otros países en vías de desarrollo. Teniendo en cuenta que los niños sufren de tres a ocho infecciones respiratorias virales al año, y los adultos de dos a cinco, de que el 90% de estos pacientes presentan evidencia radiográfica de afección sinusal, y que alrededor del 0,5 al 2% de las rinosinusitis se complicarán con una infección bacteriana, es posible estimar en torno a un millón el número de rinosinusitis bacterianas al año en Venezuela. Por otra parte, aproximadamente el 90% de los pacientes acude al médico de atención primaria para su tratamiento, por lo que ocasiona grandes gastos en el sistema de salud y, en la actualidad, genera una alta prescripción de antibióticos (Revai y col., 2007).

Las bacterias grampositivas, aunque no son frecuentes en la mucosa nasofaríngea, pueden originar estas afecciones. Por eso, la caracterización de cocos grampositivos asociados a la rinosinusitis crónica está justificada no solamente por su importancia etiológica sino también para encontrar el medio

www.bdigital.ula.ve
Atribución - No Comercial-Compartir Igual 3.0 Venezuela (CC BY - NC - SA 3.0 VE)

que aumente las posibilidades de identificación. Mucho más allá de realizar una identificación microbiológica de los cocos grampositivos presentes en pacientes con rinosinusitis crónica, resulta más importante la descripción de las características de resistencia a antibióticos y sales que presenten en estas bacterias, siendo de especial interés los patrones de resistencia a antibióticos de patógenos gram positivos multirresistentes como lo son los *Staphylococcus aureus* resistentes a las meticilina (SARM) y los enterococos resistentes a vancomicina (ERV), patógenos que representan un reto terapéutico (Martínez-Díaz y col., 2022).

Es por lo antes mencionado que la importancia de esta investigación se fundamenta en que se realizó la identificación y caracterización bioquímica y fisiológica de cocos grampositivos aislados de las vías respiratorias superiores de pacientes con rinosinusitis crónica. Los resultados del presente estudio servirán de apoyo a futuras investigaciones en el área de la microbiología clínica, permitiendo identificar los patógenos asociados, y orientar o decidir la conducta terapéutica más apropiada (Torralba y col., 2006; Millar y col., 2007).

www.bdigital.ula.ve

Atribución - No Comercial-Compartir Igual 3.0 Venezuela (CC BY - NC - SA 3.0 VE)

Objetivos de la investigación

Objetivo General

Caracterizar las cepas de *Staphylococcus* sp. aisladas del tracto superior respiratorio de pacientes adultos con rinosinusitis crónica que asisten con frecuencia a consulta privada durante el período septiembre-noviembre del 2014 en el Estado Mérida, Venezuela.

Objetivos Específicos

- Estudiar fenotípicamente los cocos grampositivos anaeróbicos aislados en pacientes con sinusitis crónica.
- Identificar microbiológicamente los aislados bacterianos.
- Analizar la respuesta fisiológica de las cepas aisladas a los antibióticos y cloruro de sodio.

www.bdigital.ula.ve

Atribución - No Comercial-Compartir Igual 3.0 Venezuela (CC BY - NC - SA 3.0 VE)

Alcances y limitaciones de la investigación

Alcances de la investigación

A través del desarrollo de diferentes aspectos metodológicos se espera conseguir una descripción precisa de los cocos grampositivos en estudio con base a la medición de sus características fenotípicas macro y microscópicas como diferencias de las colonias, morfotipo de gram y movilidad; bioquímicas y fisiológicas como la sensibilidad o resistencia de los mismos a antibióticos y sales de sodio; con la finalidad de poder caracterizarlos por medio de los resultados.

Del mismo modo, se pretende aportar con la investigación el conocimiento de nuevos hallazgos microbiológicos en pacientes con rinosinusitis crónica, a los cuales se deben dar seguimiento e importancia epidemiológica para optar por alternativas terapéuticas efectivas disminuyendo con ello las tasas de resistencia a antibióticos que han ido en ascenso en los últimos años.

www.bdigital.ula.ve

Limitaciones de la investigación

Actualmente las técnicas de biología molecular son las más utilizadas a nivel mundial para la identificación de patógenos en diferentes infecciones, siendo estas las más rápidas, precisas y exactas a la hora de comparar los resultados con otras metodologías. Aun cuando es viable realizar técnicas de aislamiento de ADN genómico y PCR, no es posible la realizar procesos como secuenciación de ADN en el país, debido a los elevados costos de estos procedimientos; por ello, se prefieren los métodos convencionales que siguen siendo alternativas confiables y económicas.

Atribución - No Comercial-Compartir Igual 3.0 Venezuela (CC BY - NC - SA 3.0 VE)

CAPITULO II

MARCO TEÓRICO

Trabajos previos

Los trabajos previos reflejan los avances y el estado actual del conocimiento en un área determinada, sirviendo como modelo o ejemplo para futuras investigaciones. En este sentido, Chin y col. (2010) realizaron el aspirado sinusal de ciento setenta y dos pacientes (172) con rinosinusitis crónica recurrentes, con el objetivo de realizar cultivos bacterianos en la primera visita al médico. De estos pacientes, 89 no habían recibido tratamiento previo con antibióticos, mientras que 83 si lo habían recibido. Fue ordenado tratamiento médico que incluyó una medicación empírica inicial con antibióticos, posteriormente sustituida con los antibióticos determinados en los antibiogramas. A los pacientes que presentaron complicaciones o persistencia, se les realizó cirugía sinusal endoscópica. Los autores encontraron que 120 pacientes (69,8%) fueron tratados exitosamente con antibioticoterapia, mientras que 38 pacientes (22,1%) no respondieron al tratamiento y fueron sometidos a cirugía. Por otra parte, *S. aureus* fue el patógeno más común (25% de los casos), y los antibióticos más efectivos para el tratamiento fueron amoxicilina - ácido clavulánico (78%) y cefalosporinas (70%).

www.bdigital.ula.ve

Hong-Zheng y col. (2018) compararon las características microbiológicas en muestras de meato medio de pacientes con rinosinusitis crónica (CRS) con pólipos nasales (CRSwNP) y sin pólipos nasales (CRSsNP), y sujetos control. En el estudio, un total de 136 pacientes con CRSwNP, 66 pacientes con CRSsNP y 49 sujetos de control que se

Atribución - No Comercial-Compartir Igual 3.0 Venezuela (CC BY - NC - SA 3.0 VE)

sometieron a cirugía endoscópica en el Hospital TongRen de Beijing se inscribieron entre enero de 2014 y enero de 2016. Se obtuvieron muestras de frotis del meato medio durante la cirugía y se procesaron para determinar la presencia de bacterias y hongos aerobios y no aerobios. Se recogió información sobre la rinitis alérgica, asma, porcentaje de eosinófilos en sangre periférica, antecedentes de tabaquismo y cirugía. Los investigadores encontraron que la tasa media de aislamiento de bacterias fue del 81,3% para los tres grupos, con la más baja en el grupo CRSsNP (77,3%) y la más alta en el grupo CRSwNP (88,4%). No hubo diferencias significativas en las tasas de aislamiento entre los tres grupos (P=0,349). Las tres especies bacterianas más comunes fueron *Staphylococcus* coagulasa negativa (24,3%), *Corynebacterium* (19,9%) y *Staphylococcus epidermidis* (19,1%) en el grupo CRSwNP; *S. epidermidis* (21,2%), *Corynebacterium* (21,2%), estafilococos coagulasa negativos (18,2%) y *Staphylococcus aureus* (13,6 %) en el grupo CRSsNP; *S. epidermidis* (30,6%), *Staphylococcus* coagulasa negativo (28,6%) y *S. aureus* (14,3%) en el grupo de control. Para las especies bacterianas con altas tasas de aislamiento, no se observaron diferencias significativas en los cultivos microbianos entre los tres grupos; mientras que en el grupo CRSwNP se observó una proporción relativamente alta de *Citrobacter* (5,9%, una bacteria con una baja tasa de aislamiento) en comparación con los grupos CRSsNP y control (todos 0,0%). Además, cuando las muestras se clasificaron en subgrupos según el porcentaje de eosinófilos, algunas especies bacterianas mostraron tasas diferentes en el grupo CRSwNP (p. ej., *S. aureus,* 3,3% en el subgrupo con porcentaje normal de eosinófilos, 17,2% en el subgrupo con aumento de eosinófilos). Los autores concluyeron que no hubo diferencias significativas en las características microbiológicas (excepto *Citrobacter*) en muestras de meato medio de pacientes con CRSwNP, pacientes con CRSsNP y sujetos de control. *S. aureus* puede promover una respuesta inflamatoria eosinofílica, mientras que *S. epidermidis* puede promover una respuesta inflamatoria no eosinofílica.

www.bdigital.ula.ve
Atribución - No Comercial-Compartir Igual 3.0 Venezuela (CC BY - NC - SA 3.0 VE)

Cortés Ponce y col. (2019) determinaron la prevalencia y relación del *S. aureus* en los pacientes con rinosinusitis crónica polipoidea en la población del Hospital Regional "General Ignacio Zaragoza", del Instituto de Seguridad y Servicios Sociales de los Trabajadores del Estado de México. En el estudio se incluyeron 20 pacientes, 12 mujeres y 8 hombres, mayores de 18 años adscritos al Servicio de Otorrinolaringología con diagnóstico de rinosinusitis crónica polipoidea, a quienes se les tomó biopsia del tejido polipoideo con material estéril por Sterrad® para realizar el cultivo y determinar la presencia de *S. aureus.* Para definir la relación del *S. aureus* y la rinosinusitis crónica polipoidea se utilizó la correlación de Pearson a través del SPSS. De la población estudiada, seis pacientes (30%) presentaron *S. aureus*, seis pacientes (30%) *S. epidermidis*, y ocho pacientes (40%) otros microorganismos. Se demostró una correlación de Pearson de 0.780 entre los microorganismos y las cirugías endoscópicas múltiples por poliposis, demostrando que los pacientes con rinosinusitis crónica polipoidea y *S. aureus* tienen una evolución tórpida, pese a la diversidad de tratamiento médico quirúrgico otorgado.

www.bdigital.ula.ve

Dobretsov y col. (2019) llevaron a cabo un estudio para conseguir evidencia de "superantígeno de estafilococo" en la rinosinusitis crónica con pólipos nasales. El estudio incluyó 69 pacientes con rinosinusitis crónica con pólipos nasales y 45 controles sanos, los cuales se sometieron a un examen bacteriológico e inmunológico en muestras de frotis nasal, analizando IgE total y las siguientes citocinas: factor de necrosis tumoral (TNF), interleucina-1 (IL1), interleucina-6 (IL6), interleucina-8 (IL8). Los autores encontraron que la concentración de bacterias en la cavidad nasal fue mucho mayor en los pacientes del grupo de estudio en comparación con los del grupo control, principalmente debido a los estafilococos. En la identificación de especies de estafilococos, las bacterias más representadas fueron *S. aureus* y *S. epidermidis*. Cuanto mayor es la concentración de *S. aureus*, menor es el nivel

Atribución - No Comercial-Compartir Igual 3.0 Venezuela (CC BY - NC - SA 3.0 VE)

de IgE. Las citocinas proinflamatorias aumentaron uniformemente en pacientes con pólipos nasales. El nivel de IgE fue máximo en pacientes con rinosinusitis crónica con pólipos nasales con crecimiento deficiente de cultivo, y mínimo en pacientes con crecimiento abundante, lo que sugiere que en estos últimos se redujo el efecto de la inflamación eosinofílica sobre la enfermedad y, por el contrario, la actividad de la inflamación eosinofílica era máxima con una pobre siembra de la cavidad nasal. Los autores concluyeron que los hallazgos no respaldan la teoría de un superantígeno de estafilococo en el que el nivel de IgE y la inflamación eosinofílica deberían aumentar con el aumento de la actividad de *Staphylococcus aureus*. Se requiere investigación adicional respaldada por una muestra más grande de pacientes para delinear mejor el papel de un superantígeno de estafilococo en la patogenia de pacientes con rinosinusitis crónica con pólipos nasales.

Xiao y col. (2020) observaron las características microbiológicas y la correlación clínica de la rinosinusitis crónica con diferentes fenotipos clínicos. Para ello 196 pacientes con rinosinusitis crónica (CRS) se sometieron a cirugía endoscópica nasal, incluidos 126 pacientes con rinosinusitis crónica con pólipos nasales (CRSwNP) y 70 pacientes con rinosinusitis crónica sin pólipos nasales (CRSsNP); se incluyeron 78 pacientes con desviación del tabique nasal (grupo de control). Las muestras de secreción nasal se recogieron antes de la operación y las bacterias se aislaron e identificaron mediante el método de cultivo tradicional. Las bacterias se compararon entre los dos grupos mediante la prueba de chi-cuadrado de Pearson o la prueba exacta de Fisher, y las bacterias se compararon entre grupos mediante la prueba de suma de rangos de Kruskal-Wallis. Se encontró una tasa de detección bacteriana total del 73,0% en los tres grupos, 76,2% en el grupo CRSwNP, 68,6% en el grupo CRSsNP, y 71,8% en el grupo control, respectivamente (P=0,579). Se identificaron principalmente Gram-positivas, entre ellas *Staphylococcus epidermidis, Pseudodiphtheria, Staphylococcus aureus, Haemophilus*

www.bdigital.ula.ve

Atribución - No Comercial-Compartir Igual 3.0 Venezuela (CC BY - NC - SA 3.0 VE)

influenzaemola, y *Haemella influenzaemola*. Los resultados estadísticos indicaron que *H. influenzae* puede ser una causa potencial de CRSwNP; mientras que *S. aureus* puede promover la respuesta inflamatoria de granulocitos eosinófilos en CRSwNP.

Antecedentes históricos

Hipócrates de Cos, médico de la Antigua Grecia, y figura destacada de la historia de la medicina reconoció lo que actualmente se denomina rinosinusitis asociada a otitis media, cuando estableció "la asociación entre el arco del paladar superior, la obstrucción nasal, la cefalea y descarga de los oídos" (DeMuri y Wald, 2012). En la época medieval se creía que las descargas nasales emanaban del líquido de la base del cerebro, a partir de allí que el termino *hipófisis* deriva de la palabra latín *fango o moco,* por sospechar que la glándula era el origen de la descarga amarilla de la nariz. Pero Vesalio, considerado el fundador de la anatomía moderna, fue el primero en describir con precisión los senos paranasales en el siglo XVI, basándose en la observación directa, permitiendo rechazar algunos errores anatómicos presentes en la obra de Galeno.

www.bdigital.ula.ve

Luego, Antonio Molinetti, también dedicado al estudio de la anatomía y disección de cadáveres, documentó los primeros casos de sinusitis supurativa en Venecia en 1697 (DeMuri y Wald, 2012). Más tarde, en 1707, William Cowper reconoció el drenaje único y dificultoso de los senos maxilares y describió elocuentemente que el antro tiene pequeñas aberturas situadas muy arriba en la cavidad, por lo que las secreciones no pueden escapar hacia la nariz a no ser que el antro este completamente lleno, o la cabeza se incline hacia un lado. El primer tratamiento conocido para la sinusitis era principalmente quirúrgico y solía consistir en la punción del seno con un trocar, o eliminar un molar y el drenaje a través del hueso alveolar.

Atribución - No Comercial-Compartir Igual 3.0 Venezuela (CC BY - NC - SA 3.0 VE)

Algunas investigaciones, desde 2003 hasta 2008, han revelado la etiología infecciosa de la sinusitis. Los cocos se asociaron por primera vez a enfermedades humanas cuando fueron observados en materiales purulentos provenientes de abscesos humanos. En 1880, el cirujano escocés Sir Alexander Ogston demostró que cocos agrupados en forma de racimo eran la causa de ciertos abscesos piógenos en humanos. Louis Pasteur arribó a una conclusión similar al mismo tiempo, pero en París. En el año 1882, Ogston llamó a estos cocos *"Staphylococcus*", derivando el nombre de los términos griegos *staphile* (racimo de uvas) y *kokkus* (frutilla). Morfológicamente, Ogston propuso este término de manera de poder diferenciarlos de los estreptococos formadores de cadenas. Ogston demostró que la inyección a ratones de pus conteniendo estos cocos producía los mismos síntomas observados en el humano. También observó que, si calentaba el pus y lo trataba con fenol, la enfermedad se prevenía (Sheagren y Schaberg, 1998).

www.bdigital.ula.ve

Atribución - No Comercial-Compartir Igual 3.0 Venezuela (CC BY - NC - SA 3.0 VE)

Bases teóricas

Infecciones respiratorias

Las infecciones respiratorias constituyen la primera causa de consultas médicas y de morbilidad, tanto en los países desarrollados como en los países en vías de desarrollo. Los niños menores de 5 años tienen algunas características fisiológicas e inmunológicas que los hacen más susceptibles para presentar estos procesos respiratorios. A pesar que las infecciones respiratorias agudas bajas concentran habitualmente la atención por su mayor complejidad, costo del tratamiento y complicaciones, son las altas las que se presentan en mayor número en la consulta ambulatoria. Por la frecuente presentación en la consulta de alergología y por la carga de ansiedad que se genera en los familiares de estos niños con infecciones respiratorias recurrentes (Carretero Colomer, 2004).

www.bdigital.ula.ve

Las infecciones respiratorias agudas que comprometen las vías aéreas superiores (IVAS) son en general de escasa gravedad y tienden a ser autolimitadas, pero, por su gran frecuencia, son la principal causa de ausentismo escolar y laboral; y, aunque una gran mayoría de los enfermos se autotrata, constituyen también la principal causa de consulta médica. El 90% de estos episodios son de origen viral y el resto causados por otros agentes, como *S. pneumoniae*, *H. influenzae*, *Mycoplasma pneumoniae*, *Chlamydia pneumoniae* y *Streptococcus spp*. Si bien las infecciones de la vía aérea superior producidas por bacterias tienden a tener como grupo algunas diferencias, en el caso individual resultan indistinguibles de las infecciones virales (Carretero Colomer, 2004).

Las infecciones respiratorias se ubican entre las 10 principales causas de defunción en la población general, y dentro de las 3 primeras causas de muerte entre los menores de 5 años, por lo que es un problema de salud

Atribución - No Comercial-Compartir Igual 3.0 Venezuela (CC BY - NC - SA 3.0 VE)

pública. Estas infecciones, que en su mayoría tienen evolución favorable, ayudan a desarrollar el sistema inmunológico de los niños, aunque para la familia representan motivo de preocupación y ansiedad, sobre todo, cuando son recurrentes. Un paciente tiene infecciones recurrentes cuando presenta una mayor frecuencia de infecciones que las correspondientes para su edad y medio ambiente. El número de infecciones no establece diferencias entre el desarrollo inmune normal y las causas predisponentes o inmunodeficiencias, de modo que es fundamental la historia clínica y el examen físico completo que orienten el diagnóstico y estudio de cada paciente. Un grupo de pacientes, especialmente los que poseen factores de riesgo, pueden cursar hacia una neumonía o una enfermedad más grave, la cual aumenta la posibilidad de muerte y requiere atención hospitalaria (Carretero Colomer, 2004).

Dentro de este grupo nosológico tenemos otitis media aguda, amigdalitis y faringoamigdalitis, rinosinusitis, adenoiditis y sinusitis. Sin embargo, se debe tener presente que muchas enfermedades respiratorias afectan tanto el tracto superior como el inferior en forma concomitante o secuencial. Es fundamental conocer su etiología, patogenia y evolución, para poder formular un diagnóstico correcto que permita, a su vez, un tratamiento concordante. A pesar de constituir motivo de consulta tan frecuente, existe una gran variedad de tratamientos, no acordes con su etiología y evolución (Carretero Colomer, 2004).

www.bdigital.ula.ve

Sinusitis

Continúa definiéndose como la condición resultante de la inflamación de la mucosa o del hueso subyacente de las paredes de uno o más senos paranasales, o simplemente como la presencia de derrame en su interior. Sin embargo, la constatación de que en la mayoría de ocasiones, la inflamación sinusal ocurre de manera simultánea o está estrechamente relacionada con procesos inflamatorios primarios de la mucosa nasal, ha

Atribución - No Comercial-Compartir Igual 3.0 Venezuela (CC BY - NC - SA 3.0 VE)

hecho ganar aceptación al término *"Rinosinusitis"*, que en la actualidad es el empleado con mayor frecuencia en la literatura médica (Poch y col., 2005).

Al igual que otras infecciones respiratorias de adquisición comunitaria, la sinusitis ha alcanzado durante los últimos 10 ó 15 años una indiscutible notoriedad, imputable en gran medida al reconocimiento de que es una enfermedad frecuente y tiene, por tanto, un impacto considerable sobre la salud pública general y los recursos económicos destinados a mantenerla. Clásicamente, las rinosinusitis se han dividido en cuadros *agudos y crónicos*, pero esta clasificación no siempre ha estado clara desde el punto de vista clínico. La sinusitis aguda dura generalmente días, mientras que los cuadros crónicos persisten durante meses. No obstante, los pacientes con sinusitis crónica suelen padecer episodios de exacerbación de sus infecciones (Poch y col., 2005).

Fisiopatología de la sinusitis crónica

www.bdigital.ula.ve

El mecanismo fisiopatológico básico que desencadena la sinusitis depende de tres factores: la obstrucción del orificio de la salida del seno relacionado a alteraciones anatómicas, la reducción del aclaramiento ciliar y el aumento de la viscosidad de las secreciones con pérdida progresiva de la esterilidad dentro de la cavidad. En un proceso obstructivo agudo se genera hipoxia debido a alteraciones del recambio gaseoso dentro de los senos con una disminución de la presión parcial de O_2, del pH, con vasodilatación y un éxtasis en las secreciones, produciendo estancamiento que genera un incremento en la colonización de la microflora nasal con consecuente infección, una vez el proceso obstructivo es crónico (Poch y col., 2005). Por otra parte, existen factores predisponentes: rinitis infecciosas, alérgicas o una desviación septal. Estas afecciones alteran la mucosa, la función ciliar y secreción glandular por aumento en el número de las células caliciformes, causando síntomas como insuficiencia respiratoria nasal y cefalea (Martínez y

Atribución - No Comercial-Compartir Igual 3.0 Venezuela (CC BY - NC - SA 3.0 VE)

col., 2010). El líquido obtenido en la irrigación de los senos paranasales en pacientes con sinusitis crónica contiene neutrófilos, eosinófilos, mastocitos y basófilos (Río y col., 2009).

Diagnóstico Microbiológico de la Sinusitis Crónica: aislamiento e identificación de la microbiota patógena por métodos convencionales

Los métodos de laboratorio directos, como la microscopia, proporcionan información preliminar acerca de las bacterias involucradas a una infección. Si bien por lo común se requiere crecimiento bacteriano para la identificación y caracterización definitivas. Específicamente, el cultivo es el proceso de crecimiento de microorganismos mediante la toma de bacterias de un sitio de infección (el ambiente *in vitro*) por métodos de recolección de muestra y crecimiento en un medio ambiente artificial en el laboratorio, el ambiente in vitro. Una vez que los cultivos se desarrollan, la mayoría de las poblaciones bacterianas pueden ser visualizadas sin microscopia y están presentes en cantidades suficientes para permitir la realización de pruebas de laboratorio. Según Forbes y col. (2004), la transición exitosa del ambiente *in vitro* requiere que se cumplan los requerimientos nutricionales y ambientales de los patógenos bacterianos.

www.bdigital.ula.ve

Las bacterias tienen numerosas necesidades nutricionales que incluyen diferentes gases, aguas, diversos iones, nitrógeno, fuentes de carbono y energía. En el laboratorio, los nutrientes se incorporan a los medios de cultivo en los que se desarrollan las bacterias; si un medio de cultivo cumple con los requerimientos de una célula bacteriana, esta se multiplicará en cantidades suficientes para permitir la visualización a simple vista. Ya que algunas bacterias tienen necesidades nutricionales diferentes, se desarrollan diferentes tipos de cultivo para su uso en el diagnostico microbiológico. A su

Atribución - No Comercial-Compartir Igual 3.0 Venezuela (CC BY - NC - SA 3.0 VE)

vez, las necesidades de la mayoría de bacterias importante en la clínica son relativamente básicas y sencillas (Forbes y col., 2004).

El agar sangre de carnero es un medio que favorece el desarrollo todas las bacterias de importancia clínica en la que hace más relevancia los *Staphylococcus*, excepto las que presentan requerimientos más especiales de cultivo. El medio consiste en una base que contiene una fuente de proteínas (triptonas), cloruro de sodio, agar y sangre de carnero al 5%. Ciertas bacterias producen enzimas extracelulares que lisan los eritrocitos en el agar. En microbiología se usa la morfología de la colonia y el grado o ausencia de hemólisis como criterios para determinar qué pasos se requieren en la identificación de un aislamiento bacteriano. Por otra parte, el agar de chocolate es el mismo agar sangre a diferencia que durante la preparación, los glóbulos rojos son lisados cuando se agrega un agar base fundido. Esta lisis libera nutrientes intracelulares como hemoglobina, hemina y la coenzima nicotinamida adenina dinucleótido (NAD), dentro del agar para ser utilizadas por las bacterias (Forbes y col., 2004).

www.bdigital.ula.ve

Los cultivos de bacterias provenientes de infecciones de diversos sitios corporales se llevan a cabo por medio de la siembra de muestras procesadas directamente en medios artificiales. Para favorecer el crecimiento, el aislamiento y la selección de los agentes etiológicos, los inóculos de la muestra por lo común se siembran sobre la superficie de las placas respetando un patrón estándar, de modo que se obtengan colonias separadas y se pueda realizarse un análisis semicuantitativo. El aislamiento de las colonias individuales durante los cultivos no solo es importante para examinar la morfología y las características, también es necesario para realizar la coloración de gram. La coloración de gram y la evaluación microscópica de los cultivos de las bacterias, junto con la morfología de la colonia, sirve para decidir los pasos de identificación necesarios. En algunos casos la coloración puede no ser necesaria, debido a que el crecimiento en un agar selectivo determinado

Atribución - No Comercial-Compartir Igual 3.0 Venezuela (CC BY - NC - SA 3.0 VE)

proporciona datos relacionados con la morfología como tamaño, pigmentación forma, aspecto, olor de la colonia; en la coloración de Gram del microorganismo (Forbes y col., 2004).

Agar Manitol Salado

Se emplea para el aislamiento selectivo de *Staphylococcus*. El agar sal manitol contiene una concentración de cloruro sódico de 7.5%, el cual es el agente activo del medio e inhibe parcial o completamente a los organismos bacterianos diferentes de los *Staphylococcus*. Los *Staphylococcus* coagulasa (+) (*Staphylococcus aureus*) producen colonias de color amarillo y un medio circundante de color amarillo, mientras que los *Staphylococcus* negativos a la coagulasa producen colonias de color rojo y no provocan cambios en el color del indicador rojo fenol (Zendejas-Manzo y col., 2014).

www.bdigital.ula.ve

Es un medio selectivo para aislar *Staphylococcus* patógenos a partir de muestras clínicas y no clínicas, basado en la fermentación de manitol, la formación de pigmento y la actividad gelatinosa. Este medio también se utiliza para el aislamiento de *Staphylococcus* que contaminan una amplia variedad de alimentos y producen una intoxicación alimentaria. Los *Staphylococcus* coagulasa (+) patógenos crecen en altas concentraciones de NaCl y forman colonias amarillas y doradas. Por otra parte, la fermentación de manitol se detecta por medio de la adición de unas gotas de azul de bromotimol a la placa, buscando las colonias con un halo amarillento alrededor. Los *Staphylococcus* licúan la gelatina produciendo zonas claras alrededor de las colonias. Para esta prueba, se le agrega a la placa de petri 5 ml de una solución saturada de sulfato de amonio o adicionando una gota de ácido sulfosalicílico al 20% e incubando 12 minutos para observar la hidrólisis de la gelatina. Una zona clara-transparente alrededor de la colonia constituye una hidrólisis (+) (Stone's reaction) (Zendejas-Manzo y col., 2014).

Atribución - No Comercial-Compartir Igual 3.0 Venezuela (CC BY - NC - SA 3.0 VE)

Prueba de coagulasa

Esta prueba se emplea para determinar y diferenciar especies dentro del género *Staphylococcus*, así como para probar la existencia de *Staphylococcus aureus*. 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 S*taphylococcu*s pueden agregarse (Zendejas-Manzo y col., 2014).

Prueba de catalasa

La catalasa es una enzima que cataliza la descomposición del peróxido de hidrógeno en agua y oxígeno. La prueba se utiliza para comprobar la presencia de la enzima catalasa que se encuentra en la mayoría de las bacterias aerobias y anaerobias facultativas que contienen el citocromo oxidasa. La principal excepción son los estreptococos (*Streptococcus*). Originariamente, esta prueba era utilizada para diferenciar entre los siguientes géneros: *Streptococcus* (catalasa-) de *Micrococcus* (catalasa+) y/o *Staphylococcus* (catalasa+); *Bacillus*(+) de *Clostridium*(-); *Lysteria monocytogenes*(+) y/o *Corynebacterium* (+, con las excepciones de las especies *C. pyogenes* y *C. haemolyticum*, ambas -) de *Erysipelothrix* (-) (Zendejas-Manzo y col., 2014).

www.bdigital.ula.ve

Cocos grampositivos

Los microorganismos de esta familia se caracterizan por dividirse en más de un plano en forma de paquetes o racimos, miden de 0,5 a 4 micras de diámetro, son gram positivos, pueden ser móviles o inmóviles, anaerobios

Atribución - No Comercial-Compartir Igual 3.0 Venezuela (CC BY - NC - SA 3.0 VE)

facultativos, catalasa positivos, y producen ácido sin gas a partir de la glucosa. Sus requerimientos nutricionales son variables, todas las cepas crecen en presencia de NaCl 5% y muchos crecen en concentraciones de 10 a 15%, favoreciendo así a los géneros *Micrococcus, Staphylococcus, Stomatococcus y Planococcus* (Aza y col., 2006).

Género Staphylococcus

Son cocos grampositivos que se agrupan en pares o racimos, y cuyas células individuales muestran variaciones de tamaño y de tinción (tinción de Gram), no móviles y no esporógenos, aerobios y facultativamente anaerobios, catalasa positivos y oxidasa negativos, utilizan los carbohidratos por fermentación, son resistentes a concentraciones de NaCl (10%) y a temperaturas altas (18-40ºC), la pared celular contiene dos componentes principales: peptidoglicano y ácidos teicoico, su metabolismo es oxidativo fermentativo, pueden usar un amplio rango de carbohidratos como fuente de carbono en presencia de oxígeno, con la producción de ácido pero no de gas. El crecimiento es rápido y abundante bajo condiciones aeróbicas, con temperaturas óptimas de crecimiento entre 35 y 40ºC, presentan resistencia a la lisis por lisozima. Forman parte de la flora normal de la piel y mucosas humanas, ocasionando diversos procesos infecciosos en pacientes que presenten algún factor predisponente. Dentro del enorme número de especies estafilocócicas, solamente tres tienen tendencia a asociarse con la enfermedad humana: *S. aureus, S. epidermidis* y *S. saprophyticus* (Aza y col., 2006).

www.bdigital.ula.ve

Los *Staphylococcus* crecen con facilidad en casi todos medios bacteriológicos, en condiciones aeróbicas o microaerofílicas. Crecen con mayor rapidez a 37°C, pero el pigmento se forma mejor a temperatura ambiente (20 a 25°C). Sobre medios sólidos, las colonias son redondas y lisas,

Atribución - No Comercial-Compartir Igual 3.0 Venezuela (CC BY - NC - SA 3.0 VE)

prominentes y brillantes, comúnmente, formando colonias de color gris o amarillo dorado intenso. Un cultivo de *Staphylococcus* contiene algunas bacterias diferentes del resto de la población en la expresión de las características de las colonias (tamaño, pigmento y hemólisis de la colonia), en la elaboración de enzimas, en la resistencia a los fármacos y en patogenicidad. La expresión de estas características *in vitro* sufre la influencia de las condiciones de crecimiento (Ferguson y Stolz, 2005).

Definición operacional de términos

Anaerobios Facultativos

Son aquellos microorganismos que pueden desarrollar un metabolismo tanto respiratorio usando el oxígeno, como fermentativo en ausencia de oxígeno, se las suele encontrar en la piel o la vía aerea alta como parte de la flora normal, o también tienen reservorios animales y naturales.

www.bdigital.ula.ve

Sinusitis o Rinosinusitis

La sinusitis es una respuesta inflamatoria de la mucosa de la nariz y de los orificios paranasales que puede deberse a una infección por agentes bacterianos, virales u hongos, un cuadro alérgico, o a una combinación de estos factores. Se caracteriza por rinorrea (secreción por la nariz), obstrucción nasal y dolor facial; puede haber hiposmia o anosmia, tos, fiebre, fatiga, dolor dentario, halitosis y malestar ótico. Generalmente está precedida de una rinitis, por cuya razón se prefiere el uso del término *rinosinusitis*.

Atribución - No Comercial-Compartir Igual 3.0 Venezuela (CC BY - NC - SA 3.0 VE)

Staphylococcus aureus

Staphylococcus aureus es una bacteria anaerobia facultativa, grampositiva, productora de coagulasa, catalasa, inmóvil y no esporulada que se encuentra ampliamente distribuida por todo el mundo, estimándose que una de cada tres personas se hallan colonizadas, aunque no infectadas, por ella. Puede producir una amplia gama de enfermedades, que van desde infecciones cutáneas y de las mucosas relativamente benignas.

Operaracionalización de las variables

Aun cuando la palabra “operacionalización” no aparece en la lengua hispana, este tecnicismo se emplea en investigación científica para designar el proceso mediante el cual se transforma la variable de conceptos abstractos a términos concretos, observables y medibles, es decir, dimensiones e indicadores (Arias, 2006). Con la finalidad de poder determinar el método a través del cual será analizada la variable fenotípica en estudio, se definen en la Tabla 2, las diferentes operaciones medidas a través de indicadores.

www.bdigital.ula.ve

Atribución - No Comercial-Compartir Igual 3.0 Venezuela (CC BY - NC - SA 3.0 VE)

Tabla 2. Operacionalización del criterio de clasificación caracterización fenotípica de bacilos gramnegativos aeróbicos aislados en pacientes con sinusitis crónica.

OPERACIONALIZACIÓN DE LA VARIABLE	OPERACIONALIZACIÓN DE LA VARIABLE	OPERACIONALIZACIÓN DE LA VARIABLE	OPERACIONALIZACIÓN DE LA VARIABLE
Caracterización Fenotípica de *Staphylococcus* sp	La caracterización fenotípica de los *Staphylococcus* sp. consta del estudio de las características físicas, macro y micro morfológicas así como de las características funcionales microbiológicas y fisiológicas de los mismos (Forbes y col, 2004).	**Caracterización macro y micro morfológica de *Staphylococcus* sp** Consta de las características físicas de los mismos. (Forbes y col., 2004).	Visualización con lupa de las características de las colonias bacterianas. Para ello los medios de cultivos deben cumplir con los requerimientos necesarios para que las bacterias se multipliquen en cantidades suficientes y observar la formación de colonias. Uso del microscopio para observar el morfotipo de las bacterias y si estas presentan o no movilidad alguna.
		Caracterización Microbiológica de *Staphylococcus* sp. Se refiere al estudio de las reacciones bioquímicas y metabólicas de los aislados bacterianos (Forbes y col., 2004).	Lectura de pruebas claves a través de tablas de identificación de microorganismos. por pruebas bioquímicas de identificación: • Catalasa • Coagulasa • Manitol Salado • Agar Sangre
		Caracterización Fisiológica de *Staphylococcus* sp. Representa la resistencia a sales y antibióticos (Forbes y col., 2004).	Inhibición por ausencia de crecimiento. Sensibilidad o resistencia a antibióticos. Sensibilidad o resistência a sales de sódio.

Fuente: los autores

www.bdigital.ula.ve

Atribución - No Comercial-Compartir Igual 3.0 Venezuela (CC BY - NC - SA 3.0 VE)

CAPITULO III

MARCO METODOLÓGICO

Tipo de Investigación

Hurtado (2010) refirió que el tipo de investigación tiene relación con la interrogante de estudio en la cual se resalta lo qué se quiere saber. Pues, esto marca el logro general que se desea conseguir durante el proceso e identifica el tipo de investigación. En consecuencia, el verbo a utilizar en el objetivo tiene que implicar un logro. Arias (2006) refiere que la investigación descriptiva consiste en la caracterización de un hecho, fenómeno, individuo o grupo, con el fin de establecer su estructura o comportamiento. Específicamente, durante esta investigación se quiere observar el evento de estudio bajo el contexto de su caracterización fenotípica. Es decir, se desea realizar una descripción en base a las características micro y macro morfológicas, bioquímicas y fisiológicas de los microorganismos, específicamente de cepas de *Staphylococcus* sp. aisladas en adultos con sinusitis crónica dentro del contexto y período determinado. Por lo tanto, esta investigación es de tipo descriptiva.

www.bdigital.ula.ve

Diseño de la Investigación

Hurtado (2010) describió que el diseño de investigación se refiere a las estrategias que se implementan para recolectar la información en una fuente determinada, en un tiempo específico y en una cantidad o amplitud asociada a lo qué se quiere saber. Arias (2006) establece que la investigación de campo es aquella que consiste en la recolección de datos directamente de los sujetos

Atribución - No Comercial-Compartir Igual 3.0 Venezuela (CC BY - NC - SA 3.0 VE)

investigados, o de la realidad donde ocurren los hechos, sin manipular o controlar variable alguna, ni alterando las condiciones existentes. En tal sentido, esta investigación tiene un diseño de campo porque los datos se recolectaron directamente de las cepas de *Staphylococcus* sp en estudio sin manipulación alguna.

Población y Muestra

La población corresponde a todas las cepas aisladas de los pacientes adultos con sinusitis crónica.

Unidad de Investigación

El grupo de estudio estuvo representado por las cepas de *Staphylococcus* sp., aisladas en adultos con síntomas se sinusitis crónica, que en el 2014 asistieron desde septiembre hasta noviembre al laboratorio privado ubicado en la ciudad de Mérida; las cuales se analizaron durante el período de septiembre a noviembre del 2014.

www.bdigital.ula.ve

Selección del Tamaño de la Muestra

El tamaño muestral se determinó de manera no probabilística, pues, la elección de la unidad de estudio no depende de la probabilidad, sino de la característica de la investigación (Hernández–Sampieri y col., 2010). En esta investigación la muestra estuvo representada por las 29 cepas de *Staphylococcus*.

Atribución - No Comercial-Compartir Igual 3.0 Venezuela (CC BY - NC - SA 3.0 VE)

Procedimiento de la investigación

Características Fenotípicas

Una vez aisladas las muestras, el procesamiento comenzó con la caracterización fenotípica fundamentada en dos procesos. Primero, el estudio micro morfológico que evaluó la motilidad y el estudio microscópico de la forma de esa célula. Además, la tinción de gram puso en manifiesto la naturaleza de la pared celular bacteriana. Segundo, el estudio macro morfológico, que constó de la observación directa de características macroscópicas de las colonias como color, forma, textura, aspecto y producción de pigmentos. Los aislados se cultivaron en agar BHI para observar dichas características al cabo de 24 horas de incubación a 30°C (Koneman y col., 1999).

La caracterización bioquímica logra ubicar al microorganismo en un taxón preliminar a nivel de grupo o familia, para lo cual se realizaron las siguientes pruebas bioquímicas: catalasa, coagulasa y manitol salado (Koneman y col., 1999).

www.bdigital.ula.ve

Para realizar la prueba de Agar Manitol Salado se preparó el medio de cultivo disolviendo 111 gr del polvo en 1 litro de agua purificada, se dejó reposar por 5 minutos y se calentó con agitación frecuente, llevando a ebullición durante 1 o 2 minutos hasta que se disolvió por completo para su distribución total. El medio se esterilizó en autoclave a 121°C durante 15 minutos. Se enfrió y se distribuyó en placas de Petri. Este medio de cultivo deshidratado es de color beige rosado, homogéneo, libre deslizamiento que al prepararlo queda de color rojo. Se sembró en la superficie un inóculo denso de la muestra por estría, luego se sometió a un período de incubación en aerobiosis, a una temperatura de 35 – 37°C durante 24 a 48 horas. Para la interpretación de los resultados se dice que su positividad se muestra en

Atribución - No Comercial-Compartir Igual 3.0 Venezuela (CC BY - NC - SA 3.0 VE)

microorganismos fermentadores en colonias de color amarillo, y su negatividad se revela en microorganismos no fermentadores en colonias de un color rojizo-púrpura (Koneman y col., 1999).

La prueba de la coagulasa comienza con la elaboración de un caldo Brain Hear Infusón (BHI), disolviendo 37 g de éste en 1 litro de agua destilada. Se vertió en los tubos de ensayo, uno por cada cepa, se procedió a su esterilización en una autoclave a una temperatura de 121°C por 15 minutos. Seguidamente, se sembró la cepa de *Staphylococcus* en el medio BHI y se incubó a una temperatura de 37°C por 24 horas. Posteriormente, se tomaron en un tubo 0,5 ml de este caldo y se le adicionaron 0,5 ml de plasma citratado, incubando en una estufa a 37°C por 24 horas, o a 42°C en baño de maría por 4 horas. El tubo de ensayo se movió cuidadosamente de arriba hacia abajo para ver si había presencia de un coágulo firme, cuya presencia es indicativa de un *Staphylococcus aureus,* mientras que su negatividad es indicativa de otra especie de *Staphylococcus, Staphylococcus epidermidis* (Koneman y col., 1999).

www.bdigital.ula.ve

La prueba de la catalasa se llevó a cabo depositando dos gotas de agua oxigenada al 30%, colocándola en contacto con una colonia de los microorganismos a estudiar. La muestra se recogió con el asa de siembra y se tomaron preferentemente el centro de una colonia pura de 18-24 horas. Si se observa la formación inmediata de una efervescencia rápida con desprendimiento de burbujas es indicativo de un resultado positivo (Koneman y col., 1999).

Atribución - No Comercial-Compartir Igual 3.0 Venezuela (CC BY - NC - SA 3.0 VE)

Estudio preliminar a la resistencia de antibióticos

Una vez concluida la identificación microbiológica, se procedió a estudiar de manera preliminar la resistencia a los antibióticos. Para ello se prepararon 10 placas del medio Luria Bertani Duro (LBD) con antibióticos comerciales (adquiridos en la farmacia), los cuales se diluyeron hasta obtener una concentración stock de 100 mg/ml. Los antibióticos seleccionados en presentación de comprimidos fueron: Cefalotina 1 g, Ceftazimida 1 g, Gentamicina 80 mg, Amoxicilina/ Ácido clavulánico 500 mg, Cefadroxilo 500 mg, Ciprofloxacina 500 mg, Ampicilina 500 mg y Kanamicina 500mg; mientras que los de presentación intravenosa fueron Ceftrioxona 1 g y Cefotaxima 1g. A partir de estas soluciones stock se prepararon placas de medio LBD (25 ml) con las siguientes concentraciones de cada uno de los antibióticos: 25, 50, 75 y 100 µg/ml. Las placas se incubaron durante 24 horas a 37 °C para el control de contaminación. Luego se sembraron las cepas por medio de palillos, y se incubaron a 37°C, tomando la lectura a las 24 y 48 horas de incubación.

www.bdigital.ula.ve

Estudio preliminar de la resistencia a sales

Por último, se procedió a estudiar de manera preliminar la resistencia a sales. Para ello se preparó una solución stock de cloruro de sodio al 25% (p/v) en agua. A partir de esta solución stock se prepararon placas de medio LBD (25 ml) con las siguientes concentraciones de NaCl: 2,5, 5, 10 y 15% (p/v). Las placas se incubaron durante 24 horas a 37°C para el control de contaminación. Luego se sembraron las cepas por medio de palillos, y se incubaron a 37°C, tomando la lectura a las 24 y 48 horas de incubación.

Atribución - No Comercial-Compartir Igual 3.0 Venezuela (CC BY - NC - SA 3.0 VE)

Diseño de análisis

Los resultados de esta investigación fueron analizados a través del enfoque cualitativo. Tal como lo propusieron Palella y Martins (2010), se recolectaron los datos relacionados con el problema de investigación: Caracterización fenotípica de cepas de *Staphylococcus* sp. aisladas en adultos con sinusitis crónica. En tal sentido, los datos obtenidos fueron medidos en un contexto descriptivo y se interpretaron mediante la consulta de las técnicas establecidas en el Manual Bergey, para el estudio fenotípico micro y macromorfológico, microbiológico y fisiológico del evento en estudio, *Staphylococcus*.

Variables estadísticas

Las variables estadísticas de esta investigación serán clasificadas desde su naturaleza y escala de medida. El fin es identificar el indicador estadístico pertinente (Tabla 3). Entre otros aspectos, estos indicadores permitieron la interpretación de los resultados.

www.bdigital.ula.ve

Sistematización de los resultados

Los resultados serán sistematizados a través de tablas. El fin de esta sistematización será contribuir con la interpretación de los resultados. De esta manera, se contribuirá con la respuesta al enunciado holopráxico. A su vez, se obtendrá el conocimiento nuevo formulado en el objetivo general y sistematizado a través de los sub-logros presentes en los objetivos específicos.

Atribución - No Comercial-Compartir Igual 3.0 Venezuela (CC BY - NC - SA 3.0 VE)

Tabla 3. Variables estadísticas según la naturaleza, escala de medida e indicadores estadísticos.

Variables	Tipo de variable			Escala de medida				Indicador estadístico
	Cualitativa	Cuantitativa		Nominal	Ordinal	Intervalo	Razón	
		Discreta	Continua					
Presencia de bacilos gramnegativos	X			x				Frecuencia absoluta y porcentual
Prueba bioquímica: Oxidasa	X			x				Frecuencia absoluta y porcentual
Prueba bioquímica: Catalasa	X			x				Frecuencia absoluta y porcentual
Prueba bioquímica: Manitol salado	X			x				Frecuencia absoluta y porcentual
Prueba bioquímica: Crecimiento de BHI	X			x				Frecuencia absoluta y porcentual
Prueba de susceptibilidad antimicromiana	X			x				Frecuencia absoluta y porcentual
Prueba de resistencia a sales	X			x				Frecuencia absoluta y porcentual

www.bdigital.ula.ve

Atribución - No Comercial-Compartir Igual 3.0 Venezuela (CC BY - NC - SA 3.0 VE)

CAPÍTULO IV

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Resultados

Descripción de la población y de la muestra

Se tomaron muestras de exudado nasal y faríngeo a un total de 29 pacientes que asistieron a un laboratorio privado en la ciudad de Mérida, previamente diagnosticados con sinusitis crónica. Del grupo muestreado, el 4,3% fueron hombres, y el 51,7% fueron mujeres; en cuanto a la edad, el 20,7% fueron menores de 15 años, el 72,4% se encontraban entre 15 y 55 años, y el 6,9% mayor de 55 años (Tabla 4). Simultáneamente, se determinó el 82.8% de las cepas aisladas eran beta hemolíticas, mientras que el 17,2% fueron gamma hemolíticas (Tabla 4). En cuanto a la abundancia en la nariz, el 34,5% fue moderada y el 65,5% fueron abundantes; mientras que en la faringe el 55,2% fue abundante y el 44,8% fue moderado (Tabla 4).

www.bdigital.ula.ve

Estudio micro y macromorfológico

El estudio micromorfológico consistió en realizar la tinción de Gram a cada uno de los patógenos bacterianos previamente aislados, concluyendo que todas las cepas corresponden a cocos grampositivos. Para el estudio macromorfológico, las cepas se sembraron en placas de medio Mueller-Hinton donde se evaluaron características como extensión del crecimiento, forma,

Atribución - No Comercial-Compartir Igual 3.0 Venezuela (CC BY - NC - SA 3.0 VE)

tamaño, elevación, borde, densidad, consistencia y color de las colonias aisladas (Tabla 5).

Tabla 4. Descripción de la población de pacientes muestreada.

N°	Código Cepas	Sexo		Edad			Hemólisis		Distribución	
		M	F	<15	15-55	>55	Beta	Gamma	Nariz	Faringe
1	C1	X			X		X		ABUN	ABUN
2	C2	X			X		X		ABUN	MOD
3	C3	X		X			X		ABUN	MOD
4	C4		X		X			X	ABUN	MOD
5	C5		X		X		X		ABUN	ABUN
6	C6	X		X			X		ABUN	ABUN
7	C7		X		X			X	ABUN	MOD
8	C8	X			X		X		ABUN	ABUN
9	C9	X				X	X		ABUN	ABUN
10	C10		X		X		X		MOD	MOD
11	C11	X			X		X		MOD	MOD
12	C12		X		X		X		MOD	MOD
13	C13		X		X			X	MOD	ABUN
14	C14		X		X		X		ABUN	ABUN
15	C15	X			X		X		MOD	MOD
16	C16		X		X		X		MOD	MOD
17	C17		X			X	X		ABUN	MOD
18	C18	X		X			X		ABUN	ABUN
19	C19		X		X			X	ABUN	MOD
20	C20	X		X			X		ABUN	ABUN
21	C21		X	X			X		ABUN	ABUN
22	C22	X			X		X		MOD	MOD
23	C23	X			X		X		ABUN	MOD
24	C24		X	X			X		MOD	MOD
25	C25	X			X		X		ABUN	ABUN
26	C26		X		X		X		MOD	MOD
27	C27		X		X		X		MOD	MOD
28	C28	X			X		X		ABUN	ABUN
29	C29		X		X			X	ABUN	ABUN

M, masculino; F, femenino; ABUN, abundante; MOD, moderado.
Fuente: elaboración propia.

www.bdigital.ula.ve

Atribución - No Comercial-Compartir Igual 3.0 Venezuela (CC BY - NC - SA 3.0 VE)

Tabla 5. Características macromorfológicas de las colonias sembradas en el medio Mueller-Hinton.

	Extensión	Forma	Tamaño	Elevación	Bordes	Densidad	Consistencia	Color
C1	Abundante	Puntiforme	1 mm	Elevada	Redondo	Opaca	Blanda	Cremoso
C2	Moderada	Puntiforme	1 mm	Elevada	Redondo	Opaca	Blanda	Cremoso
C3	Abundante	Plana	1 mm	Elevada	Redondo	Opaca	Blanda	Cremoso
C4	Abundante	Puntiforme	1 mm	Elevada	Redondo	Opaca	Blanda	Cremoso
C5	Abundante	Plana	1 mm	Elevada	Redondo	Opaca	Blanda	Cremoso
C6	Abundante	Puntiforme	1 mm	Elevada	Redondo	Opaca	Blanda	Cremoso
C7	Abundante	Puntiforme	1 mm	Elevada	Redondo	Opaca	Mucoide	Cremoso
C8	Moderada	Puntiforme	1 mm	Elevada	Redondo	Opaca	Blanda	Cremoso
C9	Abundante	Puntiforme	1 mm	Elevada	Redondo	Opaca	Mucoide	Cremoso
C10	Abundante	Plana	1 mm	Elevada	Redondo	Opaca	Blanda	Cremoso
C11	Moderada	Puntiforme	1 mm	Elevada	Redondo	Opaca	Blanda	Cremoso
C12	Moderada	Puntiforme	1 mm	Elevada	Redondo	Opaca	Blanda	Cremoso
C13	Moderada	Puntiforme	1 mm	Elevada	Redondo	Opaca	Blanda	Cremoso
C14	Abundante	Puntiforme	1 mm	Elevada	Redondo	Opaca	Blanda	Cremoso
C15	Moderada	Plana	1 mm	Elevada	Redondo	Opaca	Mucoide	Cremoso
C16	Leve	Puntiforme	1 mm	Elevada	Redondo	Opaca	Blanda	Cremoso
C17	Leve	Plana	1 mm	Elevada	Redondo	Opaca	Blanda	Cremoso
C18	Moderada	Plana	1 mm	Elevada	Redondo	Opaca	Blanda	Cremoso
C19	Leve	Plana	1 mm	Elevada	Redondo	Opaca	Blanda	Cremoso
C20	Moderada	Plana	1 mm	Elevada	Redondo	Opaca	Blanda	Cremoso
C21	Abundante	Plana	1 mm	Elevada	Redondo	Opaca	Blanda	Cremoso
C22	Abundante	Puntiforme	1 mm	Elevada	Redondo	Opaca	Blanda	Cremoso
C23	Abundante	Puntiforme	1 mm	Elevada	Redondo	Opaca	Blanda	Cremoso
C24	Abundante	Puntiforme	1 mm	Elevada	Redondo	Opaca	Blanda	Cremoso
C25	Abundante	Puntiforme	1 mm	Elevada	Redondo	Opaca	Blanda	Cremoso
C26	Abundante	Puntiforme	1 mm	Elevada	Redondo	Opaca	Blanda	Cremoso
C27	Abundante	Plana	1 mm	Elevada	Redondo	Opaca	Mucoide	Cremoso
C28	Abundante	Puntiforme	1 mm	Elevada	Redondo	Opaca	Blanda	Cremoso
C29	Abundante	Puntiforme	1 mm	Elevada	Redondo	Opaca	Mucoide	Cremoso

www.bdigital.ula.ve

De acuerdo con la Tabla 5, todas las cepas tienen tamaño de 1 mm, bordes redondos, densidad opaca y color cremoso. La mayoría de las cepas es de extensión abundante, salvo las C2, C8, C11, C12, C13, C15, C18 y C20 que presentan extensión moderada, y las cepas C16, C17 y C29 con extensión leve. En cuanto a la forma, la mayoría son puntiformes, a excepción de las

Atribución - No Comercial-Compartir Igual 3.0 Venezuela (CC BY - NC - SA 3.0 VE)

cepas C3, C5, C10, C15, C17, C18, C19, C20, C21 y C27 que presentaron forma plana. La gran mayoría de las cepas tuvieron consistencia blanda, mientras que las cepas C7, C9, C15 y C27 tuvieron consistencia mucosa. Destaca entre todas las cepas la C15 que presentó diferencias en extensión, forma y consistencia con respecto a todas las cepas. En líneas generales, las características macromorfológicas son homogéneas entre todas las cepas (Tabla 5).

Caracterización bioquímica.

Para llevar a cabo una clasificación taxonómica preliminar, las 29 cepas aisladas fueron estudiadas de acuerdo a sus características bioquímicas. En primer lugar, se realizó la prueba clave de la catalasa, para luego realizar la batería de pruebas bioquímicas constituidas por: coagulasa, BHI y manitol salado. En el caso de resultar catalasa negativas se observó el patrón de hemólisis de la sangre (α, β y γ hemolíticos). Los resultados de estas pruebas se presentan en la Tabla 6.

www.bdigital.ula.ve

Se observa en la Tabla 6 que todas las cepas aisladas resultaron positivas en la prueba de la catalasa, indicando que todas poseen y expresan la enzima catalasa; y todas las cepas son positivas en el crecimiento en medio BHI, indicado especialmente para el crecimiento de bacterias exigentes como los estreptococos, neumococos, estafilococos o meningococos en muestras de diferentes orígenes. Solo las cepas C7 y C29 resultaron ser coagulasa negativas y manitol salado sin viraje (-), lo que indica que no tienen la posibilidad de coagular el plasma ni fermentar el manitol, respectivamente, mientras que el resto de las cepas si pueden coagular el plasma y fermentar el manitol (Tabla 6).

Atribución - No Comercial-Compartir Igual 3.0 Venezuela (CC BY - NC - SA 3.0 VE)

Tabla 6. Características bioquímicas de las cepas bacterianas.

	Catalasa	Coagulasa	BHI	Manitol Salado	Oxidasa	Identificación
C1	+	+	+	+	-	*Staphylococcus aureus*
C2	+	+	+	+	-	*Staphylococcus aureus*
C3	+	+	+	+	-	*Staphylococcus aureus*
C4	+	+	+	+	-	*Staphylococcus aureus*
C5	+	+	+	+	-	*Staphylococcus aureus*
C6	+	+	+	+	-	*Staphylococcus aureus*
C7	+	-	+	-	-	Otros *Staphylococcus*
C8	+	+	+	+	-	*Staphylococcus aureus*
C9	+	+	+	+	-	*Staphylococcus aureus*
C10	+	+	+	+	-	*Staphylococcus aureus*
C11	+	+	+	+	-	*Staphylococcus aureus*
C12	+	+	+	+	-	*Staphylococcus aureus*
C13	+	+	+	+	-	*Staphylococcus aureus*
C14	+	+	+	+	-	*Staphylococcus aureus*
C15	+	+	+	+	-	*Staphylococcus aureus*
C16	+	+	+	+	-	*Staphylococcus aureus*
C17	+	+	+	+	-	*Staphylococcus aureus*
C18	+	+	+	+	-	*Staphylococcus aureus*
C19	+	+	+	+	-	*Staphylococcus aureus*
C20	+	+	+	+	-	*Staphylococcus aureus*
C21	+	+	+	+	-	*Staphylococcus aureus*
C22	+	+	+	+	-	*Staphylococcus aureus*
C23	+	+	+	+	-	*Staphylococcus aureus*
C24	+	+	+	+	-	*Staphylococcus aureus*
C25	+	+	+	+	-	*Staphylococcus aureus*
C26	+	+	+	+	-	*Staphylococcus aureus*
C27	+	+	+	+	-	*Staphylococcus aureus*
C28	+	+	+	+	-	*Staphylococcus aureus*
C29	+	-	+	.	-	Otros *Staphylococcus*

www.bdigital.ula.ve

Identificación microbiológica

De acuerdo con los resultados de las pruebas bioquímicas preliminares presentados en la Tabla 6, todas las cepas son catalasa positiva, indicando que las cepas pertenecen a los géneros *Staphylococcus* o *Micrococcus*, de

Atribución - No Comercial-Compartir Igual 3.0 Venezuela (CC BY - NC - SA 3.0 VE)

resultar negativas en la prueba de la catalasa indicaría que pertenecen a los géneros *Streptococcus* o *Enterococcus.* La prueba de la oxidasa negativa los ubica en el género *Staphylococcus.*

Para llevar a cabo la identificación mediante una caracterización microbiológica se compararon los resultados obtenidos experimentalmente en el laboratorio con las tablas de identificación disponibles en la literatura (Anexo 1). De este modo, se trata de *S. aureus* en el caso de todas las cepas, a excepción de las cepas C7 y C29 que corresponden a *Staphylococcus* cogaulasa negativa u otros *Staphylococcus* (Tabla 6).

Estudio preliminar de la resistencia de antibióticos

Para el estudio preliminar de la resistencia de antibióticos como una característica de importancia en las cepas aisladas, se emplearon ocho antibióticos comerciales preparados a diferentes concentraciones en agar Mueller-Hinton (MH), cuyas lecturas se realizaron a las 48 horas de incubación. Se utilizaron antibióticos pertenecientes a diferentes clasificaciones; del grupo de los β-lactámicos se ensayaron: la ampicilina y la amoxicilina, esta última en combinación con el ácido clavulánico como representante de los inhibidores de β-lactamasas. También se utilizaron cefalosporinas de primera generación (cefalotina y cefadroxilo) y de tercera generación (cefotaxima, ceftazidima y ceftriaxona). Por otra parte, como representante de las fluoroquinolonas se utilizó la ciprofloxacina (segunda generación); y del grupo de los aminoglucósidos se probaron la gentamicina y la kanamicina. Todos los antibióticos se usaron a concentraciones de 25, 50, 75 y 100 $^{\mu g}/_{mL}$, como se indica en la Tabla 7.

www.bdigital.ula.ve

Atribución - No Comercial-Compartir Igual 3.0 Venezuela (CC BY - NC - SA 3.0 VE)

Tabla 7. Estudio de la resistencia a antibióticos en medio Mueller-Hinton a las 48 horas de incubación.

	Antibióticos										
	β – lactámicos							Fluroquinolona	Aminoglucósidos		Inhibidores de β-lactamasas
	Penicilinas		Cefalosporinas								
			1era generación		3era generación						
Cepas	Ampicilina	Amoxicilina	Cefalotina	Cefadroxilo	Cefotaxima	Cceftazidima	Ceftriaxona	Ciprofloxacina	Kanamicina	Gentamicina	Amoxicilina/Ácido clavulánico
C1	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
C2	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
C3	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
C4	R	R	R	R	R	R	R	50	R	R	R
C5	S	R	S	25	75	S	S	50	S	R	R
C6	R	R	S	25	S	S	S	R	50	R	R
C7	R	R	R	R	R	R	R	50	S	S	R
C8	R	R	S	R	S	S	S	S	S	S	R
C9	R	R	R	R	R	R	R	50	R	R	R
C10	R	75	S	S	S	S	S	R	50	75	75
C11	R	R	R	R	R	R	R	25	S	S	R
C12	R	R	R	R	R	R	R	25	S	S	R
C13	R	R	R	R	R	R	R	S	S	S	R
C14	R	R	R	R	R	R	R	S	S	S	R
C15	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
C16	R	R	S	S	S	S	S	S	25	S	R
C17	R	50	S	S	S	S	S	S	S	S	50
C18	R	50	S	S	S	S	S	75	S	S	50
C19	R	R	S	25	50	S	S	75	25	75	R
C20	R	75	S	25	S	S	S	75	S	50	75
C21	R	25	S	S	S	S	S	75	S	S	25
C22	R	25	S	S	S	S	S	25	S	S	25
C23	R	75	S	S	S	S	S	25	S	S	75
C24	R	R	S	R	S	S	S	S	S	S	R
C25	R	R	S	R	S	S	S	S	S	S	R
C26	R	R	S	75	S	S	S	S	S	S	R
C27	R	50	S	25	S	S	S	S	S	S	50
C28	R	50	R	25	R	R	R	S	S	S	50

www.bdigital.ula.ve

Atribución - No Comercial-Compartir Igual 3.0 Venezuela (CC BY - NC - SA 3.0 VE)

C29	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S	S

R: resistente todas las concentraciones ensayadas; S: Sensible a todas las concentraciones ensayadas; Los números: Representan la concentración mínima inhibitoria ($^{\mu g}/_{mL}$).

Se observa en la Tabla 7 que las cepas C1, C2, C3, y C15, resultaron resistentes a todos los antibióticos ensayados, mientras que las cepas C4 y C9 fueron resistentes a todos los antibióticos, y a la ciprofloxacina hasta una concentración de 50 $^{\mu g}/_{mL}$. La cepa C29 fue sensible a todos los antibióticos, salvo a la ceftazidima. Todas las cepas fueron resistentes a la ampicilina (menos C5 y C29), a diferentes concentraciones de amoxicilina y amoxicilina/ácido clavulánico (menos la cepa C29). Las cepas C5, C6, C8, C10, C16-C23 y C27 resultaron sensibles a diferentes concentraciones de las cefalosporinas de 1era y 3era generación; además, las cepas C7, C8, C11-C14, y C16-C29 resultaron sensibles a las fluoroquinolonas y aminoglucósidos.

www.bdigital.ula.ve

Estudio preliminar de la resistencia a sales

Una característica importante en la fisiología de un microorganismo es la capacidad de crecer en presencia de sales. Para este ensayo se emplearon cuatro concentraciones distintas de NaCl (cloruro de sodio) expresadas en $\%^{m}/_{v}$, correspondientes a 2,5; 5, 10 y 15$\%^{m}/_{v}$, con las cuales fueron preparadas las placas de medio Mueller-Hinton. Según la Tabla 8, Las cepas C5, C6, C9, C16, C18-C27, y C29 fueron resistentes a todas las concentraciones de sales ensayadas; a partir de una concentración de 10 **%**$^{m}/_{v}$ de NaCl se observa que incrementa la sensibilidad a las sales, observándose que el 37,9% de las cepas son sensibles a una concentración de NaCl de 15 **%**$^{m}/_{v}$.

Atribución - No Comercial-Compartir Igual 3.0 Venezuela (CC BY - NC - SA 3.0 VE)

Tabla 8. Estudio de la resistencia a sales en medio Muelle-Hinton.

	Concentración de NaCl (%$^{m}/_{v}$)			
Cepas	2,5	5	10	15
C1	R	R	R	S
C2	R	R	S	S
C3	R	R	S	S
C4	R	R	S	S
C5	R	R	R	R
C6	R	R	R	R
C7	R	R	S	R
C8	R	R	R	S
C9	R	R	R	R
C10	R	R	R	S
C11	R	S	S	R
C12	R	R	S	S
C13	R	R	S	S
C14	R	R	S	S
C15	R	R	R	S
C16	R	R	R	R
C17	S	S	R	R
C18	R	R	R	R
C19	R	R	R	R
C20	R	R	R	R
C21	R	R	R	R
C22	R	R	R	R
C23	R	R	R	R
C24	R	R	R	R
C25	R	R	R	R
C26	R	R	R	R
C27	R	R	R	R
C28	R	R	R	S
C29	R	R	R	R

R: resistente; S: sensible

www.bdigital.ula.ve

Atribución - No Comercial-Compartir Igual 3.0 Venezuela (CC BY - NC - SA 3.0 VE)

Discusión

Caracterización bioquímica e identificación microbiológica

La rinosinusitis crónica (RSC) sigue siendo un síndrome clínico muy prevalente y mórbido caracterizado por una inflamación persistente de la cavidad nasal y los senos paranasales que produce síntomas de obstrucción nasal, rinorrea, dolor facial y anosmia. La RSC está muy extendida con una prevalencia informada del 4,5 al 12 % en la población general, y el subconjunto de pacientes con poliposis nasal observado en estudios poblacionales varía del 0,5 al 4,3 %, con la prevalencia más alta observada en países occidentales, pacientes varones, ancianos y asmáticos (De Conde y Soler, 2016). Comprender los factores ambientales y específicos del huésped que predisponen a los individuos a desarrollar RSC, incluyendo el papel de *Staphylococcus aureus* en la patogénesis, es un área activa de investigación (Vickery *et al.,* 2019). La microbiota del tracto respiratorio superior está principalmente compuesta por estreptococos del grupo viridans, estafilococos coagulasa negativo*, Corynebacterium* sp., *Streptococcus pneumoniae*, *Neisseria* sp. (No patógenas), *Lactobacillus* sp., *Veillonella* sp. y Espiroquetas (Ramírez, 2010).

www.bdigital.ula.ve

En este estudio, una vez obtenidos los aislamientos puros a partir de las muestras faríngeas de los pacientes con sinusitis, identificadas como cocos grampositivos previa coloración de Gram y capacidad de desarrollo en agar BHI (Tabla 6), se procedió a realizar la identificación microbiológica partiendo de una serie de pruebas bioquímicas que permiten conocer el comportamiento fisiológico del microorganismo conforme a los cambios que ocasiona en el medio. Las pruebas bioquímicas que permiten la diferenciación de los cocos grampositivos se basan en la presencia o ausencia de diferentes enzimas, las cuales dirigen el metabolismo bacteriano a lo largo de varias vías que pueden

Atribución - No Comercial-Compartir Igual 3.0 Venezuela (CC BY - NC - SA 3.0 VE)

detectarse al incorporar sustratos a los medios de cultivo, brindando un perfil bioquímico para la identificación (Koneman, 2006). Simultáneamente se llevó a cabo el estudio de las características macromorfológicas de las colonias en medio Mueller-Hinton.

La primera prueba bioquímica realizada fue la 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 oxigeno gaseoso que se libera en forma de burbujas (Koneman, 2006). Se puede observar en la Tabla 6 que todos los aislados obtenidos resultaron ser catalasa positivos. Los estafilococos son bacterias aeróbicas, pero son anaerobios facultativos, presentes en el medio ambiente y en la flora normal de humanos y animales. Son cocos Gram positivos se pueden observar células solas, en pares o en cadenas cortas, son no flagelados, no móviles y no forman esporas, y se diferencian de los estreptococos por ser catalasa positivos. Las especies se clasifican en *Staphylococcus aureus* (coagulasa positivos) y estafilococos coagulasa negativo (*epidermidis, saprophyticus*) (Koneman, 2006).

www.bdigital.ula.ve

Habiendo ubicado a los aislados en los géneros *Staphylococcus* o *Micrococcus*, se realizó la prueba de la oxidasa, obteniendo como resultado que todas las cepas aisladas fueron negativas para esta prueba, lo que indica que pertenecen al género *Staphylococcus* (Tabla 6). La prueba de la oxidasa sirve para determinar la presencia de enzimas oxidasas, específicamente, la presencia de un sistema citocromo oxidasa; los citocromos son enzimas que forman parte de la cadena de transporte de electrones en la respiración aeróbica, transfiriendo electrones al oxígeno, con la formación de agua. Por lo general, el sistema citocromo oxidasa sólo se encuentra en los organismos aerobios, algunos anaerobios facultativos y, excepcionalmente, en algún microaerófilo (*Vibrio fetus*), pero los anaerobios estrictos carecen de actividad oxidasa. Asimismo, la presencia de oxidasa va ligada a la producción de

Atribución - No Comercial-Compartir Igual 3.0 Venezuela (CC BY - NC - SA 3.0 VE)

catalasa, ya que ésta degrada el peróxido de hidrógeno que se produce como consecuencia de la reducción del oxígeno y cuya acumulación es tóxica. Las bacterias del género *Staphylococcus* son catalasa (+) y oxidasa (-), mientras que las cepas pertenecientes al género *Micrococcus* son catalasa (+) y oxidasa (+) (Koneman, 2006).

Para la diferenciación de *S. aureus* de otras especies de *Staphylococcus,* se llevó a cabo la prueba de le coagulasa, encontrando que todas las cepas fueron coagulasa (+) identificándolas como *S. aureus,* C7 y C29 que corresponden a estafilococos coagulasa negativa u otros *Staphylococcus.* La coagulasa es una proteína producida por varios microorganismos que permite la conversión del fibrinógeno en fibrina. En el laboratorio, se usa para distinguir entre diferentes tipos de *Staphylococcus*. Un resultado de coagulasa positivo indica que la muestra contiene *Staphylococcus aureus*. La coagulasa reacciona con la protrombina en la sangre, formando un complejo llamado estafilotrombina, y permite que la enzima proteasa convierta el fibrinógeno en fibrina, coagulando la sangre. La coagulasa está estrechamente relacionada con la superficie de *S. aureus,* y puede revestir su superficie con fibrina al entrar en contacto con la sangre. Se cree que está cubierta de fibrina del estafilococo es capaz de resistir la fagocitosis haciendo esta bacteria tenga un factor de virulencia mayor (Rojas *et al.,* 2001).

www.bdigital.ula.ve

Por último, se llevó a cabo la prueba de manitol salado, la cual es una prueba confirmatoria de la presencia de *S. aureus,* en la que la degradación del carbohidrato manitol provoca el viraje del color del indicador Rojo de Fenol de rojo a amarillo, indicando la acidificación del medio. Se observa en la Tabla 6, que todas las cepas fueron capaces de fermentar el manitol, confirmando la identificación de *S. aureus;* a excepción de las cepas C7 y C29, las cuales fueron incapaces de fermentar el manitol, presumiendo la presencia de *S. epidermis,* identificándolas hasta el momento como estafilococos

Atribución - No Comercial-Compartir Igual 3.0 Venezuela (CC BY - NC - SA 3.0 VE)

coagulasa negativas por la imposibilidad de continuar realizando pruebas de identificación más específicas.

Los resultados encontrados en este trabajo coinciden con los de Cortés Ponce y col. (2019), quienes determinaron la prevalencia y relación del *S. aureus* en los pacientes con rinosinusitis crónica polipoidea en la población del Hospital Regional "General Ignacio Zaragoza", del Instituto de Seguridad y Servicios Sociales de los Trabajadores del Estado de México, encontrando en la población estudiada 30% con *S. aureus*, 30% con *S. epidermidis*, y 40% con otros microorganismos. Además, coinciden con el trabajo realizado por Xiao y col. (2020), identificando en pacientes con rinosinusitis principalmente bacterias grampositivas, entre ellas *S. epidermidis, Pseudodiphtheria, S. aureus, Haemophilus influenzaemola,* y *Haemella influenzaemola*, relacionando la presencia de *S. aureus* con el desarrollo de sinusitis sin pólipos, y a *H. influenzae* con la sinusitis con pólipos.

www.bdigital.ula.ve

Estudio preliminar de la resistencia a antibióticos

La resistencia bacteriana es un fenómeno creciente caracterizado por una refractariedad parcial o total de los microorganismos al efecto del antibiótico, generado principalmente por el uso indiscriminado e irracional de los mismos (Duarte, 2016). Partiendo de los resultados expuestos en la Tabla 7, se determinó que las cepas C1, C2, C3, y C15, identificadas como *S. aureus,* mostraron resistencia a todas las concentraciones de todos los antibióticos ensayados; las cepas C4 y C9 (ambas *S. aureus*) resistieron a todos los antibióticos y fueron sensibles a concentraciones de ciprofloxacina superiores a 50 $^{\mu g}/_{mL}$; los antibióticos a los que se observó mayor resistencia fueron ampicilina, amoxicilina y amoxicilina/ácido clavulánico, mientras que se observó una alta sensibilidad a diferentes concentraciones de las

Atribución - No Comercial-Compartir Igual 3.0 Venezuela (CC BY - NC - SA 3.0 VE)

cefalosporinas de 1era y 3era generación, fluoroquinolonas y aminoglucósidos.

Las tasas de resistencia de la infección *por S. aureus* y de las cepas resistentes a múltiples fármacos están aumentando, lo que dificulta el tratamiento clínico antiinfeccioso. El mecanismo de resistencia endógena incluye principalmente tres aspectos. En primer lugar, cuando se reduce la permeabilidad de la membrana celular, se afecta el metabolismo energético de las bacterias y, por lo tanto, se reduce la absorción de fármacos, lo que conduce a la resistencia a los fármacos; por ejemplo, la resistencia de *S. aureus* a los aminoglucósidos se produce por una disminución de la permeabilidad de la membrana y, finalmente, da como resultado una disminución de la ingesta de fármacos (Anuj y col., 2019).

En segundo lugar, cuando se inducen mediante sustratos en el medio ambiente durante mucho tiempo, los genes que codifican el sistema de eflujo se activan y expresan, y la capacidad de eflujo de fármacos aumenta considerablemente, lo que conduce a la resistencia a los fármacos (Zarate et al., 2019). Los sistemas de eflujo activo de fármacos desempeñan un papel en la resistencia a múltiples fármacos, existiendo tres tipos de proteínas de bombeo de múltiples fármacos presentes en la membrana celular *de S. aureus* : QacA, NorA y Smr (Jang, 2016). Nakaminami y col. (2019) demostraron que QacA es un factor importante en *S. aureus* resistente a metilciclina (MRSA). Las proteínas de bombeo de múltiples fármacos son todas kinesinas de protones, es decir, en lugar de depender de la hidrólisis de ATP para liberar energía, el intercambio de material se realiza mediante un gradiente electroquímico formado por H^+ en ambos lados de la membrana celular (Matano y col., 2017). Por lo general, es un proceso reversible, es decir, los protones se mueven del medio extracelular al intracelular, mientras que las sustancias nocivas intracelulares como colorantes y fármacos antibacterianos fluyen desde el interior de la célula al exterior.

www.bdigital.ula.ve

Atribución - No Comercial-Compartir Igual 3.0 Venezuela (CC BY - NC - SA 3.0 VE)

En tercer lugar, se encuentra una producción excesiva de β-lactamasa, la cual es una enzima que cataliza la hidrólisis de varios antibióticos β-lactámicos (incluidos antibióticos como los antibióticos de amplio espectro carbapenémicos), está codificada por genes cromosómicos bacterianos y es transferible (Lee y Park, 2016). En la actualidad, la investigación muestra que los antibióticos β-lactámicos tienen un efecto letal sobre las bacterias principalmente a través de dos mecanismos: primero, al unirse a la proteína de unión a la penicilina (PBP, es decir, mucina sintasa de la pared celular), que reprime la síntesis de mucina de la pared celular, altera la pared celular y conduce a la expansión y lisis bacteriana; segundo, al desencadenar la actividad enzimática autolítica de las bacterias, lo que resultó en autólisis y muerte (Matono y col., 2018). La secreción excesiva de β-lactamasa por parte de *S. aureus* reduce principalmente el efecto de los antibióticos a través de dos mecanismos, que conducen a la resistencia de MRSA: el primero es el mecanismo de hidrólisis, es decir, la β-lactamasa hidroliza e inactiva los antibióticos β-lactámicos; el segundo es el mecanismo de pinzamiento, es decir, una gran cantidad de β-lactamasa se une rápida y firmemente a los antibióticos extracelulares, impidiendo que los antibióticos lleguen al espacio intracelular y, por lo tanto, los antibióticos no pueden llegar al sitio objetivo, lo que en última instancia conduce a la resistencia de MRSA a los antibióticos (Hashizume y col., 2017).

www.bdigital.ula.ve

Por otro lado, a resistencia a los antibióticos puede ser adquirida, siendo importantes en *S, aureus* mecanismos tales como: (i) resistencia por mutaciones, que alteran la ADN girasa diana o reducen las proteínas de la membrana externa, reduciendo así la acumulación del fármaco (Kime y col., 2019); (ii) adquisición de genes de resistencia mediada por plásmidos, por medio de la transducción, transformación e inserción mediada por plásmidos de genes resistentes a fármacos, produciendo un exceso de β-lactamasa, lo que lleva a la resistencia de las bacterias, por ejemplo, MRSA puede obtener

Atribución - No Comercial-Compartir Igual 3.0 Venezuela (CC BY - NC - SA 3.0 VE)

plásmidos resistentes a fármacos de *Enterococcus* , expandiendo y mejorando aún más su resistencia (Lazaris y col., 2017); (iii) resistencia mediada por biopelículas, las cuales son estructuras complejas extracelulares compuestas por una población microbiana adherida a la superficie del sustrato, rodeando a sus microorganismos internos por una matriz polimérica extracelular altamente hidratada producida por ella misma, que es una forma protectora de supervivencia para que las bacterias se adapten a su entorno (Saxena y col., 2019); y (iv) células persistentes a la resistencia a antibióticos, un pequeño subconjunto de células que son genéticamente homólogas pero fenotípicamente heterogéneas en una población microbiana, crecen lentamente o están inactivas y sobreviven a altas concentraciones de antibióticos (Fisher y col., 2017).

El SAMR es un tipo de "superbacteria" resistente a múltiples fármacos, resistente a penicilinas, cefalosporinas, cloranfenicol, lincomicina, aminoglucósidos, tetraciclinas, macrólidos, quinoftalonas, sulfonamidas y rifampicina, lo que constituye un problema muy difícil en el tratamiento clínico. Además, se ha informado de que la infección por SAMR es una de las principales enfermedades infecciosas del mundo debido a sus altas tasas de morbilidad y mortalidad, que amenazan gravemente la salud humana y han atraído la atención de la comunidad médica mundial (Hassoun y col., 2017). Por lo tanto, es urgente encontrar fármacos eficaces para tratar las infecciones bacterianas resistentes a múltiples fármacos, siendo los más efectivos en el caso de SAMR la vancomicina, daptomicina y linezolid.

www.bdigital.ula.ve

Estudio de la resistencia a sales.

Las sales son factores indispensables para el crecimiento de microorganismos debido a su papel en las reacciones enzimáticas (aún en pequeñas cantidades), donde las más importantes son de sodio, potasio,

Atribución - No Comercial-Compartir Igual 3.0 Venezuela (CC BY - NC - SA 3.0 VE)

calcio y magnesio. En este trabajo hubo cepas resistentes a todas las concentraciones de NaCl utilizadas (C5, C6, C9, C16, C18-C27, y C29), mientras que las otras cepas fueron sensibles a concentraciones de NaCl superiores a 15 **%**$^{m}/_{v}$ (Tabla 8). Esto tiene importantes implicaciones en las opciones de tratamiento de *S. aureus,* como lo demuestra el trabajo llevado a cabo por Raza y col. (2008) quienes determinaron una concentración seleccionada de hipoclorito de sodio (NaOCl) en solución salina para lavado nasal y evaluaron su eficacia clínica en el tratamiento de pacientes sintomáticos con rinosinusitis (RS) persistente asociada a *S. aureus,* encontrando una pérdida de la red de F-actina y la disminución de la expresión de ezrina significativas en las células expuestas al 0,5% de la sal, pero no en las expuestas al 0,05% de NaOCl; además, encontraron que lavado nasal con NaOCl al 0,05% en solución salina fue bien tolerado y se demostró una mejoría significativa en la obstrucción nasal y la cefalea, sin embargo se observó persistencia de *S. aureus* en las cultivos bacteriológicos posteriores al tratamiento.

www.bdigital.ula.ve

Atribución - No Comercial-Compartir Igual 3.0 Venezuela (CC BY - NC - SA 3.0 VE)

CAPÍTULO V

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

Conclusiones

1. Se aislaron cocos grampositivos identificados como *Staphylococcus aureus* y como *Staphylococcus* coagulasa negativos, por medio de las pruebas clave de catalasa y oxidasa, y la prueba confirmatoria de manitol salado.
2. Se determinó que las cepas C1, C2, C3, y C15, identificadas como *S. aureus,* mostraron resistencia a todas las concentraciones de todos los antibióticos ensayados; las cepas C4 y C9 (ambas *S. aureus*) resistieron a todos los antibióticos y fueron sensibles a concentraciones de ciprofloxacina superiores a 50 $^{\mu g}/_{mL}$; los antibióticos a los que se observó mayor resistencia fueron ampicilina, amoxicilina y amoxicilina/ácido clavulánico, mientras que se observó una alta sensibilidad a diferentes concentraciones de las cefalosporinas de 1era y 3era generación, fluoroquinolonas y aminoglucósidos.
3. Debido a la alta morbilidad y mortalidad asociada a las infecciones con SAMR, así como el incremento de la resistencia a antibióticos de las cepas de *S. aureus*, es necesario conocer la resistencia de estos microorganismos a los diferentes antibióticos, así como de los mecanismos encargados del desarrollo de la mencionada resistencia.
4. Se aislaron cepas resistentes a todas las concentraciones de NaCl utilizadas (C5, C6, C9, C16, C18-C27, y C29), mientras que las otras cepas fueron sensibles a concentraciones de NaCl superiores a 15 **%**$^{m}/_{v}$.

www.bdigital.ula.ve

Atribución - No Comercial-Compartir Igual 3.0 Venezuela (CC BY - NC - SA 3.0 VE)

5. La resistencia a sales es importante para el diseño de estrategias diferentes a los antibióticos para controlar los síntomas de la sinusitis crónica relacionada con *S. aureus.*

Recomendaciones

1. Considerar el uso de todos los métodos de identificación disponibles: microbiología convencional (manual con medios de cultivos y pruebas bioquímicas), automatizada mediante sistemas VITEX, pruebas miniaturizadas o galerías API, pruebas moleculares (reacción en cadena de polimerasa (PCR) y secuenciación) para lograr identificación a nivel de especie y subespecie si es necesario.
2. La obtención de múltiples muestras y de lugares anatómicos distintos para aumentar las posibilidades de recuperación de microorganismos, tomando en cuenta que se trata de infecciones polimicrobianas.
3. Realizar estudios sobre los mecanismos de resistencia a antibióticos que puedan ser los responsables de la alta resistencia observada en las cepas aisladas.
4. Estudiar la resistencia a sales utilizando rangos estrechos para obtener mayor precisión, así como otras sales que pueden tener un efecto en el crecimiento bacteriano.

www.bdigital.ula.ve

Atribución - No Comercial-Compartir Igual 3.0 Venezuela (CC BY - NC - SA 3.0 VE)

BIBLIOHEMEROGRAFÍA

- Anuj, S.A., Gajera, H.P., Hirpara, D.G., Golakiya, B.A. (2019). Disruption of membrane permeability of drug-resistant *Staphylococcus aureus* with cationic nanosilver particles. *Eur. J. Pharm. Sci.* 127: 208–216.
- Arias, F. (2006). El proyecto de Investigación. Introducción a la Metodología científica. 5ta Edición. Editorial Episteme, C.A.
- Aza, J., Ana, C., García, A., Liébana, J. (2006). Manual de microbiología médica. Editorial McGrawHill.
- Benson, R., Tondella, M., Bhatnagar, J., Carvalho, M. G., Sampson, J. S., Talkington, D. F., Whitney, A. M., Mothershed, E., McGee, L., Carlone, G., McClee, V., Guarner, J., Zaki, S., Dejsiri, S., Cronin, K., Han, J., Fields, B. (2008). Development and evaluation of a novel multiplex PCR technology for molecular differential detection of bacterial respiratory disease pathogens. Journal of clinical microbiology. 46(6): 2074-2077.
- Carretero Colomer, M. (2004). Infecciones respiratorias. Avances Farmacológicos 23(10): 128-130.
- Chin, C., Yeak, C., Wang, D. (2010). The microbiology and the efficacy of antibiotic-based medical treament ok chronic rhinosinusitis in Singapore. Rhinology 48(4): 433-437.
- Chow, A., Benninger, M., Brook, I., Brozek, J., Goldstein, E., Hicks, L., Pankey, G., Seleznick, M., Volturo, G., Walsd, E., File, T. (2012). IDSA clinical practice guideline for acute bacterial rhinosinusitis in children and adults. Clinical Infectious Diseases 54(8): 72-112.
- Cortés Ponce, J., Gutiérrez Espinosa, C., Pineda Cásarez, F., Díaz Sáinz, D., Durán Ortíz, M., Daniel Fuster, J. (2019). Prevalencia de Staphylococcus aureus en los pacientes con rinosinusitis crónica polipoidea. Anales Médicos 64(4): 277-280.

www.bdigital.ula.ve
Atribución - No Comercial-Compartir Igual 3.0 Venezuela (CC BY - NC - SA 3.0 VE)

- De Conde, A.S., Soler, Z.M. (2016). Chronic rhinosinusitis: epidemiology and disease burden. Am J Rhinol Allergy 30: 134–139.
- DeMuri, G., Wald, E. (2012). Sinusitis. En Mandell, G., Bennet, J. y Dolin, R. (Eds., Enfermedades Infecciosas, Principios y Práctica 7ma Ed. (pp: 884). Barcelona: ELVESIER.
- Dobretsov, K., Negm, H., Ralli, M., Passali, D. (2019). The theory of a "staphylococcus superantigen" in chronic rhinosinusitis with nasal polyps: myth or reality? Eur Rev Med Pharmacol Sci 23(1): 48-54.
- Ferguson, B.J., Stolz, D.B. (2005) Demostración de la biopelícula bacteriana en la rinosinusitis crónica humana. Am J Rhinol 19(5): 452-457.
- Fisher, R.A., Gollan, B., Helaine, S. (2017). Persistent bacterial infections and persistent cells. Nat. Rev. Microbiol. 15: 453–464.
- Forbes, B., Sahm, D., Weissdeld, A. (2004). Bailey & Scott. Diagnóstico microbiológico (pp: 98-155). Buenos Aires: Médica Panamericana.
- García, J.A., García, J.E., Gobernado, M., Mensa, J. (2003). Diagnóstico y tratamiento antimicrobiano de la sinusitis. Revista Española de Quimioterapia 16(2): 239-251.
- Hadley, J., Mösges, R., Desrosiers, M., Haverstock, D., Van Veenhuyzen, D., Herman-Gnjidic, Z. (2010). Moxifloxacin five-day therapy versus placebo in acute bacterial rhinosinusitis. Laryngoscope 120(5): 1057-1062.
- Hashizume, H., Takahashi, Y., Masuda, T., Ohba, S.I., Ohishi, T., Kawada M. (2017). *In vivo* efficacy of beta-lactam/tripropeptin C in a mouse model of sepsis and the mechanism of reverse resistance to beta-lactam in tripropeptin-mediated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. C. J. Antibiot. 71: 79–85.
- Hassoun, A., Linden, P.K., Friedman, B. (2017). Incidence, prevalence and management of MRSA bacteremia in patient populations: a review

www.bdigital.ula.ve

Atribución - No Comercial-Compartir Igual 3.0 Venezuela (CC BY - NC - SA 3.0 VE)

of recent advances in the management and treatment of MRSA. Crit. Care 21: 211.

- Hernández-Sampieri, R., Fernández, C., Baptista, P. (2010). Definición del alcance de la investigación a realizar: Exploratoria, Descriptiva, Correlacional o Explicativa. En Metodología de la Investigación. (pp: 75). Chile: Mc Graw Hill.
- Hong-Zheng, W., Yun-Chuan, L., Xiang-Dong, W., Xin-Xin, L., Chun-Hua, H., Shuai, H., Xin, L. (2018). The microbiology of chronic rhinosinusitis with and without nasal polyps. Eur Arch Otorhinolaryngol 275(6): 1439-1447.
- Hurtado J. (2010). Diseño de Investigación. En el Proyecto de Investigación, comprensión holística de la metodología y de la investigación. (pp: 147-151). Bogotá-Caracas: Ediciones Quirón.
- Jang, S. (2016). Multidrug efflux pumps in Staphylococcus aureus and their clinical implications. J. Microbiol. 54: 1–8.
- Kaur, R., Adlowitz, D., Casey, J., Zen, M., Pichichero, M., Swain, R. (2004). The microbiology and antimicrobial resistance patterns in chronic rhinosinusitis. American Journal of Otolaryngology 25(5): 323-328.
- Kime, L., Randall, C.P., Banda, F.I., Coll, F., Wright, J., Richardson, J. (2019). Transient silencing of antibiotic resistance by mutation represents a significant potential source of unforeseen therapeutic failure. MBio 10: e01755-19.
- Koneman, E., Allen, S., Schreckenberger, P., Winn, J. (1999). Diagnóstico Microbiológico. 5ta Edición. (pp: 1151). Buenos Aires: Médica Panamericana.
- Koneman, E. (2006). Diagnóstico Microbiológico (Sexta ed.). Argentina: Médica Panamericana.
- Lazaris, A., Coleman, D.C., Kearns, A.M., Pichon, B., Kinnevey, P.M., Earls, M.R. (2017). Nuevos plásmidos cfr de multiresistencia en

www.bdigital.ula.ve

Atribución - No Comercial-Compartir Igual 3.0 Venezuela (CC BY - NC - SA 3.0 VE)

Staphylococcus epidermidis resistente a la meticilina y resistente a linezolid y *Enterococcus faecium* resistente a la vancomicina (VRE) de un brote hospitalario: ubicación conjunta de *cfr* y *optrA* en VRE. J. Antimicrob. Chemother. 72: 3252–3257.

- Lee, Y.D., Park, J.H. (2016). Phage conversion for beta-lactam antibiotic resistance of Staphylococcus aureus from foods. J. Microbiol. Biotechnol. 26: 263–269.
- Mahdyoun, P., Riss, J.C., Castillo, L. 2015. Rinitis y rinosinusitis agudas del adulto. EMC - Otorrinolaringología 44(1): 1-9.
- Martínez-Díaz, H., Valderrama-Beltrán, S., Hernández, A., Pinedo, S., Correa, J., Ríos, E., Rojas, J., Hernández, Y., Hidalgo, M. (2022). Colonización nasal por *Staphylococcus aureus* resistente a la meticilina en pacientes sometidos a cirugía cardiovascular en un hospital universitario de Bogotá, Colombia. Biomedica 40: 37-44.
- Martínez, M. B., Torralba, M., Rodríguez, M. (2010). Protocolo diagnóstico y terapéutico de la sinusitis aguda. (pp 3870). Madrid: Universidad de Alcalá de Henares.
- Matano, L.M., Morris, H.G., Hesser, A.R., Martin, S.E.S., Lee, W., Owens, T.W. (2017). Antibiotic that inhibits the ATPase activity of an ATP-binding cassette transporter by binding to a remote extracellular site. J. Am. Chem. Soc. 139: 10597–10600.
- Matono, T., Nagashima, M., Mezaki, K., Motohashi, A., Kutsuna, S., Hayakawa, K. (2018). Molecular epidemiology of beta-lactamase production in penicillin-susceptible *Staphylococcus aureus* under high susceptibility conditions. J. Infect. Chemother. 24: 153–155.
- Meltzer, E., Hamilos, D.L. 2011. Rhinosinusitis Diagnosis and Management for the Clinician: A Synopsis of Recent Consensus Guidelines. Mayo Clin Proc. 86(5): 427–443.

www.bdigital.ula.ve

Atribución - No Comercial-Compartir Igual 3.0 Venezuela (CC BY - NC - SA 3.0 VE)

- Millar, B., Xu, J., Moore, J. (2007). Molecular Diagnostics of Medically Important Bacterial Infections. The Journal of Biological Chemistry 9(1): 21-39.
- Montovani, K., Bisanha, A., Cassiano, R., Tamashiro, E., Martinez, R., Terezinha, W. Y Lima, A. (2010). Maxilary Sinuses Microbiology From Patients With Chronic Rhinosinusitis. Brazilian Journal of Otorhinolaryngology, 76, (5): 548-551.
- Nakaminami, H., Takadama, S., Okita, M., Sasaki, M., Noguchi, N. (2019). Fast-acting bactericidal activity of olanexidine gluconate against qacA/B-positive methicillin-resistant Staphylococcus aureus. J. Med. Microbiol. 68: 957–960.
- Palella S., Martins F. (2010). La Metodología o Marco Metodológico. En Metodología de la Investigación Cuantitativa. (pp: 125-140). Venezuela: FEDUPEL.
- Penna, B., Silva, M.B., Botelho, A.M.N., Ferreira, F.A., Ramundo, MS, Silva-Carvalho, M.C., Rabello, R.F., Vieira-da-Motta, O., Figueiredo, A.M.S. (2022). Detection of the international lineage ST71 of methicillin-resistant Staphylococcus pseudintermedius in two cities in Rio de Janeiro State. Braz J Microbiol. 53(4): 2335-2341.
- Pillet, S., Lardeux, M., Grattard, F., Verhoven, P., Le Goff, J., Vabret, A., Pozzeto, B. (2013). Comparative Evaluation of Six Commercialized Multiplex PCR Kits for the Diagnosis of Respiratory Infeccition. PLOS ONE 8(8): 1-9.
- Poch, J., Pérez, M., Iglesias, M. C., Saiz, A. Rodríguez, F., Arrazola, J. (2005). Otorrinolaringología y Patología Cervicofacial. (pp: 183). Madrid: Médica Panamericana.
- Ramírez, A. (2010). Manual práctico de bacteriología general (1a ed.). Mérida, Venezuela: Publicaciones Vicerrectorado Académico.
- Raza, T., Elsherif, H.S., Zulianello, L., Plouin-Gaudon, I., Landis, B.N., Lacroix, J.S. (2008). Nasal lavage with sodium hypochlorite solution

www.bdigital.ula.ve
Atribución - No Comercial-Compartir Igual 3.0 Venezuela (CC BY - NC - SA 3.0 VE)

in *Staphylococcus aureus* persistent rhinosinusitis Rhinology. 46(1): 15-22.

- Revai, K., Dobbs, L., Nair, S., Patel, J., Grady, J., Chonmaitree, T. (2011). Incidence of acute otitis media ans sinusitis complicating upper respiratory tract onfecrion: the effect of age. Pediatrics 119(6): 1408-1412.
- Río, B., Mitsutoshi, F., Zepeda, B. (2009). Rinitis, sinusitis y alergia. Revista Alergia México 56(6): 204-216.
- Rogers, G., Daniels, T., Carroll, M., Connett, G., David, G., Bruce, Y. (2009). Studying bacteria in respiratory specimens by using conventional and molecular microbiological approaches. BMC Pulmonary Medicine. 9: 14-21.
- Rojas, N., Fernández, N., Espino, M., Fernández, M. (2001). Patrones de drogorresistencia de cepas de *Staphylococcus aureus* de origen clínico humano. Rev Cubana Med Trop. 53(1): 53-58.
- Saxena, P., Joshi, Y., Rawat, K., Bisht, R. (2019). Biofilms: architecture, resistance, quorum sensing and control mechanisms. Indian J. Microbiol. 59: 3–12.
- Sheagren, J., Schaberg, D. (1998). Staphylococci. En Infectious Diseases. Gorbach, Barlett and Blacklow. Pp. 1697-1703. 1998. Ed WB Saunders.
- Speers, D.J. (2006). Clinical applications of molecular biology for infectious diseases. Clin Biochem Rev. 27: 39-51.
- Torralba, M., Laínez, S., Pereira, J., Rodríguez, M. (2006). Protocolo Diagnóstico y Terapéutico de la Sinusitis Aguda. Protocolos de Práctica Asistencial 9(53): 3489-3493.
- Van Buchen, F., Knottnerus, J., Schrinemaekers, V., Peeters, M. (1997). Primary-care-based randomised placebo controlled trial of antibiotic treatment in acute maxilary sinusitis. Lancet 349: 683-687.

www.bdigital.ula.ve

Atribución - No Comercial-Compartir Igual 3.0 Venezuela (CC BY - NC - SA 3.0 VE)

- Vickery, T., Ramakrishnan, V., Suh, J. (2019). The Role of Staphylococcus aureus in Patients with Chronic Sinusitis and Nasal Polyposis. Curr Allergy Asthma Rep. 19(4): 21.
- Wang, D., Wardani, R., Singh, K., Thanaviratananich, S., Vicente, G., Xu, G., Zia, M., Gulati, A., Fang, S., Shi, L., Chan, Y., Price, D., Lund, V., Mullol, J., Fokkens, W. (2011). A survey on the management of acute rhinosinusitis among Asian physicians. Rhinology 49(3): 264-271.
- Xiao L., Hongbing, L., Chunhua, L., Wenxia, W. (2020). Microbiology of chronic rhinosinusitis with different clinical phenotypes. Lin Chuang Er Bi Yan Hou Tou Jing Wai Ke Za Zhi 34(9): 805-810.
- Zarate, S.G., Morales, P., Swiderek, K., Bolanos-Garcia, V.M., Bastida A. (2019). A molecular modeling approach to identify novel inhibitors of the major facilitator superfamily of efflux pump transporters. Antibiotics 8:25.
- Zendejas-Manzo, S., Avalos-Flores, H., Soto-Padilla, M. (2014). Microbiología general de Staphylococcus aureus: Generalidades, patogenicidad y métodos de identificación.

www.bdigital.ula.ve

Atribución - No Comercial-Compartir Igual 3.0 Venezuela (CC BY - NC - SA 3.0 VE)

Anexo

www.bdigital.ula.ve

Atribución - No Comercial-Compartir Igual 3.0 Venezuela (CC BY - NC - SA 3.0 VE)

Anexo 1.

Flujograma aplicado en la identificación de cocos grampositivos

www.bdigital.ula.ve

Atribución - No Comercial-Compartir Igual 3.0 Venezuela (CC BY - NC - SA 3.0 VE)