

302827

UNIVERSIDAD MOTOLINIA, A.C. 12

ESCUELA DE QUIMICA
CON ESTUDIOS INCORPORADOS A LA UNAM 24

INCIDENCIA DE LA ASOCIACION
Escherichia coli y *Staphylococcus*
epidermidis "Slime" POSITIVO EN LAS
INFECCIONES DE VIAS URINARIAS

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:
QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO

PRESENTA:
MARIA DE GUADALUPE GARMILLA HERRERA

MEXICO, D.F.

1996

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

*A la memoria de mi papá,
mi mayor ejemplo.*

A mi mamá, mi mejor amiga.

A Rogelio con todo mi amor.

*A mis hermanos, cuñados y
sobrinos.*

*A mi director de tesis :
DR. BENJAMIN NOGUEDA TORRES*

*A todas aquellas personas que
de alguna forma participaron
y me apoyaron para la
terminación de este trabajo.*

*Doy gracias a DIOS por todas
sus bendiciones.*

*Este trabajo se realizó en el LABORATORIO DE ANALISIS CLINICOS
del CENTRO MEDICO INSURGENTES-HOLBEIN.*

*Bajo la dirección del DOCTOR BENJAMIN NOGUEDA TORRES del Instituto
Politécnico Nacional.*

I N D I C E

CAPITULO I.

INTRODUCCION

1.1. Planteamiento del problema.....	1
1.2. Objetivos.....	4
1.3. Hipótesis.....	4

CAPITULO II.

ANTECEDENTES

2.1. Fundamentos.....	5
2.2. <i>Escherichia coli</i>	9
2.3. <i>Estafilococos coagulasa negativa</i>	11
2.3.1. <i>Staphylococcus epidermidis</i>	15
2.4. <i>Staphylococcus epidermidis</i> en las Infecciones de vías urinarias.....	16
2.4.1. Adherencia o slime.....	18

CAPITULO III.

PARTE EXPERIMENTAL

3.1. Diagrama.....	22
3.2. Material.....	24
3.2.1. Material biológico.....	24
3.2.2. Material de laboratorio.....	24
3.2.2.1. Material diverso.....	24
3.2.2.2. Equipo.....	24
3.2.2.3. Medios de cultivo.....	25
3.2.2.4. Reactivos.....	25
3.3. Metodología.....	26
3.3.1. Recolección de las muestras.....	26
3.3.2. Procesamiento de la muestra.....	26
a) Cuenta de bacterias.....	27

b) Lectura de los cultivos.....	27
c) Examen microscópico.....	28
d) Examen bioquímico.....	28

CAPITULO IV.

RESULTADOS y DISCUSION

4.1. Resultados.....	37
4.2. Discusión.....	36

CAPITULO V.

CONCLUSIONES.....	38
--------------------------	-----------

BIBLIOGRAFIA.....	39
--------------------------	-----------

C A P I T U L O I

INTRODUCCION

1.1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La infección de vías urinarias (IVU) es uno de los estados patológicos más frecuentes en la práctica médica, se considera por su frecuencia que ocupa el tercer o cuarto lugar en la patología infecciosa. (2,3,16,18)

La facilidad para examinar la orina y la cuantificación de las bacterias presentes en ella por medio del urocultivo, han permitido hacer la distinción entre contaminación y bacteriuria significativa, de tal manera que esto ha facilitado la identificación de la población en mayor riesgo para desarrollar IVU, así como para establecer algunas características epidemiológicas en la relación huésped-parásito. (2,3,7,12,15,16,21 26)

Un número considerable de microorganismos, tanto del tipo aerobio como anaerobio, se encuentran normalmente en los genitales externos de ambos sexos. Sin embargo los órganos urogenitales internos: vejiga, uréteres, riñones, testículos, útero y ovarios normalmente son estériles.

La flora bacteriana de las orinas normales difiere de la de las orinas con microorganismos patógenos. En el primer caso los microorganismos encontrados más frecuentemente son:

FLORA MICROBIANA EN LA ORINA

	PATOGENA	NO PATOGENA
Gram positivos	. <i>Streptococos</i> beta hemolítico	. <i>Difteroides</i>
	. <i>Estafilococos</i> coagulasa positiva	. <i>Bacillus subtilis</i>
	. <i>Candida albicans</i>	. <i>Levaduras</i> saprófitas

FLORA MICROBIANA EN LA ORINA

PATOGENA

NO PATOGENA

Gram negativos . *Escherichia coli*
 . *Aerobacter sp.*
 . *Proteus sp.*
 . *Salmonellas sp.*
 . *Shigelas sp.*
 . *Neisseria gonorrhoeae*

Bacilos Acido Alcohol

Resistentes . *Mycobacterium tuberculosis*

En un urocultivo la cuenta de bacterias en orina fresca de pacientes con IVU, es habitualmente mayor de 100,000 bacterias por mililitro, mientras que las muestras de personas no infectadas y normales o son estériles o no contienen más de 10,000 bacterias en un mililitro. (7,9,11,13,14,21)

Anteriormente las especies de estafilococos coagulasa negativa eran considerados como flora bacteriana no patógena y habitual en la piel, en el pasado cuando se recuperaba algún estafilococo coagulasa negativa en el cultivo de material procedente de sitios o líquidos corporales considerados estériles tales como: sangre, líquido cefalorraquídeo, biometrías, líquidos dializados, exudados de diferentes fuentes, etc., eran interpretados como indicación de una colección inapropiada del espécimen. Ahora los estafilococos coagulasa negativa son reconocidos con una frecuencia creciente como patógenos oportunistas en diferentes condiciones clínicas, así como la importancia cada vez mayor de la presencia de Estafilococos coagulasa negativa en infecciones particularmente cuando en el organismo hay un catéter. (2,4,6,8,10,15,17,18,19,20,23,24,25)

Se ha documentado la frecuente presencia de Estafilococos coagulasa negativa como mayor causa de IVU sobre todo

en las infecciones bajas del tracto urinario en el caso de las mujeres jóvenes y sexualmente activas, sin embargo esto es poco común en el caso de hombres jóvenes, aunque la causa no ha sido totalmente establecida. (18,16,23)

Staphylococcus epidermidis ha sido normalmente considerado como un comensal no patógeno del organismo, sin embargo su presencia cada vez más frecuente en diferentes tipos de infecciones lo ha convertido en un microorganismo importante en la práctica diaria del diagnóstico clínico.
(2,4,6,8,15,17,18,20,23,24)

1.2. OBJETIVOS

Demuestran mediante la obtención de urocultivos con cuentas superiores o iguales a 100,000 bacterias por mililitro de *Staphylococcus epidermidis* su adherencia o capacidad patógena.

Demuestran mediante la obtención de urocultivos con cuentas superiores o iguales a 100,000 bacterias por mililitro de la asociación de *Escherichia coli* con *Staphylococcus epidermidis* la capacidad de *Staphylococcus epidermidis* para modificar su adherencia "Slime".

1.3. HIPOTESIS

La asociación de *Escherichia coli* y *Staphylococcus epidermidis* en las infecciones de vías urinarias modifica la capacidad de adherencia o patógena de *Staphylococcus epidermidis*.

La capacidad de *Staphylococcus epidermidis* para desarrollar adherencia o "Slime" lo convierte en un microorganismo patógeno potencial presente en las infecciones de vías urinarias.

C A P I T U L O I I

ANTECEDENTES

2.1. FUNDAMENTOS

Las infecciones de vías urinarias (IVU) representan uno de los tipos de infecciones más comunes en la práctica médica. En las últimas décadas se han realizado investigaciones muy intensas con el fin de definir más acertadamente las causas de su epidemiología, patogénesis (virulencia bacteriana vs. defensa del huésped), diagnóstico, tratamiento y prevención de estas enfermedades y se han logrado muchos progresos, sin embargo aun quedan muchas preguntas sin responder.

Se sabe que en condiciones normales las defensas del huésped funcionan para prevenir el desarrollo de infecciones en el tracto urinario, pero también sabemos que existen factores de riesgo tales como: obstrucción urinaria, estasis y reflujo, embarazo y edad, actividad sexual, etc. También se sabe que la utilización de instrumentación en el tracto urinario es uno de los factores predisponentes de infecciones, así como el empleo de catéteres se considera como la causa más común de infecciones nosocomiales inducidas por microorganismos Gram negativos. (2,15,16,19,26)

Las investigaciones recientes sobre la naturaleza de las IVU han obligado a los médicos a reconocer la importancia de una gran variedad de agentes patógenos en este tipo de problemas. El término IVU describe un grupo heterogéneo de alteraciones localizadas en algún área del sistema urinario. La presencia y tipo de bacterias en la orina (bacteriuria), puede estar relacionada con estados clínicos de intensidad variable y, con consecuencias igualmente variables. El análisis de esos estados puede estar basado en varios factores:

a) el sitio de la infección; la localización de las bacterias,

que potencialmente pueden migrar hacia el riñón, puede determinarse por medio de la cateterización uretral o el lavado de la vejiga urinaria o bien, tenerse implícito por la disminución de la función renal tal como sería la capacidad de concentración renal;

b) la respuesta del huésped a la presencia de bacteriuria: esta respuesta puede ser sistémica, afectando sitios distantes al sistema urinario, representada por elevación de la temperatura corporal y la circulación de algunas sustancias consideradas como proteínas de fase aguda. Esta respuesta puede ser local en algún sitio del sistema urinario, manifestada por ejemplo por la eliminación de células inflamatorias del sistema leucocitario (piuria) y

c) las consecuencias de la IVU: en donde se incluyen las recurrencias de IVU, la evidencia de zonas de cicatrización, con o sin la alteración de la función renal, así como la enfermedad renal progresiva e insuficiencia renal terminal. Los cambios inducidos en el huésped por las bacterias que invaden un sitio normalmente estéril, puede ser utilizado para valorar los determinantes de la virulencia bacteriana y de la resistencia del huésped. La interacción entre las células del huésped y los determinantes bacterianos es una de las áreas a las que se destina mayor atención para poder entender la patogenia de IVU. Especial atención se ha dado a la expresión y especificidad de las estructuras superficiales de las bacterias (pili), particularmente a la presencia de adhesinas las cuales intervienen en la unión a epitelios con los componentes complementarios en los receptores de las células uroepiteliales. La adherencia está influida por la habilidad de las células epiteliales del huésped para adherir bacterias que presentan los receptores específicos, lo cual implica una etapa esencial en la patogenia de la IVU. (2,3,15,16,26).

Otros estudios sobre los factores de virulencia han demostrado

que son diferentes adhesinas las que median la unión de cocos Gram positivos en comparación con las especies Gram negativas. En contraste los cocos Gram positivos aparentemente tienen más habilidad para unirse a las células epiteliales ricas en fibronectina, que las especies Gram negativas, (2,16,26).

Se sabe también que otro factor predisponente a la IVU es la introducción o utilización de instrumentación en el tracto urinario; así como el empleo de catéter uretral es considerado como una de las mayores causas de infecciones nosocomiales inducidas. El desarrollo de bacteriuria relacionada a éste provoca una mayor duración y costo de hospitalización, así como un incremento en la morbilidad y mortalidad en pacientes cateterizados. Por todo lo anterior se ha comprobado la importancia de poner mucha atención en la esterilidad de la bolsa de drenaje y del catéter a fin de prevenir infecciones ascendentes o cruzadas, o bien utilizar métodos alternos para drenar la vejiga tales como la cateterización intermitente o drenado directo de la vejiga por la piel dependiendo del beneficio del paciente, ya que se ha podido observar que la terapia antimicrobiana sistémica para disminuir las infecciones causadas por la asociación al catéter ha fallado repetidamente, lo que ha ocasionado la aparición de un gran número de bacterias resistentes; es por eso que en la práctica actual se busca usar lo menos posible esta técnica, o la pronta remoción del catéter. (2,4,6,15,19,26)

La mayoría de las IVU son producidas por organismos Gram negativos, principalmente *Escherichia coli*, posiblemente debido a que forma parte de la flora intestinal; como segundo agente causal se ha encontrado a *Staphylococcus saprophyticus* sobre todo en personas sexualmente activas, la razón por la que éste organismo produce tal cantidad de infecciones aun se desconoce. Aunque los organismos que producen enfermedades transmisibles por contacto sexual y vaginitis tales como *Chlamydia trachomatis*,

Neisseria gonorrhoeae, *Candida albicans*, *Trichomonas vaginalis* y *Gardnerella vaginalis* comúnmente no se consideran patógenos urinarios, si pueden llegar a producir síntomas de IVU por lo que deben incluirse en el diagnóstico diferencial. (2,15,16,)

2.2. ESCHERICHIA COLI

Pertenece a la familia *Enterobacteriaceae*. Fue aislada por Escherich en 1885. (7,9,11) Desarrolla en medios ordinarios de cultivo, sin embargo los medios más recomendados son los medios de Mc Conkey, EMB y Terjitol-7S. Las colonias en medios sólidos son poco elevadas, convexas, lisas, incoloras aunque algo opacas, con bordes enteros. En el medio de EMB desarrolla un brillo metálico característico. Son aerobios o anaerobios facultativos. Morfología: bacilos cortos y gruesos Gram negativos, no forman esporas aunque algunos tienen cápsula, no presentan estructuras internas específicas, son móviles por medio de flagelos o inmóviles. *Escherichia coli* forma parte habitual de la flora del intestino del hombre y los animales, con excepción de algunos serotipos que son agentes causales de diarreas tales como O 126, O 111, O 125, etc.; sin embargo, son potencialmente patógenas en cualquier otra parte del cuerpo. También hay cepas patógenas a nivel intestinal con marcadores de virulencia tóxicas, invasivos o adherentes. Generalmente se presenta en niños menores de un año, se puede presentar también en adultos sobre todo en ancianos. Otros serotipos pueden causar también infecciones genitourinarias tales como: pielitis, cistitis y pielonefritis; del aparato circulatorio como septicemias; infecciones de la cavidad peritoneal apéndice y vesícula; también pueden infectar heridas quirúrgicas por contaminación en salas de hospitales; en niños generalmente es agente causal de meningitis y neumonías. La mayoría de las cepas enteropatógenas de *Escherichia coli* asociadas a los padecimientos diarreicos producen una enterotoxina que media la movilización de agua e iones de los tejidos al interior de la luz intestinal que se manifiesta como diarrea. Además de la endotoxina clásica, común a la mayoría de las bacterias Gram negativas, *Escherichia coli* produce varias toxinas solubles. Varias cepas de *Escherichia coli* son hemolíticas. Se producen

dos clases de hemolisinas, una llamada hemolisina alfa que es una hemolisina soluble que se encuentra en el sobrenadante de los cultivos libres de células, no es tóxica en animales; la otra, la hemolisina beta, es una hemolisina fija a las células y ambas producen la lisis de una amplia variedad de eritrocitos.

Escherichia coli es normalmente susceptible a antibióticos de amplio espectro, entre los cuales se incluyen la tetraciclina, cloramfenicol, ampicilina, eritromicina, estreptomina y neomicina, aunque en la actualidad se han desarrollado gran cantidad de cepas resistentes que causan problemas en hospitales, guarderías, etc.

El diagnóstico de infecciones causadas por *Escherichia coli* se basa en su aislamiento e identificación bioquímica y/o serológica. La galería mínima para la identificación de *Escherichia coli* es la siguiente :

Glucosa, Lactosa, Movilidad e Indol positivos; SH_2 y Ureasa negativas. (7,9,11,13,14,22)

2.3. ESTAFILOCOCOS COAGULASA NEGATIVOS

El género *Staphylococcus* de la familia *Micrococcaceae* se divide en varias especies dependiendo de sus características bioquímicas, genotipo y patogenicidad.

En 1963, Baird-Parker propuso un sistema de clasificación para los micrococcos, dividiéndolos en 3 géneros: *Staphylococcus*, *Micrococcus* y *Sarcina*. Los estafilococos se dividieron en 6 subgrupos en base a sus diferencias bioquímicas. La taxonomía de los estafilococos actualmente aceptada fue propuesta por Kloss y Schleifer a mediados de 1970, utilizando biotipos para subdividir los estafilococos coagulasa negativa en 9 diferentes especies. Otras evaluaciones han agregado 6 especies adicionales al género para un total de 15. Tabla Nº1

Los estafilococos coagulasa negativa son considerados como saprófitos o de baja virulencia, normalmente se les encuentra en la piel sin que causen algún problema. Sin embargo en condiciones adecuadas pueden volverse patógenos. Aparecen como patógenos importantes especialmente en infecciones nosocomiales. Las infecciones por estafilococos coagulasa negativa se presentan en pacientes con bajas defensas, particularmente en pacientes con granulocitopenia, neonatos o pacientes con implantes. (20,24)

ESPECIES DE ESTAFILOCOCOS COAGULASA NEGATIVA Y SU HABITAT NORMAL

<u>ORGANISMO</u>	<u>HABITAT</u>
<i>Staphylococcus hyicus</i>	Cerdos con dermatitis, Vacas con mastitis, Cerdos sanos y pollos
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	Piel humana
<i>Staphylococcus simulans</i>	Piel humana
<i>Staphylococcus xylosum</i>	Piel humana
<i>Staphylococcus cohnii</i>	Piel humana
<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	Dos subespecies: La primera en monos normalmente, la segunda en piel humana
<i>Staphylococcus warneri</i>	Piel humana
<i>Staphylococcus hominis</i>	Piel humana
<i>Staphylococcus capitis</i>	Piel humana arriba de la cintura
<i>Staphylococcus auricularis</i>	Canal auditivo externo humano
<i>Staphylococcus carnosus</i>	Embutidos secos
<i>Staphylococcus caseolyticus</i>	Leche de vaca
<i>Staphylococcus sciuri</i>	Dos subespecies <i>sciuri</i> y <i>lentus</i> aisladas de leche, pollos, perro ardillas, mapaches, cabras y humanos
<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	Piel humana y orina
<i>Staphylococcus intermedius</i>	Pico de palomas, caballos, perros

TABLA Nº 1

La mayoría de los estafilococos coagulasa negativa son sensibles a los antimicrobianos más comunes: penicilina, cefalosporinas, tetraciclinas, macrólidos y aminoglicósidos. Desafortunadamente reportes recientes han demostrado el aumento a la resistencia de los antibióticos, especialmente algunas cepas patógenas de *Staphylococcus epidermidis*. El mecanismo de transferencia de plásmidos que llevan genes para la resistencia a los antibióticos, puede llevarse a cabo entre estafilococos de la misma especie o diferente. Dicho mecanismo se lleva a cabo por conjugación bacteriana. (20,24,25)

Los estafilococos son esféricos, frecuentemente en forma de racimo pero pueden observarse aislados, en parejas en cadenas o en tétradas, alcanzan de 0.5 a 1 micra de diámetro, son Gram positivos e inmóviles, normalmente no capsulados y no forman esporas. Son aerobios o anaerobios facultativos, la temperatura óptima de crecimiento es de 35°C, con intervalo de 10 a 45°C.

Las colonias de *Staphylococcus* pueden producir pigmentos con una variación desde el blanco, naranja o amarillo hasta el dorado, en algunos casos las colonias son blancas y se hacen translúcidas o casi transparentes con la incubación continua en agar sangre. (7,9,11,14,) Desarrollan en medios de aislamiento no selectivos convencionales, especialmente en agar sangre (14) y en presencia de concentraciones altas de cloruro de sodio (7.5 a 10%) (21) y son inhibidos por medios selectivos como agar Mac Conkey y agar Salmonella y Shigella que contienen sales biliares (14)

El componente estructural principal de la pared celular de los estafilococos es la capa de peptidoglucano, que se compone de cadenas de glucano entrelazadas con el péptido. Los ácidos teicoicos, componentes también de la pared celular, son polisacáridos complejos (ácido glicerolteicoico con residuos

glucosídicos) que contienen fosfato y se une tanto a la capa de peptidoglucano, como a la membrana citoplasmática (14,25)

Otras de las características fundamentales de los estafilococos de importancia especial es el elevado contenido de glucopéptidos y el menor contenido lipídico de sus paredes celulares. Los alcoholes y otros solventes orgánicos no penetran a las paredes celulares deficientes en lípidos de las células Gram positivas; esto permite que los microorganismos retengan el color cristal violeta en la tinción de Gram y también los ayuda a resistir la acción germicida de jabones tensioactivos y detergentes. (14)

La prueba de la coagulasa se utiliza más comunmente para diferenciar a *Staphylococcus aureus* (coagulasa positivo) de otros estafilococos y micrococos.

Algunos estudios realizados por Smith y col., sugieren que la coagulasa es una sustancia semejante a la protrombina que reacciona con los factores plasmáticos normales para formar una sustancia semejante a la trombina que, a su vez, activa el fibrinógeno para formar fibrina. (14)

Burrows y Moulder sostienen que la coagulación del plasma se produce en dos etapas :

- 1.- Hay una reacción entre la enzima producida por las bacterias, una procoagulasa, con un factor o activador presente en el plasma para formar coagulasa, y
- 2.- la propia coagulación del plasma activada por la coagulasa.

Duthrie ofrece pruebas de que la enzima coagulasa que Burrows y Moulder dicen que es en realidad procoagulasa, está presente en dos formas : Coagulasa ligada (unida a la célula) y Coagulasa libre. (22)

Solo durante la última década se han reportado a los estafilococos coagulasa negativa como importante causa de IVU. Dos especies son aisladas comunmente: *Staphylococcus saprophyticus* y *Staphylococcus epidermidis*. Las IVU causadas por *Staphylococcus epidermidis* aparecen clinicamente similares a las IVU causadas por bacilos Gram negativos. Pacientes inmunodeprimidos o con catéteres urinarios son de alto riesgo. Las infecciones pueden o no presentar síntomas. Pielonefritis y bacteremia son posibles complicaciones que se pueden presentar.

Se considera a *Escherichia coli* como principal agente causal de IVU, seguido por *Staphylococcus saprophyticus* que es encontrado casi exclusivamente en mujeres sanas sexualmente activas (más del 42% aproximadamente). Otras especies de estafilococos coagulasa negativa raramente reportadas como patógenos del tracto urinario incluyen a *Staphylococcus haemolyticus*, *Staphylococcus warneri*, *Staphylococcus hominis* y *Staphylococcus cohnii*. (17,18,24)

2.3.1. STAPHYLOCOCCUS EPIDERMIDIS

Fue descrito por Welch como la causante de infecciones cutáneas. (7,11) Las colonias en los medios sólidos son blancas, brillantes pequeñas, redondeadas de borde entero, cremosas y opacas. Morfología: son bacterias de forma más o menos esférica que tienen aproximadamente 1.0 micra de diámetro, no tienen flagelos ni esporas, se observan en el microscopio en forma de racimos de uvas por su reproducción tridimensional, son bacterias Gram positivas. Es habitante normal de la nariz, nasofaringe y piel. Es un patógeno oportunista, las infecciones más frecuentes son: infecciones urinarias, endocarditis bacteriana subaguda, infecciones de la piel y heridas. Las bioquímicas necesarias para la identificación de *Staphylococcus epidermidis* son: Coagulasa, Manitol, DNasa negativos y Glucosa positiva. (7,9,11,13,14,21,22)

2.4. *STAPHYLOCOCCUS EPIDERMIDIS* EN LAS INFECCIONES DE VIAS URINARIAS

La recuperación de *Staphylococcus epidermidis* en cultivos de sangre, heridas y orina usualmente era interpretado como como indicación de una colección inapropiada del espécimen. Reportes recientes han empezado a documentar infecciones causadas por este organismo tales como : endocarditis bacteriana, infecciones de vías urinarias, infecciones de heridas postoperatorias, bacteremia asociada a catéteres intravenosos, otitis media, injertos vasculares y marcapasos. (4,11,8,10,20,24)

Los humanos son la reserva natural de *Staphylococcus epidermidis*. La bacteria forma parte normal de la flora de la piel. El organismo puede permanecer viable durante mucho tiempo, ya que es resistente a la desecación y a cambios de temperatura. Las infecciones causadas por *Staphylococcus epidermidis* resultan de la contaminación de una herida por organismos de la misma piel del paciente, o nasofaringe, o por causas exógenas tales como el personal del hospital. (8,20,24,25)

Normalmente *Staphylococcus epidermidis* es un organismo de baja virulencia. Problemas en las defensas del huésped causadas por cirugía, implantación de catéteres, inserción de prótesis o inmunosupresión son usualmente prerequisites para infección. La presencia de un cuerpo extraño en si facilita la infección, protegiendo la eliminación de organismo por las defensas del huésped o terapia antimicrobiana.

Así como se ha podido observar con otros organismos, algunas cepas de *Staphylococcus epidermidis* parecen ser particularmente patógenas. Es importante enfatizar el constante cambio y evolución de todos los microorganismos, tanto patógenos como

los llamados no patógenos. La resistencia a los antibióticos en microorganismos previamente sensibles usualmente sucede por mutación, o por un fenómeno de transferencia de resistencia de un organismo a otro. El Dr. Robert P. Hummel demostró mediante un modelo animal libre de bacterias, no solamente que la resistencia a los antibióticos puede ser transmitida entre organismos similares, tales como de una *Pseudomonas* a otra, sino también entre especies y géneros tales como *Alcaligenes* a *Pseudomonas* o *Streptococcus* a *Staphylococcus*. Por todo lo anterior concluye que cualquier microorganismo bajo las circunstancias correctas puede volverse patógeno. (8)

En las IVU los cambios inducidos en el huésped por la introducción de una bacteria a un sitio normalmente estéril, nos permiten evaluar la virulencia de la bacteria y la resistencia del huésped, por lo que se han podido establecer nuevos hallazgos en los mecanismos moleculares que determinan este proceso infeccioso. (26)

Tierno y Stotzky han utilizado 5 parámetros para diferenciar colonias de *Staphylococcus epidermidis* y han encontrado que una gran variedad de biotipos son causantes de infecciones. El tipo 4 es el que más predomina en las infecciones del tracto urinario, y estas normalmente se presentan en infecciones polimicrobianas o en personas mayores. (15,18)

En estudios previos sobre el papel de la adhesión bacteriana en la patogenia de IVU el objetivo principal han sido las infecciones de adquisición comunitaria (Chabanon y cols. 1979; Bruce y cols. 1983). Empero, la patogenia de dichas infecciones relacionadas con catéteres han recibido menos atención. Se conocen dos descripciones sobre cómo penetran las bacterias a la vejiga (Garibaldi y cols. 1974; Daifuku y Stamm, 1986). En infecciones transuretrales, las bacterias patógenas se desplazan desde el recto,

estableciendo una colonización periuretral y ascienden entre el catéter y la mucosa uretral hasta la vejiga. Otras infecciones relacionadas con catéteres se producen cuando las bacterias penetran la vejiga, directamente, a través de la columna de orina en el lumen del catéter. Se supone que la adhesión bacteriana a células uroepiteliales de la vejiga es una parte inicial de la IVU relacionadas con catéter. Sin embargo, se da menos atención a la adhesión bacteriana al catéter y, en especial, al efecto de los componentes de éste sobre el crecimiento bacteriano como un mecanismo patógeno potencial en las infecciones. Se han descrito las diferencias en la capacidad de adhesión a diferentes catéteres intravenosos de distintas bacterias (Sheth y cols. 1983; Ashkenazi y Mirelman, 1984; Pascual y cols. 1986); no obstante, la información sobre la adhesión bacteriana a catéteres urinarios es escasa. (19) En las IVU que no involucran un cuerpo extraño, el mecanismo de patogenia parece ser la ruptura de las barreras de defensa naturales del huésped. (19,20)

2.4.1 ADHERENCIA O SLIME

Parece ser que *Staphylococcus epidermidis* es el único microorganismo capaz de adaptarse para adherirse a superficies lisas de plástico o metal. Bayston y Penny observaron que las cepas de *Staphylococcus epidermidis* aisladas de desviaciones ventriculares infectadas, producían una sustancia mucosa que aparentemente les facilitaba la colonización de las superficies plásticas. En éste reporte se observó que las cepas aisladas producían un polisacárido extracelular que aumenta su adherencia *in vitro* a catéteres, volviéndolas extremadamente resistentes a los agentes antisépticos. Otro factor patológico pueden ser las alteraciones del dispositivo al interactuar con *Staphylococcus epidermidis*, ya que se han observado cambios

en la superficie inherente de catéteres de polietileno después de la adherencia in vitro de estafilococos coagulasa negativa. (19,20)

Bayston y Penny también reportaron, que muchas cepas de *Staphylococcus epidermidis* del biotipo SII, según la clasificación de Baird-Parker, producían in vitro una sustancia mucóide, la cual se adhiere a las paredes de los tubos de cultivo.

Baird-Parker observaron que el 26% de las cepas biotipo SII presentaban desarrollo mucóide; Jones y cols. observaron una alta incidencia de desarrollo mucóide (slime) cuando las cepas desarrollaron en presencia de piruvato. (4)

El caldo de soya tripticaseína, es un medio altamente nutritivo que contiene: Peptona de caseína, Peptona de soya, Cloruro de sodio, Fosfato dipotásico y Glucosa. Estudios de sustitución o eliminación de cualquiera de éstos componentes, mostraron que para que el desarrollo mucóide se lleve a cabo, es necesaria la presencia Glucosa y Peptona de caseína. En base a los requerimientos nutricionales, se sugiere que la capacidad de producir un desarrollo mucóide está mediada por un fragmento de carbón (dextrosa) y un aminoácido (glutamina). (5,6)

Algunas cepas de *Staphylococcus epidermidis* son capaces de producir un material polisacárido extracelular o slime, sin embargo, esta característica no ha sido muy estudiada, debido a que no es aparente en muchos de los medios comúnmente usados en el laboratorio. El slime extracelular producido por *Staphylococcus epidermidis*, está asociado con la habilidad del organismo para establecer un foco de infección en cuerpos extraños implantados en el cuerpo, quizás debido a la adhesividad y a las propiedades protectoras del slime. Muchas de esas infecciones se controlan con la sola remoción del cuerpo extraño.

El slime es un polisacárido extracelular, compuesto de una gran cantidad de polímeros de alto y bajo peso molecular, unidos por interacciones iónicas directas. En general, los exopolisacáridos están formados por monosacáridos neutros tales como D-glucosa, D-galactosa, D-manosa, L-fructosa y L-ranosa y contienen aminoazúcares, ácido urónico y polioles (ribitol y glicerol) (1)

El mecanismo mediante el cual los estafilococos se adhieren, colonizan y persisten en los biomateriales se lleva a cabo de la siguiente manera :

1.- La unión reversible entre el estafilococo coagulasa negativo y el biomaterial, que se lleva a cabo por las interacciones hidrofóbicas entre las proteínas de la pared celular bacteriana y la superficie del biopolímero.

Estas fuerzas vencen a las fuerzas repulsivas relativamente débiles, las cuales operan entre las superficies que están cargadas negativamente.

2.- La producción de slime por los estafilococos coagulasa negativos, interviene significativamente en la segunda etapa, la cual es una unión irreversible que culmina con la formación de microcolonias que se adhieren firmemente a la superficie del polímero. (26)

Estudios recientes han reportado que el slime también interfiere con la respuesta inmunológica del huésped, estimulando la liberación de lactoferrina de los gránulos de los neutrófilos, esta desgranulación compromete la capacidad de los neutrófilos para eliminar a los estafilococos coagulasa negativa. También se ha reportado que puede interferir con la actividad de los linfocitos, inhibiendo la blastogénesis de las células T y B, así como la producción de inmunoglobulinas. (10)

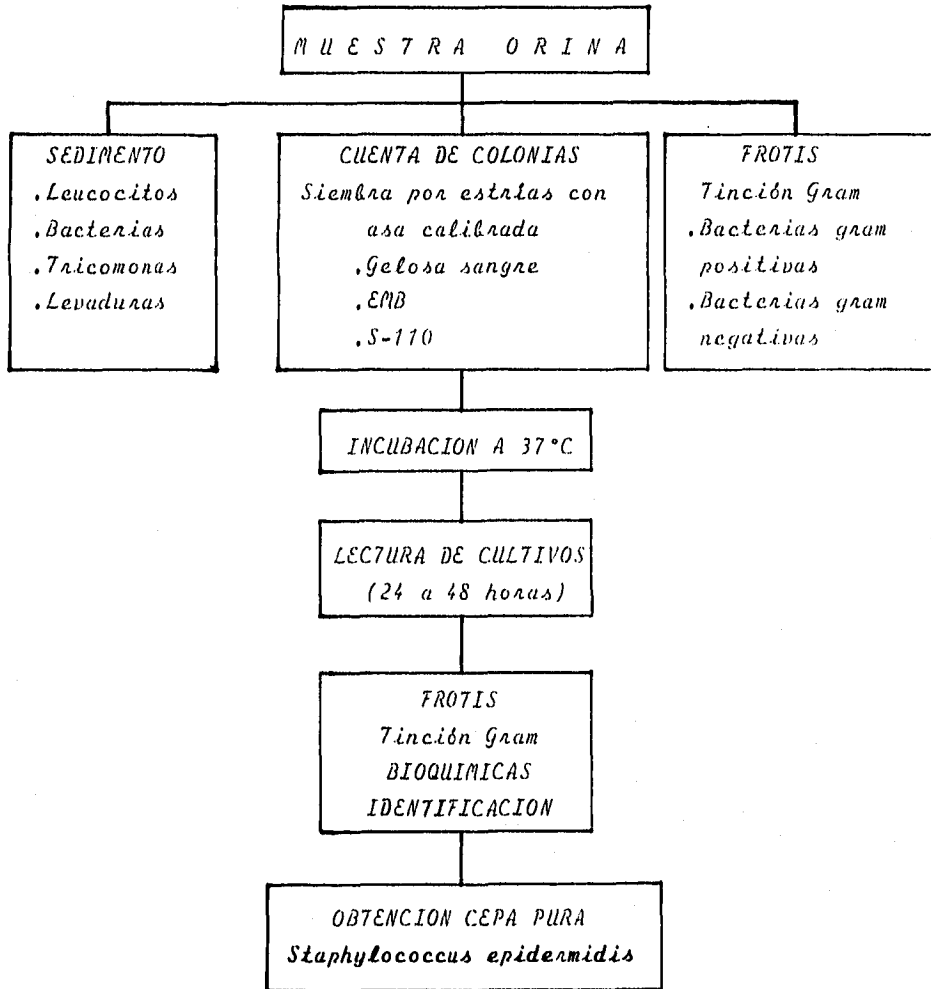
Los efectos de *Staphylococcus slime* positivos observados *in vitro*, sugieren que esta sustancia es la responsable infecciones causadas por *Staphylococcus epidermidis* en presencia de cuerpos extraños. Sin embargo, los efectos *in vitro* se observan solamente con altas concentraciones de la sustancia mucóide. (5,6,9)

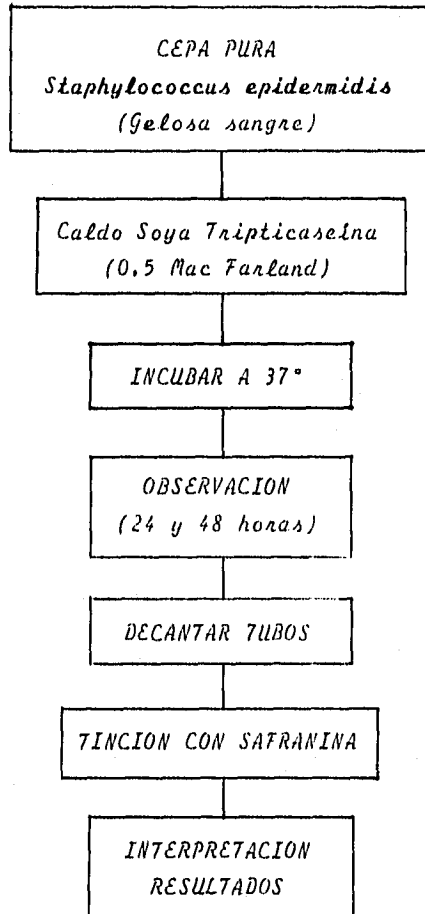
En conclusión se ha podido ver que la supresión de las defensas naturales del huésped, no solamente prolongan la infección por *Staphylococcus epidermidis slime* positivo, sino que también aumentan el riesgo de infección por otros organismos oportunistas. (10)

C A P I T U L O I I I

PARTE EXPERIMENTAL

3.1. DIAGRAMA





3.2. MATERIAL

3.2.1. MATERIAL BIOLÓGICO

1. 100 muestras de la primera orina de la mañana de pacientes varones que presentaban sintomatología de infección de vías urinarias.
2. Plasma humano
3. Sangre de conejo

3.2.2. MATERIAL DE LABORATORIO

3.2.2.1. MATERIAL DIVERSO

1. Frascos de vidrio estériles de 50 ml.
2. Tubos de ensayo de vidrio Pyrex (13 x 100 mm.)
3. Tubos con tapa de rosca estériles, sin ralladuras Pyrex (Nº 9825)
4. Asa calibrada (4 mm. de diámetro = 0,01 ml.)
5. Cajas petri de plástico Syll Laboratorios (100 x 15 mm.)
6. Portaobjetos MADESA
7. Cubreobjetos MADESA
8. Pipetas estériles Pyrex (0,1 y 1,0 ml.)
9. Gradillas de alambre para 72 tubos
10. Mechero
11. Autoclave Presto
12. Gasas estériles Le Roy (7,5 x 5 cm.)
13. Hisopos estériles DEQUINSA
14. Solución salina estéril ABBOTT
15. Parafina

3.2.2.2. EQUIPO

1. Centrifuga (MSE London)
2. Microscopio (CARL ZEISS)
3. Incubadora (J.M. ORTIZ)

3.2.2.3. MEDIOS DE CULTIVO

1. Agar base para gelosa sangre (Bioxon)
2. Agar eosina azul de metileno (Bioxon)
3. Agar S-110 (Bioxon)
4. Agar sal manitol (Bioxon)
5. Agar Kligen (Bioxon)
6. Agar SIM (Bioxon)
7. Agar Citrato de Simons (Bioxon)
8. Caldo de Urea (Bioxon)
9. Agar de Mueller Hinton (Bioxon)
10. Agar para prueba D-Nasa (Bioxon)
11. Caldo de Soya Trypticaselna (Bioxon)

3.2.2.4. REACTIVOS

1. Equipo para tinción de Gram (Sigma)
2. Reactivo de Kovac (Sigma)
3. Solución de benzal al 10% (Farmacéuticas Altamirano)
4. Tiras reactivas para orina (Bili-Combur-Test, Lakeside)
5. Discos de Novobiocina (Tribact Novobiocina, Bigaux)

3.3. METODOLOGIA

3.3.1. RECOLECCION DE LAS MUESTRAS

Para la recolección de las muestras de orina se les indicó a los pacientes que se lavaran con agua y jabón los órganos genitales externos y se presentaran al laboratorio sin haber orinado al levantarse.

Ya en el laboratorio nuevamente se les indicó que se asearan los órganos genitales externos utilizando compresas de gasa estéril empapadas en solución de benzal al 10%, enjuagandose posteriormente con una gasa húmeda.

Se les indicó desechar la primera porción de orina para arrastrar los organismos contaminantes, la micción se interrumpió para recoger en un frasco estéril de vidrio aproximadamente de unos 20 a 40 ml. de orina de la porción media, desechandose el resto de la orina.

3.3.2. PROCESAMIENTO DE LA MUESTRA

Se tomó previamente una porción de la muestra para el urocultivo, el examen general de orina se hizo depositando aproximadamente 5 ml. de orina en un tubo de vidrio al cual se le introdujo una tira reactiva para la determinación de: pH, Hemoglobina, Glucosa, Proteínas, Cuerpos cetónicos y Bilirrubina; la muestra se centrifugó a 2,000 r.p.m. durante 5 min., el sobrenadante se desechó y se suspendió en la gota de orina residual el sedimento, colocándose una gota de éste en un portaobjetos limpio y se cubrió con un cubreobjetos. El sedimento se observó al microscopio con el objetivo seco fuente y se contó el número

de leucocitos por campo observándose por lo menos 10 campos y se sacó el promedio. (12)

a) CUENTA DE BACTERIAS

Se usó el método cuantitativo de asa calibrada. Se tomó una asada de la orina sin centrifugar y se hizo una siembra por estrías en toda la superficie de la placa. Como en las infecciones del tracto urinario pueden encontrarse bacterias Gram positivas y bacilos Gram negativos, se sembró la orina en una placa de agar sangre y en uno de los medios selectivos para las bacterias Gram negativas, tales como agar eosina azul de metileno. Ambas placas se incubaron a 37°C y se examinaron después de 24 a 48 horas. El número de colonias que apareció en la placa se multiplicó por 100 para determinar el número de bacterias que existían en un mililitro de orina.

Además de la siembra se hizo un frotis con orina bien mezclada sin centrifugar para estudio microscópico directo. La orina se depositó en un portaobjetos con la misma asa calibrada y se usó la tinción de Gram para el frotis, el cual es positivo cuando contenga por lo menos unas cuantas bacterias por campo. Si en el frotis directo se encontraron cocos Gram positivos, se sembró la orina en agar S-110.

b) LECTURA DE LOS CULTIVOS

1. Morfología colonial de *Escherichia coli* :

Desarrolla en agar sangre colonias grandes, mucoides, de color blanco-grisáceo y la mayoría no son hemolíticas.

En agar EMB desarrolla colonias grandes, mucoides, de color púrpura oscuro a negro con o sin reflejos de color verde metálico.

2. Morfología colonial de *Staphylococcus epidermidis* :

En agar sangre desarrolla colonias grandes, opacas, lisas, mucoides de bordes regulares, ligeramente convexas y de color blanco.

En agar sal manitol desarrolla colonias pequeñas, cremosas, blancas enteras y no fermentan el manitol. (7,9,11,13,14,21,22)

c) EXAMEN MICROSCOPICO

Se hicieron frotis de las colonias a identificar y se tiñieron por la técnica de Gram.

1. *Escherichia coli* se observó en forma de bacilos coliformes Gram negativos.
2. *Staphylococcus epidermidis* se observó en forma de cocos Gram positivos distribuidos en racimos.

d) EXAMEN BIOQUIMICO

Para la identificación de las colonias de *Escherichia coli* se realizaron las siguientes pruebas bioquímicas :

Glucosa +, Lactosa +, Movilidad +, SH_2 -, Indol +, Urea -, Citrato -.

Agar Kliger : Se inoculó por picadura en el fondo del tubo inclinado y por estria en la superficie, incubar e interpretar.

a) Fermentación de Glucosa y Lactosa :

Pico de flauta color amarillo ; Reacción ácida

Capa profunda color amarillo ; Reacción ácida

Agar SIM : Se sembró por picadura aproximadamente unos 3/4 de la longitud de la columna, incubar e interpretar.

a) Producción de sulfuros negativa : No se observa enegrecimiento del medio.

b) Movilidad : Se observó turbidez difusa en el seno del medio.

c) Indol : La reacción es positiva cuando al agregar el reactivo de Kovac se observa una coloración púrpura.

Caldo de Urea : Se hizo un inóculo denso, agitando suavemente el tubo e incubar observando las reacciones después de 8, 12, 24 y 48 horas. La reacción es negativa ya que no se observa cambio de color y el caldo permanece de color amarillo o anaranjado.

Agar citrato de Simons : Se inoculó únicamente por estria en la superficie del medio en pico de flauta, incubar e interpretar. La reacción es negativa ya que el medio permanece de color verde y no se observa crecimiento. (14,22)

Para la identificación de *Staphylococcus epidermidis* se realizaron las siguientes pruebas bioquímicas :

1. Se hizo una siembra por estrías en una placa de Sal Manitol, observándose después de su incubación la capacidad de fermentación.
2. Para la diferenciación de las colonias de *Staphylococcus aureus* de las colonias de *Staphylococcus epidermidis* se hizo la prueba de la coagulación en placa (fija) colocando una gota de solución fisiológica estéril sobre un portaobjetos, se emulsionó una suspensión del organismo en la gota de agua utilizando el asa, se colocó enseguida una gota de plasma humano junto a la gota de suspensión bacteriana y se mezcló bien, observándose la formación de un precipitado granular o de grumos blancos. Para la prueba de coagulasa en tubo (libre) se colocó la colonia en estudio en un tubo con caldo de soya tripticaseína y se incubó de 18 a 24 horas, después se colocó 0,05 mililitros de éste cultivo y 0,5 mililitros de plasma humano en un tubo de ensaye y se incubó a 37°C durante 2 horas, observándose posteriormente la formación o no del coágulo.
3. Fermentación glucosa: Se inoculó por picadura en el fondo de 2 tubos inclinados, cubriéndose un tubo con 1 cm. aproximadamente de parafina fundida, incubar e interpretar. La reacción es positiva cuando en los 2 tubos se produce color amarillo (reacción ácida)
4. Prueba desoxirribonucleasa : Se añadió ácido clorhídrico diluido a la superficie del medio. La reacción es negativa al no observar aclaramiento del medio alrededor de las colonias.
4. Por último para la identificación y selección de las colonias de *Staphylococcus epidermidis* de las de *Staphylococcus saprophyticus* se observó la resistencia a la novobiocina. Se preparó una emulsión del microorganismo en estudio en caldo de soya tripticaseína incubándose hasta que la turbidez del medio fuera equivalente al estándar N° 0,5 de Mac Farland (concentración aproximada de 10 microorganismos/ml). Posteriormente se inoculó con un hisopo la superficie de una placa de agar Mueller Hinton estriándola en por lo menos 3 direcciones. Una vez seco el inóculo

se colocó el disco de novobiocina procurando que quedara bien adherido a la superficie de la placa, se incubó por lo menos 18 horas observando posteriormente la zona de inhibición.

De este modo las pruebas bioquímicas para las colonias de *Staphylococcus epidermidis* son :

Manitol -, Coagulasa -, DNasa -, Glucosa +, Novobiocina sensible (14, 22)

Una vez identificadas las colonias de *Staphylococcus epidermidis* se procedió a demostrar su capacidad para producir una sustancia mucóide extracelular (slime test) de acuerdo a lo establecido por Christensen (4).

Se tomó una asada del cultivo puro de *Staphylococcus epidermidis* sembrado en agar sangre, se inoculó en 5 mililitros de caldo de soya tripticaseína en un tubo con tapa de rosca hasta obtener una turbidez equivalente al estándar Nº 0,5 de Mac Farland, se incubó a 37°C durante 48 horas con observación y registro a las 24 horas. Al final se aspiró el contenido de los tubos y se tiñó con safranina. La prueba se consideró positiva a la sustancia adherente (slime) cuando se observó una película finamente granular y homogénea en la pared del tubo. La formación de un anillo en la interfase aire-líquido se consideró como artefacto.

CAPITULO IV

RESULTADOS

4.1. RESULTADOS

El estudio se realizó durante un periodo de 3 meses (Septiembre a Noviembre de 1995). El universo estudiado comprendió a 100 varones con edades entre 30 a 45 años, que presentaban sintomatología de IVU, básicamente bacteriuria.

Los microorganismos aislados fueron:

Escherichia coli 59 %

Staphylococcus epidermidis 20 %

Asociación *Escherichia coli* y *Staphylococcus epidermidis* 12%

Negativos 9% (Gráfica Nº 1)

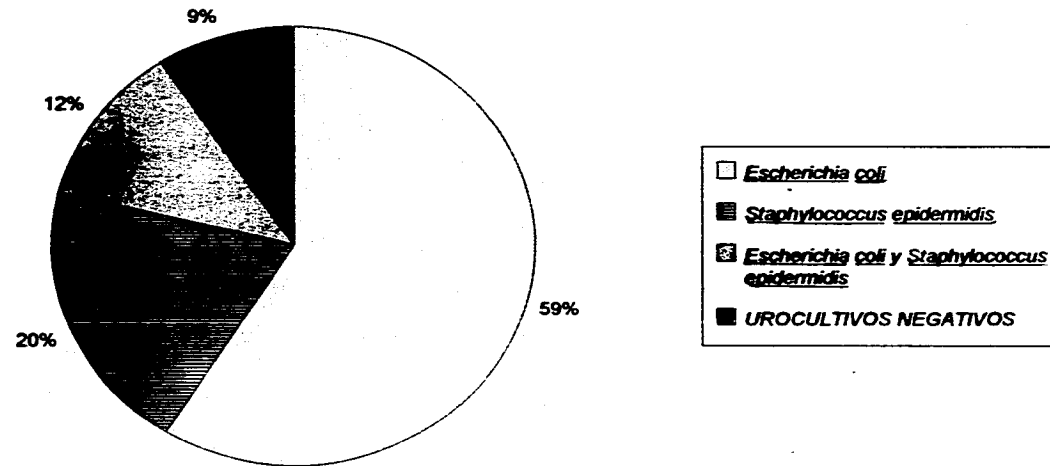
El caso de los urocultivos negativos se debió a que los pacientes estaban en tratamiento antimicrobiano (Sulfametoxazol).

Las cuentas de colonias de los microorganismos obtenidos fluctuaron entre 100,000, 200,000 y 300,000 bacterias por mililitro. (Cuadro Nº 1)

Del total de las cepas de *Staphylococcus epidermidis* aisladas el 80.0 % fueron Slime positivas y solamente el 20.0 % fueron Slime negativas. (Gráfica Nº 2).

Cabe resaltar que todas las cepas de *Staphylococcus epidermidis* asociadas a *Escherichia coli* fueron Slime positivas (100%), y solamente 4 (20%) de las cepas aisladas con cuentas de 100,000 bacterias por mililitro de *Staphylococcus epidermidis* fueron Slime negativas. (Gráfica Nº 3)

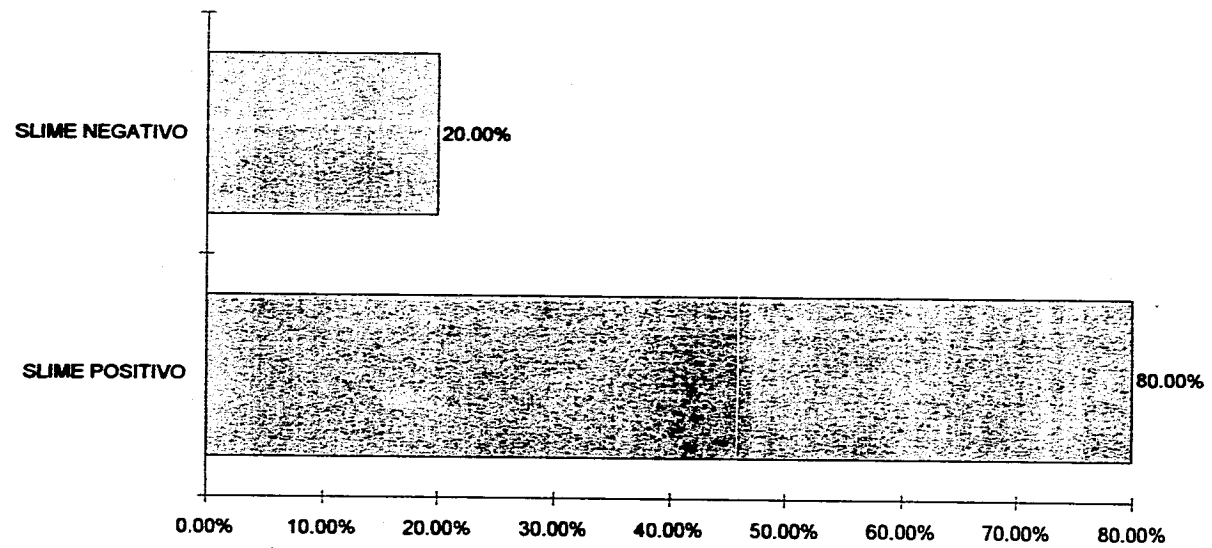
GRAFICA No. 1 UNIVERSO DE TRABAJO



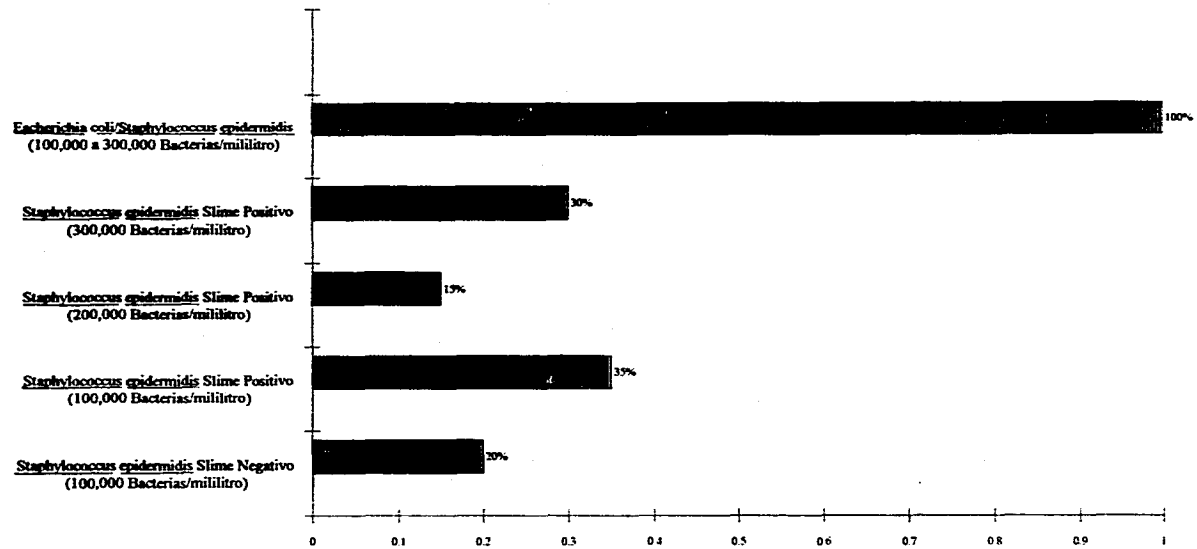
**CUADRO No. 1
CUENTA BACTERIANA**

BACTERIAS POR MILILITRO MICROORGANISMOS	100,000	200,000	300,000
<i>Escherichia coli</i>	27.1%	6.8%	66.1%
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	55.0%	15.0%	30.0%
<i>Escherichia coli</i> y <i>Staphylococcus epidermidis</i>	50.0%	0.0%	50.0%

GRAFICA No. 2 PRUEBA DE SLIME



GRAFICA No. 3 PRUEBA SLIME



4.2. DISCUSION

Generalmente los estafilococos coagulasa negativa hablan sido considerados como saprófitos o de baja virulencia, sin embargo en los últimos años se ha reconocido la presencia cada vez mayor de éstos como patógenos importantes, especialmente en infecciones nosocomiales. (6,17,18,23,24)

La infección por estafilococos coagulasa negativa se presenta con más frecuencia en pacientes que son objeto de implantes valvulares cardiacos, sondas, catéteres, prótesis o en individuos con alguna inmunodeficiencia, siendo *Staphylococcus epidermidis* la especie que se ve involucrada con mayor frecuencia. (1,2,4,8,10,17,18,20,23,24)

La mayoría de las IVU son causadas principalmente por *Escherichia coli* (2,15), en el presente estudio se corroboró lo anterior ya que del total de las cepas aisladas el 71% correspondieron a *Escherichia coli*, seguido de *Staphylococcus epidermidis* 32%. Sin embargo la asociación *Escherichia coli* y *Staphylococcus epidermidis* solamente se presentó en un 12% de los casos.

En el presente estudio se encontró que el 80.0% de las cepas de *Staphylococcus epidermidis* probadas fueron productoras de Slime. (Gráfica Nº 2) Según la literatura la capacidad de *Staphylococcus epidermidis* de producir desarrollo mucoso está asociado con la habilidad del organismo para establecer un foco de infección, lo cual no difiere con los resultados obtenidos. (4,6,10,19)

Puede decirse también que la capacidad de producir desarrollo mucoso está ligada a la concentración de bacterias. En el

presente estudio se observó que a concentraciones de 100,000 bacterias por mililitro de *Staphylococcus epidermidis* 4 cepas fueron Slime negativas (20%) (Gráfica Nº 3)

El 100 % de las cepas de *Staphylococcus epidermidis* aisladas de urocultivos asociados con *Escherichia coli* fueron slime positivas. Esto sugiere que la capacidad de *Staphylococcus epidermidis* para desarrollar infección está ligada tanto a su adherencia como a la interacción que se establece entre las bacterias. (Gráfica Nº 3)

Cabe hacer notar que el muestreo se realizó en los pacientes varones con el fin de evitar contaminaciones en el momento de la recolección de la muestra.

C A P I T U L O V

CONCLUSIONES

1. La capacidad de adherencia de *Staphylococcus epidermidis* se ve aumentada cuando se presentan concentraciones iguales o superiores a 100,000 bacterias por mililitro de orina.

2. La capacidad de adherencia de *Staphylococcus epidermidis* se ve aumentada cuando se presenta asociada a *Escherichia coli* en muestras de orina con cuentas superiores o iguales a 100,000 bacterias por mililitro.

3. El presente estudio debe de complementarse con el seguimiento de la evolución de los pacientes, para observar tanto la sensibilidad del microorganismo o bien si se presentara en algún momento un cambio en su capacidad de producción adherencia.

4. Cada vez se recupera más a *Staphylococcus epidermidis* de diferentes procesos infecciosos, por lo que se propone evaluar la utilidad clínica de la determinación de producción de slime.

BIBLIOGRAFIA

ESTA TESIS NO DEBE
SALIR DE LA BIBLIOTECA

1. Almonacid Mondragon V. *Correlación clinico-epidemiológica de Estafilococos coagulasa negativa aislados de hemocultivos: susceptibilidad, biotipo y producción de slime.* Tesis. Universidad Motolinia, A.C., México, 1994.
2. Andriole Vincent T. *Urinary tract infections; Recent Developments.* The Journal of infectious diseases 156:6, 1987.
3. Calderon Jaimes Ernesto *La infección urinaria como un problema vigente.* Infectología 9:3, 1989.
4. Christensen Gordon D.; Simpson W. Andrew; Bisno Alan L; Beachey Edwin H. *Adherence of Slime-Producing Strains of Staphylococcus epidermidis to Smooth Surfaces.* Infection and Immunity 37:1, 1982.
5. Daniel Wayne W. *Bioestadística: Base para el análisis de las ciencias de la salud.* Editorial Limusa, 1a. ed., México, D.F., 1983.
6. Davenport David S.; Massanari R. Michael; Pfaller Michael A.; Ba'e Martha J.; Streed Stephen A.; Hienholzer Walter J.; *Usefulness of a Test for Slime Production as a Marker for Clinically Significant Infections with Coagulase-Negative Staphylococci.* The Journal of Infectious Diseases 153:2, 1986.
7. Del Rey Calero Juan *Microbiología e inmunobiología de las enfermedades infecciosas.* Editorial Marhan, 1a. ed., Madrid, España, 1976.
8. Forse R. A.; Dixon C.; Bernard K.; Martinez L.; McLean A. Peter H.; Meakins Jonathan L. *Staphylococcus epidermidis: An important pathogen.* Surgery 86:3, 1979.

9. Freeman B. A. *Tratado de Microbiología de Burrows*. Nueva Editorial Interamericana, 21a. ed., México, D.F. 1983.
10. Gray Ernest D.; Peters Georg; Venstegen Marjorie; Regelman Bannen E. *Effect of extracellular slime substance from Staphylococcus epidermidis on the human cellular immune response. The Lancet* 2:18, 1984.
11. Joklik W. K.; Willett H. P.; Amos D. B. *Microbiología Zinszen* Editorial Médica Panamericana, 18a. ed., Buenos Aires, 1986.
12. Kark Robert M.; Lawrence James R.; Pollak Victor E.; Pirani Conrad L.; Muehrcke Robert C.; Silva Homero *Manual práctico del urinálisis* La prensa Médica Mexicana, 2a. ed., México, D.F., 1969.
13. Kolmer J. A. *Diagnóstico clínico por los análisis de laboratorio*. Nueva Editorial Interamericana, 3a. ed., México, D.F., 1981.
14. Koneman E. W.; Allen S. D.; Dowell V. R.; Sommers H. M. *Diagnóstico microbiológico*. Editorial Médica Panamericana, Buenos Aires, 1983.
15. Kunin C.M. *Genitourinary infection in the patient at risk extrinsic risk factors. Am. J. Med.* 76:131-9, 1984.
16. Latham Robert H. *Infecciones de vías urinarias: Disuria* Mundo Médico 12:137, 1985.
17. Leighton Peter M.; Little Jean A. *Identificación of Coagulase Negative Staphylococci Isolated from Urinary Tract Infections. Am. J. Clin. Pathol.* 85:1, 1986.

18. Lewis Jay F.; Brake Sylvia R.; Anderson Debra J.; Vredevelde Gene N. *Urinary Tract Infection Due to Coagulase-Negative Staphylococcus*. Am. J. Clin. Pathol. 77:6, 1982.
19. López López Guillermo; Pascual Alvaro; Martínez Martínez Luis; Perea Evelio J. *Efecto de un cateter urinario de látex siliconizado sobre la adherencia bacteriana y la actividad del neutrófilo humano*. Infectología 11:11, 1991.
20. Lowy Franklin D.; Hammer Scott M. *Staphylococcus epidermidis Infections*. Annals of Internal Medicine 99:6, 1983.
21. Lynch Matthew J.; Raphael Stanley S.; Mellon Leslie D.; Spare Peter D.; Inwood Martin J. *Métodos de laboratorio Vol. I y II*. Nueva Editorial Interamericana, México, D.F., 1988.
22. MacFaddin J.F. *Pruebas bioquímicas para la identificación de bacterias de importancia clínica*. Editorial Médica Panamericana México, D.F., 1984.
23. Maskell R. *Importance of Coagulase-Negative Staphylococci as pathogens in the urinary tract*. Lancet 1:1155, 1979.
24. Neihart Robert E.; Fried John S.; Hodges Glenn R. *Coagulase Negative Staphylococci*. Southern Medical Journal 81:4, 1988.
25. Pichardo E. A. *Infecciones por estafilococos coagulasa negativos*. Infectología 4:4, 1984.
26. Swanborg Edén C.; Hausson S.; Jodal U.; Lidin-Janson G.; Lincoln K.; Linder H.; Lomborg H.; De Man P.; Marild S.; Martinell J.; Plos K.; Sandberg T.; Stenqvist K. *Host-Parasite Interaction in the Urinary Tract*. The Journal of Infectious Diseases 157:3, 1988.