



Formación de biopelículas en aislados de *Staphylococcus aureus* según la susceptibilidad antimicrobiana y la procedencia clínica

Marielsa Gil F. ¹ .
Keidy Merchán B. ² .
Guimarys Quevedo B. ³ .
Alexander Sánchez B. ⁴ .
Graciela Nicita R. ⁵ .
Tomás Rojas F. ⁶ .
Julieta Sánchez V. ⁷ .
Mariam Finol ⁸ .

¹Laboratorio de Diagnóstico Bacteriológico, Departamento de Microbiología, Escuela de Ciencias Biomédicas y Tecnológicas, Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad de Carabobo, Venezuela
marielsagilfd@hotmail.com

²Laboratorio de Diagnóstico Bacteriológico, Departamento de Microbiología, Escuela de Ciencias Biomédicas y Tecnológicas, Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad de Carabobo, Venezuela

³Laboratorio de Diagnóstico Bacteriológico, Departamento de Microbiología, Escuela de Ciencias Biomédicas y Tecnológicas, Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad de Carabobo, Venezuela

⁴Laboratorio de Diagnóstico Bacteriológico, Departamento de Microbiología, Escuela de Ciencias Biomédicas y Tecnológicas, Facultad de

Ciencias de la Salud, Universidad de Carabobo, Venezuela

⁵Departamento de Investigación y Desarrollo Profesional, Escuela de Bioanálisis, Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad de Carabobo, Venezuela.

⁶Laboratorio de Diagnóstico Bacteriológico, Departamento de Microbiología, Escuela de Ciencias Biomédicas y Tecnológicas, Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad de Carabobo, Venezuela

⁷Laboratorio Clínico la Viña, Centro Policlínico la Viña. Valencia, Edo. Carabobo, Venezuela

⁸Laboratorio Clínico la Viña, Centro Policlínico la Viña. Valencia, Edo. Carabobo, Venezuela

Correspondencia: Instituto de Medicina Tropical - Facultad de Medicina - Universidad Central de Venezuela.

Consignado el 17 de Marzo del 2015 a la Revista Vitae Academia Biomédica Digital.

RESUMEN

El objetivo de la investigación fue estudiar la capacidad de formación de biopelículas en aislados de *S. aureus* según la susceptibilidad antimicrobiana y la procedencia clínica. Se estudiaron 141 aislados, 64 obtenidos de portadores asintomáticos y 77 de procedencia infecciosa. Se investigó la susceptibilidad antimicrobiana por el método de Kirby-Bauer y la formación de biopelículas por microplacas de poliestireno. El 92% de la población bacteriana fue capaz de formar biopelículas. Las cepas sensibles y resistentes mostraron un grado de formación entre débil y moderado indistintamente, mientras que las de procedencia infecciosa mostraron una inclinación a moderadamente formadoras 28% y las de portadores asintomáticos expresaron una tendencia débilmente formadora 27%. No existe asociación entre susceptibilidad antimicrobiana y procedencia clínica con la capacidad de formación de biopelículas ($p>0,05$), sin embargo, si existe asociación entre el grado de formación con respecto a la procedencia clínica (p

PALABRAS CLAVE: Biopelículas, susceptibilidad antimicrobiana, procedencia del aislamiento, origen clínica, portadores asintomáticos, *Staphylococcus aureus*.

BIOFILM FORMATION BY STRAINS OF STAPHYLOCOCCUS AUREUS ACCORDING TO THE ANTIMICROBIAL SUSCEPTIBILITY AND CLINICAL ORIGIN

SUMMARY

The objective of this research was to study the ability of biofilm formation on *S. aureus* isolates according to the antimicrobial susceptibility and its clinical origin. The study included 141 isolated of *S. aureus*, 64 obtained from asymptomatic carriers and 77 of infectious origin. The antimicrobial susceptibility was investigated by the Kirby-Bauer method and the biofilm formation by polystyrene microplates. 92% of the bacterial population was able to form biofilms. The sensitive and resistant strains showed a degree of biofilm production between weak to moderate, while those of infectious origin showed an inclination to moderate formation (28%) and isolates from asymptomatic carriers expressed weak biofilm production

(27%.) There was no association between antimicrobial susceptibility and isolate origin with the capacity of biofilm formation ($p > 0.05$); however, there was an association between the degree of biofilm production for isolates of clinical origin (p

KEY WORDS: Biofilms, antimicrobial susceptibility, source of isolates, clinical origin, asymptomatic carriers, *Staphylococcus aureus*.

FORMACIÓN DE BIOPELÍCULAS EN AISLADOS DE *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* SEGÚN LA SUSCEPTIBILIDAD ANTIMICROBIANA Y LA PROCEDENCIA CLÍNICA

INTRODUCCIÓN

Los acontecimientos actuales reflejan que *Staphylococcus aureus* representa una de las principales causas de morbi-mortalidad para el hombre en el mundo ⁽¹⁾. Su potente actividad infecciosa, virulencia, versatilidad y marcada patogenicidad lo convierte en uno de los principales agentes que ocasionan diversas patologías en el ambiente intra y extrahospitalario^(2,3). Presenta una resistencia importante a las condiciones ambientales normales; es capaz de sobrevivir hasta tres meses en un cultivo a temperatura ambiente, además provoca procesos infecciosos en piel, tracto respiratorio, genitourinario, septicemia, impétigo y shock tóxico. A esto se le suma la capacidad del microorganismo de encontrarse como flora habitual en fosas nasales, piel y faringe sin desencadenar patología alguna, pero constituyendo un riesgo epidemiológico, ya que puede transmitirse de un individuo a otro, conociéndose esta condición como portador asintomático⁽⁴⁾, así mismo esta bacteria es considerada un gran problema de salud mundial por la dificultad que implica el tratamiento, además de su alta incidencia y prevalencia en los ambientes hospitalarios ⁽⁵⁻⁷⁾. A lo largo del tiempo, *S. aureus* ha desarrollado diferentes mecanismos de supervivencia, entre los que se encuentran, la resistencia a los antibióticos y la capacidad de formación de biopelículas, mostrando así su habilidad de adaptarse al entorno ^(4,8).

En cuanto a la resistencia frente a los antibióticos, en *S. aureus*, se han descrito varios mecanismos, entre ellos, la producción de enzimas betalactamasas (plasmídicas, inducibles y extracelulares), la aparición de modificaciones que impiden la llegada del fármaco al punto diana (mutaciones de las porinas o alteración del sistema de transporte), la alteración del propio sitio blanco (como la alteración a nivel del ARNr 23S y de la modificación de la proteína fijadora de penicilinas PBPs transformada a una proteína adicional denominada PBP2a codificada por el gen *mecA* ^(4, 6, 9 - 12).

En adición a lo expuesto, se suma la capacidad de *S. aureus* de formar biopelículas, las cuales son agrupaciones microbianas de constitución compleja caracterizadas por células que están adheridas a un sustrato vivo o inerte, pertenecientes o no a un mismo género, en donde existe una alteración de fenotipo en relación con la tasa de crecimiento y transcripción génica ⁽¹³⁻¹⁵⁾. Esto le confiere a las bacterias cualidades para sobrevivir que no desarrollarían en su estado individual, favoreciendo la permanencia de la bacteria en el hospedador y desarrollando cronicidad en los procesos infecciosos. Por tanto, está directamente relacionada

con el aumento de la resistencia antimicrobiana ^(16,17).

Todo esto gracias a la presencia de una matriz de sustancias poliméricas extracelulares que está constituida por agua, proteínas, ácidos nucleicos y exopolisacárido,^(13,18) siendo este último diferente para cada género bacteriano y en ocasiones para cada especie, en el caso de *S. aureus* el exopolisacárido está conformado principalmente por poli-N-acetil-glucosamina ^(13,15). Esta matriz actúa como una barrera física y química que imposibilita la llegada de concentraciones adecuadas de antibiótico a la bacteria ⁽¹³⁾.

Esta investigación pretende asociar la capacidad de formación de biopelículas en aislados de *Staphylococcus aureus* según la susceptibilidad antimicrobiana y su procedencia clínica.

MATERIALES Y MÉTODOS

El estudio está enmarcado en una investigación de tipo descriptivo correlacional, de corte transversal, prospectivo y con un diseño no experimental ^(19,20). La población estuvo representada por 141 aislados de *Staphylococcus aureus*, de las cuales 64 provenían de portadores asintomáticos y 77 de procedencia infecciosa, estos aislados fueron recolectados posterior a la permisología otorgada por el Laboratorio de Diagnóstico Bacteriológico del Departamento de Microbiología de la Universidad de Carabobo y por el Laboratorio Clínico La Viña (Centro Médico Privado, Valencia, Venezuela) respectivamente, entre mayo-noviembre del año 2013, cumpliéndose con el requisito del consentimiento informado de los pacientes involucrados. La muestra estuvo constituida por el total de las cepas que conformó la población.

Una vez recolectados los aislados de *S. aureus* provenientes de portadores asintomáticos y de procesos infecciosos, se realizaron las pruebas bioquímicas convencionales para confirmar su identificación como lo describe la literatura ⁽²¹⁾. Posteriormente se conservaron en la bacterioteca hasta agotar el tiempo establecido de recolección, seguidamente se procedió a repicar las bacterias almacenadas en caldo BHI (Infusión Cerebro Corazón) y luego en agar manitol salado, con la finalidad de obtener cepas frescas o recién cultivadas.

Prueba de susceptibilidad antimicrobiana

De colonias aisladas, se preparó una suspensión bacteriana ajustada al patrón 0,5% Mc Farland equivalente a 1.5×10^8 UFC/mL, en solución salina fisiológica con el cual se ejecutó la prueba de susceptibilidad antimicrobiana por el método cualitativo Kirby Bauer. Se usaron discos de sensibilidad marca BD BBL^R de oxacilina (OX: 1 µg) y cefoxitín (FOX: 30 µg), para detectar cepas de *S. aureus* resistentes a meticilina (SARM), clindamicina (CC: 2 µg) y eritromicina (E: 15 µg) teniendo en cuenta la colocación frente a frente de estos discos para realizar el D-test, con la finalidad de evidenciar cepas con resistencia a macrólidos y lincosamidas de los siguientes fenotipo: 1) cMLSB resistencia constitutiva a E y CC (D-test negativo), 2) MSB resistencia constitutiva a E y sensible a CC sin achatamiento (D-test negativo) y 3) iMLSB resistencia a E y sensible a CC con achatamiento (D-test positivo), resistencia exclusiva a lincosamidas por presencia de enzimas nucleotidiltransferasas (E- Lnu)

poco frecuente. Finalmente para la detección de cepas con resistencia a vancomicina (VRSA) y cepas con resistencia intermedia a vancomicina (VISA), se utilizó el método de dilución en Agar BHI suplementado con 6 µL/mL de vancomicina (CMI ≥ 8µL/mL) y método de dilución en caldo en (CMI ≤ a 4µL/mL). Todas las lecturas se interpretaron según los criterios establecidos por la CLSI (Instituto de Estándares Clínicos y de Laboratorio) ^(11,22).

Para evaluar el buen funcionamiento de los discos de antibióticos y del Agar Muller Hinton se utilizó la cepa de referencia *S. aureus* ATCC 25923 adquirida en el Centro Venezolano de Colección de Microorganismos, cuyos halos fueron comparados con los rangos establecidos por la CLSI. Para evaluar el agar BHI suplementado con vancomicina se utilizaron las cepas de referencia *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 y ATCC 51299 ^(22,23).

Una vez obtenidas las lecturas se clasificaron las cepas en dos grandes grupos, un primer grupo constituido por cepas sensibles a todos los antibióticos mencionados y un segundo grupo que estuvo conformado por cepas resistentes a al menos un antibiótico o más, con los cuales se realizó la asociación en cuanto a la formación de biopelículas en ambos grupos.

Cuantificación de la capacidad de formación de biopelículas

Se efectuó mediante la técnica de microplaca en pozos de poliestireno (método colorimétrico) descrita por Al-Shuneigat *et al.* citado en Rojas y col (2012). Se preparó una suspensión bacteriana ajustada al patrón 0,5% Mc Farland en caldo soya tripticasa. De esta suspensión se dispensó 20 µL en cada pozo, más 180 µL de caldo soya tripticasa con glucosa al 0,25% (dilución 1:10) para luego incubar en cámara húmeda por 24 horas a 37°C. Pasada la incubación, en cada pozo se realizaron dos lavados con solución buffer fosfato salino estéril (PBS, pH 7,2). Se añadieron 200 µL de solución de cristal violeta al 0,01 % manteniéndose a temperatura ambiente por 30 min y posteriormente se realizaron dos nuevos lavados con solución PBS. Seguido a esto se adicionó 200 µL de etanol al 95% para solubilizar el colorante adherido a las paredes, cuantificándose su densidad óptica (DO) como una estimación de la capacidad de formación de biopelículas, la medición se realizó a 490 nm utilizando un lector de micro ELISA (Stat Fax 303 Plus) ⁽²⁴⁾.

Cada aislado se evaluó por cuadruplicado, incluyendo en cada ensayo ocho pozos sin inocular interpretándose estos como controles negativos y adicionalmente se introdujeron ocho pozos con aislados conocidos por sus altas capacidades de formación de biopelículas tomados de la bacterioteca del Laboratorio de Diagnóstico Bacteriológico (cuatro pozos para *Klebsiella pneumoniae* y cuatro pozos para *Pseudomonas aeruginosa*), estos últimos se interpretaron como controles positivos.

Para la clasificación de cada aislado, en cuanto a su capacidad de formación de biopelículas, se utilizaron ecuaciones matemáticas que contiene la DO de los pozos control negativo como lo cita Rojas y col, adicionándose una variante que incluye la DO de los controles positivos tal como sigue: se calculó la media aritmética (\bar{x}) de las DO obtenidas a 490nm de los controles positivos y de los controles negativos para ser utilizados en las siguientes tres fórmulas:

VM: $DOc (+) - DOc (-)/2$

PC1: $VM - DOc(-)/2 + DOc(-)$

PC2: $DOc(+) - VM/2 + VM$

Donde las siglas significan:

VM: valor medio; DOc (+): (□) de las densidades óptica a 490 nm de los controles positivos; DOc (-): (□) de las densidades ópticas a 490 nm de los controles negativos; PC1: primer punto de corte; PC2:segundo punto de corte.

A partir de los valores de VM, PC1 y PC2 obtenidos se establecieron los rangos para la clasificación de la capacidad de formación de biopelículas en cuatro categorías: fuerte, moderada, débil y no formadora. Interpretado de la siguiente manera: serán no formadoras cuando los valores se ubiquen entre la DOc (-) hasta cifras \leq PC1, débilmente formadora cuando los valores se encuentren $> PC1 \leq VM$, moderadamente formadoras cuando los valores sean $> VM \leq PC2$ y fuertemente formadora con valores $> PC2$.

Análisis de los datos

El análisis descriptivo de los datos se expresó mediante tablas y gráficos de barra en porcentaje. Por otra parte, la asociación de la capacidad de formación de biopelículas con la susceptibilidad antimicrobiana y con la procedencia clínica se efectuó mediante la prueba χ^2 de Pearson, con un nivel de confianza de 95 %.

RESULTADOS

El número de cepas evaluadas fueron 141 representando el 100% de la población, estas fueron agrupadas de dos maneras, la primera según los patrones de susceptibilidad antimicrobiana 51,8% cepas sensibles y 48,2% cepas con patrones fenotípicos de resistencia adquirida, entre estas últimas se encuentra un 22,6% de cepas SARM, 12,7% con resistencia constitutiva a CC y E (cMLSB), 14% resistencia constitutiva a E (MSB), 13,4% aislados con resistencia inducible a CC (iMLSB), 1,4% de resistencia a CC (E Lnu) y 0% de VISA y VRSA (Tabla1) y la segunda según el origen de procedencia, 54,7% pertenecientes a procedencia infecciosa y 45,3% de portadores asintomáticos.

Tabla 1. Distribución de los patrones fenotípicos de resistencia de los aislados de *S. aureus* de procedencia clínica y de portadores sanos.

Patrones fenotípicos de Resistencia	PC		SARM		cMLS _B		MS _B		iMLS _B		E Lnu		VISA/VRSA
	Fa	Fr	Fa	Fr	Fa	Fr	Fa	Fr	Fa	Fr	Fa	Fr	Fa/Fr
SARM-E-RIC	6	4,3	6	7,8	---	---	---	---	6	7,8	---	---	---
SARM-CC-E	9	6,4	9	11,7	9	11,7	---	---	---	---	---	---	---
E	8	5,7	---	---	---	---	8	10,4	---	---	---	---	---
CC-E	4	2,8	---	---	4	5,1	---	---	---	---	---	---	---
SARM-E	3	2,1	3	3,9	---	---	3	3,9	---	---	---	---	---
E-RIC	8	5,7	---	---	---	---	---	---	8	10,4	---	---	---
SARM	7	5	7	9,1	---	---	---	---	---	---	---	---	---
SARM-CC	1	0,7	1	1,3	---	---	---	---	---	---	1	1,3	---
CC	1	0,7	---	---	---	---	---	---	---	---	1	1,3	---
Cepas Sensible a OX-FOX-E-CC-VAN	30	21,3	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
Subtotal	77	54,7	26	33,8	13	16,8	11	14,3	14	18,2	2	2,6	---

Patrones de Resistencia	PS		SARM		cMLS _B		MS _B		iMLS _B		E Lnu		VISA/VRSA
	Fa	Fr %	Fa	Fr %	Fa	Fr %	Fa	Fr %	Fa	Fr %	Fa	Fr %	Fa/Fr %
SARM-E-RIC	0	0	0	0	---	---	---	---	0	0	---	---	---
SARM-CC-E	3	2,1	3	4,7	3	4,7	---	---	---	---	---	---	---
E	8	5,7	---	---	---	---	8	12,5	---	---	---	---	---
CC-E	2	1,4	---	---	2	3,1	---	---	---	---	---	---	---
SARM-E	1	0,7	1	1,6	---	---	1	1,6	---	---	---	---	---
E-RIC	5	3,5	---	---	---	---	---	---	5	7,8	---	---	---
SARM	2	1,4	2	3,1	---	---	---	---	---	---	---	---	---
SARM-CC	0	0	0	0	---	---	---	---	---	---	0	0	---
CC	0	0	---	---	---	---	---	---	---	---	0	0	---
Cepas Sensible a OX-FOX-E-CC-VAN	43	30,5	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
Subtotal	64	45,3	6	9,4	5	7,8	9	14	5	7,8	0	0	---
Total	141	100	32	22,6	18	12,7	20	14	19	13,4	2	1,4	0,0

PC: Procedencia clínica, PS: Portadores sanos, Fa: Frecuencia absoluta, Fr: Frecuencia relativa, SARM: *S. aureus* resistente a meticilina, cMLS_B: Resistencia constitutiva a eritromicina y clindamicina, MS_B: resistencia constitutiva a eritromicina, iMLS_B: Resistencia inducible a clindamicina, E Lnu: resistencia exclusiva a lincosamidas por enzima nucleotidil transferasa, VISA: *S. aureus* vancomicina intermedia, VRSA: *S. aureus* resistente a vancomicina, OX: oxacilina, FOX: cefoxitin, CC: clindamicina, E: eritromicina, VAN: vancomicina, ---: no aplica

El 92% de la población bacteriana fue capaz de formar biopelículas. Al realizar la asociación entre la formación o no de biopelículas y la susceptibilidad antimicrobiana, a través de la prueba de Chi² se obtuvo un valor de 0,10 y un valor de p = 0,7574, lo que indica que no hubo asociación entre ambas variables.

En la figura 1, se observa el grado de formación de biopelículas de la población bacteriana de acuerdo a la susceptibilidad antimicrobiana, destacando que las cepas de *S. aureus* que expresaron un patrón sensible mostraron una inclinación a ser débilmente formadoras, mientras que las cepas con patrón resistente no mostraron una inclinación específica de capacidad formadora, ubicándose entre un grado débil y moderadamente formador. En relación, a la asociación entre el grado de formación de biopelículas y la susceptibilidad antimicrobiana, al realizar la prueba de Chi² se obtuvo un valor de 0,85 y un valor de p = 0,3560, lo que indica que no hay asociación entre ambas variables.



Figura 1. Susceptibilidad antimicrobiana en cepas de *Staphylococcus aureus*, versus la capacidad de formación de biopelículas.

En cuanto, a la asociación de las cepas de *S. aureus* en formar o no biopelículas y la procedencia clínica, al realizar la prueba de χ^2 se obtuvo un valor de 0,09 y un valor de $p = 0,7613$, lo que indica que no existe asociación.

Mientras que, en la figura 2, se evidencia el grado de formación de biopelículas de la población bacteriana de acuerdo a la procedencia clínica, resaltando que las cepas obtenidas de portadores asintomáticos presentaron una tendencia a ser débilmente formadoras (27%), en tanto que las cepas provenientes de procesos infecciosos mostraron una inclinación a una formación moderada (28%). En relación, a la asociación entre el grado de formación de biopelículas y la procedencia de las cepas, al realizar la prueba de χ^2 se obtuvo un valor de 6,72 y un valor de $p = 0,0095$, lo que indica que sí hay asociación entre ambas variables.

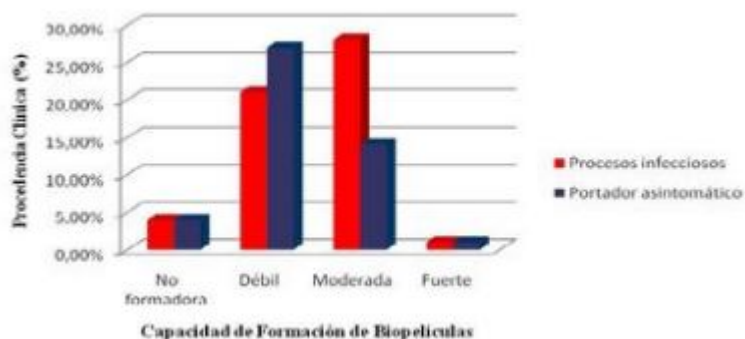


Figura 2. Procedencia de las cepas de *Staphylococcus aureus* versus la capacidad de formación de biopelículas

DISCUSIÓN

Los aislados de *S. aureus* provenientes de los procesos infecciosos expresaron un 93% de capacidad en formar biopelículas, lo cual coincide con la investigación realizada por Arteaga y col en el año 2010, donde analizaron la formación “*in vitro*” de biopelículas y sus características moleculares en cepas de SARM de procedencia infecciosa, obteniendo un 96% de cepas capaces de formar biopelículas; datos cercanos a los hallados en esta investigación, con la diferencia que Arteaga y col reportan una tendencia de grado de formación entre débil

y fuerte ⁽²⁵⁾ y en la presente investigación la tendencia fue en rango moderado.

Así mismo, Cháves y col. en el año 2000, analizaron la capacidad de formación de biopelículas en cepas de origen infeccioso y de pacientes asintomáticos en dos especies bacterianas *S. aureus* y *S. epidermidis*, encontrando que las cepas de procedencia infecciosa de *S. aureus* expresaron menor capacidad de formar biopelículas 45% que las de portadores asintomáticos 74% ⁽²⁶⁾. Estos datos resultan diferentes con lo observado en el presente estudio, en el que no hubo diferencia significativa en este aspecto, obteniendo 93% y 92% respectivamente.

Por otra parte, Ibarra y col en el 2012 estudiaron la formación y cuantificación de biopelículas de Complejo *C. albicans*, *S. aureus* y de ambas (mixtas). Obteniendo mayor grado de formación de biopelículas en *S. aureus* aislados de proceso infeccioso, que el obtenido por la cepa de referencia utilizada como control. Estos resultados se acentuaron aún más con la cepa de Complejo *C. albicans*. Los autores concluyeron que lo anterior probablemente se debe a que los aislamientos clínicos presentaban factores de virulencia activados y por ello se desarrollan con mayor patogenicidad que la cepa de referencia, viéndose reflejado en la formación de biopelículas ⁽²⁷⁾. Aunque esta teoría no es comprobable con esta investigación, la misma podría ser útil en explicar los resultados obtenidos en la presente investigación, en la que se observa un grado moderado de formación de biopelículas en los aislados provenientes de procesos infecciosos en comparación con un grado débil de formación en los aislados de portadores asintomáticos.

En conclusión, los resultados obtenidos sugieren que la susceptibilidad antimicrobiana no interviene en que las bacterias sean capaces o no de formar biopelículas, así como tampoco afecta en el grado de formación de las mismas. De igual manera, la procedencia de las cepas de *S. aureus*, tampoco influye en la capacidad de formar o no biopelículas, sin embargo, el grado de formación (débil, moderado o fuerte) se ve afectado de manera directa por la procedencia de las cepas, donde las de origen infeccioso muestran un mayor grado de formación en comparación con las provenientes de portadores asintomáticos.

Este dato es relevante ya que el grosor de la biopelícula está directamente relacionado con la dificultad de erradicarla, por lo que es interesante conocer la capacidad del microorganismo en formar biopelículas y en qué grado lo hace, para futuramente inclinar los estudios hacia tratamientos específicos para cada caso.

Así mismo, es de interés conocer que las cepas de portadores asintomáticos aun cuando muestran un grado débilmente formador, son capaces en su mayoría de presentar este mecanismo de supervivencia y si a ello se le suma que en este grupo se encontró *S. aureus* con diversos patrones fenotípicos de resistencia adquirida (Tabla 1), esto sugiere la necesidad de extremar las medidas de asepsia en procesos de venipunción e implantación de catéteres, así como también en la escogencia del tratamiento, ya que se trata de individuos sanos con cepas con potencialidad para colonizar superficies y con importantes mecanismos de resistencia.

Finalmente, estos resultados aluden, que la diseminación de cepas que provienen de procesos infecciosos aporta un riesgo adicional como factor de virulencia, debido a que están más dispuestas a formar biopelículas en un nivel mayor, lo cual representa una variable importante

a considerar en el control de este microorganismo.

Agradecimientos

Los autores agradecen al Laboratorio Clínico La Viña, al Departamento de Microbiología de la Universidad de Carabobo, al Lcdo. Luis González, a la Dra. Eogracia Guzmán a la Lcda. Greysy Ochoa y al T.S.U. Esther Perozo por la colaboración, asesoramiento y apoyo técnico brindado a esta investigación.

REFERENCIAS

1. Sánchez C. ¿Antibióticos, ayer hoy, mañana? Química Viva. 2006; 5(2):63-67. [Link](#)
2. Zendejas G, Avalos H, Soto M. Microbiología general de *Staphylococcus aureus*: Generalidades, patogenicidad y métodos de identificación. *Rev Biomed* 2014; 25:129-143. [Link](#)
3. Figueroa G, Navarrete P, Caro M, Troncoso M, Faúndez G. Portación de *Staphylococcus aureus* enterotoxigénicos en manipuladores de alimentos. *Rev méd Chile*. 2002; 130(8):859-864. [Link](#)
4. Bustos J, Hamdan A, Gutiérrez M. *Staphylococcus aureus*: la reemergencia de un patógeno en la comunidad. *Rev Biomed* 2006; 17, (4): 287-305. [Link](#)
5. Nodarse R, Del Campo A. *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina como causa de infección de piel y partes blandas. *Rev Cub Med Mil*. 2013; 42(1): 116-123. [Link](#)
6. Mella S. *Staphylococcus aureus* resistente a vancomicina. *Rev. chil. infectol*. 2002; 19(3): 186-187. [Link](#)
7. Benavides-Plascencia L, Aldama-Ojeda A, Vázquez H. Vigilancia de los niveles de uso de antibióticos y perfiles de resistencia bacteriana en hospitales de tercer nivel de la Ciudad de México. *Salud Pública Méx*. 2005; 47(3): 219-226. [Link](#)
8. Castrillón L, Ramos A, Desgarennes M. Importancia de las biopelículas en la práctica médica. *Dermatología Rev Mex*. 2010; 54(1): 14-24. [Link](#)
9. Tibavizco D, Rodríguez J, Silva E, Cuervo S, Cortés J. Enfoque terapéutico de la bacteriemia por *Staphylococcus aureus*. *Biomédica*. 2007; 27(2): 294-307. [Link](#)
10. Tamariz J, Cruz J, Atencia A, Figueroa J, Horna G, Guerra H. Resistencia a clindamicina inducida por eritromicina en *Staphylococcus aureus* aislados de tres hospitales de Lima, Perú. *Acta Médica Peruana*. 2009; 26(1): 12-16. [Link](#)
11. Morosini M, Cercenado E, Ardanuy C, Torres C. Detección fenotípica de mecanismos de resistencia en microorganismos grampositivos. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2012; 30 (6):325-332. [Link](#)
12. Gordillo M, Mejía C, Cortés R. Resistencia Antimicrobiana en el Hospital Roosevelt del Período Enero 2009 a Junio 2011. *Col Med*. 2011; 4(3):8-20. [Link](#)

13. Nazar J. Biofilms bacterianos. Rev. Otorrinolaringol. Cir. Cabeza Cuello.2007; 67(1): 161-172. [Link](#)
14. Serrano J, Herrera D. La placa dental como biofilm: ¿Cómo eliminarla? RCOE.2005;10 (4): 431-439. [Link](#)
15. Lasa I, del Pozo L, Penadés J, Leiva J. Biofilms bacterianos e infección. An. Sist. Sanit. Navar. 2005; 28(2): 163-175. [Link](#)
16. Vanegas M. Resistencia a antibióticos de bacterias aisladas de biopelículas en una planta de alimentos. MVZ Córdoba.2009; 14(2):1667-1676. [Link](#)
17. Naves P, Prado G, Huelves L, Gracia M, Ruiz V, Blanco J, Rodríguez-Cerrato V, Ponte M, Soriano F. Measurement of biofilm formation by clinical isolates of *Escherichia coli* is method-dependent. Journal of Applied Microbiology. 2008; 105 (1) 585-590. [Link](#)
18. Nathan K, Mazaitis M, Costerton J, Leid M. *Staphylococcus aureus* biofilms. Properties, regulation and roles in human disease. Virulence. 2011; 2(5): 445-459. [Link](#)
19. Sierra C. Estrategias para la elaboración de un proyecto de investigación. Venezuela. 2004.
20. Lerma H. Metodología de la investigación. Propuesta, anteproyecto y proyecto. Colombia. 2005.
21. Koneman E, Winn W, Allen S, Janda W, Procop G, Schreckenberger P, et al. Diagnóstico microbiológico. 6^{ta} ed. Madrid-España: Editorial Médica Panamericana; 2008.
22. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing: Twenty-third Informational Supplement M100-S23E.Wayne PA, USA: 2013. [Link](#)
23. Cona E. Condiciones para un buen estudio de susceptibilidad mediante test de difusión en agar. Rev. Chil. Infect. 2002, 19 (2): 77-81 [Link](#)
24. Rojas T, Montoya A, Moreno A, Mujica R, Vásquez Y. Formación de biopelículas y susceptibilidad antimicrobiana entre coliformes aislados en agua potable embotellada en Carabobo, Venezuela. Bol Mal Salud Amb.2012; 52(1): 87-97. [Link](#)
25. Arteaga H, Escobar J, Leal L, Vanegas N. Análisis “*in vitro*” de la formación de biofilm y sus características moleculares en aislamientos clínicos de *Staphylococcus aureus* resistentes a meticilina (SARM), provenientes de punta de catéter y bacteriemia. Rev. Méd. 2010; 9(1):1-9. [Link](#)
26. Chaves E, Rojas A, Rivera P, Hernández F. Prevalencia de Cepas de *Staphylococcus* productoras de biopelículas y con receptores FC aislados de muestras clínicas y de individuos sanos. Rev. costarric. cienc. méd. 2000; 21(1-2):51-56. [Link](#)
27. Ibarra C, Villar M, Gaitán L, Pozos A, Mendoza R y Sánchez L. Ensayo de formación y cuantificación de biopelículas mixtas de *Candida albicans* y *Staphylococcus aureus*. Rev Iberoam Micol. 2012; 29(4):214-22. [Link](#)

