

25  
20



# UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES  
CUAUTITLAN

## IDENTIFICACION DE Staphylococcus COAGULASA NEGATIVA AISLADO A PARTIR DE EXUDADOS VAGINALES

T E S I S  
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:  
QUIMICA FARMACEUTICA BIOLOGA  
P R E S E N T A  
MA. HILDA JALOMO ESQUIVEL

DIRECTOR DE TESIS:  
DR. GUILLERMO MARTINEZ LOPEZ  
ASESORA DE TESIS:  
Q.F.I. ANDREA A. BECERRIL OSNAYA



## **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 está 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.

## I N D I C E

Introducción .....	1
Generalidades y Aspectos Históricos .....	8
Morfología y Aspectos Bioquímicos .....	10
Objetivo .....	13
Material y Métodos .....	14
Métodos .....	15
Métodos empleados y Análisis del Laboratorio ....	17
Material .....	26
Resultados y Análisis de Resultados .....	29
Conclusiones .....	46
Resumen .....	48
Bibliografía .....	49

## I N T R O D U C C I O N

Uno de los problemas de mayor morbilidad de la mujer en nuestro medio es la presencia de exudado vaginal, el mayor número de las pacientes que recurren a los servicios de un ginecólogo son aquellas - que padecen secreciones ó flujos anormales y conociendo la trascendencia Psico-social que ocasionan dichos problemas se puede evaluar la importancia que tiene el estudio de la flora vaginal. Los primeros estudios que se conocen sobre flora vaginal fueron realizados -- por Gøenner en 1887 quien describió los microorganismos presentes en embarazadas normales con el ánimo de comprobar lo ase--urado por Alfred y otros que afirmaban que las infecciones puerperales eran verdaderas autoinfecciones. Gøenner describió por primera vez el lacto bacilo que después estudiara Døderlein en 1902. La monografía de -- Døderlein hasta la actualidad se considera la piedra angular de todos los conocimientos fundamentales sobre bacteriología vaginal.

Sin embargo, Krøning y Menge en 1897 pusieron en duda lo estudiado por Gøenner. Cabenescio en 1904 pone en tela de juicio lo estudiado por Døderlein y fué hasta 1916 cuando Harada hace una revaluación de las ideas en conflicto proponiéndose aclarar la relación del lactobacilo con el pH vaginal y las propiedades antibacterianas de la secreción (29).

Cruickshank y Baird en 1930 llegaron a las siguientes conclusiones: a) Existe una relación entre el contenido del glucógeno del -

epitelio vaginal, la presencia del lactobacilo de Döderlein y el ácido láctico de la vagina. b) Los Lactobacilos denominados de Döderlein se presentan en gran variedad, en forma, en caracteres bioquímicos y caracteres antigénicos. c) Comparando el pH de un cultivo de bacilos de Döderlein en un medio con glucógeno y sin glucógeno, en el primero se logra una acidificación intensa. d) Ninguna de las bacterias comunes en vagina hidroliza el glucógeno. Al mismo tiempo -- Miura demuestra la asociación directa entre la actividad endocrina del ovario, el depósito de glucógeno y la presencia del lactobacilo de Döderlein en la vagina siendo este microorganismo un buen indicador de la actividad ovárica (29).

Puede haber remoción de glucógeno en algunas infecciones sistémicas como la tuberculosis, en algunas enfermedades carenciales, metabólicas y hormonales. El bacilo de Döderlein no es una especie bacteriana homogénea, es un complejo de especies con caracteres metabólicos diversos y se han llegado a aislar hasta cinco especies de lactobacilos en una misma mujer.

En México los estudios sobre Bacteriología vaginal han sido realizados por una gran cantidad de gente entre las que se encuentran el Dr. Adolfo Pérez Miravete, la Dra. Silvia Giono Cerezo y colaboradores, quienes lo han hecho a nivel de investigación, reportando una gran proporción de Staphylococcus epidermidis el 66.7%, y en menor proporción Staphylococcus aureus el 14.9%, en una población tomada --

talado un cateter intravascular (5, 25). También en las protesis valvulares cardíacas se han encontrado Staphylococcus coagulasa negativa hasta en un 35% incrementando la incidencia de endocarditis bacteriana con un índice de mortalidad de 56 a 83% (9, 10, 37). Se han -- aislado Staphylococcus coagulasa negativa, en un 50% en conductos que regulan la circulación del líquido cefalorraquídeo (32, 35). El Staphylococcus saprophyticus se ha aislado en infecciones de vías urinarias, de otitis media, de heridas quirúrgicas, de abscesos intrabdominales necrosantes con septicemia, asimismo se ha reportado una alta -- resistencia a los antibióticos (4, 8, 16, 18, 21, 26, 27, 31, 33, 34, 36). Aunque la bacteria es considerada como flora norma de la vagina, en la experiencia diaria se han visto pacientes con cuadros leucorreicos importantes, en los cuales se ha aislado Staphylococcus -- epidermidis por lo que consideramos importante su estudio a este nivel, con el fin de establecer una probable relación en procesos inflamatorios vaginales.

En la mayoría de los laboratorios de diagnóstico de rutina bacteriológica se siguen reportando dos especies de Staphylococcus los cuales son: S. aureus y S. epidermidis diferenciados mediante la -- prueba de: catalasa, coagulasa y fermentación del manitol (rutina bacteriológica de las clínicas del I.M.S.S.) (20, 23). Las especies del género Staphylococcus reconocidas hasta ahora son 20 se han identificado en humanos: S. aureus, S. epidermidis, S. hominis, S. haer-

al azar de 3329 casos (29).

La habitual microflora de la vagina desde la menarca hasta la menopausia está dominada por lactobacilos fermentadores del glucógeno, pero también es posible aislar Staphylococcus aureus, Staphylococcus epidermidis, Streptococcus viridans, Enterococcus, Peptoestreptococcus, Estreptococcus del grupo B, Corynebacterias, Actinomicetes, Mycobacterias, miembros de la familia Enterobacteriaceae, ocasionalmente Clostridium spp y otros bacilos anaerobios (17).

El escurrimiento vaginal puede tener diferentes causas: Infeccioso, Funcional y Neoplásico (comentario personal de un ginecólogo). En el caso de leucorrea de tipo infeccioso se ha reportado que los microorganismos comunmente involucrados son: Neisseria gonorrhoeae, Trichomona vaginalis, Candida albicans, Staphylococcus aureus, Gardnerella vaginalis, Mycoplasmas spp, y en algunas ocasiones invasores secundarios oportunistas que reflejan perturbaciones del equilibrio microbiológico como complicaciones de enfermedades sistémicas y otros sitios del organismo y su tratamiento (17).

El Staphylococcus coagulasa negativa considerado tradicionalmente no patógeno, se ha aislado invariablemente de muestras de exudados vaginales. En la actualidad se le está dando cada día mayor importancia al aislamiento de este germen ya que se ha encontrado relacionado en diversos procesos infecciosos (17). Se ha reportado en un 57 a 77% de los pacientes post-quirúrgicos a los que se les ha insta

molyticus, S. warnerii, S. capitis, S. saccharolyticus, S. auricularis, S. simulans, S. saprophyticus, S. rohnei, S. xylosus y diferentes subespecies. El S. intermedius es encontrado en carnívoros y otros mamíferos así como en aves el S. hycus subespecie hycus es frecuentemente aislado en cerdos mientras que el S. hycus subespecie chromogenes es predominante de ganado vacuno. El S. scurii es aislado de roedores, el S. lentus de ovejas y cabras, el S. caprae ocasionalmente de cabras, el S. gallinarum de aves de corral, el S. carnosus de algunos embutidos carnicos como salchicha y salami, el S. caseolyticus es aislado de leche y productos lácteos (12, 13, 17 28).

La clasificación de los Staphylococcus coagulans negativa fue propuesta en 1975 por Kloos y Schleifer quienes presentaron la primera clave de identificación que incluye la fermentación de 13 carbohidratos que a continuación se presenta para S. epidermidis: (28).

CLAVE DE CARACTERIZACION DE S. epidermidis

Caracter ( % ) de reacción		Reacción ó Determinación
Producción de acetoina	(100)	Positiva
Reducción de nitratos	(100)	Positiva
Producción de fosfatasa ácida aeróbica.	( 80)	Positiva
Glucosa	(100)	Positiva
Fructosa	(100)	Positiva
Maltosa	(100)	Positiva
Sucrosa	(100)	Positiva
Glicerol	(100)	Positiva
Galactosa	(70-90)	Positiva
Manosa	(70-90)	Positiva
Lactosa	(70-90)	Positiva
Manitol	(100)	Negativo
Trehalosa	(100)	Negativo
Ramnosa	(100)	Negativo
Xylosa	(100)	Negativo
Arabinosa	(100)	Negativo
Hemólisis de tipo Beta en agar san gre de (conejo, bovino, humano).		Débil ó Negativo
Novoviocina		Susceptible
Crecimiento anaeróbico en agar semisólido de tioglicolato		Positivo
Diámetro de la colonia de 5 días		2-6 mm.

El departamento de Microbiología de la escuela de Medicina de -  
la Universidad de Missouri-Columbia, han reportado de 1985 a la fe-  
cha las especies de Staphylococcus coagulasa negativa con significa-  
do patológico que se presentan a continuación:

## ESPECIES

## SIGNIFICADO PATOGENICO

---

<u>S. epidermidis</u>	comunmente patógeno
<u>S. saprophyticus</u>	comunmente patógeno
<u>S. hemolyticus</u>	dudoso o no comunmente patógeno
<u>S. Hominis</u>	dudoso o no comunmente patógeno
<u>S. warnerii</u>	dudoso o no comunmente patógeno
<u>S. saccharolyticus</u>	dudoso o no comunmente patógeno
<u>S. conii</u>	dudoso o no comunmente patógeno
<u>S. simulans</u>	dudoso o no comunmente patógeno
<u>S. capitis</u>	no determinado o raramente patógeno
<u>S. auricularis</u>	no determinado o raramente patógeno
<u>S. xylosum</u>	no determinado o raramente patógeno
<u>S. carnosum</u>	no determinado o raramente patógeno
<u>S. scurii</u>	no determinado o raramente patógeno
<u>S. lentus</u>	no determinado o raramente patógeno
<u>S. caseolyticus</u>	no determinado o raramente patógeno

---

Aunque el significado de Staphylococcus coagulasa negativa ya se ha reconocido y aceptado, aún falta mucho por investigar acerca de su correcta identificación, sus reservorios, sus modos de transmisión, su importancia médica y hospitalaria, sus patrones de susceptibilidad para así optimizar su control (12, 13, 17).

## G E N E R A L I D A D E S

## Aspectos Históricos.

A través de los años los Staphylococcus coagulasa negativa han recibido las siguientes clasificaciones binominales.

Hace más de cien años que Winslow-Winslow en 1780 los llamó como Albococcus epidermidis. En 1883 Sir Alexander Ogston introdujo el nombre de "Staphylococcus" para describir a microorganismos en forma de granos y colocados en racimos, los cuales fueron observados como causa de ciertos abscesos piogénicos en humanos.

En 1884 Rosenbach adquirió el crédito del nombre genérico y de especie del Staphylococcus aureus, demostrando que dos colonias de diferente color fueron producidas por este microorganismo por lo que nombró a dichas colonias blancas y anaranjadas como Staphylococcus pyogenes albus y Staphylococcus pyogenes aureus respectivamente. En 1891 Welch los llamó Staphylococcus epidermidis.

Desafortunadamente, el nombre de Staphylococcus no fue fácilmente aceptado por otros investigadores, por lo que las clasificaciones más antiguas incluyeron a estos microorganismos dentro del género Micrococcus.

Posteriormente fueron conocidos como Micrococcus epidermidis, hacia el año de 1924 por Winslow-Winslow. Para el año de 1940 Fairles dió el nombre de Staphylococcus saprophyticus. Sampolinski en --

1953 los nombró Micrococcus hycus para que Castellani en 1955 les --  
diera el nombre de Micrococcus viologabriellae.

Con la publicación de la séptima edición del manual de Bergey -  
en 1975, la prueba de coagulasa y la utilización del manitol en con-  
diciones anaeróbicas, fueron aceptadas como características clave pa-  
ra diferenciar las especies de Staphylococcus aureus y Staphyloco- -  
ccus epidermidis entre sí (28). Baird-Parker fué el primero en reco-  
nocer los tipos específicos dentro del grupo de los Staphylococcus  
coagulasa negativa. Tales especies fueron diferenciadas en base a -  
la producción de fosfatasa y acetoina y en la capacidad para formar  
ácido aerobícamente a partir de lactosa, maltosa y manitol (2).

La octava edición del manual de Bergey publicado en 1975, reco-  
noce ya una tercera especie, el Staphylococcus saprophyticus. Este  
microorganismo coagulasa negativa fué originalmente clasificado como  
Micrococcus, sin embargo su capacidad para crecer en condiciones --  
anaerobicas en el medio semisólido de tioglicolato, su composición -  
base DNA, su susceptibilidad a la lisostafina, su péptido glican de  
la membrana celular demuestran su relación tan estrecha con los Sta-  
phylococcus (1).

En 1975 Shleifer y Kloos publicaron una serie de artículos don-  
de redefinían al Staphylococcus epidermidis y Staphylococcus sapro-  
phyticus. De los cuatro biotipos de Staphylococcus epidermidis y -  
del Staphylococcus saprophyticus identificados anteriormente de la

octava edición del Manual de Bergey. Además identificaron nuevas especies de Staphylococcus coagulasa negativa: S. haemolyticus, S. hominis, S. warnerii, S. capitis, S. conii, S. xylosus y S. simulans (13).

En 1982 seis nuevas especies de Staphylococcus coagulasa negativa fueron identificadas: S. auricularis, S. lentus, S. scurii, - - S. caseolyticus, S. carnosus, S. saccharolyticus, aumentando a 15 el número de Staphylococcus coagulasa negativa propuestos por Kloos y Schleifer (12, 13).

#### Morfología y Aspectos Bioquímicos

Los Staphylococcus son cocos de 0.5 a 1.5  $\mu$ m de diámetro, se presentan en forma individual, en pares y ocasionalmente en tétradas ó paquetes cúbicos, pero normalmente forman racimos compactos o racimos libres en forma irregular. No son móviles.

Son colonias uniformes convexas, con bordes irregulares, en su mayor parte son colonias blancas, pero ocasionalmente pueden ser de color amarillo intenso ó anaranjado.

En caldo presentan una turbidez uniforme con depósito fino o algunas veces granular o mucóide.

Son quimioorganotrofos, de metabolismo principalmente respiratorio. Crecen ligeramente en condiciones anaerobias en ciertos medios y fermentan debilmente la glucosa. El pH final en caldo gluco-

sado (no amortiguado) es de 4,0-5,8 (pH promedio de 4,9).

Reducen el nitrato a nitrito o amoníaco. Las cepas son aerobias facultativas y muestran un ligero crecimiento en condiciones anaerobias y en medios apropiados.

La temperatura óptima de crecimiento es de 30-37°C. Crecen en medios que contienen concentraciones de más de 5% de NaCl.

Se consideran estas cepas generalmente como no patógenas, pero algunas cepas causan infecciones en tracto urinario.

Son microorganismos aislados de orina, comunes en aire, tierra, polvo, productos lácteos y piel de reses muertas.

Son resistentes a la novobiocina. Por otra parte hasta hace poco se consideraban a los Staphylococcus coagulasa negativa aislados en vías urinarias como "contaminantes" o, a veces, patógenos oportunistas.

El origen de estas infecciones es aún desconocida. Se ha sugerido al recto como un reservorio de este microorganismo (2, 17).

Hoy en día en los Laboratorios de Bacteriología Médica de rutina es común encontrar en los análisis microbiológicos a los Staphylococcus coagulasa negativa, en cultivos de diferentes muestras, nosotros tomamos especial atención en los exudados vaginales ya que se encuentran ciertas incongruencias en los resultados, es importante conocer la causa de dichas desviaciones porque así se puede ampliar

el conocimiento de la flora vaginal, su ecosistema y su relación con un cuadro leucorreico motivo principal de esta Tesis.

En los análisis microbiológicos de rutina los exudados vaginales, se encuentran en ciertas incongruencias en los resultados como:

- a) En ocasiones la flora observada en la preparación directa del flujo teñido por Gram es diferente al microorganismo que se aisla en el medio de cultivo.
- b) En algunos casos en pacientes con abundante leucorrea, no se aisla ningún microorganismo, aunque en la tinción directa si se observa flora.
- c) En pacientes con abundante leucorrea, es común aislar exclusivamente Staphylococcus coagulasa negativa, considerado tradicionalmente no patógeno.

Estas incongruencias causan confusión entre los microbiólogos siendo necesario aclararlas, mediante trabajos de investigación más detallados, tal es el caso del Staphylococcus coagulasa negativa motivo de este trabajo, cuyo papel parece no estar bien definido a pesar de haber sido considerado por muchos años un germen habitual de la vagina, por tanto falta aún mucho por investigar, siendo este trabajo un pequeño avance en el estudio de la microflora vaginal.

**OBJETIVO**

Identificar a los Staphylococcus coagulasa negativa que se encuentran en la vagina de mujeres con secreción y sin secreción y su probable relación en procesos inflamatorios.

**M A T E R I A L Y M E T O D O S**

## M E T O D O S

Se analizaron un total de 321 muestras de exudados vaginales.

La toma de estas muestras se realizó en pacientes que acuden a la consulta ginecológica cuyo problema principal es el flujo vaginal.\*

Se practicó un cuestionario por paciente durante la toma de muestra que comprendió los siguientes puntos: fecha, nombre, edad, vida sexual, No. de embarazos, No. de abortos, No. de partos, No. de cesáreas, características del flujo (color, olor, consistencia) si se encontraba en tratamiento y tratamiento que siguió hasta la toma de muestra, se practicó esto con el fin de conocer los antecedentes ginecológicos de la paciente, además de describir las características del cuello y de la vagina. Después de esto se procedió a tomar la muestra, utilizando dos hisopos estériles: uno de los cuales se colocó en un medio de transporte Stuart y con el otro se practicó frotis, observaciones en fresco y se determinó el pH del contenido vaginal.

Se formaron tres grupos de pacientes los cuales fueron:

- Grupo No. 1 Mujeres sin secreción o con escasa secreción ( 70 casos) que nos sirvió como grupo testigo.
- Grupo No. 2 Mujeres con moderada leucorrea ( 86 casos)
- Grupo No. 3 Mujeres con abundante leucorrea ( 165 casos ) y se relacionaron con las condiciones del cuello uterino y --

con los datos que arrojará el cuestionario.

- \* La toma de estas muestras se realizó en la Clínica No. 57 "La Quebrada" del Instituto Mexicano del Seguro Social durante el periodo del mes de Octubre de 1985 a Mayo de 1986.

## METODOS EMPLEADOS Y ANALISIS DEL LABORATORIO

Se diseñó una marcha de trabajo que consiste en tres cuadros que a continuación se presentan, los cuales también contienen la identificación necesaria para los diferentes microorganismos aislados en los exudados vaginales ya que gran parte no se encuentra al Staphylococcus coagulasa negativa puro sino mezclado con otros microorganismos. Cuadros No. 1, 2 y 3.

Al total de las muestras se les trabajó de acuerdo al diagrama de trabajo: (Cuadro No. 1 rutina Bacteriológica del Instituto Mexicano del Seguro Social).

Estas muestras se trabajaron en forma general; sembrándose en los medios de cultivo de: Agar Sangre, Agar Chocolate, Agar Levine con Eosina y Azul de Metileno (EMB), identificándose de aquí a los microorganismos Gram positivos y Gram negativos, a la par se utilizaron tres medios para la identificación de microorganismos Gram positivos los cuales fueron: Agar de Sal y Manitol, Agar para Estafilococo No. 110 y Agar de Chapman Stone, además de Agar de Dextrosa Sabouraud, este último para observar el crecimiento de levaduras.

Estos medios se incubaron de 35 a 37°C durante 24 a 48 horas.

Todas las muestras se observaron en fresco al microscopio con el objetivo de encontrar Trichomona vaginalis, Pseudomicelio y levaduras de Candida además de células en ovillo que orientaran al aisla

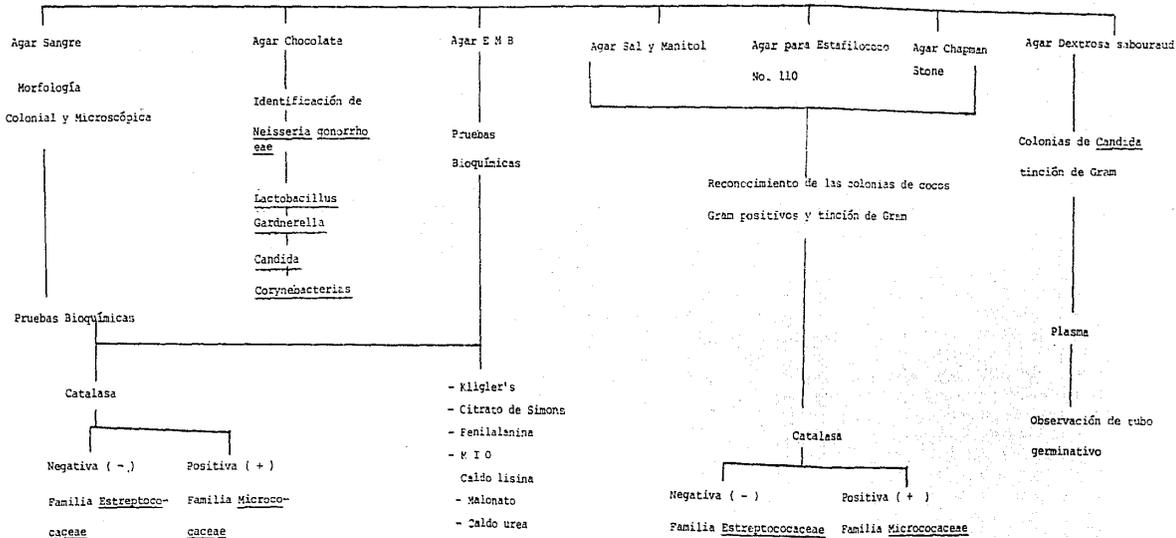
miento de Gardnerella vaginalis también se practicó un frotis teñido por Gram para conocer el tipo de flores y su reacción tintorial.

Para el objetivo del presente estudio se tomaron de aquí a los - microorganismos Gram positivos, aislados con las características de Staphylococcus a los cuales se les siguió la rutina de diagnóstico - especificados en los cuadros No. 2 y 3, además de incluir la ruta -- crítica de la identificación microbiológica que comprenden los puntos que se especifican después de los cuadros.

CUADRO No. 1

ESQUEMA GENERAL PARA EL AISLAMIENTO E IDENTIFICACION DE MICROORGANISMOS A PARTIR DE EXUDADOS VAGINALES

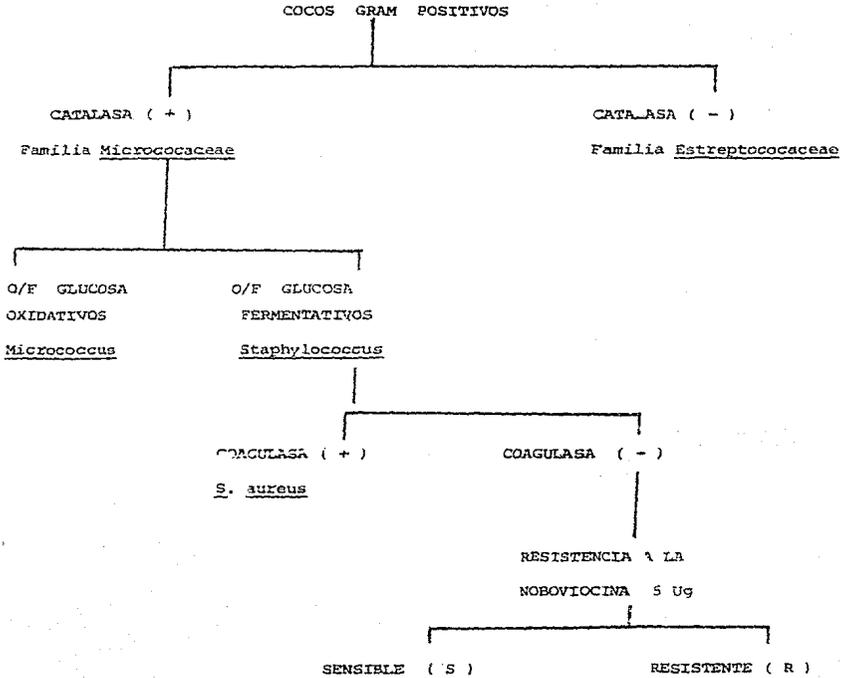
MUESTRA



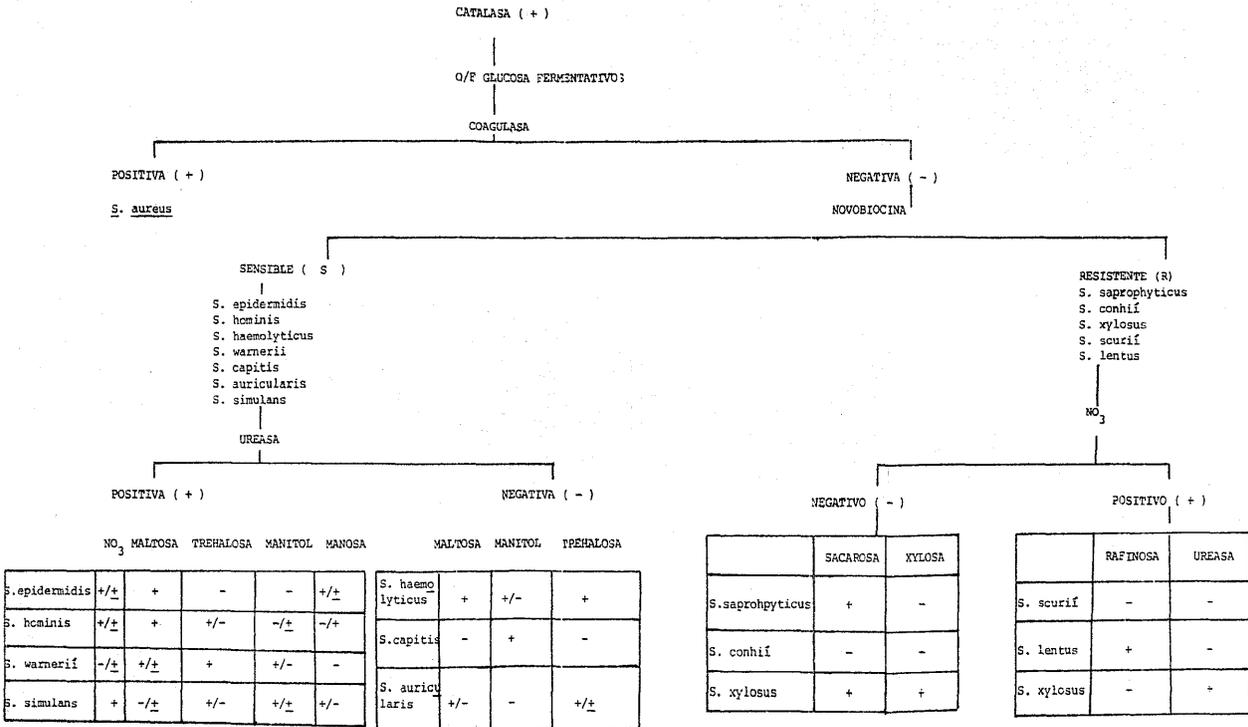
Esquema empleado en Microbiología de rutina en los Laboratorios de el Instituto Mexicano del Seguro Social ( 23 ).

CUADRO No. 2

ESQUEMA DE IDENTIFICACION PARA:



ESQUEMA DE IDENTIFICACION PARA *Staphylococcus* COAGULASA NEGATIVA



ESQUEMA DE IDENTIFICACION DE LOS *Staphylococcus* COAGULASA NEGATIVA ( 1, 12, 28 ).

## RUTA CRITICA DE LA IDENTIFICACION MICROBIOLOGICA

Esta ruta comprende los siguientes puntos:

- a) Morfología Colonial: Se seleccionaron las colonias de acuerdo a forma, tamaño, color, transparencia, textura. Siendo las del género Staphylococcus: blancas, amarillas, convexas, opacas, brillantes con bordes enteros y se identificaron colonias sospechosas de: Enterobacterias, Lactobacillus, Streptococcus, Candida, Pseudomonas, Gardnerella y Corynebacterias.

- b) Morfología microscópica y propiedades tintoriales:

A todos los diferentes tipos de colonias observadas se les practicó frotis y se tiñeron por la tinción de Gram para decidir que pruebas bioquímicas posteriores se iban a utilizar (14).

Las colonias de Staphylococcus epidermidis presentan la siguiente morfología microscópica:

Son cocos Gram positivos de aproximadamente 0.5 a 1.5 U, de diámetro, se presentan en forma individual, en pares, ocasionalmente en tetradas o paquetes cúbicos, pero normalmente forman racimos en forma irregular.

De acuerdo a la morfología colonial y microscópica y a su respuesta a la tinción de Gram se eligieron los procedimientos de identificación bioquímica.

- c) Pruebas bioquímicas para la identificación de Enterobacterias.

Las pruebas bioquímicas para la identificación fueron las si -

guientes: Fermentación de la glucosa y la lactosa, producción de gas y de ácido sulfhídrico en el medio de Kligler, utilización del citrato y del malonato como únicas fuentes de carbono en los medios de Citrato de Simons y Caldo de Malonato, Descarboxilación de la ornitina y de la lisina en el medio MIO y caldo lisina, desaminación de la fenilalanina en el agar de fenilalanina, producción de indol y de ureasa en el medio MIO y Caldo Urea, - observación de movilidad en el medio MIO (20).

- d) Pruebas Bioquímicas para la identificación de la familia Microcaceae; para separar los cocos Gram positivos en sus respectivas familias se utilizó primero la prueba de catalasa y después la prueba de oxidación-fermentación (o-f).

La prueba de catalasa nos separa a la familia Streptococaceae la cual es catalasa negativa de la familia Micrococaceae la cual es catalasa positiva (20).

La familia Micrococaceae tiene dos géneros:

- i) Género Micrococcus  
 ii) Género Staphylococcus

Que se separan con la prueba de fermentación de la glucosa en el medio de o-f (20).

El género Micrococcus no fermenta la glucosa es oxidativa mientras que el género Staphylococcus si fermenta la glucosa.

- e) Pruebas bioquímicas para la identificación de Staphylococcus coagulasa negativa: para la identificación de Staphylococcus coagu

lasa negativa del Staphylococcus coagulasa positiva, se hizo por medio de la prueba de la coagulasa y fermentación del manitol.

La prueba de la coagulasa se realizó por la técnica en tubo\* - - "coagulasa libre" siendo el Staphylococcus epidermidis coagulasa negativa mientras que el Staphylococcus aureus es coagulasa positiva (20).

La prueba de fermentación del manitol se realizó en las placas que contenían el Agar de Sal y Manitol siendo el Staphylococcus aureus; fermentativo y el Staphylococcus epidermidis no fermentativo (28).

Se diseñó una marcha de trabajo para identificar a los Staphylococcus coagulasa negativa de las 20 especies que se han reportado desde 1985 a la fecha, para la cual se utilizaron una serie - de carbohidratos fermentables y las pruebas se realizaron de la siguiente manera: a 20 ml de Caldo Base Rojo de Fenol se le - agregó 0.2 g del carbohidrato deseado para obtener una concentración final del 1% en cada uno de los medios, los carbohidratos - empleados fueron: Maltosa, Trehalosa, Manitol, Manosa, Sacarosa, Xylosa y Rafinosa, en estas pruebas también se observó la - producción de gas por medio de los tubos de Durham (20).

En los cuadros No. 2 y 3 se presenta la marcha de trabajo que se diseñó para la identificación de los Staphylococcus coagulasa negativa.

- f) Resistencia a la novobiocina de los Staphylococcus coagulasa negativa (7, 14, 28, 30).

A las cepas de Staphylococcus coagulasa negativa se les practicó la prueba de susceptibilidad a la novobiocina con discos de 5 Ug por la técnica de: Bauer-Kirby y de aquí se formaron dos grupos de Staphylococcus:

Los Staphylococcus coagulasa negativa que fueron sensibles a la novobiocina los cuales son: S. epidermidis, S. hominis, S. haemolyticus, S. warnerii, S. capitis, S. auricularis, S. simulans. Los Staphylococcus coagulasa negativa resistentes a la novobiocina que fueron: S. saprophyticus, S. conhií, S. xylosus, S. scurii y S. lentus.

Posteriormente se practicaron las pruebas de: ureasa, reducción de nitratos a nitritos y fermentación de carbohidratos como se indicó anteriormente y de acuerdo a los cuadros No. 2 y 3.

- g) Pruebas bioquímicas para la identificación de otro tipo de bacterias.

Las demás bacterias encontradas fueron identificadas de acuerdo a los manuales del I.M.S.S. (cuadro No. 1) y manuales de identificación microbiológicas (1, 2, 14, 17, 23).

\* Nota: En la técnica en tubo llamada "coagulasa libre" también se lleva a cabo la coagulasa ligada.

**MATERIAL**

- Espejo vaginal (para la toma de muestra)
- Guantes
- Hisopos estériles
- Portaobjetos
- Cubreobjetos
- Tubos de ensayo
- Tubos con tapón de rosca
- Matraces Erlenmeyer de 1 litro
- Cajas de petri
- Mechero de Bunsen
- Tripie
- Rejilla de asbesto
- Autoclave
- Gradillas
- Pipetas graduadas
- Asas de inoculación
- Microscopio compuesto
- Jeringas desechables
- Filtros de 0.45  $\mu$ m
- Pinzas para filtros
- Membranas millipore de 0.45  $\mu$ m y portafiltros con diámetro de 5 cm.
- Parafilm
- Papel Indicador de pH (hydron)

- Gasas estériles
- Balanza granataria
- Papel absorbente

#### REACTIVOS

- Equipo de Gram (cristal violeta, alcohol-acetona, safranina, lugol).
- Peróxido de hidrógeno al 30%
- Aceite de inmersión
- Plasma humano
- Agua destilada
- Vaselina o parafina estéril
- Discos de Novobiocina de 5 Ug\*

#### MEDIOS DE CULTIVO\*\*

- Medio de Transporte de Stuart
- Base de Agar Sangre
- Agar de Chocolate
- Agar Levine con Eosina y Azul de Metileno
- Agar de Hierro de Kligler
- Agar de Citrato de Simons
- Agar de Fenilalanina
- Agar de Sal y Manitol
- Medio MIO
- Caldo de Lisina y Descarboxilasa
- Caldo de Malonato de Ewing Modificado

- Caldo Urea
- Agar para Estafilococo No. 110
- Agar de Chapman Stone
- Agar de Dextrosa Sabouraud
- Agar Infusión de Cerebro Corazón
- Agar de Mueller Hinton
- Base de Agar Urea (de Christensen)
- Base de Caldo Rojo Fenol
- Agar Biggy
- Infusión de Cerebro Corazón

**CARBOHIDRATOS\*\***

- Maltosa
- Manosa
- Sacarosa
- D-Xylosa
- Medio Basal OF (de Hugh y Leifston)
- Trehalosa\*\*\*
- D-Manitol\*\*\*
- Rafinosa\*\*\*

\* Bigaux Diagnóstica Laboratorios S.A.

\*\* Laboratorios BIOXON DE MEXICO

\*\*\* Laboratorios SIGMA

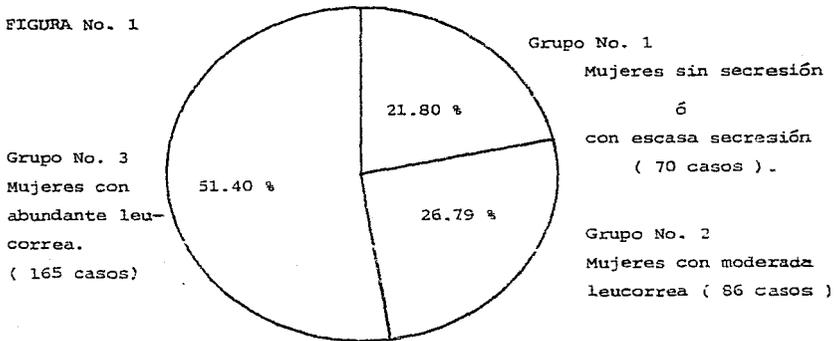
**RESULTADOS Y ANALISIS DE RESULTADOS**

### RESULTADOS Y ANALISIS DE RESULTADOS

El cálculo de los porcentajes fue realizado en base al total de muestras ( 321 ) considerado como un 100%.

Obteniéndose los siguientes resultados: Grupo No. 1 Mujeres -- sin secreción o con escasa secreción 21.8%, Grupo No. 2 Mujeres con moderada leucorrea 26.79%, Grupo No. 3 Mujeres con abundante leucorrea 51.4%. Lo que se ilustra en la figura No. 1

FIGURA No. 1



De aquí se puede observar que: en los 321 casos estudiados en el grupo No. 1 de mujeres sin secreción o con escasa secreción considerado como grupo testigo, presentó un menor porcentaje de frecuencia que los otros dos grupos de mujeres (Grupos No. 2 y 3) que sí tuvieron leucorrea lo que significa que el problema de leucorrea o de flujos vaginales en las mujeres estudiadas corresponde a un 78.19% (este resultado fue obtenido de sumar los porcentajes correspondientes a los grupos No. 2 y 3).

Los resultados de las muestras que se trabajaron para cada grupo

po después de haberlas sembrado en los medios empleados según el esquema de trabajo (cuadro No. 1), y con un período de incubación de 48 horas se presentan en las tablas No. 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 y en las gráficas No. 1, 2, 3 y 4.

En la tabla No. 1 observamos que:

El grupo No. 1 mujeres con escasa secreción o sin secreción tuvieron un 100% de desarrollo bacteriano, mientras que los grupos No. 2 y 3 tuvieron 98.8% y 92.0% respectivamente de desarrollo bacteriano lo que significó que un 9.2% no presentó desarrollo en mujeres - conleucorrea (Grupo No. 2 y 3).

Esto pudiera deberse a algunos factores como son: que la paciente haya estado administrándose ovulos vaginales con antibióticos, los cuales provocan que las bacterias presentes en la vagina se encuentren en "stress" metabólico por las condiciones de pH y antagonismo bacteriano, que la afluencia de abundantes leucocitos con la consecuente liberación de mediadores químicos mantuviera a las bacterias inhibidas, que las bacterias presentes en la vagina no desarrollan - en medios nutritivos comunes, debido a que son muy exigentes en sus requerimientos nutritivos o bien que la secreción sea rica en inmuno globulinas de tipo A. También pudiera deberse a modificaciones hormonales en la paciente (comentario personal de un ginecólogo).

TABLA No. 1

CRECIMIENTO BACTERIANO DESPUES DE 48 HORAS DE INCUBACION Y CONDICIONES DEL CUELLO UTERINO EN MUJERES SIN Y CON CUADROS DE LEUCORREA

	CON DESARROLLO BACTERIANO A LAS 48 HORAS - DE INCUBACION ( en % )	CUELLO NORMAL	CUELLO EROSIONADO O ULCERADO
<hr/>			
Grupo No. 1			
Mujeres sin secreción o con escasa secreción ( 70 casos)	100 %	80 % (56 casos)	20 % (14 casos)
<hr/>			
Grupo No. 2			
Mujeres con moderada leucorrea ( 86 casos)	22.2 %	52.94 % (45 casos)	36.47 % (31 casos)
<hr/>			
Grupo No. 3			
Mujeres con abundante leucorrea ( 165 casos)	92.0 %	61.8 % (102 casos)	34.5 % (57 casos)
<hr/>			

## Nota:

La suma total sin desarrollo bacteriano corresponde a un 9.2 % .

TABLA No. 2

PORCENTAJES DE AISLAMIENOS DE LOS DIFERENTES MICROORGANISMOS GRAM POSITIVOS AISLADOS EN LOS GRUPOS FORMADOS PARA EL PRESENTE ESTUDIO  
( Número de casos y porcentaje )

	LACTOBA CILLUS	G. dif- teroi- des	S.coagu- lase ne- gativa	St. feca- lis	S. au- reus	St. ga- mma he- moliti- co	St. dife- rente del grupo A	Candida
GRUPO No. 1 MUJERES SIN SECRECION O CON ESCASA SECRECION ( 70 casos)	23/70 32.8 %	5/70 7.14%	28/70 40%	9 /70 12.85 %	0	4 / 70 5.71%	1 / 70 1.42%	5 / 70 8.57%
GRUPO No. 2 MUJERES CON MODERADA LEUCORREA ( 86 casos)	29/86 33.7%	6/86 6.9%	40/86 46.5%	7 /86 8.1 %	1/86 1.1%	4 /86 4.6%	2 /86 2.3%	19/86 22.0%
GRUPO No. 3 MUJERES CON ABUNDANTE LEUCORREA ( 165 casos)	55/165 33.3%	22/165 13.3%	80/165 48.5%	9/165 5.4%	2/165 1.2%	6/165 3.6%	1/165 0.65%	27/165 16.3%

## TABLA No. 2 Germenés Gram positivos:

Se observa que se aislaron una gran variedad de microorganismos diferentes de Staphylococcus coagulasa negativa, diferentes en cuanto a: su forma, tamaño y características bioquímicas, pero, todos ellos pertenecientes al grupo de las bacterias Gram positivas, por lo cual hacemos un análisis en forma muy general ya que este no era nuestro objetivo.

De la tabla notamos que: los Lactobacilos y Germenés Difteroi-des, se encuentran más abundantemente en mujeres con leucorrea aunque constituyen parte de la flora normal de la vagina. En cuanto a los Estreptococos fecalis y otros Estreptococos guardan cierta proporcionalidad en mujeres con y sin leucorrea.

El Staphylococcus aureus se aisló en un 2.3% en mujeres del grupo No. 2 y 3 este porcentaje que expresamos se obtuvo de sumar el número total de mujeres con moderada leucorrea y con abundante leucorrea y no hubo desarrollo de este germen en mujeres con escasa secreción ó sin secreción (Grupo No. 1).

Con respecto a los Staphylococcus coagulasa negativa identificados exclusivamente con morfología colonial, prueba de oxidación-fermentación (o-f), catalasa y coagulasa se encuentran en la misma proporción tanto en mujeres con leucorrea como en las que no la padecen (Grupos No. 1, 2 y 3).

En cuanto a la Candida encontramos que en los tres grupos se aisló, pero con mayor frecuencia en el grupo de mujeres que presentan moderada secreción (Grupo No. 2).

TABLA No. 3

PORCENTAJES DE AISLAMIENTOS DE LOS DIFERENTES MICROORGANISMOS GRAM NEGATIVOS AISLADOS EN LOS GRUPOS FORMADOS PARA EL PRESENTE ESTUDIO

( Número de casos y Porcentajes )

	Enterobacterias	Pseudomonas sp.	Gardnerella sp.	No Fermentativos
<b>GRUPO No. 1</b>				
MUJERES SIN SECRESION O CON ESCASA SECRESION ( 70 casos )	21 casos/ 70 30 %	2 casos/70 2.85 %	1 caso/ 70 1.42 %	0 0 %
<b>GRUPO No. 2</b>				
MUJERES CON MODERADA LEUCORREA ( 86 casos )	15 casos/ 86 17.44%	0 casos/86 0%	2 casos/86 2.32%	1 caso/86 1.16%
<b>GRUPO No. 3</b>				
MUJERES CON ABUNDANTE LEUCORREA (165 casos )	38 casos/165 23.03%	0 casos/165 0%	6 casos/165 3.63%	0 casos/165 0%

TABLA No. 3 Germen Gram negativo.

Se tomaron en cuenta a los microorganismos Gram negativos, principalmente a las Enterobacterias, Pseudomonas y Gardnerella ya que muchas de ellas se pueden encontrar involucradas en procesos infecciosos en esta área del organismo.

De los análisis realizados para cada uno de los grupos trabajados se reportó que:

Las Enterobacterias se encontraron indistintamente en los tres grupos, estos microorganismos parecen no estar directamente involucrados con el cuadro de leucorrea más bien se trata de una eventual contaminación fecal por la cercanía del ano, pudiendo ser estos germen oportunistas.

En cuanto a la Gardnerella vaginalis se aisló con más frecuencia en mujeres con abundante leucorrea (Grupo No. 3), la Pseudomonas y demás germen en los casos estudiados se aislaron en bajo porcentaje por lo que es poco significativa su interpretación en este trabajo.

TABLA No. 4

CASOS EN QUE EXCLUSIVAMENTE SE AISLO EN CULTIVO PURO EL Staphylococcus COAGULASA NEGATIVA

	Número de casos	( % ) Porcentaje
Grupo No. 1		
Mujeres sin secreción ó con escasa secreción ( 70 casos )	8 casos	11.42 %
Grupo No. 2		
Mujeres con moderada leucorrea ( 86 casos)	18 casos	20.93 %
Grupo No. 3		
Mujeres con abundante leucorrea ( 165 casos)	23 casos	13.93 %

La incidencia de Staphylococcus coagulasa negativa aislados en cultivo puro de mujeres con leucorrea es de 34.86%, este dato se obtuvo de la suma de los porcentajes de frecuencia de las mujeres del grupo No. 2 y 3.

En el grupo testigo es de 11.42% (Grupo No. 1). De acuerdo a esto resultados se puede observar que la incidencia de Staphyloco-

ccus coagulasa negativa aislado en cultivo puro fue menor.

FRECUENCIA DE Staphylococcus COAGULASA NEGATIVA AISLADO EN UN TOTAL DE 321 MUESTRAS DE EXUDADOS VAGINALES

No.	ESPECIE	No. DE CASOS	(%) PORCENTAJE TOTAL
I	<u>Staphylococcus</u> coagulasa negativa	148 / 321	46.1 %
II	<u>Staphylococcus</u> epidermidis	138 / 321	42.98%
III	OTRAS ESPECIES DE <u>Staphylococcus</u>	10 / 321	3.1 %

GRAFICA No. 1

FRECUENCIA DE Staphylococcus COAGULASA NEGATIVA AISLADO EN UN TOTAL DE 321 MUESTRAS DE EXUDADOS VAGINALES

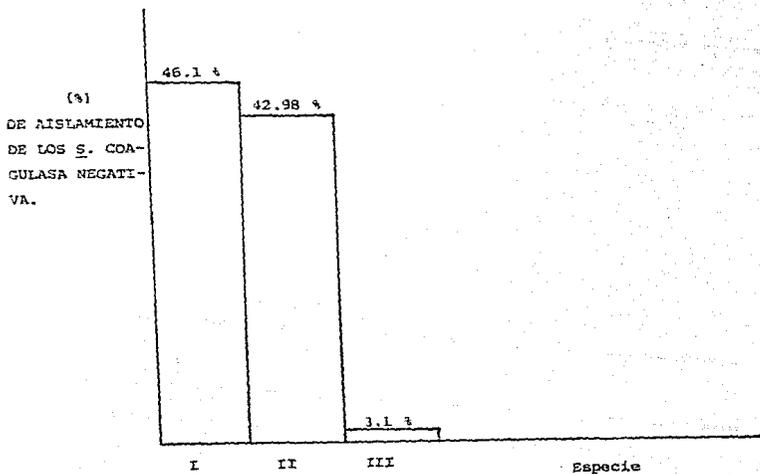


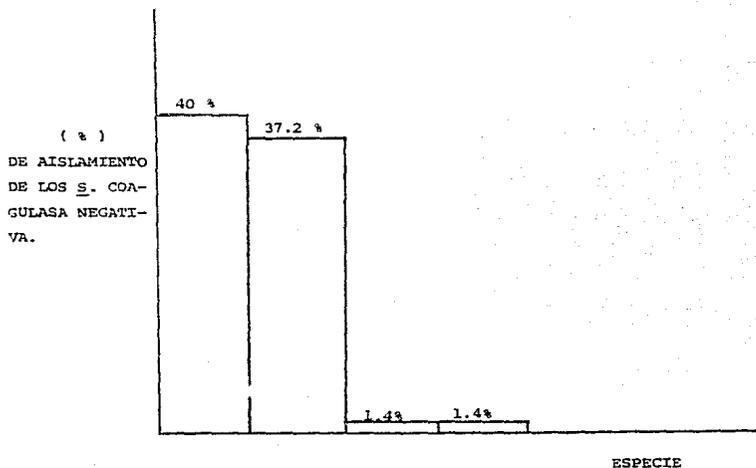
TABLA No. 6  
 FRECUENCIA DE AISLAMIENTO DE LAS DIFERENTES ESPECIES DE Staphylococcus -  
occus COAGULASA NEGATIVA EN MUJERES SIN SECRESION O CON ESCASA SECRE-  
 SION GRUPO No. 1 (70 casos) GRUPO TESTIGO

41

No.	ESPECIE	No. DE CASOS	C % L	PORCENTAJE
I	<u>Staphylococcus</u> coagulasa negativa *	28 / 70		40 %
II	<u>Staphylococcus</u> epidermidis	26 / 70		37.2 %
III	<u>Staphylococcus</u> simulans	1 / 70		1.4 %
IV	<u>Staphylococcus</u> auricularis	1 / 70		1.4 %

GRAFICA No. 2

FRECUENCIA DE AISLAMIENTO DE LAS DIFERENTES ESPECIES DE Staphylococcus  
 COAGULASA NEGATIVA EN MUJERES SIN SECRESION O CON ESCASA SECRESION  
 GRUPO No. 1 (70 casos) GRUPO TESTIGO

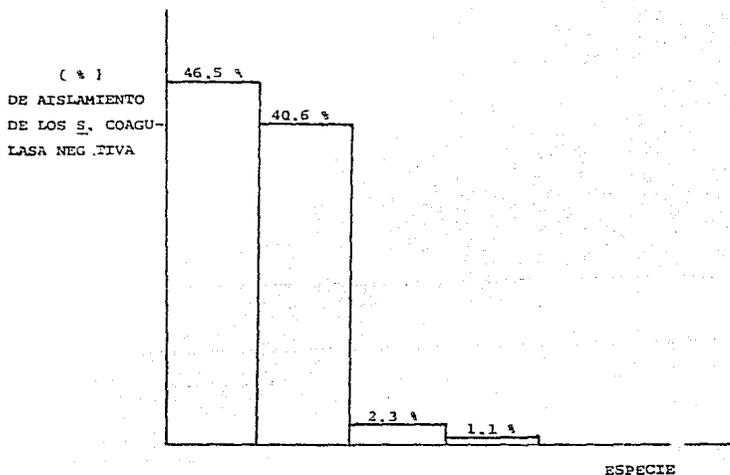


FRECUENCIA DE AISLAMIENTO DE LAS DIFERENTES ESPECIES DE Staphylococcus -  
ccus COAGULASA NEGATIVA EN MUJERES CON MODERADA LEUCORREA  
 GRUPO No. 2 ( 86 casos )

No.	ESPECIE	No. DE CASOS	( % ) PORCENTAJE
I	<u>Staphylococcus</u> coagulasa negativa	40 / 86	46.5 %
II	<u>Staphylococcus</u> epidermidis	35 / 86	40.6 %
III	<u>Staphylococcus</u> hominis	2 / 86	2.3 %
IV	<u>Staphylococcus</u> auricularis	1 / 86	1.1 %

GRAFICA No. 3

FRECUENCIA DE AISLAMIENTO DE LAS DIFERENTES ESPECIES DE Staphylococcus-  
ccus COAGULASA NEGATIVA EN MUJERES CON MODERADA LEUCORREA  
 GRUPO No. 2 ( 86 casos )

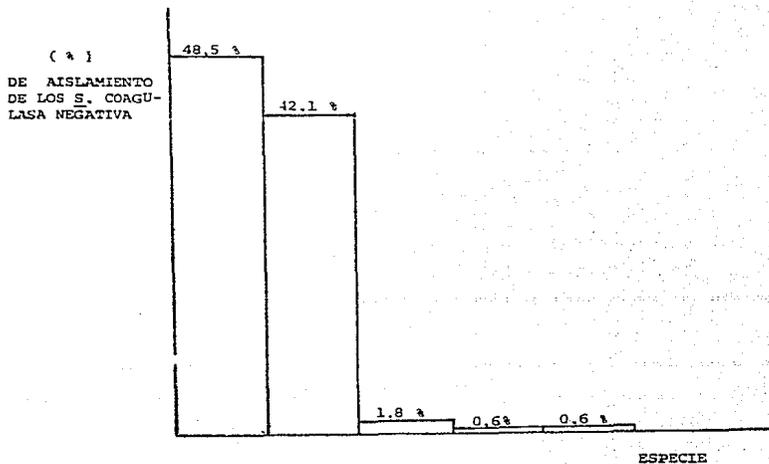


FRECUENCIA DE AISLAMIENTO DE LAS DIFERENTES ESPECIES DE Staphylococcus COAGULASA NEGATIVA EN MUJERES CON ABUNDANTE LEUCORREA  
GRUPO No. 3 ( 165 casos )

No.	ESPECIE	NO. DE CASOS	( % )	PORCENTAJE
I	<u>Staphylococcus</u> coagulasa negativa	80 / 165		48.5 %
II	<u>Staphylococcus</u> epidermidis	68 / 165		42.1 %
III	<u>Staphylococcus</u> xylosus	3 / 165		1.8 %
IV	<u>Staphylococcus</u> auricularis	1 / 165		0.6 %
V	<u>Staphylococcus</u> hominis	1 / 165		0.6 %

GRAFICA No. 4

FRECUENCIA DE AISLAMIENTO DE LAS DIFERENTES ESPECIES DE Staphylococcus COAGULASA NEGATIVA EN MUJERES CON ABUNDANTE LEUCORREA  
GRUPO No. 3 ( 165 casos )



## ANÁLISIS DE GRÁFICAS Y TABLAS

Al observar los porcentajes de frecuencias de aislamiento del Staphylococcus coagulasa negativa expresados en las tablas No. 6 7 y 8 y sus respectivas gráficas que corresponden a los tres grupos de mujeres analizadas es importante hacer notar lo siguiente: la frecuencia de aislamiento de Staphylococcus epidermidis en los tres -- grupos de mujeres varía de 37,2 a 42,1% lo que significa que se presentó en los tres grupos en la misma proporción y comparando con la tabla No. 5 y su correspondiente gráfica en donde el Staphylococcus epidermidis se reporta en un 42,9% del total de las muestras se observa que: se sigue conservando la proporcionalidad. Por lo tanto el Staphylococcus epidermidis se encuentra en mujeres sanas y mujeres con leucorrea en el mismo rango de porcentaje, no presenta exclusividad en un grupo o en otro y no se puede decidir que el Staphylococcus epidermidis sea parte de la flora normal pero tampoco se puede afirmar que este involucrado en un cuadro leucorreico.

La relación que existe entre el Staphylococcus epidermidis y las demás especies de Staphylococcus aisladas en los tres grupos de mujeres estudiadas es la siguiente: en el grupo No. 1 mujeres sin secreción o con escasa secreción (grupo testigo) el Staphylococcus epidermidis se encuentra 13 veces más frecuente que las demás especies de Staphylococcus (esta relación se obtuvo de dividir 26 casos de Staphylococcus epidermidis entre 2 casos de las otras especies de Staphylo-

coccus).

El grupo No. 2 mujeres con moderada leucorrea el Staphylococcus epidermidis se encontró 11.6 veces más frecuente que las demás especies de Staphylococcus y en el grupo No. 3 el Staphylococcus epidermidis es más frecuente 17 veces que las otras especies de Staphylococcus.

De acuerdo a estos resultados el Staphylococcus epidermidis es notablemente más frecuente que las demás especies de Staphylococcus. En cuanto a la patogenicidad de las especies aisladas de Staphylococcus coagulasa negativa diferentes al Staphylococcus epidermidis no se pudo tomar ningún criterio debido a la escasa frecuencia de aislamiento y únicamente cabe mencionar que se encontraron las especies de S. xylosus, S. auricularis y S. hominis. El epitelio vaginal y la flora microbiana que aloja constituyen un complicado sistema de interrelaciones metabólicas y antagonismos difíciles de estudiar por su heterogeneidad, decidir sobre la patogenicidad de un microorganismo en particular es un reto a la imaginación científica del microbiólogo, tal es el caso del Staphylococcus coagulasa negativa.

## CONCLUSIONES

- 1.- Se obtuvo el Staphylococcus coagulasa negativa en un 46.1% de las muestras trabajadas de acuerdo a la técnica empleada.
- 2.- En mujeres con leucorrea el 9.2% no tuvo desarrollo bacteriano.
- 3.- En mujeres sin secreción o con escasa secreción se presentó un 100% de desarrollo bacteriano.
- 4.- De los tres medios empleados\* en la recuperación del Staphylococcus a partir de nuestros exudados vaginales, el de mayor efectividad fue el Agar de Sal y Manitol.
- 5.- El Staphylococcus epidermidis fue la especie más frecuentemente aislada en los tres grupos de mujeres analizadas.
- 6.- Las especies que se aislaron además del Staphylococcus epidermidis en vagina fueron: en mujeres sin secreción o con escasa secreción S. simulans y S. auricularis, en mujeres con moderada leucorrea S. hominis y S. auricularis, en mujeres con abundante leucorrea S. xylosum, S. auricularis y S. hominis. Estas especies constituyen un 3.1% del total de las muestras,
- 7.- No se pudo comprobar ninguna relación entre el proceso inflamatorio de la vagina y la presencia del Staphylococcus coagulasa negativa. Tampoco se comprobó que alguna de las especies aisladas se encuentre involucrada exclusivamente en cuadros leucorreicos.

- \* Los medios empleados fueron: Agar de Sal y Manitol, Agar para Estafilococos No. 110 y Agar de Chapman Stone.

## RESUMEN

Se analizaron 321 muestras de exudados vaginales, de los cuales 70 constituyeron el grupo testigo de mujeres sin secreción o con escasa secreción (grupo No. 1), el resto se dividió en dos grupos: Mujeres con moderada leucorrea (grupo No. 2) 86 casos y mujeres con abundante leucorrea (grupo No. 3) 165 casos. Con el objeto de identificar Staphylococcus coagulasa negativa en cada uno de los grupos y contribuir al conocimiento más amplio de la flora vaginal en mujeres con problemas de leucorrea.

Se practicaron aislamientos de microorganismos que constituyen la flora autoctona del epitelio vaginal y además de probables germen causales de flujo vaginales utilizando el método que se emplea de rutina en los Laboratorios de Bacteriología del Instituto Mexicano del Seguro Social (I.M.S.S.), para este tipo de muestras.

Se encontró que en secreciones de mujeres del grupo No. 2 y 3 se presentó un 9.2% sin desarrollo bacteriano, en cambio en el grupo testigo todas las muestras presentaron desarrollo bacteriano.

En la identificación de Staphylococcus se encontró que la mayor parte de los Staphylococcus coagulasa negativa aislados en vagina es tan representados por el Staphylococcus epidermidis.

Las otras especies de Staphylococcus aislados fueron: S. xylo-  
sus, S. auricularis, S. hominis, S. simulans, en un 3.1% de los 321 casos.

BIBLIOGRAFIA

- (1) Buchanan R.E., and Gibbons N.E. (eds): Bergey's Manual of Determinative Bacteriology. 10th ed. 1982, Williams & Wilkins Co. Baltimore U.S.A.
- (2) Cowan S.T. Manual for the Identification of Medical Bacteria Cambridge University Press London. Second edition. 1974.
- (3) Davidson I. Henry J.B. Todd Snaford: Diagnóstico Clínico por el Laboratorio. Sexta edición 1983, Salvat editores S.A. Barcelona España.
- (4) Ebrigt .K.R., Rytel W. Intra-abdominal abscess caused by Staphylococcus epidermidis. Arch.Surg. 1980;115-26.
- (5) Forse R.A., Dixon R.N. Bernard K. Martínez L., et.al. Staphylococcus epidermideis an important pathogen, Surgery. 1979; 507 14.
- (6) Giono Cerezo Silvia., Conservación y mantenimiento de Microorganismos. Dep. Microbiología. Esc. Nac. Ciencias Biológicas, I.P.N. Becario COFFA.
- (7) Giono Cerezo Silvia, Prueba de Baurer-Kirby para sensibilidad a los antimicrobianos. Dep. Microbiología. Esc. Nac. Ciencias Biológicas I.P.N.
- (8) Hermansen. G., Bellgren I., Bergstrom T., Winberg J., Coagulase-Negative Staphylococci as caused of simptom tic urinary infection and septicemia Canad.Med., Ass., J., 1965;93-8.

- (9) Holt.R.J., Bacteriological studies on colonized ventriculoar-trial shunts. Dev.Med.Child.Neurol. 1979;13 sup 22;83-7
- (10) Keys T.F., Mewitt W.I., Endocarditis due to Micrococci and Staphylococcus epidermidis. Arch.Inter.Med., 1973.132:216-20.
- (11) Kellender J.O., Kloin J.O., Finland M., In vitro activity of penicillins agains Staphylococcus albus. Proc. Soc. Exp. Med., 1963 :113;1023-31.
- (12) Kloos W.E.Ph.D. Coagulase-negative Staphylococci. Clin. Microbiology Newsletter. 1982;4;11;75-79 Jun.
- (13) Kloos W.E. & Schleifer K.W., Simplified scheme for routine identification of human Staphylococcus species. J. Cli.Microbiology. 1975;1;82-88.
- (14) Koneman E.E., Alen.S.D.Dowell V.R. Sommers H.M. Diagnóstico Microbiológico. Texto y Atlas Color. Tercera edición 1983.Ed., Médica Panamericana. Buenos Aires Argentina.
- (15) Kreyszing E. Introducción a la Estadística Matemática Principios y Metodos. Editorial. Limusa. Quinta reimpresión 1981. Méx. D.F.
- (16) Lavadiere M., Peterson.P.K., Veroeff J., In vitro activity of cefalosporins againsta-methicillin-resistence coagualse-negative Staphylococci J. Infect.Dis. 1978;137:254-50.
- (17) Lennette E.H. Balows A., Truant.J.P. Hausler W.J. Manual de Microbiología Clínica. Cuarta edición 1985.Ed. Médica Panamericana Buenos Aires Argentina.

- (18) Liekeg W.G., Greenfield.L.J., Vascular prosthetic infections collected experience and results of treatment. Surgery. 1977:81: 335-42.
- (19) Litter M. Farmacología Experimental y Clínica. Sexta edición .980, Editorial "El Ateneo". Buenos Aires Argentina.
- (20) Mac Faddin J.F. Biochemical test for Identification of Medical Bacteria. Williams & Wilkins. Co., Baltimore. U.S.A. 1980
- (21) Mancusi-Ungaro H.R., Treatment of necrotizing facitis caused by Staphylococcus epidermidis. Arch. Surg., 113-282.1978.
- (22) Manual de Médios de Cultivo y Reactivos de Diagnóstico Laboratorios Bioxon de México
- (23) Manual de Técnicas y Procedimientos Instituto Mexicano del Seguro Social. I.M.S.S.
- (24) Manual de Pr cedimientos de Laboratorio y Productos BBL Primera edición en español. 1974., Editores Asociados S.A. México D.F.
- (25) Mc. Laughlin B., Cristensen G., Hester M., Pe-isi J., Bisno A. Staphylococcus epidermidis sepsis asociated with intravascular catheters, In abstrac of original papers 7h Annual education conference APCI. San Francisco 1980.
- (26) Makell R., Importance of coagulase-negative Staphylococci as pathogen in urinary tract. Lancet. 11155-8. 1980.
- (27) Mitchel R.G. Clasificacion of Staphylococcus albus strains from urinary tract. J.Clin.Path., 196:21:93-6.

- (28) Parisi T.J. Coagulase-negative Staphylococci and the Epidemiological Typing of Staphylococcus epidermidis. Microbiol.Reviews. 1985:49:2:126-39.
- (29) Pérez Miravete A. Natural History of Infectious Diseases 1982  
La relación entre el Parásito y el Huésped a nivel de Epitelio Vaginal. Trabajo presentado ante la Real Academia de España - Sesión del 28 de Septiembre de 1967.
- (30) Pichardo Reyes E.A. Pruebas de susceptibilidad a los antimicrobianos Infect. 1981:3:215-22.
- (31) Sabath L.D., Gardner C., Willox C.F.Finland, Susceptibility of Staphylococcus aureus and Staphylococcus epidermidis to 65 antibiotics, Antimicrob.Agents Chemoter., 1976:9:962-9.
- (32) Schoendaun S.C., Gardner P., Shillito J., Infection of Cerebrospinal fluid shunts. Epidemiology clinical manifestation and the rapy J. Infect. Dis. 1975:132:543-52.
- (33) Sellin M., Cocke D.I., Gilliespie A., Sylvester D.F. Anderson J.D. Micrococci urinary tract infections in young women. Lancet 1975:2:570-2.
- (34) Sherestha T.L., Darel J.H. Urinary infection with coagulase-negative Staphylococci in teaching hospital. J.Clin.Path., 1979:32: 299-301.
- (35) Shurtleff D.B., Foltz E.L., Weeks R.D. and Losser J., Therapy of Staphylococcus epidermidis: Infection associated with cerebrospinal fluid shunts Pediatrics, Dis. 1974:53:55-62.

- (36) Smith. H. The biochemical change of microbial pathogenity.  
J. of Applied Bacteriology 1984:47:395-404.
- (37) Wilson T.S., Stuart R.D. Staphylococcus albus in wound infection and septicemis. Canad.Med.Ass.J. 1965:93:8-16
- (38) Williams D.N., Peterson P.K. Vercoeh.J., Lavediere M., Sabath L.D. Endocarditis caused by coagulase-negative Staphylococci.  
Infect. 1979:7:5-9.