



UNIVERSIDAD DE ORIENTE  
NÚCLEO SUCRE  
ESCUELA DE CIENCIAS  
DEPARTAMENTO DE BIOLOGÍA

EVALUACIÓN DE GENES QUE CODIFICAN PARA EXOTOXINAS  
PIROGÉNICAS, EN CEPAS DE *Staphylococcus aureus*, Y SU ASOCIACIÓN CON  
LAS CARACTERÍSTICAS CLÍNICO EPIDEMIOLÓGICAS DE NIÑOS  
PERTENECIENTES A LA COMUNIDAD WARAO MARÍA LOPÉZ DEL ESTADO  
SUCRE  
(Modalidad: Tesis de Grado)

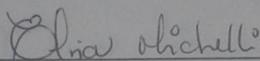
RAUXELIZ LUISIANNY RODRÍGUEZ PARRA

TRABAJO DE GRADO PRESENTADO COMO REQUISITO PARCIAL PARA  
OPTAR AL TÍTULO DE LICENCIADO EN BIOLOGÍA

Cumaná, 2021

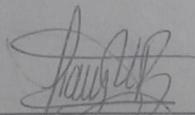
EVALUACIÓN DE GENES QUE CODIFICAN PARA EXOTOXINAS  
PIROGÉNICAS, EN CEPAS DE *Staphylococcus aureus*, Y SU ASOCIACIÓN CON  
LAS CARACTERÍSTICAS CLÍNICO EPIDEMIOLÓGICAS DE NIÑOS  
PERTENECIENTES A LA COMUNIDAD WARAO MARÍA LOPÉZ DEL ESTADO  
SUCRE

APROBADO POR:



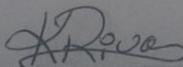
---

Prof. Elvia Michelli  
Asesora



---

Prof. Dianny Martínez  
Jurado



---

Prof. Karla Rivas  
Jurado

# ÍNDICE

DEDICATORIA .....	I
AGRADECIMIENTOS .....	II
LISTA DE TABLAS .....	III
LISTA DE FIGURAS.....	IV
RESUMEN .....	V
INTRODUCCIÓN .....	1
METODOLOGÍA .....	6
Reactivación de cepas .....	6
Diseño experimental .....	7
Tiempo de estudio.....	7
Confirmación de la identificación bacteriana .....	7
Prueba de la coagulasa .....	7
Prueba de manitol.....	8
Prueba de DNasa.....	8
Extracción de ADN.....	8
Detección de 9 genes que codifican para las exotoxinas <i>SE</i> y <i>tsst</i> por PCR-múltiple .....	9
Electroforesis .....	10
Análisis de datos .....	11
RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....	12
CONCLUSIONES .....	25
RECOMENDACIONES.....	26
BIBLIOGRAFÍA .....	27
ANEXOS .....	35
HOJAS DE METADATOS .....	36

## **DEDICATORIA**

A Dios, a mi madre Luisa Virginia Parra, a mí amado tío Jesús Enrique Parra, a mis pequeñas Hannah Emperatriz Fajardo Rodríguez y Raquel Isabell Parra, especialmente para ustedes espero ser su ejemplo, y finalmente dedicado a mí persona, por ser perseverante y nunca darme por vencida.

## **AGRADECIMIENTOS**

Primeramente a la Universidad de Oriente, por abrirme sus puertas. A mi profesora Saraí Acuña, por sus conocimientos brindados, sus consejos, por tomarme de la mano y guiarme hacia al área de la microbiología.

Al laboratorio de Microbiología del Departamento de Biología, y al Laboratorio de Genética Molecular del Instituto de Biomedicina y Ciencias Aplicada (IBCA-UDO), por prestarme sus instalaciones, equipos y reactivos para la elaboración de mis ensayos.

A mi asesora, Elvia Michelli por haberme brindado la oportunidad de trabajar a su lado, por orientarme en cada paso de este trabajo, por su paciencia, por animarme a superarme constantemente, gracias a su experiencia, correcciones y consejos que hicieron posible la realización de esta tesis, un millón de gracias.

A los profesores Rosanna Valerio y Víctor Franco, por su apoyo, dedicación, muchas gracias por ser como mis padres académicos. Y si tengo unos padres académicos, también tengo una tía, la profesora Fanny Medina, Miles de gracias, estaré eternamente agradecida con ustedes, por todo lo brindado y por ser tan especiales.

A todos mis familiares en especial a mi madre Luisa Virginia, mi tío Jesús Enrique, mis preciadas tías Dayanna del Carmen, Mary Esperanza, Ruth Raquel y mis dos tesoros Virginia Victoria y Carmen teresa mis abuelas, por apoyarme durante toda mi carrera, a los que conocí ya finalizando pero me dieron muchos ánimos para que continuara, Lorenza González, Sandy Bravo y especialmente a José Mauricio Bravo por nunca dejarme de recordar que la única batalla perdida es la que no se pelea, a todos infinitas gracias.

## LISTA DE TABLAS

- Tabla 1. Listado de cebadores usados en la PCR múltiple para evaluar exotoxinas pirogénicas en cepas de *Staphylococcus aureus*, aisladas de niños pertenecientes a la comunidad Warao María López del estado Sucre..... 11
- Tabla 2. Distribución porcentual de los niños y niñas incluidos en el estudio, según el sexo, pertenecientes a la comunidad Warao María López, del estado Sucre..... 17
- Tabla 3. Edad y condición nutricional de cada uno de los niños incluidos en el estudio, pertenecientes a la comunidad Warao María López. .... 19

## LISTA DE FIGURAS

- Figura 1. Ubicación geográfica en el estado Sucre de las comunidades Warao..... 6
- Figura 2. Vista de una vivienda característica a la orilla del río de una familia Warao de la comunidad María López del estado Sucre. .... 12
- Figura 3. Vivienda característica de una familia Warao, en la comunidad de María López del estado Sucre, acompañada de una casa de bloques al lado (almacén). .... 13
- Figura 4. Electroforesis en gel de agarosa (2,5%) de los productos de amplificación por PCR múltiple, de los genes que codifican para las exotoxinas (enterotoxinas SED, SEE, SEG, SEI y la toxina del síndrome de *shock* tóxico TSST-1), y del fragmento 16S ARNr (228 pb), en cepas de *Staphylococcus aureus* aisladas de niños pertenecientes a la comunidad Warao María López.. .... 14
- Figura 5. Electroforesis en gel de agarosa (2,5%) de los productos de amplificación por PCR múltiple, de los genes que codifican para las exotoxinas (SEA, SEB, SEC, SEH y SEJ), y del fragmento 16S ARNr (228 pb), en cepas de *Staphylococcus aureus* aisladas de niños pertenecientes a la comunidad Warao María López... .. 20

## RESUMEN

*Staphylococcus aureus* es un patógeno causante de múltiples afecciones, que en mínimas condiciones sanitarias puede causar serios daños en una comunidad, debido a esto se consideró evaluar la presencia de genes que codifican para exotoxinas pirogénicas y su asociación con características clínico-epidemiológicas en cepas de *S. aureus*, aisladas a partir de hisopados nasales en una población de niños en edades comprendidas de 0 meses a 10 años, de la comunidad Warao María López del municipio Benítez del estado Sucre. Las cepas estudiadas, forman parte del banco de cepas del Laboratorio de Genética Molecular del Instituto de Investigaciones de Biomedicina y Ciencias Aplicadas de la Universidad de Oriente (IIBCA-UDO), fueron reactivadas y se confirmó su clasificación por pruebas bioquímicas. Para ello, se procedió primeramente a reactivar las 21 cepas incluidas en el estudio, utilizando caldo BHI, y seguidamente se les aplicó el esquema de identificación bioquímica estándar para la especie, posteriormente se aisló el ADN genómico utilizando el kit comercial Wizzard Genomic de Promega, seguidamente se realizó la PCR en formato multiplex, mediante la cual se detectó el gen *16S ARNr*, específico para *S. aureus*, y de nueve genes que codifican para las exotoxinas *SE* (*SEA*, *SEB*, *SEC*, *SED*, *SEE*, *SEF*, *SEG*, *SEH*, *SEI*, *SEJ*) y *TSST-1*. Los productos de amplificación se revelaron mediante una electroforesis en gel de agarosa, para la determinación de la prevalencia de los genes evaluados y su asociación con los datos clínico-epidemiológicos de los niños se utilizó el programa EPI Info 2014 (versión 7.0) y la condición nutricional de cada niño evaluado se comparó a partir de los parámetros dictados por la Organización Mundial de la Salud. A partir de la amplificación del gen *ARNr 16S*, se confirmó molecularmente que las 21 cepas estudiadas pertenecen a la especie *S. aureus*, simultáneamente también se constató que las cepas estudiadas no eran portadoras de los genes de enterotoxinas *SE*, ni para la toxina del síndrome de *shock* tóxico (*TSST-1*), además se evidenció también que el 79% de los niños estudiados presentaban desnutrición. A pesar de las condiciones en las que la población estudiada vive, este resultado puede atribuirse posiblemente al aislamiento geográfico, el tipo de alimentación, y/o a la conducta social e individual de relacionarse poco con los individuos foráneos a su comunidad.

Palabras clave: *Staphylococcus aureus*, exotoxina, Warao, niños.

## INTRODUCCIÓN

El género *Staphylococcus* se caracteriza por estar formado por cocos Gram positivos de 0,5  $\mu\text{m}$  de diámetro, inmóviles, aerobios y anaerobios facultativos, agrupados de forma irregular en racimos (Lowy, 2003). Los cocos se asociaron por primera vez a enfermedades humanas, cuando fueron observados por el médico Alexander Ogston en 1880, en materiales purulentos provenientes de abscesos humanos. Este género contiene al menos 30 especies, siendo de gran importancia clínica *Staphylococcus aureus*, *S. epidermidis* y *S. saprophyticus* (Zendejas *et al.*, 2014).

*S. aureus* o estafilococo dorado soporta condiciones ambientales variables, crece a temperaturas desde 6 a 46°C, con el óptimo en 30-37°C, además prolifera en un rango de pH que oscila entre 4,0 a 9,8, siendo el pH 7 el óptimo para su desarrollo. También puede resistir a la desecación y congelación (Fueyo, 2005).

Se considera que la especie *S. aureus* es la más virulenta del género, con una amplia distribución a nivel mundial (Velásquez, 2015). Es causante de múltiples enfermedades hospitalarias y de la comunidad, como foliculitis e intoxicaciones alimentarias, también causa enfermedades de elevada mortalidad, como neumonía, endocarditis y síndrome de shock tóxico, entre otras, las cuales pueden ser resistentes al tratamiento antimicrobiano (Fosch *et al.*, 2012; Cervantes *et al.*, 2014).

La resistencia a los antibióticos prolonga la duración de las enfermedades y aumenta el riesgo de muerte. En este sentido, la Organización Mundial de la Salud (OMS, 2014) reportó, en un comunicado de prensa, que las personas infectadas por cepas de *S. aureus* resistentes a la meticilina tienen una probabilidad mayor a morir que las personas infectadas por cepas no resistentes a meticilina.

Los seres humanos constituyen el reservorio principal de *S. aureus* en la naturaleza; pudiéndose encontrar simultáneamente, como un microorganismo comensal y un potencial patógeno, gracias a sus componentes celulares característicos y la producción de múltiples toxinas (Aguadero, 2014).

El vestíbulo nasal anterior constituye el principal nicho ecológico para *S. aureus* (Figuroa *et al.*, 2002; Chen *et al.*, 2020), sin embargo puede colonizar de igual manera,

las axilas, la ingle y el tracto gastrointestinal (Mermel *et al.*, 2011). Los porcentajes de portadores de patógenos bacterianos varían de un país a otro, y han sido relacionados con antecedentes genéticos y con ciertas condiciones, como por ejemplo el tipo de vivienda que habitan, acceso a centros de salud, hábitos de higiene, la etnia, estación del año, hacinamiento, familias numerosas, entre otras (García y Fresnadillo, 2003; Veron *et al.*, 2012).

*S. aureus* posee diferentes factores de virulencia que promueven la colonización e invasión, ocasionando daños severos al hospedero; además para evadir sus mecanismos de defensa, esta bacteria presenta un gran número de proteínas de superficie como componentes en su pared celular, las cuales participan en la patogénesis. Estas proteínas son clave en el funcionamiento del metabolismo de la pared celular bacteriana, sirviendo también para ligarse a los tejidos del hospedero, facilitando la internalización y la evasión del sistema inmune del mismo (Velásquez, 2005; Velasco, 2014).

De igual modo produce enterotoxinas, caracterizadas por ser moléculas termoestables y resistentes a las enzimas digestivas del huésped, responsables de la intoxicación y cuadros de enterocolitis. Las enterotoxinas estafilocócicas (SE) son producidas por el 30-50% de las cepas de *S. aureus*; se ha informado de al menos nueve tipos antigénicos principales: SEA, SEB, SEC, SED, SEE, SEG, SEH, SEI y SEJ (Venegas *et al.*, 2006). Además de producir también la toxina del *shock* tóxico (TSST-1), denominada enterotoxina F, que está implicada en la patogenia del síndrome del *shock* tóxico (Gencay *et al.*, 2010).

Los dos tipos antes mencionadas de toxinas (enterotoxinas y TSST-1) actúan como superantígenos, lo que significa que pueden ser determinantes importantes de efectos sistémicos como fiebre, hipotensión, lesiones en piel, *shock*, fallo multiorgánico y muerte (Pérez, 2015).

Se estima que para *S. aureus* el índice de portación nasal en los adultos es de alrededor del 20-30%, donde cerca del 30% de la población puede ser portador permanente, el 50% portador intermitente y el 20% no es colonizado. Esto dado tanto por factores estacionales, como epidemiológicos locales. Algunas poblaciones pueden tener una tasa de colonización mayor como lo es el personal de salud, los pacientes en

hemodiálisis, diabéticos, entre otros. Y es posible que un mismo hospedador tenga más de una cepa (Velasco *et al.*, 2013).

La edad y la raza son factores epidemiológicos que juegan un papel principal en la colonización; la población infantil tiene alta tendencia a estar colonizada por *S. aureus*, sobre todo de niños pequeños (Anwar *et al.*, 2004; Gorwitz *et al.*, 2008; Hamdan *et al.*, 2010), quienes lo adquieren generalmente en sus primeros días de vida (Maayan *et al.*, 2017; Tsai *et al.*, 2017), relacionándose también esto por la presencia de infecciones virales, comúnmente presentándose en la mucosa nasofaríngea (Fritz *et al.*, 2008).

En Venezuela, el Ministerio del Poder Popular para la Salud (MPPS), reporta, en el anuario de mortalidad, que para el año 2014 un 0,02% de las muertes fueron provocadas por septicemias producidas por *Staphylococcus* (MPPS, 2018).

En nuestro país existen varias comunidades indígenas, una de ellas es la etnia Warao, que se caracteriza por ser una cultura de pescadores y recolectores, quienes desde hace unos 70 años se han convertidos en horticultores, cuyas comunidades palafíticas y sus actividades de subsistencia se ubican tradicionalmente en las zonas de riberas fluvio-marítimas y humedales (pantanos, manglares, bosque inundable deltaico) (García, 2000).

Según el censo realizado por el Instituto Nacional de Estadística (INE) en el año 2011 a las poblaciones indígenas venezolanas, el pueblo Warao contaba con 48 771 individuos (Amodio *et al.*, 2006). Esta etnia se encuentra habitando desde hace siglos en los caños del estado Delta Amacuro y sus adyacencias, así como en algunas partes de los estados Monagas, Sucre y Bolívar.

Los Warao han producido un complejo sistema de creencias fuertemente relacionadas con el agua del río y el ambiente deltaico. Fundamentalmente, están convencidos de la existencia de dos fuerzas espirituales (Hebú), relacionadas con el viento y el agua, que pueden ser benignas o malignas, y que son controladas por varias figuras chamánicas. Debido a que las enfermedades son producidas en gran parte por los Hebú, son estos chamanes, según la especialidad de cada uno, quienes asumen la función curativa (Amodio *et al.*, 2006).

Actualmente, las afecciones más frecuentes en la salud de esta población, son la

tuberculosis, síndromes diarreicos, infecciones parasitarias, infecciones de la piel y diferentes cuadros virales. Estas enfermedades son curadas generalmente con su medicina tradicional por el Wisiratu, aunque los Warao reconocen el valor de la medicina occidental, a la que tienen acceso a través de operativos de salud y de escasos centros asistenciales que funcionan en algunas de sus comunidades (Amodio *et al.*, 2006).

En Venezuela, las investigaciones dirigidas a la determinación de posibles agentes bacterianos productores de infecciones a nivel nacional, se han realizado generalmente en poblaciones escolares, trabajadores del área de salud, guarderías, entre otros (Guzmán y Lozada, 2007; Castellano *et al.*, 2009; Sandra *et al.*, 2012), han sido muy pocos los dirigidos a las comunidades indígenas venezolanas, sobre todo en el pueblo Warao; el cual representa el segundo grupo indígena más numeroso del país (INE, 2011).

Entre las investigaciones relacionadas a patógenos bacterianos en comunidades Warao resalta la de Rivera *et al.* (2007), quienes estudiaron el transporte de patógenos bacterianos y demostraron, en un análisis de etiquetado final del fragmento de restricción, que circulaban 65 genotipos diferentes en la población Warao estudiada, con 125 (80%) de los aislamientos pertenecientes a 27 grupos genéticos diferentes, sugiriendo que para ese tiempo existía un alto grado de diseminación horizontal de cepas neumocócicas en y entre las comunidades estudiadas.

Adicionalmente, en una población de niños Warao de la comunidad María López, Antón *et al.* (2011), detectaron bacterias a nivel nasofaríngeo, y la bacteria patógena aislada del tracto respiratorio superior con mayor frecuencia fue *Streptococcus pneumoniae*, en el grupo de 0 a 5 años de edad. Verhagen *et al.* (2017), estudiaron la relación significativa del transporte de patógenos nasofaríngeos y el retraso del crecimiento en niños Waraos. Las tasas de transporte de *S. pneumoniae*, *S. aureus*, *Haemophilus influenzae* y *Moraxella catarrhalis* fueron 51, 7, 1 y 13%, respectivamente, además demostraron que el aumento de la prevalencia del transporte de *S. pneumoniae* en niños menores de 5 años se asocia independientemente con un mal estado nutricional crónico.

*S. aureus* es un potencial patógeno y, sumado a las condiciones ambientales y socio-culturales en las que se vive la población estudiada, se consideró de gran importancia el estudio de las cepas de *S. aureus* que portaban la población de niños del pueblo Warao, porque la presencia de este tipo de cepas productoras de exotoxinas representan una amenaza a la salud pública, pudiendo desencadenar brotes de infecciones a futuro, diseminándose con facilidad, logrando afectar letalmente a estas poblaciones. Por tal motivo, se planteó evaluar la presencia de genes que codifican para exotoxinas pirogénicas y su asociación con características clínico-epidemiológicas en cepas de *S. aureus*, aisladas de niños pertenecientes a la comunidad Warao María López del estado Sucre.

# METODOLOGÍA

## Ubicación geográfica de la población estudiada

La comunidad se encuentra ubicada las adyacencias del pueblo de Guariquén en el municipio Benítez, al sureste del estado sucre (Figura 1).



Figura 1. Ubicación geográfica en el estado Sucre de las comunidades Warao. 1: San Antonio; 2: María López; 3: Vainillar; 4: Los Barrancos. Fuente: [www.a-venezuela.com](http://www.a-venezuela.com).

## Reactivación de cepas

Se procesaron 21 cepas de *S. aureus*, aisladas a partir de hisopados nasales en 19 niños de 0 a 10 años, pertenecientes a la comunidad Warao María López, del estado Sucre, las cuales fueron previamente identificadas bioquímicamente (Hoyos, 2017), quien evaluó una población total de 63 niños (35 varones y 28 hembras) que no mostraban síntomas aparentes de algún cuadro infeccioso, es decir, eran niños sanos, estas cepas formaban parte del banco de cepas del Laboratorio de Genética Molecular del Instituto de Investigaciones de Biomedicina y Ciencias Aplicadas de la Universidad de Oriente (IIBCA-UDO). Cada cepa contiene una hoja informativa con las características clínico-epidemiológicas de los niños incluidos en la investigación (Anexo 1).

Las cepas de *S. aureus* se encontraban almacenadas en viales con agar conservación y refrigeradas en una temperatura de 4°C en una nevera. Para su reactivación se procedió a tomar una alícuota de cada cepa, se sembraron en caldo infusión cerebro corazón (BHI) y se incubó durante 12 horas a una temperatura de 37°C. Realizado este paso se procedió a confirmar la pureza e identificación bacteriana.

### **Diseño experimental**

En el presente estudio clínico-epidemiológico se siguió un diseño experimental de corte transversal, porque se midió la prevalencia de una exposición y el resultado en una población definida y en un punto específico de tiempo.

### **Tiempo de estudio**

Para el procesamiento de las muestras, se estableció un período de seis meses, comprendidos entre enero y julio de 2019.

### **Confirmación de la identificación bacteriana**

Para la identificación fenotípica de las cepas, se realizaron sub-cultivos de éstas en caldo Infusión Cerebro Corazón (BHI), a partir de los cuales se aplicó el esquema de identificación bioquímica estándar para la especie, según Winn *et al.* (2008).

### **Producción de la enzima coagulasa**

Se mezclaron 0,5 mL del inóculo de las cepas en estudio, en tubos con 0,5 mL de plasma de conejo con el ácido etildiaminotetraacético (EDTA) y se incubaron a 37°C en baño de María, durante 4 horas.

Para la lectura de la prueba se observaron los tubos, con el fin de verificar la formación de coágulo, en un intervalo de cada hora hasta las 4 horas, posteriormente, se inspeccionaron a las 24 horas (temperatura ambiente, por debajo de 30°C), en los casos

donde no hubo formación de coágulo. Resultado positivo: formación de coágulo, resultado negativo: no hubo formación de coágulo.

#### Fermentación del manitol

Para el ensayo se utilizó el medio de cultivo Manitol Salado (Merck). Se procedió a realizar la siembra de cada una de las cepas aisladas en la superficie de las placas de Petri con el medio de cultivo. Se incubaron a 37°C en aerobiosis por 24 horas, y se tomaron como resultado positivo la presencia de las colonias amarillas en un medio que se tornó amarillo, por la fermentación del manitol en presencia de cloruro de sodio al 7,5%, y como resultado negativo si el medio de tornaba de color rojizo y crecían colonias de color rosado.

#### Producción de la enzima ADNasa

Se sembraron por estría las cepas en estudio en el agar DNasa BRITANIA, el cual es un medio que contiene, entre otros compuestos, ácido desoxirribonucleico (ADN). Se incubaron por 24 horas a 35°C, luego se acidificó el medio con unas gotas de ácido clorhídrico (HCl) un  $\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$ , con lo cual se logró precipitar el ADN, opalesciendo el medio alrededor de la colonia; si alrededor de la colonia se formó un halo transparente, se consideró positiva la prueba; si por el contrario se observó un halo opaco, la prueba se consideró negativa.

Una vez confirmada la identificación bioquímica de las 21 cepas de *S. aureus*, se procedió a la extracción del ADN de las mismas.

#### **Extracción de ácido desoxirribonucleico**

Se utilizó el kit comercial Wizard Genomic de Promega, cumpliendo con el protocolo del fabricante. Para ello se suspendieron de 2 a 3 colonias provenientes de la placa de agar manitol salado y se colocaron en 1 000  $\mu\text{L}$  de caldo Luria-Bertani (LB), para incubarlas a 37°C durante 12 horas, en aerobiosis. Luego de cumplir con este paso, se procedió a centrifugar los tubos a 3 500 g por 5 minutos, y a eliminar el sobrenadante

hasta que se obtuvo una solución libre de caldo, y seguidamente se tomó el precipitado cuidadosamente con una micropipeta, para colocarlo en un tubo eppendorff de 1,5 mL que contenía 600  $\mu$ L de solución lisante de núcleos, que se mezclaron suavemente por inversión de 5 a 6 veces.

Después de esto, se incubó a 80°C por 5 minutos y dejó que se enfriar a temperatura ambiente durante 5 minutos. Posteriormente, se le añadió 200  $\mu$ L de solución precipitante de proteínas, y se mezcló en un vórtex por 20 segundos, e inmediatamente se incubó con hielo por 5 minutos. Se centrifugó a 14 000 g por 20 minutos a una temperatura de 4°C, y pasó a transferirse cuidadosamente el sobrenadante a un tubo eppendorff de 1,5 mL limpio que contenía 600  $\mu$ L de isopropanol, y se mezcló la suspensión lentamente.

Consecutivamente, se centrifugó a 14 000 g por 15 minutos a 4°C. Se decantó el isopropanol y se le agregó 600  $\mu$ L de etanol al 70% a cada tubo y se mezcló suavemente. Luego, se centrifugó a 14 000 g por 3 minutos a 4°C y posteriormente se decantó el etanol. Se dejó secar a 37°C, sin excederse en el secado. Se rehidrató con 50  $\mu$ L de agua destilada. Finalmente, se guardó en un refrigerador a -20°C hasta su verificación mediante una electroforesis.

### **Detección de nueve genes que codifican para las exotoxinas *SE* y *TSST-1* por reacción en cadena de la polimerasa (PCR) múltiple**

La detección de los genes que codifican para las exotoxinas evaluadas, se efectuó por PCR, en formato múltiple. Todas las PCR se realizaron utilizando como base de la reacción el producto comercial GoTaq DNA Polymerase (PROMEGA®), que contenía buffer 5X Green (1X), MgCl<sub>2</sub> 25 mM (1,50 mM/ $\mu$ L), 5 U de GoTaq DNA polimerasa. Se trabajó con un volumen de reacción final de 20  $\mu$ L, en el cual la concentración de cada dinucleótido es de 200  $\mu$ mol/L en 10  $\mu$ mol/L de buffer Tris-HCl, pH 9,0 a temperatura ambiente, 400 mol/L de cada oligonucleótido, y se utilizó 1  $\mu$ L de ADN genómico total. Los iniciadores específicos utilizados se presentan en la Tabla 1. Como control positivo para todas las reacciones se amplificó ADN de la cepa certificada de *S.*

*aureus* ATCC (American Type Culture Collection) 25923. Además, todas las muestras fueron probadas para la presencia del gen *16S ARNr*, por lo que se amplificó un fragmento de 228 pares de bases (pb), con el fin de interpretar correctamente los resultados de los aislados (Monday y Bohach, 1999; Lovseth *et al.*, 2004).

Todas las amplificaciones se realizaron en un termociclador de Applied Biosystems, modelo Gene Amp. PCR System 9 700. Las condiciones de amplificación utilizadas son las siguientes: un paso de incubación inicial a 95°C por 10 minutos, 15 ciclos (95°C/1 minuto, 68°C/45 segundos y 72°C por 1 minuto), seguidos de 20 ciclos (95°C/1 minuto, 64°C/45 segundos y 72°C por 1 minuto) y una extensión final a 72°C por 10 minutos.

### **Electroforesis**

Para visualizar los productos de reacción, éstos fueron sometidos a electroforesis en agarosa al 2,5%, con 10 µL de bromuro de etidio/100 mL de agar, y posterior iluminación con luz ultravioleta. Las muestras amplificadas se corrieron con un marcador de masa molecular de 100 pb (100 pb DNA Ladder, Invitrogen) y el buffer 10X bluejuice™ gel loadin buffer (Invitrogen) para verificar el tamaño de las bandas obtenidas. Cada corrida electroforética se fotografió para tener un registro de los resultados.

### **Análisis de datos**

Se utilizó el programa EPI Info 2014, versión 7.0, para el análisis estadístico descriptivo de los resultados (la determinación de la prevalencia de los genes evaluados y su asociación con los datos clínico-epidemiológicos de los niños). La condición nutricional de cada niño evaluado se comparó a partir de los parámetros dictados por la Organización Mundial de la Salud (OMS, 2020).

Tabla 1. Listado de cebadores usados en la PCR múltiplex para evaluar exotoxinas pirogénicas en cepas de *Staphylococcus aureus*, aisladas de niños pertenecientes a la comunidad Warao María López del estado Sucre.

Cebador	Secuencia del cebador (5'-3')	Peso del amplicón (pb)	Referencia
<i>sea</i> forw.	GCA GGG AAC AGC TTT AGG C	521	Monday y Bohach (1999)
<i>sea</i> rev.	GTT CTG TAG AAG TAT GAA ACA CG		
<i>seb-sec</i> forw.	ACA TGT AAT TTT GAT ATT CGC ACT G	667	Lovseth <i>et al.</i> (2004)
<i>seb</i> rev	TGC AGG CAT CAT GTC ATA CCA CTT GTA TGT ATG GAG GAA TAA CAA		
<i>sec</i> forw.	TGC AGG CAT CAT ATC ATA CCA	284	Monday y Bohach (1999)
<i>sec</i> rev.	GTG GTG AAA TAG ATA GGA CTG C		
<i>sed</i> forw.	ATA TGA AGG TGC TCT GTG G	385	Monday y Bohach (1999)
<i>sed</i> rev.	TAC CAA TTA ACT TGT GGA TAG AC		
<i>see</i> forw.	CTC TTT GCA CCT TAC CGC	171	Monday y Bohach (1999)
<i>see</i> rev.	CGT CTC CAC CTG TTG AAG G		
<i>seg</i> forw.	CCA AGT GAT TGT CTA TTG TCG	328	Monday y Bohach (1999)
<i>seg</i> rev.	CAA CTG CTG ATT TAG CTC AG		
<i>seh</i> forw.	GTC GAA TGA GTA ATC TCT AGG	359	Monday y Bohach (1999)
<i>seh</i> rev.	CAA CTC GAA TTT TCA ACA GGT ACC		
<i>sei</i> forw.	CAG GCA GTC CAT CTC CTG	466	Lovseth <i>et al.</i> (2004)
<i>sei</i> rev.	CAT CAG AAC TGT TGT TCC GCT AG		
<i>sej</i> forw.	CTG AAT TTT ACC ATC AAA GGT AC	142	Monday y Bohach (1999)
<i>sej</i> rev.	GCT TGC GAC AAC TGC TAC AG		
<i>tsst</i> forw.	TGG ATC CGT CAT TCA TTG TTA T	559	Lovseth <i>et al.</i> (2004)
<i>tss</i> rev.	GTA GGT GGC AAG CGT TAT CC		
<i>16S rRNA</i> forw.	CGC ACA TCA GCG TCA G	228	Monday y Bohach (1999)
<i>16S rRNA</i> rev.			

*forw.*, forward; *rev.*, reverse.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La comunidad de María López se encuentra ubicada en las adyacencias del pueblo de Guariquén, municipio Benítez, al sureste del estado Sucre. Es una comunidad de difícil acceso porque se ubica en una zona alta (cerro), que se caracteriza por estar constituida por individuos pertenecientes al pueblo Warao, siendo este un pueblo indígena que construye sus asentamientos de manera característica, cerca de una fuente de agua, en el caso comunidad evaluada, viven en las cercanías de las orillas de río Guariquén, de los caños del estado Sucre (Figura 1).



Figura 2. Vista de una vivienda característica a la orilla del río de una familia Warao de la comunidad María López del estado Sucre.

Estas viviendas están construidas generalmente con techos de la madera extraída de los manglares y hojas de palmeras, sin paredes, con espacios reducidos y carentes de

servicios públicos, a excepción de la electricidad (Figuras 2 y 3). Lo común es que estas viviendas están habitadas por al menos 10 integrantes familiares; es decir, que a pesar de que viven en espacios abiertos, existe una especie de hacinamiento, porque a la hora de dormir, todos los integrantes familiares comparten hamaca con al menos 3 ó 4 personas.



Figura 3. Vivienda característica de una familia Warao, en la comunidad de María López del estado Sucre, acompañada de una casa de bloques al lado (almacén).

Cabe mencionar que mediante los programas de vivienda ejecutados por dependencias gubernamentales venezolanas, a los habitantes de María López se les construyeron casas tradicionales (Figura 3), pero esta comunidad no se habituó a vivir en ellas, sino que las utilizan como especie de almacén de animales y productos de sus siembras, esto se puede asociar con su cultura, lo que los mantiene sumergidos viviendo en condiciones antes mencionadas.

La comunidad no cuenta con suministro de agua potable, por lo que el agua de consumo humano es tomada de las orillas del río Guariquén. Asimismo, tampoco cuentan con sistemas de aguas servidas, y sus necesidades fisiológicas son realizadas en los alrededores de sus asentamientos, lo que puede resultar en contaminación de agua y alimentos, entre otros, y desencadenar graves problemas de salud a los integrantes de dicha comunidad.

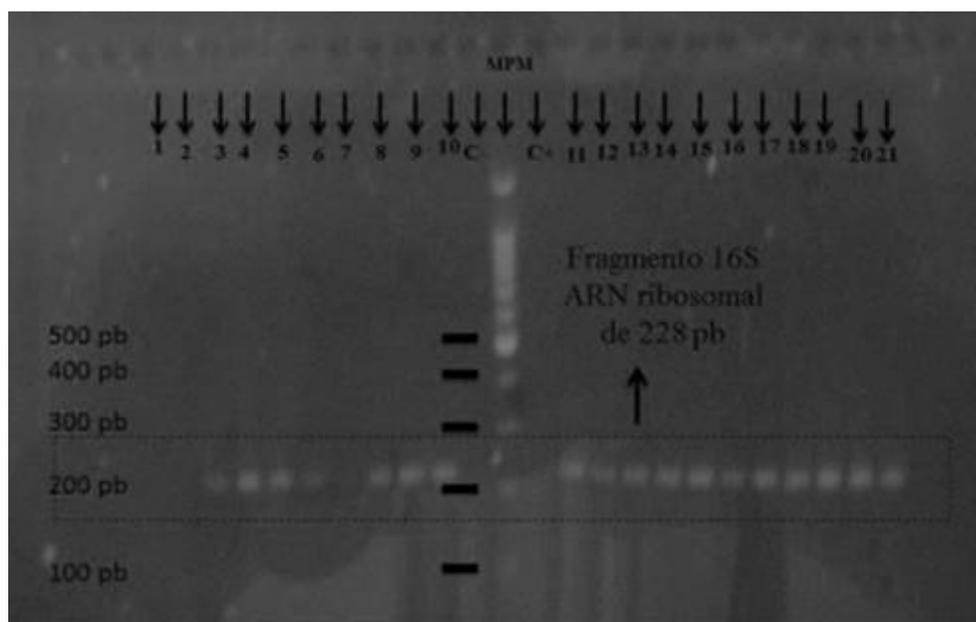


Figura 4. Electroforesis en gel de agarosa (2,5%) de los productos de amplificación por PCR múltiple, de los genes que codifican para las exotoxinas (enterotoxinas SED, SEE, SEG, SEI y la toxina del síndrome de *shock* tóxico TSST-1), y del fragmento 16S ARNr (228 pb), en cepas de *Staphylococcus aureus* aisladas de niños pertenecientes a la comunidad Warao María López. Del 1 al 10: muestras. MPM: Marcador de Peso Molecular. C-: control negativo. C+: control positivo, cepa ATCC 25923. Del 11 al 21: muestras.

La población de niños incluida en el presente estudio está conformada por 19 niños, a quienes se les aisló *S. aureus*, de al menos una fosa nasal, a excepción de dos niñas, a quienes se les aisló la especie bacteriana en ambas narinas. La PCR aplicada permitió confirmar, a nivel molecular, que las 21 cepas aisladas a partir de los niños Waraos, pertenecían a la especie *S. aureus*, dado que en todas hubo amplificación del gen *16S ARNr*, específico para dicha especie. En la Figura 4 se presentan los resultados

de la electroforesis realizada a los productos de amplificación, en la cual se muestra la presencia de un fragmento de peso molecular compatible con el amplicón esperado (228 pb) para el gen ribosomal.

El ADN ribosomal ARNr 16S, es un polirribonucleótido codificado por el gen *rrs* incluido en la subunidad 30S del ribosoma bacteriano. De distribución universal y componente crítico en la función celular, el gen *ARNr 16S* actúa como un cronómetro molecular al presentar un alto grado de conservación, razón por la cual se valida su utilización para la identificación bacteriana o la asignación de género y especie (Bou *et al.*, 2011).

En el presente estudio los resultados de la identificación bioquímicas de las cepas bacterianas y su identificación génica fueron idénticos, a diferencia de lo expresado previamente por Bou *et al.* (2011), quienes sostienen que los métodos moleculares solventan los problemas innatos presentados por los métodos de identificación fenotípica, ya que todas las cepas de una misma especie pueden o no mostrar una característica específica, implicando en que una misma cepa puede generar diferentes resultados en ensayos repetidos.

La identificación de *S. aureus* en los hisopados nasales de los niños Warao estudiados es consistente con las características epidemiológicas del mismo, dado que esta especie bacteriana patógena puede colonizar de manera asintomática las narinas anteriores de los humanos y animales, así como causar diferentes grados de infecciones en individuos susceptibles (Mehray *et al.*, 2016). En este sentido, Maayan *et al.* (2017) estudiaron una población de niños recién nacidos, y encontraron que el 15,4% de ellos (279 población total), adquirieron *S. aureus* en los primeros días de vida, siendo la nariz (56%) y el recto (40%) los lugares más frecuentes en la colonización por esta bacteria; concluyendo que el transporte materno fue el principal predictor del transporte neonatal.

La colonización por *S. aureus* es catalogada como un factor de riesgo de enfermedad masiva, así lo evidencia un estudio centrado en investigar su transmisión entre madres y recién nacidos durante el primer año después del parto, en un entorno africano, el cual mostró que las tasas de colonización materna e infantil disminuyen sincrónicamente durante el primer mes, en un 40% las madres y un 42% los niños, lo

que categoriza la colonización materna como un factor de alarma para el transporte de *S. aureus* en lactantes (Schaumburg *et al.*, 2014). Esta condición cobra mayor importancia al considerar reportes como el de Wertheim *et al.* (2005), quienes evidenciaron que los portadores nasales de *S. aureus* podrían estar más predispuestos a sufrir una infección por este patógeno, y describen que los determinantes del estado portador se entienden de manera incompleta, ya que la erradicación de *S. aureus* de los portadores nasales no previene infecciones futuras.

En investigaciones sobre patógenos bacterianos de las vías respiratorias, realizadas en niños de pueblos indígenas australianos, O'Grady y Chang (2010) encontraron que la tasa de infección respiratoria baja en ellos fue tan alta como la de los niños en los países en desarrollo; sin embargo la frecuencia de hospitalizaciones de lactantes indígenas es el triple que la de los lactantes australianos no indígenas, y tienen una tasa de mortalidad 10 veces mayor por afecciones respiratorias (Watson *et al.*, 2006; Foote *et al.*, 2015).

Similarmente, en poblaciones indígenas de los Estados Unidos de América se reportó que la tasa de hospitalización, asociada a infección respiratoria inferior, para niños indígenas menores de 5 años es 1,6 veces más alta que la tasa general de niños en ese país (Singleton *et al.*, 2012). Asimismo, en Venezuela, Verhagen *et al.* (2012) estudiaron una población de 487 niños Warao, donde el 47% presentó una infección respiratoria alta de origen bacteriano.

En cuanto a la frecuencia de colonización de *S. aureus* en poblaciones indígenas, Blanco *et al.* (2018), examinaron 141 personas del pueblo indígena Toba Qom, en Paraguay, y encontraron que 22 de ellas estaban colonizadas por *S. aureus*, con una prevalencia del 15,6%. Abraão (2017) en poblaciones indígenas del sureste y norte de Brasil encontraron prevalencia de colonización por *S. aureus* de 47,6%, totalizando 190 aislamientos con una prevalencia de portadores nasales 31,8%. Asimismo, en el mencionado país, Odorozzi *et al.* (2018) estudiaron 122 individuos de la población indígena de la etnia Xerente de Tocantínia, reportando la presencia de portadores nasales asintomáticos de *S. aureus*, con una prevalencia del 12,3%. Mientras que en Colombia, Ricardo *et al.* (2015), al evaluar 150 niños, obtuvieron que el 20,7% estaba colonizado

por *S. aureus* en sus fosas nasales, siendo este valor uno de los más altos reportados para la población infantil de la región Caribe Colombiana.

En Venezuela resalta la investigación de Antón *et al.* (2011), en una población de niños Warao de la comunidad de María López del estado Sucre, quienes reportan que el 75,5% de los niños evaluados portaban algún patógeno bacteriano a nivel nasofaríngeo, siendo el 14,3% de éstos portadores de *S. aureus*; hallazgos que asociaron a un sistema inmunológico poco desarrollado y a la existencia de alteraciones fisiológicas y anatómicas en el tracto respiratorio superior, sumándole también las condiciones en las que viven los habitantes de este pueblo indígena.

En el presente estudio se evidencia de la población de niños estudiados eran 53% varones y 47% eran hembras (Tabla 2), lo que permite inferir que en dicha población el sexo no fue un factor determinante para la colonización nasofaríngea de *S. aureus*, resultado que sustenta lo reportado por Abraão (2017) y Chen *et al.* (2020) pero discrepa de lo antes mencionado y publicado por Castro *et al.* (2010), Cataldo *et al.* (2014) y Ricardo *et al.* (2015), quienes encontraron en sus trabajos que el mayor porcentaje de colonización por *S. aureus* fue en niñas.

Los resultados presentados en este trabajo, así como las referencias anteriormente mencionadas son consistentes con otros trabajos, según los cuales el transporte de *S. aureus* varía entre la ubicación geográfica, la edad, el sexo, la etnia y el nicho corporal del individuo, por lo tanto su establecimiento exitoso depende de múltiples factores, influyendo los factores estructurales del huésped y el ambiente modificable (Sollid *et al.*, 2014; Navne *et al.*, 2016).

Tabla 2. Distribución porcentual de los niños y niñas incluidos en el estudio, según el sexo, pertenecientes a la comunidad Warao María López, del estado Sucre.

Sexo	N° de pacientes	Porcentaje (%)
Masculino	10	53
Femenino	9	47
Total	19	100

La Tabla 3 presenta los datos concernientes a la edad y condición nutricional

(talla/peso) de los 19 niños incluidos en este estudio; es importante acotar que, según la talla y el peso (OMS, 2020), el 79% de los mismos presentaba estado de desnutrición, mientras que el 21% restante se encontró dentro de la norma para su edad.

En la Tabla 3 se destaca que no hubo un predominio de grupo o edad particular en los 19 niños positivos para la colonización nasal por *S. aureus*, siendo por tanto de distribución homogénea en el grupo de estudio. Los Resultados concuerdan con lo reportado por Abraão (2017) quien en su estudio en poblaciones indígenas encontró que no hubo predominio colonización de *S. aureus* en algún grupo etario en particular, sin embargo, no dejó de señalar que aunque en su investigación el factor edad mostró un resultado marginalmente significativo, se sabe que la colonización por *S. aureus* se presenta con mayor frecuencia en individuos jóvenes.

De acuerdo con investigaciones realizadas al respecto, no se ha definido si la edad podría ser es un factor determinante en la portación de patógenos bacterianos, como lo señalan los reportes de Cataldo *et al.* (2014), quienes en un estudio donde incluyeron niños no indígenas de Paraguay, hallaron que el 25,9% de los portadores de *S. aureus* eran menores de 5 años; y de Antón *et al.* (2011), quienes en la misma población Warao donde se desarrolló la presente investigación, hallaron la mayor frecuencia de niños colonizados por *S. aureus* en los mayores de 6 años de edad. Otro estudio realizado también en niños Waraos venezolanos por Verhagen *et al.* (2017), con un rango de edad de 0 a 10 años, mostró que la distribución del estado portador de *S. aureus*, según el grupo de edad fue de 11,9% en el grupo de edad de 6-10 años, 7,3% en el de 3-5 años y 3,9% en el de 0-2.

Otro factor evaluado en la presente investigación fue la condición nutricional de los niños, encontrándose que un elevado porcentaje niños presentaban estado de desnutrición, un factor que favoreció la colonización a nivel nasofaríngeo de *S. aureus* en la población estudiada, según Lagare *et al.* (2019) y Verhagen *et al.* (2013) la desnutrición es un factor que beneficia la colonización de patógenos bacterianos.

Verhagen *et al.* (2017) describen que las altas tasas de transporte de patógenos bacterianos a nivel respiratorio se asociaron significativamente con un estado nutricional deficiente y sugieren que se realicen estudios longitudinales que determinen si la

desnutrición es un factor de riesgo para el transporte, o si el transporte afecta el crecimiento, resultados provenientes de una población de niños pequeños pertenecientes al pueblo Warao. Además, señalan que la desnutrición crónica puede afectar directamente la colonización de patógenos causantes de enfermedades microbianas.

Tabla 3. Edad y condición nutricional de cada uno de los niños incluidos en el estudio, pertenecientes a la comunidad Warao María López.

Identificación	Edad	Talla (cm)	Masa corporal (kg)
1A	6 Meses	66	9,00
2B	10 Años	116	20,20
4A	5 Meses	60	7,40
6A	4 Años	106	17,4 0
7B	10 Años	130	28,60
10A	10 Años	121	28,70
12B	9 Años	113	21,10
13A Y B	3 Años	86	12,10
14A	2 Años	82	11,00
15A	3 Años	88	14,30
23A	3 Años	87	11,00
26A	1 Año	70	7,60
32A	2 Años	79	10,40
37B	4 Años	93	13,50
44B	6 Años	98	15,90
49A	6 Años	103	15,90
53A	5 Años	101	15,10
60A Y B	10 Años	154	44,70
63A	4 Años	104	16,50

cm: centímetros; kg: Kilogramos.

Debido a que los niños Warao incluidos en la presente investigación viven en comunidades geográficas relativamente aisladas y a menudo en extrema pobreza, están sometidos a condiciones ambientales y sanitarias que afectan su estado de salud integral, tal como ha sido descrito previamente, ya que la falta de agua potable limpia, alimentos

e instalaciones sanitarias hace que estas poblaciones sean vulnerables particularmente a la desnutrición y las enfermedades, lo que resulta en altas tasas de prevalencia de infecciones de diversos tipos, incluyendo las respiratorias (Hennessy *et al.*, 2008; Gracey y King, 2009).

Gómez *et al.* (2018) en su trabajo realizado en el pueblo Guaraní, señalan que la disparidad entre la salud de los pueblos indígenas y no indígenas es clara, y lo asocian a las condiciones socioeconómicas deficientes, la alta carga de enfermedades infecciosas, las limitaciones en la continuidad de sus medios tradicionales de subsistencia, además de factores como la dificultad de la familia con respecto a la atención domiciliaria y el lenguaje.

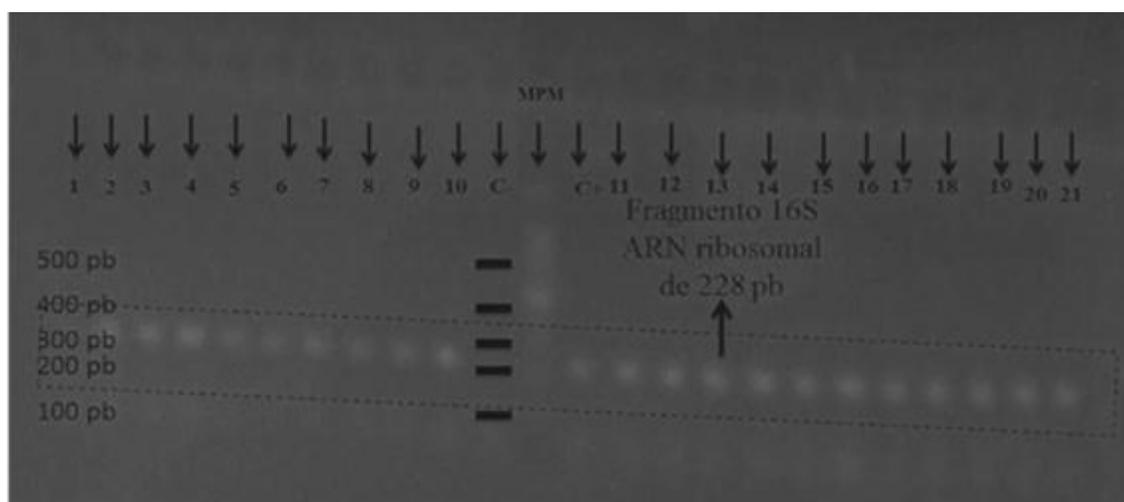


Figura 5. Electroforesis en gel de agarosa (2,5%) de los productos de amplificación por PCR múltiple, de los genes que codifican para las exotoxinas (SEA, SEB, SEC, SEH y SEJ), y del fragmento 16S ARNr (228 pb), en cepas de *Staphylococcus aureus* aisladas de niños pertenecientes a la comunidad Warao María López. Del 1 al 10: muestras. MPM: Marcador de Peso Molecular. C-: control negativo. C+: control positivo, cepa ATCC 25923. Del 11 al 21: muestras.

La técnica de PCR en formato múltiple utilizada en este estudio permitió confirmar la presencia de *S. aureus* en las 21 cepas estudiadas, así como la ausencia, en dichas cepas, de los genes que codifican para exotoxinas pirogénicas (enterotoxinas: SEA, SEB, SEC, SED, SEE, SEF, SEG, SEH, SEI, SEJ) y para la toxina del síndrome

de *shock* tóxico (Figuras 4 y 5; Tabla 1).

*S. aureus* es un microorganismo de frecuencia habitual en los seres humanos que puede encontrarse actuando simultáneamente, ya sea como un microorganismo comensal o como un potencial patógeno, gracias a su capacidad de producción de múltiples toxinas (Aguadero, 2014).

Las cepas de *S. aureus* portadoras de genes enterotóxicos (*S. aureus* enterotoxigénicos) son aisladas frecuentemente de alimentos, y es el responsable habitual de intoxicaciones alimentarias (Leke *et al.*, 2017). De acuerdo con Figueroa *et al.* (2002), sólo algunas cepas de *S. aureus* son productoras de exotoxinas causantes de intoxicaciones alimentarias, siendo algunas de estas toxinas sintetizadas por la bacteria en ciertas fases del crecimiento bacteriano (Márta *et al.*, 2010). Los alimentos más propensos a la contaminación por *S. aureus* enterotoxigénicos son los crudos o algunos cocidos de origen animal que requieren de mayor manipulación directa para su preparación. Entre estos alimentos se encuentran la leche (Shanehbandi *et al.*, 2014), el queso (Acuña, 2015; Pérez, 2015; Kassaye, 2016) y derivados del ganado (Kwon *et al.*, 2002), fuentes frecuentes de enterotoxinas pirogénicas. Adicionalmente, *S. aureus* enterotoxigénico puede hallarse en aguas, superficies, animales y personas infectadas, pudiendo transferirse a personas sanas a través de la ingesta, contacto o manipulación y/o mediante prácticas relacionadas con los hábitos higiénicos y culturales de cada persona o región particular (Villaseñor *et al.*, 2012; Zendejas *et al.*, 2014).

La comunidad Warao María López en estudio vive bajo una serie de condiciones precarias (falta de suministro de agua potable, mala disposición de la basura, hacinamiento, baja frecuencia de higiene personal y saneamiento ambiental), factores que inducen la proliferación de vehículos de infección tales como moscas, roedores, etc., considerados como los principales transmisores de patógenos, entonces, la presencia de *S. aureus* enterotoxigénico entre sus habitantes era algo esperado, pero no ocurrió, ya que ninguna de las cepas de *S. aureus* provenientes de los hisopados nasales de los niños evaluados, mostró presencia de genes codificantes de exotoxinas pirogénicas. En relación a esto, Zendejas *et al.* (2014) hacen referencia a que *S. aureus* enterotoxigénico es relativamente común en determinados sectores de la población y en algunas regiones

geográficas desfavorecidas por la falta de sistemas de salud y de control adecuados de infecciones, ocasionadas por la ingesta de alimentos contaminados con microorganismos presentes en el aire, la leche, el agua potable, las aguas residuales y los equipos donde han sido elaborados los alimentos (Alejo *et al.*, 2011).

Los datos revelados en la presente investigación contrastan con lo que expresa Abraão (2017) quién aisló *S. aureus* enterotoxigénico en poblaciones indígenas del sureste y del norte en Brasil, con una prevalencia 9,4; 14,1; 19,9 y 6,5% para los genes *sea*, *seb*, *sec* y *tsst-1*, respectivamente, en un total de 190 muestras. Los resultados epidemiológicos le permitió inferir que el factor etnia, está relacionado con prevalencia de *S. aureus* en poblaciones especiales y que, asociado a hábitos y costumbres peculiares, precarias condiciones de vivienda, higiene y el saneamiento, pudieron influir en el transporte y la difusión de *S. aureus* en las poblaciones estudiadas.

Es posible que la ausencia de genes codificantes de exotoxinas en las muestras de *S. aureus* evaluadas en el presente estudio, se pueda atribuir a factores tales como el aislamiento geográfico y el comportamiento social. Con relación al primero, algunos autores han referido que la prevalencia del transporte bacteriano puede variar según las condiciones geográficas (Chen *et al.*, 2020) en el sentido de que, mientras más alejadas estén las poblaciones o comunidades entre sí, menor es la probabilidad de transferencia o intercambio de microorganismos patógenos entre ellas. *S. aureus* como ya se mencionó anteriormente es un microorganismo de frecuencia habitual en los humanos (Figuroa *et al.*, 2002; Chen *et al.*, 2020); no obstante, algunas cepas portadoras de toxinas causantes de diversas afecciones pueden ocasionalmente entrar en una población o ser adquiridas por sus habitantes a través del contacto con portadores infectados provenientes de zonas urbanas (Rodríguez *et al.*, 2018). En referencia a lo mencionado anteriormente, Villaseñor *et al.* (2012) exponen que la frecuencia de portadores nasales de *S. aureus* tiende a ser más alta en zonas urbanas con respecto a la de las zonas rurales. De igual forma, Rasmussen *et al.* (2011) refirieron que los brotes infecciosos surgen de manera alarmante mayormente en las zonas industrializadas.

En una investigación realizada en varios entornos indígenas en Brasil, encontraron cepas de *S. aureus* enterotoxigénicas con una prevalencia del gen que

codifica para *tsst-I* concentrada entre los pueblos indígenas de las aldeas cercanas al estado de São Paul (Abraão, 2017), dando un ejemplo más claro sobre lo mencionado anteriormente, en un entorno similar al evaluado en el presente trabajo.

Aunque el acceso a la comunidad Warao María López es difícil, probablemente sus hábitos culturales constituyen una barrera que limita el contacto con personas foráneas a la comunidad, y por ende dificulta la transferencia de cepas de *S. aureus* portadoras de los genes de exotoxinas.

Contrario a lo descrito por Abraão (2017) donde reporta datos innovadores sobre la epidemiología de *S. aureus* entre los indígenas brasileños. Las distintas tasas de prevalencia de portadores de *S. aureus*, así como la diseminación de ciertos genes de virulencia en aislados de *S. aureus*, parecieron mostrar una dinámica peculiar del microorganismo entre los indígenas brasileños.

Otro factor que podría estar influenciando la ausencia de genes enterotoxigénicos en las cepas circulantes de la comunidad estudiada, es la falta de interacción personal sanitario-comunidad. Chen *et al.* (2020) destacaron que el personal sanitario es un posible foco de transmisión de *S. aureus* entre éste y los pacientes que recurren a los centros asistenciales. Estos autores reportaron el aislamiento de cepas de *S. aureus* portadoras de los genes que codifican para las enterotoxinas A, B y C, y la toxina del síndrome del *shock* tóxico, en 31 aislados pertenecientes a niños reclusos en la Unidad de Cuidados Intensivos (UCI) de un hospital en Taiwan. Los habitantes de la comunidad Warao María López, aunque tienen acceso a un centro asistencial, la baja disponibilidad de personal médico y la negativa de los pobladores a ser atendidos por ellos, probablemente ha contribuido con una menor transferencia de cepas nosocomiales de *S. aureus* entre personas por contacto por directo de persona-persona, dichas cepas, según la literatura, generalmente son las que poseen la mayor cantidad de genes de virulencia. Con relación a esto, Piechowicz *et al.* (2011) encontraron la mayor cantidad de cepas virulentas y multigénicas en personal sanitario de Polonia, siendo los genes más prevalentes *tsst* con 15,0% y *sec* con 13,4%.

Es posible que la fuente alimenticia de la comunidad estudiada pudiera dar respuesta a las interrogantes generadas en este estudio con respecto a la ausencia de

genes de enterotoxinas en las cepas de *S. aureus* estudiadas. La población indígena Warao de la comunidad María López se sustenta principalmente de raíces, tubérculos, verduras y cereales generados a través del cultivo, así como de la ingesta de pescado proveniente de la pesca artesanal realizada por ellos; con poca ingesta de alimentos derivados del ganado vacuno así como de productos lácteos, que son los alimentos más propensos a contaminarse por cepas de *S. aureus* portadoras de enterotoxinas. En el caso de los quesos, algunos factores fisicoquímicos, como la temperatura, pH y atmósfera aeróbica de los ambientes de su procesamiento y almacenaje, crean un hábitat idóneo para el desarrollo y proliferación óptima de *S. aureus*, lo que justifica su presencia y aislamiento en este tipo de alimento elaborado artesanalmente (Aranda *et al.*, 2017).

Este reducido consumo de alimentos derivados del ganado vacuno y de productos lácteos por parte de la comunidad Warao evaluada, disminuye la posibilidad de que los integrantes de dicha comunidad puedan tener cepas de *S. aureus* portadoras de enterotoxinas. La presencia de enterotoxinas en *S. aureus* está mayormente asociada a intoxicaciones alimentarias que a infecciones de la piel y de partes blandas (Rodríguez *et al.*, 2015). Con relación a esto, Manfredi *et al.* (2010) reportaron altos porcentajes (53%) de prevalencia de genes de enterotoxinas en muestras de origen alimentario. De manera similar, Brizzio *et al.* (2013), al estudiar 12 brotes de intoxicación alimentaria estafilocócica, encontraron que el 58% de las cepas eran portadoras de genes toxigénicos y Omoe *et al.* (2002) detectaron que el 77,4% de los aislados de *S. aureus* eran positivos para uno o más genes enterotóxicos. Por otra parte, Rodríguez *et al.* (2015), en un estudio realizado a niños que concurren al Hospital Acosta Nú de Paraguay, encontraron que de 50 cepas aisladas de *S. aureus* provenientes de secreciones nasales, solo una de ellas era portadora de un gen de enterotóxina (*seh*).

Es posible que la ausencia de genes de exotoxinas en las cepas de *S. aureus* evaluadas pueda deberse al aislamiento geográfico que exhiben los habitantes de la población, así como a los hábitos relacionados con la alimentación y a cierta conducta ermitaña asociada a una cultura particular que los inclina más hacia al establecimiento de relaciones sociales entre su grupo étnico que con los criollos o foráneos.

## CONCLUSIONES

Los niños estudiados de la comunidad Warao María López (estado Sucre) mostraron ser portadores de cepas de *S. aureus*, en muestras nasales.

Las cepas de *S. aureus* evaluadas no mostraron ser portadoras de genes de enterotoxinas (SEA, SEB, SEC, SED, SEE, SEF, SEG, SEH, SEI, SEJ) ni para toxina del síndrome del *shock* tóxico.

Los infantes de la comunidad Warao viven bajo condiciones precarias y bajos controles sanitarios, presentando altas tasas de desnutrición.

La ausencia de los genes enterotoxigénicos en las cepas de *S. aureus* aisladas de los niños incluidos en el estudio, puede atribuirse posiblemente al aislamiento geográfico, a los hábitos alimenticios así como también a las costumbres culturales de la comunidad indígena estudiada.

## **RECOMENDACIONES**

Realizar estudios posteriores para tipificar molecularmente las cepas, donde se pudiera verificar si las cepas de *S. aureus* que circulan en dicha comunidad son un mismo clon o diferentes clones transportándose entre los integrantes de la comunidad.

Ser un poco más estricto y exhaustivos en la hora de recolección de información a través de las encuestas, para así tener obtener datos más fidedignos y en detalles de las realidades de cada una de las familias y de sus integrantes, que pudieran ofrecer más respuestas a las interrogantes generadas a partir del presente ensayo.

## BIBLIOGRAFÍA

- Abraão, L. 2017. Carreamento nasal/oral de *Staphylococcus aureus* em populações indígenas do norte e sudeste do Brasil: resistência antimicrobiana, virulência, fatores de risco e epidemiologia molecular. Tesis doctoral. Facultad de Medicina, Universidade Estadual Paulista “Júlio De Mesquita Filho”. Botucatu, Brasil.
- Acuña, S. 2015. Genes que codifican la producción de enterotoxinas y perfil de resistencia a antimicrobianos de cepas de *Staphylococcus aureus* aislados en queso blanco, Cumaná. Tesis de maestría. Postgrado en Biología Aplicada, Departamento de Biología, Universidad de Oriente. Cumaná, Venezuela.
- Aguadero, V. 2014. Tipificación molecular y estudio de clonalidad de *Staphylococcus aureus* resistentes a meticilina, productores de infecciones intrahospitalarias y extrahospitalarias en Extremadura. Tesis doctoral. Departamento de Bioquímica y Biología Molecular, Universidad de Extremadura. Badajoz, España.
- Alejo, J.; Cortes, M.; Correa, D.; Klotz, C.; Herrera, C.; Martínez, J.; Rey, J. y Vanegas M. 2011. “Evaluación de riesgos de *Staphylococcus aureus* enterotoxigénico en alimentos preparados no industriales en Colombia”. “Instituto Nacional de Salud de Colombia Subdirección de Investigación”. <<https://www.google.com/search?q=Alejo,+J.;+Cortes,+M.;+Correa,+DE.;+Klotz,+C.;+Herrera,+C.;+Mart%C3%ADnez,+J.;+Rey,+J.+y+Vanegas+M.+2011.de+Staphylococcus+aureus+enterot oxig%C3%A3>>. (10-12-20).
- Amodio, E.; Rivas, Y. y Dox, C. 2006. “Las pautas de crianza del pueblo Warao: Fondo de las naciones unidas para la infancia Caracas”. “UNICEF” <[https://www.unicef.org/venezuela/spanish/pautas\\_warao\(1\).pdf](https://www.unicef.org/venezuela/spanish/pautas_warao(1).pdf)>. (20-10-20).
- Antón, K.; Guzmán, M.; Salazar, E.; Albarado, L.; Araque, Y. y Betancourt, J. 2011. Bacterias patógenas aisladas en la nasofaringe de niños indígenas Warao. Estado Sucre, Venezuela. *Revista de la Sociedad Venezolana de Microbiología*, 31(2): 112-117.
- Anwar, M.; Jaffery, G.; Rehman, K.; Tayyib, M. y Bokhari, S. 2004. *Staphylococcus aureus* and MRSA nasal carriage in general population. *Journal of the College of Physicians and Surgeons Pakistan*, 14(11): 661-664.
- Aranda, Y.; Chiroque, G.; Díaz, A.; Rodríguez, Y.; Velásquez, Y. y Llenque, L. 2017. Frecuencia de aislamiento de *Staphylococcus aureus* oxacilina resistente en quesos artesanales comercializados en el mercado La Unión (Trujillo, Perú) mayo-julio 2015. *Revista Científica de la Facultad de Ciencias Biológicas*, 37(1): 13-18.
- Blanco, P.; Meister, M.; Duarte, L.; Coronel, M.; Ribeiro, P. y Neres, A. 2018. Nasal carriage of *Staphylococcus aureus* among indigenous people of Toba Qom ethnic, Paraguay. *International Journal of Community Medicine and Public Health*, 5(7): 2720-2725.

- Bou, G.; Fernández, A.; García, C.; Sáez, J. y Valdezate, S. 2011. Métodos de identificación bacteriana en el laboratorio de microbiología. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*, 29(8): 601-608.
- Brizzio, A.; Tedeschi, F. y Zalazar, F. 2013. Estrategia de PCR múltiple para la caracterización molecular simultánea de *Staphylococcus aureus* y enterotoxinas estafilocócicas en aislamientos de brotes de origen alimentario. *Biomedica*, 33: 122-127.
- Castellano, M.; Peroso, A.; Vivas, Y.; Ginestre, M. y Rincón, G. 2009. Tipificación molecular y fenotípica de *Staphylococcus aureus* resistentes a meticilina (SAMR) en un hospital universitario. *Revista Chilena de Infectología*, 26(1): 39-48.
- Castro, R.; Villafañe, L.; Álvarez, E.; Martínez, M.; Rambaut, C. y Vitola, G. 2010. *Staphylococcus aureus* meticilino resistente en niños escolares de Cartagena. *Revista de Salud Pública*, 12(3): 454-463.
- Cataldo, K.; Jacquett, N.; Fariña, N.; Pereira, A.; Rodríguez, F.; Guillen, R. y Russomando, G. 2014. Portación de *Staphylococcus aureus* multiresistentes a antimicrobianos en cavidad bucal de niños que concurren para un tratamiento en una clínica odontológica, Paraguay. *Pediatría. (Asunción)*, 41(3): 201-207.
- Cervantes, E.; García, R. y Salazar, P. 2014. Características generales del *Staphylococcus aureus*. *Revista Latinoamericana de Patología y Medicina de Laboratorio*, 61(1): 28-40.
- Chen, Y.; Huang, K.; Huang, Y.; Chi, H.; Lu, C.; Chang, L.; Ho, Y.; Chi, C.; Liu, C.; Huang, L.; Yang, T. y Huang, Y. 2020. Prevalence and molecular characterizations of *Staphylococcus aureus* nasal colonization among patients in pediatric intensive care units in Taiwan. *Antimicrobial Resistance and Infection Control*. Recuperado de <https://aricjournal.biomedcentral.com/articles/10.1186/s13756-020-0700-6>.
- Figuroa, G.; Navarrete, P.; Caro, M.; Troncoso, M. y Faúndez, G. 2002. Portación de *Staphylococcus aureus* enterotoxigénicos en manipuladores de alimentos. *Revista Médica de Chile*, 130(8): 859-864.
- Foote, E.; Singleton, R.; Holman, R.; Seeman, S.; Steiner, C.; Bartholomew, M. y Hennessy, T. 2015. Lower respiratory tract infection hospitalizations among American Indian/Alaska Native children and the general United States child population. *International Journal of Circumpolar Health*. Recuperado de: <https://doi.org/10.3402/ijch.v74.29256>.
- Fosch, S.; Yones, C.; Trossero, M.; Grosso, O. y Nepote, A. 2012. Portación nasal de *Staphylococcus aureus* en individuos de la comunidad: factores epidemiológicos. *Acta Bioquímica Clínica Latinoamericana*, 46(1): 59-67.
- Fritz, S.; Garbuttb, J.; Elward, A.; Shannonn, W. y Storch, G. 2008. Prevalencia y factores de riesgo de colonización por *Staphylococcus aureus* resistente y sensible a meticilina adquirido en la comunidad en niños visitados en una

- consulta de pediatría afiliada a una red de investigación basada en consultorios. *Pediatrics Edición Española*, 65(6): 291-299.
- Fueyo, J. 2005. Frecuencia y tipos de toxinas súper antígenos de *Staphylococcus aureus* de dos diferentes orígenes: relaciones con tipos genéticos. Tesis doctoral. Departamento de Biología Funcional, Área de Microbiología, Universidad de Oviedo. Oviedo, España.
- García, A. 2000. Mendicidad indígena: Los Warao urbanos. *Boletín Antropológico Universidad de los Andes*, 48: 79-90.
- García, J. y Fresnadillo, M. 2003. Dynamics of nasopharyngeal colonization by potential respiratory pathogens. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 50(2): 59-73.
- Gencay, Y.; Ayaz, N. y Kasimoglu, A. 2010. Enterotoxin gene profiles of *Staphylococcus aureus* and other staphylococcal isolates from various foods and food ingredients. *Journal Faculty of Veterinary Medicine*, 7(2): 75-80.
- Gómes, P.; Moreira, A.; Couto, C. y Bazhuni, M. 2018. Acute lower respiratory infection in Guaraní indigenous children, Brazil. *Revista Pauistal Pediatrica*, 36(2): 123-131.
- Gorwitz, R.; Kruszon, D.; McAllister, S.; McQuillan, G.; McDougal, L.; Fosheim, G.; Jensen, B.; Killgore, G.; Tenover, F. y Kuehnert, M. 2008. Changes in the prevalence of nasal colonization with *Staphylococcus aureus* in the United States, 2001-2004. *Journal Infectious Diseases*, 197(9): 1226-1234.
- Gracey, M. y King, M. 2009. Indigenous health part 1: determinants and disease patterns. *Lancetn*, 374: 65-75.
- Guzmán, M. y Lozada, R. 2007. Detección de *Staphylococcus aureus* meticilino resistentes aislados de pacientes con infecciones nosocomiales y adquiridas en la comunidad. *Revista de la Sociedad Venezolana de Microbiología*, 27(1): 503-511.
- Hamdan, A.; Sainz, T. y Busto, J. 2010. Characterization and persistence of *Staphylococcus aureus* strains isolated from the anterior nares and throats of healthy carriers in a Mexican community. *Journal Clinical Microbiology*, 48(5): 1701-1705.
- Hennessy, T.; Ritter, T.; Holman, R.; Bruden, D.; Yorita, K.; Bulkow, L.; Cheek, J.; Singleton, R. y Smith, J. 2008. The relationship between in-home water service and the risk of respiratory tract, skin, and gastrointestinal tract infections among rural Alaska natives. *American Journal of Public Health*, 98: 2072-2078.
- Hoyos, C. 2017. Caracterización microbiológica de cepas de *Staphylococcus aureus* provenientes de la población infantil de la etnia Warao, municipio Benítez, estado Sucre, Venezuela. Trabajo de grado. Departamento de Biología, Universidad de Oriente. Cumaná, Venezuela.
- INE (Instituto Nacional de Estadística). 2011. “Resultados población indígena. XIV

- censo de población y vivienda. Gerencia general de estadísticas demográficas”. <  
<http://www.1143&bih=543&ei=WaEdYJu4BK3t5gLx34q4Dg&q=INE+%28Instituto+Nacional+de+Estad%C3%ADstica%29.+2011.+Resultados+poblaci%C3%B3n+ind%C3%ADgena.+XIV+censo+y+vivienda>>. (13-05-20).
- Kassaye, E. 2016. *Staphylococcus aureus* from Milk and Milk Products in Ethiopia: Prevalence, Enterotoxigenic Potential, Antibiotic Resistance and spa types. Tesis doctoral. Facultad de Medicina Veterinaria y Biociencias, Biotecnología y Ciencias de los Alimentos, Universidad de Noruega de Ciencias de la Vida. Ås, Noruega.
- Kwon, N.; Kim, S.; Park, K.; Bae, W.; Kim, J.; Lim, J.; Ahn, J.; Lyoo, K.; Kim, J.; Jung, W.; Noh, K.; Bohach, G. y Park, Y. 2002. Application of extended single-reaction multiplex polymerase chain reaction for toxin typing of *Staphylococcus aureus* isolates in South Korea. *International Journal of Food Microbiology*, 97(2): 137-145.
- Lagare, A.; Ousmane, S.; Dandano, I.; Issaka, B.; Issa, I.; Boubacar, H.; Testa, J.; Tempia, S. y Mamadou, S. 2019. Molecular detection of respiratory pathogens among children aged younger than 5 years hospitalized with febrile acute respiratory infections a prospective hospital-based observational study in Niamey, Niger. *Health Science Report*. Recuperado de: <https://doi.org/10.1002/hsr2.13>.
- Lebon, A.; Labout, J.; Verbrugh, H.; Jaddoe, V.; Hofman, A.; Wamel, W.; Moll, H. y Van Belkum, A. 2008. Dynamics and determinants of *Staphylococcus aureus* carriage in infancy: the generation R study. *Journal of Clinical Microbiology*, 46(10): 3517-3521.
- Leke, A.; Goudjil, S.; Mullie, C.; Grognet, S. y Biendo, M. 2017. PCR detection of staphylococcal enterotoxin genes and exfoliative toxin genes in methicillin-resistant and methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus* strains from raw human breast milk. *Clinical Nutrition Experimental*, 14: 26-35.
- Lovseth, A.; Loncarevic, S. y Berdal, K. 2004. Modified multiplex PCR method for detection of pyrogenic exotoxin genes in Staphylococcal isolates. *Journal of Clinical Microbiology*, 42(8): 3869-3872.
- Lowy, F. 2003. Antimicrobial resistance: The example of *Staphylococcus aureus*. *Journal Clinical Infection*, 111: 1265-1273.
- Maayan, A.; Rubin, C.; Jarber, H.; Dulitzky, M.; Reiss, A.; Leshem, E.; Rahav, G. y Regev, G. 2017. Clinical evaluation of early acquisition of *Staphylococcus aureus* carriage new borns. *International Journal of Infectious Diseases*, 64: 9-14.
- Manfredi, E.; Leotta, G. y Rivas, M. 2010. PCR múltiple para la detección de los genes *sea*, *seb*, *sec*, *sed* y *see* de *Staphylococcus aureus*: caracterización de aislamientos de origen alimentario. *Revista Argentina de Microbiología*, 42: 212-215.

- Márta, D.; Wallin, N.; Schelin, J.; Borch, E. y Radstrom P. 2010. Extended staphylococcal enterotoxin D expression in ham products. *Food Microbiology*, 28(3): 617-620.
- Mehray, J.; Witte, W.; Akmatov, M.; Layer, F.; Werner, G. y Krausse, G. 2016. Epidemiology of *Staphylococcus aureus* nasal carriage patterns in the community. *Current Topics in Microbiology and Immunology*, 398: 55-57.
- Mermel, L.; Cartony, J.; Covington, P.; Maxey, G. y Morse, D. 2011. Methicillin resistant *Staphylococcus aureus* colonization at different body sites: a prospective, quantitative analysis. *Journal Clinical Microbiology*, 49(3): 1119-1121.
- Monday, S. y Bohach, G. 1999. Use of multiplex PCR to detect classical and newly described pyrogenic toxin genes in staphylococcal isolates. *Journal of Clinical Microbiology*, 37: 3411-3414.
- MPPS (Ministerio del Poder Popular para la Salud). 2018. *Anuario de mortalidad del 2014 de la República Bolivariana de Venezuela*. MPPS. Caracas, Venezuela.
- Navne, J.; Borresen, M.; Slotved, H.; Andersson, M.; Melbye, M.; Ladefoged, K. y Koch, A. 2016. Nasopharyngeal bacterial carriage in young children in Greenland: a population high risk of respiratory infections. *Epidemiology and Infection*, 144(15): 3226-3236.
- O'grady, K. y Chang, A. 2010. Lower respiratory infections in Australian Indigenous children. *Journal Pediatric Children Health*, 46: 461-465.
- Odorozzi, V.; Moreira, J.; Blanco, P.; Goulart, G.; Sales, R. y Neres, A. 2018. Portadores assintomáticos de *Staphylococcus aureus* na cavidade nasal entre indígenas da etnia Xerente, Tocantínia, Tocantins. *International Journal of Scientific Research in Science and Technology*, 4(2): 1536-1541.
- Omoe, K.; Ishikawa, M.; Shimoda, Y.; Hu, D.; Ueda, S. y Shinagawa, K. 2002. Detection of *seg*, *seh*, and *sei* genes in *Staphylococcus aureus* isolates and determination of the enterotoxin productivities of *S. aureus* isolates Harboring *seg*, *seh*, or *sei* genes. *Journal of Clinical Microbiology*, 40(3): 857-862.
- OMS (Organización Mundial de la Salud). 2014. "El primer informe mundial de la OMS sobre la resistencia a los antibióticos pone de manifiesto una grave amenaza para la salud pública en todo el mundo". <<https://www.who.int/mediacentre/news/releases/2014/amr-report/es/>>. (20-10-20).
- OMS (Organización Mundial de la Salud). 2020. "Patrones de crecimiento infantil: Longitud/estatura para la edad, peso para la edad, peso para la longitud, peso para la estatura e índice de masa corporal para la edad". <[https://www.who.int/childgrowth/standards/tr\\_summary\\_spanish\\_rev.pdf?ua=1](https://www.who.int/childgrowth/standards/tr_summary_spanish_rev.pdf?ua=1)>. (20-10-20).
- Pérez, M. 2015. Comparación del perfil toxigénico y presencia del gen *mecA* en aislamientos de *Staphylococcus aureus* provenientes de quesos y ambientes

- hospitalarios. Trabajo de grado. Departamento de Microbiología y Química Clínica, Universidad de Costa Rica. San Pedro de Montes de Oca, Costa Rica.
- Piechowicz, L.; Garbacz, K.; Wiśniewska, K. y Dąbrowska, M. 2011. Screening of *Staphylococcus aureus* nasal strains isolated from medical students for toxin genes. *Folia Microbiologica*, 56(3): 225-229.
- Rasmussen, R.; Fowler, V.; Skov, R. y Bruun, N. 2011. Feature challenges and treatment of *Staphylococcus aureus* bacteremia with emphasis in the MRSA. *Future microbiology*, 6(1): 43-56.
- Reiss, A.; Rubin, C.; Maayan, A.; Novikov, I.; Jaber, H.; Dolitzky, M.; Freedman, L.; Rahav, G. y Regev, G. 2019. Patterns and predictors of *Staphylococcus aureus* carriage during the first year of life: a longitudinal study. *Journal Clinical Microbiology*, 57(9): Recuperado de <https://jcm.asm.org/content/57/9/e00282-19.abstract>.
- Ricardo, D.; Buelvas, F.; Escobar, J. y Tovar, C. 2015. Colonización y factores de virulencia de *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina en una población infantil de Montería. *Iatreia*, 28(3): 259-268.
- Rivera, I.; Bogaert, D.; Bello, T.; Nogal, B.; Sluijter, M.; Hermans, P. y Waard, J. 2007. Pneumococcal carriage among indigenous Warao children in Venezuela: serotypes, susceptibility patterns, and molecular epidemiology. *Clinical Infectology Disease*, 45: 1427-1434.
- Rodríguez, F.; Basualdo, W.; Castro, H.; Campuzano, A.; Macchi, M.; Ortellado, J.; Almada, P.; Rodríguez, M.; Grau, L.; Velázquez, G.; Espínola, C.; Samudio, G.; Gómez, G.; Carpinelli, L. y Guillén, R. 2018. Análisis MLVA y perfil de virulencia de aislamientos de *Staphylococcus aureus* resistentes a la meticilina adquiridos en la comunidad causantes de infecciones pediátricas en Paraguay. *Revista Argentina de Microbiología*, 50(2): 151-156.
- Rodríguez, F.; Carpinelli, L.; Basualdo, W.; Castro, H.; Quiñonez, B.; Argüello, R. y Guillén, R. 2015. Frecuencia de genes que codifican factores de virulencia en *Staphylococcus aureus* aislados de niños que concurren al Hospital General Pediátrico Niños de Acosta Nú, durante el año 2010. *Memorias del Instituto de Investigaciones de Ciencias de la Salud*, 13(1): 56-66.
- Sandrea, L.; Piña, E.; Paz, R. y Torres, E. 2012. Determinación de la resistencia a meticilina y eritromicina de cepas de *Staphylococcus aureus* aisladas en un hospital del estado Zulia. *Revista de la Sociedad Venezolana de Microbiología*, 32: 88-94.
- Schaumburg, F.; Alabi, A.; Mombo, G.; Kaba, H.; Zoleko, R.; Diop, D.; Mackanga, J.; Basra, A.; González, D.; Menendez, C.; Grosbusch, M.; Kremsner, P.; Kock, R.; Peters, G.; Ramharter, M. y Becker, K. 2014. Transmission of *Staphylococcus aureus* between mothers and infants in an African setting. *Journal Clinical Microbiology and Infection*, 20(6): 390-396.

- Shanehbandi, D.; Baradaran, B.; Sadigh, S. y Zarredar H. 2014. Occurrence of methicillin resistant and Enterotoxigenic *Staphylococcus aureus* in traditional cheeses in the north west of Iran. *Hindawi*. Recuperado de <http://dx.doi.org/10.1155/2014/129580>.
- Singleton, R.; Holman, R.; Folkema, A.; Wenger, J.; Steiner, C. y Redd, J. 2012. Trends in lower respiratory tract infection hospitalizations among American Indian/Alaska Native children and the general US child population. *Journal Pediatrics*, 161: 296-302.
- Sollid, J.; Furberg, A.; Hanssen, A. y Johannesen, M. 2014. *Staphylococcus aureus*: determinants of human carriage. *Infection, Genetic and Evolution*, 21: 531-541.
- Tsai, M.; Chiu, C.; Shih, H.; Liao, S.; Hua, M.; Huang, S.; Yao, T.; Lai, S.; Huang, T.; Yeh, K.; Chen, L.; Su, K.; Lim, W.; Chang, Y.; Chiang, C.; Huang, S. y Huang L. 2017. Longitudinal investigation of nasopharyngeal methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* colonization in early infancy: The PATCH birth cohort study. *Clinical Microbiology and Infection*, 23(2): 121-127.
- Velasco, R.; Zúñiga, O. y Perea, L. 2013. La importancia clínica actual de *Staphylococcus aureus* en el ambiente intrahospitalario. *Educación Química*, 24(1): 8-13.
- Velasco, V. 2014. Detección y tipificación molecular de *Staphylococcus aureus* y *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina (SARM) en Dakota del Norte, Estados Unidos. Tesis doctoral. Facultad de Agronomía, Programa de Doctorado en Ciencias Agropecuarias, Universidad de Concepción. Concepción, Chile.
- Velásquez, M. 2005. Surgimiento y diseminación de *Staphylococcus aureus* meticilinoresistente. *Salud Pública México*, 47: 381-387.
- Venegas, M.; Martínez, A. y Medrano, M. 2006. Caracterización molecular de cepas toxigénicas de *Staphylococcus* aisladas de operarios de plantas de alimentos. *Infection*, 10(3): 167-174.
- Verhagen, L.; Gómez, K.; Snelders, E.; Rivera, I.; Pocaterra, L.; Melchers, W.; De Waard, I. y Hermans, P. 2013. Respiratory infections in Eñepa Amerindians are related to malnutrition and *Streptococcus pneumoniae* carriage. *Journal Infectology*, 67: 273-281.
- Verhagen, L.; Hermsen, M.; Rivera, I.; Sisco, M.; Jonge, M.; Hermans, P. y Waard, J. 2017. Nasopharyngeal carriage of respiratory pathogens in Warao Amerindians: significant relationship with stunting. *Tropical Medicine and International Health*, 22(4): 407-414.
- Verhagen, L.; Warris, A.; Hermans, P. y Waard, J. 2012. High prevalence of acute respiratory tract infections among Warao amerindian children in Venezuela in relation to low immunization coverage and chronic malnutrition. *Pediatrics Infectology Disease Journal*, 31: 255-262.

- Veron, M.; Ojeda, M.; Avino, F.; Spellzzini, A.; Barboza, A. y Petrozzio, Y. 2012. Incidencia y distribución estacional de *Staphylococcus aureus* resistente a la meticilina en pacientes adultos ambulatorios en una clínica de la provincia de Buenos Aires: período 2006-2011. *Revista Argentina de Microbiología*, 44: 306-311.
- Villaseñor, R.; Farías, G.; Carrillo, M.; Jáuregui, J.; Castañeda, F.; Lepe, B.; Martínez, R. y Villaseñor, A. 2012. *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina (SARM) en un Hospital Pediátrico, comunidad urbana y rural. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología*, 32(1): 6-10.
- Watson, K.; Carville, K.; Bowman, J. y Jacoby, P. 2006. Upper respiratory tract bacterial carriage in Aboriginal and non-Aboriginal children in a semi-arid area of Western Australia. *Pediatrics Infectology Disease Journal*, 25: 782-790.
- Wertheim, H.; Melles, D.; Vos, M.; Van Leeuwen, W.; Van Belkum, A.; Verbrugh, H. y Nouwen, J. 2005. The role of nasal carriage in *Staphylococcus aureus* infections. *Lancet Infectious Diseases*, 5(12): 751-762.
- Winn, W.; Allen, S.; Janda, W.; Koneman, E.; Procop, G.; Schreckenberger, P. y Woods, G. 2008. *Koneman, diagnóstico microbiológico*. Texto y atlas en color. Sexta edición. Editorial Médica Panamericana. Buenos Aires, Argentina.
- Zendejas, G.; Ávalos, H. y Soto, M. 2014. Microbiología general de *Staphylococcus aureus*: Generalidades, patogenicidad y métodos de identificación. *Revista Biomédica*, 45: 129-143.



## HOJAS DE METADATOS

### Hoja de Metadatos para Tesis y Trabajos de Ascenso – 1/6

<b>Título</b>	EVALUACIÓN DE GENES QUE CODIFICAN PARA EXOTOXINAS PIROGÉNICAS, EN CEPAS DE <i>Staphylococcus aureus</i> , Y SU ASOCIACIÓN CON LAS CARACTERÍSTICAS CLÍNICO EPIDEMIOLÓGICAS DE NIÑOS PERTENECIENTES A LA COMUNIDAD WARAO MARÍA LÓPEZ DEL ESTADO SUCRE
<b>Subtítulo</b>	

**Autor (es):**

Apellidos y Nombres	Código CVLAC / e-mail	
Rodríguez P. Rauxeliz L.	<b>CVLAC</b>	22 627 941
	<b>e-mail</b>	<i>rauxelizrodriguez@gmail.com</i>
	<b>e-mail</b>	
	<b>CVLAC</b>	
	<b>e-mail</b>	
	<b>e-mail</b>	
	<b>CVLAC</b>	
	<b>e-mail</b>	
	<b>e-mail</b>	
	<b>CVLAC</b>	
	<b>e-mail</b>	
	<b>e-mail</b>	

**Palabras o frases claves:**

<i>Staphylococcus aureus</i>
Exotoxina
Warao
Niños

## Hoja de Metadatos para Tesis y Trabajos de Ascenso – 2/6

### Líneas y sublíneas de investigación:

Área	Subárea
Ciencias	Biología

### Resumen (abstract):

*Staphylococcus aureus* es un patógeno causante de múltiples afecciones, que en mínimas condiciones sanitarias puede causar serios daños en una comunidad, debido a esto se consideró evaluar la presencia de genes que codifican para exotoxinas pirogénicas y su asociación con características clínico-epidemiológicas en cepas de *S. aureus*, aisladas a partir de hisopados nasales en una población de niños en edades comprendidas de 0 meses a 10 años, de la comunidad Warao María López del municipio Benítez del estado Sucre. Las cepas estudiadas, forman parte del banco de cepas del Laboratorio de Genética Molecular del Instituto de Investigaciones de Biomedicina y Ciencias Aplicadas de la Universidad de Oriente (IIBCA-UDO), fueron reactivadas y se confirmó su clasificación por pruebas bioquímicas. Para ello, se procedió primeramente a reactivar las 21 cepas incluidas en el estudio, utilizando caldo BHI, y seguidamente se les aplicó el esquema de identificación bioquímica estándar para la especie, posteriormente se aisló el ADN genómico utilizando el kit comercial Wizard Genomic de Promega, seguidamente se realizó la PCR en formato multiplex, mediante la cual se detectó el gen *16S ARNr*, específico para *S. aureus*, y de nueve genes que codifican para las exotoxinas *SE* (SEA, SEB, SEC, SED, SEE, SEF, SEG, SEH, SEI, SEJ) y *TSST-1*. Los productos de amplificación se revelaron mediante una electroforesis en gel de agarosa, para la determinación de la prevalencia de los genes evaluados y su asociación con los datos clínico-epidemiológicos de los niños se utilizó el programa EPI Info 2014 (versión 7.0) y la condición nutricional de cada niño evaluado se comparó a partir de los parámetros dictados por la Organización Mundial de la Salud. A partir de la amplificación del gen *ARNr 16S*, se confirmó molecularmente que las 21 cepas estudiadas pertenecen a la especie *S. aureus*, simultáneamente también se constató que las cepas estudiadas no eran portadoras de los genes de enterotoxinas *SE*, ni para la toxina del síndrome de *shock* tóxico (*TSST-1*), además se evidenció también que el 79% de los niños estudiados presentaban desnutrición. A pesar de las condiciones en las que la población estudiada vive, este resultado puede atribuirse posiblemente al aislamiento geográfico, el tipo de alimentación, y/o a la conducta social e individual de relacionarse poco con los individuos foráneos a su comunidad.

## Hoja de Metadatos para Tesis y Trabajos de Ascenso – 3/6

### Contribuidores:

Apellidos y Nombres	ROL / Código CVLAC / e-mail	
Michelli V. Elvia M.	ROL	CA <input type="checkbox"/> AS <input checked="" type="checkbox"/> TU <input type="checkbox"/> JU <input type="checkbox"/>
	CVLAC	8 644 673
	e-mail	<i>elviamichelli@yahoo.com</i>
	e-mail	
Martínez R. Dianny del V.	ROL	CA <input type="checkbox"/> AS <input type="checkbox"/> TU <input type="checkbox"/> JU <input checked="" type="checkbox"/>
	CVLAC	14.560.301
	e-mail	<i>naitava@hotmail.com</i>
	e-mail	
Karla R. Rivas R.	ROL	CA <input type="checkbox"/> AS <input type="checkbox"/> TU <input type="checkbox"/> JU <input checked="" type="checkbox"/>
	CVLAC	14498670
	e-mail	<i>kriuz25@gmail.com</i>
	e-mail	
	ROL	CA <input type="checkbox"/> AS <input type="checkbox"/> TU <input type="checkbox"/> JU <input type="checkbox"/>
	CVLAC	
	e-mail	
	e-mail	

### Fecha de discusión y aprobación:

Año	Mes	Día
2021	05	25

Lenguaje: spa

## Hoja de Metadatos para Tesis y Trabajos de Ascenso – 4/6

### Archivo (s):

Nombre de archivo	Tipo MIME
TG-rodriguezr.doc	Word 1997-2003

### Alcance:

**Espacial:** Nacional (Opcional)

**Temporal:** Temporal (Opcional)

### Título o Grado asociado con el trabajo:

Licenciado en Biología

**Nivel Asociado con el Trabajo:** Licenciado

**Área de Estudio:** Biología

### Institución (es) que garantiza (n) el Título o grado:

UNIVERSIDAD DE ORIENTE, NÚCLEO DE SUCRE

# Hoja de Metadatos para Tesis y Trabajos de Ascenso – 5/6



UNIVERSIDAD DE ORIENTE  
CONSEJO UNIVERSITARIO  
RECTORADO

CU N° 0975

Cumaná, 04 AGO 2009

Ciudadano  
**Prof. JESÚS MARTÍNEZ YÉPEZ**  
Vicerrector Académico  
Universidad de Oriente  
Su Despacho

Estimado Profesor Martínez:

Cumplo en notificarle que el Consejo Universitario, en Reunión Ordinaria celebrada en Centro de Convenciones de Cantaura, los días 28 y 29 de julio de 2009, conoció el punto de agenda **"SOLICITUD DE AUTORIZACIÓN PARA PUBLICAR TODA LA PRODUCCIÓN INTELECTUAL DE LA UNIVERSIDAD DE ORIENTE EN EL REPOSITORIO INSTITUCIONAL DE LA UDO, SEGÚN VRAC N° 696/2009"**.

Leído el oficio SIBI – 139/2009 de fecha 09-07-2009, suscrita por el Dr. Abul K. Bashirullah, Director de Bibliotecas, este Cuerpo Colegiado decidió, por unanimidad, autorizar la publicación de toda la producción intelectual de la Universidad de Oriente en el Repositorio en cuestión.

Comunicación que hago a usted a los fines consiguientes.

UNIVERSIDAD DE ORIENTE SISTEMA DE BIBLIOTECA
RECIBIDO POR <i>Martínez</i>
FECHA <i>5/8/09</i> HORA <i>5:30</i>

Cordialmente,

*Juan A. Bolaños Cunele*  
Secretario

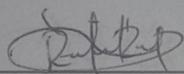
C.C: Rectora, Vicerrectora Administrativa, Decanos de los Núcleos, Coordinador General de Administración, Director de Personal, Dirección de Finanzas, Dirección de Presupuesto, Contraloría Interna, Consultoría Jurídica, Director de Bibliotecas, Dirección de Publicaciones, Dirección de Computación, Coordinación de Teleinformática, Coordinación General de Postgrado.

JABC/YGC/manuja

Apartado Correos 094 / Telfs: 4008042 - 4008044 / 8008045 Telefax: 4008043 / Cumaná - Venezuela

## Hoja de Metadatos para Tesis y Trabajos de Ascenso – 6/6

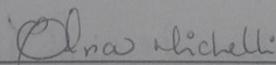
**Artículo 41 del REGLAMENTO DE TRABAJO DE PREGRADO (vigente a partir del II Semestre 2009, según comunicación CU-034-2009):** “los Trabajos de Grado son de la exclusiva propiedad de la Universidad de Oriente, y sólo podrán ser utilizados para otros fines con el consentimiento del Consejo de Núcleo respectivo, quien deberá participarlo previamente al Consejo Universitario para su autorización”.



---

Rauxeliz L. Rodríguez P.

AUTORA



---

Elvia M. Michelli V.

TUTORA