

**Identificación de bacterias de interés
clínico: pruebas de identificación
epidemiológicas, morfológicas, tintoriales,
bioquímicas, de susceptibilidad y de
análisis del genoma**

Agustín Estévez Prieto, residente Microbiología Clínica HGUGM, Madrid

Índice

- Generalidades de los métodos de identificación
- Grupo Staphylococcus
- Grupo Streptococcus y Enterococcus
- Grupo Neisseria
- Enterobacterias
- Bacilos gram negativos no fermentadores
- Bacilos gram positivos aerobios
- Otras bacterias...
- Micobacterias
- Anaerobios
- Bacterias con capacidad “arma biológica”
- Conclusiones

Métodos de identificación

- Tradicionalmente, la identificación bacteriana se basaba en las características microbiológicas y en su imagen fenotípica.
- En los últimos años, las técnicas de espectrometría de masas y detección genética han revolucionado la identificación bacteriana

Detección fenotípica



Poco fiables, no suponen una identificación precisa o definitiva

Detección bioquímica



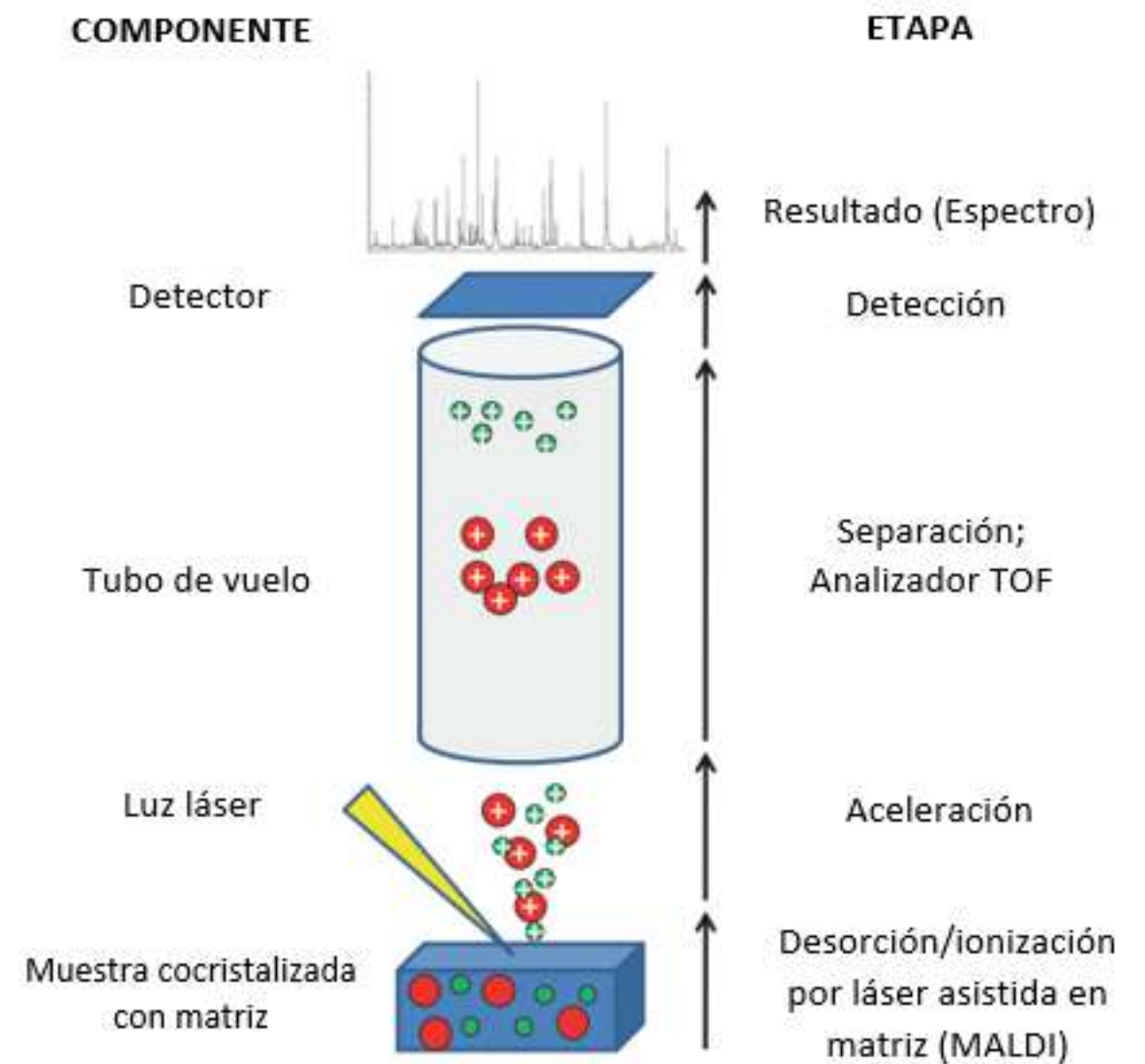
Los sistemas miniaturizados API® son métodos rápidos que permiten la identificación de microorganismos a través de la realización de diferentes pruebas bioquímicas. Estos sistemas consisten en un dispositivo de plástico con varios microtubos que contienen diferentes medios de cultivo deshidratados o diferentes sustratos de enzimas de acuerdo al tipo de prueba que se requiere montar. Entre algunas de las pruebas bioquímicas que pueden realizarse con estos sistemas están las pruebas de fermentación de carbohidratos, la determinación de la producción de H₂S, la determinación de la hidrólisis de la gelatina, entre otras.

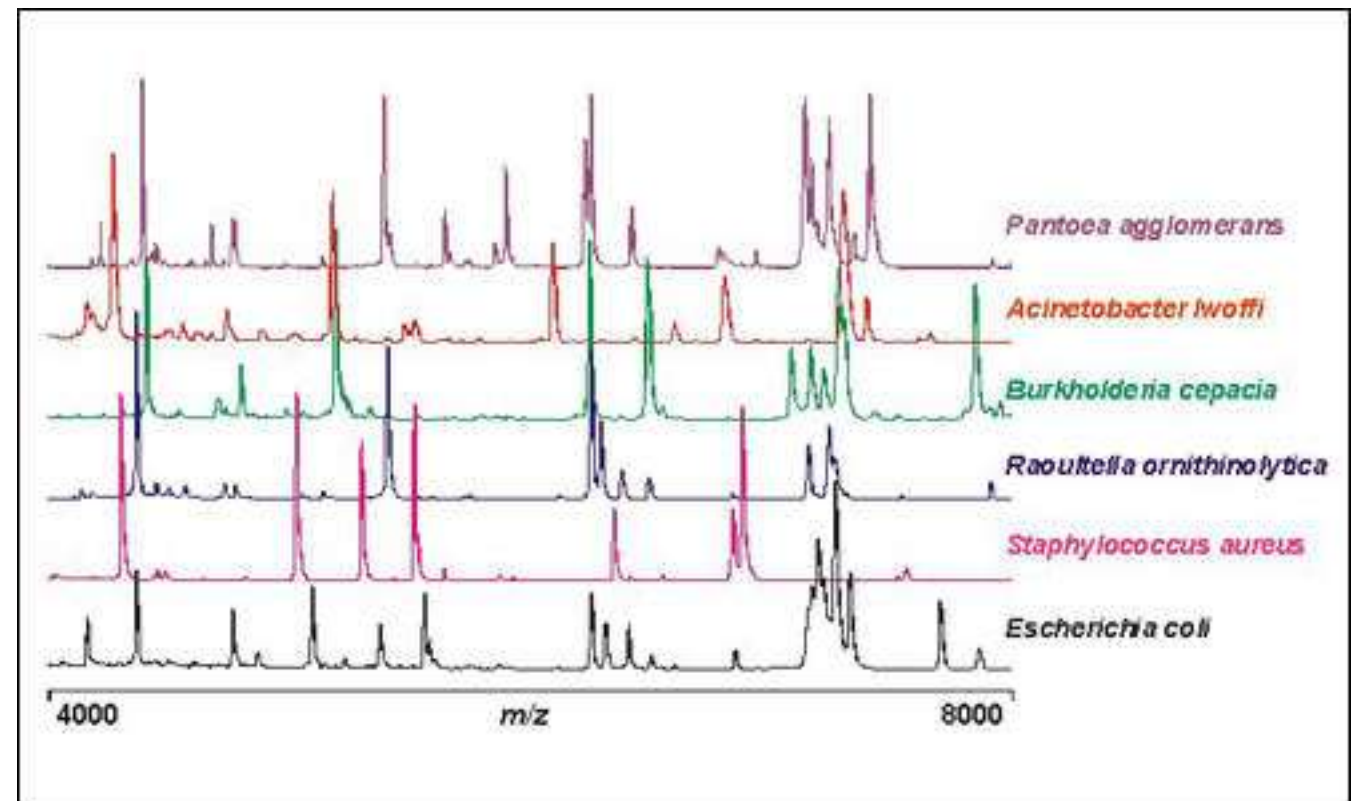
Medios cada vez menos utilizados debido a las nuevas técnicas de identificación.

No distinguen con exactitud gran variedad de bacterias

MALDI-TOF

- Técnica de espectrometría de masas consistente en la ionización de proteínas bacterianas ribosomales para su detección específica por un detector que realiza un patrón individual que se ajusta a cada especie



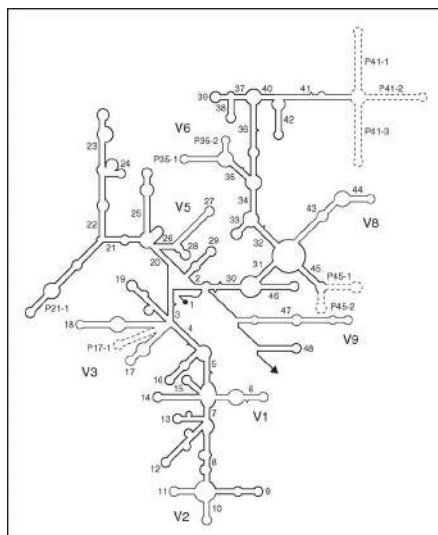
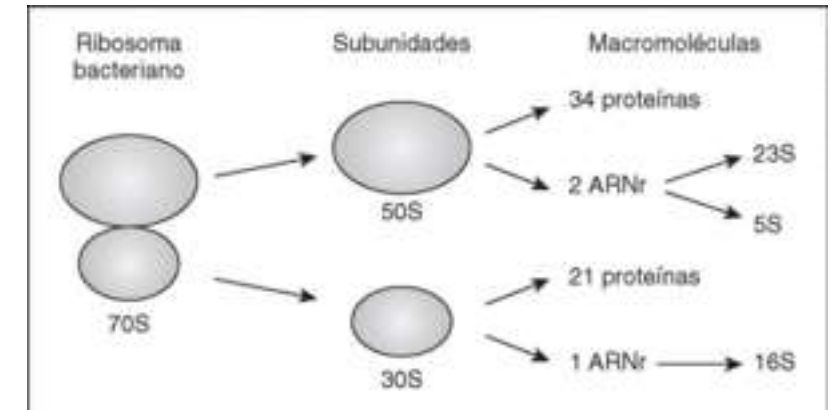


Técnica de elección para la identificación en la mayoría de laboratorios de microbiología de España.
Ampliamente distribuido.
Gran fiabilidad en la identificación.
Prestar atención a bacterias difícilmente identificables con esta técnica;
***N.meningitidis*, *S.pneumoniae*, etc**

Técnicas genéticas; PCR de la región 16S ribosomal

ARNr 16S

Es un polirribonucleótido de aproximadamente 1.500 nt, codificado por el gen rrs, también denominado ADN ribosomal 16S (ADNr 16S), a partir de cuya secuencia se puede obtener información filogenética y taxonómica. Se trata de un gen conservado entre distintas especies pero con características propias para cada una de ellas, por lo que es útil para diferenciar especies con alto grado de sensibilidad



Detección de genes específicos por PCR de genes de resistencia a antimicrobianos

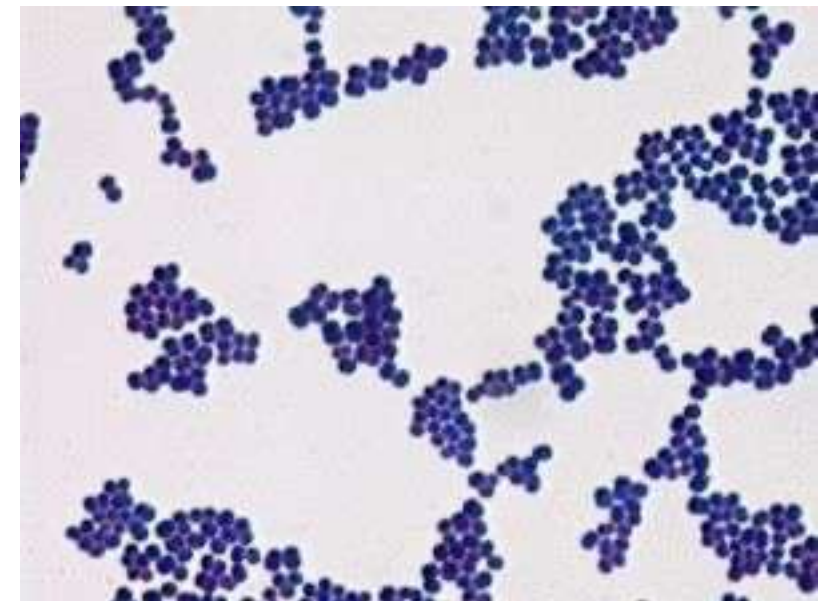
Tabla 4. Métodos comerciales para la detección molecular de BLEE, AmpC-p y carbapenemasas en muestras rectales*.			
Método	Diana	Nombre	Compañía
PCR Múltiple más hibridación	TEM, SHV, CTX-M, OXA	Hyplex ESBL	Amplex Diagnostic
	KPC, IMP, VIM, NDM y OXA-48 like	Hyplex Superbug	Amplex Diagnostic
	OXA-23, OXA-24 y OXA-51 like	Hyplex CarbOXA	Amplex Diagnostic
NASBA (Amplificación simple a tiempo real)	KPC	NucliSENS EasyQ KPC Test	bioMérieux
PCR Múltiple a tiempo real	KPC, NDM, OXA-48, VIM, CTX-M-1, CTX-M-9	eazyplex® SuperBug CRE	Amplex Diagnostic
	KPC, NDM, OXA-48, VIM, OXA-23, OXA-40 y OXA-58 (A) o OXA-181 (B)	eazyplex® SuperBug complete A and B	Amplex Diagnostic
	TEM, SHV, CTX-M	PCR Check-MDR ESBL kit	Checkpoints Health BV
	KPC, IMP, OXA-48 like, VIM y NDM	PCR Check-MDR Carba kit	Checkpoints Health BV
	KPC, IMP-1, OXA-48 like, VIM, NDM	PCR Xpert Carba-R Assay	Cepheid/Werfen
	CTX-M, IMP, KPC, NDM, OXA, VIM	PCR ePlex BCID-GN	GenMark Dx/ Werfen
	ADN de <i>E. coli</i> , CTX-M-1, CTX-M-2, CTX-M-9	PCR RealCycler CTXE	Progenie Molecular/ Werfen
	CTX-M-1, CTX-M-2, CTX-M-9	PCR RealCycler BLACTX	
	AmpC de los grupos ACC, EBC, CIT y DHA.	PCR RealCycler AMPC	
	IMP, VIM	PCR RealCycler IMVI	
	KPC, NDM-1	PCR RealCycler KPND	
	VIM, OXA-48 like, KPC	PCR RealCycler OXVIKP	
	KPC, OXA-48, VIM, IMP, NDM-1/2, GES	LightMix Modular Assays	Roche Applied Science (TibMolBiol)

Métodos moleculares disponibles para la detección de BLEE, AmpC y Carbapenemasas en muestras rectales

Documento científico SEIMC. 2015

Grupo *Staphylococcus*

- Bacterias gram positivas, aerobias o anaerobias facultativas, catalasa positivas, oxidadas negativas, habituales de la flora de la piel, muchas especies no causan patología en humanos.
- Dos grandes grupos; *Staphylococcus aureus* (coagulasa positiva) y *Staphylococcus coagulasa negativos*.
- Morfología en la tinción de gram de cocos gram positivos en racimo.



Staphylococcus aureus

- Coagulasa positivo, alfa hemólisis
- Comensal de la piel en multitud de personas, alrededor del 35% de la población está colonizada por S.aureus a nivel nasal
- Productor de diversa patología; infecciones de piel y partes blandas, abscesos, infecciones osteoarticulares, endocarditis, shock séptico, shock tóxico, neumonía necrotizante, etc



Staphylococcus coagulasa negativos

- Multitud de especies, muchos de ellos no patógenos primarios
- Causantes de infecciones osteoarticulares, piel y partes blandas, endocarditis, etc
- Algunas especies tienen mayor relevancia clínica; S.epidermidis, S.saprophyticus (infección de orina, ureas positivo), S.haemolyticus, S.lugdunensis (olor a fuet), etc
- Precaución a la hora de informar estas especies en aislamientos microbiológicos

Grupo *Streptococcus*

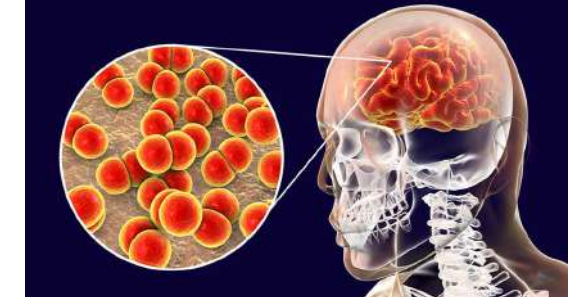
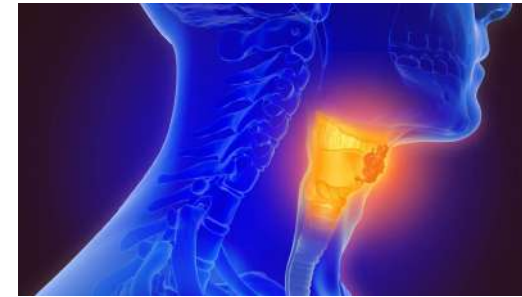
- Bacterias gram positivas, anaerobias facultativas, oxidadas negativas, catalasa negativas.
- Tinción de gram con morfología de cocos gram positivos en cadena o diplo.
- Gran multitud de especies y clasificaciones (serogrupos de Lancefield).
- Algunas especies presentan gran relevancia clínica (*S.pyogenes*, *S.agalactiae*, *S.pneumoniae*, etc)



Clasificación de los patógenos estreptocócicos

Clasificación bioquímica	Clasificación serológica	Patrón de hemólisis
S. Pyogenes	A	β
S. Agalactiae	B	β, ocasionalmente no hemolítico
S. dysgalactiae	C,G	β
Grupo S. Anginosus	A,C,F,G	β, ocasionalmente α o no hemolítico
S. Bovis	D	α, no hemolítico; ocasionalmente β
Grupo viridans	No agrupable	α O no hemolítico
S. pneumoniae	No agrupable	α



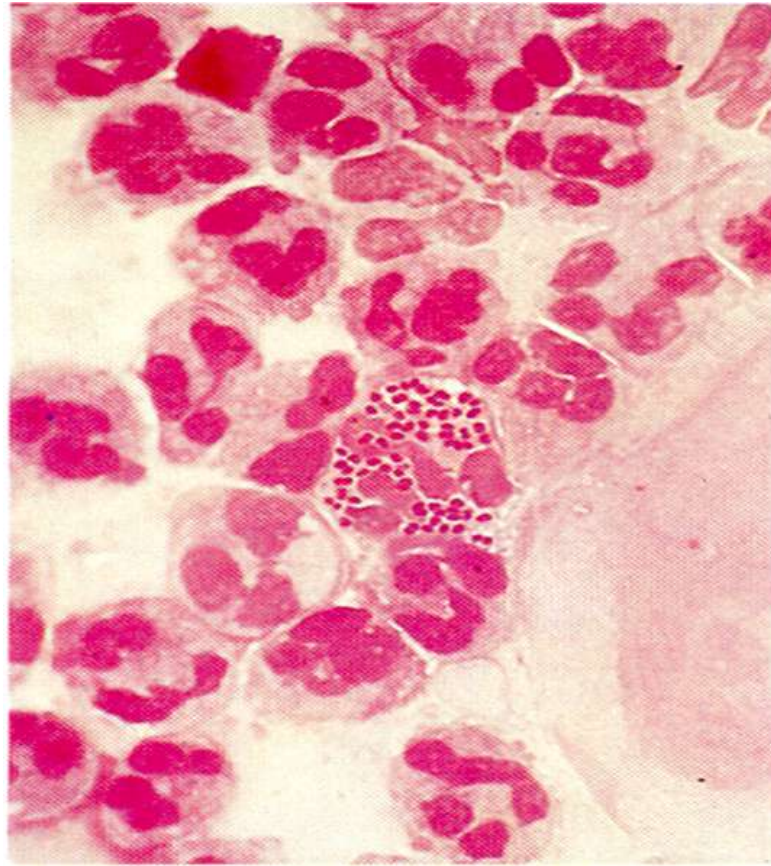


- ***S.pneumoniae***: principal causante de neumonía de la comunidad, meningitis y otitis, sensible a la optoquina, prueba de bilis-esculina negativa
- ***S.agalactiae***: neumonía y meningitis en neonatos, importancia de su búsqueda en embarazadas
- ***S.pyogenes***: causante de faringitis bacteriana (Strepto-test), fiebre reumática, escarlatina, fascitis necrotizante, sensible a bacitracina
- ***S.gallolyticus (S.bovis)***: asociación con cáncer de colon, endocarditis
- **Grupo *S.viridans***: normalmente no patógenos, pueden causar endocarditis

Grupo *Enterococcus*

- Bacterias gram positivas, anaerobias facultativas, oxidasa y catalasa negativas
- Flora de la piel, a veces no son patógenos
- Pueden causar endocarditis, infección piel y partes blandas, osteoarticulares, infección de orina, etc
- *E.faecalis* y *E.faecium* son las especies principales
- Morfología en el gram de cocos gram positivos en cadena o dilo

Neisseria spp: N.gonorrhoeae y N.meningitidis



Cocos Gram negativos (diplococos), catalasa negativa y oxidasa positiva, inmóviles, aerobios

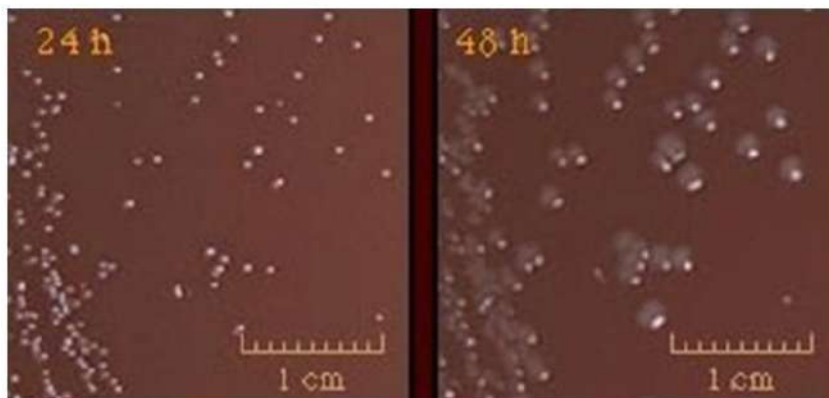
	GLUCOSA	MALTOSA	DNAsa (deoxirribonucleasa)
<i>N. meningitidis</i>	+	+	-
<i>N. gonorrhoeae</i>	+	-	-
<i>M. catarrhalis</i> *	-	-	+

Crece en AS y CH, a 37°C y en atmósfera de CO₂

La «cápsula a» del meningococo permite clasificarle en 13 serogrupos (6 causan enfermedad: A,B,C,W135, Y y X) el lipopolisacárido se comporta como endotoxina

Meningococo: Meningitis

Gonococo: Gonorrea, uretritis, EPI , conjuntivitis neonato**



* Bacterias muy lábiles

** Enfermedad pélvica intestinal

Enterobacterias

- Bacterias gram negativas, habituales de la flora intestinal, anaerobias facultativas, fermentadas de carbohidratos, fácil cultivo
- La mayoría oxidasa negativas (excepto *Plesiomonas*)
- Incluye multitud de géneros (*Escherichia*, *Salmonella*, *Klebsiella*, *Citrobacter*, *Enterobacter*, *Shigella*, *Proteus*, etc)
- Causantes de patología diversa; infecciones piel y partes blandas, neumonía, bacteriemia, endocarditis, infección gastrointestinal, infección de orina, etc

Escherichia coli

- Enterobacteria más frecuentemente aislada en el laboratorio de microbiología
- Principal causante de infección urinaria
- Lactosa positiva



Salmonella spp, *Shigella* y *Yersinia*

- Causantes de enfermedad infecciosa gastrointestinal
- Asociadas a brotes de intoxicación alimentaria
- Diversos serogrupos con distinto perfil de virulencia
- *Salmonella* spp: *S.typhi* causa fiebre tifoidea o tifus, *S.enteritidis* causa gastroenteritis. Produce ácido sulfhídrico.
- *Shigella*: son inmóviles y no fermentan la lactosa. Producen una enteritis aguda (disentería) *S.dysenteriae*, *S.flexneri*, *S.boydii* y *S.sonnei*
- *Yersinia*: bacilo pleomórfico, NO fermenta la lactosa, Ureasa positiva, móvil con flagelos anfítricos o perítricos, forma pilis y fimbrias. *Y.enterocolitica*: gastroenteritis. *Y.pestis*: responsable de la peste (transmitida por roedores)



Medio TSI (triple sugar iron)

pH alcalino: Color rojo

RESULTADOS:

Prueba positiva: La fermentación de la glucosa se lleva a cabo en anaerobiosis, por lo cual la prueba se lee en el fondo del tubo.

Glucosa positiva: Fondo del tubo amarillo

Glucosa negativa: Fondo alcalino, sin cambio.

Sacarosa y lactosa positiva: Superficie amarilla

Sacarosa y lactosa negativas: superficie roja

Lactosa positivo: Color amarillo en el pico de flauta.

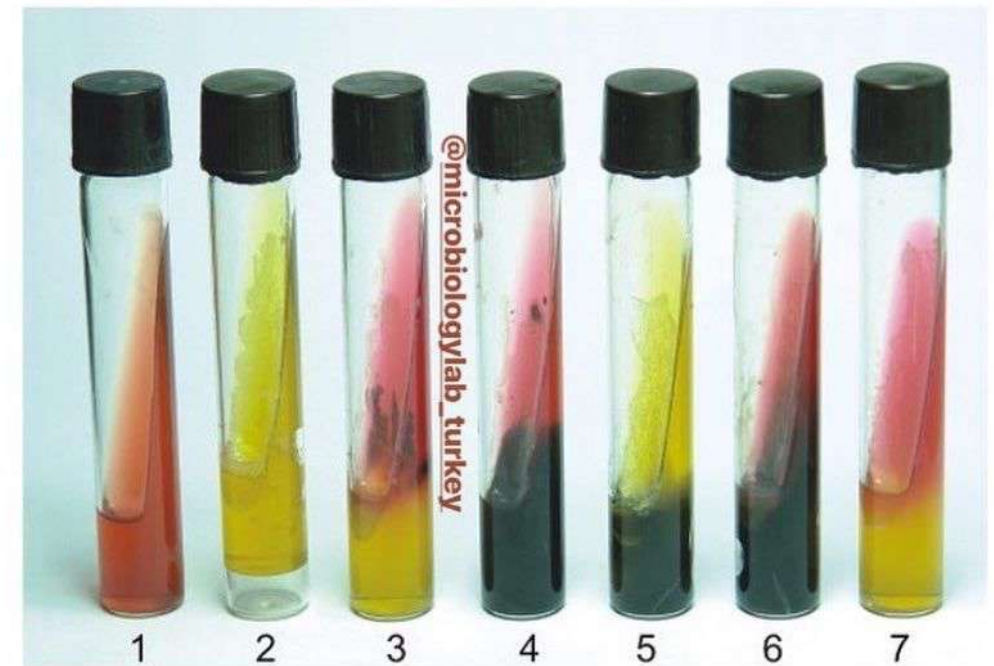
Lactosa negativo: De color rojo en el pico de flauta.

Producción de H₂S: Presencia de una coloración negra.

Producción de CO₂ y H₂: Burbujas, ligera muesca sobre el costado del tubo ó desplazamiento del medio del fondo dejando un espacio libre.

a.- Inocular con el asa recta por picadura y después por estría abierta en forma de "S" sobre el pico de flauta en un tubo con agar TSI a partir de la suspensión.

b.- Incubar el tubo a 35 °C durante 24 h y observar los cambios en el tubo.



Triple Sugar Iron Agar (M021)

1. Control [@microbiologylab_turkey](#)
2. Escherichia coli ATCC 25922
3. Salmonella Typhi ATCC 6539
4. Proteus vulgaris ATCC 13315
5. Citrobacter freundii ATCC 8090
6. Salmonella Typhimurium ATCC 14028
7. Shigella flexneri ATCC 12022

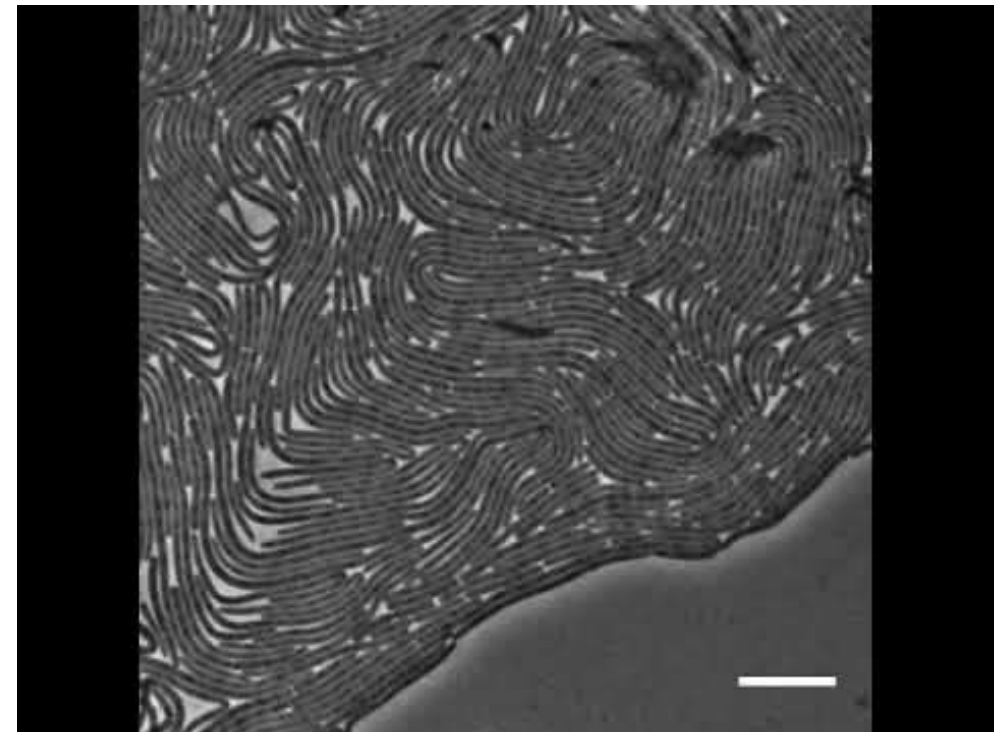
Klebsiella pneumoniae

- Enterobacteria muy frecuente, causante de infección de orina, piel y partes blandas, bacteriemia, etc
- Bacteria de aspecto mucoso en el cultivo, fácilmente identificable
- Lactosa positiva



Proteus mirabilis

- Infección de orina
- Ureasa positiva, potencia la formación de cristales de estruvita, lactosa negativo
- Fenómeno de “swarming” como desplazamiento bacteriano



Vibrio, *Aeromonas* y *Plesiomonas*

***Vibrio* spp:** Bacilo Gram negativo curvado anaerobio facultativo, fermenta la glucosa, catalasa positiva y oxidasa positiva, móvil: flagelo polar. Especies halotolerantes y con frecuencia utilizan el NaCl para crecer, Crecen en el medio de tiosulfato-citrato con sales biliares y sacarosa (TCBS)

V. cholerae: provoca el cólera (toxina colérica)

V. parahaemolyticus: gastroenteritis por mariscos contaminados

V. vulnificus: infección grave de heridas, da colonias azul verdoso

El papel enteropatógeno de *Aeromonas* spp es controvertido y *Plesiomonas* spp sólo se ha descrito como patógeno oportunista



Bacilos gram negativos no fermentadores

- No fermentan los carbohidratos
- Mayoritariamente oxidasa positivos
- Causantes de patología potencialmente grave
- Principal agente de este grupo: *P.aeruginosa*

Diferenciación de los Bacilos Gram negativos no fermentadores

	oxidasa	piocianina	PYR	TRYP *	Crecimiento a 41°	LDC **	ADH ***	Colistina	Dnasa ****
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	+	+	+	+	+	-	+	S	+
<i>Burkholderia cepacia complex</i>	+	-	-	-	V	+	-	R	-
<i>Achromobacter xylosoxidans</i>	+	-	+	-	+	-	-	V	-
<i>Acinetobacter baumannii</i>	-	-	-	-	+	-	-	S	-
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	-	-	-	+	-	+	-	V	-

*TRYP: tripsina aminopeptidasa, ** LDC lisina decarboxilasa, ***ADH: arginina dehidrolasa, **** Dnasa: deosirribonucleasa

Pseudomonas aeruginosa

- Bacilo gram negativo no fermentador, oxidasa positivo,
- Causante de diversa patología: infección urinaria, abdominal, bacteriemia, abscesos, otitis, endoftalmitis, etc
- Importancia epidemiológica por su elevada resistencia a antibióticos
- Aspecto mucoso, coloración verdosa por pigmentos (pioverdina y piocianina)
- Huele a jabón



Burkholderia cepacia, Achromobacter, Acinetobacter baumannii y Stenotrophomonas maltophilia

- Patógenos ambientales, gran importancia en relación a la infección nosocomial debido a su difícil tratamiento
- Gran resistencia a los antibióticos
- Generan brotes en unidades de cuidados intensivos
- Importancia de la colonización rectal por estos patógenos



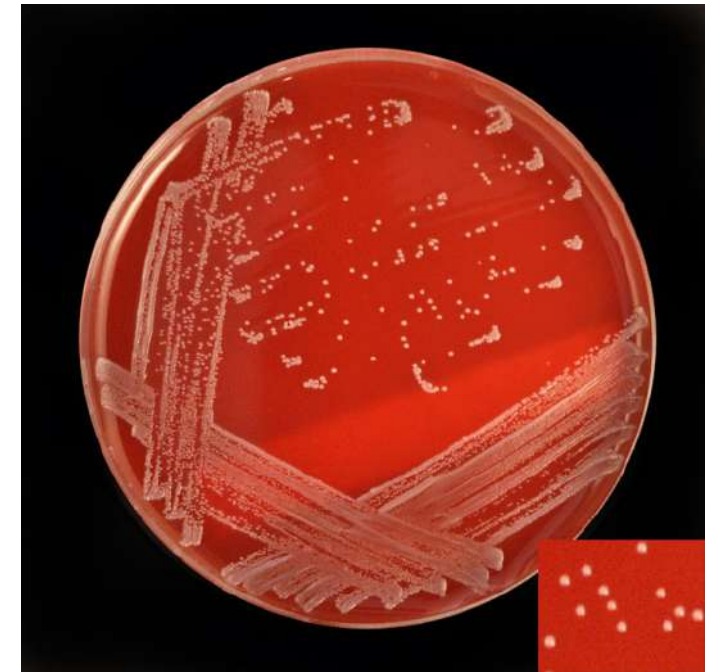
Bacilos Gram positivos aerobios

	Oxidasa	catalasa	Bilis-esculina	movilidad	B-hemolisis	esporas
<i>Corynebacterium spp</i>	V	+	-	-	V	-
<i>Listeria monocytogenes</i>	-	+	+	+	+	-
<i>Bacillus spp</i>		+		+	V	+
<i>Nocardia spp</i>	-	+		-		-

Corynebacterium spp

Bacilo Gram positivo con disposición en letras chinas, aerobia y anaerobia facultativa, catalasa positiva, inmóvil

Incluye varias especies comensales de la piel y mucosas responsables de infecciones en catéteres y prótesis



Especies importantes:

Corynebacterium diphtheriae (bacilo de Klebs-Löffler): Difteria

Corynebacterium jeikeium: infecciones en inmunodeprimidos: ITU

Lysteria monocytogenes

La mayor causa de listeriosis epidémica o esporádica es la transmisión a través de los alimentos (leche no pasteurizada)

Bacilos Gram positivos, aerobios y anaerobios facultativos, móvil, catalasa positiva, no esporulado.

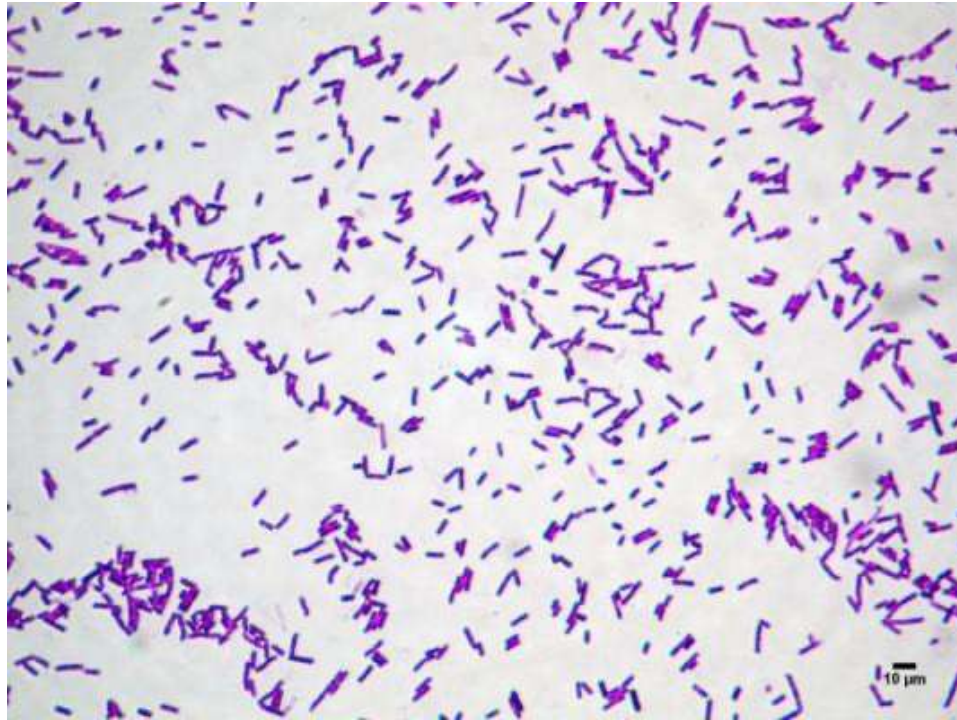
Existen portadores asintomáticos en heces y vagina

Enfermedad perinatal esporádica



Cuadros clínicos: meningitis y sepsis en recién nacidos, ancianos y pacientes inmunodeprimidos. La granulomatosis infantiséptica es un cuadro muy grave

Bacillus spp



Bacilos Gram positivos, inmóviles
aerobios o anaerobios facultativos,
encapsulados y formadores de esporas

Bacillus cereus: toxiinfección alimentaria

Bacillus subtilis: controla la esterilización
del calor seco y óxido de etileno

Bacillus stearothermophilus:
controla la esterilización del autoclave

Bacillus anthracis: causa el ántrax o carbunco (zoonosis)

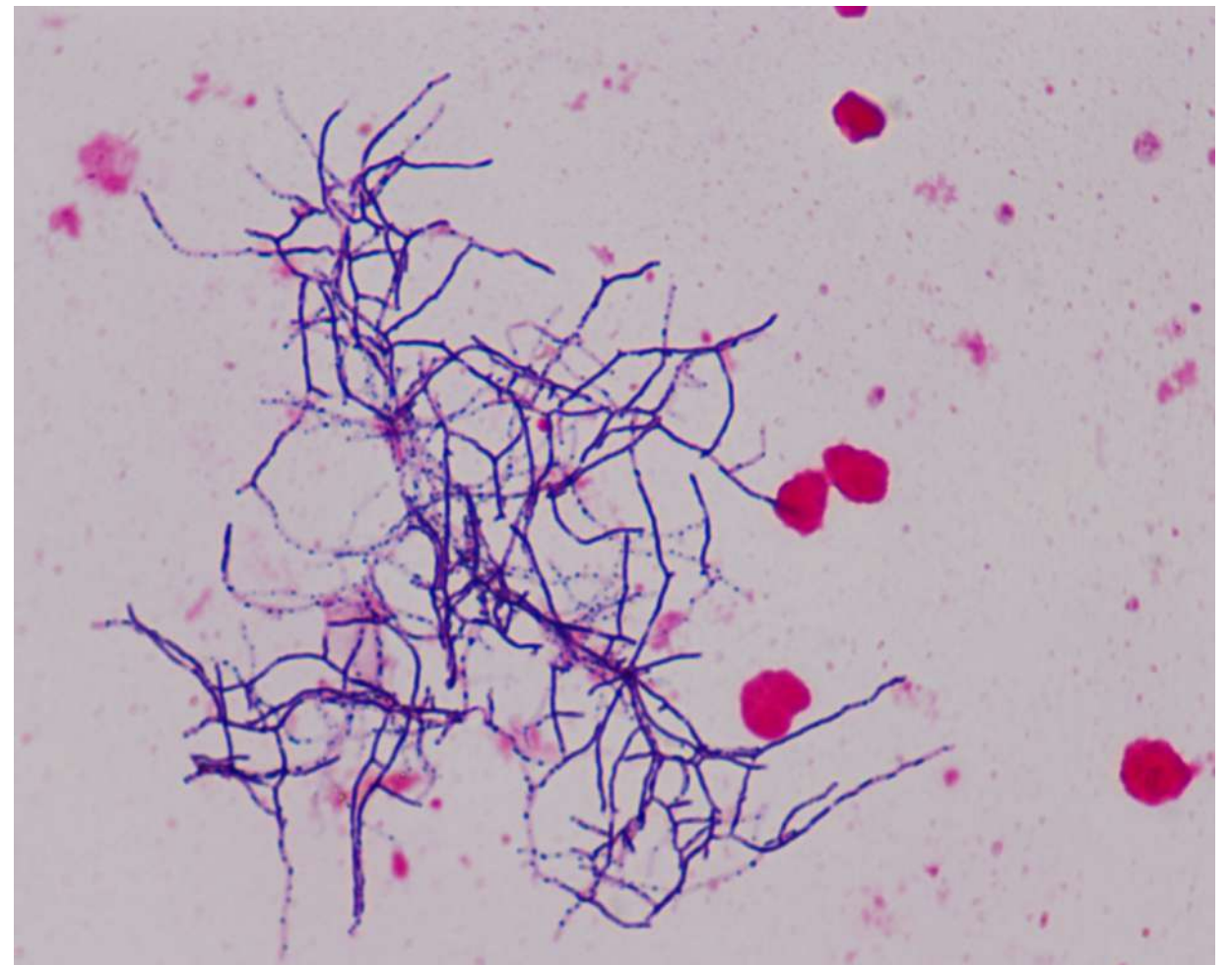
Arma biológica en forma de aerosol, agente potencial de bioterrorismo (categoría A, agente de alta prioridad) las esporas pueden sobrevivir años e incluso décadas en el suelo. Requiere un laboratorio de bioseguridad NIVEL 3

Nocardia spp



Bacilos Gram positivos ácido alcohol
resistentes (AAR) débil,
filamentados y ramificados,
Catalasa positivos.
Crecimiento lento (aspecto de yeso)

Se encuentra en el suelo y produce
habitualmente infección pulmonar



Otras bacterias...

- Campylobacter
- Haemophilus
- Helicobacter
- Bordetella

Campylobacter spp

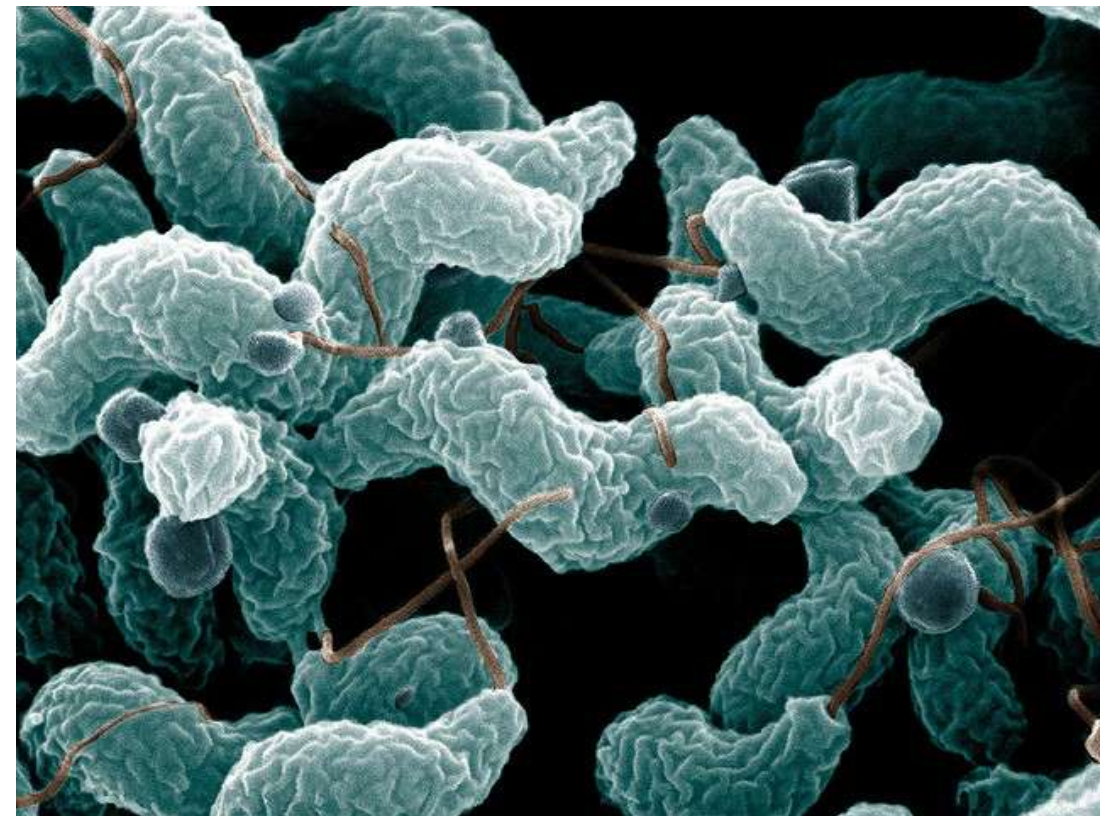
Bacilos Gram negativos con forma curvada en espiral, microaerófilos, Catalasa y oxidasa positivos y móviles, no fermentan azúcares.

La especie más importante *Campylobacter jejuni*, seguido de *C. coli*

Produce infecciones intestinales con diarrea (campilobacteriosis).

El antecedente de esta infección es un factor de riesgo para el desarrollo del Síndrome de Guillain-Barré

Requieren temperaturas de 42°C para su aislamiento inicial y los medios con carbón facilitan su crecimiento.
C. jejuni es hipurato positivo



Haemophilus influenzae



Bacilos Gram negativos pequeños y polimorfos.

Oxidasa y catalasa positivos

Anaerobios facultativos. Inmóvil.

Requieren factores específicos para su crecimiento:

Factor X: hemina y

Factor V: NAD* (nicotilamina adenil dinucleotido)

Crece en CH y atmósfera rica en CO₂

Infecciones: área ORL, respiratorias y meningitis

Bordetella pertussis



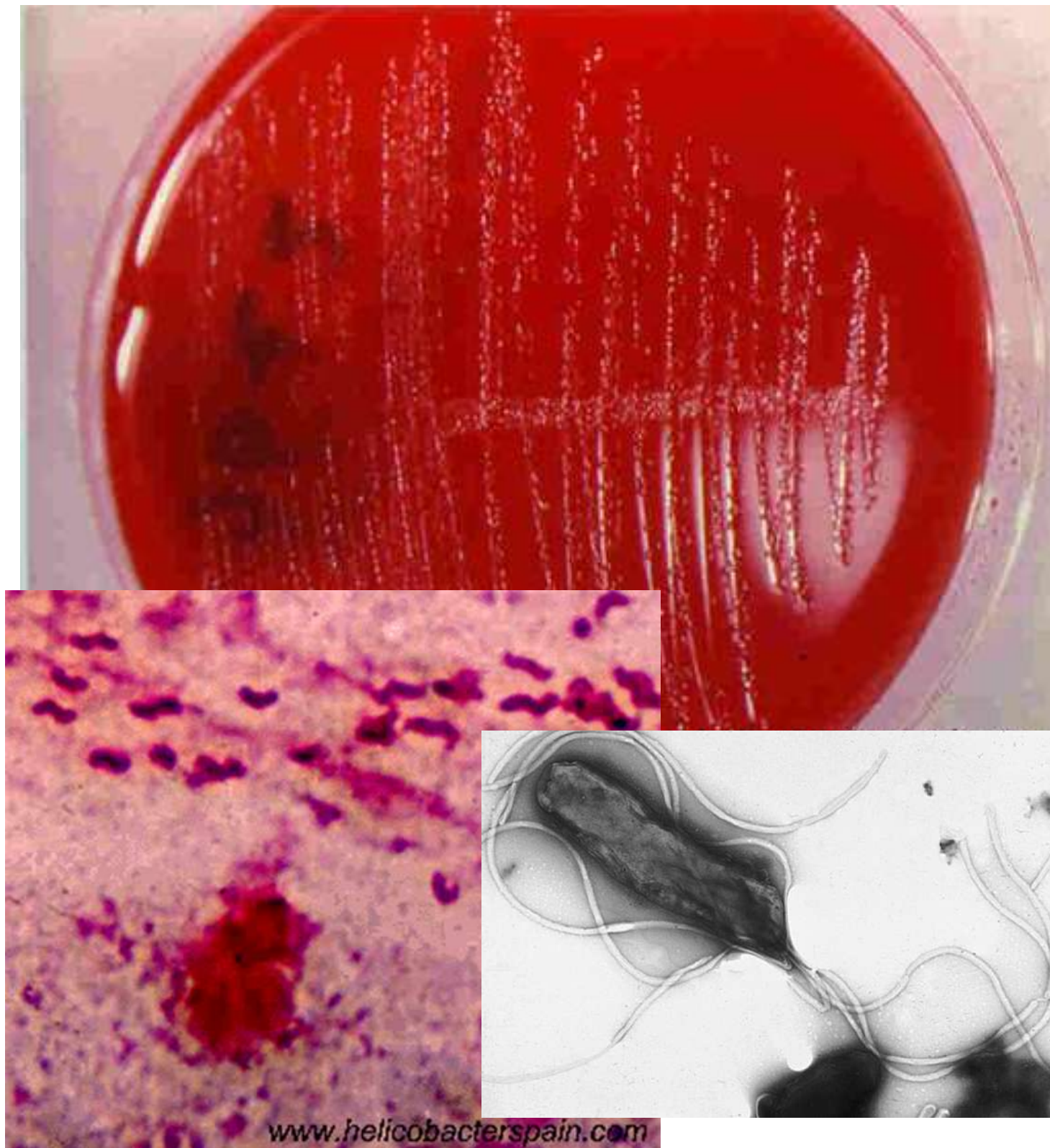
Cocobacilos o bacilos cortos Gram negativos, aerobios estrictos, nutricionalmente exigentes y de crecimiento lento, inmóviles y Oxidasa y catalasa positivos, capsulados. Presentan gránulos metacromáticos bipolares al ser teñidos con azul de toluidina.

Es el agente causal de la tosferina

Medio de Bordet-Gengou

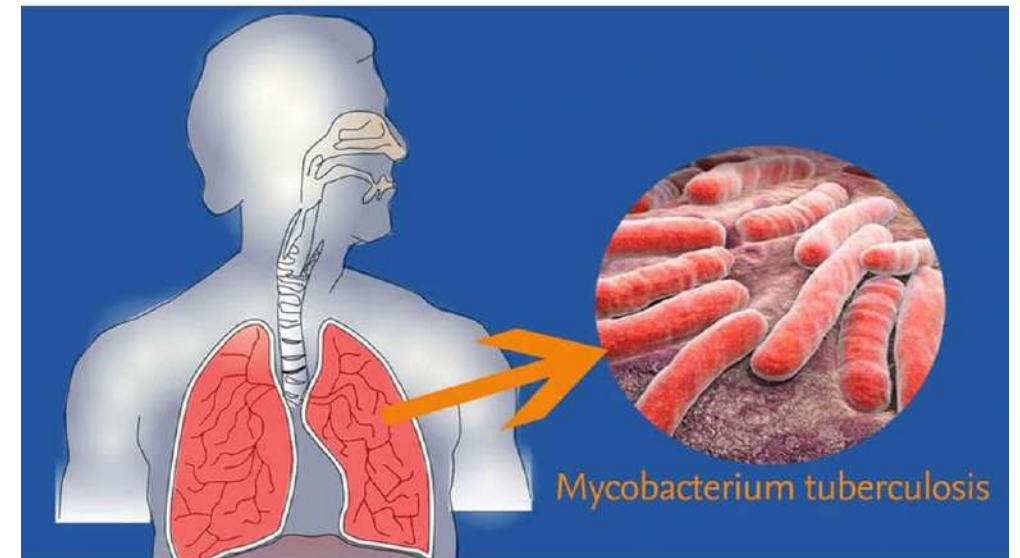
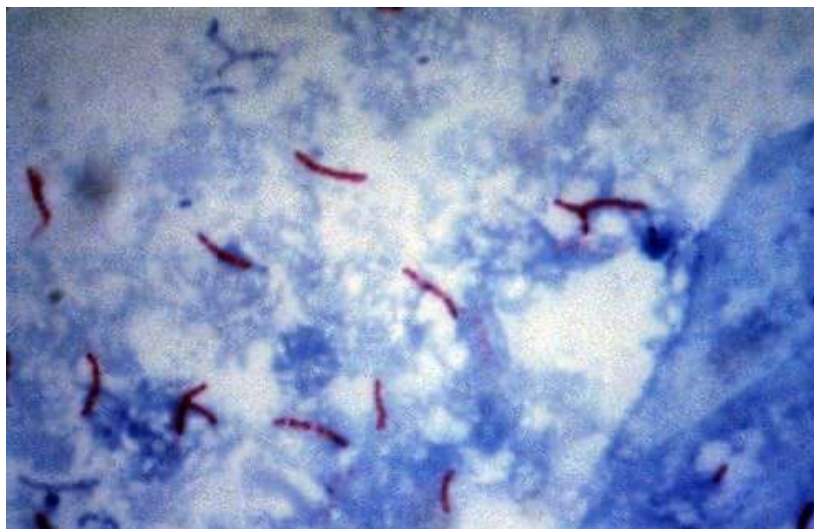
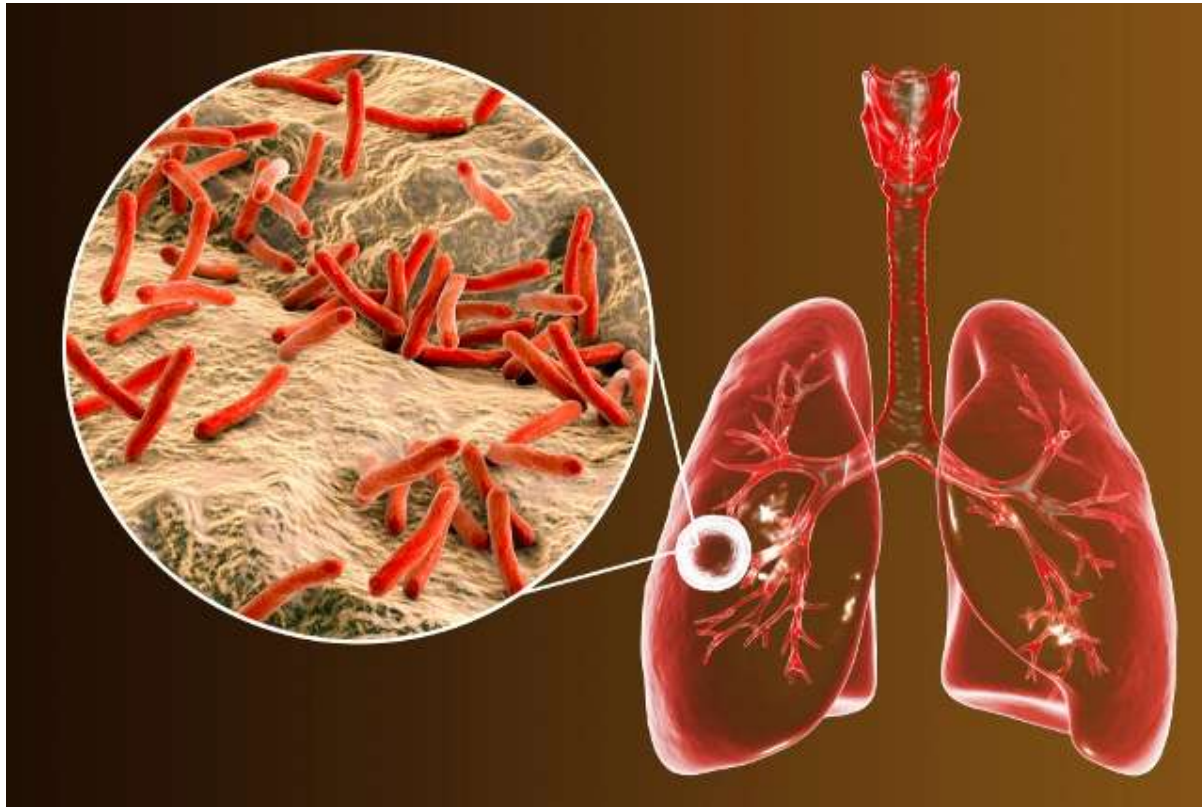
Diagnóstico actual: PCR

Helicobacter pylori



- Bacteria Gram negativa de forma espiral
- Tiene unos 4-6 flagelos.
- Es microaerófila, es decir, requiere oxígeno pero a concentraciones más bajas de las encontradas en la atmósfera.
- Es oxidasa y catalasa positiva.
- Producen ureasa

Micobacterias

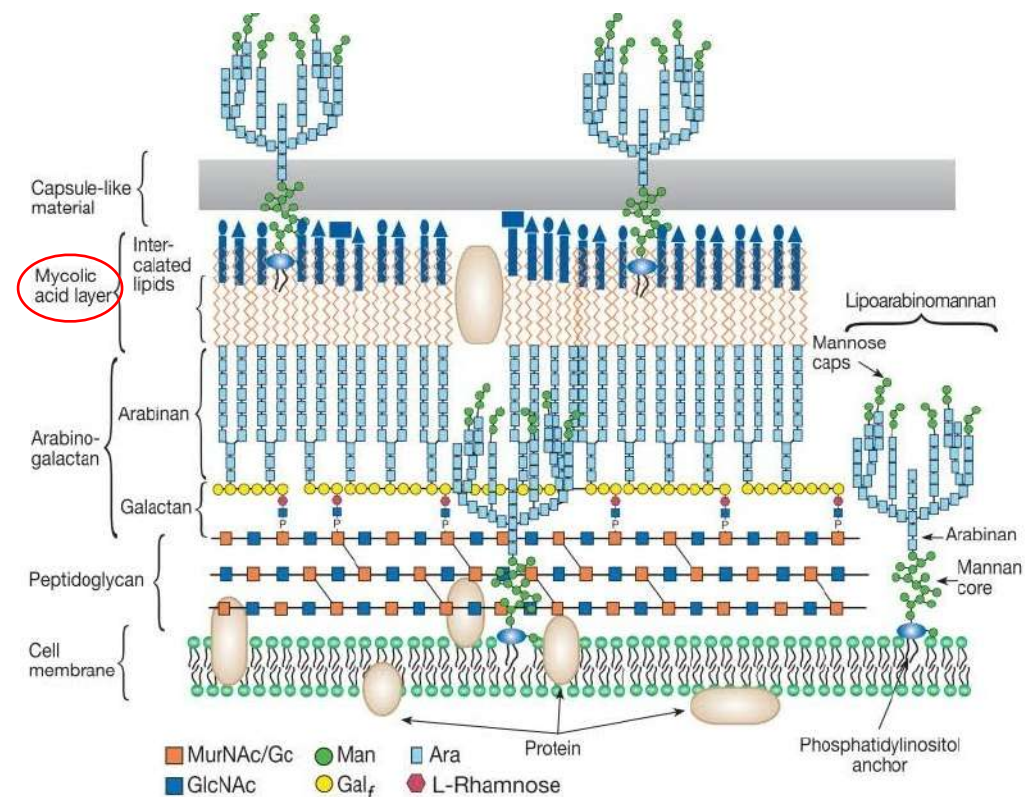


Características generales de las micobacterias

- ❖ Del griego “*myces*” que significa hongo y “*bakterium*” que significa pequeña vara. “Bacilo semejante a un hongo”
- ❖ Pertenecientes al Phylum Actinobacteria
- ❖ Género dentro de la familia *Mycobacteriaceae*
- ❖ Bacilos aerobios inmóviles no esporulados
- ❖ Tamaño comprendido entre $0,2$ a $0,6 \times 1$ a $10 \mu\text{m}$

Propiedades características

- ❖ Su capacidad de acidorresistencia
- ❖ La presencia de ácidos micólicos con 70 a 90 átomos de carbono
- ❖ Un contenido elevado (61-71%) de guanosina + citosina (G + C) en su ADN.



Mycobacterium tuberculosis

- Micobacteria siempre patógena, su aislamiento debe tenerse en cuenta en cualquier situación
- Causante de la tuberculosis, enfermedad pulmonar o sistémica, causante de miles de muertes anuales
- Difícil cultivo y diagnóstico



Diagnóstico de tuberculosis

Prueba de Mantoux, tuberculina o PPD



Cultivo: medio de Löwenstein-Jensen y cultivo en medio líquido (MGIT)



PCR



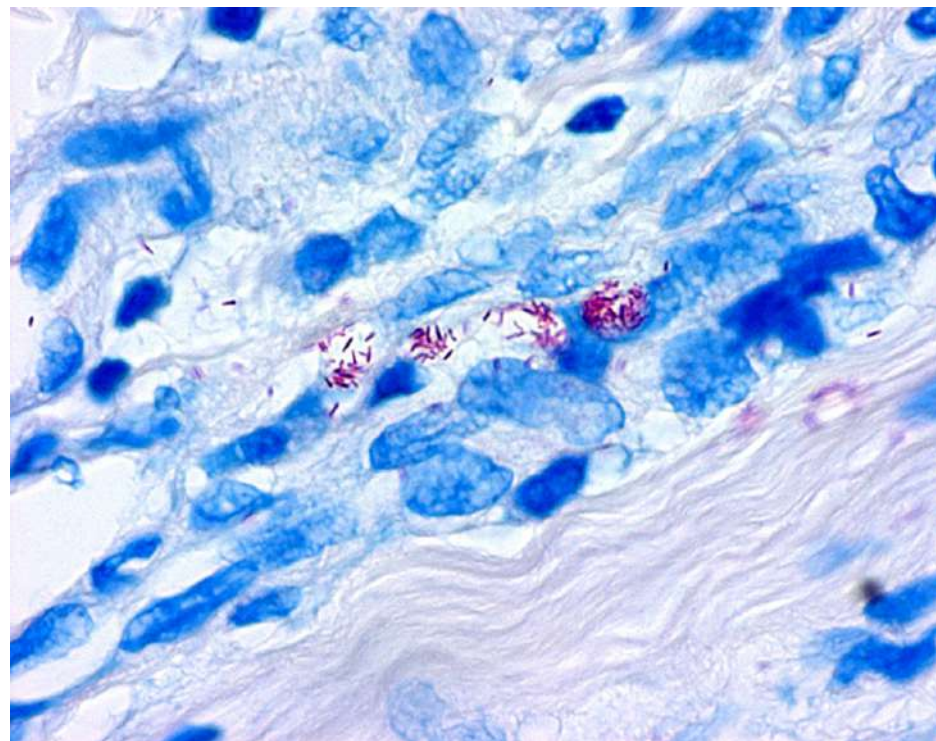
Micobacterias ambientales

- ❖ Tradicionalmente conocidas como micobacterias atípicas
- ❖ También conocidas como micobacterias no tuberculosas
- ❖ Grupo de micobacterias diferentes de *Mycobacterium tuberculosis complex* (*M.bovis*, *M.africanum*, *M.microti*, *M.canetti*, *M.caprae*, *M.pinnipedii*, *M.suricattae* y *M.mungi*) y micobacterias causantes de lepra (*M.leprae* y *M.lepromatosis*)
- ❖ Causantes de patología ocasional y oportunista
- ❖ Mayoría de especies no patógenas

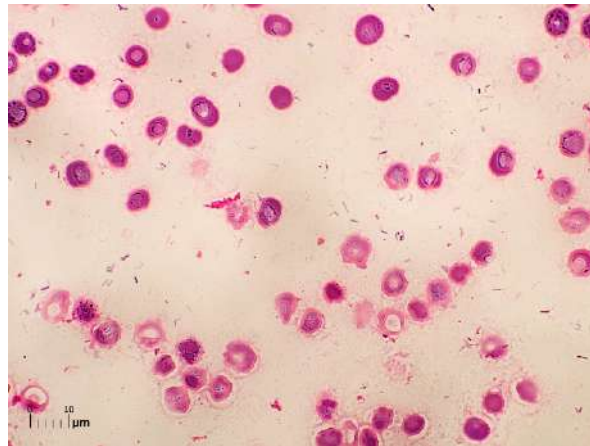
¿Qué especies forman parte de este grupo?

Crecimiento lento	Crecimiento rápido
<i>Mycobacterium avium complex</i> (MAC)	<i>Mycobacterium abscessus</i>
<i>Mycobacterium kansasii</i>	<i>Mycobacterium chelonae</i>
<i>Mycobacterium xenopi</i>	Grupo <i>Mycobacterium fortuitum</i>
<i>Mycobacterium mageritense</i>	Otras micobacterias de crecimiento rápido
<i>Mycobacterium szulgai</i>	
<i>Mycobacterium ulcerans</i>	

Características de algunas micobacterias ambientales y relevancia clínica



Tinción de Ziehl-Neelsen



Auramina



Medio MGIT

Micobacterias ambientales de crecimiento lento

Mycobacterium avium complex:

- ❖ *Mycobacterium avium* subsp. *hominissuis* y *M.intracellulare* subsp. *intracellulare* principales patógenos de este complejo
- ❖ Afectan mayoritariamente a pacientes con patología pulmonar de base; EPOC, enfisema, asma, bronquiectasias, etc y cierto grado de inmunosupresión
- ❖ Diferentes patrones radiológicos pulmonares
- ❖ Causante de linfadenitis cervical, principal agente etiológico en menores de 5 años

Mycobacterium avium complex

Mycobacterium intracellulare

- *Mycobacterium intracellulare* subsp. *intracellulare*
- *M.intracellulare* subsp. *yongonense*
- *M.intracellulare* subsp. *chimaera*

Mycobacterium avium

- *M.avium* subsp. *avium*
- *M.avium* subsp. *paratuberculosis*
- *M.avium* subsp. *silvaticum*
- *M.avium* subsp. *hominissuis*

Otras especies:

- *M.vulneris*
- *M.marseillense*
- *M.bouchedurhonense*
- *M.arosiense*
- *M.indicus*
- *M.timonense*

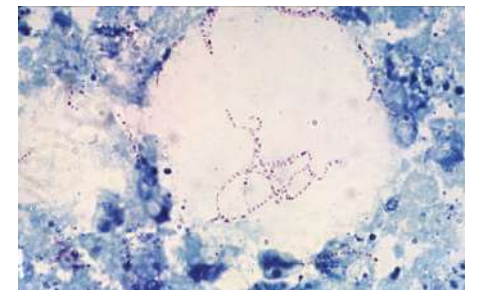
Mycobacterium kansasii:



- ❖ Micobacteria fotocromógena que produce infecciones pulmonares con patrón fibrocavitario similar a la tuberculosis. Puede causar infecciones diseminadas en pacientes inmunodeprimidos

Mycobacterium xenopi:

- ❖ Responsable de enfermedad fibrocavitaria o nodular y de enfermedad diseminada en inmunodeprimidos, al igual que MAC



Mycobacterium ulcerans:

- ❖ Causante de la úlcera de Buruli, enfermedad prevalente en el trópico y de consecuencias devastadoras si no se diagnostica y se trata adecuadamente.
- ❖ Cultivo difícil, lento, a bajas temperaturas (28-33°C) y con medios enriquecidos
- ❖ Importancia del desbridamiento quirúrgico precoz

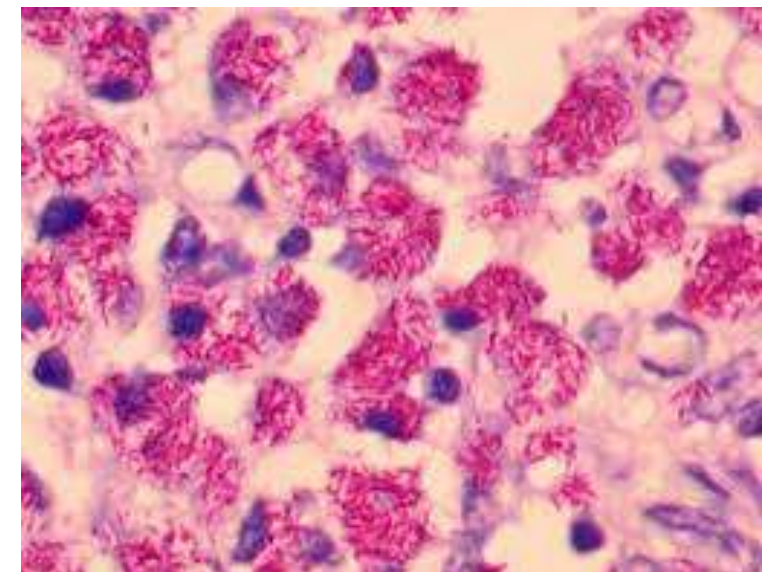


Micobacterias ambientales de crecimiento rápido

- ❖ Dentro del género *Mycobacterium*, las micobacterias de crecimiento rápido (MCR) suponen casi el 60% de las especies descritas
- ❖ La mayoría nunca han sido descritas como causante de patología en humanos
- ❖ Las causantes de patología suelen pertenecer al grupo de especies no pigmentadas
- ❖ Amplio espectro de infecciones causadas por MCR

Mycobacterium abscessus:

- ❖ Catalogada como subespecie de *M.chelonae* hasta 1992
- ❖ Presente en el suelo y en el agua
- ❖ Causante de enfermedad crónica pulmonar, linfadenitis, infección de heridas postraumáticas o enfermedad cutánea diseminada principalmente en pacientes inmunodeprimidos



Mycobacterium fortuitum:

- ❖ Micobacteria de crecimiento rápido, de similar patogenia que *M.abscessus*
- ❖ Causante de sobreinfecciones quirúrgicas o linfadenitis



Lesiones purulentas en zonas de incisión por abdominoplastia en paciente de Suiza que se realiza cirugía estética en Perú. En cultivo de exudado se aísla *M.fortuitum*

Postsurgical wound infections due to rapidly growing mycobacteria in Swiss medical tourists following cosmetic surgery in Latin America between 2012 and 2014. Maurer et al. 2015

El caso de *M.chimaera*

- ❖ Micobacteria perteneciente a *Mycobacterium avium complex*, concretamente a la subespecie *M.intracellulare* subsp. *chimaera*
- ❖ Aislada por primera vez en un BAL en un paciente de Bolonia (Italia) e identificada posteriormente por *Tortoli et al* en 2004
- ❖ Relevancia clínica internacional en 2016 a raíz de casos de infecciones en pacientes sometidos a cirugía cardíaca por contaminación de máquinas de circulación extracorpórea

Mycobacterium marinum:

- ❖ Aronson aisló por primera vez la micobacteria en 1926 en un pez, pero no fue hasta 1951 que se relaciona con patología en humanos por *Linell y Norden*
- ❖ De crecimiento lento o rápido
- ❖ Habita en agua dulce o salada
- ❖ Granuloma de los acuarios
- ❖ Se ha descrito movilidad dentro de los macrófagos
- ❖ Se ha descrito capacidad de esporulación



ANAEROBIOS

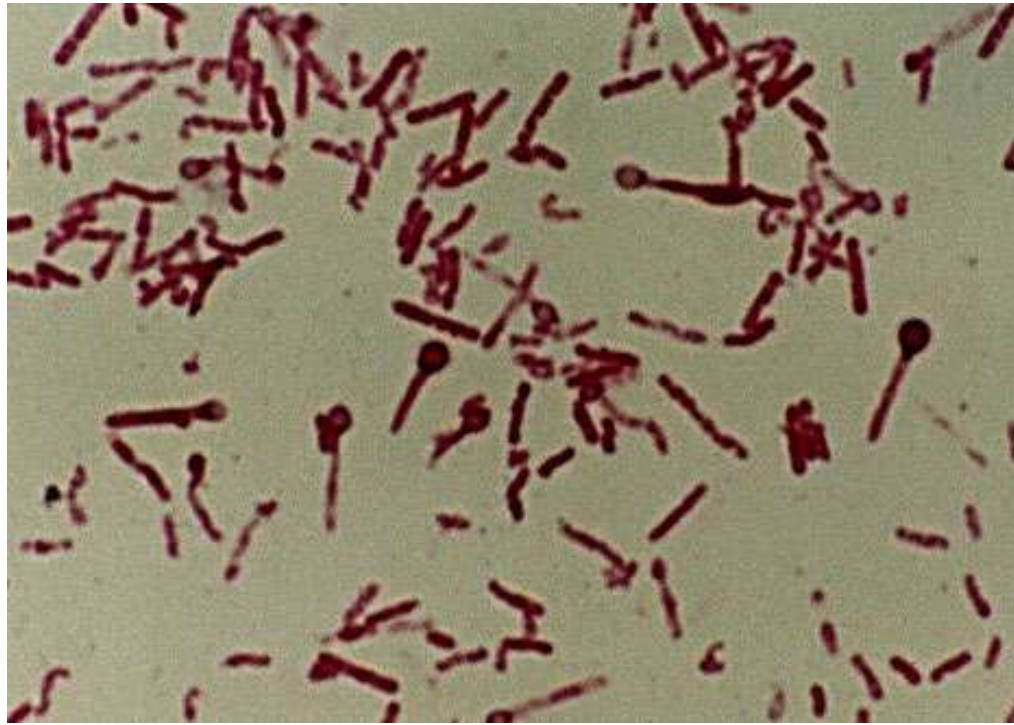
Las bacterias anaerobias estrictas sólo crecen en ausencia de oxígeno, que es letal para ellas.

Habitualmente forman parte de la flora orofaríngea e intestinal y causan infecciones polimicrobianas como abscesos, infecciones intrabdominales, e infecciones de herida quirúrgica. Es característico el mal olor de las de las heridas.



	Géneros	Especies importantes
Cocos Gram positivos	Peptostreptococcus Peptococcus	
Cocos Gram negativos	Veillonella	
Bacilos Gram negativos	Bacteroides Prevotella Porphyromonas Fusobacterium	<i>B. fragilis</i> <i>B. thetaiotaomicrom</i> <i>P. melaninogenica</i> <i>P. asaccharolytica</i> <i>F. nucleatum</i>
Bacilos Gram positivos	Clostridium Propionibacterium Actinomyces	<i>C. tetani</i> , <i>C. perfringes</i> , <i>C. botulinum</i> , <i>C. difficile</i> <i>P. acnes</i> <i>A. israelii</i>

Clostridium spp



Es característico la formación de esporas y son catalasa negativos.

Se encuentran distribuidos en el suelo y forman parte de la flora normal gastrointestinal

* ***Clostridium tetani***: Produce el Tétanos (potente exotoxina que ataca el SNC)

* ***Clostridium perfringens***: Produce la gangrena gaseosa, es la que se aísla con más frecuencia en muestras clínicas. Elabora toxinas que destruyen los tejidos.

(bacilo corto y grueso con coloración irregular, con esporas ovales subterminales y un doble halo de hemólisis característico en agar sangre)

* ***Clostridium botulinum***: Botulismo (toxina botulínica), forma esporas-conservas

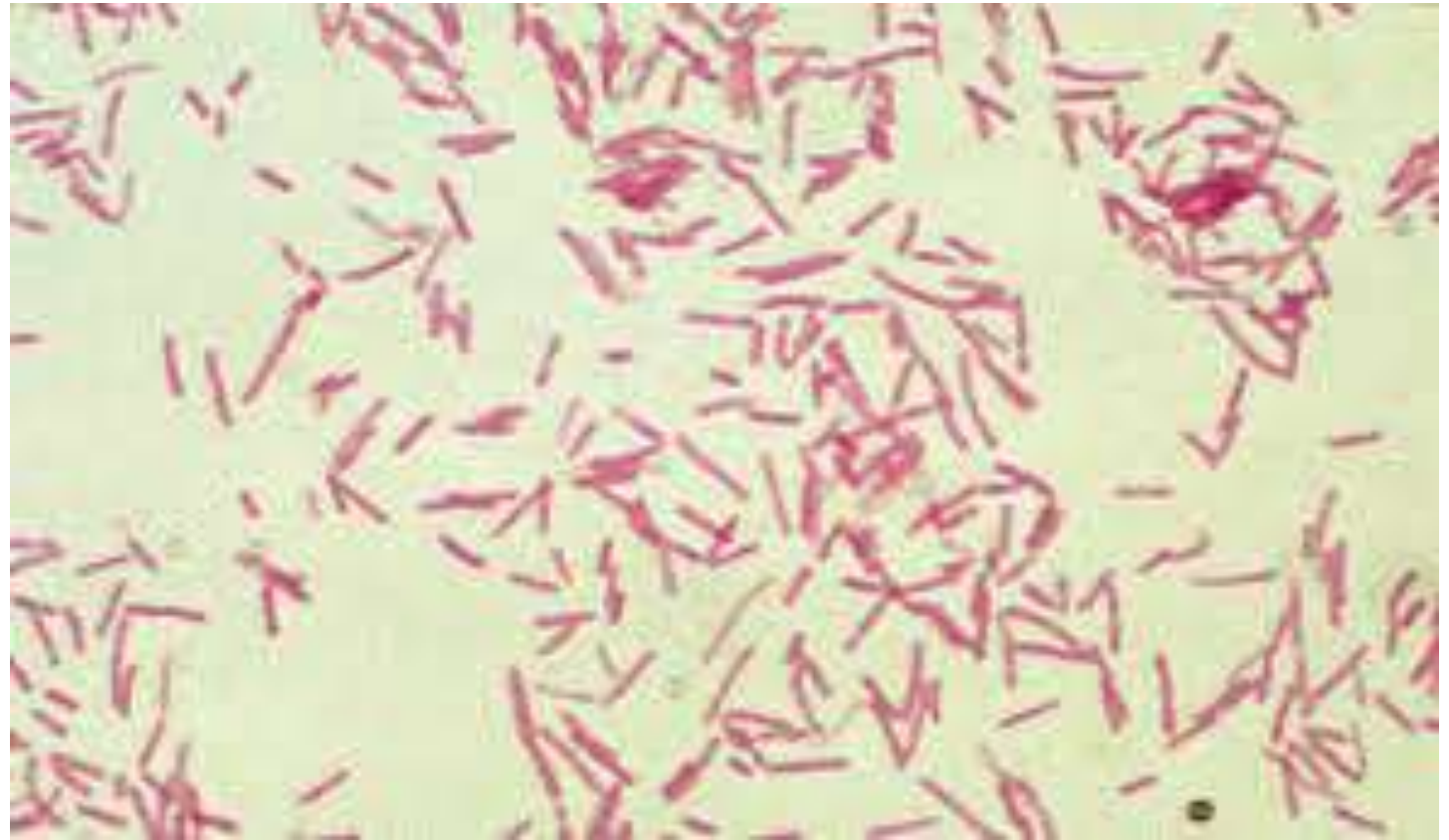
* ***Clostridium difficile***: colitis pseudomembranosa tras tratamientos antibióticos

(en el medio CCFA* da colonias amarillas por fermentación de la fructosa, estriadas y de olor inconfundible a heces de caballo) * Cicloserina cefoxitina fructosa agar

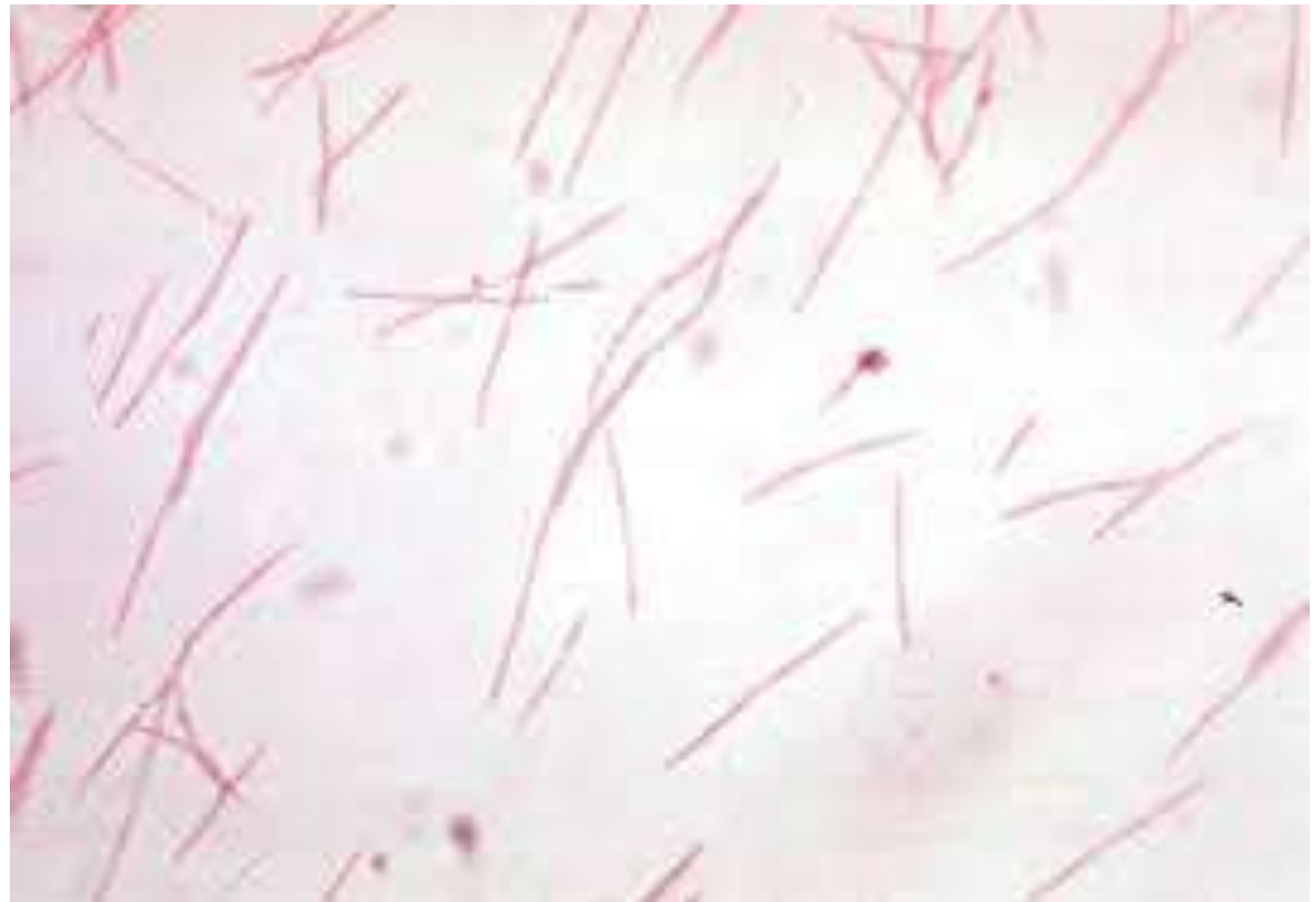
Bacteroides fragilis

Las bacterias anaerobias
Gram negativas presentan
muy diversas morfologías.

Implicados en infecciones
polimicrobianas



Fusobacterium nucleatum

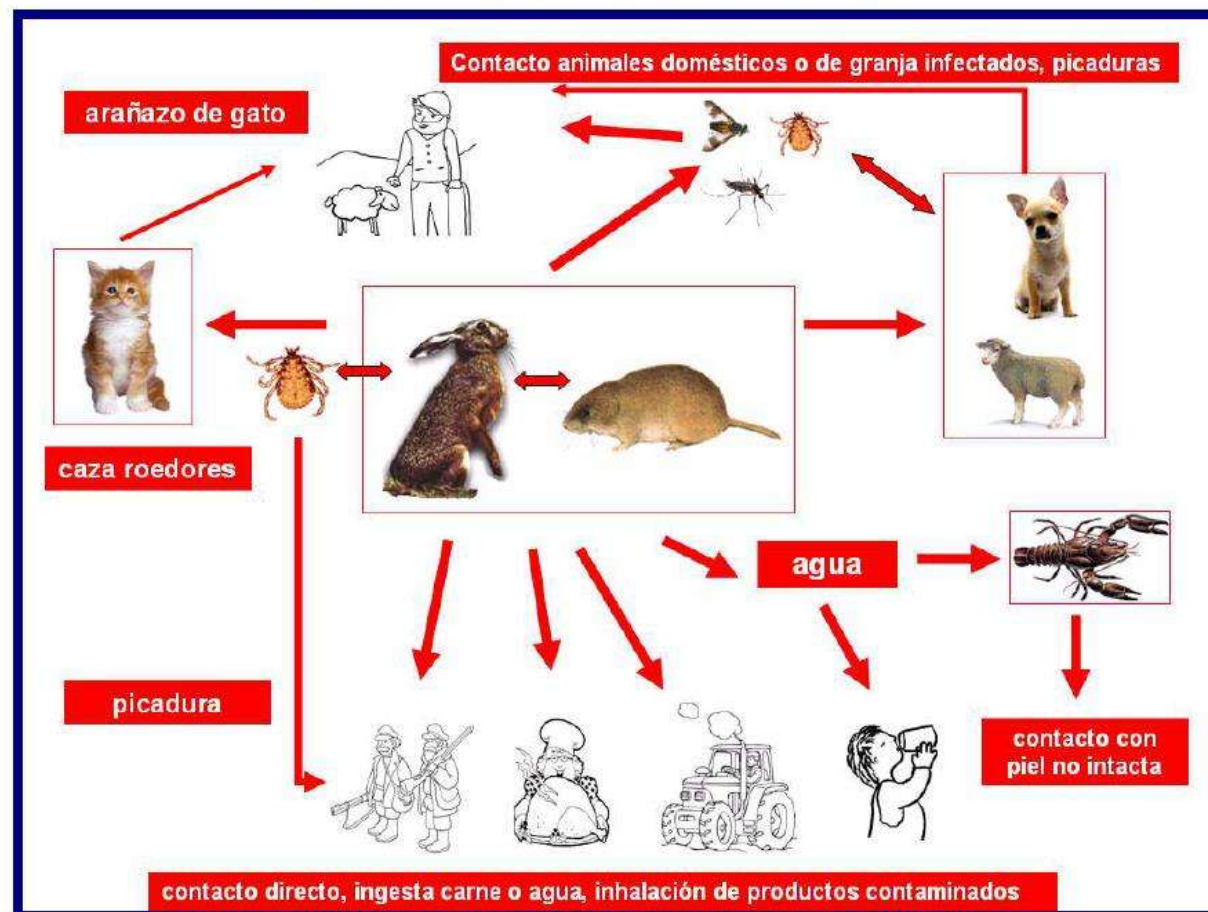


Bacterias con potencial bioterrorista

- Tularemia
- Brucelosis
- Ántrax
- Legionella

Tularemia (*Francisella tularensis*)

Figura 1. Mecanismos de transmisión de la tularemia



Cocobacilo gram – pequeño y pleomorfo, aerobio estricto, no esporulado, catalasa +, oxidasa- y ureasa -.

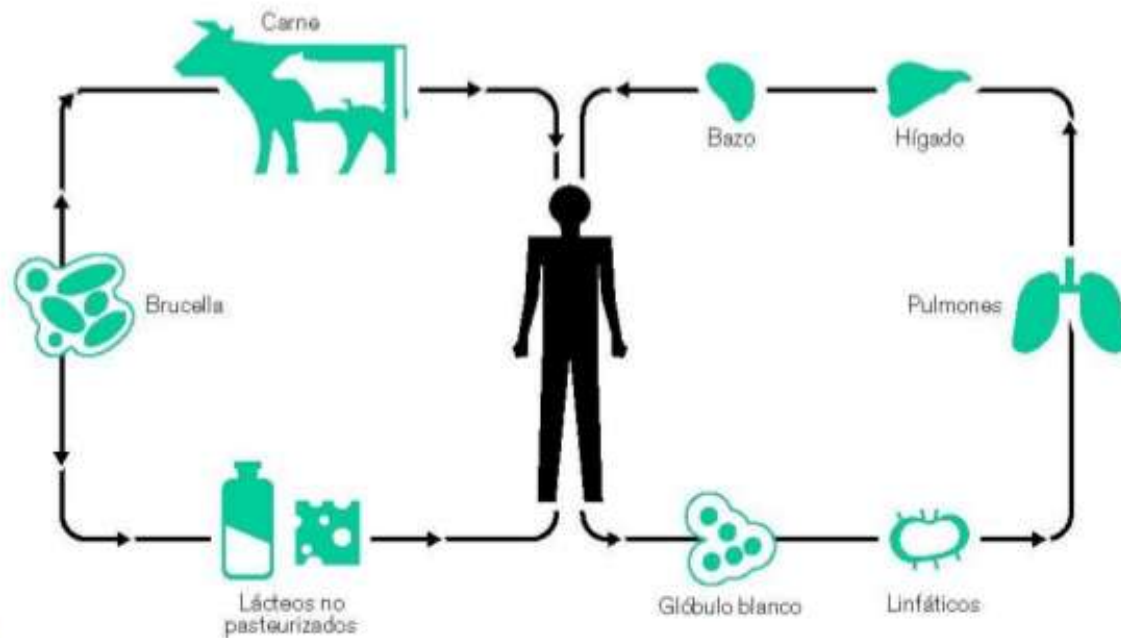
- Colonias verdosas y opalescentes (agar corazón y cisteína 48h 35° C)
- AS, ACH o TM colonias pequeñas blancuecinas.
- El CO₂ facilita su crecimiento, incubaciones prolongadas (15 días)

Capacidad bioterrorista por diseminación de aerosoles
Clínica diversa: intestinal, ulcerante, neumonía, etc

Brucelosis (*Brucella* spp)

INSIDIOSA ENFERMEDAD

Ciclos del contagio y de los efectos de la brucelosis



FUENTE: EDUARDO MORENO ROSALES

B.B. / LA NACIÓN

B. melitensis,
B. abortus,
B. suis y
B. canis
se asocian con
enfermedad
humana.

Brucella melitensis
es la especie más
virulenta

Diagnóstico microbiológico

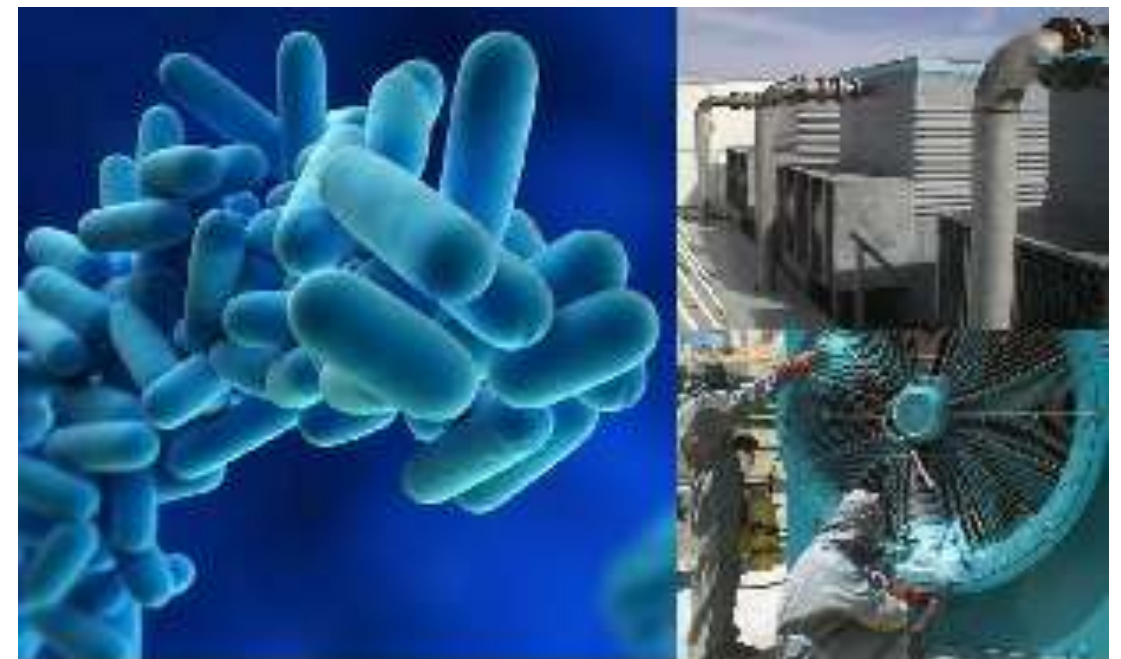
- La bacteria crece lentamente, necesitando un mínimo de 3 días hasta 2 semanas.
- Coco-bacilos diminutos
- Medio Brucella
- La temperatura óptima de incubación del cultivo es de 35°C.
- Son aerobios estrictos aunque algunas cepas requieren suplemento de CO₂, inmóviles

Identificación de *Brucella spp*

- Morfología típica en la tinción de gram.
- Colonias típicas que crecen lentamente en hemocultivos o cultivos de médula ósea.
- Reacción de catalasa, oxidasa y ureasa +
- Reacción de Indol y Voges Proskauer -
- No fermentan los hidratos de carbono
- Reactividad con anticuerpos específicos contra *Brucella spp* (Rosa de Bengala)

Legionella pneumophila

- Bacteria pleomórfica, flagelada y gram negativa, oxidasa y catalasa positivas
- Aerobia, reside en zonas acuáticas, máquinas de refrigeración, humidificadores, etc
- Causa brotes
- Causante de neumonía atípica (del legionario) o infección extrapulmonar (fiebre de Pontiac)



Conclusiones

- La identificación bacteriana puede ser compleja y se basa en multitud de técnicas distintas
- Importancia de las nuevas técnicas como MALDI-TOF o la PCR
- Conocer los grandes grupos bacterianos y sus características es algo esencial para una buena praxis en el laboratorio

**¡Muchas gracias por la
atención!**