

Bacterias anaerobias

importancia y diagnóstico

Autora:

Lucía Constanza Corrales Ramírez



UNIVERSIDAD COLEGIO
MAYOR DE CUNDINAMARCA

SELLO EDITORIAL

Bacterias anaerobias: importancia y diagnóstico

Catalogación en la publicación – Biblioteca Nacional de Colombia

Corrales Ramírez, Lucía Constanza, autor
Bacterias anaerobias: importancia y diagnóstico/ autora, Lucía Constanza Corrales Ramírez. -- Bogotá : Sello Editorial Universidad Colegio Mayor de Cundinamarca, 2024.
644 páginas.

Incluye referencias bibliográficas al final de cada capítulo.

ISBN 978-958-5198-27-2

1. Bacterias anaeróbicas - Identificación 2. Enfermedades bacterianas - Diagnóstico 3. Bacteriología médica 4. Microbiología médica

CDD: 616.9201 ed. 23

CO-BoBN– 00300

©Lucía Constanza Corrales Ramírez

© UNIVERSIDAD COLEGIO MAYOR DE CUNDINAMARCA

Sello Editorial Universidad Colegio Mayor de Cundinamarca
Carrera 13 No. 38- 29, Edificio San Juan, noveno piso
selloeditorial@unicolmayor.edu.co
www.unicolmayor.edu.co

Diseño de portada, diagramación e impresión: Imageprinting SAS
Corrección de Estilo: Image Printing SAS

Bogotá, Colombia, 2024

ISBN: 978-958-5198-27-2

El contenido de esta obra está protegido por las leyes y tratados internacionales en materias del Derecho de autor. Queda prohibida su reproducción total o parcial por cualquier medio impreso o digital conocido o por conocer sin contar con la previa autorización de la Universidad Colegio Mayor de Cundinamarca.

Bacterias anaerobias: importancia y diagnóstico

Autora:

Lucía Constanza Corrales Ramírez



**UNIVERSIDAD COLEGIO
MAYOR DE CUNDINAMARCA**

SELLO EDITORIAL

Universidad Colegio Mayor de Cundinamarca

Tabla de contenido

Entrada de los microorganismos	90
Respuesta inmune del hospedero	93
Principales elementos del sistema inmune	95
Evolución del proceso infeccioso por bacterias	103
Evasión a la respuesta de la inmunidad innata del hospedero	112
Fagocitosis e inflamación	113
Trasmisión a otros hospedadores	122
Factores de virulencia	122
Estructuras externas o de la envoltura celular	123
Capacidad de adherencia e invasión en las superficies epiteliales	128
Producción de toxinas	132
Producción de enzimas	140
Movilidad	153
Estructuras de conservación	155
Bloqueadores y adaptaciones para eludir la respuesta inmune	158
Factores que promueven la propagación y que intervienen en los procesos de coagulación	160
Inhibición de la fagocitosis	161
Interacción bacteriana	162
Elementos extracromosómicos	165
Evaluación y repaso	167
Lista de figuras	168
Lista de tablas	170
Referencias	171
Capítulo III: Procesos infecciosos con los que se asocian	177
Temáticas: Infecciones de tipo endógeno y exógeno asociadas a las bacterias anaerobias.	

Resumen	179
Introducción	181
Infecciones causadas por bacterias anaerobias	184
Bacterias anaerobias Gran negativas	187
Grupo I: cocos Gram positivos anaerobios	188
Grupo II: cocos Gram negativos anaerobios	208
Grupo III: bacilos Gram positivos anaerobios no esporulados	223
Grupo IV: bacilos Gram negativos	268
Grupo V: bacilos Gram positivos anaerobios esporulados	320
Evaluación y repaso	354
Lista de figuras	355
Lista de tablas	357
Referencias	358

Capítulo IV: Requerimientos nutricionales, aislamiento y métodos de identificación 391

Temáticas: Toma de muestra, tinción de Gram (examen directo de los materiales clínicos), cultivo (selección y uso de los medios, sistemas anaerobios para el cultivo) e identificación (presuntiva y por pruebas bioquímicas).

Resumen	393
Introducción	395
Fisiología y condiciones de crecimiento para las bacterias anaerobias, requerimientos nutricionales y medios de cultivo	398
Pruebas bioquímicas y otros métodos para su caracterización, métodos de incubación	431
Tablas y flujogramas de identificación	453
Galería de fotos	509
Evaluación y repaso	530
Lista de figuras	531

Lista de tablas	533
Lista de fotos	534
Referencias	537
Capítulo V: Resistencia bacteriana y pruebas de sensibilidad a los antibióticos	543
Temáticas: tipos de resistencia y métodos de evaluación de la sensibilidad de los anaerobios a los antibióticos.	
Resumen	545
Introducción	547
¿Qué son los antibióticos?	549
Mecanismos de acción de los antimicrobianos	556
Resistencia a los antibióticos	571
Mecanismos de resistencia que presentan las bacterias	581
Actividad antimicrobiana <i>in vitro</i>	596
Medición de la actividad antimicrobiana en bacterias anaerobias	599
Evaluación y repaso	628
Lista de figuras	631
Lista de tablas	632
Lista de fotos	633
Referencias	634

Agradecimientos

A Dios por haberme regalado la posibilidad de ser bacterióloga y, a través de ello, conocer e interesarme por la microbiología, así como poner al servicio de los demás el conocimiento adquirido.

A los estudiantes, principal motivación en el deseo de ser mejor en mi vocación como docente.

A mi familia por su apoyo permanente e incondicional y a la **Universidad Colegio Mayor de Cundinamarca** por darme la posibilidad y el tiempo de escribir este texto que con amor pongo a disposición de la comunidad académica.

Prólogo

Antes de que Louis Pasteur a mediados del siglo XIX explicara experimentalmente que las bacterias eran la causa de algunas enfermedades infecciosas y, Robert Koch, estableciera sus postulados como pautas generales para identificar patógenos que pudieran aislarse con las técnicas del momento, otros científicos ya habían presentado pruebas de la teoría de los gérmenes como agentes productores de morbilidad. El estadista romano Marco Terentius Varro (116-27 a. C.) escribió en su *Rerum rusticarum libri III*: “También se deben tomar precauciones en la vecindad de los pantanos ... porque se crían ciertas diminutas criaturas que no pueden ser vistas por los ojos, que flotan en el aire y entran al cuerpo por la boca y la nariz y allí causan enfermedades graves “. El médico griego Galeno (129 dC - c. 200 / c. 216) explicó que los pacientes podrían recaer durante la recuperación de la fiebre porque alguna “semilla de la enfermedad” acechaba en sus cuerpos, lo que causaría una recurrencia de la enfermedad. Girolamo Fracastoro, médico, poeta y estudioso italiano, a inicios del siglo XVI, indicó que las enfermedades podían deberse a organismos invisibles que se transmitían de una persona a otra y sus estudios sobre el modo de transmisión de la sífilis son un ejemplo temprano de epidemiología, (*De Contagione et Contagiosis Morbis*, 1546). En la década de 1670 Anton van Leeuwenhoek, describe las bacterias: “animálculos”, que logró aislar de diferentes fuentes de agua, la boca y el intestino humanos. A finales del siglo XVIII, Anton Van Plenciz de Viena, no sólo estableció que las enfermedades infecciosas eran producidas por otros agentes vivos, sino que supuso que gérmenes diferentes provocaban distintas enfermedades (*Opera médico-physica* 1762) y Oliver

Wendell, médico famoso y poeta, en el siglo XIX, insistió en que la fiebre puerperal era contagiosa y se originaba probablemente por un germen que se transmitía de unas madres a otras (*Puerperal Fever as a Private Pestilence*, 1855).

Específicamente en cuanto a las bacterias anaerobias, lo que hoy se conoce de ellas no es suficiente y relativamente reciente, ya que sus condiciones ecosistémicas y de hábitat son demasiado específicos y, para lograr el ambiente de anaerobiosis y demás requerimientos en el laboratorio, se necesitaba hasta la segunda mitad del siglo XX (década de los 60s), equipos costosos y técnicas bacteriológicas muy complejas. Sin embargo, a partir de la introducción de sistemas simples para producir anaerobiosis con equipos y reactivos de bajo costo, y más aún, con las diferentes técnicas moleculares, el conocimiento sobre los anaerobios inicia un desarrollo intenso; lo cual ha permitido dinamizar su taxonomía, estudiar mejor su fisiología, identificar cambios genéticos y de resistencia a los antibióticos, entre otros. Pese a todo lo anterior su diagnóstico sigue estando subvalorado y aún existen infinidad de aspectos desconocidos sobre ellas.

Las enfermedades infecciosas por bacterias anaerobias siguen siendo frecuentes; esto está relacionado con lo que se dijo anteriormente: su dificultad diagnóstica y la resistencia de éstas a las opciones de tratamiento terapéutico, sumado a la poca información sobre muchas de las especies recientemente identificadas, lo que conlleva a que, en muchos casos el clínico sospeche de una bacteria aerobia o facultativa retardando el diagnóstico oportuno y el tratamiento antibiótico adecuado, lo cual genera la persistencia de los índices de morbilidad y mortalidad ocasionado por estas bacterias. Por lo tanto, existe la necesidad de conocer mejor las bacterias anaerobias, ya que han sido y serán compañeras permanentes del ser humano, dada su ubicuidad en la naturaleza y su gran diversidad al interior de organismos vivos.

Es evidente que se deben desarrollar protocolos para su identificación y estandarizar guías de manejo; documentos que deben estar en permanente revisión dado que, con la práctica clínica, la biología molecular y, otros procesos, se identifican nuevos miembros de este grupo de bacterias y su asociación con procesos infecciosos.

El presente libro pretende ser una guía sobre lo que el estudiante del pregrado de Bacteriología debe conocer acerca de las bacterias anaerobias, así como otros estudiantes del área de la salud en los aspectos de la salud humana, animal, ambiental y biotecnológica; también será un apoyo para profesores y profesionales de la salud interesados en fortalecer su conocimiento sobre el tema. El texto le permitirá al estudiante de Bacteriología y afines, el acceso amigable a un tema de suma importancia en la clínica infecciosa, pero que, por la naturaleza propia de las bacterias anaerobias, poco se explora, lo que conlleva a que se diagnostique en muchos casos por descarte.

Las patologías causadas por estas bacterias son variadas: afectan al humano y animales; pero también están las enfermedades zoonóticas y las asociadas a intoxicaciones por el consumo de alimentos, entre otras. Las bacterias anaerobias también son importantes en la producción industrial en varios procesos de manufactura de alimentos como es el caso de las bacterias ácido lácticas (BAL), ampliamente distribuidas en la naturaleza y que contribuyen mediante sus procesos metabólicos a la transformación de materias primas en productos con mejor sabor, textura, olor y características nutritivas. De igual forma, al conocer mejor su metabolismo, permite al lector un acercamiento sobre posibles procesos de investigación aplicada, dadas las características particulares de estas bacterias en la biotransformación de compuestos que pueden ser nocivos para un ecosistema determinado o que se requiere como producto biotecnológico.

Lo anterior hace necesario que tanto el Bacteriólogo como los profesionales de la salud se empoderen del conocimiento teórico, las técnicas y protocolos que permitan de manera más fácil y rápida identificarlas, ya que de esta forma se podrá suministrar un tratamiento eficaz, oportuno y, probablemente, bajar los porcentajes de resistencia, en caso de infección. Finalmente, a partir del medio ambiente, aislarlas, identificarlas, conservarlas y utilizarlas en procesos biotecnológicos en beneficio de la sostenibilidad de la vida en el planeta.

Introducción

Las bacterias se encuentran por todas partes: suelo, aire, agua y, particularmente, en todo tipo de materia orgánica muerta. Las bacterias anaerobias se encuentran entre los primeros seres vivos que surgieron en el planeta, ya que hace miles de años, cuando las primeras formas de vida comenzaron a surgir, los niveles de oxígeno en la atmósfera eran muy bajos.

Estos microorganismos son unicelulares, se reproducen por fisión binaria, su crecimiento y reproducción es muy rápida, dependiendo de la especie y condiciones que se le proporcionen. Son organismos donde el DNA, no está separado físicamente por una membrana del citoplasma, contienen ribosomas 50S y 30S, no posee organoides unidos a membrana, como el núcleo, las mitocondrias, los lisosomas, el retículo endoplásmico o los cuerpos de Golgi, y carecen de la estructura 9 + 2 flagelar fibrilar o ciliar característica de las células eucarióticas. Contienen todas las enzimas requeridas para su replicación y poseen el equipo biológico necesario para la producción de energía metabólica. Realizan una gran diversidad de procesos bioquímicos, los cuales les permiten sobrevivir, en muchos casos a expensas de compuestos muy simples. Sin embargo, las que producen enfermedades infecciosas poseen requerimientos metabólicos complejos, adaptándose a la vida parasitaria y viviendo de compuestos que encuentra en otros seres vivos, por no contar con la capacidad de sintetizar algunos compuestos esenciales.

En cuanto a las bacterias anaerobias, son las formas de vida predominantes en el cuerpo humano, sobre todo en las superficies mucosas como la cavidad bucal y los tractos

gastrointestinal y genital femenino. Sin embargo, muchos de ellos no pueden caracterizarse por el cultivo *in vitro*. En un análisis de 13,555 secuencias de genes de ARN ribosómico procariótico del colon, un gran número de las bacterias identificadas se consideraron microorganismos nuevos y no cultivados.

Teniendo en cuenta lo anterior, el conocimiento de la flora autóctona es de gran utilidad para sospechar cuál es el agente causal de la infección; datos que son de gran ayuda al clínico para orientar el tratamiento y al bacteriólogo quien debe aislarlo e identificarlo.

La familia de bacterias anaerobias es muy extensa, con una clasificación taxonómica dinámica en las últimas décadas, así como en sus procesos de adaptación y tolerancia al oxígeno, lo cual le confiere nuevos microambientes en los cuales pueden subsistir y, además, generar infección; característica que la hace interesante a nivel clínico; sin embargo, el conocer más sobre la fisiología y procesos metabólicos de tantas bacterias anaerobias de la naturaleza, les confiere importancia en cuanto a su aplicación en diversidad de procesos biotecnológicos.

El presente texto responde a la necesidad de compilar la información relacionada con las bacterias anaerobias, dado que es necesario articular la información existente con el quehacer, específicamente del bacteriólogo, de tal forma que se proporcionen herramientas para su abordaje en el laboratorio de microbiología.

La propuesta surge de la experiencia docente en la formación de los estudiantes del programa de pregrado en Bacteriología y Laboratorio Clínico de la Universidad Colegio Mayor de Cundinamarca ya que al tratar el tema de bacterias anaerobias es importante contar con un recurso bibliográfico actualizado y adecuado a la ocupación del bacteriólogo, donde se conozca, no solo su interacción con el humano y animales desde la perspectiva de infección, sino que también

se visualice su concurso en procesos benéficos para la sostenibilidad de la vida en el planeta, mediante los procesos metabólicos que éstas cumplen.

Con el avance científico, técnico y tecnológico que se ha producido en las dos últimas décadas se han introducido en la práctica procedimientos que pueden minimizar el tiempo del diagnóstico de laboratorio microbiológico, como: examen directo de muestras, cultivo, detección de antígenos solubles, pruebas de fluorescencia, pruebas enzimáticas rápidas, uso de micrométodos y de técnicas moleculares, entre otras, que permiten un diagnóstico presuntivo y / o confirmatorio, sin olvidar las pruebas de sensibilidad y resistencia a antibióticos que es imprescindible en algunos casos, sino en todos, para el correcto tratamiento y remisión de la enfermedad infecciosa, al mismo tiempo que se minimiza la aparición de cepas resistentes.

En cada capítulo del libro, se presenta temas específicos que nutren el conocimiento microbiológico y orientan en los procedimientos prácticos para el diagnóstico de bacterias anaerobias; así mismo, se ofrece un cuestionario de evaluación, el cual pretende repasar el tema en sus conceptos básicos y afianzar el conocimiento. El texto, además, está complementado con esquemas, diagramas y fotos que permiten un mejor acercamiento al proceso de aprendizaje.

Capítulo I

Bacterias anaerobias: su hábitat, metabolismo y relación con el oxígeno

Resumen

Las bacterias anaerobias son microorganismos capaces de sobrevivir y multiplicarse en ambientes que no tienen oxígeno, generalmente extremos, están diseminadas en la naturaleza, hacen parte de la microbiota humana y animal en piel, sistema digestivo y genital que cuando las barreras mucosas fallan o hay disminución en la respuesta inmune, causan enfermedad. La amplia carga de bacterias anaerobias que colonizan el cuerpo humano comprende aproximadamente el 90% de su biomasa total. La relación biótica entre el ser humano y su microbiota establece beneficios recíprocos, aunque con potencial patógeno en situaciones particulares de disbiosis como se mencionó anteriormente.

Un ejemplo de esta interacción se da en la mucosa oral donde la saliva contribuye a la formación de la película salival, que recubre los tejidos bucales duros y blandos, determinando así la adhesión y colonización inicial de los microorganismos, esta amortigua el pH hasta aproximadamente la neutralidad, creando un entorno propicio para el crecimiento de muchas bacterias orales que brindan importantes beneficios al huésped. Los componentes de las defensas adaptativas e innatas del huésped son administrados por la saliva, y estos a menudo funcionan de manera sinérgica y en concentraciones subletales, por lo que se desarrolla una relación compleja entre el huésped y la microbiota / microbioma residente, así que la disbiosis puede ocurrir rápidamente si se altera el flujo de saliva.

Con frecuencia las infecciones que se originan en la piel o las membranas mucosas del tracto respiratorio superior,

genitourinario e intestinal son a menudo de naturaleza poli-microbiana, por lo que los anaerobios deben incluirse invariablemente en el diagnóstico diferencial etiológico de estas enfermedades. Las bacterias anaerobias realizan múltiples reacciones de fermentación, en las cuales compuestos de tipo orgánico actúan como aceptores finales de electrones; sin embargo, ellas también son capaces de adquirir energía con su respiración anaerobia.

Otras características que comparten en común estas bacterias se relacionan con las necesidades nutricionales que son diferentes y más complejas que para las aerobias y facultativas; el ritmo de crecimiento el cual es más lento, su fragilidad, todo esto adicional a sus exigencias atmosféricas de O_2 y CO_2 , lo que conlleva a tener mayor dificultad en su aislamiento; además, al estar en ambientes en relación con bacterias aerobias y anaerobias facultativas menos exigentes desde el punto de vista nutricional y de crecimiento más rápido, en muchos casos logran inhibir el desarrollo de las anaerobias.

Las bacterias anaerobias obligadas, aunque no tienen metabolismo aerobio, si pueden desarrollar tolerancia variable al oxígeno. Es así como las anaerobias obligadas se reproducen en ambientes con potencial oxidorreductor bajo, como es el caso del tejido necrótico, o en zonas del cuerpo desvascularizadas, ya que sufren procesos de toxicidad frente al oxígeno. Dentro de este gran grupo se encuentran las bacterias anaerobias moderadas o microaerófilas que requieren una mínima concentración de O_2 (2 a 10%), pero si con frecuencia, concentraciones más altas de CO_2 , crecen muy poco en condiciones anaerobias; esta condición se debe a la síntesis de enzimas respiratorias que degradan el oxígeno molecular a compuestos menos tóxicos, en una exposición por tiempo limitado.

En este capítulo del libro se desarrollan temáticas relacionadas con: hábitats, metabolismo y formas de interacción de las bacterias con el oxígeno (Tolerancia al oxígeno y potencial de oxidorreducción).

Introducción

Se conoce que, en la evolución biológica, las bacterias anaerobias antecedieron ampliamente a las aeróbicas y, sin lugar a dudas, fueron predominantes entre los organismos vivos que comenzaban a desarrollarse, remarcando en ellas la importancia de su riqueza metabólica, por medio de la cual cuentan con una extensa gama de medios para su desarrollo.

“Estudios estiman que la vida se inició en el planeta hace cerca de 3800 millones de años; durante los primeros 2000 a 2500 millones de años estuvo poblado exclusivamente por comunidades bacterianas, que a través de su evolución lograron cambiar las condiciones de la tierra, favoreciendo así, la posterior aparición de formas de vida más complejas, además la diversificación evolutiva de las bacterias condujo a la aparición de las formas de nutrición que hoy existen. La actividad secuencial y acompasada de las bacterias fotosintéticas, heterótrofas, saprofitas y quimiosintéticas permitió y permite que la materia se recicle y pueda seguirse utilizando indefinidamente. El desarrollo de todas estas formas de nutrición tuvo, por tanto, como consecuencia un hecho trascendental: se cerraron los ciclos biogeoquímicos del planeta, con lo que la vida pudo perpetuarse a expensas de la energía solar” (Corrales et al 2015).

El comportamiento mutualista de varios microorganismos anaeróbicos da como resultado la descomposición de sustancias orgánicas complejas en simples compuestos químicamente estabilizados, principalmente metano y CO_2 . En un digestor anaeróbico, las conversiones de compuestos orgánicos complejos en CH_4 y CO_2 , son posibles debido a la cooperación de cuatro grupos diferentes de microorganismos,

es decir, fermentativos, sintróficos, acetogénicos y bacterias metanogénicas, adoptando varias vías metabólicas para evadir las condiciones desfavorables que se presentan, como la competencia entre bacterias reductoras de sulfato (SRB) y bacterias formadoras de metano por el mismo sustrato. Otro ejemplo es la metanosarcina que es capaz de utilizar vías acetoclásticas e hidrogenotróficas para la producción de metano.

A lo largo de la vida muchos científicos para poder englobar las múltiples especies en un sólo lenguaje se tomaron a la tarea de relacionar características comunes, como su reproducción, morfología y su relación con el entorno. El primero en hacer una clasificación fue Aristóteles en donde explica que los organismos se organizan en dos categorías: Especie y Género partiendo de ideas creacionistas; fue hasta Lineo que alejándose de ideas dogmáticas realizó una clasificación en: reino, clase, orden, género y especie.

Definiciones

Microbiota: El diccionario médico de la Universidad de Navarra – España la define como “el conjunto de microorganismos que se encuentran generalmente asociados a tejidos sanos (piel, mucosas, etc.) del cuerpo humano. Los microorganismos residen en estos lugares de forma más o menos permanente y en algunos casos realizan funciones específicas”.

La Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica, en 2016, refiere que en un estudio reciente se demostró que el número de bacterias que se encuentran en el cuerpo humano, presentan características similares a las de células eucariotas humanas en un sujeto de 70 kilogramos. Se conoce que desde el momento en que nace un individuo, ocurre una relación de tipo simbiótico entre la microbiota que tiene y las células, proceso que facilita al organismo del individuo adaptarse y evolucionar.

Dado que la microbiota de un individuo cumple con tantas funciones y posee una increíble actividad metabólica, científicos la han considerado como otro “órgano”, más del ser humano y animales, necesario para la vida y que tiene gran influencia en el estado de salud de enfermedad. De acuerdo con cada individuo muestra características particulares y propias, ligada a su base genética, la dieta, y la interacción con el medio ambiente, entre otras.

Microbioma: proviene del griego micro (pequeño) bios (vida), J.L. Mohr en 1952, usa este término para referirse a los microorganismos que se encuentran en un ambiente específico. Posteriormente Whipps et al. en 1988, lo describe como “una comunidad microbiana característica que ocupa un hábitat razonablemente bien definido que tiene propiedades fisicoquímicas distintas. El término, por tanto, no sólo se refiere a los microorganismos implicados, sino que también abarca su teatro de actividad”.

Entonces, entendemos el microbioma como un conjunto de microorganismos que habitan en un entorno determinado e interactúan entre sí. En esta definición se entiende que también está incluido el genoma de éstos, los diferentes metabolitos que producen, las situaciones del ambiente a las que están sujetas y su interrelación con las funciones del organismo huésped.

Procariotas y eucariotas

Las células eucariotas y procariotas, presentan características diferentes. Las eucariotas poseen un núcleo el cual contiene el ADN y está rodeado por una doble capa lipídica que se denomina nuclear. En estas células el proceso de transcripción se realiza en el núcleo y el proceso de traducción en el citoplasma. También cuentan con una serie de organelos que cumplen funciones muy importantes como mitocondrias (células animales) y cloroplastos (en células que realizan fotosíntesis).

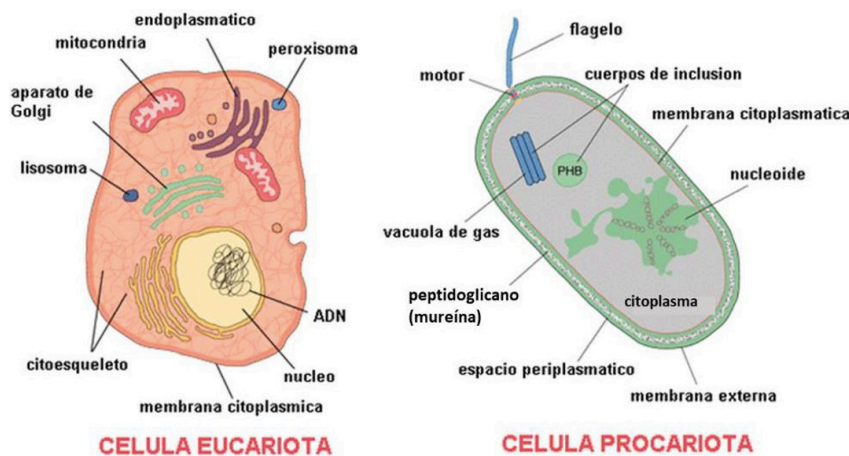


Figura 1.1- Representación de la célula eucariota y procariota. Tomado de <http://biotecnologiamolecular.weebly.com/eucariota-vs-procariota.html>

Por otro lado, las procariotas no tienen núcleo definido, así que el ADN se observa como una única molécula de forma circular localizada en el citoplasma y donde ocurren los procesos de transcripción y traducción. Otra diferencia es que en las procariotas los ribosomas presentan un tamaño menor que los de las eucariotas. Las procariotas pueden poseer una molécula adicional de ADN, con información no esencial para la bacteria que se denomina plásmido y que le aporta información genética como resistencia a fármacos y otras sustancias o de adaptación al medio.

Gran número de procariotas en su exterior tienen una capa compuesta por material viscoso que no se consideran como parte estructural de su pared celular, y se denomina cápsula; esta estructura es considerada factor de virulencia, ya que le otorga resistencia a la fagocitosis del sistema inmune. También poseen unas estructuras filamentosas denominadas fimbrias y pilis, las cuales se ubican en el exterior y alrededor de las células bacterianas; su principal función es la adhesión o adherencia a superficies y otras células.

Los pilis, son estructuras parecidas a las fimbrias, sin embargo, son de tamaño más largo y se encuentran de uno o varios, pero en poco número y se localizan en la superficie celular. Su función se centra en procesos de adherencia y también el intercambio de material genético en lo que se conoce como proceso de conjugación.

Las procariotas pueden formar esporas o endosporas que corresponden a estructuras internas y le confieren a la bacteria resistencia a los cambios ambientales relacionados con la temperatura, a sustancias químicas que pueden ser tóxicas o nocivas y la radiación. Estas esporas se convierten en una estrategia de supervivencia cuando almacenan y protegen el material genético de la bacteria, en condiciones adversas y, cuando encuentran nuevamente el ambiente adecuado, pasan a su forma inicial. Las esporas corresponden al estado durmiente de un ciclo de vida bacteriano del tipo: célula vegetativa-espora-célula vegetativa. Por su resistencia las esporas pueden mantenerse viables en el medio ambiente y ser fácilmente dispersadas. Los géneros representativos de bacterias que producen esporas son los géneros *Bacillus* (bacterias aerobias) y *Clostridium* (bacterias anaerobias).

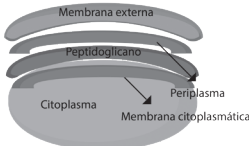
Las bacterias son microorganismos procariotas (del griego “núcleo primitivo”), presentan diferencias cuyo origen es genético y determina características como: poseer o no pared celular, ser sensible o no a la toxicidad del oxígeno, resistir altas o bajas temperaturas, tener un metabolismo respiratorio o fermentativo, entre otras muchas diferencias.

Fenotípicamente se pueden clasificar por el *tamaño*, la mayoría se encuentra en el rango de 1 a 10 micras, pero pueden medir 20 micras o más; por la *forma* y encontramos una variedad interesante cuando se observa al microscopio, redondas o esféricas, bastones y en espiral principalmente; también por sus *posibilidades de asociación*, y que las podemos encontrar aisladas, formando cadenas o en parejas o en diplos o en racimos o en empalizadas y hasta en grupos; por los

componentes en su estructura, están los que forman pared, los que producen gránulos metacromáticos o esporas o cápsula y los que presentan flagelos para su movilidad; de acuerdo con su *metabolismo* pueden ser aerobios, anaerobios o facultativos, pero también de acuerdo con lo que requieren para su *nutrición* están las organótrofas, heterótrofas, quimiolitótrofas, entre otras. Pero mediante sus propiedades genóticas se realiza la clasificación definitiva.

La forma más rápida de realizar la clasificación fenotípica de una bacteria es mediante la coloración de Gram. A continuación, se esquematiza la diferencia entre las Gram positivas y las Gram negativas

Tabla 1.1 Características generales de las bacterias Gram positivas y Gram negativas

CARACTERÍSTICA	BACTERIAS GRAM POSITIVAS	BACTERIAS GRAM NEGATIVAS
Composición de pared		
Color con la tinción de Gram	Violeta	Fucsia
Componentes y estructuras distintivas		
Peptidoglicano	Capa gruesa	Capa delgada
Ácido teicoico	Presente	Ausente
Membrana externa	Ausente	Presente
Lipopolisacárido	Ausente	Presente
Proteínas porinas	Ausentes (son innecesarias pues carecen de membrana externa)	Presentes (permiten el paso de moléculas a través de la membrana externa)
Periplasma	Ausente	Presente

Características generales		
Sensibilidad a la penicilina	Generalmente más susceptibles con excepción de las que han desarrollado mecanismos de resistencia.	Poco susceptibles con excepción de las que han desarrollado mecanismos de resistencia.
Sensibilidad a las lisozimas	Si	No

En el cuerpo humano se encuentran miles de especies bacterianas distintas; de todas estas, algunas conservan relación parasitaria temporal, otras se encuentran residiendo de forma permanente y este microbioma se puede alterar por las bacterias que se encuentran en el ambiente y los alimentos, pues algunas de estas pueden generar enfermedades, bien sea por ellas mismas o por los efectos de las toxinas que producen.

Flora bacteriana comensal y patógena en el ser humano

Anteriormente el principal interés sobre las bacterias radicaba en las enfermedades que estas causaban, sin embargo, también debe tenerse en cuenta que los microorganismos cumplen funciones importantes para el metabolismo y supervivencia del hombre, animales y otros organismos vivos. Estas funciones que la microbiota- microbioma de cada individuo se relaciona con el procesamiento de los alimentos, la síntesis de factores esenciales en el metabolismo y fisiología, como estimuladores del sistema inmune y protección frente a procesos de invasión de bacterias extrañas y probablemente más virulentas. Se estima que el ser humano tiene un número de microorganismos 10 veces mayor que el número de células somáticas y germinativas.

Actualmente se prefiere utilizar el término microbioma, el cual corresponde al conjunto de genomas de estos microorganismos. Es de aclarar que este campo está evolucionando

con rapidez y lo que conocemos sobre la microbiota / microbioma humano, cambia velozmente.

El microbioma que se encuentra en el exterior y en el interior del organismo humano está determinado por variedad de factores, como: la edad, la dieta, el estado hormonal, el estado de salud e higiene personal, algunas exposiciones de tipo ocupacional, entre otras; por ello este conjunto microbiano puede presentar múltiples cambios en el transcurso de la vida. Mientras exista un equilibrio en el organismo que controle el desarrollo del microbioma, todo está bien y existe bienestar; pero este se puede alterar por diversas situaciones, entre ellas, los procesos de hospitalización, donde puede suceder que microorganismos no virulentos de la orofaringe del paciente sean reemplazados por otros del ambiente hospitalario y que puedan invadir los pulmones u otros órganos y producir enfermedad. Un caso específico es el de *Clostridium difficile* que en el tracto digestivo es controlado por las bacterias habitantes del intestino, sin embargo, cuando hay un fuerte consumo de antibióticos se elimina o altera la microbiota normal y *C. difficile* logra expandirse y producir trastornos digestivos como diarrea y colitis. Pero también se encuentran las bacterias que se denominan “patógenas”. Y son aquellas que naturalmente cuentan con una serie de factores de virulencia que le confieren la posibilidad autónoma de producir enfermedad.

Importancia del microbioma natural

La piel y las mucosas siempre albergan diversos microorganismos que se pueden clasificar en:

1. El microbioma natural, está conformado por una variedad relativamente constante de microorganismos que suelen localizarse en determinada región y a determinada edad, de tal forma que, si sufre alguna alteración, se restablece rápidamente.

2. El microbioma transitorio, es el que se constituye por microorganismos no patógenos o potencialmente patógenos, y que se encuentran específicamente en la piel o las mucosas por espacios temporales de horas, días o semanas. Este microbioma transitorio resulta de la interacción con el ambiente, por lo general no produce enfermedad, y no coloniza permanentemente las superficies.

Los microorganismos que se cultivan en el laboratorio son sólo una pequeña parte de todos los que hacen parte del microbioma natural o transitorio. Mediante la técnica de reacción en cadena de la polimerasa de amplio espectro (PCR, polymerase chain reaction), se puede amplificar el rDNA 16S bacteriano y, de esta manera, es posible identificar aquellas bacterias que por métodos fenotípicos no habían sido reveladas, constituyéndose en una gran ayuda para conocer mejor la diversidad microbiana que posee el cuerpo humano y otros organismos vivos.

El microbioma bacteriano normal es variado y depende de los microambientes que se presentan en las diferentes regiones de la anatomía humana:

Piel: en esta se encuentran *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus aureus*, en poca cantidad. Varias especies de *Micrococcus*, *Streptococo* α -hemolítico y no hemolítico, como *Streptococcus mitis*. Especies de *Corynebacterium*, *Cutibacterium*, *Peptostreptococcus*, *Acinetobacter*, y otros microorganismos en pequeñas cantidades como especies de *Candida* y *Pseudomonas aeruginosa*, entre otros.

Nasofaringe: allí se localizan *Difteroides*, *Neisserias* no patógenas, *estreptococo* β hemolítico; *S. epidermidis*, *estreptococo* no hemolítico, bacterias anaerobias (muchas especies; distintas cantidades de especies de *Prevotella*, cocos anaerobios, especies de *Fusobacterium*, *Actinomyces*, *Eubacterium*,...). y en menor proporción levaduras, especies de *Haemophilus*,

Streptococcus pneumoniae, *S. aureus*, bacilos gramnegativos, *Neisseria meningitidis*.

Tubo digestivo y recto: este es uno de los órganos que contiene mayor diversidad del microbioma en el humano, aquí se encuentran diversas especies de *Enterobacterias* con excepción de *Salmonella*, *Shigella*, *Yersinia*, *Vibrio* y especies de *Campylobacter*, bacilos Gram negativos no fermentadores de glucosa, *Enterococcus*, *estreptococo α hemolítico y no hemolítico*, *Difteroides*, pequeñas cantidades de *Staphylococcus aureus*, y gran número y variedad de anaerobios de diferentes especies.

Genitales: sobre todo en la mujer, se encuentra variedad de especies de *Corynebacterium*, *Lactobacillus*, *estreptococo α hemolítico y no hemolítico*, especies no patógenas de *Neisseria*. Algunos microorganismos no frecuentes como *Enterococcus*, miembros de la familia *Enterobacteriaceae* y otros bacilos Gram negativos, *Staphylococcus epidermidis*, *Candida albicans* y otras levaduras, gran número de anaerobios de diferentes especies; principalmente especies de *Prevotella*, *Clostridium* y especies de *Peptostreptococcus*, que son significativos cuando crecen en cultivo puro o en mucha cantidad.

Sin embargo, en algunas regiones del cuerpo como el intestino, se da el mutualismo donde los dos integrantes de la relación se benefician mutuamente. A través de estudios se ha visto que el microbioma natural que se encuentra en ciertas áreas del cuerpo asume una función definitiva en la conservación de la salud y el funcionamiento normal. Claro ejemplo de lo anterior es lo que se observa en el aparato digestivo, donde miembros de este microbioma se encargan de la síntesis de vitamina K y facilitan la absorción de nutrientes. Por otro lado, el microbioma en las mucosas y la piel, protege que microorganismos patógenos la colonicen y enfermen por un fenómeno denominado “interferencia bacteriana”; que no es otra cosa que la competencia por los receptores o sitios de unión en las células del hospedero, también por competencia por los nutrientes, inhibición mutua por productos

metabólicos o tóxicos, inhibición mutua por la producción de sustancias antibióticos o bacteriocinas, entre otros, lo cual conlleva a la autorregulación del ecosistema microbiano.

Teniendo en cuenta lo anterior, la supresión del microbioma normal obviamente crea un vacío local parcial que tiende a ser llenado por microorganismos del ambiente o de otras regiones del cuerpo, los cuales se comportan como oportunistas y se pueden convertir en patógenos. Sin embargo, puede pasar que los integrantes de la flora normal produzcan enfermedades como consecuencia de ser separados de manera forzada de su entorno y logren penetrar sitios estériles como la circulación sanguínea o los tejidos, donde obligatoriamente se tornan patógenos.

Clasificación de las bacterias

La aplicación de procedimientos de biología molecular como hibridación ARN y ADN, secuenciación de ARN ribosomal (16S) y de genes quimiotaxonómicos (dnaK, hsp60 [groEL], gyrA, gyrB, recA, recN, rpoB), perfiles de ácidos grasos y proteínas, fenotipos morfológicos, bioquímicos, enzimáticos y cromatográficos, han facilitado que se pueda clasificar este gran grupo de bacterias, permitiendo la identificación del género y la especie relacionadas con patologías causadas en el humano. Un ejemplo de esto es la técnica de espectrometría de masas MALDI-TOF (MALDI Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization y TOF el detector de iones que se acopla al MALDI), junto con la secuenciación de ARNr (16S), las cuales han permitido la identificación y clasificación de bacterias que antes no se clasificaban en este grupo como: *Anaerococcus provenciensis*, *Anaerococcus pacaensis*, *Prevotella conceptionensis*, *Casaltella massiliensis*, *Fenollara massiliensis* o *Levyella massiliensis*.

Como característica de este grupo bacteriano es que su taxonomía está en permanente revisión, sin embargo, lo más

usual es encontrar su clasificación general de acuerdo con la morfología que presentan, afinidad por el Gram y producción de esporas:

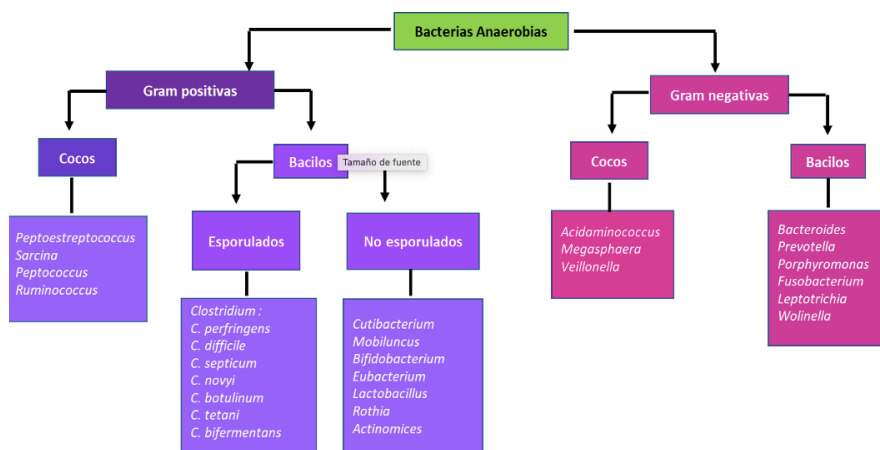


Figura. 1.2 Clasificación general de los principales géneros de las bacterias anaerobias. Fuente: Corrales, 2024.

También los anaerobios, se están adaptando al contacto con el oxígeno, por lo cual encontramos que de acuerdo con su tolerancia a este se clasifican en: *Estricta*: tolera solo $\leq$ oxígeno al 0,5%; *Moderado*: tolera oxígeno al 2-8%; *Anaerobios aerotolerantes*: toleran el oxígeno atmosférico por tiempo limitado. Pero también encontramos otras bacterias como las facultativas, las cuales crecen en presencia o ausencia de oxígeno, y las microaerófilas, las cuales toleran concentraciones de 21% de O_2 , las cuales se encuentran compartiendo con frecuencia los mismos hábitas de las anaerobias.

Las bacterias que se consideran anaerobias estrictas u obligadas, no consiguen desarrollar su metabolismo aerobio; por esto logran replicarse en ambientes con potencial oxidorreductor bajo, como es el caso del tejido necrótico, o desvascularizado, y el oxígeno les produce toxicidad y muerte; están las anaerobias moderadas o microaerófilas que demandan

una pequeña concentración de oxígeno que oscila entre 2 y 10% y en muchos casos, una concentración de dióxido de carbono elevada, y se desarrollan escasamente en atmósfera anaerobias, esta situación se debe a posibilidad que tienen de sintetizar enzimas respiratorias que degradan el oxígeno molecular a compuestos menos tóxicos, proceso que pueden realizar por tiempo limitado.

Con frecuencia las infecciones que se originan en la piel o las membranas mucosas del tracto respiratorio superior, genitourinario e intestinal son a menudo de naturaleza polimicrobiana, por lo que los anaerobios deben incluirse invariablemente en el diagnóstico diferencial etiológico de estas enfermedades. Estas bacterias tienen en su mayoría metabolismo fermentativo, que se caracteriza porque los compuestos orgánicos actúan como aceptores finales de electrones, sin embargo, estas bacterias también pueden conseguir energía a partir de los procesos de respiración anaerobia.

Otras características comunes de los anaerobios se relacionan con la complejidad de los requerimientos para su nutrición, ya que son más exigentes que las aerobias y facultativas. También es importante considerar su lento crecimiento y su labilidad frente a la exposición de ambientes aerobios, lo que genera dificultades para su aislamiento.

Cambios taxonómicos

Gracias al desarrollo de la genética y de diversas técnicas moleculares se han conseguido cambios importantes en cuanto a la clasificación y taxonomía de las bacterias. En las últimas décadas con la ayuda de estas herramientas moleculares se han descrito nuevos géneros y especies, así como permitido reclasificarse, en otros géneros, al realizar estudios de sus relaciones filogenéticas.

En 1989, Shah y Collins, propusieron que en el género *Bacteroides*, se agruparan la mayoría de bacilos Gram negativos

anaerobios estrictos, por lo cual, para principios de los 90s, se reorganizaron en otros géneros. Las especies de bacilos anaerobios estrictos no fermentadores de azúcares, conocidas antes como *Bacteroides gingivalis*, *Bacteroides asaccharolyticus*, y *Bacteroides endodontalis* se reclasificaron en un nuevo género, denominado *Porphyromonas*. Actualmente el género *Porphyromonas* comprende doce especies, siendo *P. gingivalis*, *P. endodontalis* y *P. catoniae* (anteriormente *Oribaculum catoniae*) las que han sido aisladas de la cavidad bucal en el humano. Y de estas especies, *P. gingivalis*, se considera una bacteria periodontopatógena, generalmente se aísla del surco gingival especialmente en situaciones de pobre salud periodontal, y se asocia especialmente con el aumento del deterioro de tejidos en la periodontitis crónica. Por su parte la *P. endodontalis*, se aísla con alguna frecuencia de los conductos radiculares infectados y en estudios recientes se ha encontrado asociada con pacientes VIH positivos.

En relación con *Bacteroides melaninogenicus*, otras especies productoras de pigmento del género *Bacteroides*, otras no pigmentadas, así como algunas fermentadoras de azúcares, se reclasificarán en el género *Prevotella*. El género se encuentra organizado en dos grupos: en el primero se encuentran las bacterias que presentan pigmento, donde están especies como: *P. intermedia*, *P. nigrescens*, *P. loeschii*, *P. corporis*, *P. melaninogenica*, *P. denticola*, *P. pallens* y, en el segundo, las que no presentan pigmento: *P. buccae*, *P. oralis*, *P. oris*, *P. oulora*, *P. veroralis*, *P. tannerae*, *P. enoeca*, *P. dentalis*, que fenotípicamente guardan entre sí mucha similitud. Las integrantes de cada grupo *P. intermedia* y *P. nigrescens* son similares y mediante pruebas moleculares se lograron diferenciar. De estas especies, *P. intermedia*, *P. nigrescens*, *P. denticola*, *P. loeschii*, *P. melaninogenica* con frecuencia se encuentran asociadas a enfermedad periodontal, infecciones endodónticas y abscesos dentoalveolares.

También se han generado una serie de cambios taxonómicos en otras bacterias anaerobias que fermentan azúcares,

sin producción de pigmento, las cuales se denominaron bajo el género *Bacteroides* y son las especies *Bacteroides capillosus*, *Bacteroides pneumocintes* y *Bacteroides forsythus*, encontradas usualmente en el surco gingival. Por sus estudios genéticos la especie *B. pneumocintes* se reclasificó como *Dialister pneumocintes* y *B. forsythus* como *Tannerella forsythensis*. Por su parte *B. capillosus* continúa haciendo parte del género *Bacteroides*, sin embargo, está en estudio. En los estudios de patogenicidad se observa que *T. forsythensis* se asocia con cierta frecuencia a la producción de periodontitis, así mismo se han aislado al igual que *D. pneumocintes* de conductos radiculares.

El género *Fusobacterium*, corresponde a bacterias que presenta anaerobiosis estricta; las especies más frecuentes del grupo son: *F. nucleatum*, *F. periodonticum*, *F. alocis* y *F. sulci*, encontradas comúnmente en el surco gingival y que igual a las anteriores, se asocian a procesos infecciosos en el periodonto, de los cuales la especie *F. nucleatum*, presenta las subespecies: *F. nucleatum nucleatum*, *F. nucleatum polymorphum*, *F. nucleatum fusiforme*, *F. nucleatum vincentii* y *F. nucleatum animalis*. Todas estas se encuentran con frecuencia en sacos periodontales y en procesos de la pulpa dental mientras que *F. nucleatum* subsp. *polymorphum* se aísla frecuentemente del fluido crevicular gingival y en abscesos agudos en el endodonto. *F. periodonticum* se encuentra con cierta frecuencia asociado a gingivitis ulcerativa y abscesos dentoalveolares. *F. alocis* se reclasificó y ahora pertenece al género *Filifactor* especie *F. alocis*, el cual, se ha encontrado en fluido crevicular gingival y hay pocos reportes de esta bacteria en infecciones de la pulpa dental. *Fusobacterium* es un género que posee la ventaja de coagregarse con la variedad de bacterias habitantes de la cavidad bucal.

Aggregatibacter actinomycetemcomitans, anteriormente denominado *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, tiene gran importancia en la cavidad bucal; se encuentra comprometida en estados agudos de enfermedad periodontal, sobre todo en

población adolescente que se ha nombrado como periodontitis juvenil localizada.

En el grupo de bacilos Gram negativos que tienen importancia clínica, están los géneros: *Bacteroides*, que se caracterizan por ser bacterias que fermentan azúcares y como característica especial presentan resistencia a la bilis. La especie *Bacteroides fragilis* aparte de ser la más frecuente, presenta la mayor virulencia y resistencia a los antibióticos. Otras especies de este género se han transferido a otros géneros o se encuentran en revisión genética.

El género *Porphyromonas*, presenta características como la producción de pigmento oscuro después de algunos días de incubación, no fermentan azúcares y son intolerantes a la bilis. *Prevotella*, por su lado, cuenta con algunas especies que producen pigmento, sin embargo, hay también un buen número que no lo presentan, son fermentadoras de azúcares y al igual que *Porphyromonas* no toleran la bilis. Algunas especies de *Fusobacterium*, se distinguen por producir ácido butírico, isobutírico e isovalérico. El género *Bilophila* y otros géneros que son microaerófilos requieren para su desarrollo formiato y fumarato.

En el grupo de cocos Gram negativos sobresale el género *Veillonella* y, entre los Gram positivos, los géneros: *Peptostreptococcus*, *Anaerococcus*, *Finegoldia*, *Micromonas*, *Peptoniphilus*, *Schleiferella*. En cuanto a los bacilos Gram positivos no esporulados, se encuentran los géneros *Actinomyces*, *Cutibacterium*, *Eggertella* y *Eubacterium* y el género *Clostridium* que pertenece al grupo de los que producen esporas.

Nuevas especies anaerobias

Cocos Gram positivos: en este grupo se encuentran: *Gemella asaccharolytica*, *Murdochiella asaccharolytica*, y del género *Peptoniphilus*: *P. coxii*, *P. duerdenii*, *P. koenoenienae* y *P.*

tyrrelliae, especies que se han encontrado relacionadas con infección en humanos.

Cocos Gram variables: con *Gemella asaccharolytica*, estos cocos miden alrededor de 0,5 micras de diámetro, tienen requerimientos exigentes y son de lento crecimiento. Inicialmente se comporta de forma anaerobia y en los subcultivos, muestra tolerancia al oxígeno. Su caracterización genética se realizó mediante secuenciación del ARNr 16S. Esta bacteria se encontró en tres aislamientos provenientes de heridas. La secuencia del ARNr 16S depositada en GenBank es la EU42746312.

Murdochiella asaccharolytica: su morfología corresponde a cocos Gram positivos bastante pequeños que miden de 0,5 a 0,6 micras de diámetro, presentan asociación en cadenas cortas y parejas. Su caracterización genética se realizó mediante secuenciación del ARNr 16S, y se describió a partir de dos cepas obtenidas de heridas. La secuencia del ARNr 16S depositada en GenBank es la EU4831538.

Peptoniphilus coxii: su nombre en honor a Mike Cox, microbiólogo americano especialista en anaerobios. Su morfología corresponde a cocos grampositivos pequeños ($\leq 0,7$ micras). Se caracterizó genéticamente por secuenciación del ARNr 16S, la cual corresponde en GenBank a GU93883613.

Peptoniphilus duerdenii: su nombre para honrar al microbiólogo anaerobista británico Brian Duerden. Su morfología corresponde a cocos grampositivos de $\geq 0,7$ micras de diámetro. La caracterización genética de esta bacteria se realizó por secuenciación del ARNr 16S y por quimio taxonomía mediante la descripción de los ácidos grasos de cadena larga que presenta. Su primer reporte se obtuvo a partir de un aislamiento proveniente de absceso vaginal. La secuencia del ARNr 16S depositada en GenBank es la EU52629014.

Peptoniphilus koenoenieniae: debe su nombre específico a Eija Könönen. Su morfología corresponde a cocos Gram positivos que miden alrededor de 0,7 micras de diámetro. Se

identificó por secuenciación del ARNr 16S y por quimio taxonomía también por contenido de ácidos grasos de cadena larga. Se describió mediante el estudio de una cepa proveniente de cultivo de secreción de un absceso en glúteo. La secuencia del ARNr 16S depositada en GenBankes la EU52629114.

***Peptoniphilus tyrrelliae*:** recibe su nombre por Kerin L. Tyrrell, anaerobista americano, son cocos Gram positivos de tamaño pequeño, mide alrededor de 0,7 micras de diámetro, presenta lentitud en el crecimiento y no fermentan azúcares. Se caracterizó genéticamente mediante secuenciación del ARNr 16S. Se conoció a partir del estudio realizado a cuatro cepas provenientes de diferentes muestras clínicas: herida quirúrgica isquémica, pierna y absceso perirrectal.

***Bacilos Gram positivos anaerobios no esporulados*:** los cuales a partir de la secuenciación del ARNr 16S en estos se reportan: *Actinomyces timonensis*, *Gordonibacter pamelaiae*, *Paraeggerthella hongkongensis* y *Scardovia wiggisiae*, recuperadas todas a partir de diferentes infecciones humanas.

***Actinomyces timonensis*:** debe su nombre al Hôpital de la Timone (Marsella), en donde se encontró por primera vez. Su morfología corresponde a un bacilo Gram positivo recto que mide de 1,0 a 3,2 micras de largo por 0,3 a 0,5 micras de diámetro. Se identificó genéticamente por secuenciación del ARNr 16S, además de fenotípicamente y por proteómica (MALDI-TOF MS). Su primer aislamiento se realizó de una sacroileítis. La secuencia del ARNr 16S depositada en GenBank es la EU48433415.

***Gordonibacter pamelaiae*:** única especie del género y denominada así en honor de la bioquímica Pamela Lee Oxley. Se observa como un cocobacilo Gram positivo, que produce colonias pequeñas, de color blanco y aspecto translúcido. Su primer aislamiento provino del colon de un paciente con enfermedad de Crohn. Su clasificación se realizó basada en la secuenciación del ARNr 16S y su quimio taxonomía.

La secuencia del ARNr 16S depositada en GenBank es la AM8860597.

***Paraeggerthella hongkongensis*:** fue aislada a partir de pacientes con bacteriemia, anteriormente pertenecía al género *Eggerthella*, como *E. hongkongensis*, pero a partir de los datos obtenidos en los estudios de quimio taxonomía se transfirió a *Paraeggerthella*.

***Scardovia wiggisiae*:** lleva este nombre por la microbióloga Lois S. Wiggs. Su morfología corresponde a bacilos Gram positivos que miden de 0,6 a 0,7 micras de diámetro por 1,6 a 4 micras de largo. Su descripción se realizó por métodos genéticos, así como por quimio taxonomía a partir de seis cepas. La secuencia del ARNr 16S depositada en GenBank es la AY278626 y la de hsp60 la GU301684.

Bacilos Gram positivos anaerobios esporulados: este tipo de morfología ya no es exclusivo del género *Clostridium*, pues las mismas características se encuentran en los géneros: *Flavonifractor*, *Robinsoniella*, *Erysipelatoclostridium*, *Hathewayia*, *Hungatella*, *Terrisporobacter*, *Paeniclostridium* y *Paraclostridium*.

***Robinsoniella peoriensis*:** denominada así por la ciudad de Peoria, en Illinois, donde se identificó por primera vez. Es un bacilo Gram positivo corto y presenta esporas en localización subterminal, que no producen deformación del bacilo, muy parecido a sus similares aerobios del género *Bacillus*. Su descripción se hizo por medio de herramientas moleculares para su estudio genético, también se estudió su bioquímica y se describieron sus características fenotípicas a partir de varios aislamientos, cinco de los cuales procedían de estiércol porcino, otras de herida de talón, de un hematoma muscular, bacteriemias, infección intraabdominal, infección de partes blandas e infección asociada a dispositivo ortopédico. La secuencia del ARNr 16S depositada en GenBank es la AY278626, GU9388351 y la de hsp60 la GU301684.

***Erysipelatoclostridium*:** esta bacteria aún se encuentra en estudio, se asocia con el “Cluster” XVIII de Collins et al., estos investigadores habían propuesto que *Erysipelatoclostridium* debía por sus características conformar un género. Debe su nombre porque hacen parte del orden *Erysipelotrichales* y a familia *Erysipelotrichaceae*, y no al *Clostridiales* y *Clostridiaceae*.

***Hathewayia*:** es un género que adquiere el nombre por Charles L. Hatheway, microbiólogo americano que realizó contribuciones al estudio y conocimiento de los clostridios patógenos. Pertenecen al “cluster” II, al orden de los *Clostridiales* y a la familia *Clostridiaceae*. La principal especie es *Hathewayia histolytica* y *Hathewayia limosa*. Solo de la primera se conoce que posee cierta importancia clínica.

***Hungatella*:** el nombre del género proviene del anaerobista R. E. Hungate. Estas bacterias pertenecen al “cluster” XIVa. Hace parte de la familia *Clostridiaceae* y al orden de los *Clostridiales*. La principal especie es *Hungatella hathewayi*, la cual ha sido aislada de pacientes con bacteremia.

***Terrisporobacter*:** su nombre proviene de su sitio de origen: la tierra, hace parte de la familia *Peptostreptococcaceae*, la cual está contenida en el orden de los *Clostridiales*. Se ha encontrado asociado a variedad de infecciones en humanos.

***Paeniclostridium*:** en este género se encuentra *Paeniclostridium sordellii*, especie que ha demostrado ser de interés clínico por la capacidad de producir infecciones en el humano. Está incluido en el “cluster” XI de Collins et al. como las especies de los géneros *Paraclostridium* y *Peptoclostridium* con los que comparte íntima relación genética.

***Paraclostridium*:** este género tiene la especie *Paraclostridium bifermentans* (*Clostridium bifermentans*), la cual se conoce desde hace tiempo, dado que se relaciona con infecciones en humanos con cierta frecuencia.

Y otros anaerobios que aún no están oficialmente admitidos y siguen en estudios como: *Peptoclostridium difficile*

(*Clostridium difficile*), *Lachnoclostridium phytofermentans* (*Clostridium phytofermentans*). Sin embargo, si se han incluido varias especies de *clostridios* que poco se encuentran relacionadas con infecciones o muestras humanas como son: *Clostridium aldenense*, *Clostridium amygdalinum*, *Clostridium bolteae*, *Clostridium celerecrecens*, *Clostridium citroniae*, *Clostridium clostridioforme* y *Clostridium symbiosum*.

Bacilos Gram negativos anaerobios: en este grupo también se encuentran nuevas especies las cuales ya han pasado el proceso de caracterización, y estas son: *Leptotrichia hongkongensis*, *Parabacteroides gordonii*, *Phocaeicola abscessus* y *Porphyromonas bennonis*, y otras que se han reclasificado: *Bacteroides ureolyticus*, *Bacteroides capillosus* y *Prevotella tannerae*.

***Alloprevotella tannerae*:** es la nueva denominación de la anterior *Prevotella tannerae*, ya que se encontraron diferencias genéticas, esta especie se ha encontrado asociada a infecciones endodónticas.

***Campylobacter ureolyticus*:** que correspondía a *Bacteroides ureolyticus*.

***Leptotrichia hongkongensis*:** bacilo recto que a la tinción de Gram se comporta como Gram variable. Su descripción genética se realizó a partir de una cepa proveniente de un hemocultivo de una paciente con carcinoma de mama metastásico. Esta bacteria se encuentra normalmente en la flora oral. La secuencia del ARNr 16S depositada en GenBank es la EU91951526.

***Phocaeicola abscessus*:** su morfología predominante es cocobacilar ($0,3-0,6 \times 0,4-0,9$ m) y solo un pequeño porcentaje bacilar ($1,7-0,4 \times 1,2-6,5$ m). Mediante MALDI-TOF MS, se conoció su espectro proteico, a partir de un aislamiento proveniente de un absceso cerebral. La secuencia del ARNr 16S depositada en GenBank es la EU69417610.

***Parabacteroides gordonii*:** su nombre en honor al biólogo americano Jeffrey L. Gordon. En su morfología se presenta

como un bacilo Gram negativo que mide 0,8 a 1,7 micras de largo. Su descripción se realizó a partir de aislamiento provenientes de hemocultivos. La secuencia del ARNr 16S depositada en GenBank es para MS-1T la AB470343.

Porphyromonas bennonis: su nombre por Yoshimi Benno, anaerobista japonés. Es un bacilo Gram negativo que puede presentar formas cocobacilares, mide 0,7 a 1 micra de diámetro por 0,8 a 6 micras de largo. Su descripción se realizó a partir de cultivos obtenidos de infecciones mixtas de piel y partes blandas (abscesos de la zona glútea y de la ingle). Se supone que esta bacteria hace parte de la flora intestinal y hasta el momento no se asocia con infección en cavidad oral. Su caracterización se realizó mediante secuenciación del ARNr 16S y por el contenido de ácidos grasos. La secuencia del ARNr 16S depositada en GenBank es la EU414673.

Pseudoflavonifractor capillosus: es el nuevo nombre de *Bacteroides capillosus*, que genéticamente es un *clostridial*.

Cocos Gram negativos anaerobios: en este grupo morfológico solo se ha definido una especie: *Negativicoccus succinivorans*, coco Gram negativo que recibió su nombre porque en su metabolismo utiliza ácido succínico. Son cocos muy pequeños, miden 0,4 micras de diámetro. Se caracterizó por secuenciación del ARNr 16S y de dnaK. Los estudios demuestran que este coco hace parte del microbioma de piel y se ha aislado en infecciones de partes blandas y bacteriemia. La secuencia del ARNr 16S depositada en GenBank es la FJ715930 y la de dnaK FJ7159319.

Tabla 1.2. Actualización taxonómica de bacterias anaerobias

BACILOS GRAM NEGATIVOS ANAEROBIOS	
ACTUALES	ANTIGUOS Y/O POSICIÓN TAXONÓMICA
<i>Anaerobiospirillum thomasi</i> **	
<i>Alloprevotella tannerae</i>	<i>Prevotella tannerae</i>
<i>Bacteroides distasonis</i>	Relacionado con el grupo <i>Porphyromonas</i>
<i>Bacteroides forsythus</i> *	Relacionado con el grupo <i>Porphyromonas</i>
<i>Bacteroides furiosus</i>	Relacionado con el grupo <i>Porphyromonas</i>
<i>Bacteroides putredinis</i>	Posiblemente relacionado con <i>Rikenella</i>
<i>Bacteroides pyogenes</i> *	Grupo II de <i>Bacteroides tectum</i> (algunas especies)
<i>Bacteroides splanchnicus</i>	Posiblemente pertenece a un nuevo género
<i>Bacteroides tectus</i>	<i>Bacteroides tectum</i> . Relacionado con <i>B. fragilis</i>
<i>Butyrivibrio species</i>	Relacionado con <i>Clostridium</i>
<i>Campylobacter gracilis</i>	<i>Bacteroides gracilis</i> (algunas especies)
<i>Campylobacter hominis</i> **	
<i>Campylobacter showae</i> **	
<i>Capnocytophaga granulosa</i> **	
<i>Capnocytophaga haemolytica</i> **	
<i>Catonella morbi</i>	Relacionado con <i>Clostridium</i>
<i>Centipeda periodontii</i>	Relacionado con <i>Selenomonas</i> .
<i>Dialister pneumosintes</i>	Relacionado con <i>Sporomusa</i> , rama de <i>Clostridium</i>
<i>Fusobacterium varium</i>	<i>Fusobacterium pseudonecrophorum</i>
<i>Johnsonella innava</i>	Relacionado con <i>Clostridium</i>
<i>Leptotrichia sanguinegens</i> **	
<i>Leptotrichia hongkongensis</i> **	
<i>Mitsoukella multiacida</i>	Relacionado con <i>Sporomusa</i> , rama de <i>Clostridium</i>
<i>Parabacteroides gordonii</i> **	
<i>Phocaeicola abscessus</i> **	
<i>Porphyromonas cangingivalis</i> **	
<i>Porphyromonas bennonis</i> **	
<i>Porphyromonas canoris</i> **	
<i>Porphyromonas cansulci</i> **	
<i>Porphyromonas catoniae</i>	<i>Oribaculum catoniae</i>
<i>Porphyromonas crevioricanis</i> **	
<i>Porphyromonas gingivicanis</i> **	
<i>Porphyromonas gulae</i> **	
<i>Porphyromonas levii</i> *	<i>Bacteroides levii</i>

<i>Porphyromonas macacae</i>	<i>Bacteroides macacae</i> , <i>Porphyromonas salivosa</i>
<i>Prevotella albensis</i> *	<i>Bacteroides ruminicola</i> subesp. <i>ruminicola</i> biovar 7 <i>Prevotella ruminicola</i> (algunas especies)
<i>Prevotella brevis</i> *	<i>Bacteroides ruminicola</i> subesp. <i>brevis</i> biovars 1,2, <i>Prevotella ruminicola</i> (algunas especies)
<i>Prevotella bryantii</i> *	<i>B. ruminicola</i> subesp. <i>brevis</i> biovar 3,

*Especies nuevas.

Tomado de: Taxonómicamente *Schleiferella* tiene prioridad, Moncla BJ, Hillier SL. *Peptostreptococcus*, *Propionibacterium*, *Lactobacillus*, *Actinomyces*, and other non-spore-forming anaerobic gram-positive bacteria. En: Murray PR, Baron EJ, Jorgensen JH, Pfaller MA, Tenover FC, Tenover FC editores. *Manual of Clinical Microbiology*, Eighth Edition. American Society for Microbiology, Washington, D.C.; 2003. p. 857-879.

Moncla BJ, Hillier SL. *Peptostreptococcus*, *Propionibacterium*, *Lactobacillus*, *Actinomyces*, and other non-spore-forming anaerobic gram-positive bacteria. En: Murray PR, Baron EJ, Jorgensen JH, Pfaller MA, Tenover FC, Tenover FC editores. *Manual of Clinical Microbiology*, Eighth Edition. American Society for Microbiology, Washington, D.C.; 2003. p. 857-879.

Jousimies-Somer HR, Summanen P, Citron DM, Baron EJ, Wexler y HM, Finegold SM. *Wadsworth's KTL Anaerobic Bacteriology Manual*. Star Publishing Company. Belmont, C.A. 2002.

José Elías García Sánchez, Enrique García-Sánchez, María García-Moro. El microbiólogo clínico ante los cambios taxonómicos en el género *Clostridium*. *Rev Esp Quimioter* 2016;29(5): 239-243.

Collins et al. en 1994, mediante secuenciación del ARNr 16S y la observación de las características fenotípicas, dedujeron la discrepancia filogenética de miembros del género *Clostridium*. El estudio dio como resultado la definición de 19 "clusters" (grupo o racimo genético en un dendograma) y establecieron 5 nuevos géneros: *Caloramator*, *Filifactor*, *Moorella*, *Oxobacter* y *Oxalophagus*, precisando que en el "cluster" I se ubicarían los clostridios verdaderos, mientras que propusieron que la mayoría de las especies patógenas se localizarían en los "clusters" I, XI y XIV.

Igualmente, Collins et al. en 2010, mediante otros estudios filogenéticos se definió que el género *Flavonifractor*, se ubicaba dentro del "cluster" IV, donde se encuentran por ahora

especies que representan poca importancia clínica. Posteriormente en 2013, y mediante el estudio del ARNr 16S y las secuencias de las proteínas ribosomales, plantearon ubicar 78 especies en seis nuevos géneros: *Erysipelatoclostridium*, *Lachnoclostridium*, *Peptoclostridium*, *Ruminiclostridium*, *Gottschalkia* y *Tyzzerella*. En 2014, se establecieron cuatro nuevos géneros para ubicar cinco especies del género *Clostridium* conocidas, dos de estos géneros son *Terrisporobacter* y *Hungatella*. Y en el año 2015, crearon el género *Hathewayia*. En 2016, se propuso la creación de los géneros *Paraclostridium* y *Paeniclostridium* en los cuales se encuentran algunas especies que tienen importancia clínica por provenir de procesos infecciosos en humanos y, este mismo año, se crea el género *Clostridioides* y se propone transferir a él a *Clostridium difficile* que a la fecha se había situado en el género *Peptoclostridium*.

Hábitat microbiano

El término Hábitat hace referencia al lugar que reúne las condiciones apropiadas para que viva un organismo especie o comunidad microbiana, animal o vegetal, y en la cual puede residir y reproducirse, de manera tal que asegure perpetuar su presencia en el planeta. Se supone que la vida en la tierra se inició hace unos 3800 millones de años y que sus primeros pobladores fueron comunidades de bacterias adaptadas al medio ambiente, lo cual pudo permanecer por un lapso de 2000 a 2500 millones de años; en esos procesos de adaptación al ambiente evolucionaron en sus metabolismos y con ello consiguieron modificar condiciones en la tierra. Con la generación de estos cambios sostenibles en los ecosistemas que se encontraban permitieron el desarrollo de nuevas formas de vida más complejas. La acción y dinámica de los diferentes metabolismos bacterianos, entre los que se encuentran fotosintéticos, heterótrofos, quimiolitótrofos, sulfuradores y quimiosintéticos, entre otros, han facilitado que la materia se recicle, para ser reutilizada. El perfeccionamiento de todas

estas formas de metabolismo y nutrición bacteriana condujo a que se cerraran los ciclos biogeoquímicos del planeta, con lo que la vida puede mantenerse con la energía del sol.

Los organismos vivos, en particular el humano como hospedero, brinda una complejidad de nichos ecológicos que presentan diferencias relacionadas con los diferentes aspectos físicos y químicos, entre los que se encuentran: la temperatura, la concentración de oxígeno, el pH y la presión osmótica, entre otros, que ofrecen condiciones adecuadas para que dependiendo el tipo de microorganismo crezca y se reproduzca.

Como se mencionó anteriormente, estas bacterias hacen parte del microbioma humano y animal en piel, sistema digestivo y genital, que cuando las barreras mucosas fallan o hay disminución en la respuesta inmune causan enfermedad. La amplia carga de bacterias anaerobias que colonizan el cuerpo humano comprende aproximadamente el 90% de su biomasa total. La relación biótica entre el ser humano y su microbioma establece beneficios recíprocos, aunque con potencial patógeno en situaciones particulares de disbiosis.

Un ejemplo de esta interacción se da en la mucosa oral donde la saliva contribuye a la formación de la película salival, que recubre los tejidos bucales duros y blandos, determinando así la adhesión y colonización inicial de los microorganismos, esta amortigua el pH hasta aproximadamente la neutralidad, creando un entorno propicio para el crecimiento de muchas bacterias orales que brindan importantes beneficios al huésped. Los componentes de las defensas adaptativas e innatas del huésped son administrados por la saliva, y estos a menudo funcionan de manera sinérgica y en concentraciones subletales, por lo que se desarrolla una relación compleja entre el huésped y el microbioma residente, así que la disbiosis puede ocurrir rápidamente si se altera el flujo de saliva.

Las bacterias anaerobias superan en cantidad a las bacterias facultativas en el intestino en una relación de 1000:1,

mientras que en piel, boca, vías aéreas superiores y tracto genital inferior femenino la relación es de 5-10:1. Una vez dentro del hospedero los microorganismos se relacionan mediante comensalismo, mutualismo o parasitismo, dependiendo de las circunstancias. Muestra de ello es la interacción que *Lactobacillus* sp, cumple en la mucosa del tracto genital femenino, provocando una relación de mutualismo, donde la bacteria ofrece protección mediante la producción de ácido láctico y por ende acidez, con la que previene la colonización de otros microorganismos, y por otro lado el hospedero le proporciona los nutrientes y el ambiente adecuado para su permanencia.

A pesar de que la piel y algunas cavidades del cuerpo humano como la nariz, boca y fauces permanecen expuestas al aire, las bacterias anaerobias se desarrollan allí, dado que se localizan dentro de los folículos pilosos, surcos gingivales y criptas amigdalinas, protegiéndose un poco de la exposición al aire y además ayudados por las demás bacterias aerobias que se encuentran allí y se encargan de consumir o degradar oxígeno, creando un microambiente con potencial bajo de óxido – reducción que le brinda protección. Así como las bacterias aeróbicas, los microorganismos anaerobios poseen también importancia en los procesos de morbilidad en relación con las enfermedades infecciosas, por lo cual su aislamiento y posterior identificación son necesarios.

El microbioma bacteriano en el humano cambia según el lugar donde se analice, ya que cada uno funciona como un pequeño microecosistema ofreciéndole al microorganismo los requerimientos que necesita para su crecimiento. Así entonces en lugares proximales al yeyuno se pueden encontrar bacterias *Gram positivas* facultativas, en lugares como el yeyuno distal y proximal del colon hay bacterias anaerobias facultativas y anaerobias estrictas especialmente *Gram negativas*. La flora anaerobia es principalmente numerosa a nivel de ciertas mucosas como boca, faringe, intestino, vagina y con menor número la piel.

Tabla 1.3. Incidencia de las bacterias anaerobias como flora normal humana

Microorganismos	Piel	Tracto Respiratorio Superior	Boca	Intestino	Genitales Externos	Uretra	Vagina
Bacilos Gram positivos esporulados							
<i>Clostridium</i> y otros	0	0	1	3 - 4	0	1	1
Bacilos Gram positivos no esporulados							
<i>Actinomyces</i>	0	2	2	1	0	0	0
<i>Bifidobacterium</i>	0	0	2	1	0	0	2
<i>Eubacterium</i>	1	1	2	3 - 4	d	d	1
<i>Propionibacterium/Cutibacterium</i>	1	2	1	1	d	0	2
Bacilos Gram negativos							
<i>Bacteriodes</i>	0	2	3 - 4	2	2	2	2
<i>Fusobacterium</i>	0	2	3 - 4	2	2	2	1
Cocos Gram positivos							
<i>Peptoestreptococcus</i>	2	2	3 - 4	3 - 4	2	1	2
Cocos Gram negativos							
<i>Veillonella</i>	0	2	3 - 4	2	0	d	2
Tracto respiratorio superior incluye vías nasales, nasofaringe, orofaringe y amígdalas. (d=desconocido) (0=no encontrados o raros) (1=hallazgo irregular) (2=habitualmente presentes) (3-4=presentes en gran número).							

Como se dijo anteriormente dependiendo de las condiciones que brinda el microambiente, se encuentran unas u otras bacterias anaerobias, tal como se muestra en la tabla 1.4.

Tabla 1.4. Distribución de las bacterias anaerobias en el humano

Microorganismos	Piel	Tracto Respiratorio Superior	Boca	Intestino	Genitales Externos	Uretra	Vagina
Bacilos Gram positivos esporulados							
<i>Clostridium</i>	Raro / negativo	Raro / negativo	Casi siempre	Siempre en gran número	Raro / negativo	Algunas veces	Algunas veces
Bacilos Gram positivos no esporulados							
<i>Actinomyces</i>	Raro / negativo	Casi siempre	Casi siempre	Algunas veces	Raro / negativo	Raro / negativo	Raro / negativo
<i>Bifidobacterium</i>	Raro / negativo	Raro / negativo	Casi siempre	Algunas veces	Raro / negativo	Raro / negativo	Con frecuencia
<i>Eubacterium</i>	Algunas veces	Algunas veces	Casi siempre	Siempre en gran número	desconocido	desconocido	hallazgo irregular
<i>Cutibacterium / Propionibacterium</i>	Casi siempre	Casi siempre	Algunas veces	Algunas veces	desconocido	Raro / negativo	Casi siempre
Bacilos Gram negativos							
<i>Bacterioides</i>	Raro / negativo	Casi siempre	Siempre en gran número	Siempre en gran número	Siempre en gran número	Casi siempre	Casi siempre
<i>Fusobacterium</i>	Raro / negativo	Casi siempre	Siempre en gran número	Siempre en gran número	Siempre en gran número	Casi siempre	Algunas veces
Cocos Gram positivos							
<i>Peptostreptococcus</i>	Casi siempre	Casi siempre	Siempre en gran número	Siempre en gran número	Casi siempre	Algunas veces	Casi siempre
Cocos Gram negativos							
<i>Veillonella</i>	Raro / negativo	Casi siempre	Siempre en gran número	Casi siempre	Raro / negativo	desconocido	Casi siempre

Las bacterias anaerobias como se dijo antes, están distribuidas ampliamente en la naturaleza de manera libre y realizando múltiples procesos. En animales y ser humano, se encuentran como parte del microbioma normal y en el caso de presentarse en el individuo procesos de inmunosupresión pueden originar diseminación en el organismo.

De acuerdo con su procedencia se clasifican de la siguiente manera:

Fuentes exógenas donde se encuentran bacterias anaerobias:

- Suelo
- Agua: mar, lagos, sedimento de ríos, aguas cloacales, caños, aguas estancadas y pozos, entre otros.
- Alimentos
- Tracto gastrointestinal de animales

Fuentes endógenas donde se encuentran bacterias anaerobias:

- Cavidad bucal
- Tracto respiratorio superior
- Ojos
- Tracto génico-urinario
- Piel
- Tracto gastrointestinal

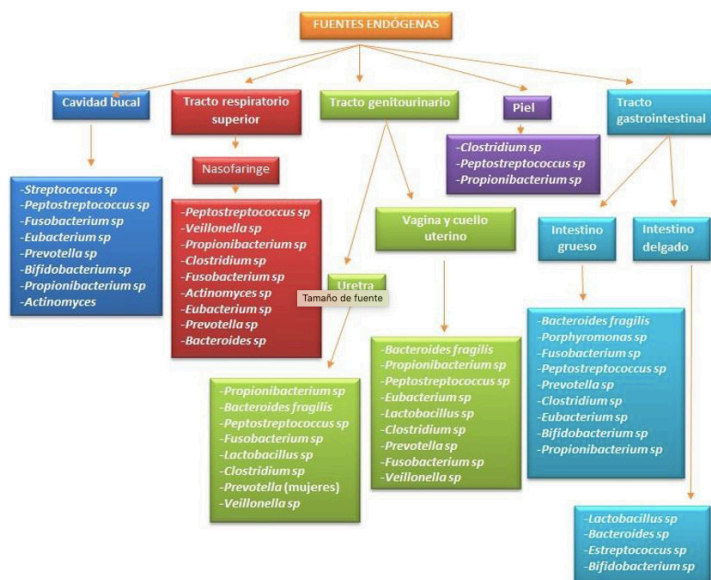


Figura 1.3. Clasificación de los principales géneros bacterianos anaerobios como fuente de infección endógena de la flora normal del ser humano. Fuente: Corrales, 2024

Formas de interacción con el oxígeno

En la práctica clínica frecuentemente se dejan de identificar infecciones por anaerobios pues son microorganismos que requieren la aplicación de otros protocolos desde, la recolección de la muestra, hasta su identificación y reporte de pruebas de sensibilidad.

Por su naturaleza, estas bacterias son lentas en su crecimiento lo cual hace más demorado el aislamiento y la identificación y, por sus requerimientos nutricionales, las pruebas de sensibilidad también requieren un proceso diferente; todo ello sumado a que en la mayoría de los casos se encuentran formando parte de infecciones mixtas, donde se aísla e identifica el aerobio o facultativo y, además, esto lleva a una respuesta terapéutica insuficiente con la consecuente afectación de la evolución del paciente.

El aislamiento óptimo de estas bacterias cuando provienen de muestras clínicas, requiere que se conozca su fisiología y el metabolismo para poder reproducir los ambientes adecuados en el laboratorio y facilitar su desarrollo. En general, el metabolismo de las bacterias anaerobias es de tipo fermentativo, donde sustancias orgánicas actúan como aceptores finales de electrones, sin embargo, otra opción que tienen es obtener energía a partir de su proceso de respiración. Otras características comunes de estas bacterias, se relacionan con la complejidad en sus requerimientos nutricionales, el lento crecimiento en el laboratorio, su labilidad a los cambios atmosféricos y las necesidades particulares de CO_2 . Cuando se encuentran relacionadas en infecciones mixtas, con bacterias aerobias y facultativas, éstas al ser menos exigentes y de crecimiento más rápido, conduce a una inhibición en el desarrollo de las anaerobias.

Lo anterior, conlleva que se tengan protocolos estrictos en la toma de la muestra, su transporte al laboratorio, la incubación y manipulación de los cultivos. Por esto, fundamentalmente el objetivo de la incubación en anaerobiosis se orienta a proporcionar la atmósfera adecuada para la recuperación y el desarrollo de bacterias anaerobias estrictas, por el tiempo que se tomen el aislamiento, la identificación y los estudios de sensibilidad a los antibióticos. Tener presente que, en la atmósfera anaerobia también se puede procurar la recuperación de otros microorganismos que pueden estar presentes en la muestra clínica.

La respiración anaerobia es el proceso por el cual un sustrato es oxidado completamente a CO_2 y agua, transformación mediada por una cadena de electrones con que cuenta la bacteria y que se localiza en su membrana plasmática, teniendo como aceptor final a un compuesto inorgánico que pueden ser nitratos, sulfatos o anhídrido carbónico, entre otros. Los primeros pasos en la respiración son similares a los que ocurren en la glucólisis; sin embargo, en la glucólisis el piruvato ($\text{C}_3\text{H}_4\text{O}_3$) se convierte en ácido láctico ($\text{C}_3\text{H}_6\text{O}_3$) y ácido propiónico ($\text{C}_3\text{H}_6\text{O}_2$), que son los productos finales de la fermentación; en la respiración, el piruvato es oxidado completamente

a CO₂ mediante el ciclo de Krebs. Por cada molécula de piruvato (C₃H₄O₃) oxidada en este ciclo se forman tres moléculas de CO₂ y, al igual que en la fermentación, los electrones creados en este ciclo pasan a coenzimas como el NAD.

Tabla 1.5. Clasificación de las bacterias dependiendo de su relación con el oxígeno

CLASIFICACIÓN DE LAS BACTERIAS DEPENDIENDO DE SU RELACIÓN CON EL OXÍGENO		
Anaerobios obligados		
Estrictas	- PO₂ menor de 0.5% - el O₂ es toxico.	- <i>Clostridium haemolyticum.</i> - <i>Clostridium novyi.</i> - <i>Selenomonas ruminantion.</i> - <i>Treponema denticola.</i>
Moderadas	- PO₂ entre 2 y 8%- ~~e~~ no lo utilizan para su metabolismo. - Sobreviven en aerobiosis por 60 a 90 minutos	- <i>Bacteroides fragilis.</i> - <i>Prevotella (pigmentadas)</i> - <i>Porphyromonas (pigmentadas)</i> - <i>Fusobacterium nucleatum.</i> - <i>Clostridium perfringens.</i>
Anaerobios no obligados		
Aerotolerantes	- No necesitan O₂ para su desarrollo normal, aunque toleran pequeñas concentraciones. - Si el O₂ está presente no lo utilizan para su metabolismo.	- <i>Clostridium carnis</i> - <i>Clostridium histolyticum</i> - <i>Clostridium tertium</i>
Facultativas	- No necesitan O₂ para su desarrollo normal. - si el O₂ está presente lo pueden utilizar para su metabolismo. - Crecen en condiciones aeróbicas y anaeróbicas. - Utilizan el O₂ como aceptor final de electrones.	- <i>Escherichia coli.</i> - <i>Staphylococcus aureus.</i> - <i>Cutibacterium acnes</i>
Microaerófilas	- Crecen en presencia de tensiones de O₂ mínimas. - Metabolizan el O₂ utilizándolo como aceptor final de electrones. - Necesitan atmósfera de CO₂.	- <i>Campylobacter jejuni</i>

Tomado de: *Microbiología Koneman 2008. Modificado por: Corrales, 2024*

Al inicio de la vida en el planeta, según reporte de estudios realizados se presume que la atmósfera no contenía oxígeno disuelto, pero contaba con otros componentes como vapor de agua (H_2O), metano (CH_4), sulfuro de hidrógeno (H_2S), dióxido de carbono (CO_2), amoníaco (NH_3), monóxido de carbono (CO) e hidrógeno (H). Por lo tanto, si los organismos que coexistían querían sobrevivir tenían que realizar procesos de fermentación para obtener energía utilizando moléculas de H_2O , de CO_2 y de NH_3 , así como otras fuentes energéticas naturales. Después de mucho tiempo de evolución el oxígeno se encuentra como elemento importante en la composición del aire; como elemento químico se encuentra en un porcentaje del 53.8% formando parte de la corteza de la tierra y, en su forma estructural O_2 , en alrededor del 21% del aire y, dentro del geosistema terrestre, en combinación con otros elementos.

Se encuentra distribuido en muchos lugares del planeta y en diferentes formas. En la capa superficial sólida de la tierra (litosfera), está combinado con silicio y forma la arena; en la hidrósfera con hidrógeno, formando el agua presente en océanos, ríos, lagos y, finalmente en la atmósfera, se encuentra de forma gaseosa, haciendo parte del aire.

Hace aproximadamente dos mil millones de años, los antecesores de las algas azul verdosas, fueron los primeros organismos que realizaron procesos de fotosíntesis aeróbica, y se les adjudica a ellos, la aparición de este gas en forma libre en la atmósfera. Cuando aparecen las células eucariotas en el planeta, la atmósfera contaba con el oxígeno. Este elemento es fundamental para los organismos aeróbicos, ya que es usado para la obtención de energía a partir de los nutrientes, por mecanismos de oxidación y liberación en ATP.

El oxígeno es un elemento que posee dos electrones separados en los orbitales p antiligantes, con el mismo número cuántico de espín, que evita que reaccione como un radical libre y le otorga la característica de comportarse como

oxidante, es decir, que le permite aceptar electrones de otras moléculas.

En los procesos de oxidación el oxígeno gana electrones y en consecuencia se reduce. Cuando en esta reducción se gana un solo electrón, se obtiene el anión superóxido (O_2^-), si se aumenta otro electrón se forma el anión peróxido. En el caso de que ocurra una reducción parcial del oxígeno cuando se aceptan dos electrones se obtiene peróxido de hidrógeno (H_2O_2). La unión que se da entre O-O cuando se forma el peróxido de hidrógeno no es fuerte y con facilidad se descompone originando el radical hidroxilo (HO), que presenta alta reactividad; pero cuando el oxígeno recibe cuatro electrones, se produce una molécula de agua (H_2O).



Figura 1.4. Producción de las especies activas del oxígeno. Tomado de R.A. toxicidade do oxigênio, Menghini, 1987. Modificado por: Corrales, 2024

El anión superóxido (O_2^-) es el radical que se encuentra en mayor cantidad en la célula. Este anión se produce principalmente en la cadena de transporte de electrones; también a partir de la fagocitosis, como resultado de activación de la enzima NADPH oxidasa, como mecanismo de defensa de la bacteria, también en reacciones de autooxidación y enzimáticas.

El peróxido de hidrógeno (H_2O_2), no se encuentra como radical libre, tiene la capacidad de dar origen al radical hidroxilo, cuando genera la reducción parcial del oxígeno o en la dismutación del radical superóxido por la enzima superóxido dismutasa (SOD). El peróxido de hidrógeno que producen algunas bacterias, tiene la capacidad de traspasar las

membranas celulares de otros organismos vivos y ocasionar daño en el hospedero.

El radical hidroxilo ($\text{OH}\bullet$) Tiene alta reactividad, posee una vida media bastante corta, debido a que reacciona de modo rápido e inespecífico sobre los blancos celulares (DNA, proteínas, lípidos y carbohidratos).

En la respiración anaerobia el flujo de electrones se convierte en energía química útil para las diversas funciones de la célula. Mediante la glucólisis las bacterias anaerobias obtienen energía; el proceso consiste en romper la glucosa ($\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$) mediante procesos bioquímicos hasta la obtención de dos moléculas de piruvato ($\text{C}_3\text{H}_4\text{O}_3$), para obtener energía quitándole electrones y formando dos moléculas de ATP y dos de $\text{NADH}+\text{H}$.

La enzima piruvato deshidrogenasa, se encarga de realizar la combinación del piruvato con la coenzima -A, para formar NADH , CO_2 y acetil -CoA, la cual es necesaria en el ciclo de Krebs, donde por acción enzimática es oxidada y convertida en CO_2 , $3 \text{ NADH} + 3 \text{ H}$ y otras moléculas.

Los electrones que se encuentran en la NADH y los hidrogeniones (H^+) obtenidos en la oxidación son utilizados en la fosforilación oxidativa y en el sistema de fuerza protón motriz, como otras posibilidades de generar energía. Los e-transitan por la cadena transportadora de electrones, que en las bacterias anaerobias está conformada por proteínas y enzimas como la nitrato reductasa o la fumarato reductasa de acuerdo con el aceptor de e- disponible. La fermentación es otra forma de obtener energía en ausencia de oxígeno, pero es un proceso distinto de la respiración anaerobia. En general la respiración aerobia genera más energía que la anaerobia y mucho más que la fermentación de azúcares.

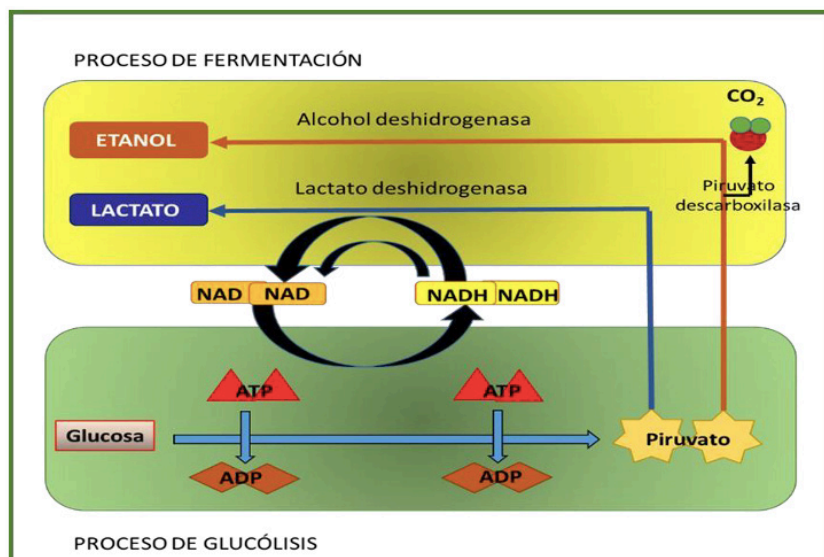


Figura 1.5. Proceso de respiración anaeróbica. Fuente: Corrales, 2024

A continuación, en la siguiente tabla se describen las principales diferencias entre la respiración aeróbica y la respiración anaeróbica.

Tabla 1.6. Metabolismo respiratorio en las bacterias

METABOLISMO RESPIRATORIO EN LAS BACTERIAS	
RESPIRACIÓN ANAEROBIA	RESPIRACIÓN AEROBIA
No utiliza el oxígeno atmosférico en la degradación de la glucosa	Utiliza el oxígeno atmosférico en la degradación de la glucosa en CO ₂ , H ₂ O y ATP
Es propia de los anaerobios obligados y facultativos	Es propia de los aerobios
Utiliza dos vías degradativas: la glucólisis y la fermentación	Utiliza tres vías degradativas: la glucólisis, el ciclo de Krebs y la cadena oxidativa o de transporte de electrones.
Produce menos rendimiento en la producción de 2 moléculas de ATP.	Produce más rendimiento en la producción de 38 moléculas de ATP, donde el ciclo de Krebs es el más eficiente con 24.

La necesidad, tolerancia o toxigenicidad al oxígeno, está dada por la síntesis de enzimas que lo degradan a compuestos menos dañinos como: la catalasa, peroxidasa y superóxido dismutasa.

Enzimas respiratorias

Superóxido dismutasa

La enzima superóxido dismutasa (SOD), denominada anteriormente como hemocupreína y eritrocupreína, se encarga e catalizar la dismutación del ion superóxido en oxígeno y peróxido de hidrógeno, como protección antioxidante en la mayoría de las bacterias que se exponen al oxígeno. Es una de las principales especies reactivas del oxígeno en la célula y tiene un papel preponderante como superoxidante, y catalizador de los radicales libres.

La actividad de la enzima superóxido dismutasa (SOD) se ha manifestado en una gran variedad de organismos vivos que incluye desde bacterias hasta humanos; cualquier célula que utilice el oxígeno tiene la capacidad para originar aniones superóxido y, por tanto, debe tener alguna forma de superóxido dismutasa. Hacen parte de las metaloenzimas que se clasifican en cuatro grupos según el metal que actúe de cofactor: FeSOD, MnSOD, CuZnSOD y NiSOD.

La actividad de la enzima superóxido dismutasa protege no sólo de forma directa eliminando aniones superóxido, sino que también impide la formación del radical hidroxilo OH·. Entonces el papel que cumple esta enzima es esencial cuando se trata de proteger bacterias patógenas durante el estallido respiratorio que sucede a la fagocitosis y por ello se asocia a los mecanismos de virulencia.

Por lo anterior la habilidad de una bacteria de infectar a su hospedador se facilita en parte, a su resistencia frente a la producción de sustancias oxidantes por las células, principalmente monocitos/macrófagos y polimorfonucleares.

Catalasa

La Catalasa es una enzima, cuya función es catalizar reacciones de desintegración del peróxido de hidrógeno (H_2O_2) en agua y oxígeno. El H_2O_2 se produce como resultado del metabolismo aeróbico de los hidratos de carbono, y como ya se mencionó anteriormente, es perjudicial para la supervivencia de las bacterias cuando se acumula. Esta enzima es sintetizada por la mayoría de las bacterias aerobias y anaerobias facultativas.

Corresponde a un homotetrámero que contiene un grupo hemo en cada subunidad, el cual utiliza como cofactor al igual que el manganeso.

El grupo de enzimas a las que pertenece la catalasa corresponde al grupo de las oxido reductasas, las cuales catalizan reacciones de óxido-reducción en las que simultáneamente se pierden electrones por una sustancia que se oxida (agente reductor) y, esta misma cantidad de cargas negativas, es ganada por una sustancia que se reduce (agente oxidante).

Según el cofactor que reaccione junto con la enzima se han podido clasificar tres tipos de catalasa: Las *monofuncionales* que se caracterizan por la presencia del grupo hemo como cofactor; las *Mn-catalasas* en las que en lugar de utilizar como cofactor el grupo hemo es reemplazado por Manganeso (Mn) éste tipo de catalasas están presentes solo en algunos organismos anaerobios; y las *catalasas-peroxidasas* que, al igual que las catalasas hemo, también tienen como cofactor este grupo, pero se diferencian de las primeras en que solo están presentes en hongos y bacterias.

Mecanismo de reacción de la catalasa

De acuerdo con Díaz, A. (2003), en la reacción de la catalasa intervienen dos moléculas de peróxido, entre las cuales ocurre el intercambio electrónico, siendo una de ellas el

agente oxidante y la otra el agente reductor; así en un primer paso, la molécula de catalasa se oxida y da lugar a un primer compuesto intermediario (es aquí donde interviene el cofactor) y se origina una primera molécula de agua; en el segundo paso, el compuesto I se reduce gracias a otra molécula de peróxido obteniendo nuevamente la molécula de catalasa original y una molécula de oxígeno (O_2) estable.

Técnica:

En lámina: colocar en la lámina portaobjetos una o dos gotas de H_2O_2 al 3%. Tomar una colonia del microorganismo con un palillo estéril y mezclar suavemente.

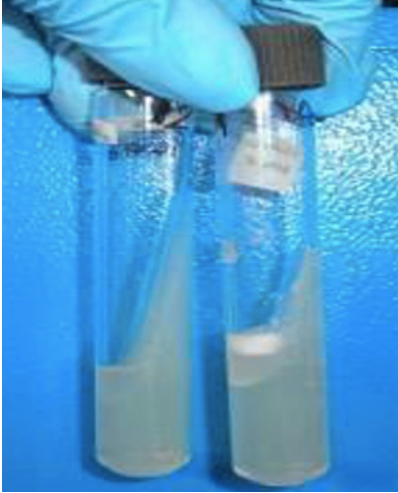
En tubo: en un tubo de agar nutritivo en “pico de flauta” hacer la siembra por estría del microorganismo, incubarlo a $37^\circ C$ por 18 a 24 horas, ambiente aerobio. Para la lectura se le agregan dos o tres gotas de H_2O_2 al 3% preferiblemente recién preparado sobre las colonias en el medio.

Lectura:

Catalasa Positiva: La aparición inmediata y permanente de burbujas o efervescencia, algunas bacterias poseen enzimas distintas de la catalasa que pueden descomponer el H_2O_2 por lo tanto la observación de burbujas pequeñas después de 20 a 30 segundos es un resultado negativo. Los eritrocitos poseen catalasa por lo cual debe tenerse cuidado al tomar la colonia de preferencia de un medio de cultivo sin sangre y, en caso de que no sea posible, verificar que esté libre de glóbulos rojos.

Catalasa Negativo: cuando después de 20 segundos se observa la aparición de pocas burbujas o no se producen.

Control de calidad: positivo
negativo



Staphylococcus
Streptococcus



Foto 1.1. Prueba de catalasa en tubo (izquierda negativa, derecha positiva), prueba de catalasa en lámina (observe la formación de burbujas) Fuente: Corrales, 2024

Metabolismo

Se entiende por metabolismo al conjunto de reacciones químicas que suceden en la célula; tiene tres funciones específicas: la primera, se relaciona con la obtención de energía química a partir del entorno, su almacenamiento y posteriormente su uso en diferentes funciones celulares; la segunda, es realizar la conversión de nutrientes del medio en sustancias precursoras de los componentes macromoleculares de la célula bacteriana; y la tercera, se relaciona con la formación y degradación de las moléculas necesarias para cumplir las funciones celulares específicas como movilidad y captación de nutrientes.

El proceso de la degradación anaeróbica de la materia orgánica involucra la hidrólisis de los compuestos de peso molecular elevado como polisacáridos, lípidos y proteínas para formar compuestos de bajo peso molecular, dentro de los que se encuentran los ácidos orgánicos y alcoholes, que

posteriormente son fermentados hasta ácidos grasos volátiles como propionato y acetato, y gases como H_2 y CO_2 , los cuales conforman sustratos para las fases terminales del metabolismo con la sulfatorreducción y la metanogénesis.

El metabolismo en las bacterias se origina por secuencias de reacciones que son catalizadas por enzimas y se compone en anabolismo y catabolismo. El anabolismo (biosíntesis) se conoce como el proceso mediante el cual la célula bacteriana sintetiza sus propios componentes y del cual se obtiene la producción de nuevo material celular; este proceso requiere energía. Y todas esas reacciones degradativas de los nutrientes para obtener energía o para convertirlos en unidades precursoras del anabolismo, se denomina catabolismo.

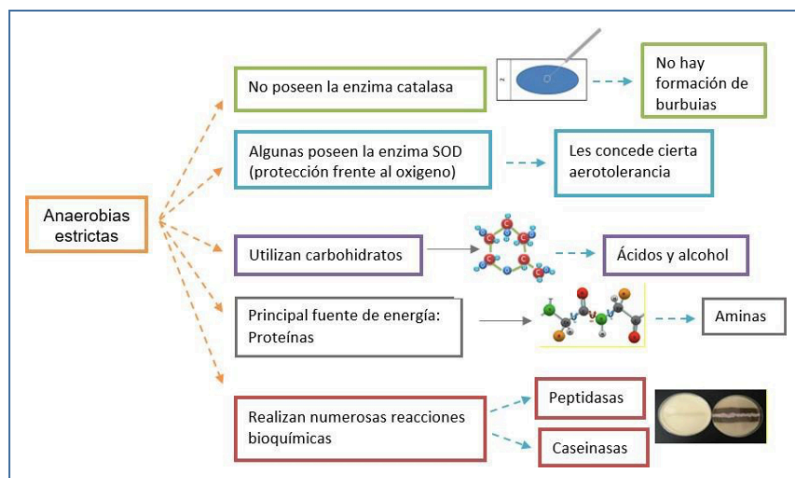


Figura 1.6. Características de las bacterias Anaerobias estrictas. Fuente: Corrales, 2024

El trifosfato de adenosina (ATP), es el compuesto a base de fosfato que aporta el mayor contenido energético. En la bacteria este compuesto se forma por dos procesos: fosforilación a nivel del sustrato y fosforilación oxidativa.

El uso de la energía potencial contenida en los nutrientes se produce por reacciones de oxidación y reducción. En la oxidación se pierden electrones mientras que en la reducción

se ganan; sin embargo, puede ocurrir con cierta frecuencia que se transfieran átomos de hidrógeno, mediante el proceso que se denomina deshidrogenación; átomos que son cedidos por sustancia y aceptados por otra.

Los sistemas de oxidación reducción, en las bacterias, favorecen la transformación de la energía química que proviene de los nutrientes en sustancias biológicamente útiles, lo cual sucede por los procesos de fermentación y respiración. En la fermentación, tanto la molécula donadora de electrones como la aceptora, corresponden a compuestos orgánicos; mientras que en la respiración existe un aceptor final exógeno que puede ser el oxígeno; en este caso, se está frente a un proceso de respiración aerobia y, cuando es un compuesto inorgánico, a una respiración anaerobia.

En el proceso de fermentación, los electrones son transferidos del donador que es un intermediario que resulta de la degradación del sustrato, al aceptor que es otro mediador orgánico, formado durante el catabolismo del sustrato inicial. Por ello, en la oxidación reducción no se necesita la existencia de un aceptor final de electrones.

Existen diferentes tipos de fermentación, sin embargo, el proceso bioquímico conlleva a oxidación parcial de los átomos de carbono de la sustancia inicial con la liberación de pequeñas cantidades de la energía potencial contenida, con un rendimiento energético menor que el de la respiración.

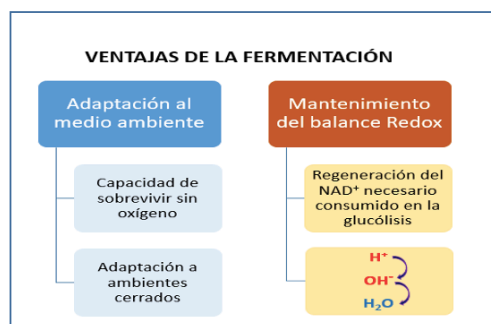


Figura 17. Ventajas de la fermentación para el desarrollo bacteriano. Fuente: Corrales, 2024

La fermentación alcohólica se produce en levaduras y otros microorganismos con la formación de etanol luego de dos pasos sucesivos: el primero, la descarboxilación del piruvato con la formación de acetaldehído y, el segundo, con la reducción del acetaldehído a etanol mediante la intervención del cofactor. Esta es una reacción exérgica en la cual se utiliza parte de la energía en la formación de ATP y un elevado desprendimiento de calor. El balance de óxido – reducción es nulo, constituyendo un proceso anaerobio, cuya molécula final etanol posee una elevada energía de enlace.

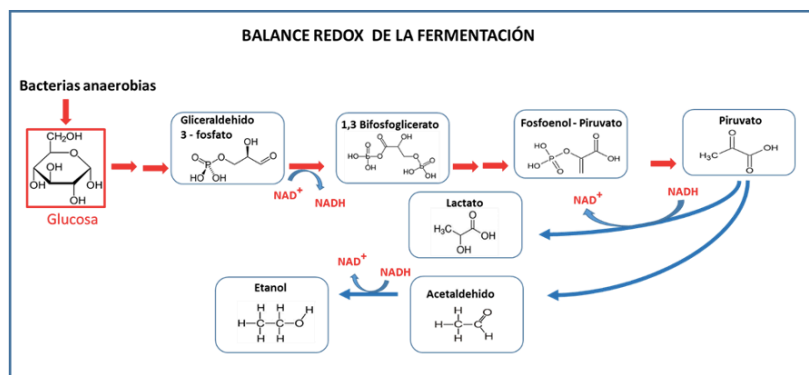


Figura 1.8. Balance Redox a partir de la fermentación anaerobia. Fuente: Corrales, 2024

Cuando existe bajo suministro de azúcar en el medio, se activan la piruvato formiato liasa y el acetato quinasa; en este proceso se transforma el piruvato en formiato y acetato con la obtención de ATP extra, como sucede en el caso de *Bacteroides melaninogenes*.

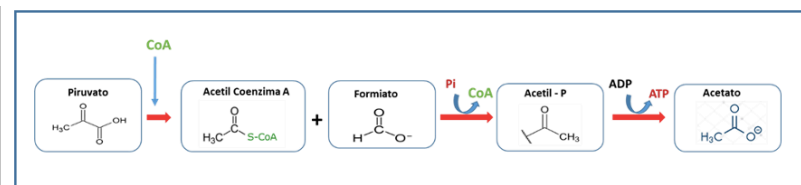


Figura 1.9. Proceso bioquímico en presencia de bajo suministro de azúcar. Fuente: Corrales, 2024

En el caso contrario cuando existe en el medio un alto contenido de azúcar, se observa una alta concentración de Glicerinaldehído 3 – fosfato, que inhibe la piruvato formiato liasa, una concentración alta de fructosa 1,6 – difosfato que activa la lactato deshidrogenasa, de tal forma que se disminuye la síntesis de formiato, favorece la fermentación láctica y se disminuye el pH del medio como sucede con el metabolismo de *Veillonella* que transforma el lactato en acetato y propionato.

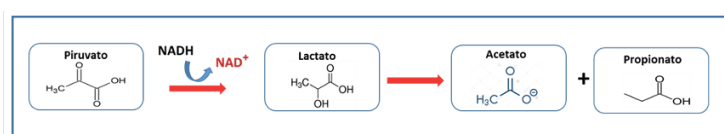


Figura 1.10. Proceso bioquímico en presencia de alto suministro de azúcar. Fuente: Corrales, 2024

En la placa de los dientes, cuando las bacterias siguen las rutas alcalinogénicas, encuentran arginina y urea, que son dos fuentes de álcali. Por un lado, la urea es hidrolizada por la enzima ureasa procedente del metabolismo de algunas bacterias orales, y el amonio generado desde la hidrólisis de la urea aumenta considerablemente el pH del medio.

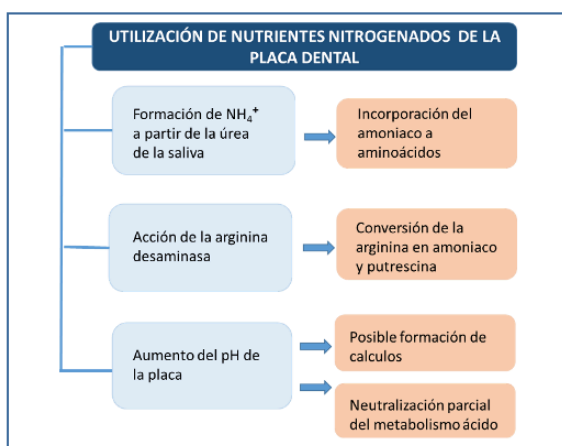


Figura 1.11. Ventajas de la utilización de compuestos nitrogenados para el desarrollo bacteriano. Fuente: Corrales, 2024

Por otro lado, el amonio también puede obtenerse por la desaminación de la arginina por la enzima arginina deaminasa. Según estudios experimentales se ha planteado la suposición de que el amonio que se genera por el metabolismo de la urea y la arginina, puede ser un factor endógeno inhibitorio de la proliferación del microbioma cariogénico y por ende del desarrollo de la caries dental, proceso que llevaría a la neutralización de ácidos y estabilización del microbioma oral normal y favorecedor de la salud oral. La urea que se encuentra en la cavidad oral proviene de la secreción salival y del fluido crevicular, y la hidrólisis de esta por la ureasa bacteriana, produce amonio y CO_2 y es uno de los mejores caminos para la producción de álcali en la cavidad oral, por lo cual lo recomendado es eliminar del ambiente oral bacterias que realicen este proceso

Evaluación y repaso

1. ¿Cuál es la diferencia en los conceptos microbiota y microbioma?
2. En un mapa conceptual explique las principales diferencias entre una célula procariota y una eucariota.
3. ¿En qué consiste la coloración de Gram y cuál es su fundamento?
4. ¿Qué se entiende por flora bacteriana comensal, transitoria y patógena?
5. ¿Explique cuáles son las técnicas que se utilizan para la clasificación taxonómica de las bacterias?
6. ¿Cuáles son los principales hábitats de las bacterias anaerobias en el cuerpo humano?
7. En un diagrama explique cómo se clasifican las bacterias en relación con el oxígeno.

8. ¿Cuáles son las principales enzimas que intervienen en el proceso respiratorio y cuál es la función de cada una?

Lista de figuras

- Figura 1.1. Representación de la célula eucariota y procariota. Tomado de <http://biotecnologiamolecular.weebly.com/eucariota-vs-procariota.html>
- Figura. 1.2. Clasificación general de las bacterias anaerobias. L Corrales.
- Figura 1.3. Clasificación de los principales géneros bacterianos anaerobios como fuente de infección endógena de la flora normal del ser humano. L Corrales.
- Figura 1.4. Producción de las especies activas del oxígeno. Tomado de R.A. toxicidade do oxigênio, Menghini, 1987. Modificado por L Corrales.
- Figura 1.5. Proceso de respiración anaeróbica. L Corrales.
- Figura 1.6. Características de las bacterias Anaerobias estrictas. L Corrales.
- Figura 1.7. ventajas de la fermentación para el desarrollo bacteriano. L Corrales.
- Figura 1.8. Balance Redox a partir de la fermentación anaerobia/L. Corrales
- Figura 1.9. Proceso bioquímico en presencia de bajo suministro de azúcar /L. Corrales
- Figura 1.10. Proceso bioquímico en presencia de alto suministro de azúcar /L. Corrales
- Figura 1.11. ventajas de la utilización de compuestos nitrogenados para el desarrollo bacteriano. L Corrales.

Lista de tablas

- Tabla 1.1. Características generales de las bacterias Gram positivas y Gram negativas.
- Tabla 1.2. Actualización taxonómica de bacterias anaerobias.
- Tabla 1.3. Incidencia de las bacterias anaerobias como flora normal humana.
- Tabla 1.4. Distribución de las bacterias anaerobias en el humano.
- Tabla 1.5. Clasificación de las bacterias dependiendo de su relación con el oxígeno.
- Tabla 1.6. Metabolismo respiratorio en las bacterias.

Lista de fotos

- Foto 1.1. Prueba de catalasa en tubo (izquierda negativa, derecha positiva), prueba de catalasa en lámina (observe la formación de burbujas) /L. Corrales.

Referencias bibliográficas

- Al Masalma M, Raoult D, Roux V. *Phocaeicola abscessus* gen. nov., sp. nov., an anaerobic bacterium isolated from a human brain abscess sample. *Int J Syst Evol Microbiol*. 2009; 59:2232–7.
- Almeida A, Nafarrate E, Alvarado A, Cervantes A, Luevanos, Oropeza R, Balagurusamy
- N. Expresión genética en la digestión anaerobia: un paso adelante en la comprensión de las interacciones tróficas de esta biotecnología. *Revista Científica de la Universidad Autónoma de Coahuila [revista en internet]** 2011; 3(6). Disponible en: [http:// www.posgradoeinvestigacion.uadec.mx/AQM/No.%206/3. Html](http://www.posgradoeinvestigacion.uadec.mx/AQM/No.%206/3.Html).
- Alves J, Peres S, Gonçalves E, Mansinho K. Bactérias Anaeróbias com Relevância Clínica: Classificação Taxonômica e Morfológica, Presença na Microbiota Humana e Diagnóstico Microbiológico [Anaerobic Bacteria with Clinical Relevance: Morphologic and Taxonomic Classification, Distribution among Human Microbiota and Microbiologic Diagnosis]. *Acta Med Port*. 2017;30(5):409-417
- Betri C, Picazo J. “El papel de los anaerobios en patología infecciosa.” *Enferm Infecc, Microbiol Clin*. 2012; 28: 141- 143.
- Carlier JP, Bedora-Faure M, K’ouas G, Alauzet C, Mory F. Proposal to unify *Clostridium orbiscindens* Winter et al. 1991 and *Eubacterium plautii* (Seguin 1928) Hofstad and Aasjord 1982, with description of *Flavonifractor plautii* gen. nov., comb. nov., and reassignment of *Bacteroides capillosus* to *Pseudoflavonifractor capillosus* gen. nov., comb. nov. *Int J Syst Evol Microbiol*. 2010 ;60(Pt 3):585-590.

- Cassir N, Laget L, Renvoisé A, Gennari JM, Drancourt M. *Robinsoniella peoriensis* infection followingsurgery for scoliosis: A case report. J Med Case Rep. 2012; 6:174: 24.
- Church DL, Simmon KE, Sporina J, Lloyd T, Gregson DB. Identification by 16S rRNA gene sequencing of *Negativicoccus succinivorans* recovered from the blood of a patient with hemochromatosis and pancreatitis. J Clin Microbiol. 2011; 49:3082–4.
- Citron DM, Tyrrell KL, Goldstein EJ. *Peptoniphilus coxii* sp. nov. and *Peptoniphilus tyrrelliae* sp. nov. isolated from human clinical infections. Anaerobe. 2012; 18:244–8.
- Citron DM. Update on the taxonomy and clinical aspects of the genus *Fusobacterium*. Clin Infect Dis. 2002;35 (Suppl 1): S22-7.
- Corrales L, Antolinez D, Bohórquez J, Corredor A. Bacterias anaerobias: procesos que realizan y contribuyen a la sostenibilidad de la vida en el planeta. NOVA. 2015; 13 (23): 55-81
- Cotta MA, Whitehead TR, Falsen E, Moore E, Lawson PA. *Robinsoniella peoriensis* gen. nov., sp. nov., isolated from a swine-manure storage pit and a human clinical source. Int J Syst Evol Microbiol. 2009; 59:150–5.
- Couturier MR, Slechts ES, Goulston C, Fisher MA, Hanson KE. *Leptotrichia* bacteremia in patients receiving high-dose chemotherapy. J Clin Microbiol. 2012; 50:1228–32.
- Cruz Quintana Sandra Margarita, Díaz Sjöstrom Pedro, Arias Socarrás Dunier, Mazón Baldeón Gloria Marlene. Microbiota de los ecosistemas de la cavidad bucal. Rev Cubana Estomatol. 2017; 54(1): 84-99. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-75072017000100008&lng=es.

- Díaz, A. La estructura de las catalasas. Departamento de Bioquímica, Instituto de Fisiología Celular, UNAM. México, 2003 D. F. C. P. 04510: 76-84
- D. Ricaboni, M. Mailhe, A. Benezech, C. Andrieu, P.-E. Fournier and D. Raoult. 'Pseudoflavonifractor phocaensis' gen. nov., sp. nov., isolated from human left colon. *New Microbes New Infect.* 2017; 17:15–17.
- Downes J, Dewhirst FE, Tanner AC, Wade WG. *Alloprevotella rava* gen. nov., sp. nov., isolated from the human oral cavity, and reclassification of *Prevotella tannerae* (Moore, Johnson & Moore, 1994) as *Alloprevotella tannerae* gen. nov., comb. nov. *Int J Syst Evol Microbiol.* 2013; 63:1214–8.
- Downes J, Mantzourani M, Beighton D, Hooper S, Wilson MJ, Nicholson A, et al. *Scardovia wiggisiae* sp. nov., isolated from the human oral cavity and clinical material, and emended descriptions of the genus *Scardovia* and *Scardovia inopinata*. *Int J Syst Evol Microbiol.* 2011;61 Pt 1:25–9. *Enf/BacteriasAnaerobias%20IVsem-I-07.pdf*.
- Fayyaz Ali Shah, Qaisar Mahmood, Mohammad Maroof Shah, Arshid Pervez, and Saeed Ahmad Asad. *Microbial Ecology of Anaerobic Digesters: The Key Players of Anaerobiosis*. Hindawi Publishing Corporation The Scientific World Journal, Volume 2014, Article ID 183752, 21 pages
- García J, García E, Martín-del-Rey, García-Merino E, Anaerobic bacteria 150 years after their discovery by Pasteur -Elsevier [Internet]. 2015; Vol. 33. Núm.2. Páginas 75-142. Available from: <http://www.elsevier.es/es-revista-enfermedades-infecciosas-microbiologia-clinica-28-articulo-las-bacterias-anaerobias-150anos-despues-S0213005X13000876#aff0005>

- García-Cano E. Diagnóstico de infecciones por Anaerobios. 2ª edición. México: Instituto Politécnico Nacional, 2003: 1-17.
- García-Sánchez JE, García-Sánchez E, Martín del Rey A, y col. "Las bacterias anaerobias 150 años después de su descubrimiento por Pasteur". *Enferm Infecc Microbiol Clin* 2013. <http://dx.doi.org/10.1016/j.eimc.2013.03.012>.
- García-Sánchez JE, José Fresnadillo M, García-Sánchez E. Nuevas bacterias anaerobias implicadas en enfermedades infecciosas humanas. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2010; 28:173–84.
- Gómez E, Gustafson DR, Colgrove R, Ly T, Santana R, Rosenblatt JE, et al. Isolation of *Robinsoniella peoriensis* from four human specimens. *J Clin Microbiol*. 2011; 49:458–60.
- Hamdan G. "Series: infecciones por gérmenes anaerobios". *Rev Med Int Med Crit* 2004; 1: 17- 26. <http://www.facultadsalud.unicauca.edu.co/documentos/http://dx.doi.org/10.1155/2014/183752>
- Jean-Philippe Carlier, Marie Bedora-Faure, Guylene K'ouas, Corentine Alauzet and Francine. Proposal to unify *Clostridium orbiscindens* Winter et al. 1991 and *Eubacterium plautii* (Seguin 1928) Hofstad and Aasjord 1982, with description of *Flavonifractor plautii* gen. nov., comb. nov., and reassignment of *Bacteroides capillosus* to *Pseudoflavonifractor capillosus* gen. nov., comb. nov. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*. 2010; 60, 585– 590
- Jeon Y, Kim TS, Kim HB, Park KU, Song J, Kim EC. First Korean case of *Robinsoniella peoriensis* bacteremia in a patient with aspiration pneumonia. *Ann Lab Med*. 2012; 32:370–4.

Joanne Willey and Linda Sherwood and Christopher J. Woolverton. Prescott's Microbiology. 11 th 2019. McGraw-Hill Education

José Elías García Sánchez, Enrique García-Sánchez, María García-Moro. El microbiólogo clínico ante los cambios taxonómicos en el género *Clostridium*. Rev Esp Quimioter 2016;29(5): 239- 243.

José Elías García-Sánchez, Enrique García-Sánchez, Ángel Martín-del-Reyby, Enrique García- Merino. Las bacterias anaerobias 150 años después de su descubrimiento por Pasteur, Enferm Infecc Microbiol Clin.2015;33(2):119–128

Khalida A, Arshadb M, Anjuma M, Mahmooda T, Dawsonc L. The anaerobic digestion of solid organic waste. Elsevier [revista en internet]* 2011; 31(8). Disponible en: http://www.researchgate.net/publication/51086548_The_anaerobic_digestion_of_solid_organic_waste

Koneman, E.; Alien, S.; Janda, W.; Schreckenberger, P.; Winn, W. Diagnóstico Microbiológico. 5ta. Edición. 1999. Editorial Medica Panamericana. Buenos Aires, Argentina.

La Scola B, Fournier PE, Raoult D. Burden of emerging anaerobes in the MALDITOF and 16S rRNA genesequencing era. Anaerobe. 2011; 17:106–12.

Lau SK, Woo PC, Woo GK, Fung AM, Wong MK, Chan KM, et al. *Eggerthella hongkongensis* sp. nov. and *Eggerthella sinensis* sp. nov., two novel *Eggerthella* species, account for half of the cases of *Eggerthella* bacteremia. Diagn Microbiol Infect Dis. 2004; 49:255–63.

Liebana, J. Microbiología Oral. 2002: 2da. Edición. McGraw-Hill. Interamericana. España.

López P, Belda S, García M, Royo G. Infección de hematoma muscular espontáneo por *Robinsoniella peoriensis* en

un paciente con cirrosis hepática alcohólica. *Enferm Infecc Microbiol Clin.* 2010; 28:565–7.

Lucía Constanza Corrales. Maira María Muñoz Ariza. Estrés oxidativo: origen, evolución y consecuencias de la toxicidad del oxígeno. Nova - Publicación Científica en Ciencias Biomédicas - Issn: 1794-2470. 2012: Vol. 10 No213 – 225.

MarchandinH, TeyssierC, Campos J,Jean-PierreH,Roger F, GayB, et al. *Negativicoccus succinicivorans* gen. nov., sp. nov., isolated from human clinical samples, emended description of the family Veillonellaceae and description of *Negativicutes* classis nov., *Selenomonadales* ord. nov. and *Acidaminococcaceae* fam. nov. in the bacterial phylum Firmicutes. *Int J Syst Evol Microbiol.* 2010; 60:1271–9.

Michael T Madigan; Kelly S Bender; Daniel H Buckley; W Matthew Sattley; David Allan Stahl. “Brock. Biología de los microorganismos”. 16th 2020 Pearson

Moore LV, Moore WE. *Oribaculum catoniae* gen. nov., sp. nov.; *Catonella morbi* gen. nov., sp. nov.; *Hallella seregens* gen. nov., sp. nov.; *Johnsonella ignava* gen. nov., sp. nov.; and *Dialister pneumosintes* gen. nov., comb. nov., nom. rev., anaerobic gram- negative bacilli from the human gingival crevice. *Int J Syst Bacteriol.* 1994; 44: 187 -92.

Pasteur L. Animalcules infusoires vivant sans gaz oxygène libre et déterminant des fermentations. *Comptes rendus hebdomadaires des séances de l’Academie des Sciences.* 1861; 52:344–7.

Patrick R Murray. *Microbiología Médica Básica*. Student Consult. 1a edición. 2018. Elsevier.

- Renvoise A, Raoult D, Roux V. *Actinomyces timonensis* sp. nov., isolated from a human clinical osteo-articular sample. *Int J Syst Evol Microbiol*. 2010; 60:1516–21.
- Sakamoto M, Suzuki N, Matsunaga N, Koshihara K, Seki M, Komiya H, et al. *Parabacteroides gordonii* sp.nov., isolated from human blood cultures. *Int J Syst Evol Microbiol*. 2009; 59:2843–7.
- Sakamoto, M., Suzuki, M., Umeda, M., Ishikawa, L., Benno, Y. Reclassification of *Bacteroides forsythus* as *Tannerella forsythensis* core., gen.nov., comb. *Int J Syst Evol Microbiol*. 2002; 52: 841-849.
- Shah HN, Collins DM. Proposal for reclassification of *Bacteroides asaccharolyticus*, *Bacteroides gingivalis*, and *Bacteroides endodontalis* in a new genus, *Porphyromonas*. *Int J Syst Bacteriol*. 1988. 38:128-131.
- Shah HN, Collins MD. Proposal to restrict the genus *Bacteroides* (Castellani and Chalmers) to *Bacteroides fragilis* and closely related species. *Int J Syst Bacteriol*. 1989; 39: 85-7.
- Shah, H. and Collins, M. *Prevotella*, a New Genus To Include *Bacteroides melaninogenicus* and Related Species Formerly Classified in the Genus *Bacteroides*. *Int. J. Syst. Bacteriol*. 1990;40 (2), 205-208.
- Shen D, Chen R, Ye L, Luo Y, Tang YW. *Robinsoniella peorienensis* bacteremia in a patient with pancreatic cancer. *J Clin Microbiol*. 2010; 48:3448–50.
- Struthers, Keith. *Microbiología Clínica*. 1ª edición, 2018. Manual Moderno.
- Summanen PH, Lawson PA, Finegold SM. *Porphyromonas bennonis* sp. nov., isolated from human clinical specimens. *Int J Syst Evol Microbiol*. 2009; 59:1727–32.

- Ulger-Toprak N, Lawson PA, Summanen P, O'Neal L, Finegold SM. *Peptoniphilus duerdenii* sp. nov. and *Peptoniphilus koenoeneniae* sp. nov. isolated from human clinical specimens. *Int J Syst Evol Microbiol.*2012; 62:2336–41.
- Ulger-Toprak N, Liu C, Summanen PH, Finegold SM. *Murdochiella asaccharolytica* gen. nov., sp. nov., a Gram-stain-positive, anaerobic coccus isolated from human wound specimens. *Int J Syst Evol Microbiol.*2010; 60:1013–6.
- Ulger-Toprak N, Summanen PH, Liu C, Rowlinson MC, Finegold SM. *Gemella asaccharolytica* sp. nov., isolated from human clinical specimens. *Int J Syst Evol Microbiol.* 2010; 60:1023–6.
- Vandamme P, Debruyne L, De Brandt E, Falsen E. Reclassification of *Bacteroides ureolyticus* as *Campylobacter ureolyticus* comb. nov., and emended description of the genus *Campylobacter*. *Int J SystEvol Microbiol.* 2010;60: 2016–22.
- Willems A, Collins MD. 1995: 16S rRNA gene sequences indicate that *Hallella seregens* (Moore and Moore) and *Mitsuokella dentalis* (Haapasalo et al.) are genotypically highly related and are members of the genus *Prevotella*: emended description of the genus *Prevotella* (Shah and Collins) and description of *Prevotella dentalis* comb. nov. *Int J Syst Bacteriol.* 45: 832 -6.
- Whipps J., Lewis K. and Cooke R. "Mycoparasitism and plant disease control". En: Burge M, editor. *Fungi in biological control systems*. Manchester: Manchester University Press; 1988: 161-187.
- Winn (h.), Allen S, Janda W, Koneman E, Procop G, Schreckenberger P, Woods G. *Bacterias anaerobias*. En: Elmer W. Koneman. *Koneman diagnóstico microbiológico*

- texto y atlas en color. 6a ed. Buenos Aires: Editorial Médica Panamericana; 2006. p. 836 - 897.
- Woo PC, Teng JL, Lam KK, Tse CW, Leung KW, Leung AW, et al. First report of *Gordonibacter pamelaebacteremia*. J Clin Microbiol. 2010; 48:319–22.
- Woo PC, Wong SS, Teng JL, Leung KW, Ngan AH, Zhao DQ, et al. *Leptotrichia hongkongensis* sp. nov., a novel *Leptotrichia* species with the oral cavity as its natural reservoir. J Zhejiang Univ Sci B. 2010; 11:391–401.
- Würdemann D, Tindall BJ, Pukall R, Lünsdorf H, Strömpl C, Namuth T, et al. *Gordonibacter pamelaegen* sp. nov., a new member of the *Coriobacteriaceae* isolated from a patient with Crohn's disease, and reclassification of *Eggerthella hongkongensis* Lau et al., 2006 as *Paraeggerthella hongkongensis* gen. nov., comb. nov. Int J Syst Evol Microbiol. 2009; 59:1405–15.
- Xia T, Baumgartner JC, David LL. Isolation and identification of *Prevotella tanneriae* from endodontic infections. Oral Microbiol Immunol. 2000;15: 273–5.

Capítulo II

Factores de patogenicidad y virulencia

Resumen

Las bacterias anaerobias como otras bacterias, poseen estructuras y componentes constitutivos que le confieren patogenicidad y virulencia frente a las células eucariotas. En general, se pueden separar en dos categorías según su importancia: por un lado, existen las que producen poderosas toxinas como es el caso de los clostridios. De otro lado están los bacilos Gram negativos como el grupo *Bacteroides fragilis*, *Fusobacterium* spp., *Porphyromonas* spp., *Prevotella* spp. y cocos Gram positivos como *Peptostreptococcus* spp. destacándose por su alta virulencia y frecuencia de aislamiento en infecciones supurativas y abscesos con relación metastásica o contigua al microbioma humano. También existen una serie de estructuras y sustancias de mucho menor poder patógeno que se encuentran en varias especies de microorganismos no esporulados.

Dentro de los factores de virulencia se encuentran los lipopolisacáridos de superficie de varias especies de *Fusobacterium*, *Veillonella* y *Bacteroides*. Estas sustancias tienen una actividad "endotoxina" similar a las de los bacilos Gram negativos facultativos. Su actividad es algo menos potente, pero se ha demostrado su capacidad de participar en la producción de abscesos y de causar hipercoagulabilidad.

Otro factor de virulencia importante, es la cápsula de *Bacteroides* del grupo *fragilis*, debido a que le confiere a la bacteria la posibilidad de defenderse, pero también de atacar, pues favorece su poder invasivo y obstaculiza la labor defensiva de las células del sistema inmune del hospedero y se ha demostrado que es un factor de virulencia importante en la formación de abscesos.

Otros de estos factores son las enzimas producidas por las bacterias anaerobias como: colagenasas, hialuronidasas, DNAsas, elastasas, heparinasas, entre otras, las cuales tienen una acción directa sobre compuestos, sustancias o estructuras definidas.

Es importante considerar también las enzimas que protegen la bacteria de la acción nociva del O_2 , que son la catalasa y superóxido-dismutasa, cuya acción permite la supervivencia de las bacterias en ambientes no favorables.

En este capítulo del libro se desarrollan temas como: estructuras morfológicas, producción de enzimas y toxinas implicadas en patogenicidad y virulencia de las bacterias anaerobias, características generales de los principales géneros y descripción de algunas especies, así como las infecciones y / o patologías infecciosas con que se asocian.

Introducción

Existen millones de microorganismos que conviven con nosotros; algunos se encuentran en el ambiente, mientras que otros habitan dentro de nuestro propio cuerpo y se relacionan con él de diferentes maneras. A estas distintas formas de convivencia se denomina simbiosis, de las cuales existen tres tipos: mutualismo, comensalismo y parasitismo.

Son definidas en relación con la clase de beneficio que trae a la relación entre el huésped y el hospedador. En el *mutualismo*, el organismo hospedador y el huésped (bacteria) se benefician mutuamente de la convivencia, no obstante, para sobrevivir ninguno necesita del otro; un modelo de este sistema de relación se observa en las bacterias que habitan en el intestino, pues el organismo les brinda un ambiente adecuado para vivir y por su parte las bacterias colaboran en la digestión de alimentos y en la síntesis de vitaminas.

En el *comensalismo*, la bacteria obtiene un ambiente y los medios adecuados para su desarrollo, sin generar deterioro o daño al hospedador, como se observa en las bacterias que habitan en la piel, las cuales se alimentan de los desechos celulares sin causar daño ni beneficio. Finalmente, está el *parasitismo*, relación donde el huésped o, en este caso la bacteria, adquiere beneficios para su desarrollo a expensas de causar daño a su hospedador; en este grupo se encuentran las bacterias patógenas.

Durante las últimas décadas, mediante los estudios moleculares referente a la patogenicidad de las bacterias, se ha obtenido buena información acerca de las diferentes moléculas que intervienen en el proceso de infección que ocasionan los microorganismos en el hospedador. El proceso de patogenicidad se clasifica en diferentes etapas: la primera, es cuando sucede

el encuentro de la bacteria con el hospedador y adherencia de esta o su establecimiento en el sitio blanco; lo siguiente es iniciar su proceso de multiplicación; la permanencia del patógeno, mediante el desarrollo de estrategias para evadir la acción de la defensa innata del hospedador; el tropismo por el tejido, mediante la afinidad y el reconocimiento de los receptores de membrana; invasión del patógeno; daño de los tejidos y transferencia del patógeno a nuevos hospedadores.

La patogenicidad se refiere a la capacidad de una bacteria para causar enfermedad infecciosa en un huésped. Los factores de patogenicidad favorecen la colonización de los microorganismos potencialmente patógenos para el hospedador ya sea que provengan de manera exógena o endógena. El proceso infeccioso está mediado por la unión y crecimiento del patógeno, la condición y efectividad de los sistemas de defensa del hospedador y las características de enfermedad infecciosa que con alguna frecuencia implica la acción de toxinas o metabolitos tóxicos secretados por la bacteria.

Por su parte, el hospedador como mecanismo de defensa al proceso infeccioso genera reacción inflamatoria, la que en ocasiones favorece de gran manera a la aparición de la enfermedad y a exacerbar la manifestación de los signos y síntomas. La participación de la microbiota y su microbioma asociado en la fisiología, susceptibilidad y respuesta ante las infecciones y en el desarrollo del sistema inmune, son imprescindibles para comprender la interacción entre hospedador y patógeno.

La virulencia se entiende como el conjunto de factores con que cuenta una bacteria para producir efectos adversos y nocivos en el huésped. Los determinantes de virulencia han evolucionado a lo largo del tiempo, condicionados por la interacción con otros organismos vivos y el ambiente. La información que codifica la producción de la mayoría de factores de virulencia, se halla integrada en el cromosoma bacteriano como islas de patogenicidad e integrones o bien en

elementos genéticos extracromosómicos móviles como plásmidos o transposones, entre otros.

Las bacterias que poseen un mayor potencial virulento se conocen como patógenos primarios o verdaderos, y por lo tanto tienen la capacidad de causar enfermedad infecciosa en cualquier huésped, inclusive en los que no presentan detrimento alguno de su salud; por otro lado, las bacterias que solamente pueden generar en individuos con inmunodeficiencia se denominan patógenos oportunistas y las bacterias que no se han relacionado con ninguna enfermedad, se denominan no patógenas.

Al respecto hay que tener en cuenta que existen excepciones, como por ejemplo personas que están sanas, pero son portadoras de especies patógenas y en este caso el hospedero se convierte en portador, al cual no le causa ningún daño. De la misma forma, se encuentran casos en que las bacterias no son consideradas patógenas y, sin embargo, en huéspedes con situaciones especiales relacionadas con la respuesta inmune o con la presencia de comorbilidades son causantes de infecciones graves.

Definir los patógenos como causantes de enfermedad en un huésped sano, no es fácil porque las inmunodeficiencias son a veces temporales o leves y pueden pasar inadvertidas, por lo cual para entender la patogenia de las bacterias es necesario tener en cuenta las características del huésped. Por lo tanto, se entiende infección como el resultado de la interacción entre los factores de virulencia de la bacteria implicada en el proceso y los mecanismos de defensa del huésped. En relación con lo anterior se debe entender que las bacterias patógenas en principio no pretenden como único fin dañar a su hospedador y menos aún matarlo, ya que su propia supervivencia se pondría en riesgo, en ese caso estaría obligada a buscar otros hospederos; por el contrario, se podría creer que más bien pretenden evolucionar para adaptarse mejor a

su hospedador y ambiente y multiplicarse a sus expensas sin causar mayor daño.

En algunos estudios de investigación se han utilizado modelos animales, con la aplicación de condiciones controladas tales como: vía de inoculación, agente infeccioso y tiempo, cuyos resultados han permitido calcular la dosis infectiva 50 (DL50), que corresponde a la capacidad de infectar el 50% de los animales del estudio que estaban previamente sanos, de tal forma que con estos modelos se ha logrado establecer y comparar la patogenicidad de distintas especies bacterianas.

Para comprender la relación del hospedero y el agente patógeno, es necesario que se considere también los factores asociados al hospedero como son:

1. Si presenta alguna alteración en la normalidad de las mucosas, ya sea de forma espontánea, accidental o quirúrgica; si hay debilitamiento en los tejidos, o sucede cualquier lesión que genere isquemia, necrosis o disminución del potencial de óxido reducción, serán oportunidad para las bacterias y otros microorganismos penetren en los tejidos profundos y por ende se instaure una infección.
2. Cuando el hospedero presenta insuficiencia en los mecanismos inmunológicos de defensa, se observa que algunas bacterias anaerobias compiten con otras bacterias por las opsoninas del suero y en condiciones específicas en el laboratorio, pueden suprimir la acción de defensa de los leucocitos polimorfonucleares, de los macrófagos y linfocitos.

Entrada de los microorganismos

Una bacteria patógena podría ingresar en el hospedador de varias formas y siempre buscando los tejidos que presenten mayor facilidad para ello. Generalmente el tipo de infección

depende de la vía de acceso que el patógeno utilice para ingresar al hospedero. Los sitios de entrada más frecuentes se relacionan con las partes del cuerpo que están más expuestas al ambiente, como las mucosas, principalmente del aparato respiratorio y sus anexos, digestivo, genitourinario y la piel. Otras vías de acceso usuales atañen al consumo de alimentos y del agua, la inhalación y los contactos sexuales. De igual forma, son consideradas como oportunidades de entrada directa para las bacterias y otros patógenos, las lesiones de la piel como cortes, mordeduras, quemaduras y traumatismos y la inyección por vías naturales, es decir, transportadas por vectores o por mecanismos artificiales como son el uso de agujas y dispositivos médicos. Pocos microorganismos patógenos tienen la capacidad de ingresar a través de la piel íntegra, la cual es una barrera natural de defensa muy eficiente. Una vez se vulneran las defensas naturales y se accede a una puerta de entrada, la bacteria algunas veces se disemina por vía sistémica.

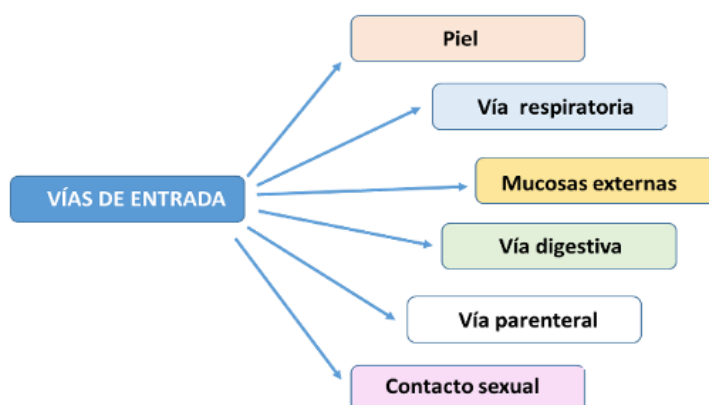


Figura 2.1. Vías de entrada del patógeno. Fuente: Corrales, 2024

Es importante tener en cuenta que el ingreso de las bacterias radica en la presencia de un conjunto determinado de factores que les proporciona la facilidad de penetrar, adherirse, mantenerse y multiplicarse, relacionados con su fisiología

y metabolismo, además de los factores propios de patogenicidad que poseen como se observa en el caso de la propagación fecal-oral, proceso que compromete el sistema digestivo, y necesita que el microorganismo cuente con una biología que sea compatible con lo que ofrecen los diferentes ambientes del aparato digestivo para su supervivencia y pueda sobreponearse a aquellos factores no adecuados como son el pH ácido del estómago y la concentración elevada de ácidos biliares en el intestino y, desde luego, la capacidad de sobrevivir en los alimentos y el agua fuera del hospedador. Los que logran ingresar a través del aparato respiratorio, se caracterizan por mantener su viabilidad en las gotas de secreciones que se producen en las mucosas del sistema respiratorio y por lo tanto son eliminadas en ellas, ya sea al hablar, estornudar o toser; aunque este sistema al poseer un ambiente muy oxigenado no es favorable para el desarrollo de bacterias anaerobias. Los agentes patógenos que ingresan por transmisión sexual generalmente sobreviven mejor en ambientes húmedos y cálidos, como los que ofrece la mucosa genitourinaria, se adaptan a las condiciones de pH, atmósfera respiratoria y cambian o eliminan el microbioma propio; estos patógenos tienen una variedad limitada de hospedadores susceptibles.

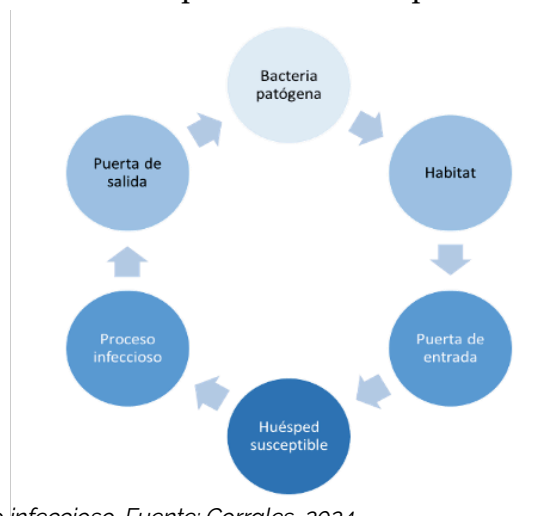


Figura 2.2. Ciclo infeccioso. Fuente: Corrales, 2024

Respuesta inmune del hospedero

La respuesta inmune innata, es la primera línea de defensa no específica que deben eludir los microorganismos y está conformada por las barreras físicas, químicas y biológicas que se encuentran en el huésped. Las físicas hacen referencia a la piel y las mucosas; las químicas a saliva, lagrimas, sudor y jugos gástricos, ente otras y, las biológicas, a la microbiota / microbioma normal.

Barreras físicas:

El órgano con la superficie más grande en el cuerpo es la piel. En su estructura la piel se encuentra constituida por dos capas: la externa, denominada epidermis y, la interna o dermis, en la cual se localizan los folículos pilosos, las glándulas sudoríparas y muchas terminales nerviosas. De igual forma tiene colágeno que es una proteína, la cual confiere flexibilidad y elasticidad a la piel. La epidermis está conformada por capas compactas de células muertas, característica que le dificulta a los microorganismos traspasarla, salvo cuando está lesionada. Las células de la epidermis se renuevan permanentemente, lo que produce el desprendimiento frecuente de estas y con ellas los microorganismos que se encuentren adheridos.

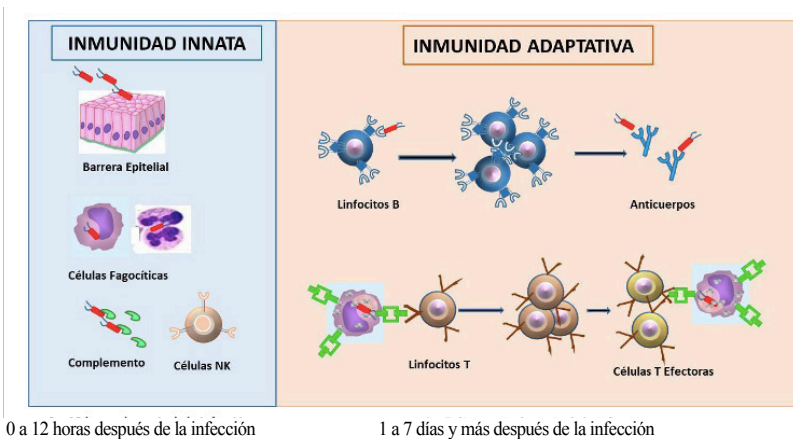


Figura 2.3. Inmunidad innata y adaptativa. Tomado de: Elsevier. Abbas et al: *cellular and Molecular Immunology* 6e, modificado por: Corrales, 2024.

Las membranas que rodean todas las cavidades del cuerpo abiertas al exterior se denominan mucosas. Estas tienen dos capas, una externa o epitelio y una interna compuesta por tejido conectivo. La epidermis al igual que el epitelio, se renueva frecuentemente, por lo cual sus células, arrastran también las bacterias o microorganismos que tienen adheridos, sin embargo, al ser una estructura más delgada, también es más fácil de traspasar. En mucosas, como la que rodea la tráquea, se presenta un tipo de células llamados cilios que arrojan hacia el exterior microorganismos o partículas extrañas que hayan logrado entrar al sistema respiratorio.

Barreras químicas:

Existen variedad de estas que defienden el organismo de la invasión de agentes extraños. Uno de ellos es el sudor; esta sustancia es secretada por las glándulas sudoríparas y está compuesto por sales y lisozimas que son útiles para destruir microorganismos, cuando causan lesión a su membrana o pared, conllevándolos a un shock osmótico.

Otra barrera química son los jugos gástricos, secretados en el sistema digestivo. Estos tienen enzimas y el pH apropiado para realizar la digestión de los alimentos, así como de los microorganismos que hubieran llegado hasta el estómago.

La saliva está formada en un alto porcentaje por agua y componentes sólidos como bicarbonato, fosfato, amilasa, lipasa, histatina, lisozima y anticuerpos como la inmunoglobulina A, que elimina bacterias que ingresan al organismo.

Las lágrimas contienen lisozima, la cual es una enzima que lesiona las paredes celulares de ciertas bacterias Gram-positivas, pues produce ruptura del enlace β (1-4) entre el ácido N-acetil- murámico (NAM) y N-acetil glucosamina del péptido- glicano (NAG), de la pared celular.

Barreras biológicas:

En el microbioma normal, tanto de la piel como de las mucosas, se encuentran numerosos microorganismos en una relación de tipo mutualista con el organismo del hospedero. Estos microorganismos se nutren a partir de desechos, aportan ciertos nutrientes al organismo del hospedero, como vitaminas, además de protección al competir con bacterias foráneas por el sitio donde viven y se desarrollan. La competición se genera mediante la secreción de bacteriocinas por el consumo de nutrientes necesarios para el desarrollo y la alteración del pH de la superficie que ocupan, entre otros, lo cual hace difícil para los patógenos hallar un ambiente apropiado para su desarrollo.

Principales elementos del sistema inmune

Como se mencionó anteriormente se parte de la integridad de la piel, mucosas y epitelios, los cuales impiden el ingreso de patógenos.

Sistema del complemento

Es un conjunto de proteínas que circulan de forma inactiva en el plasma, sintetizadas en el hígado y macrófagos, tienen como función dirigir la opsonización y lisis sobre membranas biológicas extrañas. Posee tres vías de activación: clásica, alterna y de lectinas.

La opsonización se lleva a cabo mediante las fracciones C3b y C4b, que se depositan sobre la superficie de los microorganismos, generando un marcaje y esto facilita la fagocitosis por parte de los macrófagos.

La lisis de los microorganismos se produce mediante la formación de un complejo de ataque de membrana (MAC), conformado por las fracciones C5 a C9 que forman canales

en la membrana celular lo que conduce a lisis osmótica del patógeno.

Mediante las fracciones C3a, C4a y C5a, contribuyen con la formación de péptidos proinflamatorios, producen aumento de la permeabilidad capilar facilitando la aparición de células que potencian la inflamación. De otro lado, las fracciones del complemento C3b y C4b intervienen en la eliminación de complejos inmunes, evitando que estos se depositen en los tejidos y C3d y C4d se unen a los linfocitos B (vía CR2), lo cual potencia la estimulación de estos al actuar como receptores.

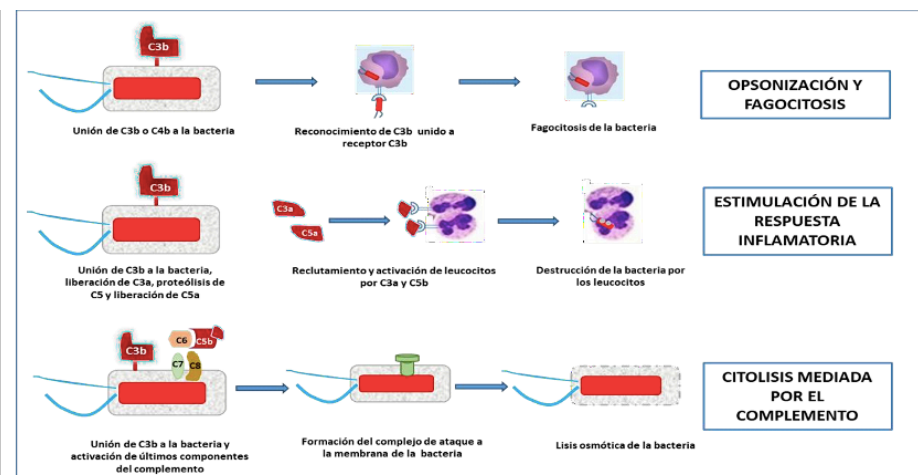


Figura 2.4. Funciones del complemento. Tomado de: Elsevier. Abbas et al: *cellular and Molecular Immunology* 6e, modificado por: Corrales, 2024

Polimorfonucleares neutrófilos

Las células de la línea mieloide, corresponde a la primera línea de defensa contra las bacterias, porque son las encargadas de realizar la fagocitosis y la lisis bacteriana, lo cual sucede mediante sus gránulos que contienen enzimas presentes en los lisosomas y fagolisosomas.

Células Natural Killer (NK)

Estas células hacen parte de la línea linfoide, subclase de linfocitos, cuya función es destruir células infectadas y células que han perdido la expresión de moléculas de histocompatibilidad clase I (HLA I); también son productoras de grandes cantidades de interferón gamma ($\text{INF } \gamma$), el cual potencia la acción fagocítica del macrófago. Destruyen células cuando detectan que están cubiertas por anticuerpos y poseen una gran actividad antitumoral.

Macrófagos

Se encuentran como monocitos circulantes o macrófagos tisulares, su principal función es la fagocitosis donde ocurre la muerte de la bacteria y desintegración del antígeno en péptidos para ser presentados a otras células de la respuesta inmune mediante el complejo mayor de histocompatibilidad clase I y II (MHC). Estos macrófagos también producen citoquinas cuya función es activar al propio macrófago e inducir respuesta proinflamatoria. Esta célula de defensa representa un enlace entre la inmunidad innata y la adquirida.

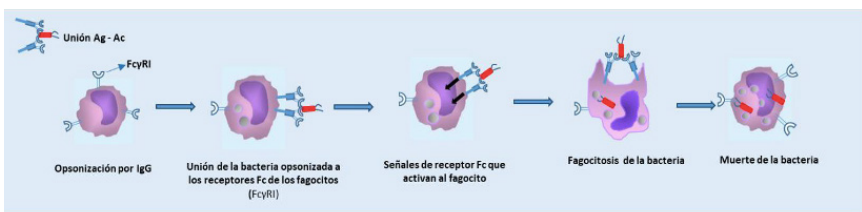


Figura 2.5. Proceso de opsonización y fagocitosis. Tomado de: Elsevier. Abbas et al: *cellular and Molecular Immunology 6e*, modificado por: Corrales, 2024

Citoquinas

Las células del sistema inmune innato y adquirido, secretan un conjunto de proteínas conocidas como interleuquinas (IL), en respuesta a los microorganismos u otros antígenos, cuando se presenta una infección. Estas proteínas favorecen

el crecimiento y la diferenciación de los linfocitos y monocitos a células efectoras implicadas en la eliminación de microorganismos. De igual forma, se asocian con procesos inflamatorios, tienen acción repetida sobre diferentes tipos celulares, pues diferentes citoquinas provocan el mismo efecto, en el sistema inmune innato y adquirido.

Receptores tipo Toll

Los receptores tipo Toll (RTT), reconocen en las patógenas estructuras altamente conservadas, denominadas patrones moleculares de agentes microbianos (PMM), los cuales estimulan la respuesta inmune; estos se manifiestan en las células de la respuesta inmune como macrófagos, células dendríticas, neutrófilos, linfocitos T y linfocitos B y se activan cuando reconocen los PMM presentes. Dentro de estos patrones moleculares se destacan los lipopolisacáridos (LPS), los nucleótidos CpG no metilados, y el ARN de doble hebra. La asociación entre los RTT y los PMM pone en evidencia la unión entre la inmunidad innata y la adquirida. Igualmente, la interacción de RTT y los PMM, induce la secreción de citoquinas y la promoción de moléculas coestimuladoras.

Tabla 2.1. *Efectos locales de algunas interleuquina*

EFFECTOS LOCALES DE ALGUNAS INTERLEUQUINAS	
IL 1, TNF	Activación del endotelio
IL 8	Quimiotaxis
IL 4, IL 5, IL 6, IL 10, IL 13	Producción de anticuerpos
IL-4	Induce secreción IgG1, IgG3 e IgG4 y de IgE. Antagoniza las acciones biológicas de IFN- γ (activación de M ϕ y el desarrollo de células citotóxicas) y así inhibe las células Th1.
IFN- γ , IL 12	Activación de macrófagos y células citotóxicas T y NK
IL 12	Activación de células NK

Tabla 2.2. *Efectos sistémicos de algunas interleuquinas*

EFECTOS SISTÉMICOS DE ALGUNAS INTERLEUQUINAS	
IL 1, IL 6	Fiebre
IL 6	Proteínas de fase aguda
TNF	Shock séptico

En la reacción del sistema inmune contra bacterias patógenas, las citoquinas son las que dirigen a los linfocitos T y macrófagos al sitio de la infección e incitan a estas células para que produzcan más citocinas. Se cree que las citocinas inflamatorias IL-1, IL- 6, están asociadas a los síntomas comunes de infección, como fiebre, inflamación y dolor de cabeza, en un ambiente que se encuentra bajo control, aunque en algunos casos, la reacción inmune es exacerbada y podría originar manifestaciones más graves.

Sistema inmune adaptativo (SIA)

Este sistema es muy importante ya que tiene como fin optimizar la capacidad defensiva del cuerpo, cuando hay exposiciones sucesivas a un patógeno, los elementos principales que lo conforman son los linfocitos B y T, los cuales se activan en presencia de antígenos; este sistema cuenta con dos tipos de respuesta: inmunidad celular e inmunidad humoral. La respuesta que ocurre tiene memoria y, por tanto, es recordada por el sistema inmune. Su respuesta es más eficaz y precoz cuando está en presencia de nuevas exposiciones al mismo agente patógeno y es específica para cada microorganismo. La capacidad de los linfocitos para reconocer específicamente cada antígeno, se relaciona con la expresión de receptores (moléculas de histocompatibilidad - HLA), a los diferentes antígenos y se denomina repertorio de linfocitos (linfocitos T o TCR y los de los linfocitos B o BCR).

La característica anticipatoria del SIA es debida a la existencia de mecanismos génicos presentes en estos receptores

que generan cientos de millones de anticuerpos y receptores de células T; en este proceso se produce un buen número de linfocitos tolerantes.

Inmunidad celular

Esta inmunidad esta mediada por linfocitos T y hace parte del principal mecanismo de defensa contra microorganismos intracelulares, originando la destrucción de estos en los fagocitos o eliminando células infectadas. Los linfocitos se dividen en dos subpoblaciones principales: linfocitos T CD4+, con la función de secretar citoquinas y los linfocitos T CD8+, que se encargan de eliminar células infectadas y tumorales.

En la respuesta inmune celular sucede que al ingresar un antígeno a través del epitelio, es captado por una célula presentadora de antígeno (APC), luego es transportado al nódulo linfático regional o al bazo, para ser transformado en péptidos que se expresan en la membrana del APC. Una vez, el linfocito T identifica el antígeno dentro del ganglio lo reconoce a través del TCR, momento en que se activa proliferando y diferenciándose a linfocitos T efectores y de memoria, estado en el cual migra hacia los sitios de infección o inflamación donde se encuentra y reconoce el antígeno para el cual son específicos. La subpoblación de linfocitos T CD4+ efectores específicos para el antígeno, producen citoquinas que se constituyen en ayuda para los macrófagos en el proceso de eliminación de los microorganismos fagocitados y estimulan al linfocito B a diferenciarse y secretar los anticuerpos específicos que se unen al antígeno. Los T CD8+ son células efectoras específicas para un antígeno, se activan por las citoquinas, y su función es matar células infectadas que expresen el HLA tipo.

Existen descritos dos tipos de linfocitos T: los CD4+ ayudadores, conocidos como TH1 y TH2, que proceden de un linaje común, los cuales se diferencian hacia TH1 en presencia de IL12 y amplificado por IFN- γ , hacia TH2 en presencia de

IL 4. La diferenciación de los linfocitos CD4+, además es estimulada por bacterias intracelulares y otros microorganismos.

Los linfocitos TH1 secretan IFN- γ , FNT e IL 12; por su parte el IFN- γ activa al macrófago, aumenta la secreción de IL 12, la fagocitosis y la destrucción de microorganismos, igualmente estimulan a los linfocitos B para que produzcan IgG, inmunoglobulina que actúa como opsonizador de microorganismos, para desencadenar una fagocitosis más eficiente.

Los alérgenos, helmintos y la secreción de IL 4, son estimuladores de la diferenciación de linfocitos CD4+ hacia TH2. Los linfocitos TH2, secretan IL 4 e IL 3, que provocan el cambio de clase en el linfocito B hacia la elaboración de anticuerpos tipo IgE; secretan IL 5 que estimula la maduración y llegada de eosinófilos y la presentación de reacciones alérgicas. Otra subespecie de linfocitos son los TH 17, que se generan por el estímulo de IL 23, y que inducen su diferenciación caracterizada por la secreción de IL 17, la cual estimula efectos proinflamatorios en los tejidos y la incorporación de neutrófilos con actividad específica contra bacterias.

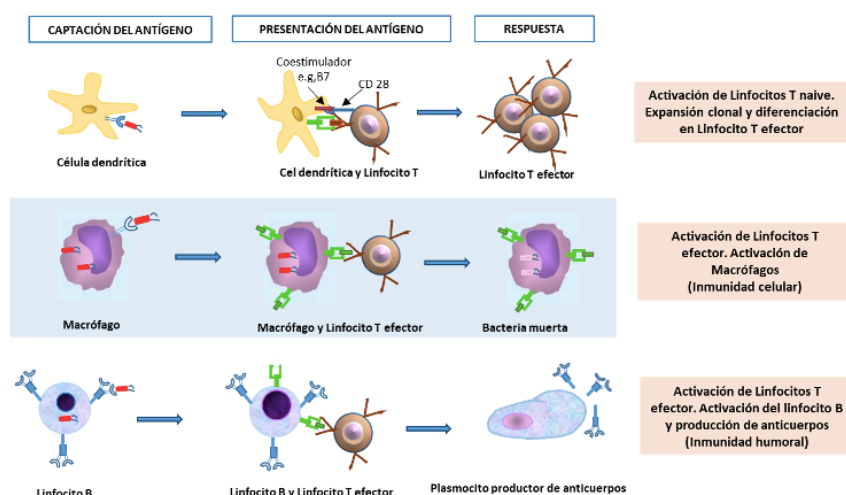


Figura 2.6. Respuesta inmune celular y humoral. Tomado de: Elsevier. Abbas et al: *cellular and Molecular Immunology 6e*, modificado por Corrales, 2024

Inmunidad humoral

Se caracteriza por estar mediada por anticuerpos (Ig), producidos por los linfocitos B; esta inmunidad se considera el principal mecanismo de defensa cuando se presentan infecciones de tipo bacteriano. Los anticuerpos se constituyen por polipéptidos, que están conformados por dos cadenas livianas y dos cadenas pesadas y una región constante (Fc), lo que establece su clase (M, G, A, D o E), y las funciones biológicas que cumple; y una región variable (Fab) de unión al antígeno y, es en esta región, que los anticuerpos pueden reconocer y neutralizar las bacterias; cuando esto sucede en el organismo, se activan también otros mecanismos efectivos como el complemento para completar la eliminación.

En la respuesta inmune humoral se debe considerar aspectos como: las células B, habitan y transitan en los nódulos linfáticos y el bazo, y cuando éstas encuentran su antígeno específico se unen mediante su receptor (BCR) IgM+ e IgD+, lo que provoca la activación del linfocito B para: la activación y producción de anticuerpos (primero IgM y luego IgG, IgE o IgA). Y La internalización del antígeno y luego su presentación, cuando se ha transformado en una APC, y de esta forma hacer unión con el linfocito T helper o ayudador específico, e iniciar la producción de citoquinas por este último.

La presencia de moléculas coestimuladoras como el CD40 ligando y otras citoquinas inducen un swich o cambio de isotipo en el linfocito B; cambio que depende del tipo de citoquina producida por el mismo linfocito. Los LT helper tipo 2, producen IL 4 que promueve la secreción de IgE y los Linfocitos TH1 producen IL 12 e IFN- γ , que inducen la secreción de IgG.

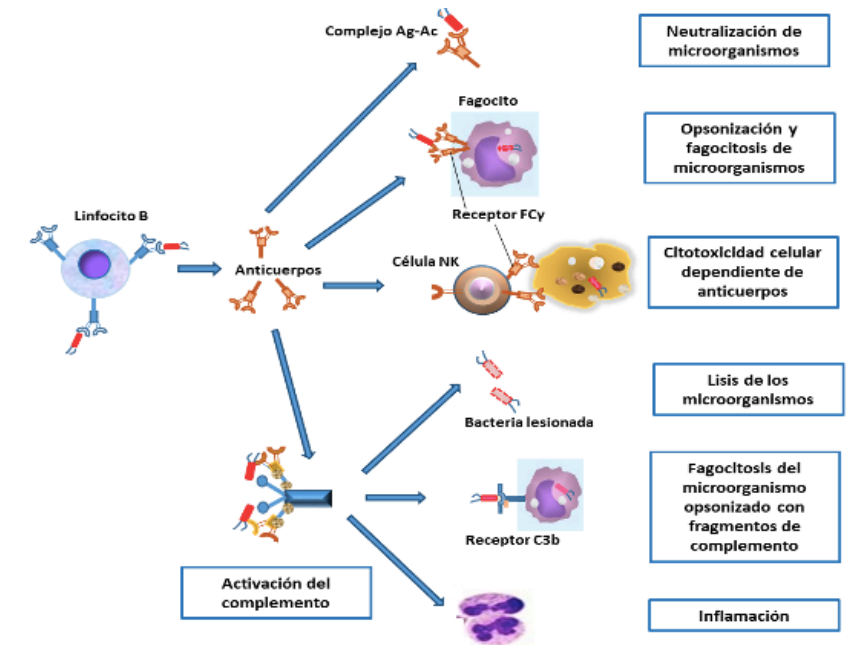


Figura 2.7. Funciones de los anticuerpos. Tomado de: Elsevier. Abbas et al: *cellular and Molecular Immunology* 6e, modificado por: Corrales, 2024

Evolución del proceso infeccioso por bacterias

1. Tropismo

El término tropismo viene del griego “tropos” que significa “girar” y tiene que ver con las respuestas de los organismos frente a estímulos externos. En el tropismo tisular el hospedero provee los nutrientes esenciales, los factores de crecimiento, el oxígeno, ofrece el potencial de oxidorreducción y pH adecuados y la temperatura para el crecimiento bacteriano.

Las bacterias cuentan con ligandos que consiguen unirse a receptores específicos presentes en una clase de células del cuerpo, pero no en todas, por lo cual este proceso de adherencia es específico de ciertos tejidos. Sin embargo, también están las que pueden unirse a receptores comunes en varios tipos celulares, lo que les otorga mayor flexibilidad en el momento de iniciar un proceso infeccioso.

Las bacterias cuentan con mecanismos de comunicación, lo que ayuda a que ejecuten acciones conjuntas que beneficien el desarrollo de todas: mecanismo que se denomina quorum sensing (QS), mediante éste se observa que algunas bacterias patógenas han adquirido resistencia a los antibióticos, reduciendo la eficiencia de los antibióticos y favoreciendo el desarrollo de la enfermedad. El QS es un mecanismo que regula la expresión de los genes en función de la densidad celular. Este proceso se realiza mediante la liberación de moléculas señal denominadas autoinductores, citadas así ya que tienen la capacidad de actuar sobre la misma célula que los liberó, y desencadenan la expresión genética en toda la población, estimulando una respuesta global. La concentración presente del autoinductor es determinante para el inicio del QS; de tal forma que cuanto mayor sea la densidad poblacional (mayor número de individuos), mayor será la concentración del autoinductor en el medio externo estimulando la expresión de los genes.

2. Colonización y puerta de entrada

Con relación a este aspecto, es importante recordar que la piel y las mucosas intactas son barreras naturales de defensa muy eficaces contra la incursión de bacterias patógenas. Normalmente estamos en constante contacto con gran cantidad y variedad de bacterias, sin embargo, solo pocas especies tienen la capacidad de adherirse, establecerse y reproducirse en los tejidos y mucosas, para iniciar la colonización. Lo anterior es definitivo en la generalidad de los casos para que después sea capaz de invadir al hospedero. La adhesión de las bacterias patógenas a las células del hospedero se lleva a cabo mediante receptores específicos presentes en las membranas celulares, los cuales contienen residuos de azúcares y proteínas de superficie, que se ensamblan fuertemente con estructuras de la superficie bacteriana, conocidas como adhesinas, de tal modo que las bacterias que se han adherido no

puedan ser arrastradas o eliminadas de la superficie celular por mecanismos de defensa natural como el moco, la tos, la orina u otros. Razón por la cual las adhesinas se consideran factor de virulencia bacteriana.

Se conocen también las biopelículas que corresponden a capas viscosas que se forman alrededor de algunas bacterias y que les confiere resistencia a la fagocitosis, a la eliminación por mecanismos físicos y a la acción de los antibióticos. Estos consorcios bacterianos muestran grandes diferencias morfológicas y bioquímicas, con respecto a las expresadas en las células individuales de existencia libre o que se encuentran en estado planctónico. La multiplicación en las biopelículas, le otorga a la bacteria beneficios dado que modifica el metabolismo bacteriano, ayuda a la producción de factores de virulencia extracelulares, disminuye la sensibilidad a los antibióticos y al ataque de las células del sistema inmune.

Mediante la adherencia bacteriana, una vez dentro del hospedador y en el sitio del tropismo, la mayor parte de los patógenos se fijan fuertemente a las células blanco; las excepciones se dan cuando el patógeno alcanza directamente la circulación, donde no se fija a células específicas y se multiplica en la sangre. Las adhesinas específicas conforman un campo de interés en la patogenia microbiana; estas abarcan un gran abanico de estructuras superficiales, de tal forma que no se limitan a adherir la bacteria a un tejido y de esta forma favorecer su entrada a las células, sino que también originan una cascada de reacciones en el hospedador esenciales para instaurar la enfermedad infecciosa.

La mayor parte de los microorganismos producen muchas adhesinas, que tienen especificidad sobre distintos receptores del hospedador. Las adhesinas generalmente son abundantes y variables desde el análisis serológico y operan de forma sinérgica con otros factores del presente en el microorganismo para favorecer su adhesión a los tejidos. Igualmente, otras bacterias adsorben proteínas propias del

hospedador y con esto pueden utilizar el receptor natural de la proteína del hospedador para adherirse y entrar en las células blanco.

Los pili y los flagelos hacen parte de las adhesinas microbianas más conocidas. Las bacterias Gram negativas poseen los pili o fimbrias como elementos de fijación celular; estudios recientes permitieron identificar componentes similares en los microorganismos Gram positivos. Bajo el microscopio electrónico, se ha podido observar la presencia de proyecciones pseudopilosas numerosas en cada bacteria; estas estructuras se encuentran localizadas en diferentes partes del microorganismo; cuando se encuentran en un extremo se llaman pilis polares, o encontrarse distribuidos uniformemente sobre toda la superficie de la bacteria y se denominan peritricos; y también se encuentran bacterias que pueden poseer varios pili con funciones diversas. La conformación de la mayoría de éstos está constituida por proteínas, con un peso molecular que varía entre 17 000 y 30 000 Da, las cuales se polimerizan para crear la el pili.

Existen receptores sobre la membrana de los leucocitos y fagocitos que actúan como mecanismos de adherencia sobre los microorganismos, sea a productos microbianos específicos o sobre opsoninas del sistema inmune del hospedador. Algunos receptores son:

- Los receptores de manosa, los cuales tienen afinidad por los componentes de manosa presentes en las glucoproteínas y los glucolípidos de las paredes celulares bacterianas.
- Los receptores scavenger, se unen directamente a las bacterias y a moléculas de LDL modificadas.
- Los receptores CD14, corresponden a un ligando específico al lipopolisacárido presente en ciertas bacterias y está asociado a un receptor tipo Toll.

- Los receptores transmembrana de 7 hélices alfa, recientemente descubierto, cuya función está asociada a señales de quimiocinas y ciertos péptidos microbianos.
- Los receptores para los fragmentos Fc de los anticuerpos opsonizantes IgG2 e IgG3.

3. *Invasión*

Se define como el proceso por medio del cual las bacterias penetran al citoplasma de células no fagocíticas, como células epiteliales o endoteliales, se replican dentro de estas, se propagan a células adyacentes y finalmente causan la destrucción de las células que han invadido.

Las bacterias patógenas, una vez adheridas a la mucosa o la piel, necesitan multiplicarse antes de generar la infección y posteriormente la enfermedad, por lo tanto, tras colonizar un epitelio e invadirlo, se extiende a los tejidos adyacentes y provoca una penetración cada vez más extensa, ampliando el efecto dañino sobre las células y los tejidos. Algunas de ellas se extienden desde la epidermis por contiguidad hacia la dermis, tejidos blandos e incluso al hueso. Para proliferar, éstas necesitan obtener los nutrientes que requieren o sintetizarlos si es necesario, a partir de los precursores disponibles en el hospedador, razón por la cual muchos procesos infecciosos se limitan a determinadas superficies epiteliales. Otros aspectos importantes son la temperatura y la concentración de oxígeno en el ambiente, lo cual influye en la preferencia de algunos patógenos a determinados tejidos. Las bacterias tienen la capacidad de invadir las capas más profundas del tejido mucoso cuando penetran las células epiteliales, traspasando las uniones entre ellas o de forma más fácil, cuando lo hacen a través de superficies epiteliales desnudas.

Las proteínas de la membrana externa, en bacterias virulentas, son esenciales para la invasión a las células epiteliales y para su multiplicación; otras bacterias pueden penetrar las

células mucosas mediante mecanismos poco comunes antes de dispersarse por el torrente sanguíneo. También están las bacterias que elaboran diversas enzimas de tipo extracelular, como hialuronidasas, lipasas, nucleasas y hemolisinas, cuyas funciones van dirigidas a degradar estructuras celulares y de la matriz, facilitando la entrada a los tejidos más profundos y a la sangre.

En el caso de la hemolisina α , esta se une al receptor desintegrina A y a la metaloproteinasa 10 (ADAM-10), y como efecto provocan daño al endotelio y alteración a la función de la barrera vascular, sucesos que es posible influyan en la diseminación sistémica a partir del sitio inicial de infección.

Otro caso, se relaciona con los microorganismos que se multiplican en el aparato digestivo, los cuales tienen la capacidad de atravesar la mucosa y llegar hasta el sistema circulatorio y, de tal forma que, si el sistema inmunológico del hospedador no es competente, originan una bacteriemia; y también están las bacterias que invaden la mucosa mediante la actividad de la proteína invasina.

Muchos microorganismos presentan unos factores conocidos como MSCRAMM (componentes de la superficie microbiana que reconocen moléculas de adhesión a la matriz), su acción se centra en que benefician la adherencia de la bacteria a la matriz extracelular del hospedador, como la laminina, colágeno y fibronectina. La laminina y el colágeno, son componentes que fijan las células epiteliales a las superficies mucosas y que al estar alteradas facilitan la invasión de los patógenos.

Por su parte las proteasas bacterianas, y el plasminógeno, cuando se encuentran unidos a la superficie y las metaloproteinasas de matriz del hospedador se combinan y producen como efecto la degradación o daño de la matriz extracelular, lo que también favorece la diseminación bacteriana. Con este proceso algunas bacterias pueden ser transportadas por células fagocíticas de defensa sin éxito desde una mucosa específica hasta un sitio distante.

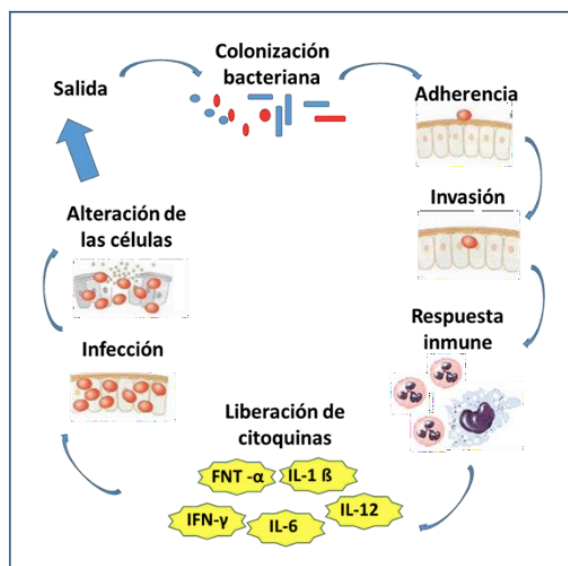


Figura 2.8. Proceso infeccioso. Fuente: Corrales, 2024

4. Diseminación

Se refiere a las formas o mecanismos como las bacterias una vez establecidas en un foco inicial se pueden propagar. Para esto pueden utilizar como vías los vasos sanguíneos o los linfáticos y como vehículo la sangre y líquidos corporales para acceder rápidamente a los órganos y tejidos internos. Algunas además tienen la capacidad de extenderse por los espacios intercelulares del huésped y evadir la fagocitosis y otras son capaces de invadir y multiplicarse dentro de las células del huésped. En la mayoría de los casos para las bacterias la multiplicación intracelular es una estrategia para evadir la opsonización por anticuerpos.

La enfermedad se entiende como un estado complicado a consecuencia de la invasión de agentes patógenos y la destrucción de los tejidos. En este puede estar implicada la producción de toxinas y enzimas bacterianas y la respuesta del hospedador. La producción de toxinas, tienen un efecto

directo sobre la función de las células y se asocian con los signos y síntomas de la enfermedad. La elaboración de toxinas bacterianas, es uno de los mecanismos moleculares de la patogenia en las infecciones que mejor se ha estudiado. Los factores del hospedador, así como la producción de IL-1, el TNF- α , las cininas, las proteínas inflamatorias, los productos de activación del complemento y los mediadores derivados de los metabolitos del ácido araquidónico (leucotrienos) y de la desgranulación celular (histaminas) favorecen a la gravedad de la enfermedad.

5. Adaptación a las condiciones del huésped

Los factores nutricionales en el entorno de la bacteria limitan o favorecen su crecimiento. Para la mayoría de las especies patógenas uno de los principales elementos que inician su rápido crecimiento es el hierro, elemento que es muy escaso en la sangre en su forma libre, pues normalmente se encuentra ligado a proteínas (transferrina, ferritina, lactoferrina). De ahí que especies y cepas virulentas tienen la capacidad de generar sistemas enzimáticos de alta eficacia que les permite fijar o secuestrar hierro a partir de las proteínas transportadoras del hospedero, conocidos como sideróforos. Entonces el contar con sideróforos le permite a la bacteria reproducirse a gran velocidad superando la respuesta de los mecanismos inmunes, y por esto se consideran factores de virulencia importantes.

6. Daño

Muchas infecciones por bacterias consideradas patógenas pueden presentarse como asintomáticas, por lo tanto, infección no es siempre sinónimo de enfermedad infecciosa. Sin embargo, se presentan casos, donde la infección conlleva a un daño directo originado por bacterias o sus productos. En ocasiones la respuesta inmune específica que se desencadena

por la infección, también puede contribuir al daño y a la gravedad de los signos y síntomas asociados a la infección.

En el proceso de invasión bacteriano a los tejidos, se puede presentar la lisis directa de células del hospedero, así como por acción de las exotoxinas como ya se mencionó. Aparte de las exotoxinas las bacterias Gram negativas, poseen un componente tóxico estructural en el lipopolisacárido de su membrana externa y se denomina Lípido A o endotoxina.

Los daños inmunopatológicos o indirectos, que se presentan, como se vio anteriormente, están relacionados con la reacción inflamatoria del hospedador, mediante la cual se busca solucionar el problema, y en la cual se libera una serie de mecanismos en el hospedador, en la cual intervienen el complemento, las cininas y la coagulación. La producción de citocinas, como IL-1, IL-18, TNF- α , IFN- γ y otros factores regulados en parte por el factor de transcripción NF- κ B dan lugar a fiebre, proteólisis muscular y otros efectos. La incapacidad para destruir o contener al patógeno suele dar lugar al avance de la inflamación y la infección. Cuando sucede la desgranulación de los polimorfonucleares, se produce la liberación de proteasas, elastasas, histaminas y otras sustancias tóxicas que dañan los tejidos del hospedador; y si la inflamación se convierte en crónica el tejido que está soportando este efecto termina por ser destruido, lo que puede implicar la pérdida de la función del órgano.

La inflamación local generalmente se relaciona con una lesión delimitada, mientras que la inflamación generalizada, como sucede en casos de septicemia, genera signos y síntomas directamente proporcionales a la producción de efectores en el hospedador. Microorganismos anaerobias, con frecuencia originan la formación de abscesos, tal vez por la presencia de polisacáridos de superficie zwitteriónicos, como el polisacárido capsular de *Bacteroides fragilis*.

Evasión a la respuesta de la inmunidad innata del hospedero

Como ya se conoce los individuos hospedadores cuentan en su superficie con una serie de mecanismos de defensa innatos que son capaces de detectar la presencia de bacterias patógenas y proceder a su eliminación. La piel, por ejemplo, mantiene un pH ácido, está impregnada con ácidos grasos, que son tóxicos para muchos microorganismos. Por ello para que un agente patógeno se desarrolle en piel, tiene que tener la capacidad o los mecanismos para tolerar estas condiciones. En relación con las mucosas, se observa que cuentan con una barrera conformada por una gruesa capa de moco, en el cual quedan atrapados estos agentes infecciosos, igualmente esta secreción favorece su transporte fuera del hospedero, ayudado por mecanismos, como la depuración mucociliar, la tos o la micción. Las secreciones que provienen de las mucosas, como la saliva y las lágrimas, contienen sustancias antibacterianas, como la lisozima y los interferones. La acidez gástrica, es otra barrera, dado que representa un ambiente adverso para la sobrevivencia de muchos microorganismos que ingresan por ingestión. Otras mucosas, como las de la nasofaringe, el conducto vaginal y el tubo digestivo, cuentan con una flora saprófita de microorganismos comensales que compiten con los agentes patógenos por su hábitat en el hospedador. El microbioma normal, también es esencial en el desarrollo del sistema inmune, ya que influye en la maduración y diferenciación de los componentes que hacen parte de la inmunidad innata y adquirida.

Entonces, los microorganismos patógenos que logran resistir estos factores, tienen que continuar su batalla frente a las respuestas endocíticas, fagocíticas, inflamatorias y factores genéticos del hospedador. Últimamente se observa que el reporte de genes asociados la resistencia de antibióticos ha crecido, lo cual también contribuye al incremento de las infecciones. Y se deben considerar factores de predisposición propios del hospedero como la edad, la producción de

hormonas, el estado nutricional y algunos hábitos como el consumo de alcohol, el tabaquismo y el ejercicio.

Fagocitosis e inflamación

La fagocitosis es un mecanismo de defensa innato del hospedador que limita la proliferación y la propagación de microorganismos patógenos. La palabra se deriva del griego phagein, que significa comer y kytos, célula. Como proceso celular es un tipo de endocitosis por el cual las células fagocíticas rodean con su membrana citoplasmática partículas sólidas extrañas (antígeno) y las introducen a su interior. El proceso se realiza mediante la emisión de pseudópodos alrededor de la partícula extraña hasta englobarla completamente y formar alrededor de ella una vesícula, denominada fagosoma, la cual fusiona posteriormente con los lisosomas que posee en su citoplasma para degradar el antígeno fagocitado.

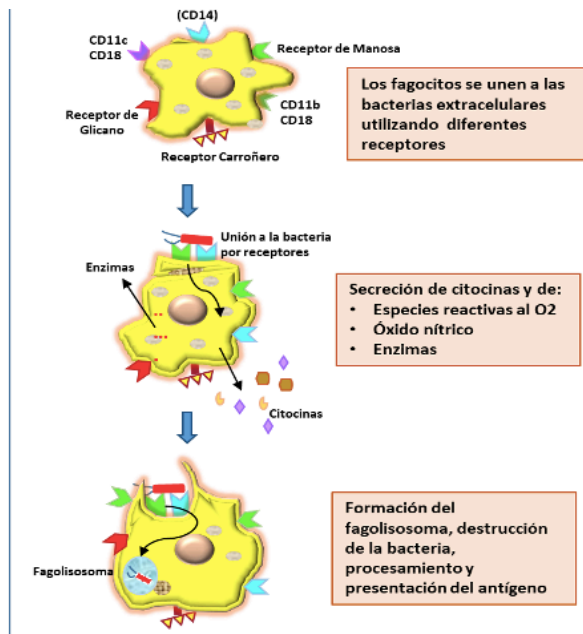


Figura 2.9. Los fagocitos y sus receptores. Fuente: Corrales, 2024

La discriminación de lo propio y lo extraño se produce a través de receptores que han sido seleccionados para reconocer estructuras antigénicas muy conservadas. Los macrófagos reciben nombres específicos de acuerdo al tejido u órgano donde se encuentran: hígado – células de Kupffer, Sistema Nervioso Central – células de la microglía, riñón – células mesangiales, hueso – osteoclastos, pulmones – macrófagos alveolares. Los monocitos reemplazan a los macrófagos pasando a los tejidos y sufriendo procesos de maduración en el cual aumentan de tamaño, adquieren un prominente aparato de Golgi y lisosomas. Los receptores de manosa, reconocen carbohidratos con gran número de manosas que forman parte de numerosas glucoproteínas y glucolípidos microbianos. Los receptores carroñeros o de detritos, poseen la capacidad de unir y mediar la fagocitosis de partículas de lipoproteínas de baja densidad oxidadas o acetiladas y reconoce polianiones que son abundantes en la superficie de los microorganismos.

Cuando ocurre la invasión de agentes extraños, los fagocitos circulantes o que se encuentran en los tejidos acuden rápidamente al lugar de la infección y se integran con el proceso de inflamación. En este reconocimiento también se encuentra la acción de las colectinas, colágenos solubles de defensa o moléculas de reconocimiento de patrón, las cuales se encuentran en la sangre (lectinas fijadoras de manosa), el pulmón (proteínas A y D de la sustancia tensioactiva) y probablemente en otros tejidos y se unen a los carbohidratos de la superficie de los microorganismos para facilitar su eliminación por los fagocitos.

En cuanto a la defensa contra bacterias patógenas, estas son fagocitadas principalmente por los leucocitos polimorfonucleares (PMN), los cuales poseen en sus gránulos sustancias bactericidas. Sin embargo, muchas bacterias patógenas fabrican cápsulas antifagocíticas y, en ocasiones, mediante las proteínas o los polipéptidos forman cubiertas similares a cápsulas.

Tabla 2.3 *Sustancia bactericidas naturales*

Nombre	Fuente	Espectro	Acción
Proteína sa 3	Neutrófilos humanos y de mono	Gram (-), Gram (+) y hongos	Desconocida
Azurocidina	Neutrófilos humanos y de bovinos	Gram (-), Gram (+) y hongos	Desconocida
Catepsina G	Neutrófilos humanos	Gram (-), Gram (+) y hongos	Desconocida

El movimiento de nuevos fagocitos hacia los lugares donde se encuentra la infección, ocurre por activación de las células del sistema inmune y de los factores asociados a las bacterias mencionados anteriormente. Por lo general, corresponden a factores conservados (entre bacterias patógenas) primordiales para su supervivencia que se denominan patrones moleculares asociados a los microorganismos patógenos (PAMP, pathogens associated molecular patterns).

Las respuestas celulares de las bacterias con las células fagocíticas se encuentran regidas principalmente por la estructura de los PAMP microbianos, que también son inductores de inflamación y el estudio minucioso relacionado con la estructura de bacterias patógenas han contribuido considerablemente a desarrollar mayor conocimiento sobre los mecanismos moleculares de la patogenicidad microbiana influenciada por la activación de moléculas celulares hospedadoras, como los receptores tipo toll (TLR, toll-like receptors).

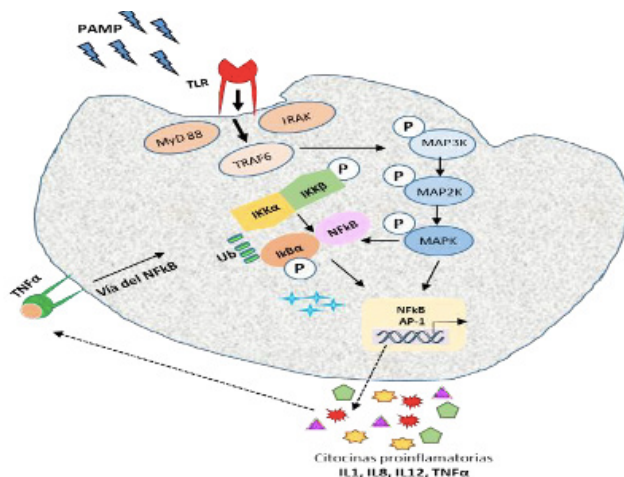


Figura 2.10. Señalización de la respuesta inducida por bacterias. Fuente: Corrales, 2024

La figura anterior muestra la señalización de la respuesta inducida por las bacterias, conducente a la generación de citocinas e inflamación en el hospedero. (IL – interleukinas, TNF – factor de necrosis tumoral, P- proteína fosforilada, Ub – ubiquitina, TLR – receptores Toll Like, PAMP- patrones moleculares asociados a microbios, AP1 - proteína activadora, 1, IκB - inhibidor de NFκB, MAPK – cinasas activadas por mitógenos, NFκB – factor nuclear κB).

Gerald B. Pier, en su capítulo de libro titulado “*mecanismos moleculares de la patogenicidad bacteriana*” en el texto Harrison. Principios de Medicina Interna, 19e., describe lo siguiente: la interacción entre los LPS de las bacterias Gram negativas y la proteína de membrana CD14 fijada al glucosilfosfatidilinositol (GPI) sobre la superficie de las células fagocíticas, tanto macrófagos de tejido y circulantes y PMN. Existe una variedad soluble de CD14 en el plasma y depositada en las mucosas. También hay una proteína plasmática fijadora de lipopolisacárido (LPS, lipopolysaccheride) (LBP, LPS-binding protein), que transporta el LPS al CD14 de la membrana de las células mieloides y ayuda a la unión entre LPS y CD14 soluble. Entonces los complejos solubles CD14/LPS/LBP se fijan

a variedad de células, y pueden ser interiorizados y dar inicio a la respuesta celular contra los agentes infecciosos. Los peptidoglucanos y el ácido lipoteicoico de las bacterias Gram positivas y de otras bacterias, pueden unirse a la molécula CD14. Otras moléculas, como MD-2, participan igualmente en el reconocimiento de los activadores de la inflamación.

En respuesta a los productos microbianos, el organismo del hospedero cuenta con vías de señalización celular para la elaboración de citocinas inflamatorias. La superficie celular microbiana, posee componentes que interactúan con los receptores tipo toll (TLR, Toll-like receptors), los cuales en ciertas situaciones requieren de otros factores como MD-2 que permitan dar respuesta frente a los lipopolisacáridos (LPS) a través de TLR4. No obstante estos componentes interactúan con los TLR en la superficie celular, los TLR contienen dominios extracelulares ricos en leucinas que se restringen al fagosoma cuando está ejerciendo su acción fagocítica.

Los TLR fagocitados pueden unirse a productos de la bacteria, donde son oligomerizados, generalmente formando homodímeros, para luego fijarse a la proteína adaptadora MyD88 mediante dominios tipo toll/IL-1R (TIR, Toll/IL-1R) C terminales, que igualmente se acoplan con TIRAP (proteína adaptadora que contiene el dominio TIR), la cual interviene en la transducción de señales de los TLR 1, 2, 4 y 6.

Entonces, el complejo MyD88/TIRAP activa las moléculas transductoras de señales, como IRAK-4 (cinasa 4 vinculada con IL-1Rc), y estas activan a IRAK-1. La activación que ocurre es bloqueada por IRAK-M y la proteína interactúa con Toll (TOLLIP, Toll-interactin protein). Entonces, IRAK-1 activa a TRAF 6 (factor 6 relacionado con el receptor del factor de necrosis tumoral), TAK-1 (cinasa 1 activadora del factor transformador del crecimiento β) y TAB1/2 (proteína 1/2 fijadora de TAK 1). Este complicado conjunto de señales se acopla con la enzima conjugadora de ubiquitina (Ubc13 y la

proteína tipo Ubc UEV1A para catalizar la formación de una cadena de poliubiquitina en TRAF6.

El proceso de poliubiquitinación de TRAF6 activa a TAK1 que, junto con TAB 1/2 (proteína que se fija al residuo 63 de lisina en las cadenas de poliubiquitina a través de un dominio con dedo de cinc), fosforila al complejo inducible de cinasa: IKK- α , - β y - γ . IKK- γ también llamada NEMO (modulador esencial del factor nuclear κ B [NF- κ B]). El anterior complejo fosforila al componente inhibidor de NF- κ B, I κ B α , lo cual ocasiona la liberación de I κ B α de NF- κ B. A continuación, I κ B fosforilado (PP) es ubiquitinado (ub) y degradado y ambos componentes de NF- κ B, p50 o Rel y p65, se traslocan hacia el núcleo, para unirse a sitios de transcripción reguladora en los genes receptores, muchos de los cuales codifican proteínas inflamatorias. Además de inducir la traslocación nuclear de NF- κ B, el complejo TAK1/TAB1/2 activa a los transductores de las cinasas MAP como MKK 4/7 y MKK 3/6, que provocan la traslocación nuclear de ciertos factores de la transcripción como AP1.

Asimismo, TLR4 activa la traslocación nuclear de NF- κ B a través de los cofactores TRIF independiente de MyD88, adaptador que contiene un dominio TIR inductor de IFN- β y TRAM (molécula adaptadora relacionada con TRIF). Los TLR intracelulares 3, 7, 8 y 9 también utilizan MyD88 y TRIF para activar a los factores de respuesta de IFN 3 y 7 (IRF-3 e IRF-7), que también funcionan como factores de transcripción en el núcleo.

Los receptores fijados por GPI no poseen dominios intracelulares de señales, por tanto, los TLR son los que transducen las señales para la activación celular gracias a que se fijan a los LPS. La unión de los factores microbianos a los TLR para activar la transducción de señales se lleva a cabo en el fagocitosoma de las células dendríticas que realizaron la fagocitosis. Esta interacción proviene probablemente de la liberación del factor de superficie microbiano desde la célula en el ambiente del fagocitosoma, donde el factor liberado se fija a su receptor.

Los TLR inician la activación celular a través de las moléculas transductoras que promueven la traslocación hasta el núcleo, del factor de transcripción nuclear κ B (NF- κ B, nuclear factor κ B), interruptor maestro para la producción de importantes citocinas inflamatorias, como el factor de necrosis tumoral α (TNF- α , tumor necrosis factor α) e interleucina 1 (IL-1).

La inflamación comienza no sólo por la acción del LPS o el peptidoglucano, sino también con otros productos microbianos, como polisacáridos, enzimas y toxinas. Los flagelos de las bacterias activan la inflamación al unir una secuencia conservada al TLR5. Las bacterias producen, además, una proporción elevada de moléculas de DNA con residuos CpG no metilados que activan la inflamación por medio del TLR9. Tanto TLR1 como TLR6 se asemejan a TLR2 en cuanto a que facilitan el reconocimiento de las proteínas y los péptidos microbianos acilados.

El factor 88 de diferenciación mieloide (MyD88, mieloide differentiation factor 88) y la proteína adaptadora que contiene al dominio Toll/IL-1R (TIR) (TIRAP, TIR domain-containing adapter protein) se fijan a los dominios citoplásmicos de los TLR y a los receptores que forman parte de las familias de receptores de IL-1. En numerosos estudios, se ha demostrado que la transducción de señales gobernada por MyD88/TIRAP de los TLR y otros receptores es fundamental para la resistencia innata a las infecciones, ya que activan a las MAP-quinasas y NF- κ B, con lo cual se induce la producción de citocinas y quimiocinas.

Algunos TLR como los TLR3 y TLR4, también participan en la activación de la transducción de señales a través de vías independientes de MyD88, en la cual intervienen adaptadores que tienen el dominio TIR inductor de IFN- β (TRIF, TIR domain-containing adapter-protein inducing IFN- β) y la molécula adaptadora afín con TRIF (TRAM, TRIF related adapter molecule). TRIF y TRAM con sus señales, inducen la elaboración de citocinas, quimiocinas e interferones tipo 1

relacionadas con NF- κ B. El IFN tipo 1, se pega al receptor de IFN- α , este receptor está compuesto por dos cadenas de proteínas, IFNAR1 e IFNAR2. En el humano se producen tres tipos de IFN. El tipo 1: es el IFN- α ; el tipo 2 es el IFN- β y el tipo 3 es el IFN- γ . La función del interferón en el organismo es activar las proteínas pertenecientes al complejo de transducción de señales y activador de la transcripción (STAT, signal transducer and activator of transcription), los cuales son necesarios en la regulación de los genes que gobiernan la función del sistema inmunitario.

El inflammasoma, es significativo en la respuesta del hospedero a la infección ya que participan en la regulación de la respuesta inmunitaria innata. Es un complejo de proteína de naturaleza intracelular, en este las citocinas inflamatorias IL-1 e IL-8 bajo el efecto de la cisteína proteasa o caspasa-1, se convierte a su forma activa antes de ser producida. Los inflamasomas tienen otras proteínas de la familia de receptores tipo dominio fijador de nucleótidos y oligomerización (NOD) (NLR, nucleotide binding and oligomerization domain like receptor). Estas NOD captan factores microbianos conservados cuando son liberados dentro de la célula. Cuando los NLR reconocen los PAMP, se activa la caspasa-1 y se secretan IL-1 e IL-18 activadas. Estas proteínas del sistema inflammasoma, detectan patrones moleculares concernientes a patógenos (PAMP, pathogen- associated molecular patterns) y las señales procedentes del hospedador denominadas patrones moleculares relacionados con la lesión (DAMP, damage-associated molecular patterns). La autofagia, es otro componente intracelular que responde ante infección microbiana; se trata de procesos intracelulares que realizan la degradación y el reciclaje de componentes celulares. Para los patógenos evadir este proceso es imprescindible en la generación de la enfermedad. Este proceso se puede lograr por medio de la inhibición de las proteínas en la vacuola autofágica; por la incorporación de proteínas del hospedador para esconderse y por la inhibición de la formación de vacuolas.

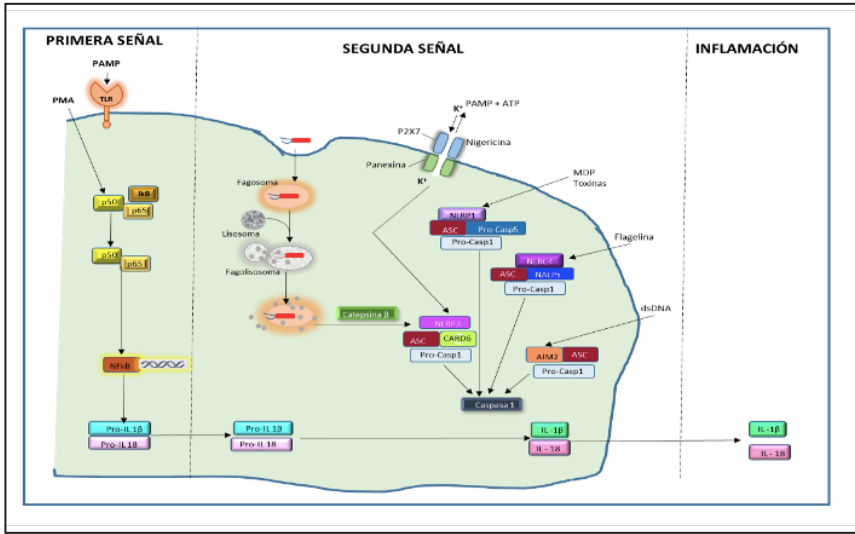


Figura 2.11. Inflamasomas, familia de proteínas de receptores de dominio similares para la oligomerización de unión de nucleótidos NLR, que participan en la regulación de la respuesta inmunitaria innata. Tomado de: *Mecanismos moleculares de la patogenicia bacteriana*, Harrison. Principios de Medicina Interna, 19e. Modificado por: Corrales, 2024

La producción de factores tóxicos para los fagocitos o que interfieren con las funciones de quimiotaxis y digestión, es otra estrategia con que cuentan las bacterias para evitar la fagocitosis. En este grupo de agentes tenemos algunas enzimas y toxinas que ya se han mencionado como las hemolisinas, las leucocidinas, las cuales van dirigidas a destruir los fagocitos que pretenden ingerirlos, otros agentes tóxicos para las células unen al colesterol de sus membranas, lo que conlleva a la desgranulación interna, por lo que los componentes tóxicos que se encuentran en los gránulos se liberan en el citoplasma del fagocito; o también porque rompen las membranas de los fagocitos una vez es fagocitada y a través de la de fosfolipasa A que libera y péptidos que libera le origina poros.

La sobrevivencia dentro de los macrófagos es otra estrategia con diferentes posibilidades para continuar viable y progresando en el proceso infeccioso una vez es fagocitado y entre ellas están: provocando la inhibición en la fusión de la

vacuola fagocítica (fago-lisosoma); escapando hacia el citoplasma del fagocito para multiplicarse allí o movilizándose a células vecinas. Algunos patógenos cuentan con un sistema maestro de regulación, donde los genes PhoP/PhoQ que a su vez dominan otros genes, que intervienen en procesos de ingreso y sobrevivencia intracelular; proceso que cuando ocurre se ha señalado provoca cambios estructurales en la cubierta LPS de la bacteria Gram negativa.

Trasmisión a otros hospedadores

Como parte del proceso patogénico, las bacterias cuando alcanzan un buen numero en su proceso de proliferación, se despegan del hospedador, situación que favorece su transmisibilidad. Acerca de la transmisión de agentes patógenos no hay una regla general para todos, esta característica es diferente en cada agente, pues la transmisibilidad y la virulencia no son factores que tengan correspondencia. Se observa que en cuestión de transmisión la vía que permite este proceso es la misma casi siempre por donde el patógeno ha ingresado.

Factores de virulencia

Las bacterias anaerobias poseen diversos factores de virulencia, y corresponden a la mayoría con los que cuentan las bacterias aerobias, su naturaleza es variada y depende de las características de los géneros que conforman la familia. Estos se pueden clasificar en dos categorías: por un lado, está el grupo que poseen endotoxina como parte constitutiva de su pared y que también producen exotoxinas, y las que sólo producen exotoxinas; por el otro lado, está el grupo que cuenta con componentes estructurales como cápsulas, flagelos, producción de esporas y componentes enzimáticos, los cuales tienen un menor poder patógeno si se comparan con las toxinas.

Los factores de virulencia se clasifican de la siguiente manera:



Figura 2.12. Clasificación de los factores de virulencia bacterianos. .Fuente: Corrales, 2024

1. Estructuras externas o de la envoltura celular

Membrana celular

Esta membrana constituye una parte vital de la estructura en la bacteria, es la barrera que aísla lo que se encuentra en el interior de la célula del medio en que se encuentra, cumpliendo la función de barrera osmótica. Siendo una membrana de permeabilidad selectiva, a través de ella sucede el ingreso de nutrientes y la salida de desechos por mecanismos de transporte activo y pasivo.

Está conformada por una bicapa lipídica, de fosfolípidos con grupos hidrofílicos e hidrofóbicos, sin presencia de esteroides, exceptuando a los mycoplasmas. Esta estructura se halla sostenida por puentes de hidrógeno, interacciones hidrofóbicas y cationes como el calcio y el magnesio, los cuales se combinan con los fosfolípidos. En esta membrana se encuentran fijadas diferentes proteínas transmembrana, que permiten que a través de ella se realice el intercambio de sustancias hidrofílicas.

Al no poseer membranas internas, las bacterias deben realizar los procesos de fosforilación, oxidativa y el transporte de electrones (citocromos) en la membrana celular y así obtener su energía. En esta membrana, también se localizan los mesosomas, que se observan como invaginaciones de la membrana plasmática, llevando a la formación de vesículas, túbulos o lamelas; se presume que estas estructuras podrían estar involucradas en la formación de la pared celular cuando sucede la división celular o en la replicación del DNA y su repartición a las células hijas. Posee enzima que ayudan a la síntesis de lípidos, de la pared celular y de la cápsula y contiene moléculas receptoras especiales que ayudan a las bacterias a detectar y responder a sustancias químicas del medio externo como proceso de comunicación.

Pared celular

Se encuentra por fuera de la membrana plasmática, es vital para las bacterias. La formación de esta estructura puede ser detenida por la acción de antibióticos que compiten por el sitio blanco donde se fija a la membrana, generándole lisis y muerte. En la pared celular de gran número de microorganismos patógenos se encuentran componentes asociados a su poder patógeno.

La pared de una bacteria Gram positiva está formada por peptidoglicano o mureína de 20 a 80 nanómetros de grosor, ubicada por encima de la membrana celular. En las bacterias Gram negativas, ésta es más compleja, tiene una capa de 2 a 7 nanómetros de grosor de peptidoglicano, con una membrana externa que la rodea. Entre membrana plasmática y la membrana externa de estas bacterias se encuentra un espacio que se denomina espacio periplásmico y está ocupado por el periplasma, el cual también se encuentra en las Gram positivas ubicado entre la membrana plasmática y la pared celular.

En el periplasma de las bacterias Gram negativas, se encuentra una variedad de proteínas que intervienen en la

captación de sustancias nutricionales, enzimas hidrolíticas como proteasas, lipasas, fosfatasas, β -lactamasas, cuya función es convertir macromoléculas en productos más pequeños y fáciles de metabolizar por la bacteria. En este espacio se encuentran también enzimas que participan en la síntesis del peptidoglicano y en la transformación de compuestos tóxicos. En bacterias patógenas, se encuentran allí factores de virulencia como colagenasas, hialuronidasas y proteasas.

El peptidoglicano o mureína es un polímero muy grande, compuesto por muchas subunidades idénticas. Contiene dos aminoazúcares, que son el N-acetilglucosamina y el ácido N-acetilmurámico; unidos entre sí en la posición β 1-4. En su estructura básica se encuentra una cadena peptídica de cuatro aminoácidos D- y L- alternantes, ensamblada a un grupo carboxilo del ácido N-acetilmurámico. Los tetrapéptidos de una y otra cadena de peptidoglicano se unen entre sí por puentes peptídicos. El espesor de esta capa de peptidoglicano, presenta variaciones, en Gram positivas es una capa gruesa de 0,02 a 0,06 micras formando capas múltiples; en las Gram negativas, corresponde a una capa fina de peptidoglicano, de más o menos 0,01 micras.

Cuando se lleva a cabo la división celular se origina una nueva pared celular; en la célula que se divide, las autolisinas, dan origen a espacios en la pared celular vieja, y es allí donde se agrega el peptidoglicano de la nueva pared. En el citoplasma, se produce un precursor o unidad monomérica con uridin-difosfato y ácido N-acetilmurámico (UDP-N-AcM). Luego los aminoácidos son pegados secuencialmente al UDP-N-AcM hasta que se obtiene una cadena de pentapéptidos con dos D-alanina terminales. La siguiente etapa en la síntesis de la pared se desarrolla en la membrana plasmática, en esta se localiza el transportador lipídico denominado bactoprenol, al cual se transfiere N-acetilmurámico desde el UDP y se transfiere también una molécula de N-acetilglucosamina, la cual se pega al complejo pentapéptido N-AcM. El bactoprenol transporta el bloque formado a través de la

membrana plasmática. Cuando llega al espacio periplásmico estos bloques de disacáridos son colocados en los espacios ya formados y unas ligasas unen los monómeros a una cadena de peptidoglicano en crecimiento.

El último paso, es fundamental, en este se lleva a cabo la unión de las cadenas de peptidoglicano entre sí, proceso que se conoce como transpeptidación, porque sucede la unión de cadenas peptídicas adyacentes, mediante la formación de una unión peptídica entre una D-alanina de una cadena y una L-lisina o ácido diaminopimérico (DAP) de otra cadena. Esta reacción de entrecruzamiento se hace con la colaboración de transpeptidasas, denominadas penicilin binding proteins (PBP), ya que son el sitio blanco de anclaje y acción de la penicilina y varios antibióticos β -lactámicos. Éstos se unen a las PBP impidiendo la transpeptidación, provocando la lisis osmótica de las bacterias. Esto se produciría aparentemente por la semejanza estructural entre la penicilina y el dímero D-ala-ala reconocido por las PBP que hace que, en presencia de penicilina, las PBP se engañen y elaboren un complejo penicilina-enzima que resulta letal para la bacteria (en lugar del complejo D-ala-enzima).

Las bacterias Gram positivas, cuentan en su estructura con una gruesa pared celular, constituida principalmente por peptidoglicano y también por buena cantidad de ácido teicoico, polisacáridos que se pegan al ácido N-acetilmurámico o a los lípidos de la membrana plasmática y en este segundo caso se denomina ácido lipoteicoico. Estos dos tipos de ácidos son los que estabilizan la pared celular. Además, los ácidos teicoicos se asocian con la virulencia de estos microorganismos, ya que funcionan como antígenos de superficie al unirse a receptores específicos en las células del huésped. En las bacterias Gram positivas, la superficie externa del peptidoglicano con frecuencia se encuentra cubierta de proteínas y lo que diferencia los grupos de estas bacterias, se relaciona con la composición de sus proteínas y de ácidos teicoicos;

característica útil para la clasificación serológica y la identificación de especies.

Las bacterias Gram negativas, en su estructura de pared observada al microscopio electrónico se aprecian tres zonas: la membrana plasmática, el espacio periplásmico que incluye una fina capa de peptidoglicano y la membrana externa. Esta última, exclusiva de éstas, que corresponde a una bicapa lipídica que difiere de otras membranas por su capa externa, que está constituida por una molécula anfipática: el lipopolisacárido (LPS) o endotoxina. Además del LPS, la membrana externa contiene fosfolípidos y proteínas que la unen al peptidoglicano.

Polisacáridos de la pared

Son moléculas formadas por la unión de muchas moléculas de monosacáridos. Hay dos tipos principales de polisacáridos, los primeros que están formados por monosacáridos iguales que se denominan homopolisacáridos y, los segundos, que están formados por monosacáridos diferentes y se denominan heteropolisacáridos.

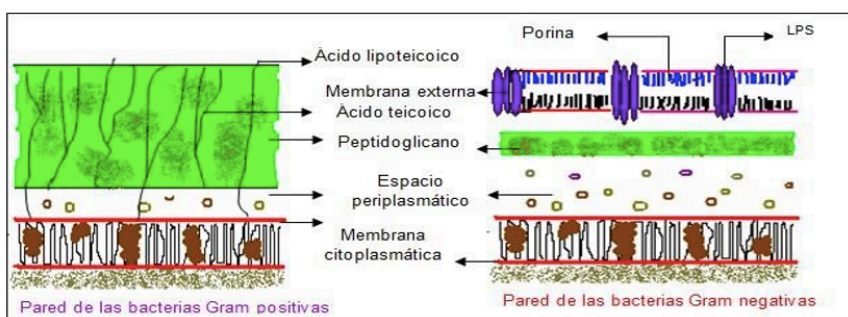


Figura 2.13. Estructura de la pared celular en bacterias Gram negativas y Gram positivas. Fuente: Corrales, 2024

El peptidoglicano es responsable de la rigidez de la pared celular bacteriana y determina la forma de la célula. La pared

es relativamente porosa y no constituye una barrera para los substratos pequeños. Además del peptidoglicano, algunas bacterias presentan en la parte más externa de su envoltura celular una capa superficial de proteína o glicoproteína, denominada capa S, y adicionalmente, en el exterior de la bacteria puede también formarse un glucocálix o cápsula con material secretado por la bacteria, pero en este caso se considera que es una acumulación de material y no parte de la célula.

2. Capacidad de adherencia e invasión en las superficies epiteliales

Adhesinas

Como se mencionó anteriormente corresponden a moléculas de superficie que se encuentran en algunos microorganismos y que le permiten fijarse específicamente a receptores de superficie complementarios en las células de ciertos tejidos del huésped. Las adhesinas pueden estar ubicadas en el glucocálix o en otras estructuras de la superficie de las bacterias y, de éstas, hacen parte los pilis, las fimbrias y los flagelos. La mayoría de las adhesinas son de tipo glucoproteínas o lipoproteínas.

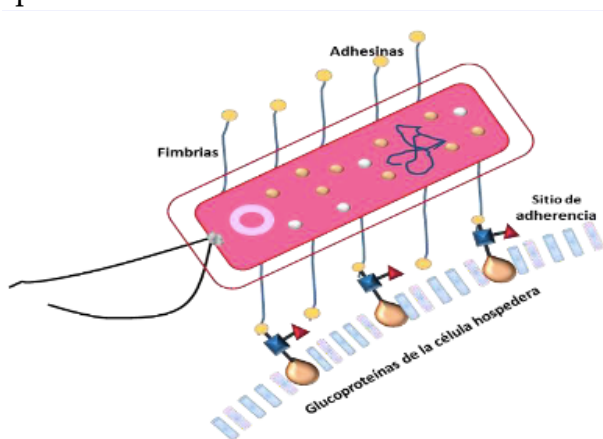


Figura 2.14. Mecanismo de adhesión de una bacteria a la célula por medio de adhesinas. Fuente: Corrales, 2024.

Reacomodamiento de la actina en las células hospedadoras

Algunas bacterias adquieren mecanismos para ingresar en las células diferentes al proceso de fagocitosis, generalmente lo realizan adhiriéndose a la superficie celular y causando cambios en el citoesqueleto celular que resulta en el englobamiento por la célula. En células fagocíticas activas, el rearrreglo del citoesqueleto conlleva la polimerización y despolimerización de la actina, con la formación de pseudópodos. Las proteínas de superficie bacterianas que provocan la ingestión fagocitaria de las bacterias por las células son llamadas invasinas.

Otro tipo de interacción con la actina, es observada en bacterias que son ingeridas por las células, y encerradas en una vesícula, pero luego escapan de la misma rompiéndola. El escape es mediado por una proteína bacteriana que rompe la membrana lipídica o por formación de poros en la membrana. Para la bacteria tiene muchas ventajas escapar de la vesícula y crecer en el citoplasma, pues allí encuentran abundancia de nutrientes, protección de la acción de los anticuerpos opsonizadores y del complemento y una parcial protección frente al ataque por algunos antibióticos.

Algunas bacterias también pueden escapar del fagosoma y de esta manera son capaces de sobrevivir en los fagocitos porque escapan del fagosoma antes de que ocurra la fusión con el lisosoma. Las bacterias continúan interactuando con la actina cuando entran en el citoplasma, generando su condensación y de esta manera la bacteria viaja por el citoplasma a células adyacentes. Muchos patógenos intestinales invasivos poseen invasinas que se unen a proteínas celulares denominadas integrinas, que se encuentran localizadas en la superficie basolateral de la superficie de las células mucosas, que es más accesible a las bacterias que se encuentran en el lumen intestinal.

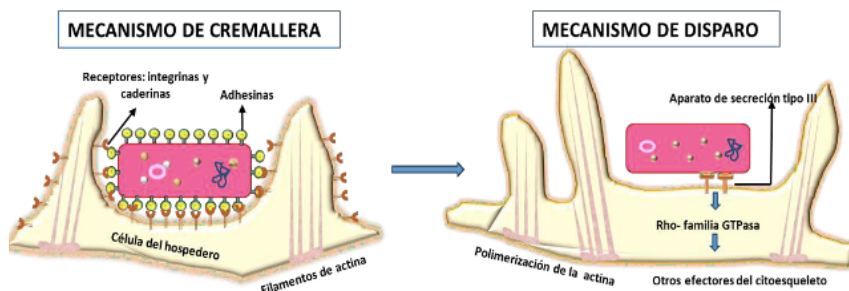


Figura 2.15. Mecanismo de ingreso por reacomodación de la actina. Fuente: Corrales, 2024.

Unión y entrada a células M

Hay bacterias que invaden el epitelio intestinal utilizando las células M como puerta de entrada a los tejidos subyacentes. Las células M son naturalmente fagocíticas, así que las bacterias que se unen a éstas son englobadas y transportadas a los tejidos linfoides subyacentes.

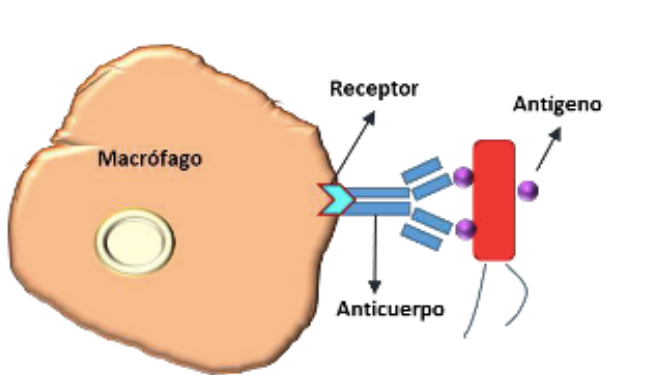


Figura 2.16. Mecanismo de reconocimiento de antígenos. Fuente: Corrales, 2024.

Biopelículas

Normalmente, entendemos por biopelículas o biofilm bacteriano una colonia estructurada de células bacterianas incrustadas en una matriz polimérica fabricada por ellas mismas y adheridas a la superficie. Las bacterias pueden adherirse a células y tejidos, así como a superficies sólidas.

Se estima que el 80% de la biomasa microbiana terrestre reside en el interior de biofilms, los cuales facilitan la supervivencia de bacterias patógenas en el ambiente en que se encuentran y en sus hospedadores.

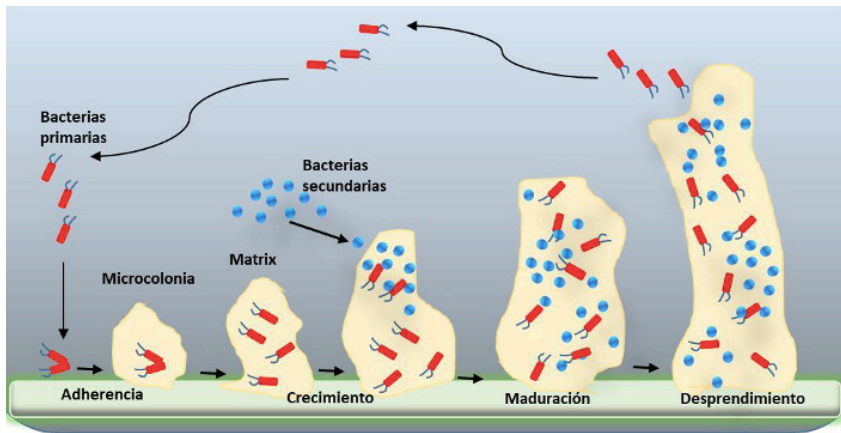


Figura 2.17. Proceso de formación de una biopelícula. Fuente: Corrales, 2024

El biofilm bacteriano aislado de una amplia gama de ambientes comparte numerosas características comunes como:

- las células bacterianas están incrustadas en una matriz polimérica compuesta por exopolisacáridos, proteínas y ácido nucleico
- la formación de biofilm se inicia mediante señales extracelulares presentes en el medio o producidas por las bacterias
- el biofilm protege a las bacterias frente a la respuesta inmunitaria del hospedador, la desecación y los biocidas (como antibióticos o desinfectantes).

Esta última característica es, por supuesto, de gran importancia para la medicina humana y veterinaria.

3. Producción de toxinas

Las bacterias Gram negativas poseen endotoxinas y pueden producir también exotoxinas, en cambio las Gram positivas solamente pueden producir exotoxinas. La producción de toxinas es una característica importante, ya que promueve la diseminación bacteriana a través de las diferentes células y tejidos de los organismos; esto no solamente por el daño que causan sobre las células, sino porque además modifican mecanismos en la defensa inmunitaria del hospedero, con la consiguiente afectación interna.

Tabla 2.4. Características asociadas a las toxinas bacterianas

PROPIEDAD	ENDOTOXINA	EXOTOXINA
Bacterias generadoras	Gram negativas	Gram negativas y Gram positivas
Producción	Forman parte integral de la pared celular	Excretadas por células vivas
Composición	Lipopolisacárido	Polipéptidos con peso molecular de 10000 a 900000
Codificada por	Cromosoma	Plásmidos
Tolerancia al calor	Termoestable a más de 200°C	Desnaturalización a 60°C y 80°C
Efecto inmunológico	No generan producción de anticuerpos	Es antigénica, genera producción de anticuerpos
Efecto en el huésped	No es específico sobre tejido	Específico sobre tejidos
Toxicidad	Baja	Alta
Liberación	Por lisis de la bacteria o durante el crecimiento, su acción no depende de su liberación.	Secreción

Endotoxina

El lipopolisacárido (LPS), o endotoxina, es una toxina termoestable, se encuentra en gran cantidad formado parte de la membrana externa de las bacterias Gram negativas y se libera de ellas al morir o lisarse; está conformada por tres componentes diferentes: lípidos, cadenas de oligosacáridos y polisacáridos. Su contacto con la célula del hospedero activa la respuesta inmune; tiene un poderoso efecto tóxico, participa en procesos de adhesión bacteriana. Esta toxina cuando se libera de la bacteria estimula respuestas de la inmunidad innata, en las que se encuentran la secreción de citocina, expresión de moléculas de adhesión en el endotelio y activación de la capacidad microbicida del macrófago.

El lipopolisacárido (LPS), está conformado por dos partes: un glucolípido denominado lípido A, y un heteropolisacárido denominado el núcleo (core), que se unen mediante el azúcar ácido 2- keto-3-deoxioctanato (KDO).

El lípido A, está conformado por un disacárido de dos unidades de glucosamina fosforilada unidas por enlace β (1-6), esterificado con ácidos grasos; los ácidos grasos que se encuentran con mayor frecuencia haciendo parte de este lípido son: el ácido caproico, ácido láurico, ácido mirístico, ácido palmítico y ácido esteárico. El efecto sintomático que genera este lípido sobre el hospedero son fiebre y malestar general. Por su parte en el núcleo se observan dos regiones: una interna, conformada por heptosas, ácido 3-desoxi-D-manooctulosónico (Kdo) y L-glicerol-D-manoheptosa (Hep), y la externa, que tiene hexosas (glucosa, galactosa y N-acetilglucosamina).

El LPS en algunas bacterias se localiza en una región específica que se conoce como el antígeno O; con este antígeno se pueden clasificar las especies bacterianas que lo posean en serogrupos. El antígeno O, está conformado por polímeros de oligosacáridos de diferente longitud, y pueden ser neutros y ácidos, aminoazúcares y, raras veces, azúcares

inusuales como 6-desoxihexosas y 3,6-didesoxihexosas. Tienen la característica de actuar como receptor para diversos bacteriófagos, y protege al lípido A del reconocimiento que hacen los macrófagos.

En el lado interior de la membrana exterior de unas bacterias Gram negativas se localiza una lipoproteína compleja, pequeña con un peso molecular de alrededor de 7.200 Dalton, la cual cumple la función de anclar el LPS y el peptidoglucano. Esta proteína presenta en el aminoácido terminal un residuo de cisteína, que ha sido transformado con el objetivo de contener un ácido graso en unión por medio de un enlace amida al grupo amino del aminoácido; y por este extremo es que se logra unir a los fosfolípidos de la membrana externa.

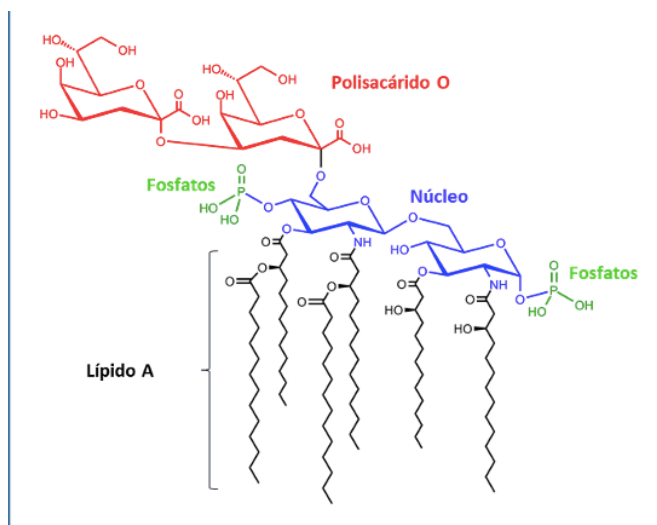


Figura 2.18. Lipopolisacárido KDO₂, con el Lípido A, el núcleo, fosfatos y el Polisacárido O. Tomado de: <https://es.wikipedia.org/wiki/Lipopolisac%C3%A1rido#/media/Archivo:Kdo2-lipidA.png>

Mecanismo de acción: Las endotoxinas bacterianas, en especial el lípido A, tiene como función activar las células fagocíticas del sistema inmune, estímulo que conlleva a la producción de Interleucina-1 la cual es inductora de fiebre; factor de necrosis tumoral que origina necrosis y hemorragias en

diferentes tejidos del cuerpo; y óxido nítrico que genera hipotensión arterial. Por lo cual esta endotoxina es generadora de varios signos y síntomas de la enfermedad infecciosa. También es una activadora de la cascada de la coagulación, principalmente por la vía de C3a que se asocia con hipotensión y edema y C5a que promueve la quimiotaxis en los neutrófilos. Y lo más grave para el hospedero, tiene efecto activador sobre el factor Hageman, el cual, a su vez, activa la coagulación llegando al extremo de instaurar la coagulación intravascular diseminada. A este lipopolisacárido se le confiere un amplio número de efectos fisiopatológicos y en el caso de tener en sangre gran cantidad de esta endotoxina solubilizada, conlleva a la muerte en una o dos horas por efecto de un shock irreversible y colapso cardiovascular.

Los efectos del lípido A se cree están regidos por la elaboración de potentes citocinas mediada por la unión del LPS con CD14 y la transducción de señales en los que participan los TLR sobre todo TLR4. La acción de estas citocinas se traduce en hipotermia potente por sus efectos sobre el hipotálamo, aumentan la permeabilidad vascular, trastornan la normal actividad de las células endoteliales y promueven su acción procoagulante.

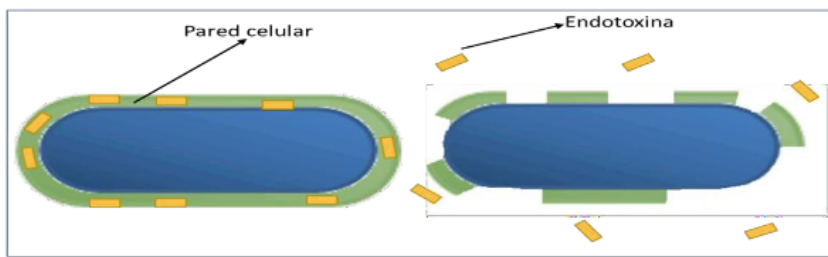


Figura 2.19. Endotoxina de una bacteria. Fuente: Antolínez, 2024

Exotoxinas

Son proteínas secretadas extracelularmente por las bacterias. Son muy potentes y pueden causar gran daño al hospedador al ocasionar necrosis o alterar el normal metabolismo celular; pueden ser secretadas o ser liberadas durante la lisis celular.

La mayoría de estas sustancias se destruyen mediante calor, los efectos que producen se manifiestan de dos formas: local o sistémica. Una de las más conocidas es la toxina botulínica que proviene de *Clostridium botulinum*, la del *Clostridium tetani*, que produce el tétano y la del *Corynebacterium diphtheriae* que genera la difteria.

Las exotoxinas muestran sensibilidad a la acción de los anticuerpos, sin embargo, la toxicidad de algunas, causa efectos tan fuertes que llevar a la muerte. Generalmente se categorizan de acuerdo con su acción sobre las células blancas.

Otras formas de clasificación se realizan por:

- El organismo que produce la toxina.
- El o los organismos que presentan sensibilidad a la toxina.
- El tipo de tejido diana sensible a la toxina (las neurotoxinas afectan el sistema nervioso, las cardiotoxinas afectan el corazón, las enterotoxinas afectan los enterocitos, entre otras).
- La estructura que presentan
- La capacidad de la toxina para resistir impactos adversos y ambientes hostiles, relacionados con temperatura, sequedad, radiación, o salinidad.
- Las letras del abecedario, tales como "A", "B", o "C", que indican el orden en que se identificaron.

Las toxinas denominadas *tipo I*, producen activación de la superficie celular, se unen a un receptor en la superficie de la célula y activan las rutas de señales intracelulares.

La siguiente tabla resume las características generales de las exotoxinas y endotoxinas.

Tabla 2.5. Características generales de las Endo y Exotoxinas

EXOTOXINAS	ENDOTOXINAS
Secretadas por bacterias Gram positivas y Gram negativas	Parte estructural de la pared de bacterias Gram negativas
Conformadas por polipéptidos	Conformada por lípidos y polisacáridos - LPS
Se pueden transformar en toxoides	No se pueden transformar
Generalmente tienen actividad enzimática	No tienen actividad enzimática
No inducen fiebre	Inducen fiebre

Enterotoxinas termoestables

Las enterotoxinas, pueden ser termoestables (ST), estructuralmente son pequeños péptidos con la capacidad de soportar temperaturas de 100°C. estas STs identifican diferentes receptores en la superficie de las células, afectando algunos caminos de señalización intracelular. Muestra de lo anterior son las enterotoxinas STa, las cuales se acoplan y activan la guanilato ciclasaoxinas que se encuentra ligada a la membrana de los enterocitos, esto desencadena la acumulación dentro de la célula de GMP cíclico lo que lleva a una salida de electrolitos y agua de las células.

Toxinas tipo II: originan daño en las membranas, presentan actividad de hemolisina o citolisina *in vitro*. Pero la inducción de la lisis celular parece que no es la actividad primaria de las toxinas durante la infección. En presencia de pequeñas concentraciones de toxina, los efectos se perciben de manera

más sutil, como es el caso de la modulación de la transducción de señales de células hospedadoras, lo que se detecta en ausencia de lisis celular. Las toxinas que causan daño en las membranas son de dos tipos: uno, corresponde a las toxinas creadoras de canales y dos, toxinas que funcionan como enzimas, cuya actividad se centra sobre la membrana.

Las citolisinas, son aquellas toxinas que forman poros o canales en la membrana celular; se clasifican en dos familias, las dependientes de colesterol y las RTX.

Las citolisinas dependientes de colesterol (CDC), necesitan que el colesterol esté presente en la célula blanco. Los poros que produce miden de 25 a 30 nanómetros de diámetro. En el C-terminal de esta familia se encuentra una secuencia conservada de 11 aminoácidos. Todas las CDC son producidas por el sistema de secreción tipo II; la excepción es la pneumolisina, exotoxina que es liberada desde el citoplasma de *Streptococcus pneumoniae* cuando este se lisa. La pneumolisina, la perfringolisina de *Clostridium perfringens*, y la listeriolisina O de *Listeria monocytogenes* todas ellas originan modificaciones específicas de histonas en el núcleo de la célula hospedadora, lo que resulta en down-regulación de varios genes que codifican proteínas comprometidas en la respuesta inflamatoria. La modificación de estas histonas no afecta la actividad de formación de poros de estas toxinas.

Toxinas RTX, son citotoxinas formadoras de poros (porinas), producida por una gran variedad de bacterias Gram-negativas, estas proteínas exhiben dos características comunes: la primera es la presencia de un nonapéptido repetido rico en residuos de glicina y ácido aspártico, localizados cerca de la porción C-terminal; la segunda es la secreción desde la bacteria por el sistema tipo I (un transportador ABC).

La toxina de referencia de este grupo de sustancias es la α -hemolisina producida por *Escherichia coli* (Hly_a) y, además, se incluyen también otras como la adenilato ciclasa producida por *Bordetella pertussis* (CyaA), la leucotoxina producida

por *Manheimia haemolytica* (LktA) y la producida por *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* (AaltA) y dos exoproteínas reguladas por el hierro (FrpA y FrpC) producidas por *Neisseria meningitidis*. Este grupo de proteínas RTX comprende toxinas, la mayoría de ellas con actividad formadora de poros, que se detectan por la formación de un halo hemolítico rodeando a las colonias, cuando éstas son crecidas en placas agar sangre.

Toxinas tipo III: estas se localizan intracelularmente, se clasifican por su forma de penetrar en la célula, o por el mecanismo que desarrolla dentro de la célula.

Según su forma de penetrar o modo de entrada, estas toxinas requieren tener la capacidad de acceder al citoplasma de la célula blanco.

Por mecanismo de acción: cuando ya está adentro de la célula, pueden actuar sobre los ribosomas eucarióticos, generalmente en la subunidad 60S, para producir inhibición de la síntesis de proteínas.

En general, la mayoría de las toxinas están compuestas de dos subunidades, la B que sirve para facilitar la unión mediante la fijación a moléculas receptoras de las células blanco del hospedero y la A que penetra la célula, es la fracción activa y altera los procesos fisiológicos de las células de acuerdo con el sitio blanco.

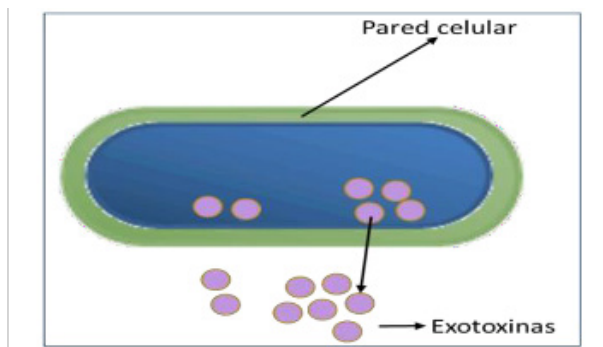


Figura 2.20. Secreción de exotoxina Fuente: Antolínez, 2024

Superantígenos

Estas moléculas son producidas por varias bacterias, tienen la capacidad de hacer un puente directamente sobre la proteína MHC clase II, de la célula presentadora de antígeno con el receptor en la superficie de las células T, mediante una cadena particular de V β . Como consecuencia de este proceso, se observa que hasta el 20% de las células T se activan, lo que condujo a una masiva secreción de citocinas proinflamatorias, las cuales se asocian con la producción de los síntomas de un choque tóxico.

4. Producción de enzimas

Betalactamasas

La producción de betalactamasas es uno de los principales mecanismos de resistencia bacteriana, son enzimas capaces de inactivar los antibióticos de la familia betalactámicos (penicilinas, cefalosporinas, monobactámicos y carbapenémicos). Las primeras descripciones de estas enzimas se realizaron poco tiempo después de comenzado el uso de las penicilinas. Con el surgimiento y uso repetitivo de nuevos betalactámicos, penicilinas semisintéticas y cefalosporinas, fueron apareciendo nuevas variantes de betalactamasas, hasta que en 1983 se describen por primera vez las llamadas betalactamasas de espectro extendido capaces de inactivar las cefalosporinas de tercera generación (ceftriaxona, cefotaxima, ceftazidima) y el aztreonam.

La inactivación de las penicilinas y cefalosporinas se da por el rompimiento del puente amida del anillo penicilánico o cefalosporánico, con la consecuente producción de derivados ácidos sin propiedades bactericidas, y por lo tanto se evita que dichos antibióticos puedan unirse a las proteínas transportadoras (PBP) y de esta forma impedir la formación de la pared bacteriana, por lo que se genera la lisis bacteriana.

Se han descrito más de 200 β -lactamasas diferentes; algunas son específicas para penicilinas, otras para cefalosporinas, y están las que tienen un espectro amplio de actividad, incluyendo algunas que son capaces de inactivar la mayoría de antibióticos β -lactámicos, denominadas β -lactamasas de espectro ampliado (BLEAs) o de espectro extendido (BLEE), las cuales con frecuencia están codificadas en plásmidos y pueden transferirse de un organismo a otro.

Las β -lactamasas se clasifican según los sustratos sobre los que actúan, las sustancias capaces de inhibirlas y la similitud en sus secuencias de aminoácidos. Las clasificaciones más utilizadas son las de Ambler y la de Bush-Jacoby-Medeiros. La clasificación de Ambler distingue cuatro clases de β -lactamasas en función de sus secuencias aminoacídicas. Las de las clases A, C y D son serina β -lactamasas y las de clase B metalobetalactamasas dependientes de zinc.

Tabla 2.6. Clasificación de las β -lactamasas, según Bush-Jacob y Medeiros

Grupo Bus(1995)	Clase Molecular (Ambler)	Preferencia al sustrato	Inhibición por ácido clavulánico	Tipo de BLEE
1	C	Cefalosporinas	-	AmpC
2 ^a	A	Penicilinas	+	PC1(<i>S.aureus</i>)
2b	A	Penicilinas y cefalosporinas	+	TEM-1,TEM-2, SHV-1
2be	A	Penicilinas y cefalosporinas de amplio espectro	+	TEM-3 a 28, SHV-2 a 6
2br	A	Penicilinas	+/-	TEM-30 a 36,
2c	A	Penicilinas y carbenicilina	+	PSE-1, CARB-3
2d	D	Penicilinas y cloxacilina	+/-	OXA-1, PSE-2

Grupo Bus(1995)	Clase Molecular (Ambler)	Preferencia al sustrato	Inhibición por ácido clavulánico	Tipo de BLEE
2e	A	Cefalosporinas	+	Cefalosporinas inducible
2f	A	Penicilinas, cefalosporinas y carbapenémicos	+	IMI-1, NMC-A, Sme-1
3	B	Carbapenémicos	-	L1
4	?	Penicilinas	-	Penicilinas de B. cepacea

Por su parte, la clasificación de Bush-Jacoby-Medeiros separa las β -lactamasas en función de su perfil hidrolítico y de sus inhibidores y distingue cuatro categorías y múltiples subgrupos. Dentro del grupo 2 (penicilinas sensibles al ácido clavulánico) se encuentra el subgrupo 2be, que engloba a más de 200 β -lactamasas de espectro extendido (BLEE) derivadas de TEM, de SHV o del tipo CTX-M, que se caracterizan por generar un distinto nivel de resistencia a cefalosporinas de tercera generación, recuperable en presencia del ácido clavulánico.

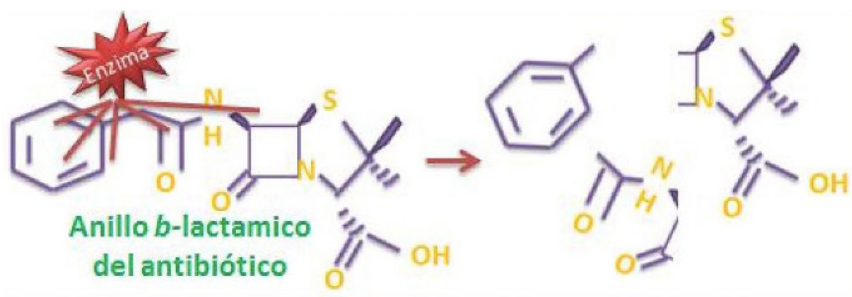


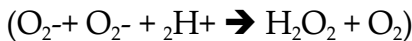
Figura 2.21. Acción de la enzima β -lactamasa sobre los antibióticos beta lactámicos. Fuente: Corredor, 2024

Superóxido dismutasa

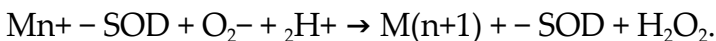
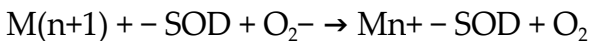
Superóxido (SOD), es un compuesto muy reactivo del oxígeno en la célula, como su nombre lo dice tiene un efecto

superoxidante, y catalizador de los radicales libres. La enzima cataliza la dismutación del superóxido en oxígeno y peróxido de hidrógeno. Para la bacteria que lo posee es una defensa importante en procesos de antioxidación en la mayoría de las células expuestas al oxígeno.

La SOD, se considera un factor de virulencia, debido a que bloquea los efectos oxidativos del estallido respiratorio que inician los fagocitos en el fagolisosoma y que sigue a la activación de la enzima nicotinamidaadenín-dinucleótido-fosfato-hidrógeno (NADPH) oxidasa de la membrana tras la fagocitosis.



Se encuentra ampliamente distribuida en el citoplasma y en el núcleo de las células, por lo cual es una proteína citoplasmática soluble. La dismutación catalizada por SOD del superóxido se representa en las siguientes semireacciones:



Donde M = Cu (n=1); Mn (n=2); Fe (n=2); Ni (n=2). En esta reacción el estado de oxidación del catión metálico oscila entre n y n+1.

Una vez ocurre la fagocitosis, el contenido de los gránulos citoplasmáticos que contienen los fagosomas de los leucocitos es liberado. Entre los componentes citóxicos que son liberados en el fagosoma se encuentran metabolitos oxigenados y enzimas lisosomales, que tienen capacidad para matar y digerir bacterias. Los metabolitos de oxígeno intervienen específicamente en la producción del estallido respiratorio, o explosión respiratoria, y en el cual sucede un rápido incremento en el consumo de oxígeno.

El estallido respiratorio se estimula en la membrana del fagocito, donde la enzima NADPH oxidasa, que se encuentra allí, reduce el O_2 en anión superóxido (O_2^-); y por la reducción

univalente del O_2 , se forman diferentes especies reactivas con alto poder tóxico, que se conocen como radicales reactivos del oxígeno. En orden de aparición están primero el radical superóxido (O_2^-) y el peróxido de hidrógeno (H_2O_2), por acción de la superóxido dismutasa (SOD) sobre

el O_2^- . El anión superóxido presenta alto poder bactericida, y es probable que el solo sea capaz de eliminar bacterias. El peróxido de hidrógeno puede reaccionar con el superóxido, para producir radicales hidroxilos (OH^-) y oxígeno singlete ($1 O_2$), que son también altamente reactivos y tóxicos. El anión superóxido también tiene la capacidad de reaccionar con óxido de nitrógeno (NO), proveniente de L-arginina y O_2 molecular, en una reacción catalizada por el óxido nítrico sintasa (NOS), y en la que se obtiene peroxinitrito, conocido intermediario del nitrógeno muy reactivo.

Por otro lado, el oxígeno singlete se convierte en un compuesto similar al ozono (O_3) mediante reacción catalizada por la unión de los anticuerpos con neutrófilos o bacterias. El peróxido de hidrógeno, sumado al cloruro, se convierten en un sustrato para la enzima mieloperoxidasa (MPO), obteniéndose ácido hipocloroso ($HClO$), con mucha toxicidad para la mayor parte de las bacterias.

Este ácido hipocloroso, por su parte también puede reaccionar con aminas secundarias, y formar cloraminas secundarias, las cuales tienen un poder microbicida, igual que el ácido, pero con la diferencia que este es un compuesto mucho más estable. Es así como, numerosas reacciones químicas se producen en el espacio entre la bacteria ingerida y la membrana del fagosoma. En este proceso se observa que se da un flujo de protones (H^+) o de otros cationes, como K^+ , con el fin de compensar la carga electrónica que se genera a consecuencia de la reducción del oxígeno molecular en anión superóxido.

Teniendo en cuenta lo anterior, si todos los electrones enviados al interior del fagosoma se compensaran con el flujo

de protones, el pH del fagosoma se mantendría neutro; sin embargo, se observa que este sube hasta pH 8, pese a que ocurre la liberación de ácidos originados por los gránulos citoplasmáticos cuando se fusionan con el fagosoma. Esto revela que otros cationes, como el potasio (K^+), entran en el fagosoma a cambio de protones. Si se da ese flujo de iones de potasio, estos cationes mediarían la solubilización de proteasas que están unidas a la matriz de proteoglucano de los gránulos.

Por lo tanto, el incremento del pH dentro del fagosoma alcanza valores adecuados para la acción de las proteasas: entonces, la NADPH oxidasa, además de matar a las bacterias por medio de sus radicales oxigénicos, opera liberando proteasas lisosomales. De este modo, la NADPH oxidasa leucocitaria induce la muerte bacteriana directa, mediante los productos oxidativos, y la muerte indirecta por medio de la liberación de proteasas.

Es así como las consecuencias del estallido respiratorio son la inactivación de proteínas y la oxidación de ácidos nucleicos y de otras moléculas esenciales.

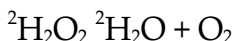
Para competir con los radicales libres generados en el proceso de fagocitosis, las bacterias patógenas han tenido que desarrollar varias estrategias, una es generar protección frente a los radicales formados en su propio metabolismo aerobio y otra es fortalecer las defensas frente al contacto con estos radicales provenientes de las células fagocíticas. En la primera situación, algunas presentan resistencia a los ROS con la síntesis de enzimas antioxidantes como superóxido dismutasas, catalasas y peroxidasas. La producción de estas enzimas incorpora una estrategia de defensa frente al ataque de las células fagocíticas, por ello se consideran factor de virulencia.

El estrés oxidativo tiene un efecto significativo en el crecimiento de *Bacteroides*, pero existe una serie de genes llamados de respuesta al estrés oxidativo (OSR) que le permiten a este género poseer una aerotolerancia significativa por ende,

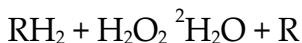
mayor capacidad de virulencia; por lo que puede establecer un proceso infeccioso anaerobio en el humano.

Catalasa

Como se mencionó anteriormente estas enzimas forman parte del mecanismo defensivo de las bacterias frente al estrés oxidativo. Su acción bioquímica es catalizar la descomposición del peróxido de hidrógeno, en agua y oxígeno, de esta manera pierde su poder oxidante.



Algunas catalasas tienen además actividad peroxidasa, un donador orgánico de electrones, o a veces un ion haluro, es empleado en la reducción del peróxido de hidrógeno.



Estas enzimas se organizan en tres grupos: catalasas monofuncionales con grupo hemo (FeCat), catalasas bifuncionales con grupo hemo (catalasas-peroxidasas) y pseudocatalasas sin grupo hemo (MnCat), estas últimas denominadas así porque son resistentes al azida y el cianuro, que son inhibidores comunes para las catalasas.

Las acciones de superóxido dismutasa y catalasa protegen no sólo de forma directa eliminando aniones superóxido y peróxido de hidrógeno, sino que también imposibilitan la formación del radical hidroxilo OH⁻, que se considera la especie reactiva derivada del oxígeno con mayor poder oxidante. Por ello el papel de las catalasas es fundamental cuando se trata de proteger bacterias patógenas. Se considera que la competencia de una bacteria para infectar al hospedador se relaciona de cierta forma, a su resistencia frente a la producción de ROS por las células, principalmente monocitos/macrófagos y polimorfonucleados.

Proteasas

También conocidas como peptidasas, son enzimas que rompen los enlaces peptídicos de las proteínas, capaces de digerir sustancias como el colágeno, elastina, fibronectina, fibrina y otros componentes de la matriz intracelular tanto del tejido epitelial como del conjuntivo. Algunas de estas enzimas utilizan una molécula de agua y por lo tanto son consideradas como hidrolasas, esto lo hacen para que por medio de la molécula de agua se produzca una hidrólisis y cuando la molécula de agua se divide sus átomos pasan a formar parte de otro compuesto químico.

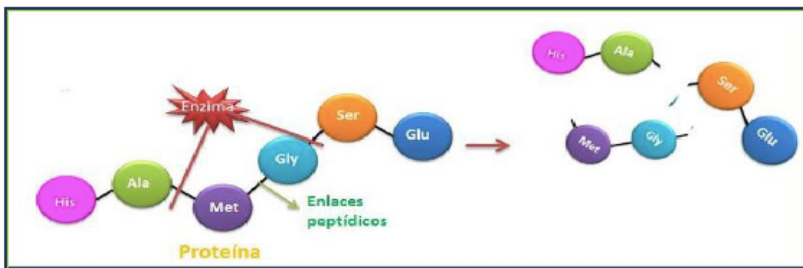


Figura 2.22. Acción de las proteasas. Fuente: Corredor. 2024

Las proteasas cuando actúan sobre el enlace peptídico, originan diversidad de implicaciones biológicas, que va desde la simple degradación de proteínas hasta la afectación de procesos fisiológicos. Las proteasas, son enzimas proteolíticas de serina; en este grupo se encuentra más de un tercio de todas las enzimas proteolíticas conocidas y representa el grupo más grande; su denominación se basa en el aminoácido nucleofílico serina (Ser) localizado en su sitio activo, que es el encargado de producir la ruptura del enlace peptídico, el cual generalmente está acompañado de aminoácidos como aspartato e histidina (His).

Las proteasas de serina presentan efectos directos e indirectos en la patogénesis del proceso infeccioso. Lantz et al. en 1997 mencionan que “las proteasas son consideradas factores de virulencia cuando estas actúan sobre el tejido del huésped al dañar las células y proteínas del mismo; al inducir la activación de proteasas endógenas del huésped que tienen como repercusión generar daño al propio organismo; al inactivar distintos mediadores del sistema inmune importantes para la defensa del huésped, y finalmente, por ser proteínas necesarias para la producción de otros factores de virulencia del microorganismo”.

Las enzimas que tienen actividad proteolítica se clasifican en dos grandes grupos de acuerdo con la posición donde se lleva a cabo la hidrólisis del enlace peptídico en el sustrato: las endoproteasas actúan sobre los enlaces internos de la secuencia de aminoácidos para romper la estructura de las proteínas y, las exoproteasas, en cambio realizan la hidrólisis en alguno de los extremos de la proteína blanco.

Otra forma de clasificar las proteasas está relacionada con el mecanismo de acción para generar la ruptura del enlace peptídico, diferenciándose en siete tipos: uno según el residuo de aminoácido catalítico en el sitio de acción, agrupados en dos tipos de mecanismos: las que activan una molécula de agua responsable de hacer un ataque nucleofílico y pueden hidrolizar el enlace peptídico (metaló-, aspartil-, glutamil- y asparagin-proteasa), y en las que el residuo aminoacídico realiza el ataque nucleofílico para unir por enlace covalente la enzima con la proteína sustrato, liberando a su vez la primera fracción de la proteína, y activando por acción del intermediario a una molécula de agua que hidroliza la unión proteasa-sustrato, para liberar la segunda fracción (serin-, cisteín y treonin- proteasas).

Los microorganismos patógenos tienen la capacidad de generar daño mediante las proteasas, ocasionando daños al citoesqueleto de actina y alterando el epitelio lo que demuestra

en estos casos particulares que, su blanco se encuentra en la proteína fodrina, la cual mantiene la integridad del citoesqueleto, esto sugiere la acción de estas enzimas como uno de los mecanismos involucrados en las alteraciones intestinales que se observan en los cuadros diarreicos generando un efecto citotóxico en el epitelio.

Las proteasas de serina igualmente pueden provocar la muerte celular o la ruptura de las uniones intercelulares en el epitelio consiguiendo la invasión del tejido, permaneciendo en el espacio intercelular lo que favorece la replicación bacteriana. Estas enzimas igualmente ayudan a la virulencia de algunos patógenos al facilitar la evasión de la respuesta inmune, por interferencia a nivel de las inmunidades innata y adaptativa. Estas alteraciones incluyen procesos que se relacionan con la degradación de compuestos antimicrobianos, como la apolactoferrina por acción de la enzima PrtA, hasta aquellos eventos de protección más sofisticados como la inactivación de la cascada del complemento, en la que la destrucción de las proteínas C3, C3b y C5, o las alteraciones en C5, favorecen la sobrevivencia de las bacterias.

En el proceso de inmunidad celular se ha explicado cómo las proteasas de serina de algunos patógenos pueden degradar algunas moléculas de superficie o interferir en el reclutamiento de células efectoras. En el caso de provocar la degradación de algunas moléculas de superficie se ha descrito la función de la proteasa Pic en la alteración a los receptores CD43, CD93 y CD162 expresados en linfocitos, neutrófilos, monocitos y otras células del linaje mieloide. Por su parte la proteasa Sat degrada la proteína de adhesión celular LFA-1 en los linfocitos; Tanto, la Pic, como la Sat conllevan a modificaciones en el proceso de adhesión celular, trans migración a los tejidos o comunicación celular.

Por otra parte, las proteasas de serina de algunas bacterias tienen la capacidad de regular la quimiotaxis, al estimular la producción de interleuquinas 8 (IL-8), sin embargo,

existen proteasas de serina que originan la degradación de quimiocinas como CXCL1, CXCL3, CXCL6, CXCL7 y CXCL8 (IL-8), de tal forma que evitan la incorporación de células de la respuesta inmune y facilitando así la sobrevivencia de las bacterias en el tejido.

Las proteasas de serina de algunas bacterias, también se han relacionado con acciones sobre la inmunidad humoral, se asocian con degradación de anticuerpos, específicamente inmunoglobulina A (IgA) secretora, la que constituye una barrera natural de defensa en la mucosa. El poseer esta proteasa facilita la colonización de tejidos mucosos; la presencia de esta proteasa se puede detectar tanto en el tejido de individuos infectados como en el suero, además los fragmentos de unión al antígeno (Fab) derivados de la degradación de IgA pueden ocultar algunos epítopes de bacterias patógenas, evitando ser reconocidas por el sistema inmune.

Argingipaina

Es una cisteinilproteínasa específica para la arginina, producida por *Porphyromonas gingivalis* (Pg), un anaerobio comúnmente asociado con la enfermedad periodontal progresiva. La enzima se compone de una única cadena polipeptídica de peso molecular de 44 kDa. Sus propiedades enzimáticas revelan varias características distintivas: la actividad proteolítica es absolutamente tiol-dependiente; sin embargo, la enzima también tiene en parte características tanto de metalo como de serinproteínasa. Es capaz de evadir los sistemas de defensa normales del hospedero, pues no es inhibida por inhibidores de proteasas endógenos. A pesar de su estrecha especificidad, degrada extensivamente los colágenos tipos I y IV y la inmunoglobulina G. Lo más importante es que la enzima tiene la habilidad de interrumpir las funciones de los PMN. Estos datos sugieren que la argingipaina desempeña una función fundamental como factor de virulencia de la PG en el desarrollo de la enfermedad pélvica inflamatoria (EPI).

Hialuronidasa

La hialuronidasa es una enzima proteica que modifica la permeabilidad del tejido conectivo mediante la hidrólisis del ácido hialurónico, separando la unión entre el C1 de la molécula de la glucosamina y el C4 del ácido glucurónico. Esto disminuye, temporalmente, la viscosidad del cemento intracelular y promueve la difusión de fluidos. Puede encontrarse de forma natural en algunas bacterias patógenas (cápsulas de los estreptococos beta hemolíticos, *Streptococcus pneumoniae*, *Staphylococcus aureus*, algunas especies de *Clostridium*, *Proteus*, *Flavobacterium*, y *Cutibacterium acnes*), determinando su factor de virulencia al hidrolizar la matriz extracelular. En el caso de *Cutibacterium acnes*, se sugiere que las lipasas y la hialuronidasa derivadas de esta bacteria son responsables de, la hidrólisis de los triglicéridos del sebo, con la subsecuente liberación de ácidos grasos libres, lo cual favorece la permeabilidad del epitelio folicular, facilitando su difusión e irritando áreas perifoliculares de la dermis.

El ácido hialurónico se encuentra en diferentes partes del cuerpo, como en el tejido conjuntivo, la piel, el líquido de las articulaciones y el líquido de los ojos. Hace que los líquidos adquieran una consistencia gelatinosa, lo que ayuda a hidratar y proteger los tejidos y las articulaciones. Es muy útil en el proceso de penetración a los tejidos.

Lipasas, estearasas y enzimas lipolíticas

Estas enzimas bacterianas llevan a cabo reacciones de síntesis, hidrólisis o intercambios de grupos en sustancias oleosas. Catalizan la hidrólisis de los enlaces ésteres formados entre un ácido y un alcohol, son altamente estables en un amplio rango de temperaturas, pH y solventes orgánicos, así como frente a diferentes detergentes, iones y agentes químicos, y en general, no requieren cofactores.

Las lipasas son específicas para acilgliceroles con ácidos grasos de cadena larga (>10 átomos de carbono), siendo la trioleína su sustrato de referencia; mientras que las esterasas actúan específicamente sobre acilgliceroles de cadena corta (<10 átomos de carbono), y otros esteres simples, siendo la tributirina su sustrato estándar. Estos dos tipos de enzimas se pueden diferenciar generalmente en base a otras características, las cuales están relacionadas directamente con la especificidad de sustrato. Así, las lipasas muestran preferencia por sustratos altamente hidrofóbicos, insolubles y agregados, y presentan sitios de unión largos para acomodar al ácido graso a escindir, y las esterasas actúan sobre sustratos más solubles y con un grado de hidrofobicidad más variable. Además, las lipasas muestran un mayor número de aminoácidos no polares localizados en las zonas expuestas al solvente y en la región del centro activo en comparación con las esterasas, así como un rango de sustrato más amplio, una mayor regioselectividad y estereoespecificidad. Por lo anterior, las lipasas bacterianas permiten la penetración de tejidos y son enzimas ampliamente utilizadas en biotecnología.

Fosfatasas

La mineralización del fósforo orgánico está mediada por las enzimas fosfatasas. Estas pueden ser sintetizadas por las bacterias capaces de producir fosfatasas ácidas y alcalinas. Son un amplio grupo de enzimas que catalizan la hidrólisis de esteres y anhídridos del ácido fosfórico; según la Comisión de enzimas de la Unión Internacional de Bioquímica las clasificó de acuerdo con el tipo de enlace y compuestos sobre los que actúan en: las que actúan sobre enlaces de tipo éster y que se dividen en monoésterfosfato hidrolasa, diésterfosfato hidrolasas, trifosfato monoéster hidrolasas, difosfato monoéster hidrolasas y triésterfosfato hidrolasas. Dentro del grupo de las monoéster fosfato se encuentran las fosfatasas alcalinas y ácidas, son inespecíficas y catalizan la ruptura

hidrolítica del fósforo orgánico del enlace éster (C-O-P), dejando el fosforo inorgánico disponible para que pueda ser asimilado (H_2PO_4^- , HPO_4^{2-}).

5. Movilidad

Los flagelos

Estas estructuras corresponden a finas estructuras proteicas, helicoidales, delgados y rígidos, de longitud y diámetro uniforme, que le confieren movilidad y patogenicidad a la bacteria, compuestos principalmente por flagelina.

Los flagelos son filamentos proteicos, helicoidales, delgados y rígidos, de longitud y diámetro uniforme, responsables de la movilidad de la bacteria. Los flagelos son tan delgados que no pueden observarse directamente con un microscopio de luz convencional y se requiere tinción especial para aumentar su grosor. La estructura detallada del flagelo ha logrado observarse con microscopio electrónico, detallándose tres partes: el filamento, el gancho y el cuerpo basal.

El filamento sobresale de la superficie de la bacteria y se une a ese nivel con el gancho, que está fijo al cuerpo basal. Éste último está anclado en la membrana plasmática y está compuesto por un cilindro y dos o más juegos de anillos contiguos a la membrana plasmática, el peptidoglicano y, en las bacterias Gram negativas, a la membrana externa. El filamento tiene forma de hélice rígida y la bacteria se mueve cuando ésta gira.

La dirección de la rotación flagelar determina la naturaleza del movimiento bacteriano, que particularmente es una rotación en dirección contraria a las agujas del reloj.

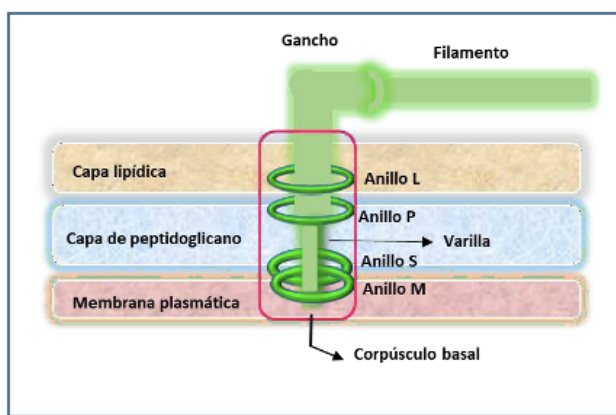


Figura 2.23. Flagelo en bacteria Gram negativa. Fuente: Corrales, 2024

Los flagelos pueden variar en número, desde uno a cientos. Las especies bacterianas difieren por sus modelos de distribución de flagelos. Las monotricas tienen un solo flagelo que se localiza en un extremo de la bacteria y se denomina polar. Las bacterias anfítricas poseen un flagelo en cada polo bacteriano. En cambio, las lofótricas presentan un grupo o penacho de flagelos en uno o ambos extremos y los peritricos, se localizan de manera uniforme en la superficie bacteriana. La localización y características de los flagelos permiten identificar las bacterias. La síntesis de estas estructuras es regulada por las necesidades nutricionales o energéticas y su formación empieza con la adición de monómeros de flagelina al extremo distal de los flagelos en crecimiento. La síntesis del filamento es sucede por autoensamblaje, lo que significa que la información necesaria para construir el filamento está en la propia estructura de la subunidad de flagelina; y en esta no intervienen enzimas especiales ni otros factores. Las bacterias flageladas tienen ventajas sobre las que no lo son, ya que pueden buscar nutrientes o evadir sustancias tóxicas siguiendo los gradientes; la función flagelar se regula por respuestas quimiotácticas y la energía para el movimiento proviene de una corriente de protones. De acuerdo con lo anterior, la movilidad y, desde luego, el poseer flagelos, hacen

parte de los factores de virulencia. El antígeno flagelar recibe el nombre de antígeno H. Las bacterias flageladas reaccionan con antisueros específicos para el antígeno, observándose una reacción de aglutinación. Las espiroquetas se mueven en onda helicoidal; dicho movimiento les permite penetrar en medios viscosos. Estas bacterias tienen filamentos axiales que no se extienden de un polo a otro de la célula, sino que se originan en polos opuestos y se superponen en el centro de la célula, sin presentar conexiones entre sí.

6. Estructuras de conservación

Las endosporas o esporas

Algunas bacterias Gram positivas pueden formar una estructura especial inactiva de resistencia, denominada endospora o spora. Se desarrollan dentro de células bacterianas vegetativas de los géneros *Bacillus* y *Clostridium* entre otros. Estas estructuras son resistentes a situaciones estresantes como el calor, la desecación, la radiación ultravioleta, los ácidos y los desinfectantes químicos. Debido a su resistencia y al hecho de que varias especies de bacterias formadoras de esporas son agentes patógenos peligrosos, las esporas tienen gran importancia en microbiología alimentaria, industrial y médica. El conocimiento de estas formas altamente resistentes al calor, fue esencial para el desarrollo de métodos adecuados de esterilización en diferentes áreas que implican la microbiología y la salud.

En el ambiente las endosporas permiten la supervivencia de las bacterias cuando la humedad o los nutrientes son escasos. Se pueden observar con el microscopio óptico y electrónico. Como las esporas son impermeables a la mayoría de los colorantes, se observan como áreas incoloras dentro de las células coloreadas, aunque existen coloraciones especiales para teñirlas.

La situación de la espora en la célula madre o esporangio, es característica en cada especie bacteriana y es un atributo importante para la identificación de la bacteria. Las esporas pueden estar en el centro de la bacteria como en el caso de *C. perfringens*, próxima a un extremo o subterminal como en *C. botulinum* o en el extremo, terminales en *C. tetani*. El tamaño de las esporas varía con la especie y con el grado de maduración y a veces es tan grande que deforma el esporangio. Una célula vegetativa se produce una espora única, con características diferentes en su morfología y composición a la célula madre; también porque posee resistencia a los ambientes adversos y ausencia de cualquier actividad metabólica.

El proceso demanda la formación de muchas cubiertas y la captación de calcio para sintetizar ácido dipicolínico. Finalizando el proceso de esporulación se obtiene una estructura deshidratada que contiene ADN genómico, y la cual tiene la capacidad de resistir a la desecación, al calor extremo, a la radiación y al ataque por la mayoría de las enzimas y agentes químicos y permanecer en esta forma por años o retornar nuevamente a su forma vegetativa con características idénticas a la que le dio origen; proceso que se conoce como germinación de la espora.

La germinación se produce por la temperatura, pH, ambiente o la presencia de nutrientes determinados; en este proceso la espora capta agua, se hincha, se desprenden sus cubiertas y se forma la célula vegetativa idéntica a la original. La estructura de la espora es compleja y se distinguen de afuera hacia adentro: el exosporio, capa delicada y delgada; la cubierta, compuesta por muchas capas de proteínas, puede ser gruesa; la corteza, constituida por peptidoglicano modificado, con menos enlaces que en la célula vegetativa, puede ocupar la mitad del volumen celular; la pared celular de la espora rodeando al protoplasto y el protoplasto, conteniendo las estructuras celulares normales como ribosomas y un nucleóide.

Aún no se ha determinado por qué la espora es tan resistente al calor y otros agentes letales. El 15% del peso seco de la espora consiste en ácido dipicolínico que forma complejos con iones de calcio. Quizá el complejo dipicolinato cálcico estabilice los ácidos nucleicos de las esporas. La resistencia al calor de las endosporas se produce por la estabilización del ADN por acción del dipicolinato de calcio y proteínas solubles en ácido, deshidratación del protoplasto y mayor estabilidad de las proteínas celulares en bacterias adaptadas a crecer a temperaturas elevadas, entre otros factores.

La formación de esporas, esporogénesis o esporulación, comienza cuando cesa el crecimiento debido a una falta de nutrientes y los cambios que ocurren durante la esporulación son el resultado del cese de la función de ciertos genes vegetativos y de la expresión de nuevos genes. La formación de las esporas es regulada negativamente, en este proceso la célula elabora un represor a partir de algún componente del medio, que impide la iniciación de la esporulación, hasta cuando este compuesto se agota y se inicia la esporulación. El factor específico que regula la iniciación de la esporulación es el trifosfato de guanosina (GTP), ya que su disminución es suficiente para iniciar la esporulación.

La transformación de esporas en células vegetativas se produce en tres fases: activación, germinación y crecimiento. La primera es un proceso reversible que se produce generalmente por calentamiento o por sustancias químicas y es necesaria la activación, de lo contrario la endospora no germinará satisfactoriamente, incluso en un medio rico en nutrientes. En la *germinación* termina el estado de reposo de la espora y es un proceso irreversible desencadenado por la exposición del esporo activado a algunos nutrientes y otros estimulantes como aminoácidos, nucleósidos y glucosa. Se caracteriza por hinchazón de la espora, rotura o absorción de la cubierta de ésta, pérdida de la resistencia al calor y otros factores estresantes, pérdida de la refractariedad, liberación de los componentes de la espora y aumento de la actividad

metabólica. Por último, en el *crecimiento*, el protoplasto de la espora sintetiza nuevos componentes, emerge a partir de los restos de la cubierta de la espora y se transforma nuevamente en una bacteria activa.

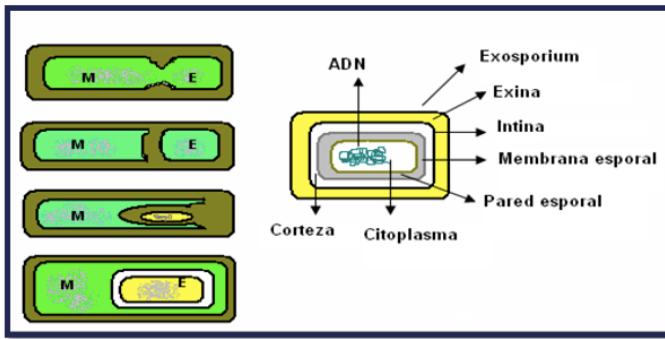


Figura 2.24. Proceso de esporulación bacteriano. Fuente: Corrales, 2024

7. Bloqueadores y adaptaciones para eludir la respuesta inmune

Cuando un microorganismo sobrevive a la fagocitosis y logra evadir el sistema inmunitario son capaces de desarrollar adaptaciones como:

Sobrevida en los fagocitos

Algunas bacterias han desarrollado la habilidad de sobrevivir dentro de los neutrófilos polimorfonucleares, monocitos o macrófagos. Una de las estrategias, es escapar del fagosoma antes de que se una al lisosoma; otra estrategia es la de reducir la efectividad de los compuestos tóxicos liberados dentro del fagolisosoma. Ejemplos de este tipo incluyen: la resistencia a la muerte por medio de defensinas, la producción de enzimas como las catalasas y superóxido dismutasas que detoxifican las formas reactivas de oxígeno, polisacáridos de la superficie celular que detoxifican radicales de

oxígeno, proteínas de superficie que reducen la fuerza del estallido oxidativo y paredes celulares que son refractarias a la destrucción de las proteasas lisosomales y lisozimas.

Variación antigénica

Algunas bacterias modifican sus antígenos de superficie para evitar el reconocimiento y detección del sistema inmune.

Resistencia sérica

Uno de los principales sitios de acción del complemento en bacterias Gram negativas son los lipopolisacáridos (LPS). Estos son un sitio de unión de la fracción del complemento C3b que dispara la activación alternativa del complemento. Los LPS también se unen a la fracción C5b del complemento que produce la formación del Complejo de Ataque a la Membrana (CAM). Los LPS mutan y modifican su estructura de manera tal que afectan la interacción entre los LPS y los componentes del complemento. Las bacterias que no son eliminadas por el CAM se denominan resistentes a la acción del suero.

Resistencia a la fagocitosis

Una estrategia antifagocitaria bacteriana es la de prevenir la migración de fagocitos al sitio donde la bacteria está creciendo o limitando su efectividad. Mediante una enzima bacteriana se degrada la fracción C5a del complemento, que es una molécula que atrae los fagocitos. Algunas bacterias también producen proteínas tóxicas que matan fagocitos, inhiben su migración o reducen el poder del estallido oxidativo. Estas toxinas no solo previenen el reclutamiento fagocitario a la infección, también protegen a la bacteria de los fagocitos que llegan al lugar de la infección.

Proteasa de IgA

Mediante las proteasas de inmunoglobulinas A secretorias fue resuelto el problema de las bacterias que colonizan las superficies mucosas, y que mediante esta enzima evitan quedar atrapadas en la capa de mucina.

La viscosidad de la mucina se genera en parte por las moléculas de inmunoglobulinas A secretorias (Ig A) que simultáneamente unen antígenos bacterianos por medio de los sitios de unión e interactúan con la mucina con la porción Fc. La estrategia bacteriana para evitar la IgA es la producción de una enzima extracelular que rompe la IgA en la región bisagra, separando la parte de la IgA que une la bacteria con la mucina. Estas enzimas son muy específicas por eso son denominadas IgA proteasas.

La mayoría de las IgA proteasas son específicas para el isotipo IgA1, otro isotipo es el IgA2, que se encuentra en menor proporción en las mucosas, no posee la misma región bisagra, y por lo tanto no es cortado por esta enzima. El actual rol de las IgA proteasas en la virulencia no está bien determinado, pero sugieren un papel importante en la colonización de las superficies mucosas por los patógenos que las producen.

8. Factores que promueven la propagación y que intervienen en los procesos de coagulación

Hialuronidasa

Es una enzima que hidroliza el ácido hialurónico que es un polisacárido que mantiene unidas las células del cuerpo, de esta forma se facilita la invasión. Es producida por algunas especies de *Clostridium* que causan gangrena gaseosa.

Colagenasa

Es una metaloproteasa enzima que degrada la proteína colágeno, la cual forma parte del tejido conectivo de los

músculos, órganos y tejidos del organismo proporcionándole resistencia. Cuando actúa esta enzima sobre el colágeno facilita la diseminación de algunos *Clostridium* y participa en el rápido avance de la gangrena gaseosa.

También está la colagenasa medicinal que se extrae del medio de cultivo de *Clostridium* y se utiliza para eliminar los restos celulares y extracelulares del tejido necrosado, contribuye en la formación de nuevo tejido y la reepitelización de las úlceras y escaras dérmicas.

Elastasas

Enzimas que tiene acción y degrada las fibras elásticas o elastina la cual es una proteína del tejido conjuntivo con funciones estructurales que, confiere elasticidad a los tejidos.

Fibrinolisin

Son enzimas que degradan el fibrinógeno y la fibrina, y en consecuencia digieren los coágulos formados por el organismo para aislar la infección.

9. Inhibición de la fagocitosis

Cápsula

Algunas bacterias producen material capsular que, cuando se asocia íntimamente a la superficie celular recibe el nombre de cápsula, se ubica por fuera de la membrana celular y si su adherencia es débil y de grosor variable, se conoce como limo. Generalmente es de naturaleza polisacárida a excepción de la del *Bacillus anthracis* que es peptídica. Su pérdida no se relaciona con la pérdida de viabilidad celular, pero sí con cambios de la morfología colonial y con la pérdida de la virulencia bacteriana. Con esta estructura la bacteria se protege de la fagocitosis que representa el principal mecanismo de defensa del hospedero frente a bacterias capsuladas. Una

respuesta efectiva cuando se presentan bacterias con cápsula es la producción de anticuerpos que se unan específicamente a la cápsula facilitando la opsonización y la fagocitosis.

Del estudio de la capacidad antigénica de las cápsulas bacterianas, ha surgido su uso para la producción de vacunas que inducen la producción de anticuerpos específicos. Las bacterias que producen cápsula forman en los medios sólidos colonias mucoides (M) o lisas (S), en cambio, las cepas que no la producen son rugosas (R). La pérdida de la capacidad de formar cápsula por mutación S a R se correlaciona con la pérdida de la virulencia y el aumento de la susceptibilidad a la destrucción por los fagocitos; aunque no afecta la viabilidad.

Muchas cepas bacterianas que producen cápsula con reaislamientos sucesivos *in vitro*, dejan de producirla, lo que indicaría que la presencia de la cápsula no ofrece ventaja selectiva, lo que denota que su producción está regulada genéticamente, de forma que las bacterias la presentan cuando es necesaria para la supervivencia dentro del huésped, los antígenos capsulares son muy útiles en la clasificación e identificación de diferentes bacterias y tiene propiedades de quimiotactismo lo que explica la capacidad del microorganismo de formar abscesos, también favorece la adherencia de la bacteria a los epitelios.

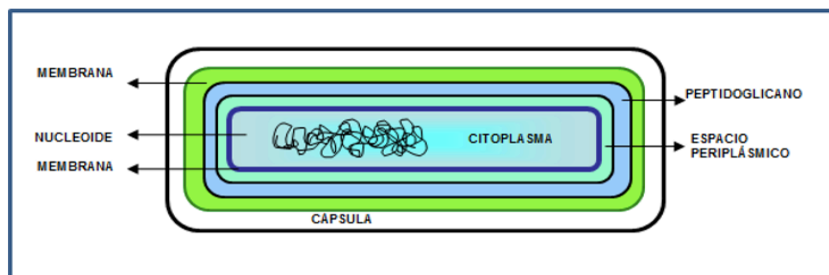


Figura 2.25. Estructura de la célula procariota. Fuente: Corrales, 2024

10. Interacción bacteriana

Sinergismo

Los microorganismos anaerobios pueden actuar como patógenos directos o sinérgicamente con la flora aerobia para dar lugar al proceso infeccioso. Las bacterias aerobias asociadas consumen oxígeno y producen gas contribuyendo a descender el potencial redox (Eh); preparando el medio para el desarrollo de los anaerobios. Un ejemplo es la producción de Vitamina K por las bacterias aerobias, la cual es requerida por algunos anaerobios para su desarrollo.

Otros factores que incrementan la acción virulenta de las bacterias anaerobias son: la lesión de mucosas, la caída del potencial de óxido-reducción y la presencia de hemoglobina o de sangre en el lugar infectado.

Tabla 2.7. *Resumen factores de virulencia*

FACTOR DE VIRULENCIA	MECANISMO
Capacidad de adherencia e invasión en las superficies epiteliales.	• Adhesinas
Producción de toxinas por las bacterias Gram negativas y Gram positivas.	• Endotoxinas • Exotoxinas
Producción de enzimas.	• Betalactamasas • Superóxido dismutasa • Peptidasas
Presencia de componentes superficiales	• Polisacáridos • Lipopolisacáridos
Bloqueadores de la respuesta inmune.	• Factores inmunosupresores • Proteínas fijadoras de complemento
Factores que promueven la coagulación y la propagación.	• Hialuronidasa • Colagenasas • Fibrinolisisina
Inhibición de la fagocitosis.	• Cápsula
Otros	• Lesión de mucosa • Caída del potencial Redox

Potencial de óxido – reducción

El potencial de óxido-reducción (Eh) se define como la medida en voltios de la disposición a donar o recibir electrones por parte de uno de los integrantes de una pareja redox, lo cual constituye un sistema de flujo de electrones. La pareja redox cuenta con una forma reducida que es la que posee los electrones y puede donarlos y una forma oxidada que es la que puede recibirlos. Es así como se observa que existe una relación directa entre la cantidad de formas oxidantes y el nivel del potencial redox: cuando la cantidad de formas oxidantes disminuye también disminuye el potencial redox, es por esto, que el oxígeno atmosférico o en solución debe ser eliminado del microclima en el que se encuentran las bacterias anaerobias.

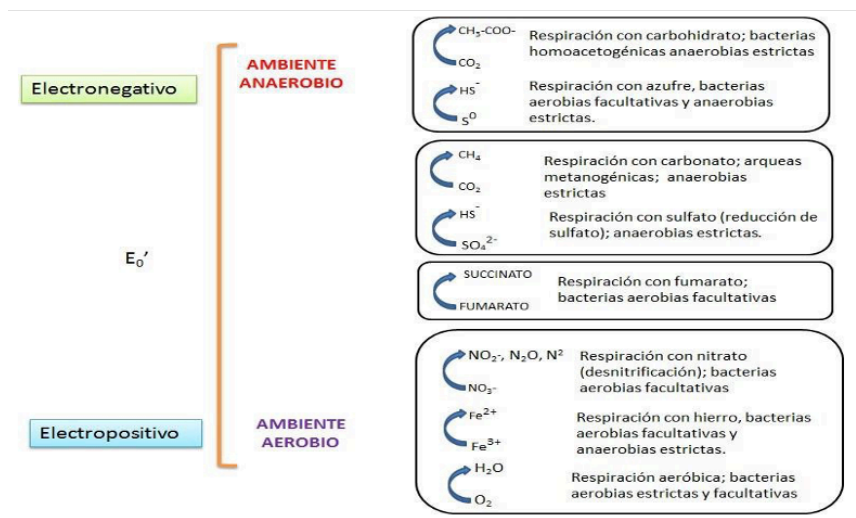


Figura 2.26. Aspectos del ambiente aerobio y anaerobio. Tomado de Brock, microbiología de los microorganismos. Prentice Hall, 14ª edición. España 2019

Si se quiere tener un medio con potencial de óxido-reducción adecuado para el desarrollo de bacterias anaerobias debe asegurarse de proveerle en el medio de cultivo sustancias reductoras

en mayor proporción que oxidantes para aumentar el potencial redox. Las bacterias anaerobias obligadas son incapaces de crecer a menos que el potencial sea tan bajo como $-0,2V$.

11. Elementos extracromosómicos

Elementos genéticos móviles o disponibles

Algunos de los mecanismos principales para el intercambio de información genética entre las bacterias son la transformación natural y los elementos genéticos móviles transmisibles como los plásmidos, transposones y bacteriófagos (fagos).

La transformación ocurre cuando el ácido desoxirribonucleico (DNA) de un microorganismo es liberado en el ambiente y tomado por otro microorganismo que lo puede reconocer y fijar a él. En otros casos, los genes que codifican muchos factores de virulencia bacteriana son transportados en los plásmidos, transposones o fagos. Los plásmidos son fragmentos extracromosómicos de DNA con potencial para multiplicarse. Los transposones son segmentos altamente móviles de DNA que se desplazan de una parte de este a otra. El resultado es la recombinación entre el DNA extracromosómico y el cromosómico (recombinación ilegítima o no homóloga). Cuando se produce esta recombinación, los genes que codifican factores de virulencia se tornan cromosómicos. Por último, los virus bacterianos o fagos son otro mecanismo por medio del cual se transporta DNA de un microorganismo a otro. La transferencia de estos elementos genéticos móviles entre miembros de una sola especie o, con menos frecuencia, entre diversas especies, tiene como resultado la transferencia de factores de virulencia, incluidos genes de resistencia antimicrobiana.

Islas de patogenicidad

Denominadas PAI, (pathogenicity islands) son grandes grupos de genes relacionados con patogenicidad, que se ubican en el cromosoma bacteriano. Son grandes grupos de genes organizados, por lo general de 10 a 200 kb. Las principales propiedades de los PAI son las siguientes: poseen uno o más genes de virulencia; aparecen en el genoma de patógenos de una especie, mas no en los miembros no patógenos; son grandes; tienen una relación guanina- citosina (G + C) distinta al resto de los genomas bacterianos; suelen estar vinculados con genes de tRNA; a menudo se les encuentra relacionados con elementos genéticos del movimiento; con frecuencia poseen inestabilidad genética; y por lo general representan estructuras de mosaico con componentes adquiridos en distintos momentos. En conjunto, las propiedades de los PAI sugieren que se originan a partir de la transferencia genética de una especie ajena.

Regulación de los factores de virulencia bacteriana

Las bacterias patógenas (y otros microorganismos patógenos) se han adaptado a una vida saprofita o libre, quizá a ciertos ambientes fuera del organismo y al hospedador humano. Han creados sistemas complejos de transducción de señales para regular los genes que son importantes para la virulencia. Con frecuencia una serie de señales ambientales regula la expresión de los genes de virulencia. Algunas de las señales más frecuentes son la temperatura, la disponibilidad de hierro, la osmolalidad, la fase del desarrollo, el pH y determinados iones como Ca^{2+} o nutrientes. Por ejemplo, en algunas bacterias facultativas como *Corynebacterium diphtheriae* el gen de la toxina diftérica es transportado en bacteriófagos lisogénicos y la toxina es producida solo por cepas lipogenizadas por los bacteriófagos y su producción aumenta cuando *C. diphtheriae* se cultiva en un medio con poco hierro.

La expresión de los genes de virulencia de *B. pertussis*, aumenta cuando la bacteria se cultiva a 37 °C y se suprime cuando se cultiva a una temperatura menor o en presencia de una concentración elevada de sulfato de magnesio o ácido nicotínico.

Evaluación y repaso

1. ¿Cuáles son las principales vías de entrada de las bacterias anaerobias patógenas a tejidos y órganos estériles?
2. Explique en qué consiste el ciclo infeccioso.
3. En un mapa conceptual explique cómo actúa el sistema inmune del hospedero frente a una infección.
4. Mencione cuáles son los elementos del sistema inmune.
5. Explique los pasos que incluye el proceso infeccioso.
6. ¿Cuáles son las características de la evasión bacteriana a la respuesta de la inmunidad innata del hospedero?
7. ¿Qué se entiende por factor de virulencia y cuáles son los de mayor importancia en las bacterias anaerobias?
8. Explique cuáles son los principales bloqueadores y adaptaciones de las bacterias para eludir la respuesta inmune.
9. ¿Qué se entiende por potencial de óxido reducción?
10. ¿Cuáles son los elementos extracromosómicos asociados a la patogenicidad bacteriana?

Lista de figuras

- Figura 2.1. Vías de entrada del patógeno. L Corrales.
- Figura 2.2. Ciclo infeccioso. L Corrales.
- Figura 2.3. Inmunidad innata y adaptativa. Tomado de: Elsevier. Abbas et al: cellular and Molecular Immunology 6e, modificado por L Corrales.
- Figura 2.4. Funciones del complemento. Tomado de: Elsevier. Abbas et al: cellular and Molecular Immunology 6e, modificado por L Corrales.
- Figura 2.5. Proceso de opsonización y fagocitosis. Tomado de: Elsevier. Abbas et al: cellular and Molecular Immunology 6e, modificado por L. Corrales.
- Figura 2.6. Respuesta inmune celular y humoral. Tomado de: Elsevier. Abbas et al: cellular and Molecular Immunology 6e, modificado por L Corrales.
- Figura 2.7. Funciones de los anticuerpos. Tomado de: Elsevier. Abbas et al: cellular and Molecular Immunology 6e, modificado por L. Corrales.
- Figura 2.8. Proceso infeccioso. L Corrales.
- Figura 2.9. Los fagocitos y sus receptores. L Corrales.
- Figura 2.10. Señalización de la respuesta inducida por bacterias. L Corrales.
- Figura 2.11. Inflamasomas, familia de proteínas de receptores de dominio similares para la oligomerización de unión de nucleótidos NLR, que participan en la regulación de la respuesta inmunitaria innata. Tomado de: Mecanismos moleculares de la patogenia bacteriana, Harrison. Principios de Medicina Interna, 19e. Modificado por L Corrales.

- Figura 2.12. Clasificación de los factores de virulencia bacterianos. L Corrales.
- Figura 2.13. Estructura de la pared celular en bacterias Gram negativas y Gram positivas. L Corrales.
- Figura 2.14. Mecanismo de adhesión de una bacteria a la célula por medio de adhesinas. L Corrales.
- Figura 2.15. Mecanismo de ingreso por reacomodación de la actina. L Corrales.
- Figura 2.16. Mecanismo de reconocimiento de antígenos. L Corrales.
- Figura 2.17. proceso de formación de una biopelícula. L Corrales.
- Figura 2.18. Lipopolisacárido KDO₂, con el Lípido A, el núcleo, fosfatos y el Polisacárido O. Tomado de: <https://es.wikipedia.org/wiki/Lipopolisac%C3%A1rido#/media/Archivo:Kdo2-lipidA.png>
- Figura 2.19. Endotoxina de una bacteria. D Antolinez.
- Figura 2.20. Secreción de exotoxina D. Antolinez.
- Figura 2.21. Acción de la enzima b-lactamasa sobre los antibióticos beta lactámicos. A. Corredor.
- Figura 2.22. Acción de las proteasas. A. Corredor.
- Figura 2.23. Flagelo en bacteria Gram negativa. L Corrales.
- Figura 2.24. Proceso de esporulación bacteriano. L Corrales.
- Figura 2.25. Estructura de la célula procariota. L. Corrales.

- Figura 2.26. Aspectos del ambiente aerobio y anaerobio. Tomado de Brock, microbiología de los microorganismos. Prentice Hall, 14^a edición. España 2019.

Lista de tablas

- Tabla 2.1. Efecto de las interleuquinas.
- Tabla 2.2. Efectos sistémicos de algunas interleuquinas.
- Tabla 2.3 Sustancia bactericidas naturales.
- Tabla 2.4. Características asociadas a las toxinas bacterianas.
- Tabla 2.5. Características generales de las Endo y Exotoxinas.
- Tabla 2.6. Clasificación de las β -lactamasas, según Bush-Jacob y Medeiros.
- Tabla 2.7. Resumen factores de virulencia.

Referencias bibliográficas

- A. Elmi, F. Nasher, H. Jagatia, O. Gundogdu, M. Bajaj-Elliott, B. Wren, et al. Campylobacter jejuni outer membrane vesicle-associated proteolytic activity promotes bacterial invasion by mediating cleavage of intestinal epithelial cell E-cadherin and occludin. *Cell Microbiol.* 2016; 18: 561-572
- A. Mondal, R. Tapader, N.S. Chatterjee, A. Ghosh, R. Sinha, H. Koley, et al. Cytotoxic and inflammatory responses induced by outer membrane vesicle-associated biologically active proteases from vibrio cholerae. *Infect Immun.* 2016; 84: 1478-1490
- A. Serapio-Palacios, F. Navarro-Garcia. EspC, an autotransporter protein secreted by Enteropathogenic Escherichiacoli causes apoptosis and necrosis through caspase and calpain activation, including direct procaspase-3 cleavage. *mBio.* 2016; 7: e00479-e516
- Akoh, C., Lee, C., Liaw, C., Huang, H., Shaw, F. Gdsl Family of serine esterase/lipase. *Prog. Lipid. Res.* 2004. 43: 534-552.
- Bakás, Laura; Maté, Sabina; Vazquez, Romina; Herlax, Vane-
sa Mecanismo de acción de la toxina alfa hemolisina de Escherichia coli *Acta Bioquímica Clínica Latinoamericana*, 2013; vol. 47, núm. 2: 353-361
- C.J. Scott, C.C. Taggart. Biologic protease inhibitors as novel therapeutic agents. *Biochimie.* 2010; 92: 1681-1688
- Cárdenas-Perea M. E., et al. Factores de virulencia bacteriana: la "inteligencia" de las bacterias. *Elementos.* 2014; 94, 35-43 Disponible en: <http://www.elementos.buap.mx/num94/pdf/35.pdf>
- Casaburi, A., Di Monaco, R., Cavella, S., Toldrá, F., Ercolini, D., Villani, F. Proteolytic and lipolytic starter cultures

and their effect on traditional fermented sausages ripening and sensory traits. Food. Microbiol. 2008. 112:223-229.

Díaz Rosalez. Patricia, Papel de las actividades superóxido dismutasa y catalasa en la virulencia de *Photobacterium damsela* subsp. piscicida. Estrategias para la estimulación del estallido respiratorio en fagocitos de lenguados cultivados. Dirigida por el Dr. Miguel Ángel Moriño Gutiérrez. Tesis doctoral Universidad de Málaga Departamento de Microbiología 2006.

F. Ruiz-Perez, J.P. Nataro. Bacterial serine proteases secreted by the autotransporter pathway: Classification, specificity and role in virulence. Cell Mol Life Sci CMLS, 2014; 71: 745-770

Garcia. F Recientes avances sobre los mecanismos de acción de exotoxinas bacterianas que actúan intracelularmente. Revista Costarricense de Ciencias Médicas 2009; 13(3) artículo 19: 85-95.

Gerard J. Tortora, Berdell R. Funke, Christine L. Case. Introducción a la microbiología. Ed. Médica Panamericana, 2007; 959 Madrid, España.

Harrison principios de medicina interna: principios moleculares de la patogenia bacteriana capítulo 145e . 20edición. 2018.

Gerardo García-González, Gloria María González, José P. Palma-Nicolás. Implication of bacterial serine proteases in the physiopathology of the infection. Rev Lab Clin. 2019; 12(3) :137---146

Gibbons RJ, Dankers I. Lectin-like constituents of foods with reat wick components of serum, saliva and *Streptococcus mutans*. Appl Environ Microbiol 1981; 41:880-888.

Goldner M, Mingot N, Emond J, and Dublanchet A, Influence of Different Levels of Redox Potential on Fermentative Products Formed by *Bacteroides fragilis*. Clin. Inf. Dis. 1997.

- H. Ingmer, L. Brøndsted. Proteases in bacterial pathogenesis. *Res Microbiol.* 2009; 160-: 704-710.
- Hensler T, Köller M, Alouf JE, König W. (1991) Bacterial toxins induce heat shock proteins in human neutrophils. *Biochemical and Biophysical Research Communications.* 1991; Volume 179, Issue 2: 872–879.
- Heriberto Vázquez Flores, Daniel Asz Sigall. Hialuronidasa: aplicaciones dermatológicas. *Dermatología. CMQ.*2011;9(4):292-294
- Hoon, K.C., Lee, J.H., Kim, S.W., Kang, J.W. Lipase-catalysed esterification of (S)- Naproxen ethyl ester insupercritical carbon dioxide. *J. Microbiol. Biotechnol.* 200919:1596-1602.
- Hurtado, Stefany Romero; Iregui, Carlos Arturo (enero-junio de 2010). «El Lipopolisacárido». *Rev. Med.Vet.* (Bogotá, Colombia: Scielo) (19): 37-45.
- Jäger A, Kuchroo V. Effector and regulatory T cell subsets in autoimmunity and tissue inflammation. *Scand J Immunol.*2010- 72 (3): 173 – 184.
- Jawetz, Melnick & Adelberg. *Microbiología Médica.* 27a Edición. Editorial Mac Graw Hill. México 2016.
- L. Hedstrom. Serine protease mechanism and specificity. *Chem Rev,* 2002. 102: 4501-4524
- Lindhe J, Karring T, Lang N. P. *Periodontología clínica e implantología odontológica.* Ed. Panamericana. 2008: 294
- López-Pueyo MJ, Barcenilla-Gaite F, Amaya-Villar R, Garnacho-Montero J. Multirresistencia antibiótica en unidades de críticos. *Med Intensiva.* 2011;35(1):41-53.
- Lucía Constanza Corrales Ramírez. Zuly Yurieth Arévalo Gálvez. Vanessa Estefanía Moreno Burbano. Solubilización de fosfatos: una función microbiana importante en el desarrollo vegetal. *NOVA - Publicación Científica en Ciencias Biomédicas – 2014.* Vol. 12 No. 21

- Luis Bernal Solano Alpízar. Epidemiología de bacterias anaerobias aisladas en muestras clínicas en el Hospital San Juan de Dios, San José, Costa Rica, durante el trienio 2014, 2015 Y 2016. *Rev. Costarricense de Salud Pública*, 2018, vol. 27(2): 82-92.
- M.J. Page, E.D. Cera. Serine peptidases: Classification, structure and function. *Cell Mol Life Sci*, 65. 2008, 1220-1236
- M.S. Lantz. Are bacterial proteases important virulence factors? *J Periodontal Res*, 32 (1997), 126-132 Madigan MT, Martinko JM, Parker J. Microbiología de los microorganismos. 13^a ed. Benjamín Cummings; 2010
- Madigan, M.T., Martinko J. M., Parker, J. Brock Biología de los microorganismos. Prentice Hall, 14^a edición. España 2019.
- Morejón García Moisés. Betalactamasas de espectro extendido. *Rev cubana med.* 2013; 52 (4): 272-280. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-75232013000400006&lng=es.
- Morris EW, Fernandez-Mitakawa EM. "Toxinas de *Clostridium perfringens*". *Rev Argentina Microbiol.* 2009; 41:251-260.
- Müller-Esterl W. Bioquímica. Fundamentos para Medicina y Ciencias de la Vida. Ed. Reverté. 2008, 168- 169
- Navarro-González, M.J. Periago. Propiedades De Enzimas Lipolíticas Bacterianas y Aplicaciones. *An. Vet.* 2012. 28:45-65.
- Ostria Hernández, Martha Lorena, Hernández Cortez, Cecilia, Castro Escarpulli, Graciela.
- ¿Por qué estudiar a las bacterias anaerobias obligadas? *Enf inf microbiol* 2014 34 (3): 105-114.
- Patrick R. Murray; Ken S. Rosenthal; Michael A. Pfaller. «Capítulo 3: Metabolismo y genética de las bacterias».

- EnPatrick R. Murray, ed. Microbiología Médica (6a edición). España: Elsevier-Mosby: 23-38.
- Pier GB. Mecanismos moleculares de la patogenia bacteriana. In: Kasper D, Fauci A, Hauser S, Longo D, Jameson J, Loscalzo J. eds. Harrison. Principios de Medicina Interna, 19e. McGraw- Hill.
- Prescott LM, Harley JP, Klein DA. Microbiología. 4ª ed. Madrid: McGraw-Hill-Interamericana; 1999. Quesada-Gómez C. Daño y respuesta al estrés oxidativo en bacterias del género *Bacteroides*: resistencia a los antimicrobianos y mecanismos de virulencia. Rev Biomed. 2008;19(3): 162-168.
- Rao, L., Xue, Y., Zhou, C., Tao, S., LI, G.; LU, J.R., MA, Y. A thermostable esterase from *Thermoanaerobacter tengcongensis* opening up a new family of bacterial lipolytic. Biochim. Biophys. Acta. 1814. 2011: 1695-1702.
- Rawlings ND, Barrett AJ, Thomas PD, Huang X, Bateman A, Finn RD. The MEROPS database of proteolytic enzymes, their substrates and inhibitors in 2017 and a comparison with peptidases in the PANTHER database. Nucleic Acids Res. 2018;46: 624-632.
- Rojas Campos, Norman (septiembre de 1995). «El lipopolisacárido bacteriano: una potente endotoxina con múltiples actividades biológicas, recientes avances en estructura, genética y bioquímica». Rev. costarric. cienc. méd. 1995; 16 (3): 71-84.
- Rojas. C.N El lipopolisacárido bacteriano: una potente endotoxina con múltiples actividades biológicas. Recientes avances en estructura, genética y bioquímica. Revista Costarricense de Ciencias Médicas. Volumen 16. No3 13, 2009 Artículo 18: 71-84.
- Romero Cabello Raúl. Microbiología y parasitología humana. Bases etiológicas de las enfermedades infecciosas

- y parasitarias. 3º Edición Editorial Médica Panamericana 2007.
- S. Wessler, G. Schneider, S. Backert. Bacterial serine protease HtrA as a promising new target for antimicrobial therapy?. *Cell Commun Signal*. 2017; 15: 4
- Schonfeld SE. Oral microbial ecology. En: Slots J, Taubman MA (eds). *Contemporary oral microbiology and immunity*. San Luis: Mosby Year Book, 1992: 264-267.
- V.L.-L. Moal, Y. Comenge, V. Ruby, R. Amsellem, V. Nicolas, A.L. Servin. Secreted autotransporter toxin (Sat) triggers autophagy in epithelial cells that relies on cell detachment. *Cell Microbiol*. 2011; 13: 992-1013
- V.S. Ossovskaya, N.W. Bunnett. Protease-activated receptors: Contribution to physiology and disease. *Physiol-Rev*. 2004; 84: 579-621
- Varela, G. (2011). *Fisiología Y Metabolismo Bacteriano*. Obtenido de <http://www.higiene.edu.uy/cefa/Libro2002/Cap%2011.pdf>.
- Yamamoto K. Studies on periodontal pathogenic proteinases from *Porphyromonas gingivalis* and host cells. *Nippon Yakurigaku Zasshi* 1995; 105: 345-355.

Capítulo III

Procesos infecciosos con los que se asocian las bacterias anaerobias

Resumen

La mayoría de las bacterias anaerobias que causan infecciones en humanos son parte de la flora normal de piel y mucosas, superando en cantidad a las bacterias facultativas en el intestino, se encuentran en una proporción de 1000:1, mientras que en piel, boca, vías aéreas superiores y tracto genital inferior femenino la relación anaerobios-facultativos es de 5-10:1

Las infecciones anaerobias típicas son de tipo supurativo y causan abscesos con tejido necrótico, y a veces tromboflebitis séptica, formación de gas o ambas. Muchas anaerobias producen enzimas que destruyen los tejidos, además de que son responsables de producir algunas toxinas que tienen efecto sobre el sistema nervioso periférico y central.

Por lo general, las infecciones anaerobias son mixtas ya que también en éstas, se encuentran también bacterias aerobias y facultativas, en simbiosis.

Las claves para diagnosticar una infección anaerobia son las siguientes:

- Resultados polimicrobianos en la tinción de Gram o el cultivo
- Gas en pus o tejidos infectados
- Pus o tejidos infectados con olor desagradable
- Tejidos necróticos infectados
- Infección cerca de una mucosa donde en condiciones normales reside microflora anaerobia

Para el estudio de las bacterias anaerobias se agrupan de acuerdo con sus características morfológicas como forma y afinidad por el Gram, de tal forma que los géneros que con mayor frecuencia se asocian con infección son:

- *Bacteroides* (más frecuente): infecciones intraabdominales
- *Fusobacterium*: abscesos, infecciones de heridas e infecciones pulmonares e intracraneales
- *Porphyromonas*: neumonía aspirativa y periodontitis
- *Prevotella*: infecciones intraabdominales y de los tejidos blandos Gram positivas
- *Actinomyces*: infecciones de la cabeza, el cuello, el abdomen y la pelvis y neumonía por aspiración (actinomicosis)
- *Clostridios*: infecciones intraabdominales, como enteritis necrotizante, infecciones de tejidos blandos y gangrena gaseosa, debida a *C. perfringens*; intoxicación alimentaria, debida a *Clostridium perfringens* tipo A; botulismo debidos a *C. botulinum*; tétanos a *C. tetani*; y diarrea inducida por *clostridioides* como el *C. difficile* (*Colitis pseudomembranosa*)
- *Peptostreptococcus*: infecciones bucales, respiratorias e intraabdominales
- *Propionibacterium*: infecciones por cuerpos extraños (como por ejemplo en una derivación de líquido cefalorraquídeo, una prótesis articular o un dispositivo cardíaco).

En este capítulo se describen las características generales y los factores de patogenicidad y virulencia de los principales géneros bacterianos anaerobios de importancia clínica.

Introducción

La infección bacteriana comprende varias fases, la patogenia inicia con el proceso infeccioso y los mecanismos que provocan la aparición de los signos y síntomas de la enfermedad. Algunas de las características de las bacterias patógenas son la transmisibilidad, adhesión a las células hospederas, invasión, persistencia, toxigenicidad y capacidad para evadir la respuesta inmune del hospedero y a los agentes bactericidas. Algunas infecciones producidas por bacterias pueden pasar desapercibidas y se manifiestan cuando la bacteria o la respuesta inmune del hospedero, desencadenan una respuesta que causa daño al tejido u órganos.

Los seres humanos y los animales poseen una microbiota normal abundante en piel y mucosas que no suele generar enfermedades y, por el contrario, logra un equilibrio que garantiza la supervivencia, el crecimiento y la propagación tanto de las bacterias como de beneficios para el hospedador. Algunas veces existen bacterias que son claramente patógenas, pero la infección permanece latente o subclínica y el hospedador se convierte en un portador de la bacteria. Otras veces es difícil demostrar cuál es la especie bacteriana específica que constituye la causa de la infección.

En 1884, Robert Koch formuló unos postulados que se han aplicado de manera extensa en diferentes procesos con el fin de vincular una serie de especies de bacterias con las enfermedades infecciosas. Estos postulados continúan siendo un pilar en el estudio de la microbiología infecciosa; sin embargo, desde finales del siglo XIX, se ha demostrado que muchos microorganismos que no satisfacen los criterios de estos postulados, también causan enfermedades.

Al indagar sobre determinado microorganismo como posible causa de una enfermedad infecciosa, es importante tomar en consideración la respuesta inmunitaria del hospedador dado que, la elevación de un anticuerpo específico durante la recuperación de la enfermedad, constituye un complemento importante de los postulados de Koch.

La genética microbiana moderna ha abierto nuevas fronteras para estudiar a las bacterias patógenas y distinguirlas de las no patógenas. En efecto, la clonación molecular ha permitido aislar y modificar genes específicos de virulencia y estudiarlos con modelos de infección. Gracias al estudio de los genes vinculados con la virulencia se han propuesto los postulados moleculares de Koch.

A continuación, en las siguientes figuras se describen los postulados para establecer las causas de las infecciones.

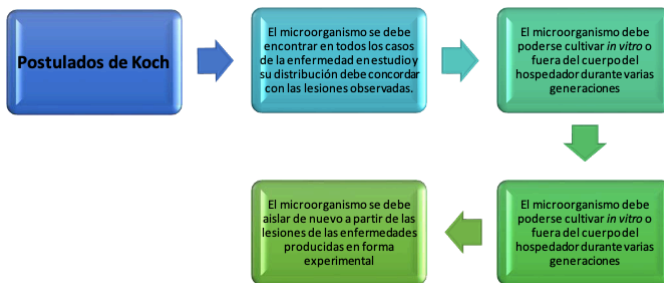


Figura 3.1. Postulados microbiológicos de Koch. Tomado de *Microbiología médica*, Jawetz et al, 27ava edición. Modificado por: Corrales, 2024

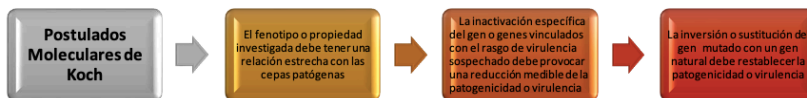


Figura 3.2. Postulados moleculares. Tomado de *Microbiología médica*, Jawetz et al, 27ava edición. Modificado por: Corrales, 2024

En el organismo la mayor parte de las bacterias que se

Le *moyen* de les bactéries *exacerbées* que *causent* infec

mucosas, superando en cantidad a las bacterias facultativas. En el intestino, se encuentran en una proporción de 1000:1, mientras que en piel, boca, vías aéreas superiores y tracto genital inferior femenino la relación anaerobios-facultativos es de 5-10:1. A continuación en el gráfico se resaltan las principales infecciones que se presentan en piel y heridas que pueden llegar a consolidarse como infecciones sistémicas.

Las infecciones anaerobias típicas son de tipo supurativo, causan abscesos con tejido necrótico y a veces tromboflebitis séptica, formación de gas o ambas. Muchas anaerobias producen enzimas que destruyen los tejidos, además son responsables de algunas toxinas que tienen efecto sobre el sistema nervioso periférico y central.

Las bacterias anaerobias pueden infectar huéspedes normales e individuos con inmunodeficiencia o tejidos lesionados. Las infecciones anaerobias mixtas pueden incluir ambas especies anaerobias individuales o múltiples especies anaerobias con cualquier número de cepas no anaerobias. Los síntomas dependen del sitio de la infección. El diagnóstico es clínico y se combina con tinción de Gram y cultivos para anaerobios. El tratamiento se realiza con antibióticos y drenaje quirúrgico con desbridamiento.

Infecciones causadas por bacterias anaerobias

La microbiología es una ciencia en continuo cambio. A medida que se hacen nuevas investigaciones y que la experiencia clínica y las herramientas diagnósticas se amplían, se reconocen y clasifican nuevos microorganismos asociados a infecciones de carácter endógeno o exógeno, tanto en humanos como en animales. A pesar de estar en continua batalla frente a ellos, se ve que los antibióticos funcionan bien por un tiempo determinado, por lo cual, cuanto más se conozca sobre las bacterias, mejores serán los nuevos sistemas de defensa y control frente a ellas.

Como ya se mencionó las bacterias anaerobias forman parte del microbioma normal en ciertas áreas de nuestro organismo no expuestas al aire del medio ambiente o que coexisten con bacterias aerobias y anaerobias facultativas que consumen el oxígeno del microambiente. Las formas clínicas dependen del sitio en que se produzca la infección, por lo cual se habla de diferentes formas clínicas como las infecciones intraabdominales, infecciones del aparato genital femenino, infecciones de la cavidad oral, del tracto respiratorio superior, infecciones del sistema nervioso central, infecciones pleuropulmonares, infecciones de piel y tejidos blandos, bacteriemias y endocarditis, entre otras.

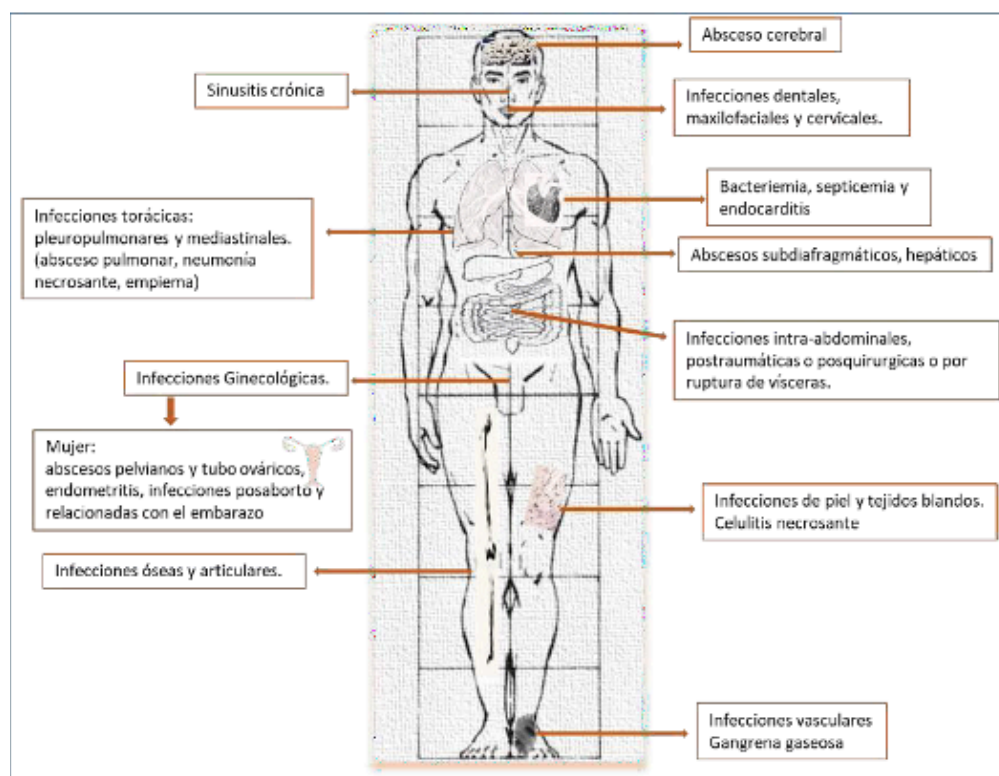


Figura 3.4. Localización en el cuerpo humano de los principales procesos patógenos causados por bacterias anaerobias. Fuente: Corrales, 2024

Generalmente las infecciones ocurren por una lesión ocasionada en algún tejido que evita una correcta irrigación sanguínea y, a su vez, el paso de oxígeno por los diferentes tejidos, lo cual crea todas las condiciones propicias para el crecimiento oportunista de los anaerobios obligados.

Por lo general, las infecciones bacterianas anaerobias son mixtas ya que generalmente también se encuentran bacterias aerobias y facultativas, en simbiosis.

Los principales cocos anaerobios Gram positivos implicados en las infecciones anaerobias mixtas son *Peptococcus* y *Peptostreptococcus*. Estos cocos anaerobios forman parte de la flora normal de la boca, el tracto respiratorio superior y el intestino grueso.

Los principales bacilos anaerobios gramnegativos involucrados en las infecciones anaerobias mixtas incluyen: *Bacteroides fragilis*, *Prevotella melaninogenica* y especies de *Fusobacterium*.

El grupo de *B. fragilis* forma parte de la flora intestinal normal e incluye los microorganismos patógenos anaerobios que se aíslan con mayor frecuencia en las infecciones intraabdominales y pélvicas. Los microorganismos que forman parte del grupo *Prevotella* y las especies de *Fusobacterium* constituyen la flora normal de la boca, la vagina y el intestino grueso.

En el caso de los *clostridios*, éstos pueden provocar un shock séptico, pero la mayoría de las demás infecciones anaerobias no lo producen.

Las claves para diagnosticar una infección anaerobia son las siguientes:

- Resultados polimicrobianos en la tinción de Gram o el cultivo
- Gas en pus o tejidos infectados

- Pus o tejidos infectados con olor desagradable
- Tejidos necróticos infectados
- Infección cerca de una mucosa donde en condiciones normales reside microflora anaerobia.

Para el estudio de las bacterias anaerobias se agrupan de acuerdo con sus características morfológicas como forma y afinidad por el Gram, de tal forma que dentro de los géneros que con mayor frecuencia se asocian con infección son:

Bacterias anaerobias Gram negativas

- *Bacteroides* (más frecuente): infecciones intraabdominales
- *Fusobacterium*: abscesos, infecciones de heridas e infecciones pulmonares e intracraneales
- *Porphyromonas*: neumonía aspirativa y periodontitis
- *Prevotella*: infecciones intraabdominales y de los tejidos blandos

Bacterias anaerobias Gram positivas

- *Actinomyces*: infecciones de la cabeza, el cuello, el abdomen y la pelvis y neumonía por aspiración
- *Clostridium*: infecciones intraabdominales, como enteritis necrotizante, infecciones de tejidos blandos y gangrena gaseosa, debida a *C. perfringens*; intoxicación alimentaria, debida a *Clostridium perfringens* tipo A; botulismo debidos a *C. botulinum*; tétanos a *C. tetani*; y diarrea inducida por *clostridioides* antes *Clostridium difficile* que causa colitis pseudomembranosa.
- *Peptostreptococcus*: infecciones bucales, respiratorias e intraabdominales

- *Propionibacterium*: infecciones por cuerpos extraños como por ejemplo en una derivación de líquido cefalorraquídeo, una prótesis articular o un dispositivo cardíaco)
- *Cutibacterium*: infecciones en piel y acné comedónico.

Dentro de los signos y síntomas generales los pacientes suelen presentar fiebre, rigidez y enfermedad crítica; en general, no desarrollan shock. En la sepsis puede desarrollarse coagulación intravascular diseminada. Las bacterias anaerobias son infrecuentes en las infecciones urinarias, la artritis séptica y la endocarditis infecciosa.

A continuación, se abordan algunas especies de los géneros bacterianos anaerobios de importancia clínica en la salud humana.

Grupo I: cocos Gram positivos anaerobios

Clasificación taxonómica de los cocos Gram positivos anaerobios

Tabla 3.1. Clasificación taxonómica de los cocos Gram positivos anaerobios

Phylum	Clase	Orden	Familia	Género	Especie
XIII Firmicutes	I. <i>Bacilli</i>	I. <i>Bacillales</i>	VIII. <i>Staphylococcaceae</i>	I. <i>Staphylococcus</i>	<i>saccharolyticus</i>
			VI. <i>Peptococcaceae</i>	I. <i>Peptococcus</i>	<i>niger</i>
	II. <i>Clostridia</i>	I. <i>Clostridiales</i>	VII. <i>Peptostreptococaceae</i>	I. <i>Peptostreptococcus</i>	anaerobus canis stomatis
			VIII. <i>Ruminococcaceae</i>	I. <i>Ruminococcus</i>	callidus champanellensis faecis gauvreauii gnavus torques
			XI. <i>Incertae Sedis</i>	I. <i>Anaerococcus</i>	hydrogenalis lactoliticus murdochii octavius prevotii tetradius vaginalis
				II. <i>Finegoldia</i>	<i>magna</i>
				III. <i>Gallicola</i>	<i>bamesae</i>
				V. <i>Parvimonas</i>	<i>micra</i>
				VI. <i>Peptoniphilus</i>	coxii duerdenii gorbachii harei indolicus ivorii koenoeneniae lacrimalis olsenii tyrreliae asaccharolyticus catoniae lacydonensis methioninivorax senegalensis stercorisuis timonensis urinimassiliensis
				Blautia*	coccoides faecalis hansenii hydrogenotróphica luti producta schinkii stercoris wexlerae
				<i>Murdochiella</i> *	<i>asaccharolytica</i>

* Sin dato asignado al género. La información fue tomada de J.E. García-Sánchez, M. José Fresnadillo, E. García- Sánchez, Patrick R Murray, Struthers, Keith.

Los cocos Gram positivos anaerobios (CGPA) <, presentan algunos cambios en su taxonomía, y de ellos se han definido nuevos géneros y especies los últimos años. Se caracterizan porque el contenido de G+C que presentan esta entre 27 y 37 mol %, con la excepción de *Blautia producta* que tiene un porcentaje de 44 a 45 mol %.

Mediante secuenciación del ARNr 16S, se logró confirmar la diversidad de este grupo bacteriano, por ello, además de *Peptococcus* sp. y *Peptostreptococcus* spp., se vincularon los géneros: *Anaerococcus*, *Blautia*, *Finegoldia*, *Gallicola*, *Murdochiella*, *Parvimonas*, *Peptoniphilus* y *Ruminococcus*. Estos últimos son el resultado de la reclasificación y transferencia de especies que estaban clasificadas dentro del género *Peptostreptococcus*; así como nuevas especies producto de aislamientos.

Los cocos Gram positivos anaerobios están distribuidos en la piel y las mucosas de la boca, tracto respiratorio superior, tracto gastrointestinal y genitourinario femenino. Las especies que se aíslan con mayor frecuencia de la piel son *Finegoldia magna* y *Peptostreptococcus asaccharolyticus*. Estos cocos en la mucosa oral forman parte del microbioma normal y participan en un porcentaje entre el 1 y 15%, encontrando como especie predominante a *Parvimonas micra*, seguida de *Peptostreptococcus anaerobius* y *Finegoldia magna*. Las demás bacterias de este grupo se encuentran en menor proporción. También se encuentra una variedad significativa de especies de cocos Gram positivos anaerobios en el tracto gastrointestinal, entre las cuales están: *Peptostreptococcus* spp., *Blautia producta*, *Finegoldia magna*, *Anaerococcus prevotii* y *Ruminococcus* spp.

Género *Finegoldia*

Clasificación científica

Dominio: Bacteria

Filo: *Firmicutes*

Clase: *Clostridia*

Orden: *Clostridiales*

Familia: *Peptoniphilaceae*

Género: *Finegoldia*

Es un género de bacterias Gram positivas, con morfología de cocos, pertenecen a la clase *Clostridia*. Se considera patógeno oportunista para el humano que regularmente coloniza la piel y las membranas mucosas y que a menudo se encuentra asociado a biopelículas en las úlceras crónicas como en el pie diabético o en las úlceras de decúbito.

Finegoldia magna, de acuerdo con estudios realizados, se ha encontrado en la mucosa vaginal de niñas prepúberes y de mujeres en estado de embarazo y en el 50% de mujeres sanas, al igual que en pacientes con vaginosis bacteriana. Este coco Gram positivo anaerobio es el que con más frecuencia se aísla a partir de materiales clínicos.

F. magna, presenta cápsula la cual se considera un factor de virulencia importante para la formación de abscesos. También presenta cuatro proteínas que hacen parte de los factores de virulencia que son: L, PAB (peptostreptococcal albumin binding), SufA (subtilasa) y FAF (*F. magna* adhesión factor).

La proteína L, posee la capacidad de adherirse de manera exclusiva y con alta especificidad a las inmunoglobulinas (Ig) humanas IgM, IgA e IgG, mediante el dominio variable de la cadena liviana; su acción es estimular la liberación de histamina, cuando interactúa con la IgE de la superficie localizada en los mastocitos y basófilos de los pulmones y de la piel. También provoca la liberación de moléculas proinflamatorias como leucotrienos C4 y prostaglandina D2. Otras implicaciones biológicas de esta proteína se refieren a la posibilidad de adherirse a la mucosa vaginal mediante su unión a la IgA de la mucosa y el estímulo para la liberación de IL4 e IL13, razón por la cual fue clasificada como un superantígeno.

Algunas cepas de *F. magna*, poseen una proteína de superficie capaz de acoplar con alta especificidad seroalbúmina humana. La producción de PAB por esta bacteria se ha asociado a la producción de infecciones supurativas. La seroalbúmina humana el mayor transportador de ácidos grasos de cadenas cortas, triptófano, tiroxina, iones de calcio, entonces al unirse a PAB favorece la disponibilidad de estas sustancias para la bacteria, lo que influye positivamente en el desarrollo. En la mayoría de las mucosas, los tejidos y secreciones inflamatorias se encuentra la seroalbúmina humana en forma extravascular, entonces la presencia de PAB le ofrece a *F. magna* una ventaja selectiva para su desarrollo, una vez se haya establecido la infección.

SufA fue descrita por primera vez en el género *Bacillus*. Corresponde a una serin-proteasa que cumple variedad de funciones. Tiene la capacidad de degradar péptidos antibacterianos humanos como LL-37 (catelisinidina) y MIG/CXCL9 (quimioquina), los que tienen como función afectar la integridad de la membrana bacteriana, acción que le permite permanecer viable y proliferar a *F. magna* durante la infección. *SufA* también interactúa con el sistema de coagulación del hospedero, mediante la degradación del fibrinógeno, de tal forma que se trastorna la polimerización y la formación y estabilidad del coagulo, lo que conlleva a que se demore la cicatrización del tejido afectado en el proceso infeccioso. También ocurre que la hidrólisis del fibrinógeno evita que las células de *F. magna* que se han adherido a queratinocitos sean atrapadas en la red de fibrina, facilitando el desarrollo de la infección.

La proteína FAF ayuda a la agregación bacteriana cuando interactúa con moléculas análogas de células cercanas de *F. magna*; está adherida a la superficie celular, aunque también se puede encontrar libre en el medio por acción de *SufA*. En esta proteína se hallaron dos ligandos para: BM-40 y LL-37. BM-40 corresponde a una glucoproteína unida a la membrana basal de la piel y que cumple con la función de aumentar

el transporte de albúmina a través del epitelio y promover la cicatrización. La interacción de BM-40 con el FAF soluble y la estructura de *F. magna* afecta la cicatrización de heridas crónicas. De otro lado, esta unión en conjunto con la acción de PAB, incrementa la disponibilidad de albúmina y promueve el desarrollo de *F. magna*.

Así las bacterias que poseen FAF presentan mayor resistencia a la acción antimicrobiana de LL-37 y tienen una acción neutralizante sobre otras proteínas bactericidas como MK, BRAK/CXCL14 y hBD-3. De esta manera FAF tiene efecto directo sobre la interacción entre la bacteria y el huésped, favoreciendo el desarrollo de *F. magna* a nivel de la piel.

Cobo F, et al, expresan que *Finegoldia magna* está involucrada en una amplia variedad de infecciones, entre ellas como caso inusual un absceso mamario en una paciente no puerperal de 46 años que consulta por dolor y lesión nodular en mama izquierda. El cultivo del drenaje del absceso dio como resultado el aislamiento de *F. magna*. El tratamiento inicial con clindamicina se cambió a un tratamiento definitivo con amoxicilina-clavulánico durante 10 días debido a la resistencia a la clindamicina, y se documentó una mejoría de esta infección.

Alsubaie S, et al, refieren que los abscesos espinales intramedulares son lesiones raras y potencialmente devastadoras, esta infección es causada principalmente por estafilococos. Los anaerobios son raros y a menudo polimicrobianos. Sin embargo, presentan un caso de absceso intramedular de la médula espinal en un lactante de 7 meses con infección monomicrobiana por *Finegoldia magna*. Se encontró que tenía un seno dérmico torácico congénito perdido. El paciente fue tratado con metronidazol y ceftriaxona durante 8 semanas y se documentó mejoría de la infección. A medida que los métodos de detección continúan mejorando para *Finegoldia magna*, es importante aumentar la conciencia sobre el papel patógeno de este organismo.

Igualmente, Alsubaie S, et al, realizan una revisión sobre el arsenal de virulencia de *Finegoldia magna*, ya mencionados anteriormente, según datos publicados de 2012 a 2016. Los factores de virulencia como los pili dependientes de sortasa y el factor de adhesión de *F. magna* (FAF) facilitan el inicio de la infección. La proteína de unión a albúmina (PAB) mejora la supervivencia de *F. magna*. El FAF, la serina proteasa extracelular similar a la subtilisina (SufA) y la proteína superantígeno L, protegen a las bacterias de los factores del sistema de defensa innato. SufA, cápsulas y enzimas destructoras de tejidos proporcionan una profunda penetración o propagación de las infecciones y la proteína L está asociada con la gravedad de la infección. La producción de biopelículas da como resultado la cronicación de la infección y el tratamiento complicado, así como la persistencia de biopelículas de múltiples especies. Las tasas de resistencia a quinolonas (13,0-> 70%) y clindamicina (0-40,0%) son importantes, y se ha informado resistencia a penicilinas (<4%), cloranfenicol (7,0%) y metronidazol (<7%). *F. magna* no debe pasarse por alto cuando está presente en mono infecciones o infecciones mixtas en humanos.

Género *Parvimonas*

Clasificación científica

Dominio: Bacteria

Phylum: *Firmicutes*

Clase: *Tissierellia*

Orden: *Tissierelliales*

Familia: *Peptoniphilaceae*

Género: *Parvimonas*

Es un género que agrupa cocos Gram positivos anaerobios, creado para reclasificar a *Micromonas*, nombre que ya correspondía a un grupo de algas. *Micromonas micros*, antiguo

Peptostreptococcus micros, se denomina actualmente *Parvimonas micra*.

Parvimonas micra, este coco Gram positivo anaerobio estricto, anteriormente denominado *Peptostreptococcus micros*. Se encuentra como comensal habitual de la orofaringe y se ha asociado a infecciones polimicrobianas (abscesos intracraniales, infecciones de senos paranasales, periodontitis y embolismos sépticos), usualmente se encuentra en las hendiduras gingivales, en el tracto gastrointestinal y genitourinario.

P. micra se relacionan con la formación de abscesos y, en este caso, los factores de virulencia incluyen además de la asociación sinérgica con bacterias facultativas y otras anaerobias, la formación de cápsula, la síntesis de sulfuro de hidrógeno, a partir de glutatión, la producción de hemolisinas y las fimbrias, que favorecen la agregación entre bacterias, así como adherirse a receptores celulares.

De esta bacteria se han diferenciado en los cultivos la presencia de dos morfotipos en sus colonias, uno liso y otro rugoso, que están relacionados con las fimbrias. Otro aspecto de la virulencia de *P. micra* es la actividad proteolítica que tiene por la acción de las enzimas gelatinasa, elastasa y colagenasa. Igualmente sintetiza una proteasa clasificada como quimiotripsina la cual puede presentarse de dos formas: unida a la célula bacteriana o libre en el medio. En conjunto con la gelatinasa, ésta enzima ayuda a la penetración tisular del morfotipo rugoso. También se ha descrito la participación de *P. micra* en la activación de la respuesta inflamatoria, y mediante la estimulación a macrófagos y fibroblastos gingivales, para producir FNT- α e IL-1 β

Aunque actualmente se sabe que puede causar infecciones oportunistas: abscesos cerebrales y epidurales, bacteriemia, endocarditis, neumonía necrosante y aborto séptico, entre otros; se han descrito varios casos de discitis y osteomielitis en asociación con procedimientos dentales y enfermedad periodontal a menudo con una presentación subaguda. Sin

embargo, los casos de artritis séptica articular nativa son limitados.

En absceso perirrenal la vía principal de infección es la ascendente, por ello se asocia a complicaciones tardías de una infección urinaria, especialmente a urolitiasis. En este tipo de infección los síntomas pueden ser sugestivos de pielonefritis aguda con síndrome febril y dolor unilateral en flanco que no mejoran con el tratamiento de la pielonefritis aguda. Puede asociarse piuria y proteinuria, pero el análisis de orina es normal hasta en un 30% a 40% de los casos con urocultivos negativos. En la endocarditis, por el contrario, puede ser descendente desde la mucosa oral por vía sanguínea.

Ko JH, et al, reportan que este microorganismo se encontró en un paciente de 61 años con hepatitis B crónica y dislipidemia, con síntomas como fiebre y dolor de cabeza intenso. Se le diagnosticó meningitis bacteriana después de realizar punción lumbar y hemocultivo, los cuales revelaron bacteriemia por *Parvimonas micra*. Como antecedentes se reportó extracción de un molar dos semanas antes del inicio de los síntomas, sin evidencia de formación de abscesos en la exploración física ni en los estudios de imagen; lo que indica que este organismo es capaz de ser un patógeno de meningitis bacteriana.

Las infecciones por *Parvimonas micra* que causan compresión de la médula espinal son extremadamente raras, al respecto Shtaya A. et al, reportan una fístula pleural esofágica oculta que se presenta con abscesos epidurales espinales y cerebrales que resultan en déficits neurológicos graves causados por este microorganismo; en este caso la detección molecular resultó ser fundamental para identificar el patógeno causante. El manejo esencial con descompresión, drenaje, antibióticos y reparación de la fístula condujo a un buen resultado en la recuperación del paciente.

Cobo F. et al, reportan 31 pacientes, de los cuales 18 eran hombres; la edad media en el momento del diagnóstico fue de $65,1 \pm 13,0$ años. El sitio de infección fue la columna

vertebral en 14 pacientes y articulaciones y válvulas cardíacas en 5 de cada uno; como síntomas mencionan que el dolor estuvo presente en todos los pacientes con localización articular y en casi todos los pacientes con afectación vertebral. El diagnóstico se obtuvo por aspiración o drenaje de líquidos en 13 casos y hemocultivos en 11. En 8 casos también se aplicaron técnicas moleculares. El resultado fue positivo con el tratamiento antibiótico en 28 pacientes. Y se concluye que las infecciones por *P. micra* son poco frecuentes, pueden ser muy graves y por esto requieren un alto índice de sospecha.

Watanabe T, et al, mencionan que la bacteriemia por *P. micra* se identificó después de 2015; a partir de la revisión de la literatura, se observa que se relaciona con pacientes en su mayoría de edad avanzada y que presentan condiciones comórbidas como neoplasias y diabetes. La bacteriemia por *P. micra* se asocia frecuentemente con espondilodiscitis (29,6%), infección orofaríngea (25,9%), absceso intraabdominal (14,8%), endocarditis infecciosa (11,1%), émbolos pulmonares sépticos (11,1%) e infección del tracto gastrointestinal (11,1%). En la revisión de la literatura, la mayoría de los casos se trataron con antibióticos y drenaje de los abscesos, con una mortalidad inferior al 4%.

Género *Peptostreptococcus*

Clasificación científica

Dominio: Bacteria

Filo: *Firmicutes*

Clase: *Clostridia*

Orden: *Clostridiales*

Familia: *Peptostreptococaceae*

Género: *Peptostreptococcus*

Especies: *P. anaerobius*, *P. asaccharolyticus*, *P. harei*, *P. hydrogenalis*, *P. indoliticus*, *P. ivorii*, *P. lacrimalis*, *P. lactolyticus*,

P. magnus, *P. micros*, *P. octavius*, *P. prevotii*, *P. tetradius*, *P. vaginalis* y otros.

Este género de bacterias presenta sus cocos Gram positivos agrupados en pares, tétradas, racimos y cadenas. Al microscopio se observan de tamaño irregular y alguna decoloración parcial, lo que permite diferenciarlos de sus similares aerobios. Los *Peptostreptococcus* spp. forman parte de la flora normal de superficies mucocutáneas y constituyen el segundo anaerobio en frecuencia aislados de muestras clínicas estando implicados en una gran variedad de infecciones clínicamente significativas. Los aislados más frecuentes de este género incluyen: *Peptostreptococcus magnus* (*Finnegoldia magna*), *P. asaccharolyticus* (*Schleiferella asaccharolytica*), *Peptostreptococcus prevotii*, *Peptostreptococcus anaerobius* y *P. micros* (*Micromonas micros*). Estos microorganismos se encuentran generalmente en infecciones mixtas, asociados a microorganismos anaerobios facultativos, en múltiples localizaciones como sistema nervioso central, cabeza y cuello, tórax, abdomen, pelvis, piel y tejidos blandos.

Minces LR et al, reportan dos casos de endocarditis infecciosa por *Peptostreptococcus* que, aunque es rara, se asocia con una alta morbilidad. El patógeno se detectó mediante hemocultivos. Este organismo causa una presentación subaguda y la patología de la válvula cardíaca es un factor de riesgo.

Peptostreptococcus anaerobius, este coco Gram positivo anaerobio hace parte de la flora comensal oral e intestinal, ha sido implicado como agente causante de varias enfermedades, incluyendo endocarditis e infecciones de los tractos genitourinario y gastrointestinal. Se ha implicado en la enfermedad periodontal, gingivitis e infecciones del conducto radicular. Sin embargo, no se ha definido su papel en el cáncer colo-rectal; no obstante, se ha observado que los niveles de *P. anaerobius* aumentan en tumores de colon y en adenomas. Además, se ha observado que interactúa directamente con las células huésped y puede influir en el desarrollo del tumor

mediante la liberación de productos metabólicos que llevan a desencadenar daños en el ADN al inducir la producción de especies oxidativas reactivas (ROS) en las células del colon.

Para su crecimiento *in vitro* requiere gran cantidad de aminoácidos, los cuales le proveen otras bacterias anaerobias *in vivo*, como se observa en los procesos de vaginosis bacteriana.

Peptostreptococcus asaccharolyticus, hace parte del microbioma habitual del sistema gastrointestinal, genitourinario y de la piel y, hasta el momento, no se asocia como comensal frecuente de la mucosa oral. Muestra un crecimiento adecuado pero muy lento en medios anaerobios no selectivos, por lo que es necesario un procesamiento cuidadoso en el laboratorio. Se asocia con enfermedad pélvica inflamatoria y la endocarditis infecciosa, por eso esta bacteria es una entidad rara que suele afectar a pacientes portadores de prótesis valvulares y presentarse en conjunto con otras especies bacterianas.

Costa C, et al, refieren que este microorganismo, aunque son comensales, generalmente están involucrados en la enfermedad periodontal. *Peptostreptococcus asaccharolyticus*, es difícil de aislar debido a su lento crecimiento. Por diseminación hematógena puede generar artritis séptica desde un foco distante. Es más probable que la colonización y el crecimiento ocurran en una articulación ya dañada. *P. asaccharolyticus* se identificó a partir de espondiloartritis periférica que desarrolló artritis séptica de rodilla en una mujer de 57 años.

Peptostreptococcus stomatis, coco descrito en 2006 y su nombre hace alusión a la boca (stoma) donde se encontró y en donde se considera es su hábitat. Se presenta como cocos Gram positivos agrupados en parejas o cadenas cortas, con un crecimiento lento. En cultivo después de 5 días de incubación aparecen colonias opacas o brillantes, de color crema o blanquecinas y de 0,8 a 1,8 milímetros de diámetro. Es bastante inactiva en su bioquímica, débilmente sacarolítica

frente a glucosa, maltosa y fructosa, no hidroliza gelatina ni esculina y no produce catalasa.

Esta bacteria es productora de varios ácidos como acético, butírico, isobutírico, isovalérico y ácido isocaproico los cuales provienen de su metabolismo. Su caracterización genética se realizó por hibridación ADN-ADN y secuenciación del ARNr 16S. Últimamente también se ha aislado de heces, abscesos dentoalveolares, infecciones endodónticas, pericoronitis, muestras apendiculares y sangre. Para el tratamiento se debe considerar que se ha reportado sensibilidad a amoxicilina, a la asociación de amoxicilina y ácido clavulánico, a cefoxitina, ertapenem, metronidazol, moxifloxacino y clindamicina.

Género *Peptoniphilus*

Clasificación científica

Dominio: Bacteria

Filo: *Firmicutes*

Clase: *Clostridia*

Orden: *Clostridiales*

Género: *Peptoniphilus*

Los *Peptoniphilus*, son cocos anaeróbicos Gram positivos que se encontraban clasificados en el género *Peptostreptococcus*. Como características bioquímicas se observa que no fermentan azúcares; una fuente de energía para ellos es la peptona y los aminoácidos y producen ácido butírico. Este género se encuentra formando parte del microbioma vaginal e intestinal; sin embargo, su presencia se ha reportado en la piel y tejidos blandos de pacientes diabéticos, en osteomielitis, infecciones articulares, infecciones de sitio quirúrgico, corioamnionitis y bacteremias. Por lo general, se hallan en infecciones polimicrobianas, siendo difíciles de recuperar. Se

han identificado cada vez con más frecuencia, mediante el uso de 16S PCR y MALDI-TOF.

El género está conformado por las siguientes especies: *P. asaccharolyticus*, *P. catoniae*, *P. coxii*, *P. duerdenii*, *P. gorbachii*, *P. harei*, *P. ivorii*, *P. koenoeneniae*, *P. lacrimalis*, *P. lacydonensis*, *P. methioninivorax*, *P. olsenii*, *P. senegalensis*, *P. stercorisuis*, *P. timonensis*, *P. tyrrelliae* y *P. urinimassiliensis*.

En un estudio reciente se caracterizaron tres bacterias cocoides anaerobias Gram positivas no identificadas previamente aisladas de un hisopo vaginal. El análisis filogenético, las características fenotípicas y los datos genotípicos presentados probaron que las tres bacterias eran distintas de las especies bacterianas previamente conocidas con nomenclatura y que por lo tanto representan tres nuevas especies de *Peptoniphilus*. Los nombres que se propusieron son: *Peptoniphilus vaginalis* sp. nov., *Peptoniphilus raoultii* sp. nov., y *Peptoniphilus pacaensis* sp. nov.

Peptoniphilus gorbachii, su morfología corresponde a cocos pequeños de 0,7 micras de diámetro, crecen lentamente y no fermentan azúcares. Con 5 días de incubación se observa un cultivo con colonias de color gris, aspecto opaco y que miden entre 1 a 2 milímetros de diámetro. No es productor de catalasa, ni coagulasa, el principal producto final del metabolismo es el ácido acético; además, produce cantidades moderadas de ácido butírico y algo de ácido propiónico. Se ha caracterizado genéticamente por secuenciación del ARNr 16S.

P. gorbachii, se ha aislado de infecciones mixtas y se asocia con pacientes que cursan inmunosupresión y otras comorbilidades. En relación con este microorganismo existen reportes de cepas procedentes de individuos con diabetes que presentaban gangrena seca infectada, celulitis con absceso, celulitis que llevó a osteomielitis, y también en infección de pie diabético.

Peptoniphilus olsenii, al igual que otras especies del mismo género se observan como cocos pequeños de alrededor 0,7 micras de diámetro y de crecimiento lento. A los 5 días de incubación da lugar a la aparición de colonias grises con el centro más claro, opacas y de 2 a 3 milímetros de diámetro. No fermenta azúcares, es catalasa y coagulasa negativa. El principal producto final de su metabolismo es el ácido acético; también se observa que da origen a moderada cantidad de ácido butírico y, en menor proporción, de ácido propiónico. Sus aislamientos provienen de infecciones mixtas y fue caracterizado genéticamente por secuenciación del ARNr 16S. Su descripción se hizo a partir de cuatro cepas que provenían de infecciones como: osteomielitis en pacientes con diabetes, gangrena seca de pierna, úlcera de pie diabético y uno con absceso de un dedo en pie.

Peptoniphilus asaccharolyticus, este coco Gram positivo anaeróbico obligado es un comensal de la vagina y del intestino humano, en pacientes inmunodeprimidos puede presentarse como un patógeno oportunista. Suele formar parte de infecciones anaeróbicas polimicrobianas como infecciones de piel y tejidos blandos en pacientes con diabetes, osteomielitis, infecciones en articulaciones y de área quirúrgica.

Verma R, et al, describieron un caso de artritis séptica y osteomielitis causada por *P. asaccharolyticus* en una mujer con osteoartritis y diabetes mellitus. Müller-Schulte E, et al, señalan que su potencial patógeno en infecciones invasivas más graves, como infecciones óseas, articulares o del torrente sanguíneo, sigue sin estar claro y aún están pendientes los estudios sobre los factores de virulencia subyacentes.

Peptoniphilus hareii, coco anaerobio Gram positivo involucrado principalmente en infecciones polimicrobianas. Cobo F, et al, presentan un caso de infección peritoneal en una paciente mujer de 48 años con oclusión intestinal que presentó ascitis tras el síndrome oclusivo. El cultivo de líquido

peritoneal mostró *P. harei*. Se realizó tratamiento y se logró la resolución de la infección.

Género *Anaerococcus*

Clasificación científica

Dominio: Bacterias

Filo: *Firmicutes*

Clase: *Clostridia*

Orden: *Clostridiales*

Género: *Anaerococcus*

Su morfología corresponde a cocos Gram positivos, como producto del metabolismo se encuentra que originan ácido butírico y son fermentadores de azúcares. Pertenecen a la familia *Peptostreptococcaceae* y se relacionan con los *clostridios* (sublínea del grupo XIII). Incluye a: *Anaerococcus prevotii*, *Anaerococcus tetradius*, *Anaerococcus lactolyticus*, *Anaerococcus hydrogenalis*, *Anaerococcus vaginalis*, *Anaerococcus murdochii*, *Anaerococcus degenerii*, *Anaerococcus provencensis*, *Anaerococcus senegalensis*, *Anaerococcus rubiinfantis*, *Anaerococcus marasmi*, *Anaerococcus urinomassiliensis*, *Anaerococcus nagyae* y *Anaerococcus octavius*.

Dependiendo de la especie su disposición puede ser diferente y las formas de asociación más comunes son: pares, tétradas, cadenas cortas y formaciones irregulares. Su tamaño puede variar de 0,6 micras a 0,9 micras de diámetro, sus colonias cuando se cultivan con agar sangre enriquecida pueden medir de 0,5 a 2 milímetros. Cuenta en su pared con varios ácidos grasos principales como: C18: 1, C16: 1, C18 y C16. La mayoría de sus especies son indol negativas y coagulasa negativas. En general, las especies de *Anaerococcus* presentan susceptibilidad a las penicilinas, pero son resistentes a la tetraciclina, eritromicina y clindamicina.

Anaerococcus octavius puede fermentar ribosa, glucosa y manosa. *Anaerococcus vaginalis* cuenta con cepas que son indol positivas. *Anaerococcus lactolyticus* se ha encontrado en el pie diabético. *Anaerococcus tetradius*, se aisló por primera vez de descargas vaginales y abscesos ováricos y puede fermentar glucosa y manosa. *Anaerococcus provencensis* se aisló de un absceso cervical y éste fermenta lactosa. *Anaerococcus urinomassiliensis* se aisló de una muestra de orina de un adolescente varón con glomerulonefritis membranoproliferativa y hepatitis autoinmune, es de crecimiento lento, sus colonias se observan después de diez días de incubación anaerobia, son oxidasa y catalasa negativo. *Anaerococcus naggiae*, se encontró por primera vez en un hemocultivo de un paciente con isquemia e influenza, se asocia en pares, fermenta débilmente la manosa, pero no la glucosa ni la rafinosa. *Anaerococcus marasmi*, se describió por primera vez en 2016 a partir de una muestra de heces de un niño con marasmo, es catalasa positiva, crece en un rango de pH entre 6,5 y 8; además tiene una alta similitud de secuencia (97,6%) con *A. prevotii* según su ARNr 16S.

En general, este género puede fermentar carbohidratos débilmente y los principales azúcares que fermentan son glucosa, manosa, fructosa y sacarosa. Se clasifican como sacarolíticas ya que existen especies débilmente sacarolíticas como *A. prevotii* y *A. lactolyticus*, hasta fuertemente sacarolíticas como *A. hydrogenalis* que además es indol positivo y ureasa variable. Las principales fuentes de energía en el metabolismo son las peptonas y los aminoácidos. Como producto de la fermentación de los azúcares *Anaerococcus* produce ácidos débiles, siendo ellos: ácido butírico, ácido láctico y, en menor cantidad, ácido propiónico y succínico. Es de resaltar que su principal metabolito es el butirato.

Anaerococcus murchisonii, fue descrita en 2007, son cocos pequeños y de crecimiento lento. A los 5 días de incubación da lugar a la aparición de colonias grises de 1 a 2 milímetros. En sus propiedades bioquímicas son fermentadores de glucosa

y maltosa, no se observa producción de las enzimas catalasa y coagulasa, a partir de su metabolismo se obtienen ácidos acético y butírico. Se ha aislado de infecciones mixtas en pacientes con inmunosupresión y / o comorbilidades.

Anaerococcus prevotii, son estrictamente anaeróbicas y su genoma fue secuenciado en 2009. Se encuentran como parte del microbioma humano comensal en la piel, la vagina humana, la cavidad nasal, la cavidad bucal y las heces, como las demás especies del género y, desde allí, puede causar infección. Es un patógeno humano que se encuentra en abscesos ováricos, heridas crónicas y flujo vaginal.

Género *Fastidiosipila*

Este género se estableció en 2007 y debe su nombre a sus exigencias nutricionales fastidiosas y a su forma (pila, 'coco'). Perteneció a la clase *Clostridia*, pero su posicionamiento en ella está por definirse, aunque se lo relaciona con el grupo III de *Clostridium*.

Fastidiosipila sanguinis, coco Gram positivo anaerobio estricto, de tamaño pequeño (0,5µm), se desconoce su hábitat. Presenta en placas de medio de cultivo colonias muy pequeñas, casi puntiformes y de color gris. Bioquímicamente presenta gran inactividad, no es productora de catalasa, lecitinasa, lipasa ni gelatinasa y no fermenta azúcares. Producto de su metabolismo se originan ácidos acético y butírico en poca cantidad, en el medio de cultivo Fastidious Anaerobe Broth con trocitos de carne. Esta bacteria se describió a partir de aislamientos que provenían de hemocultivos y un caso relacionado con osteomielitis, sospechando origen endógeno. El microorganismo se identificó mediante el análisis de secuencia de ARNr 16S, habiendo fallado la identificación por espectrometría de masas por tiempo de vuelo por desorción láser asistida por matriz (MALDI-TOF MS).

Cocos Gram Positivos Anaerobios Facultativos

Género *Gemella*

Clasificación científica

Dominio: Bacterias

Filo: *Firmicutes*

Clase: *Bacilli*

Orden: *Bacillales*

Familia: *Sporolactobacillaceae*

Género: *Gemella*

Estos microorganismos presentan morfología de cocos Gram positivos, son del grupo de los anaerobios facultativos, son bacterias comensales del humano que se comportan como patógenos oportunistas, por esta misma característica logran causar infecciones localizadas graves y generalizadas dependiendo de las características inmunológicas del paciente. Las especies *G. morbillorum* y *G. haemolysans* corresponden a las especies patógenas de mayor importancia. *G. haemolysans* se asocia con endocarditis y meningitis, mientras que *G. morbillorum* origina endocarditis, sobre todo de válvula nativa, artritis séptica y meningitis, entre otras.

El sistema respiratorio poco se asocia con infección por *Gemella*, aunque tiene la capacidad de producir abscesos pulmonares, neumonías necrosantes y empiemas pleurales.

Gemella asaccharolytica, se identificó en 2010, es incapaz de fermentar azúcares, son cocos Gram variables, de crecimiento lento y exigentes. Las colonias son lisas, convexas, semitraslucidas, alfa-hemolíticas, de un tamaño de 0.4 a 0.5 milímetros de diámetro. Es sacarolítica, produce indol, catalasa y oxidasa, pero si ureasa, no reduce nitratos a nitritos, requiere CO₂ para su desarrollo. Clínicamente se ha aislado de herida.

Gemella morbillorum, es un coco Gram positivo y es anaerobio facultativo, reclasificado en 1988 por medio de hibridación ADN-ADN del contenido de guanina y citosina, estudio que permitió demostrar su similitud con *Gemella haemolysans*.

Gemella morbillorum, es una bacteria de crecimiento rápido (48 horas) en medios como agar sangre Columbia con producción de α -hemólisis en anaerobiosis y agar chocolate. No produce la enzima catalasa. Hace parte del microbioma de la orofaríngea, del intestino y aparato genitourinario, se asocia con procesos infecciosos poco frecuentes, principalmente de tipo endovascular, endocarditis, bacteriemia y complicaciones sépticas agudas secundarias a bacteriemia, como meningitis o artritis. También se relaciona con infecciones mixtas donde puede desempeñar papel significativo en infecciones de tipo invasivo en tejidos blandos, relacionadas con traumatismos o heridas quirúrgicas.

Las localizaciones cutáneas no son habituales describiéndose hasta ahora pocos episodios. Lago Villamil C, et al, presentan un caso inusual de aislamiento de este microorganismo en un absceso cutáneo ubicado en la pared costal en un varón de 78 años que acudió a la unidad de emergencia por un cuadro de probable infección respiratoria alta con tos, expectoración y dificultad respiratoria.

Gemella haemolysans y otras especies de *Gemella*, son cocos Gram positivos que actualmente no han sido asignados a una familia determinada. Las células se decoloran fácilmente en la tinción de Gram y aparecen Gram negativas o Gram variables. Pueden presentarse como diplococos con sus lados adyacentes aplanados, parecidos a los de *Neisseria* o pueden presentarse también como células individuales, en pares, cadenas cortas o agrupaciones irregulares. Suelen estar rodeadas por una “corona” de material fibroso dispuesta radialmente en la superficie celular. Las células varían considerablemente de tamaño, el cual oscila entre 0,5 a 1 micra de diámetro. La especie puede crecer a una amplia gama de

temperaturas con un crecimiento óptimo que se produce entre 35 y 37°C. Fermentan azúcares y son catalasa y oxidasa negativas. Aunque los miembros del género son anaeróbicos facultativos, *G. haemolysans* tiende a preferir ambientes de crecimiento aeróbicos.

Grupo II: cocos Gram negativos anaerobios

Tabla 3.2. Clasificación taxonómica de los cocos Gram negativos anaerobios

Phylum	Clase	Orden	Familia	Género	Especies
Firmicutes	Clostridia	Clostridia	Veillonellaceae	Veillonella	<i>criceti</i> , <i>ratti</i> , <i>rodentium</i> , <i>alcalescens</i> y <i>caviae</i> en roedores; <i>dispar</i> , <i>parvula</i> , <i>atypica</i> , <i>infantium</i> , <i>montpellierensis</i> , <i>tobetsuensis</i> , <i>nakazawae</i> <i>denticariosi</i> y <i>rogosae</i> en humanos.
	Negativicutes	Selenomonadales	Acidaminococcaceae	Acidaminococcus	<i>fermentans</i> , <i>intestini</i> , <i>asacarolitico</i> , <i>provencensis</i>
	Negativicutes	Selenomonadales	Veillonellaceae	Dialister	<i>invisus</i> , <i>microaerophilus</i> , <i>pneumosintes</i> , <i>propionificiens</i> , <i>succinatiphilus</i> , <i>hominis</i>

Los cocos Gram negativos anaerobios estrictos son de tamaño más pequeño que sus similares aerobios (*Neisserias*), se asocian en pares, cadenas y racimos. La familia

Acidaminococceae se relaciona con los *clostridios* y en cuatro de sus géneros *Acidaminococcus*, *Dialister*, *Megasphaera* y *Veillonella* se encuentran especies que provienen de procesos infecciosos en humanos. No presentan movilidad y con relación a su metabolismo bioquímico son bastante inactivas por lo que regularmente se requiere realizar procedimientos genéticos o de quimiotaxonomía para su identificación. El género *Veillonella*, a diferencia de los otros tres, reduce los nitratos a nitritos, *Acidaminococcus* produce ácido butírico, *Megasphaera* produce ácido caproico y *Dialister* produce ácido acético y ácido propiónico.

Género *Veillonella*

Clasificación científica

Dominio: Bacteria

Filo: *Firmicutes*

Clase: *Clostridia*

Orden: *Clostridia*

Familia: *Veillonellaceae*

Género: *Veillonella*

Los cocos del género *Veillonella*, se caracterizan por presentarse en pares (diplococos), de tamaño muy pequeño, de 0,5 micras de diámetro, se comportan como anaerobios estrictos y a la tinción son Gram negativos. Este género forma parte del microbioma normal de la cavidad bucal, colon y vagina. En situaciones especiales se comportan como patógenos oportunistas que originan abscesos en senos paranasales, amígdalas, cerebro, e infecciones mixtas causadas por otros anaerobios.

Como hacen parte del microbioma bucal se aíslan de saliva, lengua y muestras de placa dental. Estas bacterias igualmente se han aislado a partir de muestras asociadas a caries

dental en niños. Entre las especies aisladas en cavidad bucal se encuentran: *Veillonella criceti*, *Veillonella ratti*, *Veillonella rodentium*, *Veillonella alcalescens* y *Veillonella caviae* en roedores y *Veillonella dispar*, *Veillonella parvula*, *Veillonella atypica*, *Veillonella infantium*, *Veillonella montpellierensis*, *Veillonella tobetsuensis*, *Veillonella denticariosi* en seres humanos; recientemente se ha aislado también de placa dental en humanos *Veillonella rogosae*, sin reporte de *Veillonella tobetsuensis* en este tipo de muestra y *Veillonella nakazawae* identificada en 2020 en Japón en cavidad oral de niños.

Maiko Otomo et al, aislaron en 2020, dos cepas de cocos Gram negativos desconocidas de la cavidad bucal de niños japoneses sanos y las denominaron T1-7T y S6-16. Las dos cepas mostraron características fenotípicas atípicas de miembros del género *Veillonella*, incluida la producción de catalasa. La secuenciación de sus genes de ARNr 16S, confirmó que pertenecían al género *Veillonella*.

En condiciones anaeróbicas, las dos cepas produjeron ácido acético y ácido propiónico como productos finales metabólicos en un medio tripticasa-extracto de levadura-hemina que contenía 1% (p / v) de glucosa, 1% (p / v) de fructosa y 1% (v / v) lactato de sodio. El análisis comparativo de las secuencias de los genes 16S tRNA, dnaK, rpoB y gltA reveló que las dos cepas eran filogenéticamente homogéneas y comprendían un nuevo linaje distinto dentro del género *Veillonella*.

Las secuencias de las dos cepas compartieron la mayor similitud en 99,9, 95,8, 96,9 y 96,7%, utilizando las secuencias de los genes 16S rRNA, dnaK, rpoB y gltA parciales, respectivamente, con las cepas tipo de las dos especies más estrechamente relacionadas, *Veillonella dispar* ATCC 17748T y *Veillonella infantium* JCM 31738T. Además, la cepa T1-7T compartió el valor promedio más alto de identidad de nucleótidos (ANI) (94,06%) con la cepa tipo de la especie más estrechamente relacionada, *V. infantium*. Al mismo tiempo, la cepa T1-7T mostró el valor más alto de hibridación de ADN-ADN

digital (dDDH) (55,5%) con la cepa tipo de *V. infantium*. Las dos cepas reportadas en este estudio se distinguieron de las especies reportadas anteriormente del género *Veillonella* en base a la producción de catalasa, secuencias parciales de *dnaK*, *rpoB* y *gltA*, valores promedio de ANI y dDDH. Con base en estas observaciones, las dos cepas representan una nueva especie, para la cual el nombre *Veillonella nakazawae* sp. nov. está propuesto.

La localización del género *Veillonella* en la cavidad oral está relacionada con la presencia de otras especies bacterianas y de ácidos grasos. Metabolizan lactato y succinato, reducen la cisteína, cistina, tiosulfato y originan la formación de radicales sulfhidrilos (SH₂). Para su desarrollo requieren algunos metabolitos intermedios como el piruvato, lactato, malato, fumarato, y oxalacetato, al igual que el CO₂. El metabolismo del lactato contribuye con la acidez de la placa dental y por su afinidad por este, por lo cual investigadores sugieren que *Veillonella* podría ser un protector frente a la formación de la caries dental.

También se piensa que *Veillonella* probablemente juega un papel crucial en la eliminación de productos de desecho metabólico de ácidos orgánicos tóxicos, de las comunidades de biopelículas en las que se encuentra, debido a su preferencia inusual por las fuentes de carbono de ácidos orgánicos.

P.E. Kolenbrander et al, refieren que la capacidad de reciclar nutrientes es importante para las especies que crecen en presencia de estreptococos orales productores de ácido láctico, como es el caso de *Veillonella* spp. que puede utilizar lactato como fuente de energía. En ratas gnotobióticas, la presencia de *Streptococcus mutans*, y, en particular las cepas que producen grandes cantidades de ácido láctico, se favorece la colonización por *Veillonella alcalescens*. Los estudios *in vitro* sobre la relación entre *Veillonella atypica* y *S. gordonii* han revelado una nueva vía de señalización mediante la cual las células de *V. atypica* inducen la regulación positiva de la

expresión del gen *amyB* y la actividad de la enzima α -amilasa en *S. gordonii* yuxtapuestos. Este parece ser un mecanismo activo por el cual *V. atypica* aumenta la producción de ácido láctico a partir de carbohidratos intra o extracelulares por *S. gordonii* por lo tanto maximiza los beneficios de esta interacción. En otro estudio, el metabolismo de los polisacáridos intracelulares por *S. mutans* se moduló por contacto con *Veillonella parvula*. Curiosamente, el ácido láctico es oxidado por *Streptococcus oligofermentans*, que sintetiza lactato oxidasa como un producto del gen *lox*. El H_2O_2 producido por la oxidación del lactato inhibe el crecimiento de *S. mutans*.

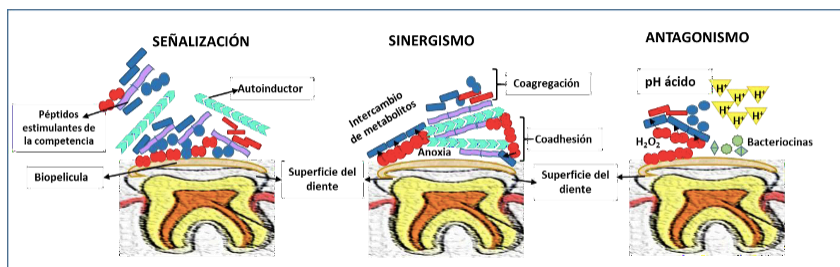


Figura 3.5. Interacciones bacterianas en la placa dental para formar biofilm. Fuente: Corrales, 2024

(Como sociedad compleja y diversa, la competencia es muy frecuente entre las bacterias dentro del biofilm. Las especies de *Veillonella* y otras bacterias compiten por los nutrientes, los sitios de unión y la posibilidad de sobrevivir. Las bacterias adoptan salvajemente varios mecanismos competitivos importantes, es decir, la síntesis de bacteriocinas, la detección de quórum sensing, la excreción de peróxido de hidrógeno y la producción de acidez.

Las moléculas de señalización secretadas, como los péptidos estimulantes de la competencia o los autoinductores, se acumulan alrededor de la comunidad de las células bacterianas. La concentración de moléculas de señalización aumenta o disminuye en proporción a la densidad y diversidad de las células bacterianas. El intercambio de metabolitos entre bacterias permite a las comunidades de células degradar sustratos que no pueden ser utilizados por otras especies. La renovación de oxígeno por bacterias aerobias o anaerobias facultativas crea ambiente de anoxia que promueve el crecimiento de bacterias anaerobias obligadas. La presencia de receptores específicos y adhesinas en diferentes bacterias da como resultado la coagregación. Si algunas bacterias también poseen adhesinas para los receptores de la película salival, entonces

las bacterias coagregadas se adhieren a la superficie del diente en un proceso llamado coadhesión. En este ecosistema también se producen interacciones antagónicas entre bacterias. Además, las bacterias acidógenas crean condiciones de pH bajo el cual inhibe el desarrollo de otros microorganismos).

Es de anotar que de este género se han clasificado nuevas especies mediante la secuenciación de sus genes de ARNr 16S y por lo tanto no se encuentra descripción fenotípica amplia del comportamiento metabólico de éstas.

Veillonella parvula, hace parte del microbioma oral, pudiendo asociarse a la producción de periodontitis y caries dentales, al igual que con algunas infecciones sistémicas. Asimismo, se ha encontrado en muestras de mujeres con vaginosis bacteriana y se ha vinculado con hipertensión arterial junto con *Campylobacter rectus* y *Prevotella melaninogenica*.

Esta especie y otras pertenecientes al género *Veillonella* se caracterizan por la fermentación del lactato. El lactato se produce como resultado del metabolismo celular, el cual puede acumularse en las células cuando no tienen oxígeno suficiente, principalmente se acumula en los músculos y conlleva detrimento en el rendimiento deportivo, e incluso, puede inducir a daños musculares. Por lo anterior, estas bacterias al utilizar el lactato como fuente de energía, producen mejorías en la resistencia al esfuerzo físico.

Veillonella parvula forma parte de la flora normal de la orofaringe, tracto gastrointestinal y tracto genital femenino. Al respecto, Simón Pedro Lubián-López et al, señalan que los microorganismos anaerobios se asocian excepcionalmente con meningitis en recién nacidos prematuros, probablemente como resultado de infección al pasar por el canal del parto. El 20% de los neonatos están colonizados por *V. parvula* a las semanas de vida; las meningitis por este microorganismo son raras y en lactantes se han descrito pocos casos. Uno de ellos es en un niño de 6 semanas de edad con un hoyuelo sacro con médula anclada, otro es el primer caso de empiema intraventricular piogénico primario en un recién nacido prematuro.

Aunque *Veillonella* se encuentra naturalmente en el organismo humano, se ha encontrado en mayor cantidad en individuos que cursan infecciones y, además, presentan inmunodeficiencia. Algunos estudios demuestran que las disbiosis donde se observan altos niveles de estos cocos conllevan una influencia negativa en el bienestar intestinal, pues se han detectado en personas diagnosticadas con síndrome del intestino irritable, niveles altos de *Veillonella*.

R. G. Fisher y M. R. Denison, refieren que este coco Gram negativo anaerobio rara vez se ha identificado como patógeno en humanos y la infección causada por *V. parvula* que se ha informado con mayor frecuencia es la osteomielitis y reportan un caso de bacteriemia no relacionada con un catéter venoso central y sin una fuente subyacente de infección en la cual se identificó.

D. Marriott et al, presentan un caso de discitis lumbar por *Veillonella parvula* y bacteriemia secundaria confirmada por la caracterización molecular de los genes rRNA 16S. La identificación del organismo fue esencial para la elección adecuada de la terapia antimicrobiana tras el fracaso de la flucloxacilina empírica. La *Veillonella* spp. al ser parte del microbioma normal del tracto gastrointestinal, plantea la posibilidad de que una endoscopia y colonoscopia realizadas 8 semanas antes de la presentación del caso, durante las cuales se obtuvieron biopsias de intestino delgado y recto, fuera la puerta de entrada para el microorganismo. Este caso resalta la importancia de obtener un diagnóstico microbiológico, particularmente en pacientes que previamente han tenido procedimientos con instrumentación.

Maqsood A et al, relatan que cuando se aísla de muestras clínicas, *V. parvula* a menudo se considera un contaminante o comensal, pero se ha implicado como patógeno en infecciones de los senos nasales, pulmones, corazón, huesos y sistema nervioso central y que la meningitis, es extremadamente rara y presentan un caso precisamente de esta patología.

Veillonella atypica, hasta la fecha, las especies del género *Veillonella*, incluida *V. atypica*, pero con la excepción de *Veillonella seminalis*, son bien conocidos por su capacidad de fermentación de lactato, lo que les permite utilizar lactato y transformarlo en propionato y acetato.

Maozhen Han et al, señalan que las cepas de *V. atypica* pueden encontrarse en los intestinos y la mucosa oral de los mamíferos y desempeñan diversos roles en diferentes nichos. Por ejemplo, las propiedades de coagregación de estas en la cavidad bucal humana afectan la colonización sitio y la ecología de las comunidades microbianas orales. Además, *V. atypica*, junto con *Streptococcus* spp., se conocen como colonizadores tempranos en la formación de biopelículas orales y afectan el desarrollo de la placa.

Crisafulli et al, mencionan un reporte de caso donde *V. atypica*, junto con *Actinomyces odontolyticus*, condujo a infección pulmonar en un hombre inmunocompetente de 65 años, paciente con caries dental.

Zhang et al, y Wang et al, refieren que como reductor de metales, *V. atypica* ha sido identificada como una que respira selenio bacteria y posee la capacidad de transformar biogénico selenita ya que reduce Se (IV) mediante el uso de hidrógeno como donante de electrones e implica un mecanismo reductor de metales diferente al de *Geobacter sulfurreducens* y *Shewanella oneidensis*.

Después de la desintoxicación efectiva de Cr (VI), a través de un azufre en un proceso de bio reducción mixotrófica, utilizando bioingeniería de cepas, *V. atypica* demuestra su potencial en aplicaciones como bacteria que respira selenio, con un importante papel en el ciclo de este elemento. Sin embargo, los genes y/o proteínas asociadas con este mecanismo siguen estando en estudio. La comprensión de los rasgos funcionales de genes y/o proteínas de *V. atypica*, puede ser beneficioso para aumentar la capacidad de esta especie para transformar

selenito biogénico y ampliar sus aplicaciones biotecnológicas en el medio ambiente.

A partir del estudio de varias cepas de *V. atypica*, la OK5, fue la primera en ser completamente secuenciada, la cual fue aislada de una muestra de saliva humana y proporcionó una comprensión profunda de la ecología de las biopelículas orales humanas. También sugirió que el género *Veillonella* es relativamente homogéneo, como lo confirman Vesth et al. Sin embargo, la diversidad genética y los rasgos funcionales de *V. atypica*, especialmente en lo que respecta a la composición de enzimas activas sobre carbohidratos (conocidas como Enzimas CAZy o CAZymes) y el sistema CRISPR-Cas, que se usa ampliamente para editar los elementos genéticos de la microbiota, permanecen poco claros.

Veillonella rogosae, corresponde como todo el género a cocos Gram negativos, anaerobios estrictos, se presentan asociadas en parejas y pueden observarse también formando cadenas cortas, miden de 0,3-0,5 micras de diámetro. Las colonias de esta especie en Agar *Veillonella* miden aproximadamente de 2 a 4 milímetros de diámetro y presentan bordes enteros. *V. rogosae* sintetiza algunas enzimas que le permiten actuar sobre diferentes sustratos. Reduce el nitrato a nitrito, es hidrólisis de la esculina negativo, descarboxilación de la arginina negativo, es oxidasa negativa, no produce ácidos como producto final del metabolismo de los carbohidratos, produce piroglutamato a partir de la actividad de la arilamidasa y presenta actividad enzimática glucosídica. En esta bacteria la producción de fosfatasa es variable y como productos finales principales del metabolismo producen acetato y propionato. Presenta diferencias con otras especies de *Veillonella* basadas en la secuencia del gen *rpoB* del ARNr 16S de estas bacterias. Este microorganismo ha sido aislado de muestras de placa dental.

Veillonella denticariosi, Byun et al, cultivaron en un medio de cultivo selectivo para *Veillonella* muestras que provenían

de caries de dentina y consiguieron aislar dos cepas de bacterias Gram negativas en forma de coco, que se habían descrito anteriormente. Posterior a la comparación de la secuencia del ARNr 16s y del *adnK* se encontró similitud entre ellas por lo cual fueron incluidas en el género *Veillonella*. En principio, se estableció la relación filogenética de las dos cepas aisladas con *Veillonella rodentium* y la técnica de hibridación de ADN-ADN estableció que presentaban secuencias similares, aunque diferían de otras especies del género. Otra similitud se encontró en la producción de ácidos grasos ya que son parecidos a los producidos por otras especies de este género. Con base a estas observaciones, los autores plantearon que las cepas obtenidas fueran consideradas como una nueva especie denominada *Veillonella denticariosi*.

Veillonella montpellierensis, es una especie que se aisló de muestras clínicas de humanos en Montpellier, Francia. Son cocos Gram negativas que se asocian en pares (diplococos) o en cadenas cortas. El tamaño de las células es muy pequeño, entre 0,3 y 0,5 micras de diámetro, requieren anaerobiosis estricta para su desarrollo y presentan una superficie en forma de espiral. Se desarrolla muy bien en Agar Sangre Columbia y sus colonias miden de 1 a 3 milímetros de diámetro, presentan superficie lisa o de aspecto opaco y color blanco grisáceo y no sintetizan la enzima oxidasa. Esta especie produce gas, reduce el nitrato a nitrito y, como productos finales principales del metabolismo, produce lactato y propionato. Además, puede diferenciarse de otras especies del género *Veillonella* a través del ARNr 16S y por la secuencia del *adnK*.

Género *Acidaminococcus*

Taxonomía

Dominio: Bacteria

Filo: *Firmicutes*

Clase: *Negativicutes*

Orden: *Selenomonadales*

Familia: *Acidaminococcaceae*

Género: *Acidaminococcus*

Pertenecen al filo *Firmicutes*, cuyos integrantes son diplococos anaerobios que tienen la capacidad de utilizar para su crecimiento aminoácidos como la única fuente de energía. Al igual que otros miembros de la clase *Negativicutes*, son Gram negativos, a pesar de ser *Firmicutes*, que son normalmente Gram positivos. Las principales especies son: *A. fermentans*, *A. intestini*, *A. asacarolitico*. La cepa de *Acidaminococcus provencensis* es una nueva especie aislada de una muestra de heces humanas frescas por Takakura T y colaboradores.

Acidaminococcus fermentans, Yun-Juan Chang et al, refieren que *A. fermentans* es conocida por su presencia en el tracto gastrointestinal y su capacidad para oxidar el trans-aconitato. La fermentación anaeróbica del glutamato, es una característica que se ha estudiado intensamente, la cual se complementó con análisis de su genómica. Es un coco Gram negativo, inmóvil, originalmente aislado de un tracto alimentario porcino. La temperatura óptima para su crecimiento es de 30 a 37°C, y a pH de 6.2 a 7.5, con un óptimo de 7.0, con crecimiento débil o nulo a 25 y 45°C. *A. fermentans* prospera principalmente mediante la fermentación del glutamato a través de la vía del 2-hidroxioglutarato en el tracto intestinal utilizando glutamato, citrato y trans-aconitato como únicas fuentes de energía, en presencia de sodio. El amoníaco, el acetato, el butirato y el hidrógeno, son los principales productos finales del metabolismo y el transporte y catabolismo de estos sustratos, dependen de una fuerza motriz de sodio, como método de energía de la membrana.

Acidaminococcus asacarolitico, estos cocos Gram negativos presentan gran inactividad bioquímica; como productos finales del metabolismo se encuentra que produce ácido acético y

ácido butírico y pocas veces ácido propiónico. Ha sido raramente implicado en clínica.

Acidaminococcus intestini, fue descrita en 2007, su nombre se asocia con su hábitat: el intestino. Incluye a cocos pequeños de 0,5 a 0,6 micras de diámetro, se encuentran aislados o en parejas.

Tras el cultivo se obtienen colonias no pigmentadas ni hemolíticas de 0,3 a 0,5 milímetros tras 2 días de incubación. Como producto final del metabolismo se obtiene ácido propiónico, también tiene actividad ácido glutámico arilamidasa y leucil glicina arilamidasa. Se encuentra como parte de la flora fecal normal y se ha aislado en cultivos mixtos provenientes de muestras relacionadas con infección intraabdominal y abscesos. No se cuenta con información sobre sensibilidad de esta bacteria a los antimicrobianos.

Estelle Jumas-Bilak et al, en un estudio recuperaron once cepas de un coco anaeróbico Gram negativo hasta ahora desconocido de varias muestras clínicas humanas de pacientes hospitalizados en dos hospitales franceses geográficamente distantes. Estas cepas mostraron las características de morfología y crecimiento de las relacionadas con el género *Acidaminococcus*. Los aislamientos clínicos compartieron al menos el 99,9 y el 99,7% de sus posiciones de nucleótidos en las secuencias de genes de ARNr 16S y 23S, respectivamente. Mostraron un 95,6 y un 88,9% de similitudes en la secuencia del gen ARNr 16S y 23S, respectivamente, con *Acidaminococcus fermentans*. La filogenia basada en ARNr 16S reveló que todos los aislamientos clínicos agrupados en un grupo estadísticamente bien apoyado separado de *A. fermentans*. Los perfiles de actividad enzimática, así como los patrones metabólicos del producto final, incluida la producción de ácido propiónico, diferenciaron las nuevas bacterias de *A. fermentans*. Finalmente, los datos fenotípicos, genotípicos y filogenéticos, incluida la estructura cromosómica gran escala y el contenido de ADN G + C, respaldaron la propuesta de una nueva

especie del género *Acidaminococcus*, para la cual se propuso el nombre *Acidaminococcus intestini*.

Género *Dialister*

Clasificación científica

Dominio: Bacteria

Filo: *Firmicutes*

Clase: *Negativicutes*

Orden: *Selenomonadales*

Familia: *Veillonellaceae*

Género: *Dialister*

Anteriormente se había catalogado dentro de los bacilos Gram negativos, con una sola especie, *Dialister pneumosintes*. Ahora es claro que el género abarca a cocos y cocobacilos muy pequeños que pueden medir desde 0,2 a 0,4 hasta 0,6 micras de diámetro, son inmóviles, no esporulados, no producen catalasa, son asacarolíticos y bastante inactivos bioquímicamente. En cuanto a su metabolismo respiratorio pueden ser microaerófilos. Crecen con dificultad en caldo, dentro de sus productos metabólicos se encuentran el ácido acético y a veces en pequeñas cantidades ácido propiónico. Las principales especies son: *Dialister invisus*, *Dialister micraerophilus*, *Dialister pneumosintes*, *Dialister propionificiens*, *Dialister succinatiphilus*, *Dialister hominis*.

Dialister hominis, Mitsuo Sakamoto et al, aislaron de una muestra fecal de una mujer japonesa sana un microorganismo con morfología de bacilo o cocobacilo, anaerobio estricto, el cual a la tinción de Gram se observó como Gram negativo. En el análisis de la secuencia del gen 16S rRNA, la cepa mostró la mayor similitud de secuencia del gen 16S rRNA con *Dialister succinatiphilus* en un 95,9%, *Dialister propionificiens* con 94,3%, *Dialister micraerophilus* con 93,1%, *Dialister invisus*

con 92,5% y *Dialister pneumosintes* 91,4%. El análisis de la secuencia del gen hsp60 también reveló que esta cepa tenía similitudes en la secuencia del gen hsp60 relativamente bajas (74,4-85,3%) con otras especies de *Dialister*. Así que después del estudio genómico, lo que se concluyó es que esta cepa debía considerarse como una nueva especie en función de la relación del genoma completo. La cepa se comportó como ascarolítica y su crecimiento se mejoró añadiendo succinato al 1% (p / v) al medio, de tal forma que fue capaz de descarboxilar succinato a propionato. Sobre la base de los datos recopilados, la cepa representa una nueva especie del género *Dialister*, para la cual proponen el nombre de *Dialister hominis*.

Dialister invisus, descrita en 2003, su nombre se relaciona con que no es evidente su desarrollo en caldo cuando crece. Sus integrantes se pueden observar aislados, en parejas, en cadenas cortas o en pequeños grupos. Las colonias tienen un aspecto translucido o transparente y miden de 0,5 a 0,7 milímetros después de 7 días de incubación. Muestra inactividad bioquímica y se observa que produce trazas de ácido acético y ácido propiónico. Esta bacteria ha sido aislada a partir de infecciones endodónticas y placa subgingival, de orina de pacientes que han recibido trasplante de riñón, infecciones de piel y tejidos blandos, intraabdominales y respiratorias. Como característica positiva para el tratamiento muestra sensibilidad a la mayoría de antimicrobianos.

Dialister micraerophilus, fue descrita en el año 2005 y se caracteriza por crecer en condiciones de microaerofilia. Se pueden observar cómo cocos aislados, en parejas o en grupo, dan origen a colonias en agar sangre de aspecto translúcido y muy pequeñas de 0,5 milímetros. Presenta actividad positiva de fenilalanina arilamidasa y tirosina arilamidasa. Su metabolismo final no genera ácidos. Su estudio se realizó mediante cepas recuperadas de infecciones de tejidos blandos, hemocultivos, de muestras ginecológicas, óseas y renales. Se reporta que presenta sensibilidad a la mayoría de antimicrobianos.

Dialister propionificiens, Jumas-Bilak E et al, la describen en 2005 y su nombre se relaciona con la capacidad de producir ácido propiónico. Sus características son idénticas a las referidas para *D. microaerophilus*, pero es más inactiva. Se caracteriza porque produce pequeñas cantidades de ácido acético, ácido propiónico y ácido láctico. El ácido propiónico lo genera a partir del succinato sódico que favorece el crecimiento, propiedad que le permite diferenciarse de las otras especies del género. La descripción se realizó a partir de cepas recuperadas de infecciones de tejidos blandos y de semen. Presenta sensibilidad a la mayoría de antimicrobianos

Dialister succinatiphilus, Morotomi M. et al, aislaron a partir de heces humanas dos bacterias anaeróbicas que se tiñeron Gram negativas. Su morfología correspondió a cocobacilos con un comportamiento asacarolítico y en gran parte no reactivos frente a diferentes sustratos, se detectó la producción de trazas de lactato y propionato como productos finales del metabolismo; sin embargo, una de las cepas fue capaz de descarboxilar succinato a propionato. Después del análisis de la secuencia del gen del ARNr 16S se descubrió que esta cepa estaba más estrechamente relacionada con *Dialister propionificiens* con una similitud de secuencia del 95,1% entre los dos taxones. Los datos bioquímicos apoyaron la filiación de la cepa al género *Dialister*. Por tanto, este resultado representa que se está frente a una nueva especie para la que se propuso el nombre *Dialister succinatiphilus*.

Otros cocos Gram negativos anaerobios

Negativicoccus succinicivorans, es un coco Gram negativo que consume ácido succínico, es inmóvil. Genera colonias de 0,5 mm circulares, convexas y translúcidas. Tiene metabolismo anaerobio y microaerófilo, es asacarolítico y muy inactivo. Produce ácido acético, propiónico y trazas de 2-hidroxi-valérico. Se ha comprobado que el succinato sódico estimula

su crecimiento. Es parte del microbioma cutáneo y se ha aislado en infecciones de partes blandas y bacteremia.

Grupo III: Bacilos Gram positivos anaerobios no esporulados

Tabla 3.3. Clasificación taxonómica de los bacilos Gram positivos anaerobios no esporulados

Phylum	Clase	Orden	Familia	Género	Especies
Firmicutes	Actinomycetaceae	Actinomycetales	Actinobacteria	Actinomyces	urinae, hongkongensis, bouchesdurhonensis, provencensis, dentalis, israelii, cardiffensis, meyeri, nasicola, massiliensis, johnsonii, oris, naeslundii, bovis,

Phylum	Clase	Orden	Familia	Género	Especies
					<i>gerencseriae</i> , <i>gravenitzii</i> , <i>viscosus</i> , <i>radingae</i> ,
	Clostridia	Clostridiales	Eubacteriaceae	Eubacterium	<i>aggregans</i> , <i>angustum</i> , <i>barkeri</i> , <i>brachy</i> , <i>budayi</i> , <i>callanderi</i> , <i>cellulosolvens</i> , <i>combesii</i> , <i>coprostanoligenes</i> , <i>dolichum</i> , <i>eligenes</i> , <i>hallii</i> , <i>infirmum</i> , <i>limosum</i> , <i>minutum</i> , <i>multiforme</i> , <i>nitritogenes</i> , <i>nodatum</i> , <i>oxidoreducens</i> , <i>plexicaudatum</i> , <i>pyruvativorans</i> , <i>ramulus</i> , <i>rectale</i> , <i>ruminantium</i> , <i>saphenum</i> , <i>siraeum</i> , <i>sulci</i> , <i>tarantellae</i> , <i>tenue</i> , <i>tortuosum</i> , <i>uniforme</i> , <i>ventriosum</i> , <i>xylanophilum</i> y <i>yurii</i> .
	Clostridia	Clostridiales	Catabacteriaceae	Catabacter	<i>hongkongensis</i>
			Lachnospiraceae	Moryella	<i>indoligenes</i>
	Actinobacteridae	Actinomycetales	Actinomycetaceae	Actinobaculum	<i>Massiliense</i> y <i>suis</i> de interés veterinario.
				Actinotignum	<i>schaalii</i> , <i>urinale</i> y <i>sanguinis</i>
	Bacilli	Lactobacillales	Lactobacillaceae	Lactobacillus	<i>acidophilus</i> , <i>casei</i> , <i>fermentum</i> , <i>plantarum</i> , <i>gasseri</i> , <i>paracasei</i> , <i>rhamnosus</i> y <i>ultunensis</i>
	Erysipelotrichi	Erysipelotrichales	Erysipelotrichidae	Solobacterium	<i>moorei</i>
				Bulleidia	<i>extracta</i>
				Eggerthia	<i>catenaformis</i>

Phylum	Clase	Orden	Familia	Género	Especies
Actinobacteria	Actinobacteria Subclase: Actinobacteridae	Actinomycetales	Propionibacteriaceae	Propionibacterium	acidifaciens, australiense, cyclohexanicum, freudenreichii y namnetense
				Cutibacterium	acnes, avidum y granulosum.
	Actinomycetales Suborden: Actinomycineae		Actinomycetaceae	Mobiluncus	M. curtisii subsp. curtisii, M. curtisii subsp. holmesii y M. mulieris.
				Varibaculum	cambriense, timonense, anthropi y massiliense
		Bifidobacteriales	Bifidobacteriaceae	Bifidobacterium	Como probióticos son: bifidum, longum, infantis, adolescentes.
	Coriobacteria	Coriobacteriales	Coriobacteriaceae	Atopobium	minutum, parvulum, rimaey, vaginaey fossor
	Actinobacteria			Eggerthella	lenta y sinensis,

Las infecciones causadas por los bacilos Gram positivos anaerobios, no esporulados se relacionan usualmente con otros microorganismos anaerobios estrictos y facultativos, así como aerobios ya que estos bacilos raramente causan infecciones por sí mismos. Debido a lo anterior, no se conocen muy bien de este grupo de bacterias, su patogenia, ni epidemiología. Hacen parte del microbioma normal y en algunas especies se han descubierto estructuras y productos de sus síntesis que evitan los mecanismos de defensa del huésped y que se relacionan, sobre todo, con procesos de adhesión.

Los bacilos Gram positivos anaerobios no esporulados encierran diversidad de géneros, clasificados taxonómicamente en los *phyla* *Actinobacteria* y *Firmicutes*. El *phylum* *Actinobacteria*: los cuales incluyen las familias: *Actinomycetaceae*, *Bifidobacteriaceae*, *Coriobacteriaceae* y *Propionibacteriaceae* y, éstas a su vez, numerosos géneros y especies.

Las especies de los géneros *Actinomyces*, *Bifidobacterium*, *Eggerthella*, *Eubacterium*, *Cutibacterium*, *Lactobacillus* y *Propionibacterium*, son los que con mayor frecuencia se asocian a infecciones. *Catabacter* y *Moryella* fueron descritos en 2007 también con importancia en clínica. Otros géneros que componen el grupo son *Actinobaculum*, *Mobiluncus* y *Varibaculum* que pertenecen a la familia *Actinomycetaceae*, presentan morfología variable, algunos anaerobios estrictos y otros aerotolerantes.

Género *Actinomyces*

Nombre científico

Dominio: Bacteria

Filo: *Firmicutes*

Clasificación superior: *Actinomycetaceae*

Orden: *Actinomycetales*

Filo: *Actinobacteria*

Género: *Actinomyces*

Las especies del género, son bacilos Gram positivos que no forman esporas, presentan formas de bacilos difteroides cortos o en clava y cuando son abundantes en los tejidos desarrollan una sustancia de tipo polisacárido-proteica que los une formando una película homogénea, macroscópica y de color amarillento, blanco o marrón, que conforma el característico gránulo de azufre. En cultivo las colonias forman estructuras como filamentos largos semejantes a las hifas de

los hongos. Las especies que hacen parte de la microbiota en suelo, son responsables del olor vegetal de la tierra, que se percibe al entrar en contacto con el agua.

Son de crecimiento lento y radial, a partir de un centro poco diferenciado, se desarrollan en medio sólido como agar sangre o líquido como caldo tioglicolato de Brewer, bajo condiciones anaeróbicas formando en el agar colonias blancas, típicas, en forma de arañas, que pueden ser lisas o rugosas, con forma de “diente molar” y en el caldo sus colonias semejan migas de pan.

La identificación de especies se realiza por sus características bioquímicas, serológicas como inmunofluorescencia y otras técnicas de estudio como cromatografía líquido-gaseosa y pruebas de genotipificación, a partir de muestras clínicas o biopsias de tejidos.

El género *Actinomyces* incluye especies frecuentemente asociadas a procesos infecciosos. Para el año 2014 el género estaba conformado por 42 especies, de las cuales 25, se catalogaron como de interés clínico en humanos. En 2016 se incluyó en el género *Actinomyces urinae* y en 2017 *Actinomyces bouchesdurhonensis* y *Actinomyces provencensis*.

Mailhe et al., 2017 clasificaron a las especies *Actinomyces dentalis*, *Actinomyces hongkongensis* y *Actinomyces israelii* en el grupo de anaerobias estrictas; *Actinomyces cardiffensis*, *Actinomyces meyeri* y *Actinomyces nasicola* en el grupo de las aerotolerantes, pero que presentan mejor desarrollo en anaerobiosis y las demás especies en el grupo de las anaerobias facultativas. *Actinomyces massiliensis*, *Actinomyces johnsonii* y *Actinomyces oris* son las especies nuevas descritas del género, junto a estas últimas, previamente identificadas como geoespecies de *Actinomyces naeslundii*, se encuentran haciendo parte del microbioma de la cavidad oral.

Las especies de *Actinomyces* se encuentran relacionadas con infecciones odontogénicas, forman polímeros extracelulares

como dextrano, levano, glucógeno y polisacáridos del slime ricos en N- acetilglucosamina, que le proveen la capacidad de hacer adherencia directamente a la superficie del diente. *Actinomyces viscosus sensu stricto* y *Actinomyces naeslundii sensu lato*, son las especies en que se ha confirmado la elaboración de estos polímeros. Las fimbrias de estas bacterias también intervienen en procesos de fijación y coagregación interbacteriana.

La actinomicosis se clasifica como una infección de tipo endógeno y granulomatosa crónica originada principalmente por especies de *Actinomyces israelii*, *Actinomyces gerencseriae* y *Actinomyces gravenitzi* y con menos frecuencia *Propionibacterium propionicum*. Se identifica por la presencia de lesiones granulomatosas y teniendo en cuenta el sitio afectado, se clasifica en cervicofacial, torácica y abdomino-pélvica, formas clínicas con mayor frecuencia.

La actinomicosis cervicofacial se diagnostica con mayor frecuencia en pacientes que han requerido procedimientos dentales de tipo invasivo, no tratado o que han sufrido algún traumatismo bucal. Las lesiones se pueden conectar con otras partes de la boca y comprometer la mucosa yugal y la mandíbula. Una característica de las secreciones provenientes de lesiones actinomicóticas, son los gránulos de azufre, que corresponden a partículas macroscópicas de color amarillento. Estos gránulos están formados por acúmulos de *Actinomyces* ramificados, en compañía de variedad de otras especies bacterianas de la boca.

La actinomicosis torácica se produce a consecuencia de la aspiración de microorganismos presentes en el tracto respiratorio superior y la boca, que afecta especialmente a los pulmones. La actinomicosis abdominal ocurre en individuos a quienes se les ha practicado cirugía en sistema digestivo o a consecuencia de perforación intestinal. La actinomicosis pélvica en mujeres es una enfermedad poco frecuente y se asocia principalmente al uso dispositivo intrauterino. Las

actinomicosis del sistema nervioso central son raras y se originan por diseminación hematógena de la bacteria a partir de tejidos distales o por lesiones contiguas cervicofaciales.

Otras infecciones que se vinculan a especies de *Actinomyces* se relacionan con su hábitat natural, la cavidad oral, donde colonizan la superficie de los dientes y de la mucosa e interactúan con otros organismos para formar la placa dental. A partir de esta colonización se pueden desarrollar caries dentales, infecciones endodónticas, infecciones asociadas a implantes y abscesos odontogénicos y lesiones por osteorradionecrosis, entre otras.

Las especies orales de *Actinomyces*, a su vez, pueden ser la causa de bacteriemias vinculadas a procedimientos odontológicos, de tal forma que, en pacientes con pericarditis, *Actinomyces* spp. es la bacteria anaerobia predominante.

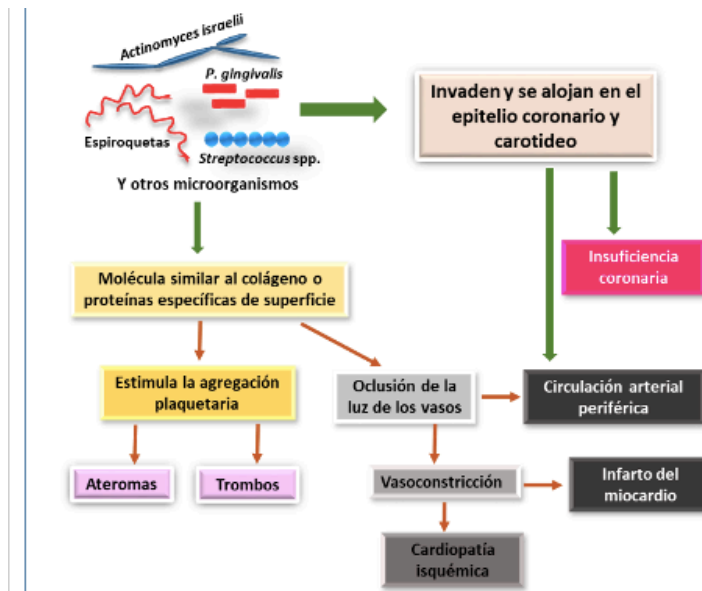


Figura 3.6. Patógenos periodontales como generadores de enfermedades sistémicas. Fuente: Corrales, 2024

En infecciones generadas por mordeduras de humanos o de animales se identifica variedad de microorganismos

provenientes de la flora bucal y que pueden ser aerobios o anaerobios, donde se observa que los agentes implicados en la infección usualmente hacen parte del microbioma del individuo que muere. De este género, las especies que con mayor frecuencia se aíslan en estos casos de infección son: *A. israelii*, *A. meyeri*, *A. naeslundii* y *A. viscosus*. Importante anotar que a partir de la herida infectada se pueden producir complicaciones, aunque poco frecuentes, sí de gravedad, como infecciones óseas y articulares. Una especie aislada con muy poca frecuencia y tal vez subdiagnosticada es *A. hongkongensis*, bacteria asociada a actinomicosis pélvica en mujeres adultas con antecedentes de uso de dispositivo intrauterino.

Actinomyces israelii, causa frecuentemente actinomicosis, enfermedad infecciosa que se confunde continuamente con otras como neoplasia. Este anaerobio es habitante normal de vagina, colon y boca. La infección inicia a partir de una lesión de la barrera mucosa, consecuencia de procedimientos odontológicos, gastrointestinales, aspiración, o por patologías como diverticulitis. La fase crónica de esta enfermedad es conocida como fase clásica ya que, en la fase temprana o aguda, a menudo pasa desapercibida y no requiere consulta médica. Se caracteriza por un lento crecimiento adyacente que puede variar entre la curación espontánea y la recurrencia con una gran densidad de lesión fibrótica; esta lesión es a menudo descrita con características similares a madera, en la cual aparece formación de pus con presencia de gránulos de azufre y de numerosos neutrófilos.

La forma más conocida de la actinomicosis es oral-cervicofacial y se caracteriza por ser indolora y dar lugar a lo que se denomina mandíbulas desiguales que se acompaña algunas veces con linfadenopatía. La actinomicosis torácica, se diagnostica con frecuencia como una neoplasia, debido a que se origina una masa que se ensancha hasta la pared torácica. Su origen proviene de la llegada de estos microorganismos desde la orofaringe; los síntomas típicos de la enfermedad son dolor en el pecho, fiebre y pérdida de peso.

Otra presentación de actinomicosis es la abdominal, que ocasiona tracto sinusal que drena a la pared abdominal o a la zona perianal. La actinomicosis pélvica usualmente se presenta asociada al uso de dispositivos intrauterinos (DIU); las pacientes con esta afección refieren fiebre, dolor abdominal y pérdida de peso. Aún no está claro si esta bacteria es o no un saprófito de la vagina o llega allí durante el coito o simplemente hace parte de la microbiota genital nativa.

Actinomyces radingae, fue identificado por Wüst J. y cols en 1995, es un microorganismo potencialmente patógeno, hace parte del microbioma del tracto genitourinario y de la piel. Ha sido asociado a infecciones principalmente de piel y tejidos blandos, como absceso pilonidal, perineal y mamario, entre otros.

Su morfología revela un cocobacilo Gram positivo de 1 micra de largo y 0,65 micras de diámetro y presenta con poca frecuencia pseudo-ramificaciones, se comporta como anaerobio facultativo; sin embargo, se desarrolla mejor en atmósfera enriquecida con CO₂ o en anaerobiosis. Crece bien en agar sangre de cordero y en agar chocolate. A las 48 h de incubación en agar sangre de cordero a 5% CO₂ y temperatura de 37°C, se observan colonias pequeñas, grises, circulares convexas, opacas y bien delimitadas, con una pequeña zona de α -hemólisis. Su desarrollo es variable a 43°C, lento a 30°C y ausente 25°C. En la identificación bioquímica se obtiene que es catalasa, ureasa e indol negativas, reducción de nitratos negativo, hidrólisis de la esculina positiva, fermenta maltosa y sucralosa, en la prueba de CAMP no se detecta potenciación ni inhibición de la hemólisis. Presenta actividad α -glucosidasa, β -N-acetil-glucosaminidasa y β -galactosidasa. Pese a todas estas reacciones bioquímicas su resultado no permite una identificación correcta, por lo cual se recomienda utilizar métodos de biología molecular como el análisis de secuenciación con 16S rRNA, así como también la espectrometría de masas con MALDI-TOF, que han mostrado buen desempeño.

En general, *Actinomyces* spp. es susceptible a penicilina y otros β -lactámicos, así como también a la mayoría de los antimicrobianos utilizados contra los bacilos Gram positivos anaerobios, como vancomicina y presenta resistencia intrínseca a metronidazol. Se recomienda realizar estudio de susceptibilidad en caso de infecciones invasivas, teniendo como referencia el protocolo estandarizado para el procesamiento e interpretación propuestos por el CLSI y/o EUCAST mediante CIM para bacilos Gram positivos anaerobios.

Actinomyces naeslundii, es un bacilo comensal anaeróbico Gram positivo de la cavidad bucal humana. Sin embargo, aunque la septicemia con este microorganismo es poco común, cuando ocurre presenta un mayor riesgo de inflamación granulomatosa subaguda y crónica, que puede afectar a todos los sistemas orgánicos a través de la diseminación hematógena.

Christopher D. Cortes, et al, presentan un caso raro de endocarditis causada por este organismo en mujer hispana de 51 años, con antecedentes de hipotiroidismo, asma y estenosis aórtica que requirió reemplazo de válvula aórtica bioprotésica, quien presentó fiebre, náuseas y pérdida de peso de 23 libras en los dos meses anteriores. También se quejaba de mialgias difusas, lesiones eritematosas en brazos y piernas y visión nublada. Un mes antes del reemplazo de la válvula aórtica, la paciente había sido atendida para la postura de implantes dentales, de donde se sospecha el inicio de la infección.

Actinomyces bovis, se asocia con el síndrome de la “mandíbula abultada” en el ganado bovino, la cual se caracteriza por la presencia de tumores grumosos en las mandíbulas, vísceras y lengua. Se observa que los animales presentan pérdida de fuerzas, fiebre hética y el pus que se produce contiene gránulos amarillos.

Género *Propionibacterium*

Clasificación científica

Dominio: *Bacteria*

Filo: *Actinobacteria*

Clase: *Actinobacteria*

Subclase: *Actinobacteridae*

Orden: *Actinomycetales*

Familia: *Propionibacteriaceae*

Género: *Propionibacterium*

Pertenece a la familia *Propionibacteriaceae* al igual que *Propioniferax* y *Propionimicrobium*.

Hasta el año 2016, *Propionibacterium* contemplaba 15 especies provenientes de distintos ambientes, productos lácteos o fermentados. En 2016 se propuso una nueva clasificación basada en análisis que incluían hábitats de las diferentes especies, las secuencias del gen 16S rRNA, el tamaño de sus genomas y la proporción de nucleótidos.

Resultado de esta clasificación se establecieron tres nuevos géneros: *Acidipropionibacterium* gen. nov., del cual hacen parte las especies que se denominaban antes como *P. acidipropionici*, *P. damnosum*, *P. jensenii*, *P. microaerophilum* y *P. olivae*; al género *Cutibacterium* gen. nov., las especies *P. acnes*, *P. avidum*, *P. granulosum* y *P. humerusii*; y *Pseudopropionibacterium* gen. nov. ahora está integrado por la especie *P. propionicum*. Por lo tanto, las especies que ahora conforman el género *Propionibacterium* son cinco: *P. acidifaciens*, *P. australiense*, *P. cyclohexanicum*, *P. freudenreichii* y *P. namnetense*.

Son bacilos Gram positivos no esporulados, sin movilidad, la mayoría de las especies crecen en condiciones anaerobias y algunas se comportan como microaerotolerantes. Para su desarrollo requieren una temperatura óptima de

crecimiento entre 30 y 37°C, por lo cual se consideran mesófilas. fermentan azúcares con obtención de ácido propanoico, son catalasa positiva y en su mayoría se comportan como quimioheterótrofas, por lo que requieren nutrientes complejos para sobrevivir. La producción de ácido propiónico se genera mediante una vía metabólica que toma la glucosa o el lactato y lo transforma en propionato, acetato y CO₂, característica metabólica que le asigna importancia a este género en la industria alimenticia en la producción y transformación de productos lácteos.

Las bacterias de este género se encuentran formando parte del microbioma oral en humanos, en productos lácteos procesados y otros productos como olivas fermentadas, ensilado; también se han encontrado en el suelo. Otros como *P. acidifaciens*, *P. australiense*, han sido aisladas de algunos animales.

Propionibacterium acidifaciens, se encuentra en el microbioma oral y presenta una fuerte unión al colágeno, pero presenta una interacción débil o moderada con las proteínas salivales, realiza procesos de coagregación con las bacterias estreptocócicas de la boca y *Fusobacterium nucleatum* poco fuertes y es formador de biopelículas. Otra característica de *P. acidifaciens* es que es tolerante a los ácidos y se asocia a la formación de caries dentales en humanos.

Su morfología es pleomórfica, con tamaño de 0,7 a 0,86 micras de diámetro y 1,2 a 4 micras de largo. Después de la incubación durante 6 días en placas de agar muestra colonias de 0,7 a 1,1 milímetros de diámetro, circulares, con bordes regulares, convexas mostrando forma de cúpula, de color blanco a crema pálido y opaco con una apariencia interna sólida no translúcida. El crecimiento en medio líquido produce una turbidez moderada que se ve notablemente intensificada por la adición de carbohidratos fermentables. Las células son sacarolíticas, mostrando una gran variedad de azúcares fermentados como: fructosa, glucosa, lactosa, maltosa, manitol,

manosa, melibiosa, rafinosa, ramnosa, ribosa y sacarosa. No fermenta L-arabinosa, celobiosa, melezitosa y salicina. En su proceso metabólico se producen grandes cantidades de ácido acético y propiónico y ácido succínico en cantidades moderadas. No hidrolizan arginina, esculina, gelatina y urea, tampoco producen indol ni catalasa. Frente al caldo nitratos se observa una reacción de reducción negativa y cuando se siembra en medios con bilis se observa una fuerte disminución en el desarrollo de colonias. En su ADN G + C el contenido es del 70% en moles.

Propionibacterium namnetense, es una bacteria Gram positiva, anaeróbica, pleomórfica y en forma de bastón que se ha aislado de una muestra de infección ósea humana en Nantes, Francia en 2016 por Aubin GG, et al, quienes realizaron el estudio taxonómico polifásico de dos cepas aisladas de este proceso infeccioso. La secuenciación de los genes de ARNr 16S reveló que las cepas pertenecen a una nueva especie dentro del género *Propionibacterium*. La información fenotípica, genética molecular, quimiotaxonómica y filogenética, demuestra que el organismo representa un pariente distinto, aunque cercano, de *C. acnes*, para el cual se propuso el nombre de *Propionibacterium namnetense*.

P. cyclohexanicum, este microorganismo puede crecer en variedad de jugos y sobrevivir a una serie de procedimientos de alta temperatura. Por lo tanto, si inicialmente está presente en las materias primas, puede sobrevivir a los procedimientos de pasteurización utilizados en la industria del jugo de frutas, contaminarlos y, en consecuencia, estropear el producto final; de allí su importancia en la industria de alimentos.

En cuanto a su asociación con infecciones, Forbes-Faulkner JC, et al, describieron cuatro casos de infección en bovinos de diferentes lugares geográficos con una presunta nueva especie de *Propionibacterium* que ocasiona lesiones granulomatosas en cabeza, tórax, abdomen, zona pélvica y piel. Las

lesiones macroscópicas sometidas a examen consistieron en una cápsula externa fibrosa que encerraba un material amarillo espeso similar al pus. Una tinción de Gram de las secciones histológicas reveló bacterias Gram positivas, filamentosas y ramificadas. El cultivo bacteriológico, el análisis de la pared celular, las reacciones bioquímicas y la secuenciación del ARNr 16S, identificaron al organismo como un *Propionibacterium* sp estrechamente relacionada con *P. cyclohexanicum* y el grupo de *P. freudenreichii*, al cual se le denominó *P. cyclohexanicum*.

Propionibacterium freudenreichii, es una bacteria beneficiosa, se ha utilizado durante mucho tiempo como cultivo de maduración en la fabricación de queso de tipo suizo y se considera cada vez más por sus potentes efectos probióticos. Las propionibacterias tienen un metabolismo peculiar, caracterizado por la formación de ácido propiónico como principal producto final de la fermentación. Tienen pocos requisitos nutricionales y pueden utilizar una variedad de sustratos de carbono. A partir de la secuencia del genoma CIRM-BIA1 (T) de *P. freudenreichii*, se reconstituyeron muchas vías, incluido el ciclo de Wood-Werkman para la producción de acetato, butirato y propionato, las enzimas de la cadena respiratoria, las vías de síntesis de todos los aminoácidos y muchas vitaminas, incluida la vitamina B 12.

P. freudenreichii muestra características que permiten su supervivencia a largo plazo. Acumula polifosfato inorgánico (poliP) como reserva de energía, compuestos de almacenamiento de carbono (glucógeno) y solutos compatibles como la trehalosa. En el queso, *P. freudenreichii* juega un papel esencial en la producción de una variedad de compuestos de sabor que incluyen, no solo el ácido propiónico, sino también los ácidos grasos libres liberados a través de la lipólisis de los glicéridos de la leche y los ácidos metilbutanoicos resultantes de la degradación de los aminoácidos. Puede ejercer actividades de promoción de la salud, como un efecto

bifidogénico en el intestino humano y efectos inmunomoduladores benéficos.

Muchas propiedades de *P. freudenreichii* implicadas en la adaptación, la maduración del queso, la bioconservación y los efectos probióticos, dependen en gran medida de la cepa en particular, como lo afirman Thierry A, et al.

Al respecto del efecto bifidogénico en el intestino, Rabah H, et al, realizaron un estudio en el que exploraron en lechones sanos, cómo la matriz del queso afectaba las propiedades inmunomoduladoras de *P. freudenreichii*. Durante 2 semanas, tres grupos de lechones destetados consumieron, respectivamente, *P. freudenreichii* como cultivo líquido (cultivo PF), *P. freudenreichii* en forma de queso (PF-queso) o una matriz de queso estéril de control (Queso- matriz). La actividad metabólica *in vivo* de *P. freudenreichii* se evaluó determinando la concentración de ácidos grasos de cadena corta (AGCC) y la población de bifidobacterias en las heces de los lechones. Con todos los vehículos de administración, *P. freudenreichii* fue metabólicamente activo en el colon de los lechones mejoró la concentración de las bifidobacterias. El consumo de *P. freudenreichii* disminuyó la secreción de TNF α y de IL-10 por las células mononucleares de sangre periférica y no alteró la secreción de IL-10, IFN γ , IL-17 y TNF α en las células inmunitarias de los ganglios linfáticos mesentéricos. Este estudio mostró la importancia de considerar el vehículo de entrega para la administración de probióticos y confirmó el potencial antiinflamatorio de *P. freudenreichii*. Igualmente propone nuevas perspectivas para el uso de productos fermentados con propionibacterias como agentes preventivos de enfermedades inflamatorias del intestino y enfermedades infecciosas intestinales.

Propionibacterium australiense, bacteria que se ha recuperado de lesiones granulomatosas de bovinos infectados. Con un tamaño de genoma que varía entre 2,99 y 3,01 Mb, con

contenidos de G + C de 68,4% y 68,5%. Presenta características similares a los demás miembros del género.

En 2019, Jueeli D Vaidya et al, aislaron una nueva bacteria productora de propionato denominada cepa JV5T, proveniente del contenido fibroso del rumen de una vaca lechera Holstein Friesian. Las bacterias fueron positivas a la tinción de Gram, no móviles y aerotolerantes. El crecimiento se produjo entre 35 y 45°C, con un óptimo a 39°C. El rango de pH para el crecimiento fue de 6,5-8, con un óptimo a pH 7. La secuencia del gen rRNA 16S de la cepa fue 98,4 y 96,5% idéntica a las de *Propionibacterium australiense* y *Propionibacterium acidifaciens*, respectivamente. La cepa no produjo ureasa y pudo metabolizar el glutamato, pero no el aspartato ni la glicina, fermentó una variedad de sustratos, incluidos ciertos carbohidratos simples y complejos, alcoholes de azúcar y aminoácidos. El análisis quimiotaxonómico de la cepa JV5T reveló la presencia de isómeros del ácido meso-diamino pimélico similares a los encontrados en *P. australiense*, pero diferentes de *P. acidifaciens*. Con base en estos y otros hallazgos, se propuso la nueva especie denominada *Propionibacterium ruminifibrarum*.

Género *Cutibacterium*

Clasificación científica

Dominio: Bacteria

Filo: *Actinobacteria*

Orden: *Actinomycetales*

Familia: *Propionibacteriaceae*

Género: *Cutibacterium*

Corresponde a un género nuevo de bacterias anaerobias Gram positivas de forma bacilar, comparte muchas características con el género *Propionibacterium* y se compone de las

especies, *Cutibacterium acnes*, *Cutibacterium avidum* y *Cutibacterium granulosum*.

Cutibacterium acnes, que pertenece a la familia *Actinobacteria*, fue antes nombrado y conocido como *Propionibacterium acnes*, *Bacillus acnes*, *Corynebacterium acnes* y *Corynebacterium parvum*. Es un bacilo Gram positivo pleomórfico, anaerobio facultativo que puede tolerar el oxígeno, inclusive, en un 100% de saturación, aunque en estas condiciones se disminuye su tasa de crecimiento. Es inmóvil, no produce esporas, no posee capsula, es β hemolítico, tiene la capacidad de formar biofilm, de tamaño pequeño y se agrupa en empalizadas o “letras chinas”, se caracteriza por tener colonias color blanco-crema con un diámetro de 0,05 milímetros.

Suele encontrarse normalmente dentro de los folículos sebáceos de los seres humanos en ambientes ricos en ácidos grasos y en menor cantidad sobre la epidermis; constituye parte del microbioma natural de la piel junto con algunos otros microorganismos, incluidos *Staphylococcus epidermidis*, que se estima constituye 27% del microbioma natural cutáneo, mientras que *Cutibacterium acnes* representa aproximadamente el 2%. *S. epidermidis* tiene la capacidad de inhibir la proliferación de *C. acnes*, manteniendo un estado de simbiosis entre los organismos que constituyen el microsistema cutáneo. Se encuentra como comensal colonizando las áreas ricas en sebo, al igual que otros tejidos como: cavidad oral, pulmones, conjuntiva, próstata, cavidad oral, tracto gastrointestinal y urogenital. Actúa como patógeno oportunista, asociado principalmente en la etiología del acné.

Se distingue por la formación de ácido propiónico y acetato como principales metabolitos a partir de la degradación de glucosa. Produce enzimas como: proteasas, catalasa, hialuronidasa, lipasa, fosfolipasa C, neuraminidasa y fosfatasa ácida.

C. acnes tiene 5 biotipos y 2 serotipos, la clasificación de biotipos está basada en la capacidad de fermentación de tres azúcares (ribosa, eritritol, sorbitol), los serotipos en la

detección de la galactosa en la pared de las bacterias. El biotipo con mayor aislamiento y relación con la severidad del acné vulgar, es el número III.

Tabla 3.4. Biotipificación de *C. acnes*, (basado en el test de fermentación de azúcares)

Biotipo	Ribosa	Eritritol	Sorbitol
I	+	+	+
II	+	+	-
III	+	-	+
IV	+	-	-
V	-	-	-

Tabla 3.5. Serotipos de *C. acnes*, (basado en la detección de galactosa en la pared)

Serotipo	Relación con el biotipo
I galactosa (+)	Biotipos del I hasta el V
II galactosa (-)	Biotipo I y II

La temperatura óptima para su desarrollo está en un rango de 35-37°C, siendo termosensible, por tanto, las temperaturas mayores a 38°C no permiten su desarrollo. Aunque está clasificado dentro de los microorganismos anaerobios, estudios recientes lo identifican con capacidad microaerofilia, su incubación es viable en una atmosfera de 5 a 15% de O₂ y 5-10% de CO₂, o en una atmósfera anaerobia que contenga 5% de H₂, 5-10% de CO₂ y 85-90% de N₂.

In vitro, *C. acnes*, tiene un crecimiento lento, el tiempo de incubación oscila 4-14 días mínimo. Los medios de cultivo que se utilizan con mayor frecuencia para su aislamiento son: agar Brucella, agar Wilkins Chalgreen que ha mostrado ser más funcional y productivo cuando está suplementado con sangre; otros son agar infusión cerebro- corazón, agar sangre para anaerobios, agar glicerol al 4%, agar tripticasa soya con extracto de levadura, agar chocolate y agar Schaedler.

La actividad metabólica de las *Propionibacterias* y *Cutibacterias* está dada por reacciones bioquímicas en ausencia de oxígeno. El ciclo específico y la principal ruta metabólica de carbono de éstas, es el ciclo Wood-Werkman, por medio del cual el piruvato se convierte en propionato. Otras vías que utiliza como alternativa según la disponibilidad de nutrientes son la glicolisis y la de pentosa fosfato. Por medio de la ruta Wood-Werkman se producen NADH, equivalentes reductores de NADPH, ATP y precursores de metabolitos, indispensables para biosíntesis de compuestos esenciales, aminoácidos, purinas, glicerol, ácidos grasos, vitaminas, N-acetil glucosamina, N-acetilmurámico, estos dos últimos importantes para la formación de peptidoglicano el cual le proporciona la estructura a la pared celular, en el proceso de división celular. Al igual que las *Propionibacterias* tienen una mejor viabilidad cuando tienen al alcance carbohidratos como la glucosa, lactosa, glicerol, manosa, galactosa, fructosa utilizados en la fase exponencial, cuando las bacterias agotan estos nutrientes pueden activar rutas para utilizar inositol, L-arabinosa, eritritol, adonitol, esculina, xilitol, glucanato, D-fructuosa, lo cual les permite mantenerse en la etapa estacionaria. El nitrato, el azufre o iones ferrosos pueden actuar como aceptores de electrones, ayudando a mantener el equilibrio redox necesario en el entorno anaerobio que necesitan.

Por otro lado, *C. acnes* cuando está en los folículos pilosebáceos, utiliza lípidos que le sirven como estimulantes de crecimiento, algunos son: ácidos grasos, triglicéridos, ácido oleico, glicerol y folatos. Otros compuestos utilizados en el metabolismo son los aminoácidos, por ejemplo: triptófano, L-metionina, serina, arginina, fenilalanina, L-alanina y glutamato. La característica metabólica de degradar triglicéridos presentes en los ambientes lipídicos en los que residen, convirtiéndolos en ácidos grasos de cadenas ligeras y generando como producto de fermentación al ácido propiónico, le permite el mantenimiento de un microambiente favorable en la piel.

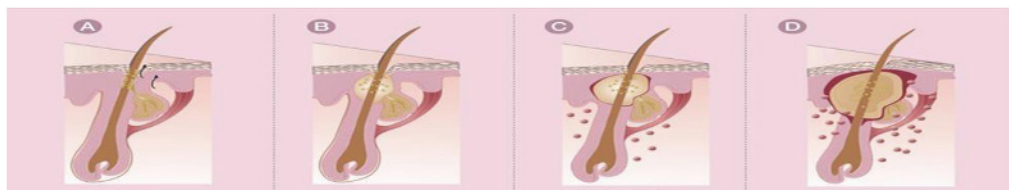


Figura 3.7. Pasos de la alteración folicular. Tomado de: K. Wolff, R. Allen, A. Savedra. *Atlas de Dermatología Clínica* 7e.

Como factores de virulencia *C. acnes* cuenta con genes que codifican para enzimas que están involucradas con la formación del biofilm, tales como: glycoltransferasa, uridina difosfato-N- acetilglucosamina 2- epimerasa. Las proteínas, adhesinas y polisacáridos también ayudan en la formación. También libera lipasas, factores quimiotácticos, metaloproteasas y porfirinas. Estos generan toxicidad, reducción de oxígeno y radicales libres, causando daño a las células del huésped como los queratinocitos y sebocitos.

Su capacidad proinflamatoria es mayor a la de *Streptococcus* y *Staphylococcus*. Estimula la expresión de marcadores de la inmunidad innata, como los Toll (TLR), péptidos antimicrobianos AMP, receptores activados por proteasas, metaloproteasas de la matriz MMP, Interleuquinas IL 1, 8, 6 y 12 y TNF, regulando así la respuesta inflamatoria.

En cuanto a la respuesta inmune aún no se conoce con certeza la interacción de *C. acnes*, se conoce que causa una sobreexpresión de moléculas como: E-selectina, molécula vascular de adhesión celular-1, molécula de adhesión intracelular, las cuales provocan una infiltración por linfocitos TC4 + y macrófagos, lo que conlleva a una hiperqueratinización folicular. Este microorganismo también tiene resistencia a la fagocitosis.

C. acnes, es un patógeno oportunista implicado en el acné como uno de los principales factores que desarrollan la patología; el acné afecta áreas con densidades altas de folículos sebáceos, como la cara, parte superior del pecho y la espalda.

Las manifestaciones y el tipo de clasificación, según su evolución, que se pueden evidenciar se describen en la siguiente tabla.

Tabla 3.6. *Manifestaciones clínicas del acné*

Comedones	Lesión básica. Cerrados: pequeños folículos tapados no expuesto a la superficie de la piel. Abiertos: caracterizado como puntos negros, son pequeños folículos con aberturas dilatadas sobre la piel. El color negro resulta de la oxidación de los desechos dentro del folículo.
Pápulas	Lesiones pequeñas, generalmente de color rojo, elevaciones elevadas de la piel.
Pústulas	Similares a las lesiones de las pápulas pero presentan acumulación central de pus.
Nódulos / Quistes	Son lesiones generalmente grandes que presentan hinchazones-inflamaciones dolorosas.

Otras infecciones con las que se asocian son: infecciones del sistema nervioso central, cuando se realizan procedimientos neurológicos; endocarditis relacionada con la instalación y uso de válvulas cardíacas; cirugías, sobre todo en procedimientos coronarios; osteomielitis relacionadas con punción lumbar; endoftalmitis postoperatoria e infecciones articulares secundarias a procedimientos quirúrgicos.

Cutibacterium granulosum, es una bacteria anaerobia que forma parte del microbioma cutáneo en el humano. Al igual que *C. acnes*, se encuentra en las zonas productoras y acumuladoras de sebo en la piel, pero en menor proporción. Aunque se ha encontrado en pacientes que padecen acné, su rol en el desarrollo de dicha patología, no es claro todavía.

Cutibacterium avidum, también es un comensal cutáneo conocido, sin embargo, puede actuar como patógeno oportunista, causando infecciones superficiales o profundas de

tipo invasivo. Dentro del espectro de infecciones con las que se asocia se encuentran mamarias, abscesos cutáneos, endocarditis infecciosa e infecciones relacionadas con el uso de dispositivos intrauterinos. El nicho ecológico de *C. avidum* es claramente diferente al de otros miembros del género, se encuentra en la región axilar o en sitios húmedos más que en áreas secas y expuestas y el número de microorganismos aumenta durante la pubertad. Se ha utilizado por su capacidad para modular la respuesta inmune y por sus propiedades antitumorales, similares a algunos *Propionibacterium*.

Los métodos convencionales de cultivo microbiano y los procesos de identificación permiten su caracterización precisa. Gracias a las herramientas ómicas modernas utilizadas para los enfoques filogenómicos, se ha conocido la patogénesis de *C. avidum*, las interacciones huésped-bacteria y la caracterización de los factores de virulencia. Este microorganismo causa diversas enfermedades mediadas por múltiples factores de virulencia, como la adherencia mediante pilis y la formación de biopelículas, así como en las funciones de aptitud, supervivencia y defensa, presenta la producción de lipasas, hialuronidasas y hemolisinas. Numerosas regiones muestran la presencia de fagos y transferencia horizontal de genes.

C. avidum, muestra sensibilidad a un amplio espectro de antibióticos como β -lactámicos, fluoroquinolonas, macrólidos y rifampicina, aunque se ha descrito resistencia a eritromicina y clindamicina. Se requiere un régimen de tratamiento a largo plazo con una combinación de antibióticos para eliminar con éxito las bacterias que están adheridas, particularmente en el caso de infecciones profundas después de la cirugía de desbridamiento.

Cuando se compara *C. avidum* con otras especies del género, se encuentra que posee un genoma de más o menos 400 kb, con 1865 genes, de los cuales 1592 codifican para síntesis de proteínas. En cuanto a su comportamiento frente a

los antibióticos para el tratamiento, se observa que algunas cepas muestran sensibilidad a: la penicilina G, ampicilina, cefotaxima, eritromicina, clindamicina, rifampicina, imipenem, amoxicilina, piperacilina, cloranfenicol, cefalotina y cefazolina; y resistencia a metronidazol, sulfonamida, fosfomicina y tobramicina.

Género *Eubacterium*

Clasificación científica

Dominio: Bacteria

Filo: *Firmicutes*

Clase: *Clostridia*

Orden: *Clostridiales*

Familia: *Eubacteriaceae*

Género: *Eubacterium*

Del género existen muchas especies fenotípicamente heterogéneas: *Eubacterium aggregans*, *Eubacterium angustum*, *Eubacterium barkeri*, *Eubacterium brachy*, *Eubacterium budayi*, *Eubacterium callanderi*, *Eubacterium cellulosolvens*, *Eubacterium combesii*, *Eubacterium coprostanoligenes*, *Eubacterium dolichum*, *Eubacterium eligens*, *Eubacterium hallii*, *Eubacterium infirmum*, *Eubacterium limosum*, *Eubacterium minutum*, *Eubacterium multiforme*, *Eubacterium nitritogenes*, *Eubacterium nodatum*, *Eubacterium oxidoreducens*, *Eubacterium plexicaudatum*, *Eubacterium pyruvativorans*, *Eubacterium ramulus*, *Eubacterium rectale*, *Eubacterium ruminantium*, *Eubacterium saphenum*, *Eubacterium siraeum*, *Eubacterium sulci*, *Eubacterium tarantellae*, *Eubacterium tenue*, *Eubacterium tortuosum*, *Eubacterium uniforme*, *Eubacterium ventriosum*, *Eubacterium xylanophilum* y *Eubacterium yurii*.

Aunque cada año se describen numerosas especies anaerobias aisladas de muestras clínicas y de la flora normal, es difícil demostrar su patogenicidad, son oportunistas, proceden habitualmente del propio microbioma y se aíslan

frecuentemente asociadas a otras bacterias. Los miembros de este género son bacilos anaerobios pleomórficos y Gram positivos, generalmente se encuentran en infecciones mixtas asociadas con la flora bucofaríngea o intestinal.

Estas bacterias se caracterizan por poseer una pared celular rígida compuesta por una gruesa capa de peptidoglicano, pueden ser móviles o inmóviles. Cuando presentan movilidad, está dada por la presencia de un solo flagelo.

Es un microorganismo oportunista que hace parte del microbioma oral y se clasifica en el grupo C, como las bacterias que actúan a nivel del periodonto por su actividad proteolítica y, especialmente, porque excretan factores nutricionales para las bacterias periodontopatógenas, propiamente dichas. Se han aislado también especies de este género en mujeres con vaginosis bacteriana.

Especies de *Eubacterium* del microbioma intestinal humano juegan un papel importante en el mantenimiento de la salud, en parte, al producir butirato, la principal fuente de energía de las células epiteliales del colon.

Eubacterium limosum, es una de las pocas bacterias acetogénicas que tiene los genes que codifican la síntesis de butirato a partir de acetyl-CoA y, de hecho, se sabe produce butirato a partir de CO, pero no a partir de $H_2 + CO_2$. La producción de butirato a partir de CO solo se ha observado en biorreactores con reciclaje celular o en cultivos discontinuos con adición de acetato. El crecimiento de esta bacteria en medios con glucosa, conlleva a la formación de butirato, pero solo en la fase de crecimiento estacionario; por otro lado, el crecimiento en metanol también conduce a la formación de butirato en la fase estacionaria del crecimiento, resultados que son importantes para su aplicación en el área de la bioingeniería.

Eubacterium aggregans, es una bacteria Gram positiva, homoacetogénica, aislada de las aguas residuales de las almazaras en el proceso de extracción del aceite de oliva en Túnez,

específicamente de un digestor metanogénico anaeróbico alimentado con aguas residuales de molino de aceitunas. El extracto de levadura era necesario para el crecimiento de *Eubacterium aggregans*, pero también se podía utilizar como única fuente de carbono y energía. Utiliza algunos carbohidratos como glucosa, fructosa y sacarosa, compuestos orgánicos como lactato, crotonato, formiato, betaína, metanol, el grupo metoxilo de algunos compuestos aromáticos metoxilados y $H_2 + CO_2$. Los productos finales de la fermentación de carbohidratos fueron acetato, formiato, butirato, H_2 y CO_2 . Los productos finales que produce la bacteria a partir del lactato y compuestos aromáticos metoxilados son acetato y butirato. Esta especie es inmóvil, forma agregaciones celulares, crece de manera óptima a $35^\circ C$ y pH de 7,2 en medios con glucosa. *Eubacterium aggregans*, tiene un contenido de G + C del 55% en moles y filogenéticamente, está relacionado con *Eubacterium barkeri*, *Eubacterium callanderi* y *Eubacterium limosum*.

Eubacterium nodatum, *Eubacterium timidum* y *Eubacterium brachy*, son tres especies descritas por Hill GB, et al, a partir de muestras subgingivales tomadas de pacientes con periodontitis adulta moderada y grave. Excepto por el aislamiento de *E. brachy* de una infección pleuropulmonar, no han sido reportadas en otros sitios corporales infectados. Estas Eubacterias asacarolíticas que se encuentran en la enfermedad periodontal, también se pueden encontrar en numerosos sitios de infección diferentes, principalmente la cabeza y el cuello. Se observa similitud en las propiedades morfológicas celulares de *E. nodatum* y *Actinomyces* sp., como son la formación de colonias en forma de dientes molares y el aislamiento de casos de mandíbula abultada y del tracto genital de mujeres en asociación con el uso de un dispositivo anticonceptivo intrauterino. *E. timidum* y *E. brachy* se presentan con más frecuencia en infecciones de cabeza, cuello y tracto respiratorio. La L-lisina al 0,5% adicionada a los medios de cultivo estimula notablemente el crecimiento de *E. nodatum* y, en menor grado, otro grupo de *Eubacterium* productores de acetato y butirato.

La producción de acetato de fenilo es un marcador útil en la identificación de *E. timidum*; aunque el aislamiento y la identificación de la mayoría de estas especies sigue siendo algo difícil, la evidencia de las infecciones dentales sugiere que estas especies son patógenos potenciales que probablemente se pasan por alto en el material clínico infectado sin atención especial a la incubación y uso de medios de aislamiento enriquecidos.

Género *Catabacter*

Clasificación científica

Reino: Bacteria

Filo: *Firmicutes*

Clase: *Clostridia*

Orden: *Clostridiales*

Familia: *Catabacteriaceae*

Género: *Catabacter*

Su denominación se relaciona con el hecho de que sus miembros producen catalasa. Se caracteriza por tener forma cocobacilar y presentar movilidad, la cual se da por la presencia de un penacho lateral de flagelos. Está relacionado filogenéticamente con los grupos I, III, y XIVb de *Clostridium*.

Catabacter hongkongensis, crece en agar sangre de corde-ro con la generación de colonias puntiformes no hemolíticas después de 48 h de incubación a 37 °C en ambiente anaeróbico, aunque también es relativamente aerotolerante. Son catalasa positiva, móviles, producen ácido a partir de arabinosa, glucosa y xilosa. No producen indol, no reducen el nitrato y son sensibles a la bilis.

En el perfil bioquímico para su identificación, presenta dos reacciones que son importantes: la producción de catalasa y la movilidad positiva. Esta especie fue caracterizada

genéticamente por secuenciación del ARNr 16S a partir de 4 aislamientos realizados en Hong Kong y Canadá. Se presume puede hacer parte del microbioma de materia fecal. Se asocia con la producción de bacteriemias de origen abdominal. Frente al tratamiento antibiótico las cepas analizadas mostraron sensibilidad al metronidazol y vancomicina y resistencia a cefotaxima.

Género *Moryella*

Clasificación científica

Dominio: Bacterias

Filo: *Firmicutes*

Clase: *Clostridia*

Orden: *Clostridiales*

Familia: *Lachnospiraceae*

Género: *Moryella*

Se relaciona con el grupo XVa de *Clostridium* y pertenece a la familia *Lachnospiraceae*. Es un género bacteriano *Gram positivo*, no formador de esporas, estrictamente anaeróbico e inmóvil con una especie conocida *Moryella indoligenes* aislada de muestras clínicas.

Moryella indoligenes, su nombre específico se relaciona con la capacidad de producir indol. Este bacilo mide 0,8 a 1,7 micras de largo y 0,5 a 0,6 micras de ancho y es inmóvil. A la tinción con Gram se comporta como Gram variable, aunque en su estructura de pared es Gram positivo. Su morfología es elongada, a veces deforme, de extremos afilados, generalmente se encuentra aislado, pero también se observa asociado en parejas y a veces en cadena. Tras 24 a 48 horas de incubación da lugar a la aparición de colonias muy pequeñas de 0,5 a 1 milímetro de diámetro. Es débilmente sacarolítico, fermenta de forma variable la glucosa, galactosa, maltosa y

ribosa con la producción de ácidos acético, butírico y láctico. Se observa que es catalasa, hidrólisis de la gelatina, y de la esculina negativas; no produce reducción de nitratos. Su comportamiento frente a los antibióticos muestra sensibilidad a kanamicina, colistina, vancomicina, metronidazol y bilis. La especie fue caracterizada genéticamente por secuenciación del ARNr 16S. Su descripción se basa en 3 cepas, las cuales se aislaron de abscesos en glúteo, abdomen y muslo y se piensa que su hábitat puede ser abdominal.

Género *Solobacterium*

Clasificación científica

Reino: Bacterias

Filo: *Firmicutes*

Clase: *Erysipelotrichi*

Orden: *Erysipelotrichales*

Familia: *Erysipelotrichidae*

Género: *Solobacterium*

Género asociado conformado por una única especie *Solobacterium moorei*.

Solobacterium moorei, es un bacilo Gram positivo anaeróbico, anteriormente conocido como *Bulleidia moorei*.

Esta bacteria fue descrita en el año 2000 a partir de 3 cepas aisladas de materia fecal y de la cual últimamente se han informado casos que indican que tiene implicación clínica. El primero de estos casos se relaciona con una bacteriemia en un paciente con mieloma múltiple y con probable comienzo en un absceso dentoalveolar. El segundo caso fue otra bacteriemia, en una paciente con una proctitis aguda posradioterapia por un carcinoma de cérvix y, el tercer caso, correspondió a una tromboflebitis séptica femoral con embolismo pulmonar en un adicto a drogas parenterales. A los pacientes se

les realizó hemocultivo para bacterias aerobias y facultativas y para bacterias anaerobias, de donde se aisló *Solobacterium moorei*, en cultivo mixto en conjunto con *Fusobacterium nucleatum* y *Bacteroides ureolyticus*. Esta bacteria responde muy bien al tratamiento con penicilina y metronidazol. En los 3 casos la bacteria fue identificada por secuenciación del ARNr 16S. En sus características bioquímicas se observa que licua la gelatina, hidroliza la esculina y fermenta galactosa, glucosa y sacarosa, con resultados variables de las reacciones en las 3 cepas.

Género *Actinobaculum*

Reino: Bacterias

Filo: Firmicutes

Clase: *Actinobacteridae*

Orden: *Actinomycetales*

Familia: *Actinomycetaceae*

Género: *Actinobaculum*

Este género comprende las especies *Actinobaculum massiliense*, *Actinobaculum schaalii* (reclasificado en 2016 en un nuevo género *Actinotignum*) y *Actinobaculum urinale*, todas de interés clínico en humanos y *Actinobaculum suis* -especie tipo- de interés veterinario.

Se comportan como anaerobios facultativos, con la excepción de *A. urinale*, que requiere atmósfera anaerobia, en el proceso de aislamiento primario; las posteriores siembras y pruebas se pueden realizar en atmósfera con CO₂.

Actinobaculum massiliense, es un cocobacilo anaerobio Gram positivo que coloniza el tracto urinario humano; este microorganismo se identificó a partir de una cepa aislada de agar sangre y mediante secuenciación del gen 16S rRNA y proteómica de escopeta, se confirmó su género y especie.

Posterior a este estudio se ha aislado de otras varias muestras clínicas. Como característica patogénica se ha identificado *A. massiliense* como cohabitante de biopelículas polimicrobianas de catéter uretral, junto con uropatógenos más comunes, como *Proteus mirabilis* y *Aerococcus urinae*. En los estudios realizados a este bacilo se ha analizado la relevancia funcional de sus proteínas con énfasis en la importación de nutrientes y la respuesta a las condiciones hostiles del huésped, mostrando evidencia de generación de respuesta inmune celular con infiltración de neutrófilos. Se le han identificado dos supuestas proteasas de tipo subtilisina y un transportador de hemo/oligopéptido, los cuales fueron abundantes *in vivo* y probablemente se sospecha sean importantes para la supervivencia y la capacidad de formar la biopelícula. Otras proteínas identificadas *in vitro* de *A. massiliense* son las que facilitan la absorción de xilosa / glucuronato y oligopéptidos, también altamente expresadas *in vivo*, las cuales alimentan metabolitos en rutas mixtas de fermentación ácida y peptidólisis, respectivamente, para generar energía. También se identificó una policétido sintasa que se predice que genera un metabolito secundario que interactúa con el huésped humano o con otros microorganismos co-colonizadores.

Aunque se comporta como un anaerobio facultativo, su aislamiento y crecimiento inicial en ambiente anaerobio, mejora las tasas de recuperación, obteniéndose el desarrollo de pequeñas colonias grises. El estudio genómico de *A. massiliense* reveló la existencia de genes para la formación de fimbrias y cápsulas y para los sistemas de bacteriocina y toxina-antitoxina. Los datos sugieren que *A. massiliense* ha adquirido más genes a través de la transferencia lateral de genes que *A. schaalii*, mientras que la especie también comparte varios factores de virulencia putativos y aún se sabe poco acerca de sus adaptaciones metabólicas al tracto urinario humano y a los nutrientes de que dispone en la orina.

Actinobaculum schaalii, ahora denominado *Actinotignum schaalii* es un uropatógeno resistente a ciprofloxacino y

trimetoprim-sulfametoxazol. Requiere un tiempo de cultivo prolongado y condiciones específicas, se considera parte del microbioma bacteriano normal. Sandlund J, et al, revisaron 17 casos de bacteriemia por esta bacteria, demostrando su potencial invasivo y, al respecto, recomiendan que, *A. schaalii* siempre debe descartarse como agente causal en los pacientes con infección del tracto urinario o urosepticemia con fracaso del tratamiento inicial.

Beguelin C, et al, se refieren a *Actinobaculum schaalii* como una nueva especie que hasta ahora se ha aislado de la sangre, la orina y el pus en humanos. Probablemente se ha subestimado su importancia y la de otros *Actinobaculum* spp. que también pueden haber sido infradiagnosticados. Estos investigadores realizaron un estudio retrospectivo que incluyó todos los casos conocidos de infecciones por *A. schaalii* identificados desde 2004 en el cantón de Neuchâtel (170.000 habitantes) en Suiza. Las cepas se cultivaron y aislaron en el laboratorio de bacteriología utilizando su procedimiento de rutina. La identificación incluyó una tira Rapid ID 32 A (bioMérieux) y secuenciación del gen rRNA 16S. Se encontraron 21 muestras positivas en 19 pacientes (11 hombres, 8 mujeres) de todas las edades (rango 16-91 años): 10 de orina (50%), seis de sangre (30%), una de sangre y orina (5%) y tres de pus (15%). Y trece casos de 17 (76%) con muestras de sangre u orina tenían patologías subyacentes del tracto genitourinario. En las muestras positivas para *A. schaalii*, se encontraron leucocitos en todas las muestras, pero todas las pruebas de reducción de nitrato a nitrito fueron negativas. El inicio del tratamiento apropiado se retrasó debido a la disminución de la sensibilidad a los antibióticos comúnmente utilizados para las infecciones urinarias como ciprofloxacina y trimetoprim / sulfametoxazol y al retraso en el diagnóstico microbiológico.

Por tanto, concluyen que *A. schaalii* debe buscarse específicamente en los casos de leucocituria con una prueba de nitrito negativa y bacilos grampositivos en la tinción de Gram

en pacientes con patología subyacente del tracto genitourinario, en lugar de descartar estos hallazgos como colonización clínicamente irrelevante por bacterias corineiformes, ya que esta infección puede ser mucho más común de lo que se piensa.

Cattoir V, et al, sugieren que *A. schaalii* probablemente forma parte de la flora comensal del tracto genitourinario humano y que debido a su crecimiento fastidioso en condiciones aeróbicas y su parecido con las bacterias de la flora residente, se pasa por alto con frecuencia o se considera un contaminante. Igualmente afirman que aún es difícil de identificar fenotípicamente, por lo cual requiere identificación molecular. Estudios recientes que utilizaron ensayos de PCR sensibles mostraron que su importancia clínica se subestimó en gran medida ya que, desde su primera descripción en 1997, *A. schaalii* ha sido responsable de numerosas infecciones del tracto urinario (ITU), principalmente en mayores de 60 años y pacientes con enfermedades urológicas subyacentes. También se han descrito numerosos casos de infecciones graves, como urosepsis, bacteriemia, celulitis, espondilodiscitis y endocarditis. *In vitro*, *A. schaalii* es susceptible a los β -lactámicos, pero es resistente al ciprofloxacino y al cotrimoxazol, antimicrobianos de primera elección para el tratamiento oral de las infecciones urinarias.

Género *Actinotignum*

Clasificación científica

Reino: Bacterias

Filo: Firmicutes

Clase: *Actinobacteridae*

Orden: *Actinomycetales*

Familia: *Actinomycetaceae*

Género: *Actinotignum*

Lotte R, et al, describen al género con tres especies: *Actinotignum schaalii* (antes *Actinobaculum schaalii*, descrito anteriormente), *Actinotignum urinale* y *Actinotignum sanguinis*. *A. schaalii* es la especie más frecuentemente involucrada en infecciones humanas con 172 casos, en su mayoría, infecciones del tracto urinario (ITU) notificados hasta 2016. También se han descrito infecciones invasivas y es responsable de infecciones urinarias, particularmente en hombres mayores y niños pequeños. *A. schaalii* es una causa subestimada de infecciones urinarias debido a su crecimiento fastidioso en los medios habituales, de hecho, esta bacteria es de crecimiento lento y requiere medios enriquecidos con sangre y un tiempo de incubación mínimo de 48 horas bajo atmósfera anaeróbica o de CO₂ al 5%. Además, solo la espectrometría de masas de tiempo de vuelo de ionización / desorción láser asistida por matriz (MALDI-TOF) o los métodos moleculares permiten la identificación precisa de esta bacteria.

Género *Mobiluncus*

Clasificación científica

Dominio: Bacteria

Filo: *Actinobacteria*

Clase: *Actinobacteria*

Subclase: *Actinobacteridae*

Orden: *Actinomycetales*

Suborden: *Actinomycineae*

Familia: *Actinomycetaceae*

Género: *Mobiluncus*

Mobiluncus, es un género de bacterias Gram variables, anaeróbicas, se observan con morfología de bacilos de 2,5 a 3 micras de longitud, curvos, muchos en forma de media luna con extremos ahusados, que se presentan solos o en pares y

son móviles. Son oxidasa negativa y sacarolíticos, producen ácido (pH <5,5) a partir del glucógeno y dan positivo en la prueba CAMP. Sus especies se encuentran en la vagina femenina, particularmente asociada con *Gardnerella vaginalis* en casos de vaginosis bacteriana.

El género está conformado por las especies *M. curtisii* subsp. *curtisii*, *M. curtisii* subsp. *holmesii* y *Mobiluncus mulieris*.

A pesar de que la vaginosis bacteriana (VB) es la causa más prevalente de flujo vaginal sintomático es un factor de riesgo para el parto prematuro y la adquisición del VIH, su causa sigue siendo desconocida y su tratamiento no tan óptimo. Las tasas iniciales de curación de la VB no solo son bajas, sino que las tasas de recurrencia son altas, generalmente asociadas a la resistencia al metronidazol, por lo regular debido a la penetración inadecuada de éste en la comunidad de biopelículas.

La presencia de *Mobiluncus* spp. (*M. curtisii* y *M. mulieris*) en la vagina es muy específico, aunque no sensible para el diagnóstico de VB. De los dos, *M. curtisii* parece predominar *in vitro* y es resistente al metronidazol como ya se mencionó. Por lo tanto, la recurrencia de BV podría estar relacionada con la falta de eliminación de este microorganismo. En diversos estudios se ha encontrado que la presencia y persistencia de *Mobiluncus* spp y *M. curtisii* detectada por PCR está altamente asociada con la recurrencia de VB y se desconoce si estos organismos son verdaderamente patógenos o simplemente se encuentran como un marcador de mayores alteraciones de la flora vaginal.

Ecosistema vaginal y etiología de la Vaginosis Bacteriana (VB)

La flora vaginal normal está integrada por un grupo de bacterias saprofitas que desempeñan funciones de defensa del ecosistema vaginal. En este grupo se encuentran los *Lactobacilos*, como principales actores en la función de proteger esta mucosa mediante el pH ácido. En el ecosistema vaginal

también se encuentran otras bacterias aerobias principalmente difteroides y especies de estreptococos, *Staphylococcus epidermidis*, y *Escherichia coli*. *Gardnerella vaginalis*, *Mobiluncus*, y *Bacteroides*, entre otras especies; son las bacterias anaerobias que se detectan con mayor frecuencia en el mayor porcentaje de las mujeres.

La vaginosis bacteriana (VB) se describe como un síndrome polimicrobiano heterogéneo que se caracteriza por la ausencia o baja en la cantidad de *Lactobacillus* spp., con una baja en la producción de peróxido de hidrógeno y de ácido láctico que como consecuencia favorece el aumento en el número y la diversidad de bacterias anaerobias o facultativas en la mucosa vaginal, como los *Mobiluncus* spp, *Bacteroides* spp, *Prevotella* spp, *Peptostreptococcus* spp, *Fusobacterium*, *Veillonella*, *Mycoplasma hominis*, *Peptococcus* spp y *Ureaplasma urealyticum*, además de la *Gardnerella vaginalis*, las cuales se han convertido en un problema de salud pública dada la frecuencia con que se presentan y las complicaciones ginecológicas que trae.

Tabla 3.7. Comparativo microbiota / microbioma normal en vagina y vaginosis bacteriana

Parámetro bacteriano	Normal	Característica en la VB
Presencia de <i>Lactobacillus</i> spp.	<i>Lactobacillus</i> spp., en cantidad abundante	Pocos <i>Lactobacillus</i> spp., para la producción de H ₂ O ₂
Cantidad de <i>Lactobacillus</i> spp.	Menor de 10 ⁷ <i>Lactobacillus</i> spp.por gramo de tejido	10 ⁹ <i>Lactobacillus</i> spp., por gramo de tejido.
Relación bacterias anaerobias/aerobias	2 a 5 : 1	100 a 1000 : 1
Presencia de <i>Gardnerella vaginalis</i>	Presente en 5 al 60 % de las Mujeres	Presente en el 95% de las mujeres
Presencia de <i>Mobiluncus</i> spp.	Presente en 0 al 5 % de las mujeres	Presente en el 50 a 70% de las mujeres
Presencia de <i>Mycoplasma hominis</i>	Presente en 15 al 30 % de las mujeres sexualmente activas	Presente en el 60 a 75% de las mujeres

Dentro de las complicaciones ginecológicas con que se asocia la vaginosis bacteriana están: endometritis crónica,

enfermedad pélvica inflamatoria (EPI) y celulitis vaginal después de la realización de biopsia endometrial, histeroscopia, histerosalpingografía, inserción de DIU, cesárea y legrado uterino, que son procedimientos ginecológicos de tipo invasivo. También representa un peligro en el embarazo ya que puede originar resultados adversos como rotura prematura de membranas, parto pretérmino, infección intra-amniótica y endometritis posparto. Este síndrome también se asocia con otros riesgos de tipo reproductivo y ginecológico relacionados con la neoplasia cervical intraepitelial, la corioamnionitis y las infecciones postcirugía ginecológica. Varios estudios alrededor del tema indican que la presencia de VB, puede incrementar la susceptibilidad para adquirir otras infecciones de transmisión sexual. También se relaciona con sangrado uterino anormal, disminución en el éxito de los procedimientos de fertilización *in vitro* y con el aumento en el riesgo de desarrollar cistitis y, aunque no afecta la concepción, incrementa el riesgo de aborto en el primer trimestre de embarazo en mujeres sometidas a fertilización *in vitro*.

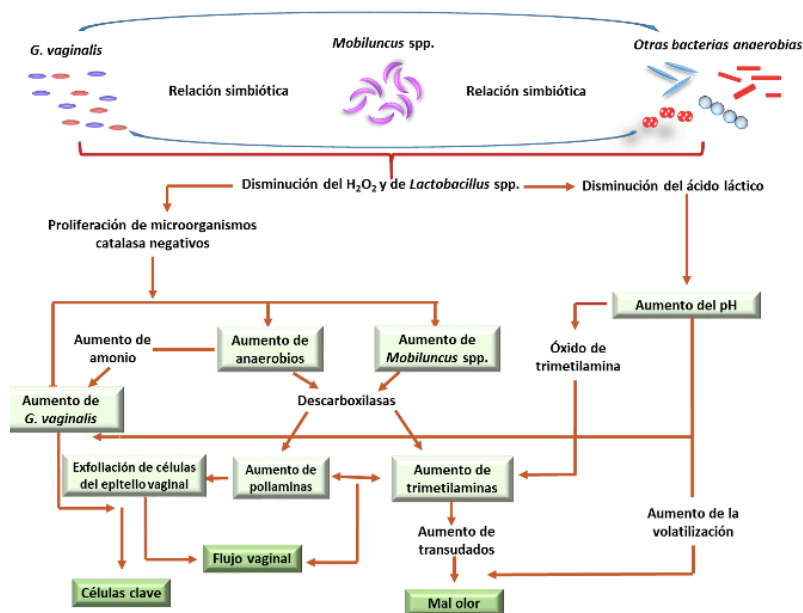


Figura 3.8. Etiología y patogénesis de la vaginosis bacteriana. Fuente: Corrales, 2024.

Dentro de los signos y síntomas de la VB cuando estos se presentan se observa secreción grisácea o blanquesina no homogénea de consistencia lechosa con pH de 4.5, con olor fétido (olor a pescado, mediante el test de aminas) y prurito vulvar. Menos frecuentemente son los síntomas como irritación, ardor vaginal, picazón, dolor, disuria y dispareunia. Una característica es el olor típico a pescado, sobre todo, cuando entra en contacto con sustancias alcalinas y este se puede incrementar en los períodos de menstruación y en el acto sexual desprotegido, ya que por el pH de la sangre y el semen facilitan la liberación de las aminas volátiles. Habitualmente no se aprecian signos de inflamación y el cérvix se observa normal.

Género *Varibaculum*

Clasificación científica

Dominio: Bacteria

Filo: *Actinobacteria*

Clase: *Actinobacteria*

Subclase: *Actinobacteridae*

Orden: *Actinomycetales*

Suborden: *Actinomycineae*

Familia: *Actinomycetaceae*

Género: *Varibaculum*

Hasta 2016 se conocía una sola especie, *Varibaculum cambriense*. En 2017, E. Guilhot, et al, identifican una nueva especie que denominaron *Varibaculum timonense*, luego Stefanie P. Glaesera, et al, con un estudio realizado en Suecia y Reino Unido a partir de diferentes muestras clínicas aislaron cinco bacterias difteroides estrictamente anaeróbicas, con tinción Gram positiva, las cuales de acuerdo con verificación de características moleculares y fisiológicas pertenecen al género *Varibaculum* y propusieron una nueva especie *Varibaculum*

anthropi que incluye tres genomovares genéticamente distintos. En 2019, E.H.A. Niang, et al, reportan una nueva cepa aislada de la orina de un hombre tratado por nefropatía diabética y la denominan como *Varibaculum massiliense*.

Este género está filogenéticamente relacionado con *Mobiluncus*. Su morfología corresponde a células difteroides cortas, rectas o curvas, con tinción Gram positiva. No forma esporas, es inmóvil, anaerobio facultativo, puede crecer con un 5% de CO₂. Las colonias son pequeñas o muy pequeñas y no hemolíticas. Es catalasa negativa, los productos finales del metabolismo de la glucosa son los ácidos láctico y succínico con pequeñas cantidades de ácido acético. El ácido se produce a partir de la glucosa y de algunos otros azúcares. Hidroliza el hipurato, pero no la esculina, la gelatina ni el almidón. No produce acetoina, las reacciones de leucina arilamidasa y la α - glucosidasa son débilmente positivas. La arginina dihidrolasa, el indol, la pirazinaminidasay la ureasa son negativos, por el contrario, la mayoría reducen el nitrato a nitrito.

Género *Bifidobacterium*

Clasificación científica

Dominio: Bacteria

Filo: *Actinobacteria*

Clase: *Actinobacteria*

Subclase: *Actinobacteridae*

Orden: *Bifidobacteriales*

Familia: *Bifidobacteriaceae*

Género: *Bifidobacterium*

Incluye más de 42 especies, de las cuales 12, son de interés en humanos junto con los géneros relacionados *Alloscardovia*, *Parascardovia* y *Scardovia* que pertenecen a la familia *Bifidobacteriaceae*.

Este género comprende bacterias Gram positivas, anaeróbicas, inmóviles, frecuentemente ramificadas. El hábitat de las especies de este género son el tracto intestinal de mamíferos, aves e insectos. En el humano, se encuentran en el intestino alrededor de 49 especies, principalmente en niños, pues hacen parte del grupo de bacterias que colonizan el intestino de los neonatos. Muchas especies de este género se consideran beneficiosas para la salud, por lo que se utilizan como probióticos.

Algunas de estas bacterias se encuentran naturalmente en alimentos de consumo rutinario como la especie *Bifidobacterium animalis*, presente en productos lácteos fermentados. Otras cepas que se producen de manera comercial como probióticos son: *B. bifidum*; *B. longum*; *B. infantis*; *B. adolescentis*.

Algunos de los efectos fisiológicos y beneficios clínicos atribuidos a estas bacterias son: actividad para regular el tránsito intestinal, inhibición del crecimiento de patógenos, modulación del sistema inmunitario y proliferación celular intestinal, entre otros.

Entre los mecanismos empleados por esta bacteria para actuar contra los microorganismos patógenos entéricos se encuentra la síntesis de sustancias antimicrobianas como las bacteriocinas y la competencia por los nutrientes y por los sitios de adhesión a las células epiteliales.

David Groeger, et al, realizaron un estudio con *Bifidobacterium infantis* para observar los efectos inmunorreguladores beneficiosos. Los resultados demostraron la capacidad de esta bacteria para reducir los biomarcadores proinflamatorios sistémicos en afecciones tanto gastrointestinales como no gastrointestinales, mostrando que, los efectos inmunomoduladores del microbioma en humanos no se limitan solamente al sistema inmunológico de las mucosas, sino que se extienden al sistema inmunológico sistémico.

Sin embargo, se han aislado en infecciones mixtas asociadas con caries dental. Otras infecciones por *Bifidobacterium*

spp. son poco frecuentes y suceden en individuos inmunocomprometidos o con factores predisponentes que pueden ser enfermedades de base o quirúrgicos.

Las especies más frecuentemente involucradas son *Bifidobacterium adolescentis* y *Bifidobacterium scardovii* que son anaerobias facultativas y capnófilas y *Bifidobacterium dentium*, que se ha asociado a otitis media crónica, abscesos, peritonitis, colesteatomas y neumonías aspirativas en niños y en adultos con infecciones urinarias.

En la familia *Coriobacteriaceae* los géneros de importancia clínica para el humano son: *Atopobium*, *Olsenella*, *Eggerthella*, *Collinsella*, *Slackia*, *Cryptobacterium*, *Adlercreutzia* y *Gordonibacter*.

Género *Atopobium*

Clasificación científica

Dominio: Bacteria

Filo: *Actinobacteria*

Clase: *Coriobacteria*

Orden: *Coriobacteriales*

Familia: *Coriobacteriaceae*

Género: *Atopobium*

Las especies de *Atopobium* se encuentran en las hendiduras gingivales humanas y se han descrito casos relacionados con el género en diversas infecciones humanas, incluidos abscesos dentales, infecciones de heridas abdominales, abscesos pélvicos y bacteriemia. En su mayoría, estas bacterias se encuentran asociadas con otros microorganismos.

El género está conformado por cinco especies: *Atopobium minutum* (anteriormente *Lactobacillus minutus*), *Atopobium parvulum* (*Streptococcus parvulus*) y *Atopobium rimae* (*Latobacillus rimae*), los cuales forman parte del microbioma gingival

humano saludable en algunos individuos. Aunque también se han aislado de algunos procesos infecciosos odontogénicos y por ello tienen interés clínico. *Atopobium vaginae* es la especie capnófila, tolerante al oxígeno y se asocia con vaginosis bacteriana. Knoester et al, comunicaron un caso de sepsis asociada a muerte fetal y aborto en una paciente en el tercer mes de embarazo, luego de una biopsia de las vellosidades coriónicas. Y *Atopobium fossor* (*Eubacterium fossor*) es anaerobia estricta, pero asociada a patología veterinaria. Es de morfología cocobacilar Gram positiva, catalasa negativa y crecimiento fastidioso.

A. rimae, se considera patógeno para el humano, pues este se registró como agente causal de bacteremia que desencadenó sepsis. *A. minutum* (*Lactobacillus minutus*) se ha aislado de sangre, heridas abdominales, abscesos pélvicos y perineales. En Francia, en 2011, se reconoció una cepa de *A. minutum* a partir del aislamiento obtenido de debridamiento de una úlcera sacra profunda necrosada que reportó resistencia a la vancomicina y sensibilidad a la teicoplanina a expensas de la presencia del gen *van.B*.

De otro lado, Matthijs Oyaert, et al, aislaron *Atopobium minutum* de una mujer de 43 años con retraso mental, obesidad, sin antecedentes de interés, que ingresó en el hospital con fiebre y un extenso absceso perianal con drenaje espontáneo durante una semana. El examen clínico mostró una región perianal caliente, eritematosa e inflamada, con úlceras y adenopatías regionales.

Género *Eggerthella*

Clasificación científica

Dominio: Bacteria

Filo: *Actinobacteria*

Clase: *Actinobacteria*

Orden: *Coriobacteriales*

Familia: *Coriobacteriaceae*

Género: *Eggerthella*

Este género está conformado por dos especies que son anaerobias estrictas, *Eggerthella lenta* y *Eggerthella sinensis*; la especie *Eggerthella hongkongensis* fue clasificada en un nuevo género, *Paraeggerthella*. *E. lenta*, *Collinsella aerofaciens* y *Slackia exigua* pertenecían al género *Eubacterium* (ubicado dentro del phylum *Firmicutes*), como *Eubacterium lentum*, *Eubacterium aerofaciens* y *Eubacterium exiguum*, respectivamente.

Los miembros de este género son bacilos Gram positivos anaerobios. Se encuentran en el colon y heces humanas y han sido asociados a procesos como colitis ulcerosa, abscesos hepáticos, anales y bacterianos.

E. lenta, es parte del microbioma intestinal humano normal y se ha asociado más comúnmente con infecciones de origen del tracto gastrointestinal (GIT) que a menudo son polimicrobianas. Se ha descrito en bacteremias y la mortalidad general es significativa, oscilando entre el 36% y el 43%.

Género *Lactobacillus*

Clasificación científica

Dominio: Bacteria

Filo: *Firmicutes*

Clase: *Bacilli*

Orden: *Lactobacillales*

Familia: *Lactobacillaceae*

Género: *Lactobacillus*

Comprende más de 150 especies de bacilos Gram positivos largos; generalmente tienen los extremos rectos, no esporulados, fermentadores de azúcares, los cuales utilizan diferentes vías metabólicas para su degradación y la obtención de energía. Forman parte significativa del microbioma normal de la boca y del tracto gastrointestinal y genitourinario,

pero, aunque son considerados organismos protectores, en circunstancias específicas pueden originar enfermedad. En el género *Lactobacillus* se encuentran especies que se consideran beneficiosas para la salud. También se encuentran en productos como carnes, bebidas, masas y vegetales fermentados, alimentación animal y también con aguas y suelos. La fermentación de azúcares con la producción de ácido láctico les genera un ambiente ácido, lo cual inhibe el crecimiento de bacterias patógenas. Algunas especies de *Lactobacillus* se usan industrialmente para la producción de yogur, quesos y de otros alimentos fermentados.

Algunas especies de *Lactobacillus* tienen un metabolismo homofermentativo en el cual generan solo ácido láctico a partir de los azúcares y a pesar de no tener cadena respiratoria son aerotolerantes; otras especies, además del ácido láctico, también producen alcohol y son hetero fermentadoras. La aerotolerancia que muestran depende del manganeso, como es el caso de *Lactobacillus plantarum*.

Estas son “bacterias amistosas” que viven normalmente en nuestros sistemas digestivo, urinario y genital sin causar enfermedades. Los *lactobacilos* también se encuentran en alimentos como el yogur y en suplementos dietéticos.

Generalmente, se ingieren para el tratamiento y la prevención de la diarrea, incluyendo la diarrea infecciosa y la diarrea causada por el uso de antibióticos. En algunas personas se administran los *lactobacilos* para problemas generales de la digestión, para el síndrome del colon irritable (SCI), para los cólicos en los bebés, para el dolor de estómago y muchas otras condiciones; aunque no existe buena evidencia científica para apoyar estos usos.

Lactobacillus acidophilus, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus fermentum*, *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus gasseri*, *Lactobacillus rhamnosus* y *Lactobacillus ultunensis* se han relacionado con infecciones en humanos.

Lactobacillus se ha asociado con caries dental avanzada, pero también produce infecciones de mayor gravedad como bacteriemia y endocarditis, que son las que con mayor frecuencia se atribuyen al género.

Por su lado, *L. casei* y *L. rhamnosus* son las que más a menudo se asocian a endocarditis, generalmente presentan sensibilidad a eritromicina y clindamicina, pero muestran resistencia a vancomicina. *Lactobacillus paracasei* es resistente a la vancomicina, se reportó como agente causal de peritonitis asociada a diálisis peritoneal continua ambulatoria en un paciente con tratamiento prolongado, debido a este caso, se indica la importancia de su búsqueda en estos pacientes.

Familia Erysipelotrichaceae

La familia está conformada por los siguientes géneros y especies: *Bulleidia extructa*, *Catenibacterium mitsuokai*, *Eggerthia catenaformis* (anteriormente *Lactobacillus catenaformis*), *Holdemania filiformis*, *Solobacterium moorei* y *Turicibacter sanguinis*, todos de interés clínico en humanos.

Género *Bulleidia*

Clasificación científica

Reino: Bacteria

Filo: *Firmicutes*

Clase: *Erysipelotrichi*

Orden: *Erysipelotrichales*

Familia: *Erysipelotrichidae*

Género: *Bulleidia*

Bulleidia extructa, es un bacilo Gram positivo, estrictamente anaeróbico, inmóvil y no formador de esporas, descrito por primera vez en 2000 por Downes et al, tras haberla aislado de la cavidad bucal de personas con periodontitis y abscesos dentoalveolares. Después de la caracterización fenotípica y

genética, los investigadores propusieron un nuevo género, *Bulleidia*, y la especie *B. extructa*. Desde entonces, informes adicionales han asociado este microorganismo con infecciones orales, específicamente enfermedad periodontal. Si bien la asociación de *B. extructa* con la enfermedad periodontal humana está bien documentada, hasta ahora la bacteria no se ha visto implicada en otros procesos patógenos, aunque es un oportunista. Benjamin Kloesel, et al, presentaron un caso de infección total por artroplastia de cadera en un paciente inmunocompetente, encontrado que fue causada por *B. extructa*.

Género *Eggerthia* C

Clasificación científica

Reino: Bacteria

Filo: *Firmicutes*

Clase: *Erysipelotrichi*

Orden: *Erysipelotrichales*

Familia: *Erysipelotrichidae*

Género: *Eggerthia*

Este género se aísla de abscesos dentales en humanos. *Eggerthia catenaformis* es un bacilo anaerobio Gram positivo, que rara vez se ha informado en enfermedades humanas, pero se asocia con casos reportados de bacteriemia.

Otros Bacilos Gram positivos anaerobios

Adlercreutzia equolifaciens, de esta bacteria se aislaron 9 cepas de heces humanas y su descripción fue realizada por Maruo et al, en 2008. Se encontró que filogenéticamente se relaciona con *E. sinensis* en la secuencia del gen 16S ARNr con una similitud aproximada del 93%. En cuanto a su morfología corresponde a cocobacilos Gram positivos que se pueden observar formando cadenas, sin anaerobios estrictos y no presentan movilidad.

Gordonibacter pamelaee, corresponde a única especie, se encontró en el colon de un paciente con enfermedad de Crohn, de donde fue aislada. Würdemann et al, en 2009, realizaron su descripción. Se encontró que tiene relación filogenética con *Paraeggerthella hongkongensis*, en un 94,6% de similitud. En su morfología se observan como cocobacilos Gram positivos, anaerobios estrictos y presentan movilidad.

Género *Olsenella*, se considera una bacteria perteneciente al microbioma permanente de la cavidad oral. De este género se encuentran tres especies, dos de ellas de importancia clínica en humanos: *Olsenella uli* (anteriormente *Lactobacillus uli*) y *Olsenella profusa*; a nivel veterinario está *Olsenella umbonata*.

Olsenella profusa, se aísla con frecuencia de caries dentales y *Olsenella uli* de infecciones endodónticas. Esta última especie fue informada como origen de un proceso de bacteriemia clínicamente significativa en un paciente que presentaba enfermedad de base en el sistema gastrointestinal.

Grupo IV: bacilos Gram negativos

Tabla 3.8. Clasificación taxonómica de los bacilos Gram negativos anaerobios

Phylum	Clase	Orden	Familia	Género	Especies
<i>Bacteroidetes</i>	<i>Bacteroidia</i>	<i>Bacteroidales</i>	<i>Bacteroidaceae</i>	<i>Bacteroides</i>	<i>fragilis</i> , <i>plebeius</i> , <i>thetaiotaomicron</i> , <i>stercoris</i> , <i>uniformis</i> , <i>vulgatus</i> , <i>ovatus</i> , <i>luti</i> , <i>eggerthii</i> , <i>caccae</i> , <i>dorei</i> , <i>galacturonicus</i> , <i>nordii</i> , <i>pectinophilus</i> , <i>cellulosilyticus</i> , <i>clarus</i> , <i>coprocola</i> , <i>intestinalis</i> , <i>coprophilus</i> , <i>faecis</i> , <i>finegoldii</i> , <i>fluxus</i> , <i>massiliensis</i> , <i>oleiciplenus</i> , <i>pyogenes</i> , <i>salyersiae</i> , <i>xylanisolvans</i> .
				<i>Prevotella</i>	<i>albensis</i> , <i>baroniae</i> , <i>bergensis</i> , <i>bivia</i> , <i>brevis</i> , <i>bryantii</i> , <i>buccae</i> , <i>buccalis</i> , <i>corpri</i> , <i>corporis</i> , <i>dentalis</i> , <i>denticola</i> , <i>disiens</i> , <i>enoeca</i> , <i>heparinolytica</i> , <i>intermedia</i> , <i>loescheii</i> , <i>marshii</i> , <i>massiliensis</i> , <i>melaninogenica</i> , <i>multiformis</i> ,

El grupo de bacilos Gram negativos anaerobios ha manifestado muchos cambios en su taxonomía en las últimas décadas gracias a la posibilidad de realizar estudios moleculares y de la metagenómica. Hacen parte del dominio Bacteria, phylum Bacteroidetes, clase Bacteroidia, orden Bacteroidales, que incluye varias familias de interés clínico como: *Bacteroidaceae*, *Porphyromonadaceae*, *Prevotellaceae* y *Rikenellaceae*; y al phylum *Fusobacteria*, clase *Fusobacteria*, orden *Fusobacteriales* que comprende a las familias: *Fusobacteriaceae* y *Leptotrichiaceae*.

Además, en este grupo se pueden encontrar otros *phyla* como *Firmicutes*, *Proteobacteria* y *Synergistetes*. En el texto se hará referencia a las especies de mayor importancia en clínica humana.

Familia Bacteroidaceae

Esta familia la componen los géneros *Acetofilamentum*, *Acetomicrobium*, *Acetothermus*, *Anaerorhabdus*, *Bacteroides* y *Capsularis*.

Género Bacteroides

Clasificación científica

Dominio: Bacteria

Filo: *Bacteroidetes*

Clase: *Bacteroidia*

Orden: *Bacteroidales*

Familia: *Bacteroidaceae*

Género: *Bacteroides*

Es un género de gran importancia clínica, sus integrantes se caracterizan por ser sacarolíticos, resistentes a la bilis y algunas cepas presentan pigmentación en sus colonias. Pueden ser móviles o inmóviles, dependiendo de la especie. En su ADN tiene un contenido GC del 40-48%. Las membranas que conforman su pared contiene esfingolípidos.

Se encuentran en proporciones alrededor 10¹⁰-10¹¹ bacterias por gramo de materia fecal en los humanos. Tienen la capacidad de crecer en azúcares simples, aunque su principal fuente de energía proviene de los polisacáridos de origen vegetal.

La presencia de especies de *Bacteroides* evitan que potenciales patógenos puedan colonizar el tracto digestivo; sin embargo, pueden ser patógenos oportunistas, ocasionando infecciones en la cavidad peritoneal, gastrointestinal o apendicitis con la producción de abscesos. Tienen la capacidad para inhibir la fagocitosis e inactivar los antibióticos betalactámicos. Aunque son anaerobios, pueden tolerar el oxígeno y, por lo tanto, sobrevivir en la cavidad abdominal.

Este género normalmente es resistente a diversidad de antibióticos, entre los que se encuentran los betalactámicos y aminoglucósidos. Recientemente se reporta que varias especies han adquirido resistencia a la eritromicina y a la tetraciclina, lo cual representa un problema para el tratamiento y la transmisión de resistencia a otras especies bacterianas más patógenas.

Se ha demostrado mediante estudios que algunas cepas intestinales de *Bacteroides* tienen la capacidad de modular la función de los enterocitos regulando la expresión de diversos genes relacionados con la absorción de nutrientes con el fortalecimiento de la mucosa intestinal, con la producción de factores angiogénicos y de defensinas, con actividad antibiótica frente a muchas bacterias y otros microorganismos. Asimismo, el género *Bacteroides* spp. interviene en diferentes funciones relacionadas con la estimulación del sistema inmune; al respecto los polisacáridos zwitteriónicos de la cápsula de *B. fragilis* son trascendentales en la activación de los linfocitos T CD4⁺ y en el desarrollo de la respuesta inmune T dependiente.

Bacteroides fragilis, puede encontrarse como agente etiológico en múltiples infecciones importantes. Para su desarrollo requiere un ambiente de anaerobiosis estricta, forma cápsula

y en el tracto digestivo, origina el 90% de las infecciones peritoneales relacionadas con bacterias anaerobias. Presenta susceptibilidad a combinaciones de metronidazol, carbapenema e inhibidores beta-lactamo/beta-lactamasa, pero presenta resistencia a tratamientos a base de penicilina. Descrita en 1898 como *Bacillus fragilis*, para posteriormente reclasificarse en 1919, como *Bacteroides fragilis*.

Su morfología es bacilar de aspecto grueso por su cápsula, Gram negativos, resistentes a la bilis, con un contenido de guanina-citosina entre 40 y 48%, fermentador de azúcares y como productos finales del metabolismo se obtiene succinato y acetato, especialmente.

La adhesión es el primer paso para la colonización o la producción de Infección. *B. fragilis* y *B. ovatus* tienen afinidad por las células intestinales, así que se unen a ellas por medio de sus pilis; también se ha constatado la presencia de fimbrias peritricas y adhesinas tipo lectina en algunas cepas de *B. fragilis* que potencian esta adherencia. Cuentan con estrategias que les permite evadir la respuesta del sistema inmune. Al respecto en *B. fragilis* se ha detectado la producción de ácidos grasos de cadena corta, con la capacidad para inhibir la actividad bactericida de los neutrófilos, así como la capacidad de interactuar con macrófagos peritoneales para inducir actividad procoagulante y generar redes de fibrina en el sitio de la lesión, de tal forma que se camuflan en ellas y dificultan su eliminación.

El factor de virulencia más importante de esta bacteria se relaciona con los polisacáridos capsulares los cuales muestran características zwitteriónicas y se relacionan directamente con la formación de abscesos intraabdominales. *B. fragilis*, produce una amplia variedad de enzimas como hialuronidasa y condroitin sulfatasa, que actúan sobre la matriz extracelular del hospedador y la degrada; otras son neuroaminidasa, collagenasa, fibrinolisisina y heparinasa; y están las hemolisinas, que tienen la capacidad de usar el grupo hemo como fuente de hierro, a partir de glóbulos rojos lisados. También

están las cepas de *B. fragilis* enterotoxigénicas, que producen una metaloproteinasa termosensible dependiente de zinc, conocida como fragilisina y que también se conoce como su bacteriocina, la cual se ha asociado con enfermedad diarreica en niños pequeños, adultos y en animales, y de la que se piensa puede tener importancia en infecciones extraintestinales.

B. fragilis, es el más frecuentemente aislado a partir de infecciones intraabdominales como consecuencia de la alteración de la integridad de la mucosa intestinal, ya sea por cirugías, ruptura de un divertículo, apendicitis o cáncer de colon. Otras, aparte de ésta que con frecuencia también se asocian con infecciones intraabdominales son: *B. thetaiotaomicron*, *B. distasonis* y *B. vulgatus*.

Las especies de *Bacteroides* spp. no son frecuentes en infecciones del tracto genital femenino, por lo que poco se localizan en aislamientos de cultivos vaginales. *B. fragilis* se ha aislado de abscesos en la glándula de Bartolino y en las trompas de Falopio; como caso especial, se reportó como único aislamiento de la placenta de un feto en un caso de aborto espontáneo a mitad de gestación.

También se asocian con infección de heridas y tejido subcutáneo, en algunos casos producen abscesos del área rectal (úlceras de decúbito y abscesos perisacrales) o que se originan a partir de la flora intestinal. De este género son las especies de anaerobios que se aíslan con mayor frecuencia en casos de osteomielitis de huesos largos, como consecuencia de trauma, fractura o conexas a enfermedad vascular periférica, úlceras de decúbito, osteomielitis en huesos craneales y faciales, y osteomielitis pélvica posterior a cirugía.

Las bacteriemias por bacterias anaerobias son raras, pero, cuando suceden, en la mayoría de los casos hay que sospechar como agente etiológico, a una especie del género *Bacteroides*. Las cirugías y las enfermedades intestinales constituyen las fuentes más importantes de bacteriemias asociadas con estos microorganismos. Corresponde al agente etiológico

más habitual de abscesos intraabdominales, retroperitoneales, enfermedad inflamatoria pélvica y de la peritonitis que se presenta después de una lesión en la mucosa intestinal, ya sea por cirugía, un apéndice roto o un cáncer perforante de colon. Las especies de *Bacteroides* son predominantes en las pericarditis, posiblemente por su diseminación vía sanguínea a partir de lesiones del tracto gastrointestinal.

Los cuadros de meningitis raramente se asocian con bacterias anaerobias; cuando suceden y están implicados anaerobios, *B. fragilis*, es la especie que con mayor frecuencia se identifica. En cambio, sí es usual hallar especies de este género y otros bacilos anaerobios Gram negativos asociados a abscesos cerebrales.

Las cepas de *B. fragilis* que producen toxinas del tipo enterotoxigénicas generan episodios de diarrea acuosa autolimitada, especialmente en niños, también se asocia este microorganismo a casos de diarrea relacionada al consumo prolongado de antibióticos. Esta enterotoxina también se conoce como fragilisina, es una exotoxina de 20 kDa, de la familia de las metaloproteasas dependientes del zinc, que hidroliza el dominio extracelular de la E-cadherina, proteína primaria de la zónula adherens. Por lo tanto, altera la capacidad de adhesión celular e incrementa la permeabilidad del epitelio, produciendo la redistribución intracelular de la actina, lo que conlleva a cambios morfológicos de las células, se libera la β -catenina, la cual transloca el núcleo y por último aumenta la proliferación celular.

Los genes que codifican la fragilisina se localizan en una región del cromosoma de 6 kb que se conoce como isla de patogenicidad de *B. fragilis* (IPBF) e incluye los loci para tres isotipos de la enterotoxina denominados bft-1, bft-2 y bft-3. Esta toxina estimula la secreción de la interleuquina-8 (IL-8) en células HT-29, T84 y Caco-2.

Especies de este género se han asociado con la presentación de enfermedades inflamatorias del intestino y, en los recién nacidos, por la exposición a la flora normal vaginal al

pasar por el canal del parto, puede adherir bacterias que por las condiciones propias del neonato generan el desarrollo de infecciones por anaerobios, en las cuales se observa una variedad como celulitis, neumonía por aspiración y bacteriemia. En infecciones pediátricas, los aislamientos de *Bacteroides* se relacionan con sepsis intraabdominales, infecciones en huesos, articulaciones y bacteriemias, principalmente.

Neeraj K. Surana, Dennis L. Kasper, en la búsqueda de bacterias con propiedades inmunomoduladoras, realizaron un estudio en ratones y, al respecto informan que, *B. fragilis* tiene múltiples efectos que modulan la respuesta inmune. El polisacárido A (PSA) producido por la bacteria induce linfocitos T reguladores que secretan IL-10 colónica después de agresiones inflamatorias y restaura el equilibrio de las células Th1 / Th2 sistémicas en los ratones libres de la bacteria, por lo que se convierte en un protector en modelos murinos de colitis y esclerosis múltiple. *B. fragilis* también expresa glycosphingolipid (GSL), como α -GalCer, que inhiben la proliferación de células NKT.

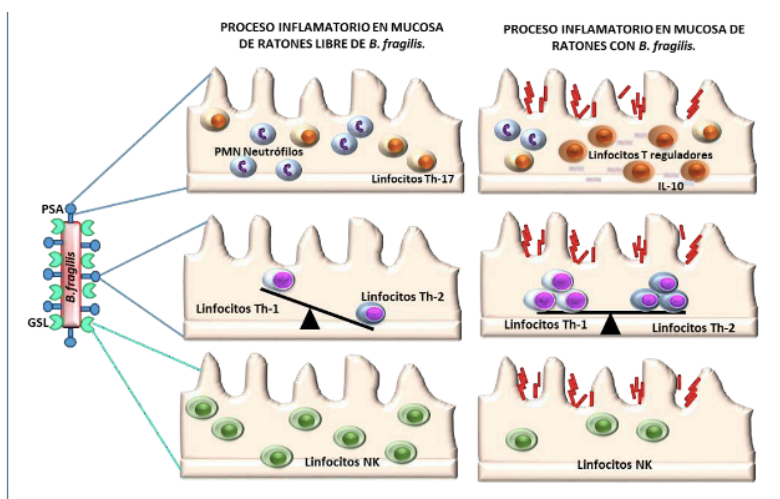


Figura 3.9. Proceso inflamatorio inducido por *B. fragilis* en ratones. Tomado de: Neeraj K. Surana, Dennis L. Kasper. Deciphering the tête-à-tête between the microbiota and the immune system. *The Journal of Clinical Investigation*. 2014 Modificado por: Corrales, 2024.

Bacteroides vulgatus, en el estudio realizado por Di Lorenzo F, et al, sobre la importancia de los efectos inmunomoduladores de la estructura del LPS de *Bacteroides vulgatus* en modelos celulares humanos; este LPS consiste en una estructura química particular basado en lípido A hipoacilado y monofosforilado y con un oligosacárido central que contiene galactofuranosa y un antígeno O formado por manosa y ramnosa. La evaluación de las propiedades inmunológicas de este LPS en modelos humanos *in vitro* reveló una capacidad muy interesante para producir citocinas antiinflamatorias e inducir una acción sinérgica de las vías de señalización mediadas por MD-2 / TLR4 y TLR2.

B. thetaiotaomicron, cuentan con una gran cantidad de enzimas con la función de degradar amplia variedad de polisacáridos, proceso a través del cual se generan y liberan carbohidratos simplificados, vitaminas y aminoácidos que le son útiles a otros microorganismos; por ello, el metabolismo de las especies de *Bacteroides* sirve como fuente de nutrientes para otras bacterias intestinales, lo que favorece el desarrollo de la flora normal en este sitio anatómico. Sumado a lo anterior se ha demostrado que la fermentación de carbohidratos, realizada por especies de *Bacteroides* spp., genera una variedad de ácidos grasos volátiles que son reabsorbidos a nivel del intestino grueso y constituyen una proporción importante de los requerimientos energéticos diarios del hospedador.

Jacobson AN, et al, realizaron un estudio denominado “La biosíntesis de lipooligosacárido de *Bacteroides thetaiotaomicron*”, demostrando entre otras cosas que, el glucano no parece tener una unidad repetitiva, por lo que ésta cepa produce lipooligosacárido (LOS) en lugar de LPS. Este resultado contrasta con *Bacteroides vulgatus* ATCC 8482, que por análisis SDS-PAGE parece producir LPS con una unidad repetida. Además, la identificación del grupo de genes de oligosacáridos LOS de *B. thetaiotaomicron* LOS permitió identificar grupos similares en otras especies de *Bacteroides*. Este trabajo sienta las bases para desarrollar una relación estructura- función para

Bacteroides LPS / LOS en el contexto de la colonización del huésped.

Se sabe mucho sobre las especies bacterianas y los genes que componen el microbioma humano, pero muy poco sobre los mecanismos moleculares a través del cual influye en la biología del huésped. Un mecanismo bien conocido por el cual las bacterias influyen en el hospedador es el lipopolisacárido (LPS), un componente de la membrana externa de las bacterias Gram-negativas. El LPS derivado de patógenos es un ligando potente para el receptor 4 tipo Toll del huésped, que desempeña un papel importante en la detección de bacterias como parte de la respuesta inmune innata. Sorprendentemente, el género más común de bacterias intestinales humanas, *Bacteroides*, produce LPS, pero no provoca una potente respuesta proinflamatoria. Entonces el LPS de *Bacteroides* spp. modula la respuesta inmune del huésped.

Bacteroides thetaiotaomicron, produce lípidos de glicina, los cuales tienen un papel importante durante la adaptación de la bacteria a una serie de tensiones ambientales, incluida la exposición a la bilis o al aire.

Familia Porphyromonadaceae

Esta familia está conformada por géneros vinculados a infecciones humanas como: *Barnesiella*, *Odoribacter*, *Parabacteroides*, *Porphyromonas* y *Tannerella*.

Género Porphyromonas

Clasificación científica

Dominio: Bacteria

Filo: *Bacteroidetes*

Clase: *Bacteroidetes*

Orden: *Bacteroidales*

Familia: *Porphyromonadaceae*

Género: *Porphyromonas*

Es el género de mayor relevancia clínica y está compuesto por cocobacilos Gram negativos que miden de 0.5 - 0.8 micras de diámetro x 1 - 3.5 micras de largo, posee abundantes fimbrias y no tiene flagelos; muchas cepas son capsuladas, es asacarolítica, su nutrición depende de pequeños péptidos y aminoácidos y requiere de hemina como fuente de hierro, es anaerobio facultativo, forman pigmento de marrón claro hasta negro en cultivos, con excepción de la especie *Porphyromonas catoniae*. Las especies de mayor importancia son: *Porphyromonas asaccharolytica*, *Porphyromonas bennonis*, *Porphyromonas endodontalis*, *Porphyromonas gingivalis*, *Porphyromonas somerae*, *Porphyromonas uenonis* y *Porphyromonas crevioricanis*.

Porphyromonas gingivalis, hace parte de más de las 500 especies bacterianas que viven en la cavidad oral. Esta bacteria anaeróbica es un miembro natural del microbioma oral, sin embargo, puede volverse altamente destructiva, por ello se denomina patobionte, pues puede proliferar en las lesiones periodontales gracias a la gran cantidad de factores de virulencia especializados que posee. Esta bacteria, junto con *Treponema denticola* y *Tannerella forsythia*, constituyen el “complejo rojo”, un prototipo de consorcio patógeno polibacteriano asociado con periodontitis.

P. gingivalis presenta una variedad de factores de virulencia, entre los que se destacan el lipopolisacárido (LPS), fimbrias, las gingipaínas (Kgp, RgpA, RgpB), la peptidilarginina deiminasa (PPAD), además de vesículas de membrana externa, entre otros.

Las adhesinas cumplen un papel importante en la retención y el crecimiento de *P. gingivalis* en diversas superficies que incluyen fimbrias, hemaglutininas y proteinasas.

Sus fimbrias son pequeños filamentos de naturaleza proteica, su componente principal es FimA, proteína que le ayuda a adherirse a componentes de la matriz extracelular,

a otras bacterias y a células de la inmunidad innata. Otros componentes en menor proporción son FimC, FimD y FimE, proteínas con pesos moleculares de 50, 80, y 60 kDa respectivamente y representan el 1% del total de proteínas que conforman la fimbria. Todas las cepas de *P. gingivalis* tienen el gen estructural fimA que codifica para la síntesis de la proteína fimbrilina, la cual posee seis genotipos; las otras proteínas están codificadas por genes ubicados cerca del gen fimA.

P. gingivalis tiene la posibilidad de intercambiar ADN cromosómico con diversas cepas mediante procesos de conjugación y de competencia natural debido a su diversidad genética. Como se observa en el intercambio de los genes fimA, que conlleva a cambios fenotípicos relacionados con el aumento en el número de fimbrias sintetizadas, que a su vez potencian los procesos de agregación y, por ende, su poder patógeno.

La formación de biopelículas y dipeptidil peptidasa IV (DPPIV) contribuyen también a su patogenicidad y favorece la asociación con otras bacterias para garantizar su sobrevivencia y potenciar su efecto patógeno.

Esta bacteria contribuye a la ocurrencia de periodontitis agresiva al inducir altos niveles de citocinas proinflamatorias, como IL-1 β e IL-6 por células T auxiliares CD4 + periféricas. Los serotipos K1 y K2 de *P. gingivalis*, pero no otros, están asociados con un aumento de la producción del factor relacionado con la osteoclastogénesis RANKL, lo cual sugiere que estos serotipos podrían provocar una mayor resorción ósea *in vivo*.

La periodontitis destructiva se asocia con linfocitos Th1-Th17- en la respuesta inmune y activación de osteoclastos inducidos por RANKL. Los serotipos K1 y K2 de *P. gingivalis* inducen la activación de osteoclastos superiores, por una mayor producción de RANKL asociada a linfocitos Th17 y una respuesta de linfocitos T de memoria específica de antígeno. Igualmente, utiliza el hierro en forma de hemo, el cual tiene un papel esencial para su crecimiento y su virulencia. Se ha

demostrado que la bacteria no produce sideróforos, pero emplea una membrana externa específica con receptores para proteasas (particularmente gingipaínas) y lipoproteínas, las cuales le permiten obtener el hierro. Las proteínas específicas implicadas en la captura del hierro y grupo hemo, así como las actividades proteolíticas de la gingipaína R y la gingipaína K, contribuyen al procesamiento y maduración de varias proteínas de la superficie celular de esta bacteria, tales como fimA, hemaglutininas y la proteína receptora de hemoglobina, que son importantes para la colonización y proliferación en la hendidura gingival e invadir el periodonto.

La proteasa denominada gingipaína R, existe como proteínas de 110, 95 y 70 a 90 y 50 kDa, la primera siendo un complejo de la subunidad catalítica de 50 kDa con hemaglutinina / adhesinas, con o sin un péptido de anclaje de membrana añadido. Las otras formas corresponden a enzimas monocatenarias. La forma predominante de gingipaína K en las cepas de *Porphyromonas gingivalis* es un complejo de un catalizador de 60 kDa. De otro lado, las histatinas son péptidos de las glándulas salivales humanas con actividades antimicrobianas y antiinflamatorias y se piensa que la histatina 5 se une a la hemaglutinina B (HagB) de *P. gingivalis* y atenúa la quimiocina inducida por HagB.

Esta bacteria también produce grandes cantidades de cisteína, proteinasas específicas de arginina y lisina en formas secretoras y asociadas a células, hemaglutininas y colagenasas.

El LPS de *Porphyromonas gingivalis* induce citocinas proinflamatorias, como IL-1 β , IL-6 e IL-8, que promueven la destrucción del tejido periodontal, además, los LPS pueden migrar a otros tejidos a través de la circulación sanguínea y ocasionar otras patologías como aterosclerosis, nacimientos pretérmino, alteraciones respiratorias y cardiovasculares principalmente.

Los LPS también, se unen a lipoproteínas de baja densidad (LBD), lo que facilita ser transportados en la sangre. Este

complejo LPS-LBP se une a los receptores CD14 de las membranas de las células endoteliales, monocitos y macrófagos, originando activación celular, la cual se traduce en el aumento de moléculas de adhesión y como en el caso anterior, la liberación de citocinas y quimiocinas como interleucina-1b (IL-1b), FNT-a y tromboxanos A2. El proceso mencionado anteriormente es iniciador de la adhesión y agregación plaquetaria al producir la acumulación de colesterol en la íntima arterial que beneficia la aterosclerosis y la trombosis con riesgo de enfermedad coronaria. Estas bacterias, provocan también, alteraciones de tipo hemostático, relacionados con el aumento de fibrinógeno, lo que conlleva a la formación de coágulos.

El polisacárido capsular (PSC), interviene en la adherencia entre especies, está implicado en la evasión de la respuesta inmune del hospedador en el proceso de fagocitosis y reduce la respuesta pro-inflamatoria. La cápsula les otorga a las cepas que la poseen mayor resistencia a la fagocitosis y presentan más baja inducción de la vía alterna del complemento; el polisacárido capsular también le otorgan mayor capacidad invasiva, en contraste con las cepas no capsuladas que se limitan a producir abscesos localizados no invasivos.

P. gingivalis presenta vesículas en la membrana externa con un diámetro que varía entre 30 y 100 nanómetros, las cuales cumplen funciones de coagregación, además en cavidad oral son un importante factor de colonización. La coagregación de esta bacteria se presume está asociada con la interacción específica entre proteínas o glucoproteínas de las vesículas y un componente no proteico localizado superficialmente en las membranas de otras bacterias.

Estas vesículas contienen diferentes enzimas que cumplen un papel importante en su virulencia, entre las que se destacan proteasas como: cisteín-proteasas, glicil-proteasas, tripsin-proteasas, colagenasa, gelatinasa, fosfolipasa A, fosfatasa alcalina, fosfatasa ácida, aminopeptidasas y hialuronidasas.

En el momento que las vesículas de la membrana externa de *P. gingivalis* se secretan, ingresan a las células epiteliales del hospedero por proceso de endocitosis. Las proteasas gingipain, que se encuentran dentro de las vesículas de la bacteria, degradan el receptor de transferrina (RTf) y moléculas de señalización relacionadas con integrinas como paxilina y con quinasa de adhesión focal (QAF), produciéndose disminución en la concentración de transferrina intracelular, lo que conlleva a reducir la migración celular.

Otros factores de virulencia importantes de esta bacteria son las proteasas, las cuales tienen acción directa sobre varios sustratos de la matriz extracelular como colágeno, elastina, fibrinógeno y ácido hialurónico. Las serín y cisteín proteasas degradan caseína, gelatina, fibronectina, lisozima, colágeno tipo I, II, III, y IV, factores del complemento C3, C4, C5, C5a, albúmina, hemopepsina, haptoglobina, transferrina, alfa-1-antitripsina, alfa-2-antiplasmina, alfa-2-microglobulina y antitrombina y, también, alteran inmunoglobulinas del hospedador.

En general, estas proteasas cumplen las funciones de: hidrolizar proteínas para proporcionar aminoácidos a la bacteria; neutralizar el sistema inmune del hospedero; degradar el tejido de soporte periodontal; activar pro-colagenasas del hospedador; mediar la adhesión a eritrocitos y a otras células; facilitar la adherencia; transformar los receptores para las bacterias en superficies orales y modular así la fijación de otras bacterias y su colonización en sitios subgingivales.

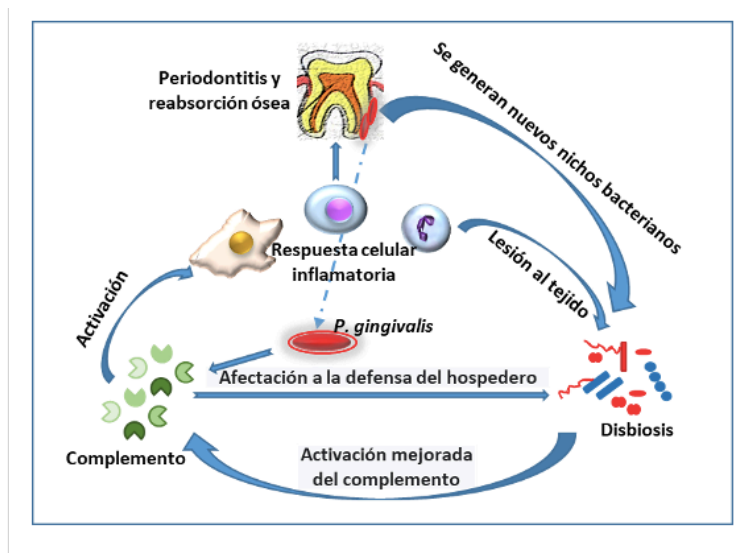


Figura 3.10. Esquema sobre el papel de *Porphyromonas gingivalis* en la periodontitis crónica. Tomado de Tsai CC, Chen HS, Chen SL, Ho YP, Ho KY, Wu YM, Hung CC. Lipid peroxidation: a possible role in the induction and progression of chronic periodontitis. *Journal of periodontal research*. 2005; 40 (5): 378-384. Modificado por: Corrales, 2024

Esta bacteria se adhiere rápidamente a la célula huésped, seguida de internalización a través de balsas de lípidos e incorporación en fagosomas tempranos. También activa la autofagia celular para proporcionar un sitio propicio para la replicación mientras se suprime la apoptosis. La vacuola contiene proteínas del huésped suministradas por autofagia que son utilizados por el patógeno para sobrevivir y replicarse dentro de la célula huésped. Cuando la autofagia es suprimida por la 3- metiladenina o wortmanina, las *Porphyromonas* internalizadas transitan al fagolisosoma donde se destruyen y son degradadas. Por esa razón, la supervivencia de *Porphyromonas gingivalis* depende de la activación de la autofagia y la supervivencia de la célula huésped endotelial, pero el mecanismo por el cual dicha bacteria logra esto, aún no es claro.

En el género *Porphyromonas*, se ha descrito una PAD conocida como PPAD, en estas bacterias se han reportado

citrulinación de proteínas del hospedero como propias favoreciendo la producción de anticuerpos contra las proteínas citrulinadas. Las enzimas PAD son un grupo de enzimas que inducen la conversión de arginina a citrulina en un proceso denominado citrulinación; este es un proceso fisiológico en humanos, sin embargo, en procesos patológicos la citrulinación favorece la generación de anticuerpos anti-péptidos citrulinado cíclicos (anti-CCP) que se correlacionan con la enfermedad periodontal. También se ha podido establecer que PPAD tiene un impacto significativo en la formación del biofilm oral y que la citrulinación de dominios de adhesinas de las gingipaínas pueden afectar esta formación. Adicionalmente, esta enzima ayuda a *P. gingivalis* a resistir la limpieza ácida en la boca, debido a que la citrulinación en conjunto con la fermentación de aminoácidos genera un ambiente propicio para el crecimiento.

La infección por esta bacteria se asocia con artritis reumatoidea, la cual es una poliartritis inflamatoria crónica de origen autoinmune y multifactorial caracterizada por sinovitis, depósito de fibrina y daño en el cartílago, las articulaciones más afectadas son los dedos de las manos, muñecas, rodillas, pies y tobillos. Al respecto, la infección oral crónica, antes de la inducción de la artritis, aumenta la activación del sistema inmunológico, favoreciendo las respuestas de las células Th17 que finalmente aceleran desarrollo de la artritis reumatoidea.

P. gingivalis además de ser un factor predominante en enfermedad periodontal, muestra implicaciones en afectaciones de tipo sistémico, entre las que están la aterosclerosis, la neumonía por aspiración y alteraciones durante el embarazo, entre otras. Resultado generalmente del ingreso de estas desde el periodonto a la circulación sanguínea, evento que las convierte en agentes trombogénicos, como se explicó anteriormente por poseer la capacidad de inducir adhesión y agregación plaquetaria por mimetismo de los sitios de unión al colágeno tipo I y III.

La asociación entre *Porphyromonas gingivalis* y el riesgo de sufrir aterosclerosis se debe, entre otros, a los efectos sistémicos de los lipopolisacáridos (LPS) bacterianos, liberados en el periodonto infectado e inflamado y transportados por el torrente sanguíneo para anclarse a receptores de las células sub-epiteliales; esta unión activa vías de transducción de señales y conduce a la sobreexpresión de moléculas de adhesión de las células endoteliales. Estas moléculas de adhesión endoteliales permiten la fijación y entrada de monocitos al sub-entotelio. Mediante las fimbrias *P. gingivalis* se adhiere e invade las células epiteliales y endoteliales, se internaliza por procesos de endocitosis, se multiplica dentro de ellas, evade la respuesta inmune y altera su función normal. La interacción en la superficie de los monocitos, induce transducción de señales y se activa la transcripción de genes, por lo cual se produce la liberación de citocinas como el factor de necrosis tumoral (FNT-alfa), las interleucinas 1, 6 y 8 (IL-1, IL-6, IL-8), 1-antitripsina, haptoglobina, fibrinógeno, tromboxanos y PGE2, que amplifican la respuesta inflamatoria y ocasionan disfunción endotelial, infiltración leucocitaria y proliferación de células musculares lisas, característica del fenómeno aterogénico.

La enfermedad periodontal también se asocia con la aterosclerosis por la presencia de microorganismos periodontales en los ateromas, donde las endotoxinas pueden ocasionar daño de las células endoteliales e inducir proliferación de la musculatura lisa y así incrementar la producción de marcadores de riesgo cardiovascular.

Pussinen et al, encontraron que las inmunoglobulinas contra los principales patógenos periodontales están asociadas con enfermedades coronarias. Las evidencias sugieren que las infecciones periodontales crónicas o la respuesta del hospedero contra la infección influyen en la aterogénesis y el riesgo de enfermedad coronaria; al respecto patógenos como *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* y *Porphyromonas gingivalis* se han encontrado en las placas aterogénicas.

La infección pulmonar se presenta por aspiración de algunos microorganismos comúnmente como resultado de placa acumulada, por enzimas que modifican las superficies mucosas para promover la adhesión y la colonización o/y por las citocinas procedentes de tejidos periodontales, las cuales pueden alterar el epitelio respiratorio para promover la infección respiratoria. Se han reportado casos de pacientes con enfermedad pulmonar obstructiva crónica y alteraciones periodontales, señalando como uno de los patógenos causantes a *Porphyromonas gingivalis*.

La asociación entre enfermedad periodontal y parto pretérmino, se produce debido a que las concentraciones habituales de progesterona y estradiol durante el embarazo promueven la síntesis de prostaglandinas en el tejido gingival y periodontal de la embarazada y generan aumento en la cantidad de bacterias anaerobias Gram negativas que se depositan en las encías, así como de las concentraciones de lipopolisacáridos (LPS) y endotoxinas producidas por ellas. A este proceso patológico también se asocia la severidad de la enfermedad periodontal y la dimensión de la respuesta inflamatoria principalmente asociada a: factor de necrosis tumoral alfa (TNF- α), de las interleucinas 1 y 6, (IL-1, IL-6), de la prostaglandina E2 (PGE2) y de las metaloproteinasas, pues la combinación de los cambios hormonales y la medida de la respuesta inflamatoria pueden acarrear un riesgo para la integridad del feto y de la placenta. Mujeres que presentan respuesta inmune de tipo celular baja, como aspecto ligado al estado de embarazo, se observa que bacterias anaerobias Gram negativas provenientes del tejido gingival y periodontal, sus productos metabólicos, endotoxinas, lipopolisacáridos (LPS) y productos de la respuesta inflamatoria del hospedero, y que son diseminados por vía hematógena transplacentaria, originan cuadros de inflamación intrauterina y parto pretérmino.

Género *Prevotella*

Clasificación científica

Dominio: Bacteria

Filo: *Bacteroidetes*

Clase: *Bacteroidia*

Orden: *Bacteroidales*

Familia: *Bacteroidaceae*

Género: *Prevotella*

Conformado por las siguientes especies: *P. albensis*, *P. baroniae*, *P. bergensis*, *P. bivia*, *P. brevis*.

P. bryantii, *P. buccae*, *P. buccalis*, *P. corpri*, *P. corporis*, *P. dentalis*, *P. denticola*, *P. disiens*, *P. enoeca*, *P. heparinolytica*, *P. intermedia*, *P. loescheii*, *P. marshii*, *P. massiliensis*, *P. melaninogenica*, *P. multiformis*, *P. multisaccharivorax*, *P. nigrescens*, *P. oralis*, *P. oris*, *P. oulora*, *P. pallens*, *P. ruminicola*, *P. salivae*, *P. shahii*, *P. stercorea*, *P. tanneriae*, *P. timonensis*, *P. veroralis* y *P. zoogloformans*.

Es un género de bacilos Gram negativos anaerobios estrictos, con un tamaño de más o menos 0,5 micras de diámetro x 9.0 micras de largo. Son consideradas generalmente como bacterias comensales por su gran participación en el microbioma humano y su poca intervención en infecciones. Sin embargo, algunas de sus especies pueden asociarse con infecciones oportunistas. Se diferencia del género *Porphyromonas* porque *Prevotella*, presenta capacidad para fermentar azúcares.

Son inmóviles, presentan hemólisis variable, no reducen el nitrato, no resisten concentraciones de bilis y producen melanina. La temperatura óptima de crecimiento es de 37°C, sin embargo, se encuentran especies que tienen la capacidad de desarrollarse a 25°C y a 45°C. El NaCl al 6.5% inhibe el crecimiento de la mayoría de las especies y para un buen

desarrollo necesitan suplementos con hemina y vitamina K. En este género se encuentran especies que originan colonias con pigmentos beige, marrones y negros. Todas las especies, excepto *P. massiliensis* fermentan ciertos azúcares destacándose la sacarosa y lactosa.

Estas bacterias incluyen especies moderadamente sacarolíticas y catabolizan la glucosa por la vía de Embden-Meyerhof-Parnas, aunque no metabolizan los glúcidos por la ruta de las Pentosas- fosfato, ya que carece de la enzima glucosa-6-fosfato deshidrogenasa y gluconato-6-fosfato- deshidrogenasa. Dentro del microbioma humano hacen parte cavidad oral y vaginal, otros ambientes como rumen y tracto gastrointestinal de herbívoros y omnívoros. Las comunidades microbianas intestinales a menudo contienen especies del género *Bacterioides* o *Prevotella*, pero no ambas y la cantidad de estos dos géneros está relacionada con la dieta del huésped, la autoinmunidad y otros fenotipos importantes.

Prevotella, es el género predominante en el sistema respiratorio y se ha relacionado con el desarrollo de abscesos pulmonares y cerebrales, empiema, enfermedad inflamatoria pélvica y abscesos tuboováricos. Las especies residentes de cavidad bucal son consideradas en su mayoría microorganismos periodontopatógenos. Se considera que el desarrollo de enfermedades periodontales se debe a procesos de sinergia con otros microorganismos.

Algunos mecanismos de virulencia de estos microorganismos son: la presencia de fimbrias, encargadas de proveer poder adhesivo al microorganismo, interviniendo en el proceso de adhesión, agregación y congregación; la presencia de adhesinas, moléculas que interactúan con un receptor proteico o polisacárido ubicado en otras bacterias, otras adhesinas como residuos proteicos y glucoprotéicos superficiales; la capacidad para degradar inmunoglobulinas, acción tóxica sobre los fibroblastos y actividad fibrinolítica e inhibición de células B, entre otros.

Prevotella melaninogenica, hidrolizan esculina, pero no almidón, a partir de glucosa y manosa producen ácido acético, isobutírico e isovalérico. Son catalasa, indol y lipasa negativos y sensibles a la bilis, licuan la gelatina y coagulan la leche, pero no hidroliza urea, ni el nitrógeno, lo que indica que solo pueden recibir nutrientes de tipo orgánico.

Como factores de virulencia producen collagenasa, una exotoxina que rompe los enlaces peptídicos del colágeno y permite la patogénesis de otras bacterias. *P. melaninogenica* crece a una temperatura óptima de 37°C y su crecimiento es inhibido por la presencia de hierro, por lo tanto, prospera en áreas de menor contenido de hierro, como en el líquido cervical; sin embargo, puede crear hemolisina en condiciones limitadas de hierro.

P. melaninogenica se ha asociado con muchos tipos de infecciones que incluyen: abscesos orales, infecciones en el tracto intestinal, el tracto genital femenino, las vías respiratorias superiores e inferiores y en la médula ósea, así como en la piomiositis (infección de los músculos esqueléticos) recientemente. Este microorganismo también se ha relacionado con infecciones causadas por mordeduras de perros y gatos. La producción de sulfuro de hidrógeno, amoníaco y sustancias citotóxicas, se asocian con procesos infecciosos.

P. melaninogenica inhibe la fagocitosis y la muerte de otras bacterias cuando el sistema inmune intenta eliminarlos, además, puede hacer que el sistema inmunológico del huésped genere sustancias con potencial para destruir tejidos y aumentar el daño. Estas bacterias pueden generar hemolisina para lisar eritrocitos y otras células importantes en la respuesta inmune como mastocitos, neutrófilos y células polimorfonucleares.

También contribuyen al desarrollo de biopelícula en asociación con otros patógenos, especialmente en los dientes, lo cual facilita la periodontitis: pérdida progresiva de hueso y la recesión de la encía alrededor de los dientes, con la consiguiente pérdida de los dientes.

Prevotella bivia, este bacilo no presenta pigmentación, está presente de forma natural en el tracto vaginal femenino humano y también se observa ocasionalmente en la cavidad oral. Tiene un alto potencial proliferativo en presencia de estrógenos por lo cual se considera el principal anaerobio asociado a la vaginosis bacteriana (VB) y tiene propensión a la adherencia e invasión de las células epiteliales del cuello uterino humano. El LPS es el componente antigénico más potente de la pared celular de esta bacteria y modula la expresión de diversas citocinas proinflamatorias, activa la producción de enzimas lisosomales y aumenta la fagocitosis. La endotoxina purificada de *P. bivia* es capaz de inducir una respuesta de citocinas en células monocíticas.

Se ha aislado de la sangre de pacientes nacidos por cesárea, así como de mujeres diagnosticadas con enfermedad pélvica inflamatoria aguda. Se ha demostrado que tiene la capacidad de invadir el cuello uterino humano y causar infección intrauterina. Estas razones hacen que este organismo sea un factor de riesgo para el resultado del embarazo y el desarrollo del feto. Estudios sobre el tema sugieren que las concentraciones de *P. bivia* y LPS en el fluido vaginal pueden contribuir a la gravedad de la VB y al desarrollo de complicaciones durante el embarazo, como trabajo de parto prematuro, rotura prematura de membranas, endometritis posparto e infección pélvica posoperatoria.

Prevotella intermedia y *Prevotella nigrescens*, son periodontopatógenos que juegan un papel fundamental en el establecimiento y desarrollo de enfermedades polimicrobianas. Además, se caracterizan por su capacidad para adherirse e invadir las células epiteliales gingivales, fibroblastos y células endoteliales. Desde los sitios periodontales infectados, estos patógenos pueden entrar al torrente sanguíneo, induciendo septicemias en pacientes con inmunodeficiencias.

Prevotella shaii, el bacilo mide de 0,5-0,8 micras de diámetro x 8,3-10,0 micras de largo y las colonias miden

aproximadamente de 1-2 milímetros de diámetro, son de color marrón claro, circulares, de bordes regulares, delgadas y convexas. El crecimiento es inhibido por la bilis al 20%, produce ácidos a partir de la glucosa, lactosa, maltosa, D-manosa, D-rafinosa y sacarosa. No produce indol, catalasa ni ureasa, no hidroliza la esculina, y es hidrólisis de la gelatina positiva. Los productos finales obtenidos por esta especie a partir de caldos conteniendo peptona al 1%, 1% de extracto de levadura y 1% de glucosa son ácido succínico y ácido láctico. Su contenido G + C del ADN que en el caso de *P. shaii* es de 44,3mol%.

Prevotella salivae, mide 0,8 micras de diámetro x 0,8-1,7 micras de largo, y sus colonias de 1-2 milímetros de diámetro, son de color marrón claro, de forma circular, bordes regulares, delgada y ligeramente convexo, el crecimiento es inhibido por la bilis al 20%. Produce ácidos a partir del catabolismo de la L-arabinosa, D-cellobiosa, glucosa, lactosa, maltosa, D-manosa, D-rafinosa, salicina, sacarosa, y D-xilosa. No hidrolizan la esculina, no produce indol, no licua la gelatina y no produce catalasa ni ureasa. Como productos finales principales a partir de 1% de peptona, 1% de extracto de levadura, 1% de caldo glucosado, son ácido succínico y ácido láctico. Los principales ácidos grasos son C-15:0 iso-C17:0 3-OH. En cuanto al contenido G + C del ADN de esta especie es de 41,3mol%.

Prevotella marshii, mide 0,4 micras de diámetro x 0,9-3 micras de largo, aunque ocasionalmente puede elongarse la célula y alcanzar hasta 6 micras de longitud. Las colonias se presentan con un tamaño aproximado de 1,8-3,5 milímetros de diámetro, son circulares, de bordes enteros, convexas, opacas a blanco verdosas, en los extremos se pueden observar áreas de líneas o rayas cremas o incoloras. Al enfocar las colonias al microscopio se puede observar una apariencia de aro concéntrico, opaco e iridiscente de tono rosado, verde y amarillo. Fermentan glucosa y maltosa fuertemente y, de manera moderada, fructosa y manosa. Como productos finales del

metabolismo de los carbohidratos esta especie produce ácido acético y ácido succínico en gran cantidad y ácido propiónico en menor cantidad. Hidroliza la gelatina, pero no la arginina ni esculina. No produce indol ni catalasa, no reduce el nitrato y no hay crecimiento en presencia de 20% de bilis. Los ácidos grasos predominantes son Anteiso C15:02 iso-C15:0 e iso C14:0. En cuanto al contenido G + C del ADN en esta especie es de 51mol%.

Prevotella baroniae, mide 0,6 micras de diámetro x 0,6-2,0 micras de largo y ocasionalmente puede alcanzar una longitud que oscila entre 3 y 8 micras, sus colonias miden entre 1,2 a 2,3 milímetros de diámetro, son de forma circular, convexas, con zonas opacas y brillantes hacia la periferia. Fermentan celobiosa, fructosa, glucosa, lactosa, maltosa, manosa, melobiosa, rafinosa, salicina y sacarosa, obteniendo como productos finales ácido acético y ácido succínico, y poca cantidad de ácido isobutírico. No hidroliza la esculina, digiere la gelatina, son urea, indol, catalasa, nitratos y arginina negativos. No crecen en medios con contenido de bilis al 20%, y los ácidos grasos más predominantes son iso-C15:0 anteiso-C15:0 C (16:0) y anteiso-C17:0 el contenido de G + C del ADN esta especie es de 52mol%.

Prevotella multisaccharivorax, mide 0,8 micras de diámetro x 2,5-8,3 micras de largo, las colonias son de color gris o blanco grisáceo, circulares, de bordes continuos, de superficie lisa y ligeramente convexas. El crecimiento es inhibido en bilis al 20%. Produce ácidos a partir de D- celobiosa, glucosa, glicerol, lactosa, maltosa, D-manitol, D-manosa, D-melecitosa, D-rafinosa, D- ramnosa, D-sorbitol, sacarosa, D-trehalosa y D-xilosa y en el caso de L-arabinosa y salicina de forma variable, con la producción de ácido acético, ácido succínico, y en menor cantidad ácido isovalérico. No hidroliza la esculina, no produce indol, ni digiere la gelatina, no produce catalasa ni ureasa. Los principales ácidos grasos presentes son: C18:1w9 y C16:0 dimetilacetal (C16:0 dimetilaldehído) y en cuanto al contenido G + C del ADN de esta especie es de 49,9mol%.

Prevotella amnii, bacilos Gram negativos que miden de 0,8–3,0 micras de largo x 0,5–1.5 micras de diámetro, no presentan movilidad, presentan cierta aerotolerancia, forman colonias sin pigmento, las cuales a las 48 horas de incubación son de color blanco, aspecto lisas y brillantes, de menos de 1 milímetro de diámetro. También presentan una sacarólisis moderada de glucosa, lactosa y maltosa, hidroliza la esculina, pero no la gelatina. Se relaciona genética y fenotípicamente con *Prevotella bivia*, y se diferencia de esta porque no produce alfafucosidasa y sí produce betagalactosidasa-6-fosfato. Además, esta propiedad la separa de *Prevotella disiens*, *Prevotella intermedia*, *Prevotella nigrescens* y *Prevotella pallens*, que tampoco las producen. Las cepas descritas se aislaron de líquido amniótico con aspecto turbio y maloliente.

Prevotella bergensis, bacilo Gram negativos que miden de 0,7–0.8 micras de diámetro x 0,8–6.0 micras de largo, inmóvil, capsulado, de crecimiento moderadamente lento, que produce colonias no pigmentadas de 0,6 a 0,8 milímetros de diámetro, opacas y de coloración gris a blanquecina. Es sacarolítica, fermenta celobiosa, fructosa, glucosa, lactosa, maltosa, manosa, ramnosa, salicina y xilosa y, además, como *Prevotella buccae*, *Prevotella dentalis*, *Prevotella oris* y *Prevotella salivae*, fermenta arabinosa, a diferencia de otras prevotelas. *Prevotella maculosa*, recientemente comunicada a partir de muestras dentales, es también arabinosa positiva y, como las anteriores, sacarosa positiva a diferencia de *P. bergensis*.

P. bergensis en sus pruebas bioquímicas presenta hidrólisis de la esculina, no hidroliza la gelatina y no es productor de catalasa. Como productos finales del metabolismo se encuentran ácido acético, ácido succínico y trazas de ácido isovalérico. Las cepas estudiadas para su descripción se obtuvieron de infecciones de piel y de tejidos blandos como abscesos cutáneos, abscesos de tejidos blandos, herida y úlcera de presión.

Prevotella massiliensis, bacilo Gram negativo, inmóvil que a los 4 días produce colonias de aproximadamente 1

milímetro de diámetro, no pigmentadas, brillantes, lisas y no hemolíticas. Produce indol y oxidasa, no hidroliza la gelatina ni la esculina y es asacarolítica, lo cual la diferencia de otras especies del género. La descripción de esta especie provino de una cepa obtenida de un hemocultivo de un paciente que presentaba fiebre, politraumatismos, con ventilación mecánica y que estaba en la unidad de cuidados intensivos.

Prevotella nanceiensis, bacilos cocoides o cortos que miden 0,4–0,5 micras de diámetro x 0,5–1 micra de largo, inmóviles, de crecimiento moderadamente lento, que producen colonias pequeñas de 0,5 a 1 milímetro de diámetro, de color blanco, lisas, no pigmentadas y rodeadas de una zona de β - hemólisis. Son sacarolíticas frente a glucosa, lactosa, maltosa, manosa, rafinosa y sacarosa y variablemente con celobiosa. Hidroliza la esculina, pero no la gelatina, no produce catalasa. Esta especie es similar a *P. buccalis* y *P. veroralis*, de las que se diferencia respectivamente por la ausencia de producción de arginina arilamidasa y de fermentación del xilano. Produce ácido acético, ácido láctico y ácido succínico como productos finales del metabolismo. Dos de las cepas empleadas para su descripción se aislaron en cultivo puro de un hemocultivo, de un absceso de pulmón y de un cultivo mixto de un lavado broncoalveolar. El contenido de G+C del ADN es de 39,4 moles%.

Prevotella pleuritidis, bacilo Gram negativo que mide 0,8 micras de diámetro x 1,7–4,2 micras de largo, se presenta de forma aislada y es inmóvil. Produce colonias de 0,5 a 1,5 milímetros de diámetro, grises o blanco - grisáceas, lisas, brillantes y no pigmentadas. Moderadamente sacarolítica, frente a glucosa, lactosa, maltosa y manosa. Hidroliza la gelatina, pero no la esculina y produce catalasa. Es similar a *Prevotella enoea*, de la que se diferencia porque ésta no produce leucina arilamidasa, ni glutamil glutámico arilamidasa. El contenido de G+C del ADN es de 45,4 moles%.

Prevotella timonensis, bacilo Gram negativo que mide 0,3–0,5 micras de diámetro x 0,8–1,4 micras de largo, y es inmóvil.

Después de 72 horas de incubación en agar sangre da lugar a la aparición de colonias lisas, brillantes, blanco - grisáceas, no pigmentadas y no hemolíticas. Crece entre 25 y 37°C, donde 37°C es su temperatura óptima. Moderadamente sacarolítica, frente a glucosa, lactosa y maltosa. Hidroliza gelatina, pero no la esculina y no produce catalasa. A diferencia de *P. buccalis*, *P. shahii* y *P. oralis*, que son similares no fermenta ni la manosa ni la rafinosa. *P. timonensis* se aisló de un absceso mamario.

Prevotella multiformis, la forma bacilar mide 0,5-0,8 micras de diámetro x 1,6-6,6 aproximadamente y la forma cocobacilar de 0,8 micras de diámetro x 0,9-1,0 micras de largo. El tamaño de las colonias oscila entre 1 a 2 milímetros de diámetro, son de color marrón claro, circulares, de bordes enteros, delgadas, ligeramente convexas y de superficie lisa. El crecimiento de esta especie es inhibido en presencia de bilis al 20% y produce ácidos a partir de celobiosa, glucosa, glicerol, lactosa, maltosa, D-manosa, D-rafinosa, y sacarosa, con la producción de ácido succínico y ácido acético, y en menor cantidad ácido isovalérico. No hidroliza la esculina, no produce indol, digiere la gelatina, no produce catalasa ni ureasa. El contenido de G + C del ADN de esta especie es de 51,1mol%.

Prevotella maculosa, bacilo Gram negativo sin movilidad, sacarolítico, el cual produce ácido succínico y ácido acético como producto de la fermentación, el contenido G + C del ADN de esta cepa es de 48 mol%. Esta bacteria fue aislada de cavidad bucal humana, como la mayoría de las demás especies de este género.

Prevotella oralis, anteriormente se clasificaba dentro del grupo de los *bacteroides*, es un patógeno implicado en periodontitis. También se ha citado como posible causante de infecciones ginecológicas, osteomielitis, infecciones de tejidos blandos e incluso de endocarditis.

Prevotella ruminicola, muy similar a las demás especies, se relaciona también con infecciones periodontales y de este hay algunos casos descritos de infecciones y abscesos pulmonares.

Género *Fusobacterium*

Clasificación científica

Dominio: Bacteria

Filo: *Fusobacteria*

Familia: *Fusobacteriaceae*

Género: *Fusobacterium*

Son bacterias Gram negativas, anaerobias y de aspecto filamentosos, miden 0.5 a 0.6 micras de diámetro por 3 a 8 micras de largo y se pueden observar células muy largas cuando forman filamentos. Hacen parte del microbioma normal de la orofaringe, del tracto gastrointestinal y genital. Algunas de las especies que lo representan contribuyen a numerosas enfermedades, incluyendo las periodontales, síndrome de Lemierre, angina de Vincent, orofaringitis, bacteremia y úlcera de piel tropical. En humanos, constituyen uno de los principales tipos de flora del aparato digestivo y se encuentran en muchas partes del tracto gastrointestinal.

Las especies patógenas del género *Fusobacterium*, incluyen: *F. nucleatum*, *F. necrophorum*, *F. canifelinum*, *F. gonidiaformans*, *F. mortiferum*, *F. naviforme*, *F. necrogenes*, *F. russii*, *F. ulcerans*, *F. varium* y otras especies son *F. novum*, *F. polymorphum*; y de estos los más frecuentes son: *F. nucleatum* y *F. necrophorum*.

Los principales factores de patogenicidad y virulencia son: LPS (endotoxina), exotoxinas como hemolisinas, leucocidinas. Las especies más patógenas producen enzimas como ADNasa, fosfatasa alcalina, lipasa. También algunas especies producen collagenasa, fosfolipasa C, la cual tiene acción necrótica sobre tejidos y SOD. En cuanto a procesos metabólicos fermentan azúcares con producción de ácido butírico.

Fusobacterium nucleatum, es una bacteria anaerobia Gram negativa, residente común en el biofilm oral y se ha encontrado una estrecha asociación entre las fusobacterias y las periodontitis, también se ha asociado con el cáncer colorrectal,

pero la causalidad y el mecanismo subyacente aún no se ha establecido.

Se reconocen cinco subespecies de esta especie bacteriana: *F. nucleatum nucleatum*, *F. nucleatum polymorphum*, *F. nucleatum fusiforme*, *F. nucleatum vincentii* y *F. nucleatum animalis*. De ellas, *F. nucleatum nucleatum*, es significativamente frecuente en la periodontitis.

Se ha encontrado que el *F. nucleatum* se adhiere, invade e induce respuestas inflamatorias oncogénicas que estimulan el crecimiento de las células de cáncer colorrectal a través de un factor de la adhesina FadA.

Cataboliza aminoácidos, glutamato, histidina y lisina para proporcionar energía, éstos se pueden obtener del metabolismo de péptidos si los aminoácidos libres no están disponibles. El *F. nucleatum* es capaz de remover sulfuro de la cisteína y de la metionina para producir el amoníaco, el butirato, el sulfuro de hidrógeno y el metilmercaptano, compuestos que contribuyen al olor asociado con la halitosis.

De los anaerobios orales, es también el que más probabilidades tiene de causar infecciones extraorales. Sus infecciones metastásicas implican al cerebro, hígado, articulaciones, y las válvulas del corazón. También se ha documentado tromboflebitis séptica en zonas extrafaríngeas. Recientemente se ha estudiado el papel de *F. nucleatum* en las infecciones intrauterinas y parto prematuro.

El *Fusobacterium nucleatum* es el principal patógeno responsable de la coagregación microbiana en el biofilm oral y es un puente que enlaza a otros colonizadores tempranos y tardíos en la estructura del biofilm a través de la adición de patógenos selectivos. Existe una molécula autoinductora universal AI-2, molécula mediadora de la señalización intergenética de múltiples especies en comunidades bacterianas que pueden determinar la percepción y determinación del quorum sensing microbiano y, por lo tanto, inducir y

producir sinergias en la formación y maduración del biofilm oral. Esto postula que el AI-2 de *F. nucleatum* contribuye a la interacción entre diversas especies microbianas y, la interrupción de esta señalización, podría resultar en la inhibición de periodontopatógenos que participan en la formación del biofilm.

La mayoría de las bacterias del microbioma conviven en estado de simbiosis, pero las bacterias patógenas producen estados de disbiosis. La disbiosis es una alteración patogénica del microbioma y como estado alterado produce diversos cuadros patológicos. La disbiosis bacteriana está ligada a diferentes enfermedades, tales como: colitis ulcerativa, enfermedad de Crohns y cáncer colorrectal.

Tiene gran capacidad de adherirse a las células epiteliales e invadir al endotelio, el cual es muy probable que con este mismo mecanismo invada a otros tejidos. Ha demostrado ser altamente invasivo y su actividad es comparable con la de *P. gingivalis* y, la estimulación que provoca en la producción de IL-8, es 10 veces más duradera que la producida por la *E. coli*. El contacto directo entre bacterias y la superficie de la mucosa dispara la respuesta inmune a través de diversos mediadores. Uno de esos moduladores moleculares es la IL-8, una citoquina proinflamatoria que atrae y activa a los neutrófilos.

La adhesividad de esta bacteria se da gracias a sus fimbrias y a la unión de una adhesina – invasina denominada FadA, un factor de virulencia identificado del *F. nucleatum* que se expresa en su superficie. El FadA, tanto en su forma purificada como en compañía de esta bacteria, incrementa las células cancerígenas apuntando a su fuerte potencial carcinogénico. La inflamación y sus productos juegan un papel importante en la oncogénesis del cáncer colorrectal.

Fusobacterium necrophorum, es un bacilo Gram negativo, anaerobio estricto, inmóvil que no forma cápsula, hace parte de la flora habitual de orofaringe, aparato digestivo y tracto genital femenino. Puede provocar sepsis sin complicaciones

trombóticas, bacteriemias, infecciones locales y en el puerperio se destaca por la infección invasora denominada Síndrome de Lemierre (SL), caracterizada por la tríada clásica de trombosis de la vena yugular interna, bacteriemia y focos metastásicos.

Esta especie se encuentra también en bovinos, ovinos, equinos y porcinos, generando solo o con otros microorganismos, la enfermedad denominada pedero, abscesos necróticos en pesuñas y cascos, que pueden llegar hasta la pudrición del tejido y, en porcinos específicamente, causa rinitis necrótica.

Como pruebas bioquímicas se puede identificar por la producción de lipasa, indol, fermentación de glucosa y reacción negativa para lecitinasa.

Género *Tannerella*

Clasificación científica

Dominio: Bacteria

Filo: *Bacteroidetes*

Clase: *Bacteroidia*

Orden: *Bacteroidales*

Familia: *Porphyromonadaceae*

Género: *Tannerella*

La morfología de este género corresponde a bacilos Gram negativos, de aspecto fusiforme, anaerobio estricto, con un diámetro de 0,3 a 0,5 micras, una longitud de 1 a 30 micras, siendo como promedio de 5 micras, a nivel central la bacteria presenta un agrandamiento del diámetro de hasta 3 micras. Hacen parte del microbioma de tracto intestinal y orofaringe del hombre y animales. Es uno de los integrantes del complejo rojo, importante consorcio bacteriano en la patología periodontal.

Los factores de patogenicidad y virulencia de estas bacterias se relacionan con su pared celular rígida, producción

de proteínas y enzimas; pueden ser móviles, en este caso, poseen un solo flagelo o ser inmóviles. Se reconoce como agente responsable de infecciones odontogénicas.

Tannerella forsythia, es un bacilo Gram negativo que presenta aspecto fusiforme, se comporta como anaerobio estricto, no tiene movilidad, tiene en la parte externa de su pared celular una cubierta llamada capa S de aproximadamente 10 nanómetros de ancho. En su pared celular se encuentran una membrana externa y otra interna, separados por una zona densa de electrones que tiene aproximadamente 16 nanómetros de ancho. *T. forsythia* tiene similitud morfológica con *Fusobacterium* y tienden a confundirse al microscopio, así que es necesario realizar pruebas bioquímicas para diferenciarlas y se obtienen resultados como: no produce ácido butírico, no fermenta carbohidratos, no crece en caldo glucosado, tiene actividad tipo tripsina, morfológicamente en el centro de su cuerpo bacteriano presenta un incremento de su volumen que puede llegar hasta 3 micras.

T. forsythia presenta desarrollo lento y escaso en los cultivos, se encuentra como microorganismo comensal de la cavidad bucal y se ha podido aislar e identificar a partir de saliva, fluido gingival y bolsas periodontales, exige un ambiente completamente anaeróbico y medios que tengan complementos de enriquecimiento.

Entre los factores de virulencia se encuentran:

Capa S: es una cubierta externa de la bacteria compuesta de proteínas las cuales se intervienen en la adhesión e invasión bacteriana y la disminución de la respuesta inmune del hospedero. Estudios han podido identificar esta capa como mediadora en la adhesión e invasión a células del carcinoma epitelial de la boca.

Proteína BspA: proteína de superficie rica en leucina, presenta dos regiones D1 y D2 en la porción N terminal y en la porción C terminal contiene 4 dominios de tipo

inmunoglobulina. La BspA se une a los componentes de la matriz extracelular, fibronectina y fibrinógeno, y también induce la producción de citocinas proinflamatorias.

Lipoproteína BflP: considerada una evasina, con actividad sobre fibroblastos gingivales, para producir elevados niveles de IL-6 y TNF- α .

Proteasa PrtH: codificada con el gen *prtH*, hidroliza el péptido sintético N-Benzoyl-Val-Gly-Arg-p- Nitroanilida, aumenta el potencial oxidativo mitocondrial en las células, lo que genera producción de IL-8.

Sialidasas: corresponden a enzimas que cortan enlaces α - cetosódicos entre el ácido siálico y los residuos glucósidos de glicoproteínas del huésped.

Enolasa: esta enzima convierte el 2-fosfoglicerato a fosfoenolpiruvato, es citolítica secretada o expuesta en la superficie bacteriana que puede funcionar como receptor para el plasminógeno, lo que genera la degradación del fibrinógeno. También induce la producción de citocinas proinflamatorias como IL-1 β , IL-6, IL-8 y TNF- α en la línea celular de monocitos THP-1 humano.

Dipeptidil Aminopeptidasa IV: esta serina proteasa degrada gelatina, colágeno tipo I y III. Mirolisina, metaloproteasa de la familia pappalysin, corta múltiples componentes de la vía del complemento, protegiendo a la bacteria de la acción de éste.

Molécula Chaperona GroEL: molécula presente en células procariotas, la cual ayuda al plegamiento de otras proteínas, siendo un homólogo de la proteína 60 de Shock térmico humano. Participa en generar una mayor respuesta inflamatoria, ya que induce producción de IL-6 e IL-8 por los fibroblastos gingivales y el ligamento periodontal.

Ácidos nonulosónicos: son azúcares similares en composición al ácido siálico, conformado por 9 carbonos, α - cetoácidos, que se encuentran en la superficie bacteriana y

contribuyen a la supresión de la respuesta inmunitaria pro-inflamatoria, permitiendo la persistencia de *T. forsythia* en el hospedero.

Otros factores que podrían considerarse de virulencia, ya que favorecen la formación de biofilm subgingival, son: la coagregación, la estimulación del crecimiento bacteriano, así como la sinergia, del consorcio entre *T. forsythia* y otros microorganismos del complejo rojo como *P. gingivalis* y *T. denticola*.

La patogenia de *T. forsythia*, se resalta fuertemente en los procesos relacionados con la periodontitis, también se ha identificado en lesiones ateroscleróticas; se ha aislado en mujeres con vaginosis bacteriana. Recientemente se ha descubierto que la presencia de *T. forsythia* oral se relaciona con un mayor riesgo de cáncer de estómago.

Género *Aggregatibacter*

Clasificación científica

Reino: Bacteria

Filo: *Proteobacteria*

Clase: *Gammaproteobacteria*

Orden: *Pasteurellales*

Familia: *Pasteurellaceae*

Género: *Aggregatibacter*

El género cuenta con una sola especie descrita: *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, denominada hasta hace poco como *Actinobacillus actinomycetemcomitans*. Su morfología corresponde a un cocobacilo Gram negativo, que mide aproximadamente 0,5 micras de diámetro x 1,5 micras de largo, se puede presentar en forma aislada, en pares o en pequeños racimos, no presenta cápsula y es inmóvil. En aislamientos a partir de cultivo se encuentra en forma bacilar, mientras que

en las observaciones microscópicas directas de la muestra clínica se observan las típicas formas cocoides. Es un microorganismo capnófilo, crece bien en atmósfera con CO₂ al 5% o en condiciones de anaerobiosis.

Aggregatibacter actinomycetemcomitans, hace parte del microbioma de la cavidad oral en individuos sanos, pero participa como agente etiológico de formas agresivas de periodontitis. Como patógeno oportunista ha sido aislado principalmente en muestras de sangre, abscesos y tejidos de pacientes con actinomicosis, endocarditis infecciosa, osteomielitis, glomerulonefritis, endoftalmitis, neumonía, absceso cerebral y hepático, con la característica de ser en algunos casos el agente predominante en estas patologías. También *A. actinomycetemcomitans* con otras bacterias periodontales, podrían ser un factor de riesgo en el desarrollo de enfermedad cardiovascular ya que ha sido encontrado en placas ateromatosas de arterias coronarias.

Su rango de pH óptimo varía entre 7.0 y 8.0. En cultivo las colonias miden aproximadamente de 0,5 a 1,0 milímetro de diámetro, son translúcidas con bordes irregulares, superficie rugosa y fuertemente adheridas al agar. Tras incubaciones prolongadas dan origen a una formación estrellada o de cigarrillos cruzados en el centro de la colonia. En el medio líquido *A. actinomycetemcomitans*, forma gránulos translúcidos aislados que se adhieren a las paredes o fondo del tubo, y el medio permanece limpio o de aspecto transparente.

Como características bioquímicas, es un microorganismo oxidasa negativa, indol negativo, catalasa positiva, reduce nitratos, es fosfatasa ácida y alcalina positiva; fermentador de carbohidratos como almidón, sacarosa, trehalosa y lactosa y no es hemolítico. En cultivo es poco exigente, pues no requiere factores de crecimiento como la hemina y/o nicotinamida adenina dinucleótido NAD, sin embargo, con estos crece mucho mejor. Actualmente, se han identificado siete diferentes serotipos de *A. actinomycetemcomitans*, que se diferencian por las estructuras de O-polisacárido (O-PS).

Presenta factores de virulencia relacionados con la capacidad de adherencia a las células del hospedero, lo cual realiza por medio de sus fimbrias y un material amorfo extracelular proteico con la misma función, producción de leucotoxina con actividad letal sobre polimorfonucleares, leucocitos y macrófagos, cuya acción incluye penetrar y formar poros en sus membranas, que conlleva a la pérdida de potasio intracelular y muerte para la célula. De otro lado, se ha comprobado *in vitro* que no tiene acción sobre células epiteliales, fibroblastos, plaquetas y eritrocitos.

Toxina de distensión citoletal (CDT), codificado por el operón *cdtABC*, ésta inhabilita la progresión del ciclo celular en G2, ocasionando apoptosis celular. Igualmente puede inhibir la multiplicación de linfocitos CD4, impidiendo la respuesta adecuada del sistema inmune.

En su pared celular se encuentran vesículas, endotoxina (LPS) la cual tiene una fuerte actividad produciendo reabsorción ósea, activando macrófagos para que estimulados produzcan IL1-B y factor de necrosis tumoral alfa, que a la vez actúan como mediadores de la inflamación y reabsorción ósea.

Proteínas de la bacteria de unión a los receptores Fc de las inmunoglobulinas que le permiten, por un lado, evitar la acción citoletal del complemento y, por otro, que se lleve a cabo la adecuada opsonización de la bacteria para la fagocitosis.

Proteína similar a GROE1, con acción osteolítica, enzima capaz de deteriorar el tejido conectivo del periodonto.

Citotoxinas, las cuales inhiben la proliferación de fibroblastos y la capacidad del huésped de sintetizar colágeno, para la recuperación de los tejidos.

Epiteliotoxinas, las cuales destruyen las hemidesmosomas de la unión intercelular como mecanismo de invasión y profundización de la infección.

A. actinomycetemcomitans, está asociado a alteraciones locales inmunitarias como la activación temprana de los linfocitos T supresores, así como de inhibición de inmunoglobulinas IgG, IgM por células B, por mecanismos que aún no están muy bien definidos. Otros factores que podrían aumentar su virulencia son la producción de bacteriocinas que producen un antagonismo bacteriano contra *Streptococcus mutans* y otros microorganismos de la cavidad oral. También altera la quimiotaxis de neutrófilos ya que producen una molécula de bajo peso molecular, que inhibe la sustancia quimioatrayente FMLP.

Como enzimas degradadoras de O₂, produce intraleucocitariamente catalasa y superóxido dismutasa inhibiendo su destrucción en el fagolisosoma. Esta bacteria también presenta plásmidos y bacteriófagos.

Género *Barnesiella*

Clasificación científica

Reino: gérmenes

Filo: *Bacteroidetes*

Clase: *Bacteroidetes*

Orden: *Bacteroidales*

Familia: *Porphyromonadaceae*

Género: *Barnesiella*

Con sus dos especies *B. intestinihominis* y *B. viscericola*, generalmente solo se encuentran en niveles bastante bajos en el intestino ya que representa menos del 1% de las bacterias intestinales totales de un individuo. Su descubrimiento fue relativamente reciente y abre un nuevo camino en la investigación para comprender adecuadamente su papel en términos de salud; ya algunos experimentos han demostrado que la introducción deliberada de *Barnesiella* en el tracto

gastrointestinal puede prevenir la propagación de bacterias altamente resistentes a los antibióticos.

Barnesiella intestinihominis, es un bacilo Gram negativo, anaeróbico y ha sido aislado de heces humanas. Con un tamaño de 0,8–1,6 micras de diámetro × 1,7–11 micras de largo, inmóvil y anaeróbico. En agar Eggerth-Gagnon, las colonias miden 1 a 2 milímetros de diámetro, con un color entre gris a grisáceo blanquecino, circulares, enteras, ligeramente convexas y lisas. Es un microorganismo sacarolítico, con metabolismo estrictamente fermentativo, a partir del cual se producen ácidos acético y succínico. El crecimiento se inhibe en medios con más del 20% de bilis. Hidroliza la esculina, es Indol negativo y su contenido de ADN G + C es de 52% en moles.

Género *Odoribacter*

Clasificación científica

Dominio: Bacteria

Filo: *Bacteroidetes*

Clase: *Bacteroidia*

Orden: *Bacteroidales*

Familia: *Bacteroidaceae*

Género: *Odoribacter*

Está compuesto por las especies: *Odoribacter denticanis*, *Odoribacter laneus* y *Odoribacter splanchnicus*. El nombre proviene de las palabras latinas “olor” y “bacter”. Una combinación de los dos significa “barra de mal olor”. Las bacterias de este género tienen forma de bastón, algunas cepas se encuentran en la boca de los perros con enfermedad de las encías, lo que explica su asociación con el mal olor.

Estas bacterias también se encuentran de forma saprófita en el intestino humano. Aunque los niveles bajos de

Odoribacter se relacionan con pacientes que padecen enfermedad de Crohn y colitis ulcerosa.

Odoribacter splanchnicus, descrito inicialmente como un *Bacteroides sacarolítico* productor de ácido butírico. Su morfología corresponde a bacilos Gram negativos de 1 a 2.5 micras de largo x 0.7 micras de diámetro, inmóviles. Fermentadores de glucosa, fructosa, galactosa, manosa, lactosa y arabinosa con formación de ácido y gas. Descarboxilan el ácido glutámico y forman indol y H₂S. En caldo de peptona-extracto de levadura y caldo de peptona-extracto de levadura-glucosa producen ácido acético, propiónico, isobutírico, butírico e isovalérico. En anaerobiosis y, a partir de la lisina, producen butirato.

Género *Alistipes*

Clasificación científica

Dominio: Bacterias

Filo: *Bacteroidetes*

Clase: *Bacteroidia*

Orden: *Bacteroidales*

Familia: *Rikenellaceae*

Género: *Alistipes*

Su nombre significa “otros bacilos”, en este género se incluyó a *Bacteroides putredinis* (reclasificado como *Alistipes putredinis*) y a *Alistipes finegoldii*. Son bacilos Gram negativos, rectos o ligeramente curvos, no presentan movilidad, poseen crecimiento rápido con producción de colonias negro pigmentadas en medios con sangre lacada en incubaciones de más de 4 días y no emiten fluorescencia con luz ultravioleta. *Alistipes finegoldii*, es resistente a concentraciones del 20% de bilis y fermenta azúcares. Producen ácido succínico como producto final de su metabolismo y, a diferencia de

Porphyromonas, no produce ácido butírico. Pertenece a la familia *Rikenellaceae*.

Alistipes finegoldii, son bacilos muy delgados de 0,2 micras de diámetro por 0,8 a 2 micras de largo, se pueden observar aislados y en ocasiones forman filamentos. En sus colonias se observa una β – hemólisis débil, las colonias miden aproximadamente 0,7 milímetros de diámetro. No producen catalasa, hidrolizan la gelatina, pero la hidrólisis de esculina es variable. Fermentan glucosa y lactosa. Hacen parte de la flora fecal, se ha aislado en casos relacionados con apendicitis, abscesos perirrectales, abscesos cerebrales, con la generalidad de cursar con infección mixta y en bacteriemias en pacientes con cáncer de colon. Se ha detectado la producción de betalactamasas, por lo que su sensibilidad a la penicilina es variable. El valor de C+G en ADN es de 57 moles%.

Alistipes onderdonkii, este bacilo mide 0,2 a 0,5 micras de diámetro por 0,5 a 3 micras de largo. En incubaciones de 48 horas da origen a colonias de color gris, con aspecto opaco, débilmente β - hemolíticas y que miden de 0,5 a 0,8 milímetros de diámetro, las que comienzan a presentar pigmento después de 4 días de incubación. Las enzimas betaglucosidasa y alfafucosidasa son pruebas que la diferencian de *Alistipes shahii* y de *A. finegoldii*. Es catalasa negativa, en cuanto a la esculina, su hidrólisis es variable. Se presume que hace parte de la flora fecal y se relaciona con infecciones polimicrobianas y mixtas. Se ha aislado de tejido de apéndice, de absceso abdominal y de orina. En algunas cepas se ha detectado la producción de betalactamasas, su contenido de G+C del ADN es de 58 moles%.

Alistipes shahii, bacilos que miden 0,2 a 0,5 micras de diámetro por 0,5 a 3 micras de largo y comparte características fenotípicas con *A. onderdonkii*. Con 48 horas de incubación las colonias son grises, opacas, débilmente β - hemolíticas y de 0,5 a 1 milímetro de diámetro, que a los 4 días comienzan a pigmentarse. No produce catalasa, pero hidroliza la esculina.

Probablemente forma parte de la flora fecal y se ha aislado de tejido apendicular y de líquidos peritoneales. El contenido de G+C del ADN es de 56 moles%.

Género *Jonquetella*

Clasificación científica

Dominio: Bacteria

Filo: *Synergistetes*

Clase: *Synergistia*

Orden: *Synergistales*

Familia: *Synergistaceae*

Género: *Jonquetella*

Es un género de bacterias Gram-negativas y estrictamente anaeróbicas de la familia *Synergistaceae* con una especie conocida *Jonquetella anthropi* que fue aislada de un quiste humano en Montpellier, Francia.

Jonquetella anthropi, su denominación hace referencia a su origen humano. Son bacilos Gram negativos que miden de 0,8 a 0,9 micras de diámetro por 1,4 a 1,7 micras de largo, rectos, movilidad negativa, requiere anaerobiosis estricta y para su desarrollo demanda requerimientos nutricionales especiales; el cloruro de sodio estimula su crecimiento. Para obtener buen desarrollo se debe esperar en promedio de 3 a 5 días, y de colonias muy pequeñas, de aproximadamente 0,5 milímetros de diámetro, no presentan hemólisis, forma circular, color gris y de aspecto brillante. Es oxidasa y catalasa negativas, no resiste concentraciones de bilis, no fermenta azúcares y es poco reactiva en otras pruebas fenotípicas de rutina. Con sistemas bioquímicos enzimáticos da positivo para leucil glicina y glicina arilamidasa. El ácido acético, ácido láctico, ácido succínico y ácido isovalérico, son los principales productos finales de su metabolismo.

Las cepas estudiadas para su clasificación se aislaron de diferentes muestras clínicas: líquido peritoneal, absceso de mama, quiste sebáceo, herida y absceso pélvico, colección procedente de una úlcera sacra. No se conocen resultados relacionados con la sensibilidad a los antimicrobianos. El contenido de G+C del ADN es de 59,4 moles%.

Género *Leptotrichia*

Clasificación científica

Dominio: Bacteria

Filo: *Fusobacteria*

Clase: *Fusobacteria*

Orden: *Fusobacteriales*

Familia: *Leptotrichiaceae*

Género: *Leptotrichia*

Engloba a bacilos Gram negativos, también con forma fusiforme, que presentan un extremo puntiagudo y redondeada en el otro. Son fermentadores de azúcares, para ello utilizan la ruta del butirato. Al microscopio electrónico se observa presencia de proyecciones regularmente originadas en la membrana. Son de movilidad negativa, necesitan medios con sangre para anaerobios en los que su crecimiento es lento. El producto final de su metabolismo es el ácido láctico. Hace parte de la flora oral y genitourinaria del humano, desde donde pueden convertirse en patógenos ocasionales, sobre todo, en individuos inmunodeprimidos. Las últimas especies caracterizadas son: *Leptotrichia buccalis*, *Leptotrichia hofstadii*, *Leptotrichia hongkongensis*, *Leptotrichia massiliensis*, *Leptotrichia shahii*, *Leptotrichia trevisanii*, *Leptotrichia amnionii*, *Leptotrichia goodfellowii* y *Leptotrichia wadei*, algunas de ellas implicadas en enfermedades infecciosas.

Leptotrichia amnionii, bacteria Gram negativa pleomórfica que puede presentarse como cocobacilos hasta formas largas

y de características fusiformes que se pueden unir por el extremo formando estructuras filamentosas. En cultivos primarios a partir de agar sangre, crecen en 3 días, pero difícilmente se obtienen subcultivos en este mismo medio, aunque con resultado positivo en agar chocolate, con 10% de CO₂. Hace parte de la flora normal vaginal, generalmente en mujeres embarazadas. En el parto o en las proximidades de este, se ha encontrado asociada a: muerte fetal intrauterina, bacteriemias durante el parto, piosalpingitis, aborto, vaginosis bacteriana, aborto con corioamnioniditis y también en absceso renal e infección urinaria en trasplante renal, y en un caso de artritis en varón.

Leptotrichia goodfellowii, bacilos Gram negativos que miden de 2 a 4 micras de largo por 3 a 0,6 micras de diámetro, se pueden observar en la coloración agrupados en parejas o en cadenas, unidos por sus extremos aplanados, algunos de estos bacilos pueden presentarse ligeramente curvos. Es un anaerobio poco estricto, ya que puede crecer en aerobiosis, pero no crece ni a 25°C ni a 42°C. Las colonias miden de 0,8 a 2,0 milímetros de diámetro, son de color gris hasta levemente marrón, de aspecto tanto brillante como opacas, secas y β - hemolíticas. Como otras especies del género, es catalasa positiva y produce hidrólisis de la esculina. Las enzimas arginina dihidrolasa, β - galactosidasa, N-acetil- glucosaminidasa, arginina arilamidasa, leucina arilamidasa e histidina arilamidasa son positivas y alfa-glucosidasa negativa. Su hábitat es posiblemente oral, aunque se ha descrito también de bacteriemia y endocarditis, de los que se la consideró causante de la infección y se sospechó que el origen de la bacteria fue gástrico y oral, respectivamente.

Leptotrichia trevisanii, bacilos largos que miden 0,8–0,9 micras de diámetro x 6–13 micras de largo, de aspecto fusiforme agrupados en parejas o en cadenas y con los extremos unidos. Son inmóviles, es aerotolerante, crece con un 5% de CO₂. Tras 5 días de incubación produce colonias de aproximadamente 2 milímetros de diámetro, grisáceas y lisas. Produce catalasa y ureasa, no produce indol ni oxidasa. Fermenta la glucosa

y produce ácido láctico como producto final. Esta bacteria se aisló a partir de una bacteriemia en un paciente con una leucemia mieloide aguda.

Género *Parabacteroides*

Clasificación científica

Dominio: Bacteria

Filo: *Bacteroidetes*

Clase: *Bacteroidia*

Orden: *Bacteroidales*

Familia: *Porphyromonadaceae*

Género: *Parabacteroides*

Las especies identificadas son: *P. acidifaciens*, *P. bouches-durhonensis*, *P. chartae*, *P. chinchillae*, *P. chongii*, *P. distasonis*, *P. faecis*, *P. goldsteinii*, *P. gordonii*, *P. johnsonii*, *P. massiliensis*, *P. merdae*, *P. pacaensis*, *P. provencensis* y *P. timonensis*.

En el género *Bacteroides*, se encuentran especies que presentan características fenotípicas como ser productoras de ácido acético y ácido succínico, resistentes a la bilis y fermentar azúcares. En estudios genéticos, de acuerdo con la composición de menaquinonas, se han incluido en el nuevo género *Parabacteroides*: *Bacteroides distasonis*, *Bacteroides goldsteinii* y *Bacteroides merdae* que ahora se denominan *Parabacteroides distasonis*, *Parabacteroides goldsteinii* y *Parabacteroides merdae*. Tanto *B. distasonis* como *B. goldsteinii* están implicados en infecciones humanas. De otro lado, *in vitro*, *P. distasonis*, ha demostrado la capacidad de transformar los ácidos biliares en succinato.

Género *Eikenella*

Clasificación científica

Dominio: Bacteria

Filo: *Proteobacteria*

Clase: *Betaproteobacteria*

Orden: *Neisseriales*

Familia: *Neisseriaceae*

Genero: *Eikenella*

Especie: *E. corrodens*

Este género pertenece a la familia *Neisseriaceae* de la subdivisión β – *proteobacterias*.

Eikenella corrodens, es un bacilo Gram negativo anaerobio de crecimiento lento, hace parte de las bacterias del grupo HACEK, produce una pequeña depresión en el medio de cultivo donde crece la colonia. Se describió a partir de abscesos humanos y es capaz de adaptarse al crecimiento aeróbico después de varios pases en subcultivos, por lo cual se considera también facultativa. Su desarrollo aeróbico se obtiene en medios de cultivo con hemina (factor X).

Esta especie es parte del microbioma de la orofaringe, tracto respiratorio superior y mucosas; se considera un patógeno oportunista que se asocia con diversas infecciones, sobre todo en cabeza y cuello. La mayoría de las infecciones que provoca son leves y benignas, sin embargo, bajo condiciones especiales del hospedero o en asocio con otras bacterias puede producir infecciones invasivas graves.

La morfología de *Eikenella corrodens* puede ser de cocobacilo o bacilo, Gram negativo pequeño, recto, pleomórfico, no ramificado, inmóvil, y no presenta cápsula. Mide entre 0,3 a 0,4 micras de diámetro por 1,5 a 4 micras de largo. Crece lentamente en condiciones aeróbicas en agar sangre o agar chocolate y la presencia de 5% de CO₂ favorece su crecimiento. Después de 48 horas a 35- 37°C las colonias miden 0,5-1 milímetro de diámetro. El aspecto de sus colonias es rugosa, convexa, de bordes circulares o irregulares, de color grisáceo, translúcidas, no hemolíticas y presentan olor a humedad o a

cloro. Después de varios días de incubación adquieren una pigmentación amarillenta y se puede observar macroscópicamente que algunas colonias corroen o producen pequeños surcos en el agar. También se pueden observar colonias rodeadas por un halo verdoso. Cuando se examinan estas colonias con lupa, se observa que la depresión, halo o surcos en el agar, son en realidad colonias muy pequeñas.

E. corrodens es oxidasa, nitrata, ornitina descarboxilasa y trazas de sulfuro de hidrógeno (H_2S) positivas; fermenta carbohidratos, produce indol, hidroliza la esculina y la actividad ureasa y gelatinasa son negativas, con variabilidad en la reacción frente a catalasa y lisina descarboxilasa.

Se han reportado cepas portadoras de betalactamasas que muestran actividad disminuida a las cefalosporinas y que son inhibidas por ácido clavulánico y sulbactam.

Género *Capnocytophaga*

Clasificación científica

Dominio: Bacteria

Filo: *Bacteroidetes*

Clase: *Flavobacteria*

Orden: *Flavobacteriales*

Familia: *Flavobacteriaceae*

Género: *Capnocytophaga*

Este género forma parte de las bacterias presentes en la cavidad oral de humanos y animales en los cuales puede ser causante de la placa dental. Su nombre se deriva de la necesidad del CO_2 para su desarrollo. En la morfología, son bacilos Gram negativos, en algunos casos con aspecto fusiforme semejante al de las fusobacterias, en otros, de formas curvas o cocoides.

Son inmóviles para su desarrollo, tanto en aerobiosis como en anaerobiosis, requieren de un 5 a 10% de CO_2 o HCO_3^- y

de medios de cultivo enriquecidos. Su metabolismo es estrictamente fermentativo, con productos finales como ácido acético y succínico. Las especies reconocidas son: *C. ochracea*, *C. sputigena*, *C. haemolytica*, *C. gingivalis*, *C. granulosa*, *C. canimorsus* y *C. cynodegmi*.

Se desarrolla en agar sangre y chocolate, pero no en agar MacConkey, pudiendo requerir un período de incubación prolongado; requiere la presencia de 5-10% de CO₂ y pueden crecer también en anaerobiosis. Las colonias en el agar sangre son muy pequeñas a las 24 horas a 37°C y alcanzan 2-4 milímetros de diámetro en dos a cuatro días. Son convexas o planas, de borde irregular y ligeramente rosa - amarillentas. Fenotípicamente, las colonias de *C. canimorsus* son positivas para los test de oxidasa, catalasa, arginina dihidrolasa y o-nitrofenil-β-D- galactopiranosida y negativas para ureasa, nitratos e indol.

Otras especies son catalasa negativa y oxidasa negativa, cuenta con una variedad de factores de patogenicidad y virulencia que incluye enzimas como aminopeptidasas, fosfatasas ácidas y alcalinas, proteasas que hidrolizan la IgA y la IgG, lo que interfiere con la respuesta inmune en las mucosas, y tripsina, que le sirven en la invasión del tejido periodontal.

Algunos reportes de casos asocian las especies *C. gingivalis*, *C. ochracea* y *C. sputigena* con bacteriemias y endocarditis secundarias a lesiones de la cavidad oral en pacientes inmunosuprimidos y con menor frecuencia en pacientes inmunocompetentes. Las especies *C. canimorsus* y *C. cynodegmi*, los cuales forman parte de la microflora oral de perros y gatos, se asocian con la producción de bacteriemias y meningitis por mordeduras o arañazos en personas inmunodeprimidos e inmunocompetentes. También se ha relacionado con cuadros como: conjuntivitis, queratitis, endoftalmitis, endocarditis, abscesos mediastínicos, corioamnionitis, endometritis, meningitis, empiema pleural, neumonía, osteomielitis, artritis sépticas, peritonitis, pielonefritis, linfadenopatía inguinal, sepsis y bacteriemias.

Otros Bacilos Gram negativos anaerobios Género *Campylobacter*

Clasificación científica

Dominio: Bacteria

Filo: *Proteobacteria*

Clase: *Epsilonproteobacteria*

Orden: *Campylobacterales*

Familia: *Campylobacteraceae*

Género: *Campylobacter*

Las especies que conforman el género son: *C. coli*, *C. concisus*, *C. curvus*, *C. faecalis*, *C. fetus*, *C. gracilis*, *C. helveticus*, *C. hominis*, *C. hyointestinalis*, *C. insulaenigrae*, *C. jejuni*, *C. lanienae*, *C. lari*, *C. mucosalis*, *C. rectus*, *C. showae*, *C. sputorum*, *C. upsaliensis*.

En esta familia *Campylobacteraceae*, se encuentra el género *Campylobacter*, cuya morfología es bacilos curvos y con movilidad positiva. En general sus especies se desarrollan bien en microaerobiosis, algunas de ellas como: *Campylobacter gracilis*, *Campylobacter showae*, *Campylobacter curvus*, *Campylobacter rectus* y *Campylobacter concisus*, prefiere la anaerobiosis y *Campylobacter ureolyticus* y *Campylobacter hominis*, requieren anaerobiosis estricta.

Estas bacterias presentan oxidasa positiva y variabilidad en la reacción a la catalasa. Se desarrollan muy bien a temperaturas entre los 25 y 42 °C., con la producción de colonias pigmentadas. Su metabolismo respiratorio es de tipo microaerófilo, por lo que es necesario proveerles de 3 a 5% de O₂, 10% de CO₂ y 85% de N. Los medios de cultivo adecuados deben ser nutritivos y enriquecidos como el Preston 1/10 y el Park-Sanders 1/10. Poseen un flagelo, lo cual les otorga la característica de ser muy móviles, que, por razón de su morfología, al igual que los *Helicobacter*, se desplazan en forma

de sacacorchos. Son bacterias sensibles a la cloración y pasteurización. Tienen una morfología característica al observarlas al microscopio, en forma de "S", de "coma", o también llamada "en caballito de mar".

Varias especies de *Campylobacter* se han relacionado con enfermedades en humanos, siendo *C. jejuni* y *C. coli* las más frecuentes. *Campylobacter jejuni* se considera una de las principales causas de intoxicación alimentaria en países desarrollados. La enfermedad infecciosa ocasionada por bacterias de este género se conoce como campilobacteriosis; *C. fetus* está implicado en abortos espontáneos en ganado y ovejas, y se considera un patógeno oportunista.

La infección provocada por las *Campylobacterias* presenta un período de incubación de dos a cinco días y dentro de sus signos y síntomas se encuentran fiebre, dolor abdominal y diarrea. Ocasionalmente, las complicaciones post-infección pueden conducir a artritis reactiva, síndrome de Guillain-Barré y otras. La transmisión generalmente es por contacto directo con alimentos o agua contaminada, o por contacto humano o animal.

Género *Acetofilamentum*

Clasificación científica

Dominio: Bacteria

Filo: *Bacteroidetes*

Clase: *Bacteroidia*

Orden: *Bacteroidales*

Familia: *Bacteroidaceae*

Género: *Acetofilamentum*

El género lo conforman bacilos Gram negativos inmóviles, productores de acetato, sus células individuales son extremadamente delgadas, miden de 0,18 a 0,3 micras de diámetro $\times$ 2 a 3 micras de largo. Con frecuencia forman filamentos

de más de 100 micras de longitud. Su crecimiento óptimo se da entre 35 y 38 °C, a un pH entre 7.3 y 8.5, como nutriente requiere extracto de levadura. Forman acetato, CO₂ y el H₂, a partir de azúcares tipo hexosas. Las concentraciones crecientes de H₂ en la fase gaseosa (5-20%) son inhibitorias para su crecimiento. Además de las hexosas utiliza varias pentosas y aminoácidos en su metabolismo. El contenido de G + C del ADN es 47% en moles y su única especie es *A. rigidum*, el cual fue asilado de lodos.

Género *Acetomicrobium*

Clasificación científica

Dominio: Bacteria

Filo: *Bacteroidetes*

Clase: *Bacteroidia*

Orden: *Bacteroidales*

Familia: *Bacteroidaceae*

Género: *Acetomicrobium*

El género está conformado por: *A. faecale*, *A. flavidum*, *A. hydrogeniformans*, *A. móvil*, *A. rogeniformans* y *A. thermoterrenum*.

Acetomicrobium flavidum, es una bacteria Gram negativa, móvil, termofílica. Se aisló de un digestor de lodos de depuradora anaeróbico termófilo operado a 60°C.

Acetomicrobium rogeniformans, es anaerobio obligado del filo Synergistetes, se aisló de agua de producción de petróleo recolectada en Alaska. Tiene la capacidad inusual de producir casi 4 moléculas de H₂ por molécula de glucosa.

Las células corresponden a bacilos Gram negativos, inmóviles, con un tamaño de 1,7-2,7 micras de largo x 0,4-0,5 micras de diámetro. El contenido de G + C del ADN genómico es 46,6% en moles. Para su desarrollo óptimo requiere temperatura de 55°C, un pH de 7.0 y concentración de NaCl

de 10 g /L. La bacteria fermenta azúcares como: D-fructosa, D-glucosa, inositol, maltosa, D- manosa, α -cetoglutarato, L-glutamato, malonato, piruvato, L-tartrato, L-asparagina; utiliza varios aminoácidos como: L-cisteína, L-histidina, L-leucina, L-fenilalanina, L-serina, L-treonina, L- valina. También utiliza la inulina como reserva glucídica, la triptona y el extracto de levadura. Reducen a sulfuro el tiosulfato, el azufre y la L-cistina y el crotonato a butirato con glucosa como donante de electrones.

El género *Acetothermus*, bacilo Gram negativo, es una clase de bacterias perteneciente al filo *Bacterioidetes* son medioambientales, comensales y, a veces, patógenos. La mayoría son productores de ácido acético.

El género *Anaerorhabdus*, bacilo Gram negativo que se encontró en pacientes con alteraciones del microbioma pulmonar en pacientes con fibrosis pulmonar idiopática, en compañía de *Streptococcus*, *Pseudobutyrvibrio*, demostrando que muchas de estas bacterias son de origen oral.

Tabla 3.9. Distribución de los géneros de bacterias anaerobias que se aíslan con más frecuencia en infecciones de humanos

SITIO ANATÓMICO		GÉNEROS BACTERIANOS
Sistema nervioso central		<i>Bacteroides</i> , <i>Dialister</i> , <i>Fusobacterium</i> , <i>Porphyromonas</i>
Cavidad oral	Abscesos	<i>Prevotella</i> , <i>Dialister</i> , <i>Fusobacterium</i> , <i>Porphyromonas</i> .
	Infecciones endodontales	<i>Dialister</i> , <i>Fusobacterium</i> , <i>Porphyromonas</i> .
	Enfermedad periodontal	<i>Prevotella</i> , <i>Tanerella</i> , <i>Porphyromonas</i> .
	Infecciones periimplantes	<i>Dialister</i> , <i>Fusobacterium</i> , <i>Desulfomicrobium</i> .
	Infección odontogénica diseminada	<i>Porphyromonas</i> , <i>Prevotella</i> , <i>Selenomonas</i> , <i>Tanerella</i> , <i>Fusobacterium</i> .

Oído, senos paranasales y garganta		<i>Fusobacterium Prevotella.</i>
Infección vías respiratorias bajas		<i>Bacteroides, Dialister, Fusobacterium, Porphyromonas, Prevotella, Selenomonas</i>
Abdomen	Abscesos e infección apendicular	<i>Alistipes, Bacteroides, Bilophila, Fusobacterium, Parabacteroides, Porphyromonas, Sutterella</i>
	Peritonitis	<i>Odoribacter, Bacteroides</i>
	Diarrea	<i>Alistipes, Bacteroides, Desulfovibrio, Parabacteroides, Porphyromonas, Sutterella, Campylobacter</i>
Tracto urogenital	Abscesos	<i>Bacteroides, Prevotella</i>
	Vaginosis bacteriana	<i>Mobiluncus, Prevotella</i>
	Corioamnionitis	<i>Tanerella</i>
	Infecciones perinatales en niños pretérmino	<i>Dialister, Fusobacterium, Leptotrichia, Prevotella, Porphyromonas</i>
	Infecciones urinarias	<i>Fusobacterium, Leptotrichia, Bacteroides, Prevotella</i>
Piel y tejidos blandos	Acné comedónico	<i>Cutibacterium acnes</i>
	Abscesos	<i>Bacteroides, Dialister, Fusobacterium, Jonquetella</i>
	Úlceras y lesiones crónicas	<i>Porphyromonas, Prevotella</i>
	Mordeduras de animales	<i>Veillonella, Dialister, Porphyromonas, Prevotella</i>
	Mordeduras humanas	<i>Bacteroides, Veillonella, Fusobacterium, Prevotella, Dalister</i>
Hueso y articulaciones	Artritis	<i>Bacteroides, Porphyromonas, Tanerella</i>
	Osteomielitis	<i>Bacteroides, Porphyromonas, Fusobacterium</i>
Sistema Cardiovascular	Bacteriemia	<i>Alistipes, Bacteroides, Bilophila</i>
	Endocarditis	<i>Desulfovibrio, Dialister, Fusobacterium, Leptotrichia</i>
	Pericarditis	<i>Fusobacterium, Leptotrichia, Bacteroides, Porphyromonas, Parabacteroides</i>

Grupo V: Bacilos gram Positivos anaerobios esporulados

Tabla 3.10. Clasificación taxonómica de los bacilos Gram positivos esporulados anaerobios

Phylum	Clase	Orden	Familia	Género	Especies
Firmicutes	Clostridia	Clostridiales	Clostridiaceae	Clostridium	<i>perfringens</i> , <i>tetani</i> , <i>botulinum</i> , <i>difficile</i> , <i>septicum</i> , <i>asparagiforme</i> , <i>celatum</i> , <i>argentinense</i> , <i>glycyrrhizinilyticum</i> , <i>ramosum</i> , <i>tertiun</i> , <i>novyi</i> , <i>haemolyticum</i> , <i>sordelli</i> , <i>chauvoei</i> , <i>hiranonis</i> , <i>colinum</i> , <i>piliforme</i> , <i>colinum</i> , <i>spiriforme</i> , <i>hylemonae</i> , <i>lavalense</i> , <i>aldenense</i> , <i>bararii</i> <i>amygdalinum</i> , <i>bolteae</i> , <i>bifermentans</i> , <i>butyricum</i> , <i>clostridioforme</i> , <i>hathewayi</i> , <i>citroniae</i> , <i>glycolicum</i> , <i>sporogenes</i> , <i>histolyticum</i> , <i>cadaveris</i> .

En este género la concentración de G + C, se encuentra en una proporción entre el 22 a 55 moles %, lo cual indica que *Clostridium* presenta una diversidad genómica significativa que está acorde con su biodiversidad. Producen toxinas relacionadas con sus factores de virulencia, las cuales pueden estar codificadas en genes localizados en el cromosoma, así como también en ADN extracromosómico. Generalmente estos genes son secuencias ubicadas en islas de patogenicidad, flanqueadas por transposones u otros elementos de inserción; pero también por codificación en plásmidos o fagos, caso en el cual existe mayor posibilidad de pasar la información a otros microorganismos ya sea por conjugación, transposición y hasta por transducción. De acuerdo con lo anterior, la especie *C. perfringens*, es el principal reservorio de genes que se pueden transmitir a otras especies tanto del género, como de otros.

Este grupo de bacilos incluye más de 200 especies y subespecies, con cerca de 30 consideradas como patógenas y que han sido aisladas a partir de muestras clínicas o animales.

En este género se encuentran bacilos habitantes normales del intestino de numerosos animales y del humano. Son habitantes del ambiente, con distribución ubicua, gracias a sus esporas y se encuentran en el suelo, pasturas, vegetales en descomposición, agua, sedimentos marinos y lacustres.

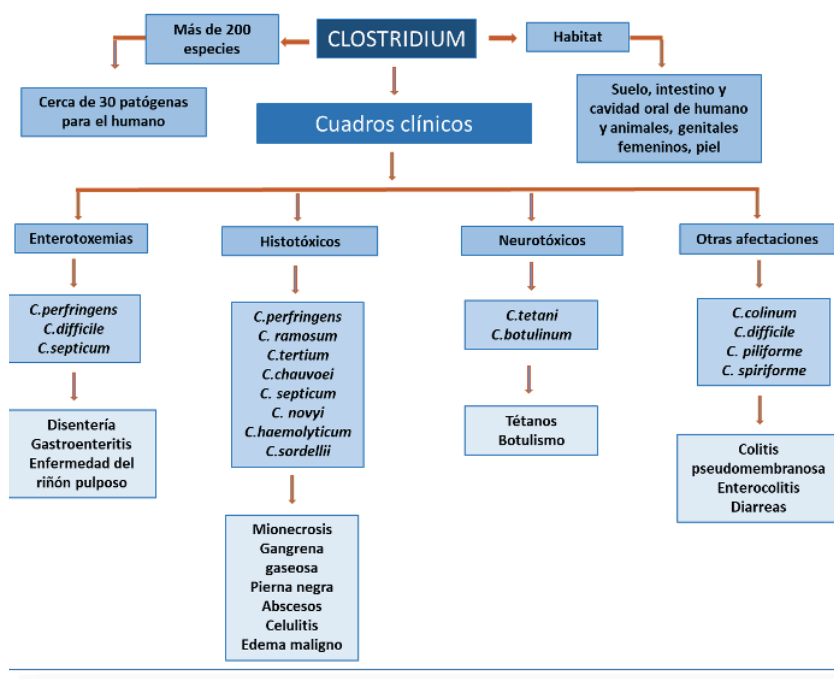


Figura 3.11. Clasificación de especies de *Clostridium*. Fuente: Corrales, 2024

En cuanto a su morfología son bacilos que miden entre 4 y 12 micras de largo x 0,5 a 2 micras de ancho, pueden desarrollar formas filamentosas y pueden o no presentar movilidad dependiendo de la especie y en caso positivo ocurre porque *Clostridium* presenta flagelos peritricos. Algunas especies sintetizan cápsula lo cual potencia su patogenicidad y virulencia.

Inducen la formación de esporas cuando se encuentran en situaciones de estrés o desfavorables relacionadas con

ambientes ácidos, temperaturas que no son adecuadas, radiación UV, cambios osmóticos, desecación, falta de nutrientes, así como a la acción de desinfectantes, antisépticos, sustancias líticas de defensa del hospedero, como mecanismo de defensa y conservación. Estas pueden ser ovales o redondas y observarse en posición terminal, subterminal o central, que generalmente deforman la anatomía del bacilo.

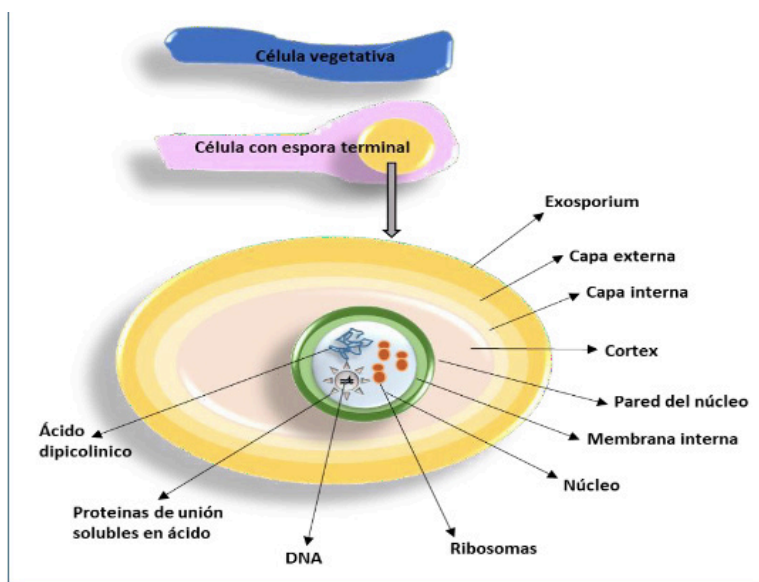


Figura 3.12. Estructura de la espora del género *Clostridium*. Fuente: Corrales, 2024

En la coloración de Gram son positivos, dadas las características de su pared, aunque al perder peptidoglicano en el proceso de la formación de espora pueden observarse como negativos, por lo cual una recomendación es someterlos a decoloración más corta de lo habitual.

Para su recuperación *in vitro* se deben cultivar en medios preferiblemente enriquecidos y en estricta anaerobiosis, el tioglicolato de sodio es una sustancia reductora que favorece su desarrollo. Presentan actividad fermentativa variable y no producen catalasa.

En cuanto a los factores de virulencia, cuentan con una gran variedad, algunos de ellos hacen parte de su constitución morfológica y otros son sintetizados por los bacilos. El factor más reconocido son las toxinas que producen la mayoría de las especies patógenas. Estas toxinas se diferencian de acuerdo con su calidad y cinética de producción, por especie del *Clostridium* que la produce. Las toxinas son de naturaleza proteica con cierta complejidad, tienen un peso molecular que varía entre 22 y 600 kDa, la mayoría son del tipo exotoxina y actúan como enzimas. Estas exotoxinas, para ser secretadas al exterior de la bacteria necesitan atravesar la pared celular, su máxima producción se manifiesta en la fase logarítmica del crecimiento. Otras de estas toxinas están unidas a estructuras de la pared celular, en la parte interna del bacilo y se ponen en evidencia en la fase final de la esporulación cuando sale la espora, tal como se observa en la producción de la enterotoxina que producen varios toxinotipos de *C. perfringens*. Un tercer tipo de toxinas son las que se encuentran en el protoplasma, estas se depositan en el citoplasma del bacilo y son liberadas al medio únicamente al ocurrir lisis celular. Las de tipo protoplasmático se obtienen también por síntesis *in vitro*, a 30 -35°C; en este último grupo se encuentran las neurotoxinas de *Clostridium botulinum*, la toxina alfa de *Clostridium novyi* y la neurotoxina tetánica.

Una forma de identificar y caracterizar las especies de *Clostridium*, es mediante la actividad biológica de las toxinas y los efectos que producen en animales de laboratorio, cultivos de tejidos o por la degradación de diferentes sustratos.

La actividad enzimática de estas toxinas es diversa; algunas tienen la capacidad de hidrolizar gradualmente estructuras de células eucariotas que, incluye desde la membrana citoplasmática, hasta la cromatina nuclear. Otras se comportan como una neuraminidasa favoreciendo la unión con las células del hospedero lipasa o fosfolipasa, las cuales conducen al rompimiento de eritrocitos, de hialuronidasa que facilita la diseminación tisular o de desoxirribonucleasa (DNasa),

cuya acción daña el ADN de las células musculares. Están también las toxinas botulínicas y la tetánica que tienen actividad de neurotoxina, presentan tropismo por las células del sistema nervioso donde se unen por receptores, su acción se da específicamente a nivel de las sinapsis neuromusculares y producen alteran la fisiología de la musculatura estriada.

Las toxinas también presentan varias formas de entrar al hospedero y difundirse, algunas entran por sistema digestivo cuando se encuentran en alimentos que han sido contaminados en su proceso de manufactura, tal como sucede con las toxinas botulínicas. Otras son absorbidas desde el intestino una vez ocurre la multiplicación excesiva del microorganismo en el sistema digestivo, como se observa en muchos cuadros de enterocolitis y en el botulismo infantil. También cuando los bacilos en fase vegetativa elaboran las toxinas cuando las esporas germinan en los tejidos infectados, como sucede en la gangrena gaseosa, enfermedad en la que la toxina no solo tiene acción local, sino que se absorbe, difunde y produce una toxemia generalizada que es fatal, ya que produce la muerte del enfermo en corto tiempo.

Se encuentran algunos procesos relacionados con estas bacterias en los cuales las infecciones se presentan localmente con la apariencia de lesiones tisulares sin mucha importancia, pero, con la producción de toxinas muy potentes cuya acción se irradia a otros tejidos del organismo como sucede con el tétano, algunos tipos de enterotoxemias y también en la hemoglobinuria bacilar de los herbívoros. Entonces en las infecciones clostridiales se observan dos procesos relacionados: uno, se refiere al efecto localizado del bacilo sobre el sitio de infección y, el otro, es la actividad de las toxinas que este produce. Las toxinas de mayor impacto clínico son las producidas por: *C. perfringens*, *C. tetani*, *C. botulinum*, *C. difficile* y *C. septicum*.

Algunas especies como: *Clostridium asparagiforme*, *Clostridium celatum*, *Clostridium glycyrrhizinilyticum*, *Clostridium*

hiranonis, *Clostridium hylemonae* y *Clostridium lavalense*, se han aislado muestras de heces humanas sin que hasta el momento se asocien con procesos patológicos. Otras especies se han reclasificado como: *Hungatella hathewayi* (*Clostridium hathewayi*), *Flavonifractor plautii* (*Clostridium orbiscindes*) e *Intestinibacter bartlettii* (*Clostridium bartlettii*).

Clostridium perfringens, este bacilo tiene gran importancia en el área clínica, tanto humana como veterinaria, debido a que, siendo integrante del microbioma intestinal, es potencialmente patógeno y letal. Se relaciona con cuadros clínicos enterotóxicos e histotóxicos como mionecrosis y gangrena gaseosa. Es uno de los patógenos bacterianos más ampliamente distribuidos en el medio ambiente. Puede ser aislado de muestras de suelo y de agua y forma parte de la flora intestinal de animales y humanos. Perteneció al género *Clostridium*, el cual está compuesto por aproximadamente 200 especies, filogenéticamente heterogéneas, que no representan un taxón coherente.

Presenta relativa tolerancia al oxígeno, rápido crecimiento y, sobre todo, capacidad para ser manipulado genéticamente. En humanos, está asociado a enfermedades como la intoxicación por alimentos, la enterocolitis necrotizante en niños y la enteritis necrótica o pigbel de las tribus de Papúa-Nueva Guinea.

Puede elaborar una gran variedad de toxinas, entre ellas 11 histotóxicas y 1 enterotóxica. Dentro de las más importantes están la alfa-toxina (fosfolipasa C, lecitinasa), la cual tiene gran importancia en la patogenia de la gangrena gaseosa, la beta-toxina tipo C, que tiene una acción importante en la ocurrencia de la enteritis necrótica y la enterotoxina tipo A en las intoxicaciones alimentarias.

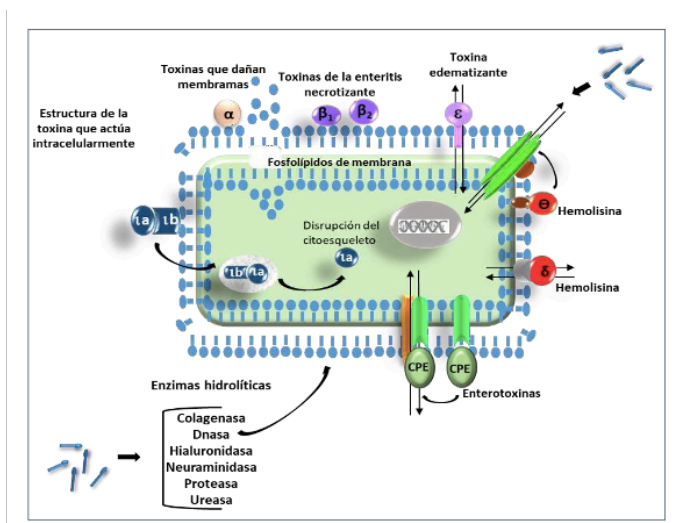


Figura 3.13. Principales toxinas y enzimas que produce *C. perfringens*. Fuente: Corrales, 2024

La toxina alfa es el principal factor de virulencia de la gangrena gaseosa en humanos, esta toxina puede ser hemolítica en presencia del calcio, como sucede con los glóbulos rojos humanos. La hidrólisis de fosfolípidos de membrana genera acumulación de diacilglicerol, compuesto que puede activar vías celulares que contribuyen al efecto citotóxico y así activar la vía de producción de tromboxano A₂, un potente mediador de la respuesta inflamatoria.

Shoji Kuroda et al, reportaron un caso de gangrena gaseosa fulminante, causada por *Clostridium perfringens*, en un hombre de 56 años con cirrosis hepática de origen alcohólico, el paciente falleció 14 horas después del diagnóstico. La tomografía abdominal computarizada reveló el desarrollo de un gran volumen de gas en la vena intra-porta, el retroperitoneo y en el tejido subcutáneo abdominal. La infección se demostró por medio de una tinción inmunohistoquímica.

Caya JG, et al, concluyen que la hemólisis masiva intravascular es una complicación muy conocida que se presenta en el 15% de los casos de bacteriemia por *C. perfringens* con una mortalidad del 90% en el grupo etario pediátrico.

La toxina alfa (fosfolipasa C) rompe la membrana de los eritrocitos hidrolizando la esfingomielina y la lecitina. También lisa leucocitos, plaquetas, células endoteliales y las membranas plasmáticas de las células musculares.

Las toxinas de *Clostridium*, se clasifican en mayores o menores de acuerdo a la importancia que posean en la patología con que se asocia y los efectos letales de estas en animales de laboratorio y/o para cultivos celulares. Al respecto se han descrito cinco toxinotipos reconocidos: A, B, C, D y E, según la elaboración de las cuatro toxinas mayores que se secretan al medio durante la fase exponencial de crecimiento y los sobrenadantes de los respectivos cultivos, resultan letales para animales de laboratorio y/o para cultivos celulares.

Se observa que en el toxinotipo A, los bacilos producen adicionalmente una enterotoxina (CPE), en la fase final de la esporulación y se asocia con síndromes gastroentéricos. Esta enterotoxina también se encuentra en *C. perfringens* tipos B y E.

La toxina α , es una fosfolipasa C, que se adhiere a las membranas celulares, donde actúa; todos los tipos de *C. perfringens* la producen. Esta toxina es una zinc-metaloenzima con actividad de lecitinasa y esfingomielinasa, se une al colesterol, a la esfingomielina y a la fosfatidil-colina de las membranas del eritrocito y las degrada, produciendo hemólisis y necrosis, dos efectos fundamentales en el curso de las gangrenas. Igualmente se ha observado que influye en la activación plaquetaria y provoca su agregación, tal como lo hace sobre los leucocitos en los capilares y arteriolas, procesos que conlleva a la ocurrencia de trombosis microvascular, a la necrosis isquémica de los tejidos y a la inhibición de la migración de los neutrófilos a través de los vasos sanguíneos.

En concentraciones altas la toxina ocasiona la ruptura de las membranas celulares, en bajas altera el metabolismo de fosfolípidos. Activa la proteína quinasa, el metabolismo del ácido araquidónico y la movilización de calcio. En este proceso infeccioso se observa producción descontrolada de

mediadores intracelulares y moléculas de adhesión como resultado de la alteración que sufren las células endoteliales, plaquetas y neutrófilos, lo que lleva a una inhibición de la depuración del *C. perfringens*, y con la ocurrencia de eventos trombóticos.

La toxina β , incluye dos variedades β_1 y β_2 , que se pueden obtener en forma conjunta o separada. La variedad β_1 es letal y tiene efecto necrotizante, sin embargo, es muy lábil y se degrada fácilmente por la tripsina, debido a ello casi no es posible detectarla. La β_2 presenta actividad citotóxica y necrótica y se asocia con la formación de poros en la membrana de la célula.

La toxina ϵ , proteína generalmente secretada en forma inactiva, en presencia de proteasas y, por acción de ellas, se potencia el efecto tóxico, pegándose a membranas celulares y alterando la permeabilidad, lo que se observa en el sitio de infección como la producción de edema.

La toxina ι , es una toxina binaria conformada por dos proteínas independientes, una que actúa como componente de unión a la célula (ib) y la otra de tipo enzimático (ia), pero que actúan en conjunto. El componente ib tiene la función de reconocer el receptor de superficie en la célula, ambas proteínas se internalizan por endocitosis y en el citoplasma se libera la fracción ia , lo que genera alteración de la estructura del citoesqueleto con la destrucción tisular.

Tabla 3.11. *Toxinotipos de C. perfringens*

TOXINOTIPO	TOXINAS			
	Alfa – α	Beta – β	Epsilon – ϵ	Iota – ι
A	+	-	-	-
B	+	+	+	-
C	+	+	-	-
D	+	-	+	-
E	+	-	-	+

El toxinotipo A, se relaciona con diferentes enfermedades digestivas en muchas especies. Se presentan en un espectro de gravedad variable, que van desde enteritis leve hasta gastroenteritis hemorrágica fulminante. Algunas cepas de este toxinotipo producen gangrena gaseosa en humanos y animales, así como intoxicación alimentaria, diarrea esporádica o asociada a la terapia con antibióticos.

Toxinotipo B, en las enfermedades producidas por este toxinotipo predominan signos y lesiones asociadas a la toxina beta, especialmente en intestino o ligados a la toxina épsilon, con signos clínicos nerviosos. Existen reportes que sugieren que la presencia de bacilos de este toxinotipo en el intestino, en conjunto con la producción de la toxina épsilon, tiene relación con el desarrollo de enfermedades neurodegenerativas como la esclerosis múltiple.

Toxinotipo C, se asocia principalmente con la producción de enteritis y enterotoxemia en muchas especies animales y en humanos. La enfermedad se puede presentar de varias formas: hiperaguda, aguda o crónica. La forma hiperaguda se identifica por cuadros de muerte súbita; en la forma aguda hay manifestación de intenso dolor abdominal acompañado o no de diarrea con sangre; la forma crónica se presenta con menor frecuencia y se manifiestan con la presencia de diarrea abundante, sin sangre y que lleva a estados de deshidratación. Los cambios que inducía la toxina beta, junto con otras toxinas en el intestino, puede favorecer su llegada a circulación sanguínea y se produzcan consecuencias sistémicas peligrosas.

Toxinotipo D, la toxina épsilon es secretada como una prototoxina y para su activación necesita soportar una proteólisis, reacción que puede ser realizada mediante proteasas intestinales o bacterianas. Esta toxina es la que presenta los mayores efectos, también tiene efectos sobre el intestino, pues inhibe la motilidad, incrementa la permeabilidad intestinal, lo que genera acumulación y absorción de esta toxina.

Cuando la toxina llega a circulación sanguínea afecta cerebro, pulmones y riñones.

Toxinotipo E, la toxina iota, también es binaria, junto con otras toxinas producidas por otras especies de clostridios enterotóxicos. Tiene actividad necrosante, hemolítica y aumenta la permeabilidad vascular.

Estudios recientes asocian a la toxina alfa y a cepas de *C. perfringens* tipo A no enterotoxigénico con enfermedades humanas diferentes de la gangrena gaseosa, entre las que se encuentran casos fatales de enteritis necrótica y el síndrome de muerte súbita del lactante.

C. perfringens, secreta también otras enzimas hidrolíticas como DNAsa y hialurodinasa las cuales actúan sobre diferentes sustratos y favorecen el daño tisular. Estas son denominadas toxinas menores y se han identificado 17 variedades. La toxina zeta es una citolosina lábil al oxígeno que puede dañar los vasos sanguíneos y llevar a leucostasis, trombosis, perfusión disminuida e hipoxia tisular, estimula la liberación de citoquina y puede llevar a choque.

La enterotoxina (CPE) de *C. perfringens* es un polipéptido de 35 kDa, clasificada como un superantígeno ya que promueve una respuesta inflamatoria exagerada. Es termolábil, así, el calentamiento en solución salina a una temperatura de 60°C durante 5 minutos destruye su actividad biológica, es sensible a pH extremos, pero es resistente a la acción de tripsina y quimiotripsina. A nivel del ribete en cepillo, en el intestino delgado, esta toxina se une a un receptor de membrana y provoca una modificación en la permeabilidad celular, lo que en consecuencia origina salida de iones y metabolitos. Este proceso conlleva alteración en la función metabólica, con daño morfológico y una fortuita lisis celular. En su mecanismo de acción se han propuesto: una acción colinérgica derivada de la acción lecitinasa, y alternativamente o al mismo tiempo, una toxina con acción tipo cólera, activando la secreción de iones cloruro en el

lumen, lo que conlleva la retención de iones sodio y secuestro de agua en el intestino y un tercer mecanismo que sugiere efectos endoteliales que llevan a una vasodilatación en el intestino y aumento de la permeabilidad.

El cuadro clínico de toxiinfección alimentaria se produce solamente si hay ingestión de gran número de bacterias (más de 10⁸ células vegetativas) productoras de la enterotoxina.

El cuadro clínico de la enteritis necrosante es poco frecuente; este aparece después de un periodo de incubación menor de 24 horas y se caracteriza por dolor abdominal, diarrea, vómitos, e inflamación aguda del intestino delgado con necrosis y gangrena en diversas porciones del mismo. Este cuadro clínico se relaciona con dietas hipoproteicas y se produce fundamentalmente por la ingestión de alimentos contaminados con *C. perfringens* tipo C que libera en el intestino toxina de la cual se han descrito 2 tipos, β_1 y β_2 . Ambos tipos producen hemorragia y necrosis, por lo cual es grave.

En agar sangre, la mayoría de las colonias de *C. perfringens* se ven rodeadas por una doble zona de hemólisis distintiva, debido a la producción de toxinas hemolíticas (alfa y perfringolisina O) y en agar yema de huevo, la precipitación opaca de color blanco alrededor de una colonia es sugerente de *C. perfringens*, que típicamente muestra la actividad lecitinasa de la toxina alfa.

En cuanto a las reacciones bioquímicas fermentan lactosa, hidrolizan gelatina, reducen los nitratos y sulfatos, es indol negativo, catalasa negativa, e inmóvil. Típicamente esta bacteria causa lo que se denomina “fermentación tormentosa de la leche” en el medio líquido de leche tornasolada, en la cual se observa la acción de la enzima caseinasa.

Tabla 3.12. Infecciones causadas en el humano y animales por los diferentes toxinotipos de *C. perfringens*

Toxinotipo	Toxinas principales	Enfermedades
A	Toxina α (CPA)	Gangrena gaseosa en humanos y animales, enteritis necrótica en aves de corral; abomasitis y enteritis hemorrágica – necrótica en rumiantes; enterotoxemia en ovinos; enteritis en porcinos y equinos.
	Toxina α (CPA) Y Enterotoxina (CPE)	Intoxicación alimentaria y diarrea asociada al consumo de antimicrobianos en humanos; enteritis en caninos, porcinos y equinos.
	Toxina α (CPA) y toxina β 2 (CPB2)	Enteritis en porcinos, equinos y bovinos.
B	Toxina α (CPA), toxina β (CPB) y Toxina e (ETX)	Disentería y enteritis hemorrágica en ovinos y caprinos.
C	Toxina α (CPA), toxina β (CPB)	Enteritis necrótica en humanos (Pigbel); enteritis hemorrágica-necrótica en porcinos, equinos y rumiantes; enteritis necrótica en aves de corral.
	Toxina α (CPA), toxina β (CPB) y toxina β 2 (CPB2)	Enteritis en porcinos y equinos.
D	Toxina α (CPA) y Toxina e (ETX)	Enterotoxemia en ovinos (Riñón pulposo); enterocolitis en caprinos; enterotoxemia en bovinos.
E	Toxina α (CPA) y Toxina i (ITX)	Enteritis hemorrágica en ovinos, bovinos y conejos.
	Toxina α (CPA), Toxina i (ITX) y Enterotoxina (CPE)	Intoxicación alimentaria en humanos.

La mionecrosis se inicia cuando las esporas alcanzan los tejidos por contaminación de las regiones traumatizadas (accidentes, cirugías). Las bacterias se multiplican a expensas de los nutrientes en el tejido (proteínas), el ambiente propicio les permite fermentar los hidratos de carbono presentes con producción de gas. En el proceso patológico se produce distensión tisular y, la interferencia con el riego sanguíneo,

junto con la secreción de toxina necrosante y de hialuronidasa, favorecen la propagación de la infección. Finalmente, tras el efecto de las toxinas y enzimas proteolíticas que secreta la bacteria, se produce gangrena gaseosa que puede complicarse con una infección mixta.

Los datos clínicos se relacionan con: 1 a 3 días de infección, la cual se propaga desde una herida contaminada y se observa crepitación del tejido subcutáneo y músculo, secreción fétida, necrosis rápidamente evolutiva, fiebre, hemólisis, tejido necrótico y toxemia.

Clostridium botulinum, esta bacteria Gram positiva, así como otros miembros del género con tinción puede verse Gram negativa en cultivo de más de 24 horas, generalmente cuando se encuentran en proceso de esporulación. Las esporas pasan a la fase vegetativa y se reproducen en sitios anaeróbicos como cadáveres, vegetación en putrefacción y alimentos enlatados. Comprende 6 toxinotipos denominados con letras desde la A hasta la F, pues el *C. botulinum* que produce la toxina tipo G se reclasificó como *C. argentinense*. Y se distinguen 8 isoformas de la toxina, inmunológicamente diferentes (A, B, C α , C β , D, E, F y G). Los serotipos que solo afectan el sistema nervioso humano de manera significativa son A, B, E y, raramente, el F; y los únicos serotipos utilizados en terapéutica son A y de forma excepcional el B.

Todos los toxinotipos sintetizan una neurotoxina con actividad idéntica, aunque presenta diferencias en su potencia y estructura antigénica, de acuerdo con la afinidad que tenga por el tejido nervioso, siendo la toxina de tipo A la que posee mayor afinidad. Entre las toxinas bacterianas descritas, las botulínicas se reconocen como las más potentes. La dosis letal de la toxina A para una persona adulta se encuentra entre 0,1 y 1 microgramo por kilo de peso. La toxicidad extrema que presentan, las ha convertido en una de las principales armas biológicas conocidas. Sin embargo, tienen usos terapéuticos en casos de hiperactividad muscular, trastornos espásticos, y para fines estéticos en forma de Botox.

En el Botulismo se presentan cinco formas clínicas: 1) botulismo clásico o transmitido por alimentos; 2) botulismo por heridas; 3) botulismo del lactante (esporas ingeridas que germinan en el tracto intestinal); 4) botulismo oculto (variante en adultos del botulismo de lactante); y 5) botulismo inadvertido, que es la forma más recientemente descrita, este se produce en pacientes que han sido tratados con inyecciones de toxina botulínica para distonía (trastornos del movimiento en las contracciones musculares sostenidas) y otros trastornos del movimiento.

Los usos terapéuticos de las toxinas A y B son para tratar:

Trastornos neurológicos como:

- Espasticidad focal asociada con la deformidad dinámica del pie equino producida por espasticidad en pacientes pediátricos ambulantes con parálisis cerebral, de dos o más años de edad.
- Espasticidad focal de la muñeca y de la mano secundaria a un ictus en el adulto.
- Espasticidad focal del tobillo secundaria a un ictus en el adulto.
- Blefarospasmo, espasmo hemifacial y distonías focales asociadas (estrabismo).
- Distonía cervical (tortícolis espasmódico).
- Alivio de los síntomas en los adultos que cumplen los criterios de Migraña Crónica (cefaleas en ≥ 15 días al mes, de los que al menos ocho días corresponden a migraña), en los pacientes que no han respondido adecuadamente o que son intolerantes a los medicamentos profilácticos de la migraña.

Trastornos vesicales como:

- Vejiga hiperactiva idiopática con síntomas de incontinencia urinaria, urgencia y frecuencia en pacientes adultos que no han respondido adecuadamente o que son intolerantes a los medicamentos anticolinérgicos.

- Incontinencia urinaria en adultos con hiperactividad neurogénica del detrusor debida a vejiga neurógena por lesión medular subcervical estable o esclerosis múltiple.

Trastornos de la piel y órganos anejos:

- Hiperhidrosis primaria de la axila severa y persistente, que interfiere con las actividades de la vida cotidiana y es resistente a tratamiento tópico.

Las toxinas botulínicas son un conjunto de metaloproteasas dependientes de zinc, que se sintetizan a pH alcalino como un precursor inactivo en una cadena polipeptídica de 150 a 165 kDa. Es liberada durante la lisis de la bacteria, una vez libre se dividen a nivel del N terminal por la acción de proteasas bacterianas o de enzimas digestivas como la tripsina, originando dos cadenas, una pesada y una liviana, que permanecen unidas por un puente disulfuro. La cadena liviana (L), de unos 50 kDa, es la responsable de la acción tóxica, mientras que la pesada (H), de unos 100 kDa, se ocupa de la fijación de la toxina a los receptores presinápticos por el extremo C-terminal y, así como la internalización de ésta en la neurona, a través del N terminal.

La cadena pesada tiene una estructura similar en todos los serotipos, mientras que la liviana, varía dotándoles de una cierta especificidad que está siendo estudiada por sus posibles implicaciones terapéuticas, además, suelen estar asociadas a otras proteínas como la hemaglutinina, formando complejos cuya función principal será protegerlas de la degradación por parte del sistema digestivo.

En la intoxicación alimentaria se ingiere la toxina preformada que es absorbida por endocitosis a través del tracto gastrointestinal, en el lactante las esporas ingeridas germinan en el intestino, ya que no existe flora inhibidora, y producen la toxina que es absorbida. Luego de ser absorbida en el tracto gastrointestinal o en la herida, la toxina es llevada

por vía linfática o sanguínea hasta sus sitios de acción que son las terminaciones nerviosas colinérgicas; como no atraviesa la barrera hematoencefálica, solo actúa sobre el sistema nervioso periférico, especialmente a nivel de la unión neuromuscular y en el sistema nervioso autónomo.

Cuando se ingiere la toxina, en el tracto digestivo se une a proteínas no tóxicas y forma complejos de mayor tamaño de hasta 300 kDa, particularidad que le posibilita el paso por el tracto intestinal y no ser degradada por los ácidos gástricos y las enzimas digestivas. Cuando la toxina es ingerida con un alimento o producida *in situ*, migra hasta el torrente sanguíneo, llega al sistema nervioso y actúa en la membrana presináptica de las neuronas motoras, bloqueando la liberación del neurotransmisor.

La porción C terminal de la cadena pesada, es la responsable de la unión a un receptor en la membrana de la célula blanco; la región N- terminal regula la penetración y la cadena liviana, dentro del citosol, bloquea la liberación de la acetilcolina. El resultado es una parálisis flácida de los músculos esqueléticos y falla en el sistema parasimpático, lo que puede conducir a la muerte del individuo afectado.

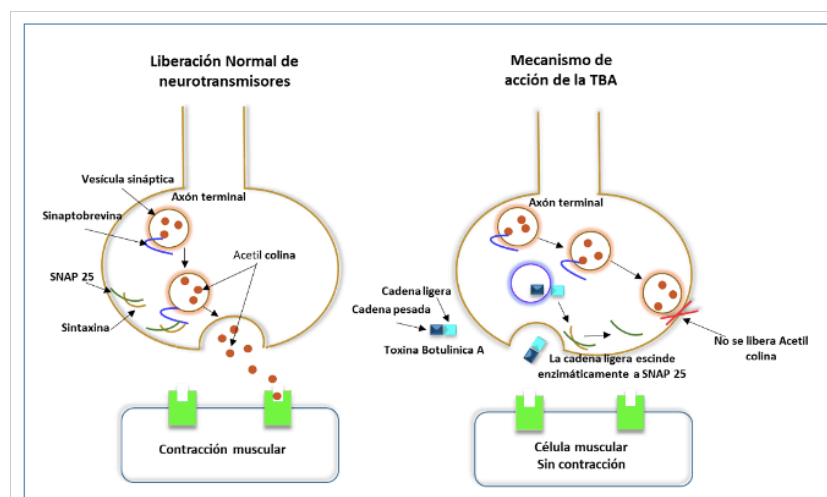


Figura 3.14. Mecanismo de acción de la toxina botulínica en la unión neuromuscular
Fuente: Corrales, 2024

La porción activa de la toxina tiene actividad de peptidasa que es específica para proteínas que forman la estructura de la vesícula sináptica que contiene el neurotransmisor y están involucradas en la exocitosis. La acción de la toxina previene la exocitosis del neurotransmisor y de esta manera se bloquea el impulso nervioso. La recuperación de la función nerviosa requiere la regeneración de la motoneurona terminal y la formación de nuevas terminaciones motoras.

Botulismo alimentario: la enfermedad se manifiesta entre las 24 horas y 4 días posteriores a la ingestión del alimento contaminado, pudiendo variar desde cuadros leves que no requieran atención médica, hasta formas letales para el sujeto. Supone una parálisis progresiva de inicio en los nervios craneales y posterior extensión a las extremidades, dando lugar a una debilidad motora en cuello, luego de brazos, tórax y piernas, produciendo efectos como disartria, disfagia o diplopía. Suele estar precedida por la aparición de efectos gastrointestinales como náuseas, vómitos y dolor abdominal o diarrea.

Debido a que la toxina inhibe la secreción de acetilcolina por parte de las neuronas, va a producirse un síndrome anticolinérgico, caracterizado por midriasis, visión borrosa, retención urinaria e íleo paralítico, entre otros. La principal causa de muerte asociada a esta enfermedad suele ser el paro respiratorio.

Botulismo de heridas: es la forma más rara de presentación del botulismo humano. Se produce cuando las heridas son infectadas por *Clostridium botulinum*, la toxina se origina en el sitio de la infección y desde allí migra a otras partes del cuerpo por vía sanguínea. En esta se presenta un cuadro clínico similar al botulismo alimentario, sin los signos y síntomas digestivos, ni fiebre. El periodo de incubación puede ir hasta 10 días y la sospecha temprana suele ser complicada, especialmente si las heridas no tienen aspecto tóxico, pudiendo confundirse con otras patologías. La confirmación

del diagnóstico se realiza usualmente mediante la detección de la toxina en el suero del paciente o con cultivo a partir de la herida infectada.

Botulismo infantil: conocido como botulismo del lactante. Se presenta a consecuencia de la proliferación de la bacteria y la producción de toxina en el intestino de niños de entre 2 y 8 meses de edad. La sintomatología puede variar y presentarse desde cuadros leves con pérdida de peso en el niño, hasta formas letales que cursan con parálisis, insuficiencia respiratoria y muerte. Recientemente, se ha relacionado el botulismo infantil con el síndrome de muerte súbita, estimándose que entre un 3 y un 5% de los casos de niños que mueren con ese diagnóstico pueden tratarse en realidad de casos de botulismo.

Se cree que el intestino de los niños, por no haber desarrollado todavía un microbioma madura, puede ser más propenso a ser colonizado por la bacteria que el de los adultos.

A pesar de que no se le puede atribuir esta enfermedad a ningún alimento en concreto, se sabe que la miel puede ser una fuente de esporas de *C. botulinum*, por lo que se desaconseja su uso en menores de 6 meses.

Botulismo indeterminado: en este tipo se incluyen los casos de botulismo adulto e infantil diferentes a los 3 anteriores y son de causa desconocida. En estos casos la toxina produce en el intestino en personas colonizadas por la bacteria.

En casos de botulismo, como acción de emergencia se cuenta con la antitoxina equina, de administración endovenosa, la cual debe ser aplicada de forma inmediata para neutralizar la toxina botulínica circulante en sangre y prevenir que se fije a los receptores de las células nerviosas. Se trata de una antitoxina trivalente que contiene 750 UI de antitoxina frente a *Clostridium botulinum* tipo A, 500 UI frente al tipo B y 50 UI frente a E, ya que éstos son respectivamente, los serotipos causantes de la mayor parte de los casos de botulismo

en humanos. Los anticuerpos que la componen van a actuar contra las dos cadenas que conforman la toxina bloqueando la acción de la porción circulante de ésta, lo que provocará una mejora de la sintomatología, pero sin ser capaz de revertir completamente su acción ya que la fijación a las terminaciones nerviosas será permanente. Habitualmente, también será necesario soporte ventilatorio mecánico, por la posibilidad de parada respiratoria, así como medidas generales de sostén y tratamiento antibiótico.

Las cepas de *C. botulinum* que no producen la toxina botulínica son referidas como *Clostridium sporogenes*, ya que estas dos especies son filogenéticamente indistinguibles, por lo que el *C. sporogenes* es a menudo usado como un modelo para el estudio de subtipos tóxicos.

Clostridium tetani, bacilo Gram positivo anaerobio, que en la fase vegetativa es sensible al calor y posee un flagelo que le provee motilidad. Las esporas de *C. tetani* son extremadamente resistentes al calor y a la mayoría de los antisépticos, están ampliamente distribuidas usualmente en forma de spora, en suelo y tierras fertilizadas, en el intestino de animales domésticos y, en ocasiones, en la piel, heces de humanos, en drogas inyectables y psicoactivas ilegales contaminadas.

Las esporas de *C. tetani*, se ubican en la porción terminal y son de mayor diámetro que la célula vegetativa, por lo cual se observa como un palillo de tambor a pesar de ser Gram positivo, en cultivos viejos puede decolorarse fácilmente y aparecer teñido como Gram negativo. A diferencia de otras especies del género, *C. tetani*, es considerado un anaerobio estricto que requiere una atmósfera compuesta por un 85% de nitrógeno, un 10% de hidrógeno y un 5% de CO₂. Se puede aislar en agar sangre, incubado a 35°C por más de 24 horas, donde aparecen colonias β - hemolíticas.

C. tetani, como otras especies del género *Clostridium*, presenta el fenómeno de *swarming*, el cual consiste en modificaciones morfológicas y fisiológicas que conducen a células

hiper-flageladas, gigantes, que se mueven activamente sobre medios de cultivo sólidos formando una película de crecimiento. Una tinción de Gram de esa película muestra bacterias filamentosas de más de 100 micras de largo y la tinción de flagelos muestra que esas bacterias presentan miles de flagelos. Cuando este bacilo se cultiva en un medio líquido se obtienen bacilos de 0,5 a 1,7 micras de diámetro por unas 10 micras de largo.

Frente a pruebas bioquímicas se comporta como inerte, incluyendo utilización de carbohidratos, por lo que obtiene su energía de la utilización de aminoácidos, liberando productos volátiles de olor desagradable. También se realizan pruebas inmunoserológicas para su diagnóstico.

La forma más común de adquirir esporas de este microorganismo es mediante heridas, de tal forma que pueden progresar a tejidos más profundos. En presencia de condiciones propicias de nutrición y de ambiente (potencial de óxido-reducción), las esporas germinan, sintetizan la toxina como un precursor inactivo ligado a la pared bacteriana que luego se libera y, por acción de las proteasas bacterianas, se fragmenta en una cadena pesada y una liviana.

Tétanos: generalmente tiene un periodo de incubación de 8 días, pero se reportan casos con rangos desde 3 hasta 21 días. Su patogenia esta diferenciada en tres momentos:

1er período: ocurre la penetración del *Clostridium tetani* en el organismo y se genera la producción de la toxina.

2do período: diseminación de la toxina por vía nerviosa y humoral.

3er período: corresponde a la fijación de la toxina en el sistema nervioso central.

La neurotoxina (tetanospasmina), es una proteína binaria, plasmídica, antigénica y lábil a la acción de las enzimas del tracto digestivo y letal aún en pequeñas concentraciones. Se

disemina por vía hematógica o linfática, tiene como células diana las neuronas reguladoras de la médula espinal y llega a estas a través de los axones de las neuronas motoras y por vía sanguínea. La cadena pesada de la toxina se fija a las terminaciones de las neuronas motoras periféricas y a través del axón, mediante un transporte intra neuronal retrógrado llega al sistema nervioso central (SNC). En las terminales pre-sinápticas impide la liberación de los neurotransmisores inhibidores: glicina y GABA (ácido gamma-aminobutírico), se une a receptores del sistema nervioso central e interfiere con la liberación de neurotransmisores en el espacio inter-sináptico como el ácido gamma-aminobutírico (GABA) y la glicina, mediante la proteólisis de la sinaptobrevina, lo cual provoca rigidez convulsiva de la musculatura estriada y accesos convulsivos.

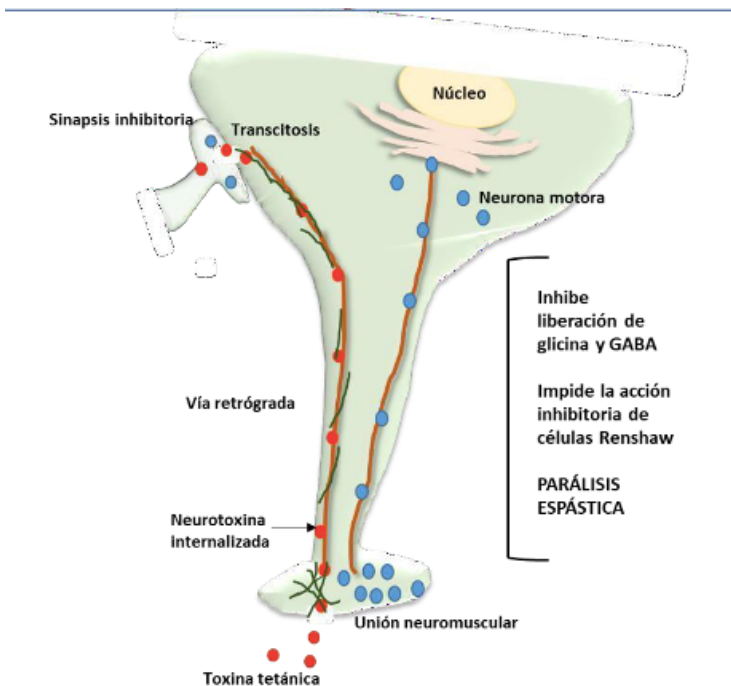


Figura 3.15. Acción de la toxina tetánica. Fuente: Corrales, 2024

Los espasmos tetánicos pueden ocurrir de una forma distintiva llamada opistótonos y pueden ser lo bastante severos como para producir fracturas de huesos largos. Los nervios más cortos son los primeros afectados, lo que conlleva a la aparición de espasmos musculares en la cara como síntomas tempranos. La unión de la tetanoespasmina a las neuronas es irreversible y la función nerviosa sólo puede restaurarse mediante el crecimiento de nuevos terminales y nuevas sinapsis.

El período de incubación es variable, entre 3 y 21 días, dependiendo de la localización de la inoculación y la longitud del axón. Esta toxina espasmogénica es muy potente y es sólo superada en su acción por las toxinas botulínicas. La tetanospasmina es de tipo plasmídica, así que su codificación se encuentra en un plásmido, también se encuentran cepas no toxigénicas. Esta bacteria también produce una hemolisina que no presenta actividad patogénica conocida como tetanolisina, que se degrada con calor.

El tétanos se presenta de diferentes formas: tétanos cefálico, tétanos de las heridas y tétanos neonatal. El tétanos generalizado afecta a los músculos bulbares y paraespinales, lo que ocasiona el trismo, risa sardónica, disfagia, irritabilidad y opistótonos. También afecta el sistema nervioso vegetativo produciendo diaforesis, hipertermia, arritmias cardíacas y fluctuaciones de la tensión arterial.

El tétanos es una enfermedad de distribución mundial, se calcula que genera más de un millón de muertos en el mundo por año, concentrando las muertes en países en vías de desarrollo por la escasa inmunización, contaminación de heridas a consecuencia de las labores agrícolas y rurales en condiciones no óptimas, administración de drogas y, la práctica de abortos, entre otros. A partir de la herida umbilical se produce afectación en recién nacidos, a raíz de esto se calcula que mueren unos 500.000 recién nacidos al año, según estudios de la OMS; se conoce que con la vacuna se ha logrado una disminución de casos mortales.

El tratamiento específico incluye estabilización del paciente, protección de la vía aérea, prevención de la absorción de la tetanospasmina mediante el uso de gamaglobulina humana antitetánica 3.000 a 6.000 unidades internacionales (UI) por vía intramuscular (IM), para bloquear la toxina no fijada y circulante, además de la eliminación del *C. tetani* con antibióticos como metronidazol. También se ha establecido en la terapia el uso de bloqueadores neuromusculares y relajantes musculares. En los casos de padecer tétanos, los pacientes deben ser vacunados, pues la enfermedad natural no produce inmunidad.

Clostridium difficile, se presenta como un bacilo largo que mide de 6 - 8 micras de largo x 0,5 - 1 micra de diámetro; como los demás *clostridium* en cultivos jóvenes sus células toman la coloración Gram positiva, pero en cultivos viejos se pierde esta característica. Después de 48 horas de incubación produce esporas subterminales largas y ovales y deforman muy poco el bacilo. Este bacilo es anaerobio estricto, tiene movilidad por flagelos peritricos y se observa formando cadenas de 2 a 6 bacilos. Poseen múltiples fimbrias polares, en algunas cepas se ha podido observar cápsula y es un excelente generador de biofilm.

La formación del biofilm o biopelícula de *C. difficile* corresponde a un proceso complejo modulado por varios factores, en los que se incluyen componentes y reguladores de la superficie celular, que le otorgan mayor persistencia en el intestino y resistencia a la acción antibiótica.

Su crecimiento óptimo se obtiene entre 30 a 37°C, sin embargo, se han encontrado cepas que lo hacen entre 25 y 45°C. Sus colonias en agar sangre miden de 2 a 5 milímetros de diámetro, con forma circular y aspecto opaco, y se ven de color blanco - grisáceo y bordes regulares. Las colonias bajo luz ultravioleta muestran fluorescencia desde el amarillo-verdoso hasta rojo. En el medio CCFA (cicloserina, cefoxitina, fructosa, agar) produce colonias de mayor tamaño y de color amarillo - naranja.

Como resultado de su metabolismo se obtienen ácido acético, isobutírico, butírico, isovalérico, valérico, isocaproico, fórmico y láctico. Convierte el piruvato a acetato y butirato y la treonina a propianato. Produce además isocaproato a partir de la leucina, isovalerato a partir de la leucina e isoleucina, como también isobutarato a partir de la valina.

En lo relacionado con sus características bioquímicas no es proteolítico, no hidroliza la gelatina en 48 horas, pero si después de una semana de incubación, no hidroliza la caseína de la leche; es débilmente sacarolítico, la mayoría de las cepas fermentan glucosa, fructosa, manitol, manosa, xilosa, salicina y sorbitol con producción de ácido y gas, hidroliza la esculina sin acidificar el medio; tampoco tiene actividad lipasa, ni lecitinasa, no reduce los nitratos, no produce indol, ni hidroliza la urea. Para resaltar es la producción de p – cresol como resultado del metabolismo de la tirosina, característica que se considera en la producción de medios de cultivo selectivos, para la identificación de este microorganismo.

C.difficile, puede adquirirse por contacto con sus esporas que son resistentes a diversos desinfectantes, están presentes en materia fecal y, lo más preocupante, pueden encontrarse en centros hospitalarios y áreas quirúrgicas; su contagio se da generalmente por vía oral. Las esporas de la bacteria se alojan en el tracto gastrointestinal y allí permanecen en una forma inactiva y en estado de equilibrio con los demás microorganismos del microbioma, hasta que este equilibrio se rompe; en este caso, generalmente por el consumo de antibióticos para el cual las bacterias del microbioma son sensibles y *C. difficile*, no.

Así pues, una vez la persona infectada consume antibióticos, rompe el equilibrio que existe con los organismos benéficos y ocasiona que la bacteria se active, produzca una forma vegetativa y cause la enfermedad, cuyo primer síntoma es una diarrea relativamente benigna. Cuando *C. difficile* daña la barrera intestinal genera problemas más graves,

como perforaciones de colon, colitis pseudomembranosa y megacolon tóxico. El gran problema que representa para los sistemas de salud es su enorme resistencia a gran número de antibióticos, que limita las opciones de tratamiento. Solo algunos antibióticos se han desarrollado para atacar específicamente la infección causada por esta bacteria. Hace un par de años, se trata con fidaxomicina, un antibiótico que muestra eficiencia, pero que es poco comercializado en el país por sus altos costos.

La patogenia de *C. difficile* está mediada principalmente por la acción de dos grandes toxinas glucosilantes clostridiales, la toxina A (TcdA) y la toxina B (TcdB). Algunas cepas producen una tercera toxina, la toxina binaria *C. difficile* transferasa, que también puede contribuir a la virulencia y enfermedad. Estas toxinas actúan sobre el epitelio colónico y las células inmunes, donde inducen una cascada compleja de eventos celulares que resultan en secreción de líquidos, inflamación y daño tisular, que son las características distintivas de la enfermedad.

Teniendo en cuenta la capacidad de las cepas para elaborar las toxinas A (TcdA) de 308 kDa y B (TcdB) de 269 kDa, se clasifican como A+/B+ o A-/B+. Las cepas denominadas NoA-NoB, no son consideradas patógenas. Sin embargo, tienen la capacidad de elaborar otros factores de virulencia. Las dos toxinas tienen características de glucosiltransferasas, generadas al final de la fase logarítmica y durante la fase estacionaria de crecimiento, como respuesta a la estimulación del ambiente en el que se encuentran.

TcdA tiene actividad de enterotoxina y TcdB de citotoxina. Ambas formadas por una cadena única con una fuerte homología entre sí. Poseen tres dominios: el dominio C terminal, responsable de la fijación a los receptores celulares, el intermedio relacionado con la internalización de la toxina y el N terminal que posee actividad tóxica. El receptor para

TcdA es un carbohidrato Gal- β -(1,4)- N-Ac-Glc y el receptor para TcdB aún no está definido.

Las toxinas se introducen en la célula del hospedero por endocitosis y en el citoplasma inactivan las Rho-GTPasas (Rho, Rac y Cdc42, pequeñas proteínas reguladoras del citoesqueleto de actina), de tal forma que inducen despolimerización de la actina, pérdida del citoesqueleto y muerte celular. Las proteínas Rho alteran las uniones complejas que se encuentran entre los enterocitos, incrementa la permeabilidad de la mucosa del colon, llevando a la presentación de la diarrea típica por *C. difficile*. Adicionalmente como efecto se observa que ocurre la activación del factor de necrosis tumoral alfa y de interleuquinas, provocando una migración masiva de neutrófilos y promoción de la apoptosis celular, con la formación de estructuras pseudomembranosas en algunos casos.

Ambas toxinas tienen actividades similares, TcdB es 100 a 1000 veces más potente en su efecto citotóxico. Por su parte, TcdA origina necrosis, aumento en la permeabilidad del intestino, inhibición de la síntesis proteica, induce daño en las microvellosidades de la mucosa intestinal y puede causar erosión completa de éstas.

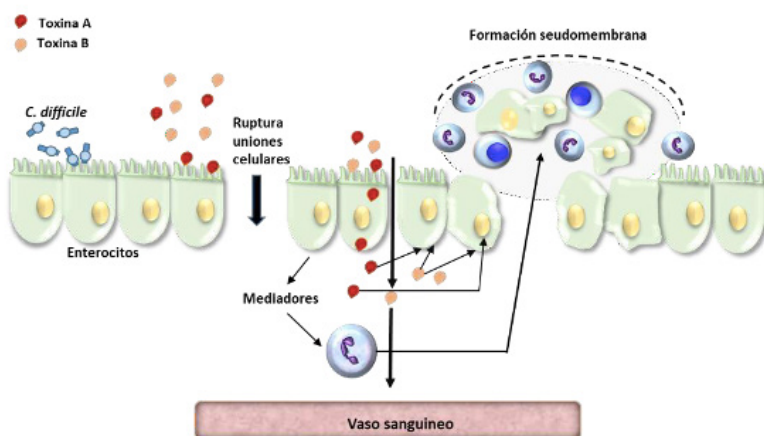


Figura 3.16. Patogenicia del *C. difficile*. Fuente: Corrales, 2024

En cuanto a la toxina binaria (ADP-ribosiltransferasa) denominada CDT, solo se encuentra en algunas cepas. Su mecanismo de acción inicia cuando se une en forma irreversible a la actina y con esta unión induce la formación de largas protuberancias de microtúbulos en las células del hospedero con lo cual aumenta la adherencia bacteriana. CDT, se ha detectado en cepas virulentas, aunque aún no está esclarecida su función en la patogenicidad. Otros factores que podrían estar involucrados son enzimas extracelulares, una proteína S, además de una toxina ι .

Otras especies de bacilos Gram positivos esporulados

Clostridium septicum, bacilo Gram positivo anaerobio, se encuentra haciendo parte del microbioma intestinal humano, tiene movilidad, produce una espora excéntrica, también cápsula y es productor de toxinas proteicas con acción enzimática que pueden conducir a una gangrena gaseosa rápidamente progresiva como consecuencia de la producción y liberación de toxina α . La toxina α se secreta como protoxina, es una hemolisina que se une a las membranas celulares eucarióticas, forma canales y produce un desbalance osmótico con la consecuente lisis celular. La toxina β posee actividad de DNasa y de leucocidinasa. La toxina γ es una hialuronidasa y la δ es una hemolisina lábil al oxígeno. También elabora otras toxinas con actividad de neuraminidasa, lipasa y fibrinolisisina. La acción de todas estas enzimas conlleva a una mionecrosis y un incremento de la permeabilidad capilar seguidos de una toxemia que casi siempre es mortal.

Se ha reportado asociado a abscesos, celulitis, gangrena gaseosa y otras enfermedades, entre ellas: enterocolitis neutropénica, sepsis, aneurisma aórtico secundario a infección por *C. septicum*, aortitis que es una infección letal, así como *C. septicum* tiene una fuerte asociación con neoplasias malignas subyacentes, más comúnmente en el colon. Es el agente

causal de enfermedades como la gangrena gaseosa en vacunos y abomastitis en ovinos.

En agar sangre presenta fenómeno de *swarming* o crecimiento en velo y se observan colonias de 2 a 4 milímetros de diámetro, planas, de color gris, brillantes, translúcidas, de borde rizado y con β – hemólisis.

Como fuente energética utiliza la glucosa, lactosa y proteínas y, como producto del metabolismo de los carbohidratos y de las fuentes proteicas, se obtienen gases como CO_2 y ácidos débiles, como el ácido acético y el ácido butírico. Tiene la prueba de indol negativo, hidroliza la esculina y la gelatina, no produce lipasa y no es inhibido por la bilis.

Clostridium haemolyticum, bacilo Gram positivo anaerobio, es semejante a *C. novyi* tipo B, pero produce Toxina β en mayores cantidades que éste y no elabora toxina α .

Es de interés veterinario. Su cuadro clínico se asocia con la hemoglobinuria bacilar y afecta a las vacas al final de la gestación, produciendo lesiones a nivel hepático reconocidas como infarto hepático, característico de esta enfermedad y acompañado de orina color rojo en vejiga. Dentro de la patogénesis de la enfermedad se ha descrito que comienza con la ingestión de los microorganismos que están en el medio ambiente, seguido por la formación de esporas en las células de Kupffer del hígado donde las esporas permanecen inactivas hasta que se presenta alguna alteración que le permita tener el ambiente anaeróbico adecuado para germinar y generar las toxinas y productos metabólicos que conllevan a la necrosis hepática, toxemia y daño vascular generalizado.

C. novyi, comprende los toxinotipos A, B y C. El A se relaciona con la producción de gangrena en el hombre y en los animales, mientras que los otros causan patologías en los animales. El factor de virulencia más importante de esta especie bacteriana es la toxina α ; la toxina β es una fosfolipasa C, con actividad hemolítica, necrotizante y letal. La función

de las otras toxinas no se conoce bien, aunque la toxina γ es una fosfolipasa con actividad necrotizante y la δ es una hemolisina lábil al oxígeno.

Es la causa de la hemoglobinuria bacilar en el ganado, esta enfermedad fulminante es el resultado de la proliferación hiperaguda de *C. novyi* en el hígado, lo que da lugar a un gran infarto necrótico. El infarto y los signos sistémicos de hemólisis y toxemia son causados por la beta-toxina y la fosfolipasa C, producida por este bacilo.

C. novyi, es endémico en algunas áreas geográficas, sobre todo en aquellas húmedas o pantanosas que mantienen un pH alto del suelo (8.0). Las esporas de *C. novyi* son extremadamente resistentes y permanecen en suelos contaminados durante largos períodos de tiempo. Al parecer, las esporas ingeridas son transportadas al hígado y otros tejidos por los vasos linfáticos y la sangre. El ganado que hospeda el organismo puede eliminarlo por heces y por la orina, pero puede permanecer sano porque *C. novyi* es una parte normal de la flora gastrointestinal, de tal forma que se puede encontrar en el hígado de ganado sano.

Clostridium sordellii, bacilo Gram positivo anaerobio, produce fosfolipasas, una hemolisina lábil al oxígeno, una toxina letal (TL) y una hemorrágica. La TL posee un alto peso molecular y presenta una secuencia de aminoácidos similar a la toxina B de *C. difficile* y a la toxina α de *C. novyi*, pero difiere en los receptores celulares a los cuales se une. Mediante su actividad de glucosiltransferasa todas estas toxinas alteran la estructura de los filamentos de actina y con ello el citoesqueleto de las células blanco. La TL es antigénica y su antisuero da reacción cruzada con la citotoxina de *C. difficile*.

C. sordellii, es capaz de causar neumonía, endocarditis, artritis, peritonitis y mionecrosis; la bacteriemia y la sepsis son raras; en general, los casos de sepsis por *C. sordellii* ocurren en pacientes con afecciones subyacentes. El síndrome de choque tóxico severo entre personas previamente sanas se ha

descrito en un pequeño número de casos de *C. sordellii*, más a menudo asociado con infecciones ginecológicas en mujeres e infección del muñón umbilical en recién nacidos. También se ha descrito en mujeres en el posparto, abortos inducidos médicamente, usuarios de drogas inyectables y casos de trauma.

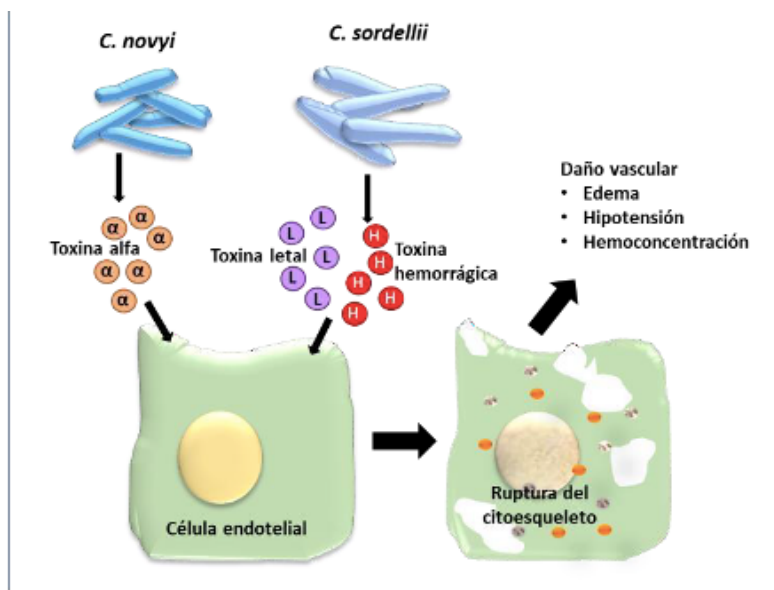


Figura 3.17. Patogenicidad de *C. sordellii* y *C. novyi*. Fuente: Corrales, 2024

Clostridium chauvoei, bacilo Gram positivo anaeróbico, elabora un complejo toxigénico que comprende cuatro toxinas principales: α , β , γ , y δ . Este complejo expresa actividad de fosfolipasa, DNasa y hialuronidasa e interviene en el proceso de miositis gangrenosa. Además, elabora una sialidasa con actividad de neuraminidasa la cual actúa como adhesina en la unión con los receptores de las células blancas.

Se ha descrito específicamente a *Clostridium chauvoei* como el causante de la enfermedad de las patas negras en humanos y animales. Como se considera una enfermedad transmitida por el suelo, los científicos han encontrado una correlación entre las inundaciones y la cantidad de bacterias que se

encuentran en el suelo, donde las esporas se redistribuyen para luego contaminar suelos, pastos y agua.

Clostridium histolyticum, bacilo Gram positivo, aerotolerante, proteolítico, móvil, productor de esporas. Su poder patógeno está asociado principalmente a la producción de la toxina α con acción necrosante y a la toxina β tipo colagenasa.

Se identifica por ser negativos en las pruebas de indol, catalasa, hidrólisis de la esculina, lipasa, lecitinasa, hidrólisis del almidón, fermentación de glucosa, lactosa, ramnosa y manitol. Y ser positivo para la licuefacción de la gelatina y digestión de la leche.

El microorganismo tiene la capacidad de producir citólisis debido a su toxina α , así como provocar infección en heridas abiertas con el resultado de gangrena gaseosa.

Clostridium aldenense, bacilo Gram positivo de tamaño 0,8–1,1 micras de diámetro x 2–5 micras de largo de esporulación poco frecuente. Las colonias tienen un diámetro de 1 a 2 milímetros, son opacas, de color blanco y no hemolíticas. Se diferencia de *Clostridium bolteae*, *C. clostridioforme* y *Clostridium hathewayi* por producir indol; se distingue de *Clostridium citroniae*, porque fermenta la rafinosa y no la ramnosa y por presentar actividad alfa-galactosidasa y beta-galactosidasa.

Es sacarolítico, fermenta la glucosa, maltosa, manosa, rafinosa, sacarosa y xilosa, y variablemente arabinosa, lactosa, salicina y trehalosa. No hidroliza el almidón, ni la gelatina. Se ha caracterizado genéticamente por secuenciación del ARNr 16S. Esta especie se ha aislado fundamentalmente de infecciones intraabdominales. Es sensible a penicilina, a la asociación de betalactámicos con inhibidores de betalactamasas.

Clostridium amygdalinum, es una bacteria ambiental, son bacilos Gram positivos ovales o largos que miden 0,5–1,0 micras de diámetro x 0,5–10 micras de largo, se presentan aislados, en parejas o en cadenas y presentan aerotolerancia. Son móviles por un flagelo polar en los cultivos jóvenes,

son termófilos moderados y sacarolíticos con fermentación de arabinosa, celobiosa, galactosa, glucosa, fructosa, maltosa, manitol, melibiosa, rafinosa, ribosa, sacarosa, trehalosa y xilosa. No producen lipasa ni lecitinasa y pueden producir indol. No hidrolizan la gelatina, pero si la esculina. No producen catalasa. Producen ácido acético, propiónico, butírico y valérico como productos finales principales del metabolismo. Se ha reportado causante de osteomielitis crónica.

Clostridium citroniae, bacilo Gram positivo, que mide 0,8–1 micras de diámetro x 2–5 micras de largo, presenta dificultades para esporular. Las colonias son opacas, blancas, no hemolíticas y de uno a 2 milímetros de diámetro. En coloración de Gram, se puede observar como Gram negativa y por tener difícil esporulación, se asemeja a otros miembros del grupo de *C. clostridioforme* al que pertenece, pero de los que se diferencia por producir indol al igual que *C. aldenense*, distinguiéndose de este por fermentar la ramnosa y no la rafinosa y por no presentar actividad alfa-galactosidasa y beta-galactosidasa.

C. citroniae, es sacarolítica y degrada glucosa, maltosa, manosa, ramnosa, sacarosa, trehalosa y xilosa y de forma variable la arabinosa, lactosa, salicina y trehalosa. No hidroliza esculina, ni almidón, ni la gelatina. Se aísla principalmente de infecciones intraabdominales.

Clostridium glycolicum, se cita en algunos textos como productor de infecciones. El primer caso clínico publicado es el de una bacteriemia con shock séptico en una mujer que recibió trasplante de médula ósea debido a una recaída de una enfermedad de Hodgkin, por lo que su patogénesis es incierta.

Tabla 3.13. Descripción morfológica de especies del género *Clostridium*

ESPECIE BACTERIANA	MICROSCOPÍA CON COLORACIÓN DE GRAM	MACROSCOPÍA
<i>Clostridium bararii</i>	Bacilo grande, inmóvil con espora subterminal poco frecuentes	Colonia no hemolítica
<i>Clostridium bifermentans</i>	Bacilo grande, móvil, esporas ovales subterminales	Colonia gris con borde irregular, pequeña zona de hemólisis β
<i>Clostridium botulinum</i>	Bacilo grande, móvil, esporas subterminales	Colonia grande, translúcida y con efecto swarming.
<i>Clostridium butyricum</i>	Bacilo grande con extremos redondeados, móvil, esporas ovales	Colonia translúcida y con efecto swarming.
<i>Clostridium cadaveris</i>	Bacilo grande, esporas ovales	Colonias lisas y rugosas
<i>Clostridium clostridioforme</i>	Bacilo grande, frecuentemente se observa Gram negativo, con extremos en forma de huso, las esporas se observan con poca frecuencia	Colonia pequeña, convexa, translúcida, con patrón moteado en la superficie
<i>Clostridium difficile</i>	Bacilo largo y delgado, móvil, con esporas terminales de forma oval	Colonia translúcida, ligeramente convexas y con moteado cristalino. Olor a establo. Fluorescencia anaranjado bajo luz UV.
<i>Clostridium histolyticum</i>	Bacilo grande y a veces pleomórfico, móvil y con esporas ovales.	Colonias lisas o rugosas y es aertolerante.
<i>Clostridium novyi</i>	Bacilo mediano, móvil con esporas ovales subterminales	Colonia gris, translúcida, puede generar el velo del efecto swarming y presenta doble halo de hemólisis.
<i>Clostridium perfringens</i>	Bacilo ancho y corto, con apariencia de ladrillo, inmóvil, esporas subterminales	Colonia grande opaca, tiende a extenderse en el medio pero sin el

Como se observa no todas las especies del género son patógenas, algunas forman parte del microbioma intestinal normal. Se encuentran ampliamente distribuidas en el ambiente

y algunos de sus productos metabólicos, tienen interés terapéutico, así como algunas de sus especies son de interés industrial y comercial.

Evaluación y repaso

1. Explique por qué son importantes los postulados de Koch en los estudios que se relacionan con la microbiología infecciosa.
2. ¿Cuáles son los principales procesos infecciosos con que se asocian las bacterias anaerobias?
3. ¿Cuáles son las características de una infección endógena y una exógena?
4. En un cuadro relacione según la morfología, los principales géneros bacterianos anaerobios asociados con procesos infecciosos.
5. Describa las principales bacterias anaerobias que desarrollan procesos infecciosos en la boca.
6. ¿A qué se le denomina actinomicosis? Explique en qué consiste este proceso infeccioso.
7. ¿Cuáles son las funciones de *Lactobacillus* spp, en la mucosa vaginal?
8. Describa qué se entiende por vaginosis bacteriana.
9. Qué se entiende por acné comedónico, ¿quién lo produce y por qué se presenta?
10. ¿Cuáles bacterias anaerobias conforman el complejo rojo? Explique.
11. Por medio de un diagrama describa la acción o efecto de la toxina botulínica en una intoxicación por consumo de alimentos.

12. En un diagrama señale los diferentes factores de patogenicidad y virulencia del *C. perfringens* que intervienen en la mionecrosis.
13. Explique la acción sobre el sistema nervioso que tiene la toxina tetánica.
14. Liste los principales agentes bacterianos anaerobios implicados en procesos infecciosos de tipo zoonótico.
15. Las bacterias anaerobias, además de ser importantes en la microbiología infecciosa, también pueden ser utilizadas por sus aplicaciones benéficas. Mencione cuáles son las más importantes y explique en que consiste su aplicación.

Lista de figuras

- Figura 3.1. Postulados microbiológicos de Koch. Tomado de Microbiología médica, Jawetz et al, 27ava edición. Modificado por L Corrales.
- Figura 3.2. Postulados moleculares. Tomado de Microbiología médica, Jawetz et al, 27ava edición. Modificado por L Corrales.
- Figura 3.3. Postulados moleculares para establecer la causa microbiana de una enfermedad. Tomado de Microbiología médica, Jawetz et al, 27ava edición. Modificado por L Corrales.
- Figura 3.4. Localización en el cuerpo humano de los principales procesos patógenos causados por bacterias anaerobias. L. Corrales.
- Figura 3.5. Interacciones bacterianas en la placa dental para formar biofilm. L. Corrales.

- Figura 3.6. Patógenos periodontales como generadores de enfermedades sistémicas. L. Corrales.
- Figura 3.7. Pasos de la alteración folicular. Tomado de: K. Wolff, R. Allen, A. Savedra. Atlas de Dermatología Clínica 7e.
- Figura 3.8. Etiología y patogenia de la vaginosis bacteriana. L. Corrales.
- Figura 3.9. Proceso inflamatorio inducido por *B. fragilis* en ratones. Tomado de: Neeraj K. Surana, Dennis L. Kasper. Deciphering the tête-à-tête between the microbiota and the immune system. The Journal of Clinical Investigation. 2014. Modificado por L. Corrales.
- Figura 3.10. Esquema sobre el papel de *Porphyromonas gingivalis* en la periodontitis crónica. Tomado de Tsai CC, Chen HS, Chen SL, Ho YP, Ho KY, Wu YM, Hung CC. Lipid peroxidation: a possible role in the induction and progression of chronic periodontitis. Journal of periodontal research. 2005; 40 (5): 378-384. Modificado por L. Corrales.
- Figura 3.11. Clasificación de especies de *Clostridium*. L. Corrales.
- Figura 3.12. Estructura de la espora del género *Clostridium*. L. Corrales.
- Figura 3.13. Principales toxinas y enzimas que produce *C. perfringens*. L. Corrales.
- Figura 3.14. Mecanismo de acción de la toxina botulínica en la unión neuromuscular L. Corrales.
- Figura 3.15. Acción de la toxina tetánica. L. Corrales
- Figura 3.16. Patogenia del *C. difficile*. L. Corrales.
- Figura 3.17. Patogenia de *C. sordellii* y *C. novyi*. L. Corrales.

Lista de tablas

- Tabla 3.1. Clasificación taxonómica de los cocos Gram positivos anaerobios.
- Tabla 3.2. Clasificación taxonómica de los cocos Gram negativos anaerobios.
- Tabla 3.3. Clasificación taxonómica de los bacilos Gram positivos anaerobios no esporulados.
- Tabla 3.4. Biotipificación de *C. acnes*, (basado en el test de fermentación de azúcares).
- Tabla 3.5. Serotipos de *C. acnes*, (basado en la detección de galactosa en la pared).
- Tabla 3.6. Manifestaciones clínicas del acné.
- Tabla 3.7. Comparativo microbiota / microbioma normal en vagina y vaginosis bacteriana.
- Tabla 3.8. Clasificación taxonómica de los bacilos Gram negativos anaerobios.
- Tabla 3.9. Distribución de los géneros de bacterias anaerobia que se aíslan con más frecuencia en infecciones de humanos
- Tabla 3.10. Clasificación taxonómica de los bacilos Gram positivos esporulados anaerobios.
- Tabla 3.11. Toxinotipos de *C. perfringens*.
- Tabla 3.12. infecciones causadas en el humano y animales por los diferentes toxinotipos de *C. perfringens*.
- Tabla 3.13. Descripción morfológica de especies de *Clostridium*.

Referencias bibliográficas

- Abrutyn E, Goldmann D, Scheckler W, eds. Saunders. infection control reference service (2nd ed). Philadelphia, Saunders, 2001.
- Agustín Zerón y Gutiérrez de Velasco, David Porras Lira. *Fusobacterium nucleatum*. ¿Un patógeno periodontal promotor de carcinogénesis colorrectal? Revista ADM 2016; 73 (6): 280-285
- Alla Aroutcheva, Zaodung Ling, and Sebastian Faro. *Prevotella bivia* as a Source of Lipopolysaccharide in the Vagina. *Anaerobe*. 2008; Vol 14, Issue 5: 256-260
- Al-Otaibi, F. E., and Al-Mohizea, M. M. Non-vertebral *Veillonella* species septicemia and osteomyelitis in a patient with diabetes: a case report and review of the literature. *J. Case Rep. Med*. 2014; 8:365.
- Alsubaie S, Dolgum S, Binkhamis K, Alweijri I, Bugshan A, Alzamil F. *Finnegoldia magna* causing intramedullary thoracic spinal cord abscess in an infant. *Anaerobe*. 2019; 56:57-60.
- Alvarado-Cárdenas G, Hernández-Solís SE, Rueda-Gordillo F, Aguilar-Orozco N. "Identificación molecular de *Fusobacterium nucleatum* en conductos radiculares necróticos de dientes con periodontitis apical crónica". *Rev Odontol Latinoam* 2011; 3:7 -10.
- Alvin Fox Bacteriología - Capítulo Quince Anaerobios y *Pseudomonas* - Infecciones Oportunistas University Of South Carolina School Of Medicine. Disponible en: <http://www.microbiologybook.org/Spanish/chapter15.htm>
- Anne-Marie Berniera and Kathryn Bernard. Whole-Genome Sequences of *Propionibacterium australiense* NML (LCDC) 98A072T and NML (LCDC) 98A078,

- Associated with Granulomatous Bovine Lesions. *Microbiol Resour Announc.* 2018; 7(20): e01445-18.
- Ardila Medina C.M., Alzate Vega J., Guzmán Zuluaga I.C. Asociación de *Prevotella intermedia/nigrescens*, bacilos entéricos gram-negativos y parámetros clínicos en periodontitis crónica. *Avances en Periodoncia.* 2013; 25 (3): 165-170
- Arif N, Do T, Byun R, Sheehy E, Clark D, Gilbert SC, Beighton D. *Veillonella rogosae* sp. nov., an anaerobic, Gram-negative coccus isolated from dental plaque. *Int J Syst Evol Microbiol.* 2008; 58(Pt3):581-4.
- Aronoff DM, Kazanjian PH. Historical and contemporary features of infections due to *Clostridium novyi*. *Anaerobe.* 2018; 50:80-84.
- Aubin GG, Bémer P, Kambarev S, Patel NB, Lemenand O, Caillon J, Lawson PA, Corvec S. *Propionibacterium namnetense* sp. nov., isolated from a human bone infection. *Int J Syst Evol Microbiol.* 2016; 66(9):3393-3399.
- Aujoulat F, Bouvet P, Jumas-Bilak E, Jean-Pierre H, Marchandin H. *Veillonella seminalis* sp. nov., a novel anaerobic Gram-stain-negative coccus from human clinical samples, and emended description of the genus *Veillonella*. *Int J Syst Evol Microbiol.* 2014; 64(Pt 10):3526- 3531.
- Avila-Campos M, Liu C, Song Y, Rowlinson M, Finegold S. Determination of bft gene subtypes in *Bacteroides fragilis* clinical isolated. *J Clin Microbiol* 2007; 45:1336-1338.
- B. J. Gardiner, A. Y. Tai, D. Kotsanas, M. J. Francis, S. A. Roberts, S. A. Ballard, R. K. Junckerstorff, T. M. Korman. Clinical and Microbiological Characteristics of *Eggerthella lenta* Bacteremia. *Journal of Clinical Microbiology.* 2015; 53 (2):626 – 635.
- Baghban A, Gupta S. *Parvimonas micra*: A rare cause of native joint septic arthritis. *Anaerobe.* 2016;39:26-7.

- Barton LL, Tomei FA. Characterisrics and activities of sulfatereducing bacteria. En: Larry Barton. Sulfate-Reducing Bacteria. New York: Biotechnology Handbooks.1995:1 -18.
- Bassa Malondra A., García Gasalla M., Cladera A., Gaeau M. Endocarditis por *Peptostreptococcus*: presentación de dos casos y revisión de la literatura. *An. Med. Interna*. 2008; 25 (5): 226-228.
- Beguelin C, Genne D, Varca A, Tritten ML, Siegrist HH, Jaton K, Lienhard R. *Actinobaculum schaalii*: clinical observation of 20 cases. *Clin Microbiol Infect*. 2011; 17(7):1027-31.
- Belinda S. Thompson, Erin L. Goodrich. Miscellaneous Infectious Diseases. *Rebhun's Diseases of DairyCattle* (Third Edition). 2018:737-783
- Benjamin Kloesel, Margaret Beliveau, Robin Patel, Robert T. Trousdale, and Irene G. Sia. *Bulleidiaextracta* Periprosthetic Hip Joint Infection, United States. *Emerg Infect Dis*. 2013; 19(7): 1170–
- Bloch S, Tomek M, Friedrich V, Messner P, Schaffer CH. Nonulosonic acids contribute to the pathogenicity of the oral bacterium *Tannerella forsythia*. *Interface Focus*. 2019; 9(2):20180064.
- Bonnet É, Galinier JL, Fontenel B, Dongay B, Soula P. Endocardite à *Finegoldia magna* [*Finegoldia magna* endocarditis]. *Med Mal Infect*. 2017; 47(1):65-67.
- Borgwardt DS, Martin AD, Van Hemert JR, Yang J, Fischer CL, Recker EN, Nair PR, Vidva R, Chandrashekaraiiah S, Progulske-Fox A, Drake D, Cavanaugh JE, Vali S, Zhang Y, Brogden KA. Histatin 5 binds to *Porphyromonas gingivalis* hemagglutinin B (HagB) and alters HagB- induced chemokine responses. *Scientific reports*. 2014; 4:39

- Boyanova L, Markovska R, Mitov I. Virulence arsenal of the most pathogenic species among the Gram-positive anaerobic cocci, *Finegoldia magna*. *Anaerobe*. 2016; 42:145-151.
- Byum R, Carlier J-P, Jacques NA, Marchandin H, Hunter N. *Veillonella denticariosi* sp, nov., isolated from human carious dentine. *Int J Syst Evol Microbiol*. 2007; 57:2844-2848.
- Caiano Gil J, Calisto R, Amado J, Barreto V. *Eikenella corrodens* and *Porphyromonas asaccharolyticapleural* empyema in a diabetic patient with obstructive sleep apnea syndrome on noninvasive ventilation. *Rev Port Pneumol*. 2013; 19:76-9.
- Cao H, Cheng Y, Li M. Periprosthetic joint infection caused by *Parvimonas micra*. *Enferm Infecc MicrobiolClin*. 2021; 39(3):162-163.
- Carles Ubeda, Vanni Bucci, Silvia Caballero, Ana Djukovic, Nora C. Toussaint, Michele Equinda, Lauren Lipuma, Lilan Ling, Asia Gobourne, Daniel No, Ying Taur, Robert R. Jenq, Marcel RM van den Brink, JoaoB Xavier, EGP. Microbiota intestinal que contiene especies de *Barnesiella* cura la colonización de *Enterococcus faecium* resistente a la vancomicina. *Infección e inmunidad*. 2013; 81 (3), 965–973.
- Carlier, J. P. *Veillonella*. *Bergey's Manual of Systematics Of Archaea And Bacteria*. 2015. Hoboken, NJ:Wiley Online Library.
- Carlos Quesada-Gómez. Infecciones en humanos por bacterias anaerobias del género *Bacteroides*: actualización en aspectos taxonómicos, bioquímicos, inmunológicos, patogénicos y clínicos. *Rev Biomed* 2010; 21:89-96.
- Carmen Carrasco Cubero, Priscila Zamora Red, José Javier Salaberri Maestrojuan, M. Dolores López Prieto.

- Artritis séptica por *Fusobacterium nucleatum* en paciente inmunocompetente. *ReumatologíaClínica*, 2012; 8(2): 98-99.
- Cattoir V. *Actinobaculum schaalii*: review of an emerging uropathogen. *J Infect.* 2012; 64(3):260-267.
- Cecilia Cortés-Monroy, Soledad Soza. Usos prácticos de la toxina botulínica en adultos en medicina física y rehabilitación. *Rev. Med. Clin.* 2014; 25
- Chanqueo Leonardo, Morales Pedro. *Actinomyces radingae*. *Rev. chil. infectol.* 2019; 36(3): 369-370. Chanqueo Leonardo, Morales Pedro. *Capnocytophaga canimorsus*. *Rev. chil. infectol.* 2019; 36 (2): 219- 220.
- Chanussot C, Meza M, Espinosa M, Arenas R. "Actinomicosis cervicofacial: comunicación de un caso con diabetes e insuficiencia renal crónica". *Dermatología Rev Mex.* 2011; 55:155-158.
- Chassard C, Delmas E, Robert C, Lawson PA, Bernalier-Donadille A. *Ruminococcus champanellensis* sp. nov., a cellulose-degrading bacterium from human gut microbiota. *Int J Syst Evol Microbiol.* 2012; 62:138-43.
- Christopher D. Cortes, Carl Urban and Glenn Turett. *Actinomyces naeslundii*: An Uncommon Cause of Endocarditis. *Case Rep Infect Dis.* 2015; 602462.
- Citron DM, Tyrrell KL, Goldstein LJC. *Peptoniphilus coxii* sp. nov. and *Peptoniphilus tyrrelliae* sp. nov. isolated from human clinical infections. *Anaerobe.* 2012; 18:244-8.
- Clémence Beauruelle, Hervé Le Bars, Laurence Pougnet, Ludovic Lesecq, Philippe Buisson, Geneviève Héry-Arnaud. First Human Case of *Fastidiosipila sanguinis* Infection. *Journal of clinical microbiology.* 2014; 52 (7): 2713–2715

- Cobo F, Rodríguez-Granger J, Sampedro A, Aliaga-Martínez L, Navarro-Marí JM. Pleural effusion due to *Parvimonas micra*. A case report and a literature review of 30 cases. *Rev Esp Quimioter*. 2017; 30(4):285-292.
- Cobo F, Rodríguez-Granger J, Sampedro A, Navarro-Marí JM. Breast abscess due to *Finegoldia magna* in non-puerperal women. *Anaerobe*. 2017; 47:183-184.
- Cobo F, Rodríguez-Granger J, Sampedro A, Navarro-Marí JM. Peritoneal infection due to *Peptoniphilushare* in a patient with intestinal occlusion. *Anaerobe*. 2017; 44:126-127.
- Cook LE, Gang SS, Ihlan A, Maune M, Tanner RS, McNerney MJ, Weinstock G, Lobos EA, Gunsalus RP. Genome Sequence of *Acetomicrobium hydrogeniformans* OS1. *Genome Announc*. 2018; 28.(26): e00581-18.
- Corpoica. *Ciencia y Tecnología Agropecuaria*, vol. 9, núm. 1, enero-junio, 2008, pp. 102-112
- Corvec S, Dagnelie MA, Khammari A, Dréno B. Taxonomy and phylogeny of *Cutibacterium* (formerly *Propionibacterium*) acnes in inflammatory skin diseases. *Ann Dermatol Venereol*. 2019; 146(1):26-30.
- Corvec S. Clinical and Biological Features of *Cutibacterium* (Formerly *Propionibacterium*) *avidum*, an Under-recognized Microorganism. *Clin Microbiol Rev*. 2018; 31(3): e00064-17.
- Costa C, Santiago M, Ferreira J, Rodrigues M, Carvalho P, Silva J, Malcata A. Septic arthritis caused by *Peptostreptococcus asaccharolyticus*. *Acta Reumatol Port*. 2016; 41(3):271-272.
- Crisafulli, E., Bernardinello, N., Alfieri, V., Pellegrino, F., Lazzari, C., Gnetti, L., et al. A pulmonary infection by *Actinomyces odontolyticus* and *Veillonella atypica* in an

immunocompetent patient with dental caries. *Respirol. Case Rep.* 2019. 7: e00493.

- Cristina Senent, José Norberto Sancho, Eusebi Chiner, Jaime Signes-Costa, Ana Camarasa, Ada Luz Andreu. Empiema pleural por microorganismos del género *Gemella*: una complicación infrecuente. *Archivos de bronconeumología.* 2008; 44(10):574-577
- Csukas, Z., Banizs, B. and Rozgonyi, F. Studies on the cytotoxic effects of *Propionibacterium acnes* strains isolated from cornea. *Microb Pathog.* 2004; 36: 171-174.
- Cutler CW, Kalmar JR, Genco CA. Pathogenic strategies of the oral anaerobe, *Porphyromonas gingivalis*. *Trends in microbiology.* 1995;3(2):45-51.
- D. Marriott, D. Stark, and J. Harkness. *Veillonella parvula* Discitis and Secondary Bacteremia: ¿a Rare Infection Complicating Endoscopy and Colonoscopy? *J Clin Microbiol.* 2007; 45(2): 672-674.
- Daillère, Romain; Vétizou, Marie; Waldschmitt, Nadine; Yamazaki, Takahiro; Isnard, Christophe; Poirier-Colame, Vichnou; Duong, Connie P.M.; Flament, Caroline; Lepage, Patricia; Roberti, Maria Paula; Routy, Bertrand; Jacquelot, Nicolas; Apetoh, Lionel; Becharef, Sonia; Rusakiewicz, Sylvie; Langella, Philippe; Sokol, Harry; Kroemer, Guido; Enot, David; Roux, Antoine; Eggermont, Alexander; Tartour, Eric; Johannes, Ludger; Woerther, Paul-Louis; Chachaty, Elisabeth; Soria, Jean-Charles; Golden, Encouse; Formenti, Silvia; Plebanski, Magdalena; Madondo, Mutsa; Rosenstiel, Philip; Raoult, Didier; Cattoir, Vincent; Boneca, Ivo Gomperts; Chamaillard, Mathias; Zitvogel, Laurence. "Enterococcus hirae and *Barnesiella intestinihominis* Facilitate Cyclophosphamide-Induced Therapeutic Immunomodulatory Effects". *Immunity.* 2016; 45 (4): 931-943.

- Dalia Ibarra-Morales, Sabrina Escandón-Pérez, Leonel Fierro-Arias, Alexandro Bonifaz. Reclasificación de *Propionibacterium acnes* a *Cutibacterium acnes*. *Dermatol Rev Mex*. 2019;63(Supl. 1): S98-S100.
- Daniel Cascante-Serrano. Multirresistencia en el mundo anaerobio: *Bacteroides fragilis*. *Rev. Colegio de Microb. Quim. Clin. de Costa Rica*. 2019; 25 (2):96 - 100.
- Daniela Buitrago Mejía, Lina Maria Peñuela S, Rosa Angélica Sanmiguel. El gran impacto de *Clostridium perfringens* en aves de corral. *PUBVET*.2018; 12(9):1-9.
- David Groeger, Liam O'Mahony, Eileen F. Murphy, John F. Bourke, Timothy G. Dinan, Barry Kiely. *Bifidobacterium infantis* 35624 modulates host inflammatory processes beyond the gut. *Gut Microbes*.2013;4(4):325-39.
- Decroix V, Goudjil S, Kongolo G, Mammeri H. '*Leptotrichia amnionii*', a newly reported cause of earlyonset neonatal meningitis. *J Med Microbiol*. 2013; 62:785-8.
- Di Lorenzo F, Pither MD, Martufi M, Scarinci I, Guzmán-Caldentey J, Łakomiec E, Jachymek W, Bruijns SCM, Santamaría SM, Frick JS, van Kooyk Y, Chiodo F, Silipo A, Bernardini ML, Molinaro A. Pairing *Bacteroides vulgatus* LPS Structure with Its Immunomodulatory Effects on Human Cellular Models. *ACSCent Sci*. 2020;6(9):1602-1616.
- Dialister micraerophilus* sp. nov. and *Dialister propionificiens* sp. nov., isolated from human clinical samples. *Int J Syst Evol Microbiol*. 2005;55(6):2471-2478.
- Diaz MC, Espitia SE, Molina F. Microbiología de la digestión anaerobia. En: Colciencias. *Digestion anaerobia: una aproximación a la tecnología*. 1ª ed. Colombia: Uneditorial - Instituto de biotecnología; 2002: 45-71.
- Donald Ramos Perfecto, Hilda Moromi Nakata, Elba Martínez Cadillo, Alejandro Mendoza Rojas. *Aggregatibacter*

- actinomycetemcomitans: Patógeno importante en la periodontitis. *Odontol. Sanmarquina* 2010; 13(2): 42-45
- Donald Ramos-Perfecto. *Tannerella forsythia*: patógeno importante en la periodontitis, integrante del complejo rojo. *Odontol. Sanmarquina* 2020; 23(3): 253-260.
- Downes J., Iain S., Tanner A., Wade W. *Prevotella marshallii* sp.nov and *Prevotella baroniae* sp. Nov.isolated from the human oral cavity. *Int J Sys Evol Microbiol* 2005; 55:1551-1555.
- Downes J., Sutcliffe I., Booth V., Wade W. *Prevotella maculosa* sp. nov., isolated from the human oral cavity. *Int J of Syst Evol Microbiol* 2007; 57: 2936-2939.
- Dréno B, Pécastaings S, Corvec S, Veraldi S, et al. *Cutibacterium acnes* (*Propionibacterium acnes*) and acne vulgaris: a brief look at the latest updates. *J Eur Acad Dermatol Venereol* 2018;32(2)5-14.
- Dréno B, Pécastaings S, Corvec S, Veraldi S, Khammari A, Roques C. *Cutibacterium acnes* (*Propionibacterium acnes*) and acne vulgaris: a brief look at the latest updates. *J Eur Acad Dermatol Venereol*. 2018;32 Suppl 2:5-14.
- E. Guilhot, J.C. Lagier, D. Raoult, S. Khelaifia. 'Prevotella ihumii' sp. nov. and 'Varibaculum timonense' sp.nov., two new bacterial species isolated from a fresh human stool specimen *New Microbe New Infect.*2017; 18: 3-5.
- E. Jumas-Bilak, J.P. Carlier, H. Jean-Pierre, D. Citron, K. Bernard, A. Damay, et al. *Jonquetella anthropi* gen.nov., sp. nov., the first member of the candidate phylum 'Synergistetes' isolated from man. *Int J Syst Evol Microbiol*. 2007; 57: 2743-2748.
- E.H.A. Niang, C.I. Lo, S. Brahimi, N. Armstrong, D. Raoult, P.-E. Fournier, F. Fenollar. *Varibaculum massiliense* sp. nov., a new bacterium isolated from human urine

- with culturomics. *New Microbes and New Infections*. 2019; 32: 100591.
- Daniela Buitrago, Lina María Peñuela, Angélica Sanmiguel. El gran impacto de *Clostridium perfringens* en aves de corral. *PUBVET*.2018;12 (9):1-9,
- Escher CM, Paracka L, Dressler D, Kollewe K. Botulinum toxin in the management of chronic migraine: clinical evidence and experience. *Therapeutic Advances in Neurological Disorders*. 2017;10(2):127-135.
- Estelle Jumas-Bilak, Jean-Philippe Carlier, Hélène Jean-Pierre, Francine Mory, Corinne Teyssier, Bernard Gay, Josiane Campos, Hélène Marchandin. *Acidaminococcus intestini* sp. nov., isolated from human clinical samples. *Int J Syst Evol Microbiol*. 2007;57(10):2314-2319.
- Estelle Jumas-Bilak, Jean-Philippe Carlier, Helene Jean-Pierre, Corinne Teyssier, Bernard Gay, Josiane campos. *Veillonella montpellierensis* sp.nov., a novel, anaerobic, Gram negative coccus isolated from human clinical samples. *Int J of Syst Evol Microbiol* 2008; 58: 581-584.
- Fernández Canigia L. Diagnóstico de infección por *Clostridium difficile*. *Boletín de Epidemiología Hospitalaria y Control de Infecciones del Hospital Alemán*. Buenos Aires, Argentina 2013;14:15-8.
- Fernández-Canigia L, Cejas D, Gutkind G, Radice M. Detection and genetic characterization of beta- lactamases in *Prevotella intermedia* and *Prevotella nigrescens* isolated from oral cavity infections and peritonsillar abscesses. *Anaerobe*. 2015;33C:8-13
- Fernando Pellegrino Botulismo. *Ciencia Veterinaria*. 2016; 18(2):34 -53
- Flores R Roberto. *Aggregatibacter actymicetemcomitans*. *Rev. chil. Infectol*. 2011; 28(6): 579-580. Flores-Franco RA, Lachica-Rodríguez GN, Bañuelos-Moreno L,

- Gómez-Díaz A. "Spontaneous peritonitis attributed to actinomycetes species". *Annals of Hepatology*. 2007; 6:276-278.
- Forbes-Faulkner JC, Pitt D, Norton JH, Thomas AD, Bernard K. Novel *Propionibacterium* infection in cattle. *Aust Vet J*. 2000; 78(3):175-178.
- Foronda C, Calatrava E, Casanovas I, Martín-Hita L, Navarro-Marí JM, Cobo F. *Eggerthia cateniformis* bacteremia in a patient with an odontogenic abscess. *Anaerobe*. 2019; 57:115- 116
- G. Dietrich, N. Weiss, F. Fiedler, J. Winter. *Acetofilamentum rigidum* gen. nov., sp. nov., a Strictly Anaerobic Bacterium from Sewage Sludge. *Systematic and Applied Microbiology*. 1988; 10(3): 273-278
- García J, García E, Martín-del-Rey, García-Merino E, Anaerobic bacteria 150 years after their discovery by Pasteur – Elsevier. 2015; 33(2):75-142.
- García J, Li J, Sheresta A, Freedman J, Beingesser J, Mc Clane B, Uzal F. *Clostridium perfringens* Type A enterotoxin damages the rabbit colon. *Infect Immun*. 2014; 82(6): 2211–2218.
- Gatti M. Isolation of *Mobiluncus* species from the human vagina. *Zentralbl Bakteriologie*. 2000; 289(8):869-78.
- Gibson FC. *Porphyromonas gingivalis* mediated periodontal disease and gynecología. 3rd, Genco CA. 2011; 76(5):338-4
- Gomez C, Gerber D, Zambrano E, Banaei N, Deresinski S, Blackburn B. First case of infectious endocarditis caused by *Parvimonas micra*. *Anaerobe*. 2015; 36: 53-55
- Gómez-Bañuelos E, Mukherjee A, Darrah E, Andrade F. Rheumatoid Arthritis-Associated

- Mechanisms of *Porphyromonas gingivalis* and *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*. *Journal of Clinical Medicine*. 2019; 8(9):1309.
- González Ramírez María Lorena, Parra Pedrosa Ángela María, Arias Palacios Janeth, Forero Lozano Milton. Producción a nivel de laboratorio de *Clostridium septicum* IRP15 para la formulación de una vacuna veterinaria. *Rev Cubana Farm*. 2014; 48(2): 250-260.
- Greub G, Raoult D. "Actinobaculum massiliae," a new species causing chronic urinary tract infection. *J Clin Microbiol*. 2002; 40(11):3938-41.
- Guida, S., Farnetani, F., Nisticò, S. P., Mariarosaria, C. G., Babino, G., Pellacani, G., & Fulgione, E. New trends in botulinum toxin use in dermatology. *Dermatology Practical & Conceptual*. 2018; 8(4), 277.
- Gully, N. et al. *Porphyromonas gingivalis* peptidylarginine deiminase, a key contributor in the pathogenesis of experimental periodontal disease and experimental arthritis. *PLoS One*. 2014; 9 (6):e100838
- Hall, V. *Varibaculum*. In *Bergey's Manual of Systematics of Archaea and Bacteria* (eds M.E. Trujillo, S. Dedysh, P. DeVos, B. Hedlund, P. Kämpfer, F.A. Rainey and W.B. Whitman). 2015. <https://doi.org/10.1002/9781118960608.gbm00015>
- Hatamoto M, Kaneshige M, Nakamura A, Yamaguchi T. *Bacteroides luti* sp. nov., an anaerobic, cellulolytic and xylanolytic bacterium isolated from methanogenic sludge. *Int J Syst Evol Microbiol*. 2014;64:1770-1774.
- Henry Jurado-Gómez Verónica Jarrín-Jarrín. Cinética de crecimiento de *Lactobacillus lactis* y determinación del efecto probiótico en cepas patógenas. *Biosalud* 2015; 14(2): 49- 62.

- Hernández A, Alfaro I, Arrieta R. Las fermentaciones. En: Alicia Hernández. Microbiología industrial. UNED; 2003:37-39.
- Herrera-Cáceres JO, Camacho-Ortiz A, Galindo-Fraga A, et al. "Concordance between two enzyme immunoassays for the detection of *Clostridium difficile* toxins". Arch Med Res 2010; 41: 92-96.
- Hill GB, Ayers OM, Kohan AP. Characteristics and sites of infection of *Eubacterium nodatum*, *Eubacterium timidum*, *Eubacterium brachy*, and other asaccharolytic eubacteria. J Clin Microbiol. 1987;25(8):1540-5
- Ho Tsoi Eagle S. H. Chu Xiang Zhang Jianqiu Sheng Geicho Nakatsu Siew C. Ng Anthony W.
- H. ChanFrancis K. L. Chan Joseph J. Y. Sung Jun Yu. *Peptostreptococcus anaerobius* Induces Intracellular Cholesterol Biosynthesis in Colon Cells to Induce Proliferation and Causes Dysplasia in Mice. Gastroenterology. 2017; 152(6):1419-1433
- Homna K, Mishima E, Sharma A. Role of *Tannerella forsythia* NanH sialidase in Epithelial Cell Attachment. Infect Immun. 2011;79(1):393-401.
- Huizi Tan, Chen Wang, Qingsong Zhang, Xiaoshu Tang, Jianxin Zhao, Hao Zhang, Qixiao Zhai, Wei Chen. Preliminary safety assessment of a new *Bacteroides fragilis* isolate. Food and Chemical Toxicology. 2020;135: 110934
- Inagaki S, Kuramitsu H, Sharma A. Contact-dependent regulation of a *Tannerella forsythia* virulence factor, BspA, in biofilms. FEMS Microbiology Letters. 2005; 249:291- 296.
- Inagaki S, Kuramitsu HK, Sharma A. Contact-dependent regulation of a *Tannerella forsythia*

- virulencefactor, BspA, in biofilms. FEMS Microbiol Lett. 2005; 249:291-296.
- Iniesta M, Herrera D, Serrano J, Sanz M. Analisis de los factores de virulencia de los patógenos de asociación fuerte con la periodontitis: *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Porphyromonas gingivalis* y *Tannerella forsythia*. Quintessence. 2008; 18(2):109-115.
- Inokuchi R, Ishida T, Maeda J, Nakajima S, Yahagi N, Matsumoto A. Anaerobiospirillum succiniciproducens-induced bacteremia in a healthy man. Am J Emerg Med. 2014; 32:812 e1-3.
- Ivan Minić and Ana Pejčić. Pathogenesis of *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* in Periodontitis. Scientific Archives of Dental Sciences 2019; 2(4): 17-21.
- J.E. García-Sánchez, M. José Fresnadillo, E. García-Sánchez. Nuevas bacterias anaerobias implicadas en enfermedades infecciosas humanas. Enferm Infecc Microbiol Clin, 2010; 28: 173-184.
- Jacobson AN, Choudhury BP, Fischbach MA. The Biosynthesis of Lipooligosaccharide from *Bacteroides thetaiotaomicron*. mBio. 2018; 9(2):e02289-17.
- Jain S, Coats SR, Chang AM, Darveau RP. A novel class of lipoprotein lipase-sensitive molecules mediates Toll-like receptor 2 activation by *Porphyromonas gingivalis*. Infect Immun. 2013; 81:1277-1286.
- Jesús García, Manuel Lizasoain, Juan José Lahuerta, Francisca Sanz. Bacteriemia por *Capnocytophaga* spp.: a propósito de dos casos. Enferm Infecc Microbiol Clin 2003;21 (3):169
- Joanne Willey and Linda Sherwood and Christopher J. Woolverton. Prescott's Microbiology. 11 th 2019. McGraw-Hill Education.

- Jonquetella anthropi gen. nov., sp. nov., the first member of the candidate phylum 'Synergistetes' isolated from man. *Int J Syst Evol Microbiol.* 2007; 57: 2743-2748.
- José Elías García Sánchez, María José Fresnadillo y Enrique García Sánchez. Nuevas bacterias anaerobias implicadas en enfermedades infecciosas humanas. Facultad de Medicina, Universidad de Salamanca, España. *Enferme Infecc Microbiol Clin.* 2010; 28(3):173-184
- Julia Downes and William G. Wade. *Propionibacterium acidifaciens* sp. nov., isolated from the human mouth. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* .2009; 59: 2778-2781.
- Jumas-Bilak E, Jean-Pierre H, Carlier JP, Teyssier C, Bernard K, Gay B, Campos J, Morio F, Marchandin H. *Dialister micraerophilus* sp. nov. and *Dialister propionificiens* sp. nov., isolated from human clinical samples. *Int J Syst Evol Microbiol.* 2005; 55(6):2471-2478.
- Jung Y, Choi Y, An S, Lee H, Jun H, Choi B. Tannerella forsythia GroEL indices inflammatory bone resorption and synergizes with interleukin-17. *Mol Oral Microbiol.* 2017; 32:301-313.
- Jusko M, Potempa J, Karim AY, Ksiazek M, Riesbeck K, Garred P, Eick S, Blom AM. A metalloproteinase karilysin present in the majority of Tannerella forsythia isolates inhibits all pathways of the complement system. *J Immunol.* 2012; 188:2338-49.
- Khalida A, Arshad bM, Anjuma M, Mahmooda T, Dawsonc T. The anaerobic digestion of solid organic waste. Elsevier, Waste Management [revista en internet]* August 2011; 31(8).
- Knapp, S., Brodal, C., Peterson, J., Qi, F., Kreth, J., and Merritt, J. Natural competence is common among clinical

- isolates of *Veillonella parvula* and is useful for genetic manipulation of this key member of the oral microbiome. *Front. Cell. Infect. Microbiol.* 2017; 7:139.
- Ko JH, Baek JY, Kang CI, Lee WJ, Lee JY, Cho SY, Ha YE, Kim SH, Chung DR, Peck KR, Lee NY, Song JH. Bacteremic meningitis caused by *Parvimonas micra* in an immunocompetent host. *Anaerobe.* 2015;34:161-163.
- Kostic, Aleksandar D.; Chun, Eunyoung; Robertson, Lauren; Glickman, Jonathan N.; Gallini, Carey Ann; Michaud, Monia; Clancy, Thomas E.; Chung, Daniel C.; Lochhead, Paul; Hold, Georgina L.; El-Omar, Emad M.; Brenner, Dean; Fuchs, Charles S.; Meyerson, Matthew; Garrett, Wendy S. «*Fusobacterium nucleatum* Potentiates Intestinal Tumorigenesis and Modulates the Tumor-Immune Microenvironment». *Cell Host & Microbe.* 2013; 14 (2): 207-15
- Koziel M, Corcoran GD, Sleator RD, Lucey B. Detection and molecular analysis of *Campylobacter ureolyticus* in domestic animals. *Gut pathogens.* 2014; 6:9.
- Kulagina, E. V., Efimov, B. A., Maximov, P. Y., Kafarskaia, L. I., Chaplin, A. V., Shkoporov, A. N. Composición de especies de bacterias bacterianas del orden de Bacteroidales en las heces de personas de diversas edades. *Biociencia, biotecnología y bioquímica.* 2012; 76(1): 169- 171.
- Kumar B, Pathak R. Nuevas ideas sobre la patogénesis del acné: Explorando el papel de las poblaciones microbianas asociadas al acné. *ScienceDirect.* 2017; 34: 67 - 73.
- L. Fenner, V. Roux, P. Ananian, D. Raoult. *Alistipes finegoldii* in blood cultures from colon cancer patients. *Emerg Infect Dis.* 2007; 13:1260-1262
- Laura Varela Barca, Javier Miguelena Hycka, Javier Cobo Reinoso, José Romero Vivas. Endocarditis por

- Fusobacterium nucleatum*. Rev Colomb Cardiol. 2017; 24(5):539-540
- Lavergne V, Malo M, et al. Clinical impact of positive *Propionibacterium acnes* cultures in orthopedicsurgery. Orthopaedics & Traumatology: Surgery & Research. 2017; 103:307–314.
- Lawson P, Johnson CN, Bengtsson L, Charalampakis G, Dahlen G, Moore E, Falsen E *Peptostreptococcus* sp. nov., isolated from subgingival plaque from canine oral cavity. Anaerobe. 2012; 18:597-601.
- Lee J, Jung Y, Jun H, Choi B. Pathogenic potencial of *Tannerella forsythia* enolase. Mol Oral Microbiol. 2016;31:189-203.
- Lehman B, Miller RM, Richter SS, Keller G, Tan C, Rodriguez ER, Roselli EE, Rehm SJ. *Clostridium septicum*-infected aortic aneurysm or graft is a deadly diagnosis. J Vasc Surg. 2020; 71(5):1781-1788.
- Ley R. Gut Microbiota in 2015: *Prevotella* in the gut: choose carefully. Nature Reviews: Gastroenterology and hepatology. 2016; 13 (2): 69-70.
- Li L, Michel R, Cohen J, Decarlo A, Kozarov E. Intracellular survival and vascular cell-to-cell transmission of *Porphyromonas gingivalis*. BMC Microbiology. 2008; 8:26.
- Litterio M, D'Amore V, Hernández C. *Finnegoldia magna*. De dónde y cómo recuperamos este coco gram positivo anaerobio en pediatría. XIII Congreso Argentino de Microbiología. II Congreso Microbiología Agrícola y Ambiental. 2013, Resumen P-430, p. 171, Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina.
- Litty D, Müller V. Butyrate production in the acetogen *Eubacterium limosum* is dependent on the carbon and energy source. Microbial Biotechnology. 2021; 0(0): 1–7
- Lorber B. Gas gangrene and other *Clostridium* associated diseases. En: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R (eds).

- Principles and practice of infectious diseases, 5^a ed. Philadelphia: Churchill- Livingstone, 2000: 2549-2570.
- Lotte R, Lotte L, Ruimy R. *Actinotignum schaalii* (formerly *Actinobaculum schaalii*): a newly recognized pathogen-review of the literature. Clin Microbiol Infect. 2016; 22(1):28-36.
- Luis AS, Briggs J, Zhang X, Farnell B, Ndeh D, Labourel A, Baslé A, Cartmell A, Terrapon N, Stott K, Lowe EC, McLean R, Shearer K, Schückel J, Venditto I, Ralet MC, Henrissat B, Martens EC, Mosimann SC, Abbott DW, Gilbert HJ. Dietary pectic glycans are degraded by coordinated enzyme pathways in human colonic *Bacteroides*. Nat Microbiol. 2018; 3(2):210-219.
- Luis Bernal Solano Alpízar. Epidemiología de bacterias anaerobias aisladas en muestras clínicas en el Hospital San Juan de Dios, San José, Costa Rica, durante el trienio 2014, 2015 Y 2016. Rev. Costarricense de Salud Pública, 2018, vol. 27(2): 82-92
- Lynch A, Tammireddy SR, Doherty MK, Whitfield PD, Clarke DJ. The Glycine Lipids of *Bacteroides thetaiotaomicron* Are Important for Fitness during Growth in Vivo and in Vitro. Appl Environ Microbiol. 2019;85(10): e02157-18.
- Lynge Pedersen AM, Belstrøm D. The role of natural salivary defences in maintaining a healthy oral microbiota. J Dent. 2019;80 Suppl 1: S3-S12
- M. Goto, S. Hitomi, T. Ishii. Bacterial arthritis caused by *Leptotrichia amnionii*. J Clin Microbiol. 2007; 45:2082-2083.
- M. Rautio, E. Eerola, M.L. Väisänen-Tunkelrott, D. Molitoris, P. Lawson, M.D. Collins, et al. Reclassification of *Bacteroides putredinis* (Weinberg et al, 1937) in a new genus *Alistipes* gen. nov., as *Alistipes putredinis* comb. nov.,

- and description of *Alistipes finegoldii* sp. nov., from human sources. *Syst Appl Microbiol.* 2003;26:182-188
- Macfarlane GT, Macfarlane S. Microbioma humana colon: la ecología, la fisiología y el potencial metabólico de las bacterias intestinales. *Scand J. Gastroenterol Suppl* [revista en internet]* 1997. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9145437>
- Madura Larsen J. The immune response to *Prevotella* bacteria in chronic inflammatory disease. *Immunology.* 2017; (4):151.
- Maiko Otomo, Masato Saitoh, Riyoko Tamai, Yusuke Kiyoura, Izumi Mashima, Citra F Theodorea, Ariadna A Djais, Tadao Kunihiro, Yoshiaki Kawamura. *Veillonella nakazawae* sp. nov., an anaerobic Gram-negative-coccus isolated from the oral cavity of Japanese children. *Int J Syst Evol Microbiol.* 2021; (1):71.
- Mailhe, Morgane; Ricaboni, Davide; Benezech, Alban; Cadoret, Frédéric; Fournier, Pierre-Edouard; Raoult, Didier. *Actinomyces bouchesdurhonensis* sp. nov. and *Actinomyces mediterranea* sp. nov., isolated from human stomach and duodenum. *Human Microbiome Journal.* 2017; 3: 13-14.
- Malinoswki B, Wesierska A, Zalewska K, Sokolowka M, Bursiewicz W, Socha M. et al. The role of *Tannerella forsythia* and *Porphyromonas gingivalis* in pathogenesis of esophageal cancer. *Infect AgentCancer.* 2019; 14:3
- Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases. Elsevier, Eighth Edition. 2015
- Maozhen Han, Gang Liu, Yajun Chen, Dong Wang and Yan Zhang. Comparative Genomics Uncovers the Genetic Diversity and Characters of *Veillonella atypica* and

- Provides Insights Into Its Potential Applications. *Frontiers in Microbiology*. 2020; 11, Article 1219: 1 – 12.
- Maqsood A. Bhatti, Michael O. Frank. *Veillonella parvula* Meningitis: Case Report and Review of *Veillonella* Infections. *Clinical Infectious Diseases*. 2000; 31(3): 839–840,
- María J. Ruiz, Rocío Colello, Nora L. Padola, Analía I. Etcheverría. Efecto inhibitorio de *Lactobacillus* spp. sobre bacterias implicadas en enfermedades transmitidas por alimentos. Inhibitory capacity of *Lactobacillus* spp. against pathogens involved in foodborne diseases. *Revista Argentina de Microbiología*. 2017; 49 (2):174-177.
- Marsh PD, Do T, Beighton D, Devine DA. Influence of saliva on the oral microbiota. *Periodontol* 2000. 2016;70(1):80-92.
- Marta Garrido-Jareño, Juan Frassetto-Artes, María Tasias-Pitarch. José Luis López-Hontangas. Primer caso de absceso renal por *Parvimonas micra*. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*. 2019;37(2): 140-141.
- Martinez-Rivera J, Xibillé-Friedmann D, Gonzalez-Christian J, De la Garza-Ramos M, Carrillo- Vásquez S, Montiel-Hernández J. Salivary ammonia levels and *Tannerella forsythia* are associated with rheumatoid arthritis: A cross sectional study. *Clin Exp Dent Res*. 2017; 3:107- 114.
- Mashima I, Kamaguchi A, Miyakawa H, Nakazawa F. *Veillonella tobetsuensis* sp. nov., an anaerobic, gram-negative coccus isolated from human tongue biofilms. *Int J Syst Evol Microbiol*. 2013 ;63(4):1443-1449.
- Matthijs Oyaert, Piet Cools, Joke Breyne, Gert Heyvaert, Anne Vandewiele, Mario Vaneechoutte, Steven Vervaeke and Emmanuel De Laere. Sepsis with an *Atopobium*-Like Species in a Patient with Fournier's Gangrene. *J Clin Microbiol*. 2014; 52(1): 364–366.

- Mayorga-Fayad I, Lafaurie G, Contreras A, Castillo D, Barón A, Aya M. Microflora subgingival en periodontitis crónica y agresiva en Bogotá, Colombia: un acercamiento epidemiológico. *Biomédica*.2007; 27:21-33.
- Mayslich C, Grange PA, Dupin N. *Cutibacterium acnes* as an Opportunistic Pathogen: An Update of Its Virulence-Associated Factors. *Microorganisms*. 2021; 9(2):303.
- McDowell A, Barnard E, Liu J, Li H, Patrick S. Proposal to reclassify *Propionibacterium acnes* type I as *Propionibacterium acnes* subsp. *acnes* subsp. nov. and *Propionibacterium acnes* type II as *Propionibacterium acnes* subsp. *defendens* subsp. Nov. *Int J Syst Evol Microbiol* 2016; 66 (12) :5358-5365.
- Meltzer MC, Desmond RA, Schwebke JR. Association of *Mobiluncus curtisii* with recurrence of bacterial vaginosis. *Sex Transm Dis*. 2008; 35(6):611-3.
- Michael T Madigan; Kelly S Bender; Daniel H Buckley; W Matthew Sattley; David Allan Stahl. "Brock. Biología de los microorganismos". 16th 2020 Pearson.
- Minces LR, Shields RK, Sheridan K, Ho KS, Silveira FP. *Peptostreptococcus infective endocarditis and bacteremia. Analysis of cases at a tertiary medical center and review of the literature. Anaerobe*. 2010;16(4):327-30.
- Mitsuo S, Yi Huang, Makoto U., Isao I., Yoshimi B. *Prevotella multiformis* sp. nov. isolated. From human subgingival plaque. *Int J of Syst Evol Microbiol* 2005; 55: 815-819.
- Mitsuo S., Makoto U., Isao I., Yoshimi B. *Prevotella multisaccharivorax* sp. nov. isolated from human subgingival plaque. *Int J of Syst Evol Microbiol*. 2005; 55: 1839-1843.
- Mitsuo S., Masahito. S., Yi Huang., Umeda, Isao., Yoshimi B. *Prevotella Shaii* sp. nov. and *Prevotella salivae* sp.

- Nov., isolated from the human oral cavity. *Int J of Syst Evol Microbiol* 2004; 54:877-883.
- Mitsuo Sakamoto, Nao Ikeyama, Atsushi Toyoda, Takumi Murakami, Hiroshi Mori, Takao Lino, Moriya Ohkuma. *Dialister hominis* sp. nov., isolated from human faeces. *Int J Syst Evol Microbiol*. 2020; 70(1):589-595.
- Mónica Elizabet Almirón, Nancy Natalia Flores Correa, Teresita Paola González Sandoval, Héctor Sebastián Horrisberger. El tétanos. *Revista de Posgrado de la Vía Cátedra de Medicina*. 2005; 143
- Mónica Ríos Prego, Alba García Velo, Eide Diana Alves Pereira, Ruth Brea Aparicio, Jesús Manuel Núñez Fernández. Infección por *Clostridium tetani*: sospecharla para diagnosticarla. *Galicia Clin*. 2016; 77 (4): 175-176
- Moore C, Addison D, Wilson JM, Zeluff B. First case of *Fusobacterium necrophorum* endocarditis to have presented after the 2nd decade of life. *Tex Heart Inst J*. 2013; 40:449-52.
- Morotomi M, Nagai F, Sakon H, Tanaka R. *Dialister succinatiphilus* sp. nov. and *Barnesiella intestinihominis* sp. nov., isolated from human faeces. *Int J Syst Evol Microbiol*. 2008; 58(Pt 12):2716-20.
- Mühlhauser Margareta. *Eikenella corrodens*. *Rev. chil. infectol*. 2013; 30(2):163-164.
- Müller-Schulte E, Heimann KC, Treder W. *Peptoniphilus asaccharolyticus* - Commensal, pathogen or synergist? Two case reports on invasive *Peptoniphilus asaccharolyticus* infection. *Anaerobe*. 2019; 59:159-162.
- Mysak J, Podzimek S, Sommerova P, Lyuya-Mi Y, Bartova J, Janatova T, Prochazkova J, Duskova J. *Porphyromonas gingivalis*: major periodontopathic pathogen over-view. *J Immunol Res*. 2014; 2014:76068.

- Nakamura, I., Aoki, K., Miura, Y., Yamaguchi, T., & Matsu-
moto, T. Fatal sepsis caused by multidrug- resistant
Bacteroides fragilis, harboring a *cfiA* gene and an up-
stream insertion sequence element, in Japan. *Anaer-
obe*. 2017, 44: 36-39.
- Nakao R, Takashiba S, Kosono S, Yoshida M, Watanabe H,
Ohnishi M, Senpuku H. Effect of *Porphyromonas gin-
givalis* outer membrane vesicles on gingipain-medi-
ated detachment of cultured oralepithelial cells and im-
mune responses. *Microbes infect*. 2014; 16:6-16.
- Neeraj K. Surana, Dennis L. Kasper. Deciphering the tête-à-
tête between the microbiota and the immunesystem.
The Journal of Clinical Investigation. 2014: 1-7
- Ndongo, S.; Andrieu, C.; Fournier, P. E.; Lagier, J. C.; Raoult,
D. *Actinomyces provencensis* sp. nov., *Corynebacte-
rium bouchesdurhonense* sp. nov., *Corynebacterium
provencense* sp. nov. and *Xanthomonas massiliensis*
sp. nov., 4 new species isolated from fresh stools of
obese French patients. *New Microbes and New Infec-
tions*. 2017; 18:24-27.
- Nicole M Gilbert, Warren G Lewis, Guocai Li, Dorothy K So-
jka, Jean Bernard Lubin, Amanda L Lewis. *Gardnerel-
la vaginalis* and *Prevotella bivia* Trigger Distinct and
Overlapping Phenotypes in a Mouse Model of Bacteri-
al Vaginosis. *The Journal of Infectious Diseases*, 2019;
220(7):1099–1108
- Obata J, Fujishima K, Nagata E, Oho T. Pathogenic mecha-
nisms of cariogenic *Propionibacterium acidifaciens*.
Arch Oral Biol. 2019; 105:46-51.
- Orrego-Cardozo M, Parra-Gil MA, Salgado-Morales YP, Mu-
ñoz-Guarín E, Fandiño- Henao V. *Porphyromonas
gingivalis* y enfermedades sistémicas. *Rev. CES Odont*
2015; 28(1): 57-73

- Ortiz MG. “Búsqueda de *Atopobium vaginae* a partir de exudado cervico-vaginales”. Tesis de licenciatura. Escuela Nacional de Ciencias Biológicas. Instituto Politécnico Nacional. México. 2010
- Ortiz, Diego; Villamil, Luis Carlos. Bacterias anaerobias del suelo responsables de la muerte súbita bovina en sabanas tropicales: investigaciones realizadas en Colombia. *Revista Corpoica – Ciencia y Tecnología Agropecuaria*. 2008; 9(1):102-112
- Ozo Todo, Takatsugu Goto, Kazuaki Miyamoto, Shigeru Akimoto. Physical and genetic map of the *Finergoldia magna* (formerly *Peptostreptococcus magnus*) ATCC 29328 genome. *FEMS Microbiology Letters*. 2002; 210(1): 33-37
- P.E. Kolenbrander N.S. Jakubovics G. Bachrach. *Oral Microbiology Encyclopedia of Microbiology (Third Edition)*. 2009: 566-588.
- Padilla C, Lobos O, Hubert E, Gonzalez C, Matus S, Pereira M, et al. Periodontal pathogens in atheromatous plaques isolated from patients with chronic periodontitis. *J Periodontal Res*. 2006;41(4):350-3
- Park S, Yasin M, Jeong J, Cha M, Kang H, Jang N, Choi IG, Chang IS. Acetate-assisted increase of butyrate production by *Eubacterium limosum* KIST612 during carbon monoxide fermentation. *Bioresour Technol*. 2017; 245(Pt A):560-566.
- Park Y, Choi J, Yong D, Lee K, Kim J. “Clinical features and prognostic factors of anaerobic infections: a 7-year retrospective study”. *Korean J Intern Med*. 2009; 24: 13-
18. Patrick R Murray. *Microbiología Médica Básica*. Student Consult. 1a 2018. Elsevier.

- Pilmis B, Israel J, Le Monnier A, Mizrahi A. Spondylodiscitis due to anaerobic bacteria about a case of *Parvimonas micra* infection. *Anaerobe*. 2015; 34:156-157.
- Piwowarek, Kamil; Lipińska, Edyta; Hać-Szymańczuk, Elżbieta; Kieliszek, Marek; Ścibisz, Iwona. *Propionibacterium* spp. — source of propionic acid, vitamin B12, and other metabolites important for the industry. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 2018; 102(2): 515-538.
- Polanco, Nina, Manzi, Lorna, Carmona, Oswaldo, Posible papel de *Bacteroides fragilis* enterotoxigénico en la etiología de la vaginitis infecciosa. *Investigación Clínica*. 2012; 53(1):28- 37.
- Purushe J, Fouts D, Nelson K, et. al. Comparative Genome Analysis of *Prevotella ruminicola* and *Prevotella bryantii*: Insights into Their Environmental Niche. *Microbial Ecology*. 2010; 6 (4):721-729.
- Pussinen PJ, Jousilahti P, Alfthan G, Palosuo T, Asikainen S, Salomaa V. Antibodies to Periodontal Pathogens Are Associated With Coronary Heart Disease. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*. 2003; 23(7): 1250-1254
- R G Fisher and M R Denison. *Veillonella parvula* bacteremia without an underlying source. *J Clin Microbiol*. 1996; 34(12): 3235–3236.
- Rabah H, Ferret-Bernard S, Huang S, Le Normand L, Cousin FJ, Gaucher F, Jeantet R, Boudry G, Jan G. The Cheese Matrix Modulates the Immunomodulatory Properties of *Propionibacterium freudenreichii* CIRM-BIA 129 in Healthy Piglets. *Front Microbiol*. 2018; 29(9):2584.
- Randis T y Ratner A. *Gardnerella* and *Prevotella*: Co-conspirators in the Pathogenesis of Bacterial Vaginosis. *The Journal of Infectious Diseases*. 2019; 220(7):1085-1088

- Rautio M, Lönnroth M, Saxén H, Nikku R, Väisänen ML, Finegold SM. et al. Characteristics of an unusual anaerobic pigmented gram-negative rod isolated from normal and inflamed appendices. *Clin Infect Dis*.1997; 25(2):107–110.
- Merja Rautio 1, Erkki Eerola, Marja-Liisa Väisänen-Tunkelrott, Denise Molitoris, Paul Lawson, Matthew D Collins, Hannele Jousimies-Somer. Reclassification of *Bacteroides putredinis* (Weinberg et al, 1937) in a new genus *Alistipes* gen. nov., as *Alistipes putredinis* comb. nov., and description of *Alistipes finegoldii* sp. nov., from human sources. *Syst Appl Microbiol*. 2003; 26(2):182-8
- Rocio Crespo, Monique Franca, H. L. Shivaprasad “Ulcerative Enteritis-like Disease Associated with *Clostridium sordellii* in Quail,” *Avian Diseases*. 2013; 57(3), 698-702
- Rodríguez-Pardo D, Mirelis B, Navarro F. “Infecciones producidas por *Clostridium difficile*”. *Enferm infect microbiol Clin* 2013; 31: 254 -63.
- Rosso F., Hormaza M, Cedano J., Mora B., García A. Ileostomía y lavado colónico anterógrado con Vancomicina en el manejo de infección por *Clostridium difficile*. *Rev. Infectio*. 2019; 23(1):52-54
- Rodríguez-Pardo D, Mirelis B, Navarro F. “Infecciones producidas por *Clostridium difficile*”. *Enferm infect microbiol Clin* 2013; 31: 254 -63.
- Rosso F., Hormaza M, Cedano J., Mora B., García A. Ileostomía y lavado colónico anterógrado con Vancomicina en el manejo de infección por *Clostridium difficile*. *Rev. Infectio*. 2019; 23(1):52-54
- S.K. Shukla, P.R. Meier, P.D. Mitchell, D.N. Frank, K.D. Reed. *Leptotrichia amnionii* sp. nov., a novel bacterium

- isolated from the amniotic fluid of a woman after intrauterine fetal demise. *J Clin Microbiol.* 2002; 40(9): 3346–3349.
- Sakamoto M, Ohkuma M. *Porphyromonas crevioricanis* is an earlier heterotypic synonym of *Porphyromonas canis* and has priority. *Int J Syst Evol Microbiol.* 2013; 63:454-7.
- Sakamoto, M; Benno, Y (July 2006). "Reclassification of *Bacteroides distasonis*, *Bacteroides goldsteinii* and *Bacteroides merdae* as *Parabacteroides distasonis* gen. nov., comb. nov., *Parabacteroides goldsteinii* comb. nov. and *Parabacteroides merdae* comb. nov". *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology.* 2006; 56(7): 1599–605.
- Sánchez-Pérez M, Muñoz-Juárez M, Luque-de León E, et al. "Toxic megacolon secondary to *Clostridium difficile* colitis. Case report." *Rev Gastroenterol Mex* 2010; 75: 103-106.
- Sandlund J, Glimåker M, Svahn A, Brauner A. Bacteraemia caused by *Actinobaculum schaalii*: ¿An overlooked pathogen? *Scand J Infect Dis.* 2014; 46(8):605-8.
- Scannapieco FA, Rethman MP. The relationship between periodontal diseases and respiratory. *DentToday.* 2003; 22(8):79-83.
- Schink B. Energetics of syntrophic cooperation in methanogenic degradation. *Microbiology and molecular biology reviews* [revista en internet] * 1997; 61 (2). Disponible en: <http://mmbr.asm.org/content/61/2/262>.
- Schoberth SM. Biomethane, production and uses. En John Wiley & Sons. *The microbiology of anaerobic digestion.* London: Turret-Weatland; 2003:61-78.
- Scholz, Christian F. P.; Kilian, Mogens. The natural history of cutaneous propionibacteria, and reclassification of

- selected species within the genus *Propionibacterium* to the proposed novel genera *Acidipropionibacterium* gen. nov., *Cutibacterium* gen. nov. and *Pseudopropionibacterium* gen. nov. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*. 2016. 66 (11): 4422-4432.
- Schrimsher JM, McGuirk JP, Hinthorn DR. *Leptotrichia trevisanii* sepsis after bone marrowtransplantation. *Emerg Infect Dis*. 2013; 19:1690- 1691.
- Sekot G, Posh G, Messner P, Matejka M, Rausch-Fan X, Andrukhov O. et al. Potential of the *Tannerellaforssythia* S-layer to Delay the Immune Response. *J dent Res*. 2011; 90(1):109-114.
- Sheridan PO, Martin JC, Scott KP. Conjugation Protocol Optimised for *Roseburia inulinivorans* and *Eubacterium rectale*. *Bio Protoc*. 2020;10(7): e3575.
- Shtaya A, Schuster H, Riley P, Harris K, Hettige S. Oesophageal pleural fistula presenting with *Parvimonas micra* infection causing cervical and brain abscesses. *Anaerobe*. 2017; 47:233-237.
- Simón Pedro Lubián-López, Fátima Galán-Sánchez, Manuel Rodríguez-Iglesias, Isabel Benavente- Fernández. Empiema intraventricular piogénico por *Veillonella parvula* en un recién nacido prematuro. *Cartas científicas/ Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2017; 35(8):539–542
- Srivastava I, Aldape MJ, Bryant AE, Stevens DL. Spontaneous *C. septicum* gas gangrene: A literaturereview. *Anaerobe*. 2017; 48:165-171.
- Stefanie P. Glaesera, Swapnil Doijadb, Muaz Hijazinc, Trinad Chakrabortyb, Enevold Fals, Val Halle, PeterKämpfer. *Varibaculum anthrophi* sp. nov. represented by three genetically different genomovars isolatedfrom clinical material and emended description of the genus

- Varibaculum. Systematic and Applied Microbiology. 2016;39(8): 546-552.
- Struthers, Keith. Microbiología Clínica. 1a 2018. Manual Moderno.
- Takakura T, Anani H, Fadlane A, Fontanini A, Raoult D, Bou Khalil JY. Acidaminococcus provencensis sp. nov., a new bacterium isolated from a fresh human stool specimen. New Microbes New Infect. 2019; 14, 31:100573.
- Thaiss CA, Levy M, Suez J, Elinav E. The interplay between the innate immune system and themicrobiota. Curr Opin Immunol. 2014; 26:41-8.
- Thierry A, Deutsch SM, Falentin H, Dalmasso M, Cousin FJ, Jan G. New insights into physiology andmetabolism of Propionibacterium freudenreichii. Int J Food Microbiol. 2011; 149(1):19-27.
- Tijerina-Rodríguez L, Villarreal-Treviño L, Baines SD, Morfín-Otero R, Camacho-Ortíz A, Flores- Treviño S, Maldonado-Garza H, Rodríguez-Noriega E, Garza-González E. High sporulation and overexpression of virulence factors in biofilms and reduced susceptibility to vancomycin and linezolid in recurrent Clostridium [Clostridioides] difficile infection isolates. PLoS One. 2019; 31;14(7): e0220671.
- Tsai CC, Chen HS, Chen SL, Ho YP, Ho KY, Wu YM, Hung CC. Lipid peroxidation: a possible role in the induction and progression of chronic periodontitis. Journal of periodontal research. 2005; 40 (5): 378-384.
- Tong X, Su F, Xu X, Xu H, Yang T, Xu Q, Dai H, Huang K, Zou L, Zhang W, Pei S, Xiao F, Li Y, Wang C. Alterations to the Lung Microbiome in Idiopathic Pulmonary Fibrosis Patients. Front Cell Infect Microbiol. 2019; 9:149.
- Ulger N, Rajendram D, Yagci A, Gharbia S, Shah H, Golluoglu B, Levhi A., Dermikalem P, Celenk T, Soyletir G.

- The distribution of the bft alleles among enterotoxigenic *Bacteroides fragilis* strains from stoolspecimens and extraintestinal sites. *Anaerobe* 2006; 12: 1271-1274.
- Vaidya JD, Hornung BVH, Smidt H, Edwards JE, Plugge CM. *Propionibacterium ruminifibrarum* sp. nov., isolated from cow rumen fibrous content. *Int J Syst Evol Microbiol.* 2019; 69(8):2584- 2590.
- Veith PD, Chen YY, Gorasia DG, Chen D, Glew MD, O'Brien-Simpson NM, et al. Porphyromonas gingivalis outer membrane vesicles exclusively contain outer membrane and periplasmic proteins and carry a cargo enriched with virulence factors. *J Proteome Res.* 2014; 13(5):2420- 32.
- Verma R, Morrad S, Wirtz JJ. Peptoniphilus asaccharolyticus-associated septic arthritis and osteomyelitis in a woman with osteoarthritis and diabetes mellitus. *BMJ Case Rep.* 2017; (2): bcr2017219969.
- Vesth, T., Ozen, A., Andersen, S. C., Kaas, R. S., Lukjancenko, O., Bohlin, J., et al. Veillonella, firmicutes: microbes disguised as Gram negatives. *Stand. Genom. Sci.* 2013; 9: 431–448.
- Villamil C lago, Villar del C Alberto, Masa V Luis A. Absceso cutáneo por Gemella morbillorum. *Rev. chil.infectol.* [Internet]. 2009; 26(5): 464-465.
- Von Graevenitz A, Zbinden R, Mutters R. Actinobacillus, Capnocytophaga, Eikenella, Kingella, Pasteurella, and other fastidious or rarely encountered gram-negative rods. En: Murray RP, Baron EJ, Jorgensen JH, Pfaller MA, Tenover FC, Tenover FC (eds). *Manual of clinical microbiology*, 8ª ed. ASM Press; Washington, 2003: 612- 614.
- Vuotto C, Donelli G, Buckley A, Chilton C. Clostridium difficile Biofilm. *Adv Exp Med Biol.* 2018; 1050:97-115.

- W. E. Morris, M. E. Fernández-Miyakawa. Toxinas de *Clostridium perfringens*. Revista Argentina de Microbiología. 2009; 41: 251-260
- W Tee, P Midolo, P H Janssen, T Kerr, M L Dyal-Smith. Bacteremia due to *Leptotrichia trevisanii* sp. nov. Eur J Clin Microbiol Infect Dis. 2001;20(11):765-769.
- Wang K, Liao M, Zhou N, Bao L, Ma K, Zheng Z, Wang Y, Liu C, Wang W, Wang J, Liu SJ, Liu H. Parabacteroides distasonis Alleviates Obesity and Metabolic Dysfunctions via Production of Succinate and Secondary Bile Acids. Cell Rep. 2019; 2;26(1):222-235
- Wang, S., Zhang, B., Li, T., Li, Z., and Fu, J. Soil vanadium(V)-reducing related bacteria drive community response to vanadium pollution from a smelting plant over multiple gradients. Environ. Intern. 2020; 138:105630.
- Watanabe T, Hara Y, Yoshimi Y, Fujita Y, Yokoe M, Noguchi Y. Clinical characteristics of bloodstream infection by *Parvimonas micra*: retrospective case series and literature review. BMC Infect Dis. 2020; 5;20(1):578.
- Werner H, Rintelen G, Kunstek-Santos H. Eine neue buttersäurebildende Bacteroides-Art: *B. splanchnicus* n. sp [A new butyric acid-producing bacteroides species: *B. splanchnicus* n. sp. (author's transl)]. Zentralbl Bakteriolog Orig A. 1975; 231(1-3):133-144.
- Wexler HM. Bacteroides: the good, the bad, and the nitty-gritty. Clin Microbiol Rev. 2007; 20(4):593-621.
- Wu J, Lin X, Xie H. Porphyromonas gingivalis short fimbriae are regulated by a FimS/FimR two-component system. FEMS microbiology letters. 2007;271(2):214-221.
- Xiaohang Long, Tong Li, Jun Yu. Functional Investigation of a Novel Oncogenic Bacterium *Peptostreptococcus anaerobius* in Colorectal Carcinogenesis. Gastroenterology. 2018; 154(6),1:40 – 41

- Y. Song, E. Könönen, M. Rautio, C. Liu, A. Bryk, E. Eerola, et al. *Alistipes onderdonkii* sp. nov. and *Alistipes shahii* sp. nov., of human origin. *Int J Syst Evol Microbiol.* 2006; 56:1985-1990
- Yost S, Duran-Pinedo A. The contribution of *Tannerella forsythia* dipeptidyl aminopeptidase IV in the breakdown of collagen. *Mol Oral Microbiol.* 2018; 33(6):407-419.
- Yuan Kun L. *Microbial Biotechnology: principles and Applications*. Second edition. London. World Scientific Publishing Co. Pte. Ltd; 2006.
- Yun-Juan Chang, Rüdiger Pukall, Elizabeth Saunders, Alla Lapidus, Alex Copeland, Matt Nolan, Tijana Glavina Del Rio, Susan Lucas, Feng Chen, Hope Tice, Jan-Fang Cheng, Cliff Han, John C. Detter, David Bruce, Lynne Goodwin, Sam Pitluck, Natalia Mikhailova, Konstantinos Liolios, Amrita Pati, Natalia Ivanova, Konstantinos Mavromatis, Amy Chen, Krishna Palaniappan, Miriam Land, Loren Hauser, Cynthia D. Jeffries, Thomas Brettin, Manfred Rohde, Markus Göker, James Bristow, Jonathan A. Eisen, Victor Markowitz, Philip Hugenholtz, Nikos C. Kyrpides, and Hans-Peter Klenk. Complete genome sequence of *Acidaminococcus fermentans* type strain (VR4T). *Stand Genomic Sci.* 2010; 30; 3(1): 1–14.
- Zermeño N José de Jesús, Flores A Clara del Carmen, Saldívar R Donato, Soria L Juan Antonio, Garza R Miriam, Iglesias B José Luis. Enfermedad periodontal como factor de riesgo para presentar resultados perinatales adversos. *Rev. chil. obstet. ginecol.* 2011; 76(5): 338-343.
- Zhang Y, Sun K, Li Z, Chai X, Fu X, Kholodkevich S, Kuznetsova T, Chen C, Ren N. Effects of acute diclofenac exposure on intestinal histology, antioxidant defense,

and microbiota in freshwater crayfish (*Procambarus clarkii*). *Chemosphere*. 2021; 63:128130.

Zhao Y, Cai B, Zhu W, Shi J, Wang Y, Si M. IL-1 Receptor Antagonist Protects the Osteogenesis Capability of Gingival-Derived Stem/Progenitor Cells under Inflammatory Microenvironment Induced by *Porphyromonas gingivalis* Lipopolysaccharides. *Stem Cells Int*. 2021 Jan 16; 2021:6638575.

Zhou, P., Xie, G., Li, X., Liu, J., and Qi, F. Complete genome sequence of *Veillonella atypica* OK5, the first transformable strain in the species. *Genome Announc*. 2017. 5: e00391-17.

Capítulo IV

Requerimientos nutricionales, aislamiento y métodos de identificación

Resumen

La naturaleza exigente de las bacterias anaerobias, especialmente de las especies menos aerotolerantes, obliga a utilizar técnicas particulares de recolección de muestras, transporte y aislamiento para los profesionales de la salud con el objetivo de realizar un diagnóstico eficiente, ya que no cumplir con los requisitos establecidos, provocan una identificación equivocada de las bacterias anaerobias en la práctica clínica y una infravaloración de su potencial etiopatogénico, entre las infecciones polimicrobianas comunes.

Teniendo en cuenta que estas bacterias están presentes en gran número en prácticamente toda la superficie cutaneomucosa, muchas veces es difícil evitar la contaminación en la toma de las muestras con los microorganismos aerobios también presentes allí. De tal forma que, del procedimiento utilizado para la toma de la muestra, su transporte y siembra en los medios adecuados, depende la identificación del agente implicado en el proceso infeccioso y, por ende, de la elección del tratamiento más apropiado.

Por lo anterior, es que se debe tener claridad sobre cuáles son las muestras útiles para el aislamiento e identificación de bacterias anaerobias, las técnicas de recolección adecuadas, los tiempos para el transporte y la siembra que no comprometan la viabilidad del agente infeccioso, los medios de cultivo y técnicas de procesamiento en el laboratorio.

En este capítulo, se presentan las temáticas relacionadas con los requerimientos nutricionales de las bacterias anaerobias, las atmósferas, tiempos y temperaturas de incubación, los medios de cultivo adecuados para su recuperación,

algunos aspectos microscópicos, macroscópicos y bioquímicos para su identificación, así como nuevas técnicas de las cuales se dispone en el laboratorio para este fin.

Introducción

Las bacterias son organismos que podemos encontrar en diferentes lugares del planeta, llámense extremos o no y en los ambientes naturales; con frecuencia se encuentran formando poblaciones en asocio con otras u otros microorganismos, así que para identificarlas es necesario aislarlas y obtenerlas en cultivos puros, ya que de otra manera es muy difícil caracterizarlas.

La obtención de un cultivo puro conlleva, además, el mantenimiento del linaje de la cepa y en este sentido es importante conocer el metabolismo de la bacteria en estudio para determinar cuál o cuáles son los medios de cultivo apropiados, si requiere o no la adición de nutrientes y sus condiciones de incubación, entre otras. Con lo anterior queda claro que en el laboratorio de microbiología es fundamental contar con diferentes clases de medios, los cuales deben ser apropiados para el aislamiento de diferentes tipos de bacterias, la aplicación de métodos y protocolos estandarizados que permita la identificación de las bacterias que se sospechan están generando procesos infecciosos; su identificación, además de conocer sus implicaciones patogénicas y patológicas, le facilitará al médico tratante prever la evolución clínica del paciente y suministrar una terapia antibiótica eficaz.

Habitualmente en el laboratorio de microbiología se utilizan diferentes técnicas para la identificación de bacterias. De estas, las fenotípicas, en la mayoría de casos y, en relación con bacterias comunes y frecuentemente aisladas, permiten la identificación. Pero no es el caso en la identificación de algunos microorganismos que demandan mayor exigencia en nutrientes y /o condiciones para su desarrollo. Por esto

en el avance propio de la ciencia y la tecnología encontramos que los métodos moleculares ayudan a superar estas restricciones.

El éxito en la identificación del agente infeccioso depende de varios factores, comenzando con la selección de la muestra; para el aislamiento de bacterias anaerobias encontramos, entre otras: exudado faríngeo, nasofaríngeo o bucal, expectoración, secreciones obtenidas por aspiración, cepillado o lavado bronquial (salvo el obtenido por catéter de doble luz), contenido gástrico e intestinal (salvo excepciones), materias fecales (salvo para la búsqueda de *C. difficile*), exudado rectal orina obtenida por sonda o espontáneamente, exudados vaginales y cervicales, exudado uretral, o expectoración no son las adecuadas.

Como segundo factor importante tenemos la recolección o toma de la muestra, en la cual, como norma general se debe evitar siempre cualquier tipo de contaminación con la flora normal. Entre las muestras que se consideran apropiadas para el cultivo de bacterias anaerobias están: bilis, sangre, médula ósea, líquido cefalorraquídeo, otros fluidos de sitios normalmente estériles como líquido articular, líquido de ascitis, orina obtenida por punción suprapúbica, tejidos obtenidos por biopsia o autopsia, líquido pleural obtenido por toracocentesis, lavado bronquial obtenido con cepillo protegido, aspirado transtraqueal, punción pulmonar transparietal (PPTP), aspiración con aguja en abscesos cerrados y contenido uterino colectado con cepillo protegido.

El tercer factor decisivo para el éxito en el aislamiento de bacterias anaerobias se relaciona con el transporte, el cual debe cumplir con todos los requisitos relacionados tanto con la naturaleza de la muestra como con el o los microorganismos que se están sospechando y se requiere identificar. En este paso, si es una bacteria anaerobia el interés, se debe proteger de los efectos nocivos del oxígeno atmosférico durante el tiempo que ocurre desde la toma y la siembra de la

muestra en los medios de cultivo, por lo que se debe enviar siempre en un sistema de transporte que asegure la anaerobiosis, los cuales generalmente incorporan indicadores para mayor seguridad.

El cuarto factor, se refiere a la siembra y la incubación; en este paso es importante conocer la composición de los diferentes medios de cultivo disponibles, su uso y especificidades. Luego de sembrar la muestra en el medio seleccionado, se debe realizar la incubación en jarras anaeróbicas, bolsas de anaerobiosis y la cámara de anaerobiosis o “cámara de guantes”, con la adición si es necesario de sobres generadores de anaerobiosis, además de considerar el tiempo y la temperatura adecuadas.

Para su identificación, uno de los métodos comunes son las Placas Presumpto y/o el uso de una batería de pruebas bioquímicas que incluyen medios prerreducidos como: glucosa, lactosa, sacarosa, manitol, manosa, xilosa, L-arabinosa, trehalosa glicerol, ramnosa, salicina, almidón, indol, nitratos, motilidad, gelatina, esculina, urea y leche, entre otros.

Existen en el mercado también microsistemas listos para usar como el API- 20 A de BioMerieux, Crystal para anaerobios de BBL, Vitek o Minitek de Becton Dickinson. Estos sistemas usan una batería de sustratos cromogénicos para la detección de glucosidasas y aminopeptidasas, entre otras enzimas.

Y como se mencionó anteriormente también se cuenta con algunas técnicas moleculares y nuevas tecnologías como: hibridación de sonda de ácido nucleico, amplificación de ácidos nucleicos, tipificación molecular, microarrays y espectrometría de masas.

La limitación para el uso de estas nuevas técnicas se debe al hecho de que tienen un costo más elevado, así como equipos y personal especializado para su aplicación, aspectos que se prevé a futuro sean superados, pues brindan resultados

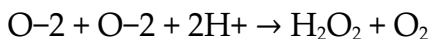
más rápidos y eficaces en la identificación microbiana, sobre todo para aquellos agentes infecciosos de difícil recuperación e identificación.

Fisiología y condiciones de crecimiento para las bacterias anaerobias

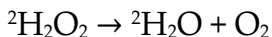
Como se mencionó en el primer capítulo, las bacterias anaerobias no crecen en presencia de oxígeno y son destruidas por éste o por radicales de oxígeno, los cuales le son tóxicos, sin embargo, hay que considerar aquellas que ya sintetizan cantidades de enzimas que degradan los radicales oxidantes y les permiten resistir pequeños porcentajes de oxígeno del ambiente y por tiempos determinados. El pH y el potencial de oxidación y reducción (Eh), también son importantes para establecer las condiciones que favorecen el crecimiento de los anaerobios; en cuanto a esta última característica, un Eh bajo o negativo favorece su multiplicación y el Eh alto lo inhibe.

Algunos anaerobios y sobre todo anaerobios facultativos cuentan con sistemas metabólicos de tipo enzimático, los cuales les permiten desintoxicarse de los efectos del oxígeno, que, aunque ya fueron mencionados y descritos anteriormente, es importante recordar para contextualizar los conceptos que se desarrollan en este capítulo:

1. Superóxido dismutasa (SOD), cataliza la siguiente reacción:



2. Catalasa, cataliza la siguiente reacción:



Los anaerobios más fáciles de recuperar en el laboratorio a partir de muestras clínicas, pueden sintetizar bajas concentraciones de SOD y tener o no catalasa. Por ejemplo, la mayoría de *Bacteroides fragilis* producen cantidades pequeñas

de catalasa y SOD, lo cual les permite contrarrestar los efectos negativos de los radicales de oxígeno y del peróxido de hidrógeno.

Los anaerobios estrictos por lo general carecen de SOD y catalasa y son susceptibles a los efectos letales del oxígeno, características que limitan su aislamiento a partir de infecciones humanas, si no se consideran todos los aspectos importantes para su aislamiento, por lo cual generalmente los que se identifican son los anaerobios moderados o / y anaerobios facultativos.

De igual forma es importante mencionar que puede presentarse variación entre cepas de una misma especie, es el caso de *Prevotella melaninogenica*, en donde algunas pueden crecer a concentraciones de O₂ del 0.1% pero no del 1% y otras lo pueden hacer a concentraciones del 2% pero no del 4%. Sin embargo, algunas bacterias anaerobias pueden crecer a un Eh más positivo, ante la falta de oxígeno.

Teniendo en cuenta que estas bacterias están presentes en prácticamente todas las superficies cutaneomucosas es difícil muchas veces evitar la contaminación de las muestras con los microorganismos aerobios que también se encuentran allí. Considerando lo anterior, del procedimiento utilizado para la toma de la muestra, su transporte y siembra en los medios adecuados, depende la identificación del agente implicado en el proceso infeccioso, resultado que incide en la elección del tratamiento correcto.

En la toma de la muestra es necesario conocer con claridad cuáles de ellas son las apropiadas si se requiere hacer el aislamiento e identificación de bacterias anaerobias; teniendo en cuenta las anteriores consideraciones y tal como se mencionó, muestras como: exudado faríngeo, nasofaríngeo o bucal, expectoración, secreciones obtenidas por aspiración, cepillado o lavado bronquial (salvo el obtenido por catéter de doble luz), contenido gástrico e intestinal (salvo excepciones), materias fecales (salvo para la búsqueda de C.

difficile), exudado rectal, orina obtenida por sonda o por emisión espontánea, exudados vaginales y cervicales, exudado uretral, o expectoración, no se consideran adecuadas para realizar siembra en condiciones de anaerobiosis. Las muestras más apropiadas para el cultivo de anaerobios son: bilis, sangre, médula ósea, líquido cefalorraquídeo, otros fluidos de sitios normalmente estériles como líquido articular, líquido de ascitis, orina obtenida por punción suprapúbica, tejidos obtenidos por biopsia o autopsia, líquido pleural obtenido por toracocentesis, lavado bronquial obtenido con cepillo protegido, aspirado transtraqueal, punción pulmonar transparietal (PPTP), aspiración con aguja en abscesos cerrados y contenido uterino colectado con cepillo protegido.

Tabla 4.1. Muestras adecuadas para el aislamiento de bacterias anaerobias

MUESTRAS QUE PUEDEN CONTENER MICROORGANISMOS ANAEROBIOS	
Muestra	Método de obtención
Orina	punción suprapúbica
Materia fecal y detección de toxinas	deposición espontánea
Sangre y médula ósea	punción con jeringa y aguja
Líquidos corporales (LCR, ascítico, pleural, pericárdico, sinovial, bilis)	Punción
Cabeza y cuello	aspiración, biopsia
Tracto respiratorio superior	aspiración percutánea o por rinoscopia y material quirúrgico de los senos.
Tracto respiratorio inferior	aspiración traslaríngea, toracocentesis, broncoscopia, catéter telescopado protegido, o lavado broncoalveolar
Oído	timpanocentesis
Ojo	aspiración intraocular
Cavidad oral y dientes	conos o puntas de papel, punciones, biopsias

Aparato genital femenino y masculino	hisopos, cepillos, cirugía, culdocentesis aspiración en absceso Bartholino, aspiración endometrial protegida y DIUs
Abscesos	punción
Piel y heridas abiertas	quirúrgicamente por aspiración percutánea o hisopo de la base de la lesión.
Articulaciones y hueso	aspiración, cirugía, biopsia
Otros como muestras de cirugía, quemaduras	corte, debridación, curetaje
CASOS PARTICULARES	
Intoxicación alimentaria por <i>C. perfringens</i>	alimento sospechoso para recuento e identificación de la toxina y la bacteria
Botulismo	alimento sospechoso para identificación de la toxina y la bacteria, suero para detección de las toxinas (no suele ser positiva en el lactante), contenido gástrico y vómitos para detección de las toxinas, heces para detección de toxinas y bacteria, material de heridas para cultivo, muestras ambientales y torundas nasales en caso de bioterrorismo
Tétano	material de la posible puerta de entrada

Casos particulares

Intoxicación alimentaria por *C. perfringens*, alimento sospechoso para recuento e identificación de la toxina y la bacteria.

Botulismo, alimento sospechoso para identificación de la toxina y la bacteria, suero para detección de las toxinas (no suele ser positiva en el lactante), contenido gástrico y vómitos para detección de las toxinas, heces para detección de toxinas y bacteria, material de heridas para cultivo, muestras ambientales y torundas nasales en caso de bioterrorismo

Tétano, material de la posible puerta de entrada.

Para evitar la contaminación con flora normal en piel y mucosas se requiere realizar un proceso de descontaminación. Para toma de hemocultivo la zona de punción debe prepararse: limpiar con agua y jabón, remover todos los residuos de jabón con alcohol etílico al 70 o 90%, luego aplicar solución yodada, de nuevo remover el exceso con alcohol etílico al 70 o 90%. En este momento el área para la toma de la muestra está lista y no debe tener contacto con nada hasta el momento de la punción, la cual debe realizarse inmediatamente, para evitar contaminación cruzada. Utilizar guantes quirúrgicos, tapabocas y demás implementos de protección biosegura, que eviten contaminar la muestra o de ésta a quien toma la muestra.

Otro factor crucial para el éxito en el aislamiento de estas bacterias es el transporte adecuado de la muestra; al respecto, se debe garantizar que la muestra no entre en contacto con el oxígeno atmosférico y evitar así, la oxidación y su muerte. Lo más adecuado para una recuperación efectiva de anaerobios es realizar el procedimiento de sembrado inmediatamente se tome la muestra o tomar la muestra y realizar el envío al laboratorio lo más rápido posible en un sistema de transporte que asegure un ambiente anaerobio.

Un medio que ofrece buenos resultados y es utilizado para recuperación de bacterias anaerobias en muestras orales es el *VMGA III (Viability Medium Göteborg Anaerobically III)*, el cual, por la consistencia de gel, mantiene un bajo potencial redox, incluso durante el transporte después de transferir una muestra al medio. *VMGA III* parece mantener las proporciones de población microbiana durante 24 horas y hasta 3 días. Este medio está compuesto por:

1. Solución Stock, que contiene: Acetato fenilmercurico 0.05 gramos en 300 mililitros de agua destilada Glicerofosfato de sodio 100 gramos en 200 mililitros de agua destilada Cloruro de calcio hexahidratado 1.6 gramos

Cloruro de potasio 4.2 gramos

Sulfato de magnesio heptahidratado

Agua destilada desionizada 300 mililitros Azul de metileno 3 gramos

2. Solución A que contiene: Triptosa 0.5 gramos, Tiotona 0.5 gramos

Agua destilada desionizada

3. Solución B que es Agar agar al 4% en 50 mililitros de agua.

4. Solución C: Gelatina 50 gramos y 300 mililitros de agua

5. Solución C: Ácido tioglicólico 0,5 mililitros

6. Solución D: Solución salina stock 100 mililitros

7. Solución F: Solución de cisteína 0,5 gramos en 10 mililitros de agua destilada-desionizada

Cuando se utiliza este medio las muestras se homogenizan mediante agitador vortex y dependiendo de la densidad bacteriana se realizan diluciones seriadas en base 10, con solución *VMG I*, las cuales son sembradas en los medios en volumen generalmente de 100 microlitros.

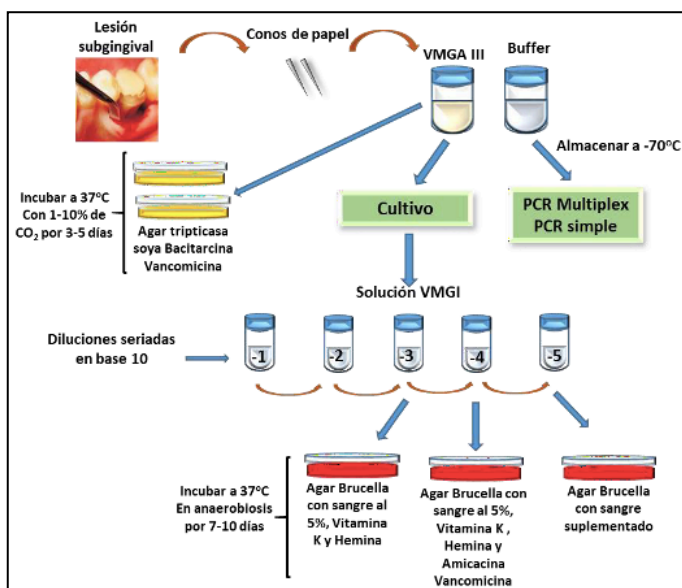


Figura 4.1. Toma de muestra de placa subgingival para estudio de anaerobios.
Fuente: Corrales, 2024

Un medio que sirve de transporte, siembra directa e incubación es AnaeroLin®. Este sistema se compone por un frasco –ampolla, sellado herméticamente mediante tapón de goma y banda de aluminio, el cual contiene un medio líquido con sustancias reductoras como tioglicolato y la L – cistina, para generar un mayor grado de reducción del medio y evitar procesos de oxidación.



Foto 4.1. Medio AnaeroLin. Tomado de: <https://docplayer.es/16620411-Toma-de-muestras-medios-de-transporte-medios-de-cultivo-y-pruebas-diferenciales.html>

El sistema AnaeroLin®, aporta además una jeringa de 1 mililitro de volumen para tomar la muestra y sembrarla en el medio, teniendo cuidado de que no entre oxígeno. Para introducir la muestra se requiere puncionar el tapón de goma, hasta atravesarlo e inyectar el material dentro del frasco. Posterior a ello se realiza la incubación directa del frasco, por un lapso de 1 a 3 días a 36°C; una vez se observe crecimiento, se extrae medio del frasco con una jeringa estéril, para obtener subcultivos y proceder a la identificación de los anaerobios aislados.

Otro sistema comercial para el transporte de muestras es mediante tubos, frascos y viales BD BBL™ Port-A-Cul™, que también contienen un medio de transporte reducido, lo cual permite mantener la viabilidad de microorganismos anaeróbicos, pero también en este sistema se pueden mantener y transportar los facultativos y aeróbicos.



Foto 4.2. Sistema BD BBL Port-A-Cul. Tomado de: <https://www.bd.com/en-us/offerings/capabilities/specimen-collection/swab-based-specimen-collection/bbl-port-a-cul-transport-systems>

Los tubos BD BBL Port-A-Cul™, se utilizan para muestras tomadas con hisopos, las cuales se introducen en un medio de retención sólido reducido. Por otro lado, los frascos de transporte BD BBL Port-A-Cul™ se emplean para el transporte de muestras de tejido y biopsia. Cuando se trata de muestras

de fluidos o secreciones, éstas se inyectan o siembran directamente sobre la superficie del agar. El agar inhibe la difusión de oxígeno, la reducción del medio se genera mediante la combinación del oxígeno libre, las sales y tampones, con los agentes reductores generándose un ambiente reducido y adecuado. La resazurina es el compuesto químico que indica la presencia de oxígeno, cuando se observa color de rosa y blanco cuando hay completa reducción.

En el caso de no contar con un medio de transporte adecuado, siempre y cuando el transporte de la muestra se realice de manera inmediata al laboratorio, se puede realizar en jeringa sin oxígeno y sin aguja, con el tapón ad hoc. Sin embargo, cuando se utilizan jeringas en la aspiración de pus en lo posible no deben utilizarse como transporte debido, no solo a la conservación de la atmósfera ya que el oxígeno se difunde a través del plástico, sino al riesgo de pinchazos, así como de expulsión accidental de su contenido. Una vez se obtiene la muestra por aspiración se debe expulsar el posible contenido de aire, tapando la aguja con una gasa estéril impregnada en alcohol para eliminar el riesgo de aerosoles, cambiar la aguja por otra estéril, desinfectar el tapón de goma y proceder a inocular el contenido en el medio de transporte para anaerobios o realizar la siembra en los medios de aislamiento primario para su respectiva incubación tanto en anaerobiosis como en CO₂.

En el caso de remitir al laboratorio para identificación colonias crecidas, las cajas de cultivo deben estar en bolsa o jarra de anaerobiosis, realizando verificación de la atmósfera con el indicador.

Lo que se busca mediante los medios de transporte es proteger las muestras del contacto con el aire y permitir que se conserven húmedas bajo una atmósfera anaeróbica; el agar es un componente que inhibe la difusión de oxígeno; los agentes reductores que contiene el medio se combinan con el oxígeno libre, las sales y tampones en general proporcionan

un entorno protector. El transporte se recomienda hacerlo a temperatura de 20 – 25°C, en un rango máximo de 72 horas o a temperatura ambiente hasta el momento de la siembra, pues hay que tener en cuenta que la refrigeración facilita y propicia la difusión del oxígeno al interior de la muestra.

Luego de sembrar la muestra en los medios de cultivo adecuados, la incubación en anaerobiosis se consigue por medio de: jarras anaeróbicas con generadores de anaerobiosis, bolsas con sistemas de anaerobiosis y cámara de anaerobiosis, este último método es costoso, ya que requiere unas condiciones y equipos más complejos.

Tabla 4.2. Características de las muestras relacionadas con infecciones anaerobias

CARACTERÍSTICAS DE LAS MUESTRAS	
Examen macroscópico	Examen microscópico
Localización	Tinción de Gram, en la que pueden observarse varios tipos morfológicos.
Olor fétido	Tinción de Gram, con un solo tipo morfológico
Presencia de pus y / o aspecto necrótico	Tinción de esporas
Presencia de gas y crepitancia	Tinción de cápsula
Presencia de gránulos de azufre	Presencia de células del sistema inmune

La información específica sobre el paciente y la muestra es muy importante para establecer comunicación eficiente entre el médico y el laboratorio, ya que, en casos de infecciones severas como gangrena gaseosa, meningitis, endocarditis o infecciones pleuropulmonares, entre otras, que pongan en peligro la vida del paciente, se amerita un reporte presuntivo o preliminar urgente, mientras se obtienen en el laboratorio un informe confirmatorio final.

Otro aspecto importante en el procesamiento de la muestra es la coloración de Gram, para realizar el examen microscópico presuntivo, ya que a partir de este se puede obtener información muy importante para la identificación

del microorganismo, así como para el manejo terapéutico del paciente. Esta coloración aporta datos iniciales como las características celulares, la cantidad y los morfotipos de los microorganismos presentes; que además orienta sobre los medios más adecuados para la recuperación del o los agentes patógenos. Además, sirve como control de calidad de los procedimientos, en tanto, si se observan morfotipos que no se recuperan en cultivo, es sugestivo de posibles fallas en alguno o varios de los procedimientos en cualquiera de las fases que implica el diagnóstico en el laboratorio; también puede ser a causa de una inhibición del crecimiento bacteriano por la acción residual de un antibiótico en el paciente.

El examen microscópico es especialmente útil para el manejo inmediato del paciente y hacer diagnóstico diferencial de patologías infecciosas similares, como es el caso de la mionecrosis y la celulitis severa, ya que la primera requiere de inmediato cirugía radical con amputación.

Como características diferenciales, la mionecrosis por *Clostridios* produce en la lesión fluido serosanguinolento, generalmente acompañado de gas en los tejidos; mientras que en las celulitis severas se observa en la lesión exudado purulento con abundante número de leucocitos, células que se encuentran muy rara vez en la gangrena.

En cuanto a los bacilos anaerobios Gram negativos, su morfología y afinidad varía de acuerdo con las especies. *Bacteroides*, por lo general, se observa con bacilos Gram negativos pleomórficos que se tiñen débilmente. Las formas coccobacilares son presuntivas de especies pigmentadas como *Prevotella* o *Porphyromonas*. Bacilos finos y fusiformes son indicativo de *Fusobacterium*, aunque especies microaerófilas de *Capnocytophaga* muestran también estas características.

Fusobacterium mortiferum y otros como *Fusobacterium ulcerans* y *Fusobacterium necrophorum* se presentan pleomórficos, con filamentos que contienen zonas hinchadas, o formas redondas y de tinción Gram positiva o irregular.

En cuanto a los cocos Gram negativos, son indicativos generalmente del género *Veillonella*. Los bacilos Gram positivos anaerobios se pueden observar también pleomórficos y pueden aparecer como Gram variables. Las esporas de *Clostridium* se observan con poca frecuencia en las tinciones directas de los exudados, pero bacilos Gram positivos gruesos, de forma rectangular y sin esporas es sugestivo de *Clostridium* y bacilos Gram positivos ramificados sugieren *Actinomyces* o *Propionibacterium*.

Regulación del metabolismo

Cada reacción metabólica en la bacteria está regulada en particular por la concentración de nutrientes que encuentra en el medio y por las enzimas que actúan sobre ellos, además de muchas otras reacciones. Esta regulación se realiza por medio de la síntesis de las enzimas y la actividad de cada una de ellas sobre los substratos. En la regulación de la actividad enzimática, se origina: activación de enzimas alostéricas, inhibición por retroalimentación, activación alostérica y cooperatividad; de otro lado, en la síntesis de enzimas ocurren la inducción enzimática y la represión, la cual se produce cuando se forman los productos finales, como mecanismos de regulación.

Las bacterias anaerobias facultativas como única vía de producción de energía utilizan la fermentación, la que es bloqueada en presencia de oxígeno, de tal forma que la provisión de energía se produce por su proceso respiratorio. En la respiración se consume menos glucosa y se genera menos lactato, fenómeno que se conoce como efecto Pasteur. En este la enzima fosfofructoquinasa es activada o inhibida según la relación entre el ATP y el ADP, y este mecanismo regula el consumo de glucosa.

El ejemplo clásico de regulación de la síntesis de enzimas lo constituye el operón lactosa (operón lac). En la utilización

de este azúcar intervienen tres enzimas: galactósido permeasa, β -galactosidasa y tiogalactósido transacetilasa, todas con un promotor único. En ausencia de lactosa, la transcripción de estas tres enzimas es bloqueada por un represor que se une al promotor inhibiendo la acción de la ARNpolimerasa. Cuando el medio de cultivo contiene o se le adiciona lactosa, este azúcar se une al represor y bloquea de este modo su unión al promotor, de tal forma que actúa la ARNpolimerasa y la síntesis de las tres enzimas que intervienen en su utilización.

El operón lac contiene los genes que codifican para la síntesis de la β -galactosidasa (Z), de la galactósido permeasa (Y), de la tiogalactósido transacetilasa (A), como se observa en la siguiente figura:

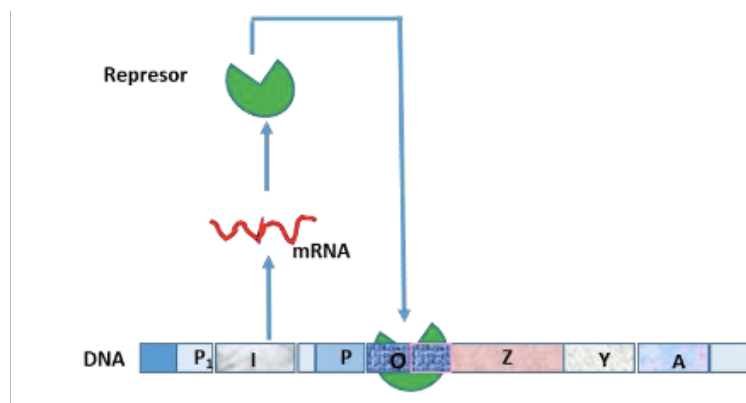


Figura 4.2. Operón de la lactosa. Imagen modificada de "Regulación génica procarionota, de OpenStax College, Biología (CC BY 4.0).

Cada uno de los genes está antecedido por señales de traducción que orientan la unión del ribosoma y la posterior síntesis proteica. En ausencia de lactosa en el medio, los genes del operón lac se reprimen, y sólo hay unas pocas copias de la enzima β -galactosidasa por célula. Cuando las células están en presencia de lactosa en su forma isomérica denominada alolactosa, el operón lac se induce. Una molécula

inductora se une a un sitio específico del represor, ocasionando un cambio conformacional que conlleva la separación del operador.

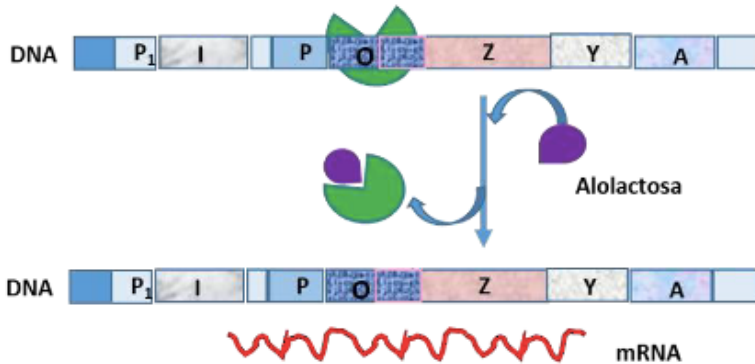


Figura 4.3. Inducción del operón de la lactosa. Imagen modificada de "Regulación génica procariota, de OpenStax College, Biología (CC BY 4.0).

Requerimientos nutricionales y medios de cultivo

Una de las técnicas más importantes y tradicionales en microbiología para la identificación de bacterias es observar su crecimiento en medios de cultivo, analizar sus características macroscópicas y la utilización de los diferentes compuestos (sustratos) que contienen en su elaboración y, en éstos, ver las diferentes características de las unidades formadoras de colonias (UFC), significativas para su clasificación e identificación.

El medio de cultivo artificial debe ofrecer algunos o muchos de los requerimientos nutricionales con los que el microorganismo cuenta en el sitio de la infección (líquidos y tejidos) para que se desarrolle adecuadamente; además, de las condiciones ambientales como temperatura, humedad y presión de oxígeno, así como una condición apropiada de acidez o alcalinidad y factores de crecimiento adicionales, si los necesita.

La naturaleza, el origen, las interacciones y el metabolismo del o los microorganismos condicionan el tipo y composición del medio de cultivo. La mayoría de las bacterias patógenas requieren medios de cultivo enriquecidos con infusión de extractos de carne y peptona a la que se le añaden otros componentes, como: hidratos de carbono, suero, sangre completa o hemolizada, bilis, aminoácidos, vitaminas y compuestos o sustancias químicas entre otros.

Los hidratos de carbono se agregan a los medios con varios objetivos. Uno de ellos es proporcionar mayor valor nutricional al medio; otro, es detectar la presencia de enzimas que permiten su fermentación, lo cual se hace visible macroscópicamente al adicionar indicadores de cambio de pH. Este y otros datos permiten la identificación presuntiva de la bacteria.

El suero y la sangre completa contienen muchos nutrientes y se añaden para facilitar y provocar el crecimiento de microorganismos con cierto grado de exigencia que se pueden inhibir en medios selectivos. También se les adicionan colorantes para inhibir el crecimiento de algunos y seleccionar el desarrollo de otros. Igualmente se adicionan indicadores para detectar cuándo suceden las reacciones enzimáticas, que se revelen por el cambio de pH.

Para solidificar los medios de cultivo se utilizan varias sustancias; el más común es el agar, este componente se licúa a la temperatura de la ebullición del agua y se solidifica a temperaturas por debajo de 40°C. Es un componente inactivo y no tiene efecto directo sobre el crecimiento de las bacterias porque no es utilizado en su metabolismo. La Gelatina es otro agente solidificante, menos empleado ya que algunas bacterias aerobias, anaerobias facultativas y anaerobias la licuan, por lo que se utiliza como prueba de identificación.

Cultivo

Un cultivo puro o axénico es en el que se ha aislado un solo tipo de bacteria y proviene de colonias aisladas con un tipo de morfología homogénea; también se denomina así a aquel que se obtiene de infecciones monobacterianas. Todas las bacterias que se desarrollan en un cultivo puro se originan del mismo linaje.

A partir de estudios sobre comunidades bacterianas, se infiere que en un cultivo puro las bacterias cuentan con condiciones poco naturales y que, por consiguiente, la fisiología de las bacterias en sus ambientes naturales puede tener diferencias con las que presentan en condiciones *in vitro*, destacándose el pleomorfismo, conocido como cambios en el tamaño, la forma y la presencia de estructuras, entre otros aspectos, lo que es importante en el proceso de identificación.

Nutrición bacteriana

Como nutrición se denomina al proceso por el cual los seres vivos toman del medio donde habitan las sustancias que necesitan para su desarrollo, estas sustancias se denominan nutrientes y se requieren para su catabolismo (mantenimiento) y su anabolismo (crecimiento). De igual forma las bacterias también realizan biosíntesis de nuevos compuestos celulares que demandan energía procedente de lo que ofrece el medio ambiente. En estos procesos también se producen compuestos que son necesarios para otros microorganismos y que favorecen el desarrollo de comunidades formadoras de biopelícula.

Las bacterias obtienen su energía de diferentes formas y se clasifican en: Quimiótrofas, a las que obtienen su energía a partir de sustancias orgánicas y, Fotótrofas, cuando obtienen su energía de la luz.

En relación con la ganancia energética, se clasifican en: Litótrofas, aquellas que necesitan sustancias inorgánicas como ácido sulfhídrico (H_2S), azufre elemental (S), amoníaco (NH_3), ion nitrito (NO_2^-), hierro (Fe), entre otros; y Organótrofas, las que necesitan compuestos orgánicos como hidratos de carbono, hidrocarburos, lípidos y proteínas, entre otros. A este último grupo pertenecen la mayoría de bacterias anaerobias asociadas a infecciones.

En cuanto a los procesos biosintéticos, estos le permiten suplir las necesidades de crecimiento a las bacterias y se clasifican en: por la utilización del carbono: se encuentran las *autótrofas* que sintetizan materiales orgánicos a partir de sustancias inorgánicas tales como el CO_2 . *Heterótrofas* para las cuales su fuente de carbono es orgánica (otros elementos distintos del carbono) y pueden ser captados en forma inorgánica, como el monosacárido Glucosa ($\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$). Y las *mixótrofas*, las que pueden cambiar de estadios autotróficos a heterotróficos y viceversa de acuerdo a las condiciones en que se encuentren y de lo que requieran para crecer.

De acuerdo con los requerimientos nutricionales las bacterias pueden ser: *auxótrofas*, cuando se comportan de manera exigente frente a algún requerimiento nutricional exógeno, generalmente por mutación genética y *protótrofas*, cuando no es exigente y son autosuficientes para obtener sus nutrientes.

Las bacterias reaccionan con muchos elementos químicos y de acuerdo con las cantidades en que requieran estos elementos se clasifican en macronutrientes como C, H, O, N, P, S, K, Mg y micronutrientes. Estos micronutrientes son oligoelementos o elementos traza, y algunos de los más importantes son Co, Cu, Zn y Mo, los cuales se encuentran combinados en la naturaleza, formando parte de otras sustancias tanto orgánicas, como inorgánicas. También algunos de estos nutrientes se utilizan para construir macromoléculas y estructuras celulares o para la producción de energía y otros pueden ser utilizados en las dos funciones. Las bacterias

heterótrofas, aunque no usan el CO_2 como fuente de carbono ni como aceptor de electrones, necesitan pequeñas cantidades para realizar reacciones de carboxilación en procesos anabólicos y catabólicos.

Los métodos utilizados para obtener un ambiente libre de oxígeno y promover el desarrollo de bacterias anaerobias son:

A.- Añadiendo al medio de cultivo un compuesto reductor, como tioglicolato de sodio, para disminuir la concentración de O_2 .

B.- Eliminando el O_2 mediante procedimientos mecánicos y reemplazándolo por N_2 o CO_2 .

C.- Con reacciones químicas dentro del recipiente que contiene el medio de cultivo para combinar el oxígeno libre con otros elementos o compuestos.

Medios de aislamiento primario

En el mercado existen varias marcas de medios liofilizados de muy buena calidad, a los cuales en algunos casos es necesario agregar elementos nutricionales, vitaminas, o antibióticos, entre otros. En general la preparación es similar, pero se deben seguir las instrucciones del fabricante para obtener un medio que cumpla con las características que requieren las bacterias y siempre realizar el control de calidad y esterilidad.

Para el aislamiento primario de bacterias anaerobias se dispone de medios de cultivo apropiados, como: Agar sangre Kanamicina-Vancomicina: es un medio de cultivo que contiene suplementos como el extracto de levadura, hemina, vitamina k y L- cistina, además de 100 miligramos/litro de Kanamicina y 7,5 miligramos/litro de vancomicina. Agar para anaerobios BREWER, compuesto por sustancias reductoras como el tioglicolato, sulfoxilato formaldehído, y cistina

para garantizar el desarrollo de anaerobios. Contiene un indicador de reducción que es el azul de metileno. Agar sangre Alcohol Feniletílico FEA suplementado con extracto de levadura, hemina, vitamina K, L-cistina y alcohol feniletílico. Y otros medios como Agar sangre con colistina, agar Brucella con sangre lacada y agar Shadler, entre otros, los cuales se describen a continuación.

Agar chocolate

Corresponde al grupo de medios enriquecidos, a este se le agregan factores V y X, los cuales favorecen el crecimiento de diversas bacterias patógenos de difícil crecimiento, así como de bacterias anaerobias facultativas. La hemoglobina suministra el factor X (hemina) y el calor libera el factor V (nicotinamida adenina dinucleótido NAD) El medio contiene también otros compuestos como: nutrientes nitrogenados proporcionados en la caseína y peptonas de carne, tampón de fosfato que facilita mantener el pH y almidón de maíz, que neutraliza los ácidos grasos tóxicos que puedan estar presentes en el medio. El enriquecimiento también está favorecido por la adición de vitaminas, aminoácidos, coenzimas, dextrosa, ion férrico y otros factores.

Composición

Formulación concentración/ litro

Hidrolizado pancreático de caseína 7,5 gramos, peptona de carne 7,5 gramos.

Fosfato dipotásico 4,0 gramos, fosfato monopotásico 1,0 gramos, almidón de maíz 1,0 gramos, cloruro de sodio 5,0 gramos.

Agar base 13,0 gramos, hemoglobina 10,0 gramos, complemento VX 10 mililitros, agua destilada c.s.p. 1000 mililitros.

Este medio siempre debe acompañar el kit o batería de medios específicos para anaerobios, ya que hay muchos que son moderados o facultativos que se desarrollan muy bien en atmósfera con 5 – 10 % de CO₂.

Agar sangre para anaerobios con L- cistina, hemina y vitamina K

Es un medio no selectivo, altamente nutritivo. Contiene 5% de sangre desfibrinada de carnero, la cual se agrega a una base de agar tripticasa – soja, con L – cistina 400 miligramos por litro, extracto de levadura 5 gramos por litro, vitamina K1, 10 miligramos por litro y hemina 5 miligramos por litro.

Agar sangre kanamicina – vancomicina (KV)

Tiene la misma función que el agar sangre para anaerobios, con la adición de 100 miligramos por litro de kanamicina y 7.5 miligramos por litro de vancomicina. La kanamicina cumple la función de inhibir el desarrollo de algunos bacilos Gram negativos tanto anaerobios, como facultativos y la vancomicina de inhibir las bacterias Gram positivas y algunas especies de *Porphyromonas*. Este medio es muy útil para el aislamiento selectivo de la mayoría de especies de *Bacteroides*, *Prevotella*, *Fusobacterium* y *Veillonella*, a partir de muestras que tienen flora acompañante o polimicrobianas.

Agar Columbia

Este es un medio que ofrece un alto contenido de compuestos nutritivos, característica que le permite el desarrollo y aislamiento de gran variedad de microorganismos, y es utilizado como base para la preparación de otros medios de cultivo. Cuando le es adicionada sangre, aumenta su valor nutricional, permite el crecimiento a microorganismos exigentes y visualizar el tipo de hemólisis, en caso de presentarla.

Este medio combina las bondades de la peptona, la tripteína, el extracto de levadura y el extracto de corazón para el aislamiento de microorganismos exigentes con la obtención de colonias eugónicas. También se puede utilizar con la adición de antibióticos como cicloserina y cefoxitina para el aislamiento de *Clostridium difficile*, en el cual sus colonias típicas dependen de la cepa, que por lo general son blancas y/o rodeadas de una zona clara. Si el medio se incuba en condiciones de aerobiosis pueden crecer otros microorganismos como la *E. coli*, *Staphylococcus aureus*, algunas especies de *Streptococcus*, entre otros.

Composición

Formulación concentración/ litro

Peptona de carne 5,0 gramos, tripteína 10,0 gramos.

Extracto de levadura 5,0 gramos, extracto de corazón 3,0 gramos, almidón de maíz 1,0 gramo, cloruro de sodio 5,0 gramos, agar 15,0 gramos.

Agua destilada c.s.p. 1000 mililitros.

Agar infusión cerebro corazón (BHI) para anaerobios

Es un medio no selectivo, altamente nutritivo, en el cual se desarrollan anaerobios y anaerobios facultativos.

Composición

Formulación concentración/ litro

Agar BHI 52 gramos-

Solución hemina (5 miligramos/mililitro) 1 mililitro solución vitamina K1 (1 miligramos/mililitro) 1 mililitro extracto de levadura 5 gramos.

Sangre lacada 50 mililitros.

Agua destilada c.s.p. 1000 mililitros.

Agar sangre Brucella

El medio de agar Brucella, contiene 5% de sangre de carnero, también se le añade vitamina K1 (10 miligramos/litro) y hemina (5 miligramos/litro). Es un medio no selectivo, en el que crecen tanto las bacterias anaerobias facultativas como las anaerobias obligadas.

Composición

Formulación concentración/ litro

Agar brucella 43 gramos, sangre lacada 50 mililitros.

Agua destilada c.s.p. 1000 mililitros.

A este medio también se pueden agregar antibióticos como ampicilina u otro aminoglucósido en una concentración de 50 microgramos por mililitro y esto le confiere la característica de ser selectivo. Al ser un antibiótico que inhibe la síntesis de proteínas es de amplio espectro e inhibe bacterias tanto Gram positivas como Gram negativas.

Agar sangre lacada con kanamicina y vancomicina (KVLB)

Medio selectivo, no diferencial, contiene como agentes inhibidores kanamicina, que inhibe algunos microorganismos Gram negativos aerobios, y la vancomicina a los Gram positivos en general y especies de *Porphyromonas*. Se utiliza para el aislamiento selectivo de anaerobios, fundamentalmente Gram negativos de muestras en las que hay microbiota aerobia y anaerobia mezcladas. Este medio es especialmente utilizado para seleccionar bacilos Gram negativos como el grupo de *Bacteroides fragilis* y especies de *Prevotella*. También pueden crecer algunas levaduras y anaerobios facultativos resistentes, por lo que se aconseja siempre realizar un extendido con tinción de Gram y un ensayo de aerotolerancia a todos los microorganismos aislados.

Agar bacteroides bilis esculina (ABBE)

Es un medio selectivo para *Bacteroides* del grupo *fragilis* y *Bilophilia* spp., se le agrega con frecuencia el antibiótico ampicacina en una concentración de 100 microgramos/mililitro, para inhibir el desarrollo de la mayoría de anaerobios facultativos; también contiene bilis en una concentración del 20%, compuesto que sólo permite el crecimiento de las especies mencionadas; y esculina que, al ser hidrolizada en presencia del citrato férrico, como indicador, vira el medio a color negro, lo cual se convierte en una característica presuntiva. Este medio facilita la detección de especies de *Bacteroides* del grupo *fragilis* al ser esculina positivos. A veces, pueden crecer otras especies, como *Fusobacterium mortiferum*, *Fusobacterium varium*, algunas especies de enterobacterias, *Pseudomonas aeruginosa*, enterococos y levaduras, entre otros, sin embargo, se diferencian de los *Bacteroides* del grupo *fragilis* por el tamaño de sus colonias, que generalmente es menor a 1 milímetro de diámetro.

Composición

Formulación concentración/ litro

Agar tripticasa de soja 40,0 gramos, bilis de buey 20,0 gramos.

Esculina 1,0 gramos.

Citrato amónico férrico 0,5 gramos, solución hemina (5 mg/ml) 1,0 mililitro, agua destilada c.s.p. 1000 mililitros.

Solución de ampicacina: 100 microgramos/mililitro concentración final.

Agar fructosa cicloserina – cefoxitina

Este medio está preparado a base de proteosa o tripticasa soja que contiene como azúcar fructosa y como indicador

rojo neutro. También se le adicionan cicloserina 500 miligramos por litro y cefoxitina 16 miligramos por litro con el objetivo de inhibir el microbioma intestinal y seleccionar *C. difficile*, el cual a las 48 horas de incubación forma colonias de aspecto rizoides y de color amarillento que miden alrededor de 4 milímetros con estructuras internas cristalinas y refringentes. Al observar las colonias bajo luz ultravioleta se percibe una fluorescencia verde – amarillenta. Este medio es utilizado para aislamiento de *C. difficile*, a partir de muestras de heces, aunque puede verse también el desarrollo de otros clostridios.

Composición

Formulación concentración/ litro

Agar bacteriológico 15.0 gramos, sulfato magnésico 0,1 gramo.

Dihidrogenofosfato de potasio 1.0 gramo, cloruro sódico 2.0 gramos.

Hidrógeno fosfato disódico 5.0 gramos, fructosa 6.0 gramos.

Proteosa peptona 40.0 gramos cicloserina 0.5 gramos.

Cefoxitina 0.016 gramos.

Agua destilada c.s.p. 1000 mililitros.

Agar con alcohol fenil-etílico (PEA)

Este medio contiene peptona, extracto de levadura y extracto de carne los cuales le proporcionan compuestos nitrogenados y otros nutrientes necesarios para el desarrollo de bacterias Gram positivas. La adición del alcohol fenil etílico (feniletanol) le confiere selectividad por cuanto se inhiben las bacterias Gram negativas, ya que impide la síntesis de DNA. A este medio se le puede adicionar sangre de carnero

al 5%, sin embargo, no se recomienda determinar en estas reacciones hemolíticas, porque se pueden presentar reacciones atípicas.

La adición de este alcohol también evita la formación de crecimiento en velo de algunas especies de *Clostridium* como *Clostridium septicum*, y facilita el aislamiento de sus colonias. Este medio es ideal para aislar bacterias anaerobias a partir de muestras purulentas o cuando se sospecha una infección mixta.

Composición

Formulación concentración/ litro

Agar 15.0 gramos.

Feniletanol 2.5 mililitros, cloruro de sodio 5.0 gramos, extracto de carne 3.0 gramos, triptosa 10.0 gramos.

Agar con yema de huevo (AYE)

Contiene un alto contenido de lípidos y lecitina, se utiliza cuando se sospecha la presencia de clostridios, los cuales se detectan por la producción de dos enzimas: lipasa y/o lecitinasa. La reacción de lecitinasa positiva se evidencia por la aparición de un precipitado lechoso sobre el medio y alrededor de las colonias; y la lipasa positiva por la presencia de una zona perlada alrededor de la colonia y sobre ella.

Es un agar selectivo para *Clostridium difficile*, y se puede utilizar agregados en el medio como fructosa-cicloserina-cefoxitina (CCFA) o agar yema de huevo solo con cicloserina-cefoxitina (CCEY).

Composición

Formulación concentración/ litro

Peptona o tripteína 40 gramos, fosfato disódico 5 gramos, cloruro de sodio 2 gramos.

Sulfato de magnesio (5 % en solución) 0,2 mililitros, glucosa 2 gramos.

Agar 25 gramos.

Agua destilada c.s.p. 1000 ml.

Agar Schaedler con vitamina K1 y 5% sangre de cordero

Es un medio altamente nutritivo no selectivo para el aislamiento de bacterias estrictamente anaerobias exigentes a partir de muestras clínicas, como: *Bacteroides*, *Prevotella*, *Porphyromonas*, *Fusobacterium*, *Clostridium*, *Peptostreptococcus*, bacilos Gram positivos no formadores de esporas estrictamente anaerobios como *Eubacterium*, *Mobiluncus*, *Actinomyces* y otros.

En este medio la velocidad de crecimiento de los anaerobios estrictos varía: *Bacteroides fragilis* crece bien después de 24 horas, *Mobiluncus* o cepas de *Porphyromonas* necesitan de 4 a 5 días y *Actinomyces* puede necesitar desde 1 hasta 3 semanas o más para producir colonias visibles.

Una placa de Agar Schaedler con vitamina K1 y 5% sangre de cordero no es selectiva para anaerobios estrictos. Cuando se incuba en atmósfera anaerobia, se observa el crecimiento de anaerobios facultativos. La alta concentración de glucosa en el medio, favorece el crecimiento de bacterias sacarolíticas, aunque la viabilidad de otras bacterias se puede ver comprometida por la exposición a los ácidos acumulados producto del metabolismo fermentativo. De este medio se encuentran varias versiones en el mercado que son diferentes por la adición de componentes.

Composición

Formulación concentración/ litro

Digerido pancreático de caseína 8,2 gramos, digerido péptico de tejido animal 2,5 gramos, digerido papaico de harina de soja 1,0 gramos, glucosa 5,8 gramos.

Extracto de levadura 5,0 gramos, cloruro sódico 1,7 gramos, fosfato dipotásico 0,8.

L-cistina 0,4 gramos.

Hemina 0,01 gramos, vitamina K 0,01 gramos.

Tri-hidroximetil-aminometano 3,0 gramos.

Agar 13,5 gramos.

Sangre de carnero, desfibrinada 5%, agua destilada c.s.p. 1000 mililitros.

Agar Schaedler con antibióticos

Este agar puede contener también antibióticos como neomicina (75 miligramos/mililitro) y vancomicina (7,5 miligramos/mililitro) (SNV) o con kanamicina (75 miligramos/mililitro) y vancomicina (7,5 miligramos/mililitro) (SKV), y hace parte de los medios selectivos para bacilos Gram negativos como el grupo de *Bacteroides fragilis* y especies de *Prevotella*. La adición de neomicina o de kanamicina, le confiere características selectivas dado que impide el desarrollo de la mayor parte de los aerobios facultativos y la presencia de vancomicina a la mayoría de los Gram positivos y especies de *Porphyromonas*. Sin embargo, pese a la adición de estos aminoglucósidos, se observa el desarrollo de levaduras y anaerobios facultativos resistentes por lo que se recomienda realizar una tinción de Gram y un ensayo de aerotolerancia a todas las bacterias aisladas.

Con el agregado de peptonas se proporcionan los nutrientes necesarios para el crecimiento bacteriano y para la producción de energía con la glucosa. Contiene además un tampón Tris (hidroximetil-aminometano), de fórmula (HO-CH₂)₃CNH₂, el cual impide la reducción excesiva del pH

por efecto del proceso fermentativo. El extracto de levadura es la fuente de vitaminas. La hemina y la sangre de carnero suministran el factor X, necesario para la síntesis de enzimas respiratorias de una variedad de anaerobios estrictos. La vitamina K para el desarrollo anaerobios Gram negativos, y el cloruro de sodio para obtención de electrolitos esenciales.

Formulación de los suplementos nutricionales más frecuentes

Sangre lacada

Este compuesto se obtiene sometiendo un volumen de sangre a congelamiento durante toda la noche y posterior descongelamiento a 37°C, para obtener una emulsión de sangre lisada, brillante y translúcida, que generalmente requiere repetir el procedimiento. La sangre lacada permite una mejor visualización de pigmentos producidos por las bacterias.

Vitamina K1 (1 mg/ml). Solución madre

Se obtiene pesando 0,1 gramos de vitamina K1 y disolverla en 100 mililitros de etanol absoluto. Guardar en refrigeración al abrigo de la luz. Usar para suplementar los medios de cultivo a una concentración final de 1 miligramo/mililitro.

Hemina Solución madre (5 miligramos/ml)

Hemina 0,25 gramos.

Hidróxido de sodio (1N) 5 mililitros, agua destilada c.s.p. 45 mililitros.

Disolver la hemina en el hidróxido de sodio y llevar a 50 mililitros con agua destilada, esterilizar y agregarse a los medios como suplemento en concentración final de 5 microgramos por mililitro.

Medios líquidos

Caldo infusión cerebro corazón (BHI) para anaerobios

Es un medio nutritivo que permite el desarrollo de microorganismos anaerobios. Su alto valor nutritivo está dado por la infusión de tejidos provenientes de cerebro de ternera, corazón de vacuno y peptona, que constituyen la fuente de carbono, nitrógeno, aminoácidos, péptidos y vitaminas necesarias para el desarrollo de las bacterias. La glucosa es el hidrato de carbono adicionado para obtención de energía. El cloruro de sodio facilita mantener el balance osmótico y el fosfato disódico como buffer. Este caldo es adecuado como base para la preparación de los medios utilizados en los hemocultivos.

Composición

Formulación concentración/ litro

Caldo BHI 37 gramos.

Extracto de levadura 5 gramos.

Solución hemina (5 miligramos/mililitro), 1 mililitro solución vitamina K1 (1 miligramos/mililitro), 1 mililitro agua destilada c.s.p. 1000 mililitros.

Caldo tioglicolato enriquecido (THIO)

Este caldo está enriquecido con hemina y vitamina K, no es selectivo y es útil especialmente para el aislamiento primario de actinomicetos. Este medio también se utiliza como suplemento en la preparación de medios sólidos para aislamiento primario de bacterias con requerimientos nutricionales especiales.

Caldo carne

Medio líquido, utilizado para aislamiento especialmente de las bacterias pertenecientes al género *Clostridium*. Como todos los medios para bacterias anaerobias cuenta con la adición de sustancias reductoras. La disponibilidad de los grupos sulfhidrilos, proporcionan un mayor efecto reductor, que es mayor en la proteína desnaturalizada, por esto en el medio se utiliza carne sometida a proceso de cocción.

El extracto de levadura le aporta factores de crecimiento, la caseína es la fuente de carbono, nitrógeno y la dextrosa como la fuente de carbono. También contiene ácido tioglicólico y cisteína que junto con el agar mantienen bajo el potencial REDOX, y la resazurina es el indicador REDOX (rosa oxidado, incoloro reducido).

Composición

Formulación concentración/ litro

Extracto de levadura 5 gramos, caseína 15 gramos.

Dextrosa 5 gramos.

NaCl 2.5 gramos.

Cisteína 0.5 gramos.

Ácido tioglicólico 0.3 gramos, resazurina 0.001 gramos.

Agar 0.75 gramos.

Caldo leche tornasolada

Este medio contiene leche y se utiliza para diferenciar bacterias por medio de sus reacciones metabólicas. En el medio se pone en evidencia la fermentación de lactosa, caseólisis y coagulación de la caseína. El indicador tornasol que se incorpora demuestra el cambio de pH y de oxidación – reducción.

Otras reacciones metabólicas relacionadas con la caseína, lactalbúmina y lactoglobulina que contiene la leche son: fermentación de lactosa, reducción del tornasol, formación del coágulo, peptonización y formación de gas.

Caldo con bilis y prueba de sensibilidad o resistencia (S/R) a la bilis

Este medio permite evidenciar la capacidad de la bacteria anaerobia para desarrollarse en presencia de bilis de buey. Esta es una característica muy importante en la identificación presuntiva. La formulación es bilis de buey 10 gramos en 100 ml de agua destilada, esta solución se esteriliza por filtración y se guarda en refrigeración. Para preparar el medio se agrega 1 mililitro de la solución estéril a 5 mililitros de caldo BHI para obtener una concentración de bilis al 20 %. Para poder observar si el microorganismo es sensible o resistente a la bilis se debe sembrar un tubo de medio sin bilis y comparar el crecimiento de la bacteria comparativamente en los dos tubos de medio. También se cuenta con discos que contienen bilis, los cuales se colocan sobre una placa de medio que no contenga bilis y sembrada con el microorganismo para observar el halo de inhibición. En este caso cualquier halo de inhibición se considera sensible.

Tabla 4.3. Medios de cultivo de uso más frecuente para aislar bacterias anaerobias

ALGUNOS MEDIOS DE USO FRECUENTE		
Medio para Anaerobios	Componentes principales	Uso más frecuente
Agar sangre para anaerobios	Base de agar Columbia, Shaedler, Brucella o BHI, suplementados con sangre de carnero al 5%, extracto de levadura al 0.5%, hemina, L-cistina y vitamina K1	Para seleccionar anaerobios estrictos y facultativos
Agar bilis esculina para <i>Bacteroides</i> (BBE)	Base agar tripticasa soya, con adición de citrato de amonio y hemina; sales biliares y gentamicina que son los inhibidores para otros anaerobios	Cuando se necesita aislar y diferenciar presuntivamente bacterias anaerobias del grupo <i>Bacteroides fragilis</i>
Agar sangre Kanamicina – Vancomicina (ASKV)	Base de agar para Brucella, con adición de sangre hemolizada en proporción del 5% y vitamina K1 10 microgramos por mililitro; los antibióticos Kanamicina 75 microgramos por mililitro, vancomicina 7,5 microgramos por mililitro	Eficiente para el aislamiento e identificación presuntiva de especies de los géneros <i>Prevotella</i> y <i>Bacteroides</i>
Agar fenil – etil – alcohol (PHEA)	Agar base sangre con adición de 5% de sangre de cordero y alcohol fenil étílico	Para muestras que tengan como flora acompañante bacilos entéricos y selección de especies del género <i>Clostridium</i>
Agar yema de huevo (AYH)	Base de yema de huevo	Medio diferencial, no selectivo. Permite observar la producción de lecitinasa y lipasa, principalmente en los géneros <i>Clostridium</i> y <i>Fusobacterium</i>

ALGUNOS MEDIOS DE USO FRECUENTE		
Medio para Anaerobios	Componentes principales	Uso más frecuente
Agar cicloserina, cefoxitina, fructosa (CCFA)	Base de yema de huevo con la adición de fructosa, cicloserina 500 miligramos por litro y cefoxitina 16 miligramos por litro. Indicador rojo neutro	Especial para seleccionar colonias de <i>Clostridium difficile</i>
Agar Shaedler	Medio altamente nutritivo, además de contener la base del medio se le puede adicionar, sangre, vitamina K1, L-cistina y hemina	Para el crecimiento de anaerobios obligados y especialmente aislamiento de anaerobios Gram negativos
Caldo tioglicolato	Digerido pancreático de caseína, caldo de soja y glucosa. El tioglicolato y el agar son los agentes reductores y además se puede suplementar con hemina y vitamina K1	Medio no selectivo para anaerobios estrictos y facultativos.
Caldo carne	Base de caldo con adición de glucosa y carne cocida picada. Las partículas de carne sólida inician el crecimiento bacteriano y las sustancias reductoras disminuyen el potencial de óxido-reducción	No selectivo para bacterias anaerobias; al contener glucosa puede utilizarse para la obtención de productos metabólicos y ser identificados por cromatografía en fase gaseosa - líquida
Caldo peptona, extracto de levadura, glucosa (PYG)	Base de peptona, extracto de levadura, glucosa, cisteína como agente reductor, sales y resarsurina como indicador.	Medio no selectivo para anaerobios. Se utiliza para identificación de anaerobios por cromatografía en fase gaseosa - líquida

Pruebas bioquímicas y otros métodos para su caracterización

Prueba de catalasa

Del metabolismo celular de muchos organismos vivos se obtiene peróxido de hidrógeno como residuo que tiene varias funciones, como la de proteger al cuerpo de la acción de microorganismos patógenos, principalmente anaerobios, sin embargo, al ser un compuesto tan tóxico, debe transformarse muy rápido en compuestos menos peligrosos. Como se mencionó en el capítulo I, esta enzima transforma el peróxido de hidrógeno en agua y oxígeno. Es sintetizada por la mayoría de las bacterias aerobias y anaerobias facultativas y corresponde a un homotetrámero que contiene un grupo hemo en cada subunidad, el cual utiliza como cofactor al igual que el manganeso y ésta se encuentra también en los peroxisomas de las células eucariotas.

La prueba se puede realizar en lámina o en tubo: en una lámina portaobjeto se coloca una o dos gotas de peróxido de hidrógeno (H_2O_2) al 3%. Tomar una colonia del microorganismo con un palillo estéril y mezclar suavemente o en un tubo de agar nutritivo en “pico de flauta” se hace siembra del microorganismo por estría y una vez incubado para la lectura se le agregan dos o tres gotas de H_2O_2 al 3%, preferiblemente recién preparado sobre las colonias del medio.

Una catalasa positiva se detecta por la aparición inmediata y permanente de burbujas o efervescencia, algunas bacterias poseen enzimas diferentes de la catalasa que pueden descomponer el H_2O_2 , por lo tanto, la observación de burbujas pequeñas después de 20 a 30 segundos es un resultado negativo.

Polietanol sulfonato de sodio (PSS)

Esta prueba se utiliza para observar la inhibición del desarrollo bacteriano por el polietanol sulfonato de sodio.

La técnica inicia por la preparación de los discos de SPS, que costa de dos pasos:

1) Preparar solución acuosa de SPS al 5 % y esterilizar por filtración.

2) Impregnar discos con 20 microlitros de la solución, tapar y dejar secar durante 72 horas a temperatura ambiente. Una vez sembrado e incubado se interpreta de la siguiente manera:

Sensible: halo de inhibición mayor o igual a 12 milímetros. Resistente: halo de inhibición menor de 12 milímetros

Como control se pueden utilizar *Peptostreptococcus anaerobius* que es sensible y *Peptoniphilus asaccharolyticus* que es resistente.

Producción de indol

La presencia de la enzima triptofanasa en el microorganismo cataliza la reacción de desaminación que causa la remoción del grupo amino (NH_3) a partir del triptófano, y como producto final se obtiene ácido pirúvico, amoníaco e indol.

Composición

Formulación concentración/ litro

Tripteína 20,0 gramos, fosfato disódico 2,0 gramos, glucosa 1,0 gramo.

Agar 1,0 gramo.

Agua destilada c.s.p 1000 mililitros.

Una vez sembrado e incubado el microorganismo, la producción de indol es revelada mediante la adición del reactivo de Kovac's que contiene butanol y para-dimetil-amino-benzaldehído formando un anillo de color fucsia - rojizo en la superficie del caldo. En la no producción de indol se observa un anillo en la superficie del color del reactivo (amarillo brillante).

Reducción de nitratos a nitritos

En esta prueba se detecta una respiración anaerobia en la que utiliza nitrato (NO^-) como aceptor final de electrones. La reducción causa una disminución en el estado de oxidación del nitrógeno que pasa de +5 a +3 cuando se forman los nitritos, algunas bacterias reducen estos nitritos a productos gaseosos como el nitrógeno elemental y el óxido nitroso (N_2 y N_2O) quienes tienen respectivamente estados de oxidación de 0 (cero) y +1. Las enzimas responsables de ambas reducciones se denominan nitrato y nitrito reductasas. Una vez sembrado el microorganismo y cumplido el tiempo de incubación se agregan unas gotas de nitratos A (ácido sulfanílico) y unas gotas de reactivo B (alfa-naftilamina).

Composición

Formulación concentración/ litro

Tripteína 20,0 gramos, fosfato di sódico 2,0 gramos, glucosa 1,0 gramo.

Agar 1,0 gramo.

Nitrato de potasio 1,0 gramo.

Agua destilada c.s.p. 1000 mililitros.

Si no se observa un cambio de color (rojizo), agregar una pizca de polvo de zinc, cuando los nitratos no han sido reducidos se forma una coloración rosada al cabo de 2 o 3

minutos. Si no hay formación del color es porque los nitratos han sido degradados completamente, por consiguiente, la reacción falsa negativa inicial debe considerarse como positiva, dado que el Zinc se oxida y los electrones que pierde provocan la reducción del nitrógeno hasta la formación de nitritos. Hidrólisis de la esculina por la técnica del caldo esculina

Hidrólisis de la esculina

Por la técnica del caldo esculina

Composición

Formulación concentración/ litro

Caldo BHI 25,0 gramos, esculina 1,0 gramo.

Agar 1,0 gramo.

Agua destilada c.s.p. 1000 ml.

Una vez sembrado e incubado el medio, se agrega una gota de citrato férrico o cloruro férrico al 1% para revelar la reacción. Un resultado positivo mostrará un color verde oscuro o negro y un resultado negativo se verá de color marrón claro similar al del reactivo. La producción de H_2S por algunas bacterias interfiere con la lectura debido a la reacción con el hierro, donde se produce un complejo de color negro, de tal forma que para estar seguros del resultado se deben observar los tubos con color verde oscuro o negro bajo lámpara de luz ultravioleta (365 nm). La esculina no hidrolizada fluoresce y se observa de color azul mientras que la esculina hidrolizada pierde la fluorescencia.

Por el método de spot

Para realizar este método, se prepara una solución de esculina al 0,02%, se humedecen tiras de papel con esta solución,

impregnar estas tiras con una colonia, luego incubar por espacio de 1 a 2 horas a 35°C y leer con luz ultravioleta 360 nm. Si no se observa fluorescencia se interpreta como un resultado positivo y negativo cuando se observa fluorescencia. Se recomienda utilizar controles para la prueba y en este caso *Bacteroides fragilis* o *Enterococcus* spp son positivos y *Clostridium novyi* o *Citrobacter freundii* negativos.

Licuefacción de la gelatina

Esta prueba determina si el microorganismo libera una enzima llamada gelatinasa, que descompone la proteína en péptidos y amidasa, lo cual produce la licuefacción del medio. Este medio contiene peptona, gelatina, extracto de carne y agua destilada.

Método de los discos de Kohn

Composición

Gelatina bacteriológica 15,0 gramos, agua destilada fría c.s.p. 100 mililitros, carbón activado 3,0 – 5,0 gramos.

Formol 10 %: Formaldehído 40 % 10,0 mililitros y agua destilada 90 mililitros, carbonato de calcio 1,0 gramo.

Cloruro de sodio 0,9 gramos.

La preparación de los discos consiste en espolvorear la gelatina en el agua, cuando esta se humedece se pone a hervir. Luego se agrega carbón activado en polvo, se mezcla muy bien, dejar enfriar hasta 48°C y servir en placas de Petri las cuales deben haber sido recubiertas en todas sus superficies con Vaspar (partes iguales de vaselina y parafina), enseguida llevar a refrigeración. Cuando el medio ha solidificado, se debe despegar la lámina de gelatina y carbón y poner en formol al 10% durante 24 horas. El siguiente paso es lavar las placas bajo chorro de agua durante 48 horas. Cortar en

cubitos y colocarlos en tubos con unas gotas de agua. Esterilizar por vapor fluente durante 1 hora para eliminar el formol. Conservar en refrigeración.

La prueba consiste en colocar 1 o 2 cubitos de la gelatina en 5 mililitros de caldo cerebro corazón, poner en ebullición por 5 minutos para eliminar el O₂ que queda en la gelatina, dejar enfriar y luego realizar la siembra con un inóculo denso de la bacteria, llevar a incubación de 72 a 96 h, al cabo del cual se lee la reacción: positivo: disco desintegrado y ennegrecimiento del caldo y negativo: disco inalterado.

Método de Frazier

Composición

Agar BHI 5,3 gramos.

Gelatina bacteriológica 0,4 gramos, agua destilada c.s.p. 100 mililitros.

Para realizar el método se inicia mezclando los tres componentes, llevar a calentamiento hasta completa disolución y ajustar el pH a 7,0 – 7,2. La solución se esteriliza y se sirve en cajas de Petri.

El microorganismo se inocula mediante estría sobre la superficie del medio, incubar en anaerobiosis por un lapso de 48 a 96 horas. La presencia de la enzima se detecta agregando de 4 a 5 mililitros del reactivo revelador que contiene cloruro de mercurio 15,0 gramos, ácido clorhídrico concentrado 20 mililitros y agua destilada c.s.p. 100 mililitros. En la lectura prestar atención a la presencia de precipitado ya que la gelatina se precipita mediante el reactivo revelador.

Un resultado positivo se interpreta por la presencia de un halo de transparencia alrededor de las colonias y un resultado negativo cuando no se observa halo de transparencia. Se pueden utilizar cepas de *Clostridium perfringens* o

Pseudomonas fluorescens, como control positivo y *Clostridium ramosum* o *Pseudomonas putida*, como control negativo.

Producción de ureasa

El medio permite observar la hidrólisis de la urea por la enzima ureasa. El medio contiene tripteína y glucosa, como nutrientes, el cloruro de sodio contribuye a mantener el balance osmótico, y el indicador es el rojo de fenol que vira de acuerdo con la variación de pH. La presencia del agua permite la ruptura de la molécula y la generación del amoniaco, lo cual, a su vez, causa el aumento en el pH, éste se detecta por el indicador ácido-base.

El procedimiento consiste en sembrar el microorganismo en el medio e incubar. Un resultado positivo se evidencia por la aparición de un color rosado intenso – fucsia y negativo cuando el medio permanece del color inicial (amarillo pálido). Se recomienda montar controles: positivo que puede ser *Anaerococcus tetradius* o *Proteus mirabilis* y negativo, *Eggerthella* spp. o *Escherichia coli*.

Medio base para la fermentación de hidratos de carbono

Composición

Formulación concentración/ litro

Tripteína 15,0 gramos.

Extracto de levadura 7,0 gramos, cloruro de sodio 2,5 gramos, tioglicolato de sodio 0,5 gramos, agar 0,75 gramos.

Púrpura de bromocresol (solución 1 %), 2 mililitros agua destilada c.s.p. 1000 ml.

Mezclar los componentes del medio y llevar a esterilización en autoclave, después agregar el indicador y llevar a pH 6,8-6,9. Para cada hidrato de carbono se debe preparar una solución al 10% que los contenga y para evitar cualquier degradación se esterilizan por filtración; y el volumen que se agrega al tubo para la prueba bioquímica es de 0,5 mililitros del azúcar a cada tubo. Una vez sembrado e incubado se interpreta de la siguiente manera: resultado positivo cuando se observa un viraje del indicador hacia el color amarillo y negativo cuando el medio permanece del color original.

Tabla 4.4. Pruebas para estimulación del crecimiento en algunas bacterias anaerobias

Microorganismo	Suplemento utilizado
<i>Eggerthella lenta</i>	arginina al 0,5 %
<i>Campylobacter ureolyticus</i>	formato-fumarato (0,3 % y 0,3 %)
<i>Bacteroides fragilis</i> , <i>Prevotella</i> spp., <i>Porphyromonas</i> spp	hemina al 0,001 %
<i>Tannerella forsythia</i>	ácido N-acetilmurámico al 0,001 %
<i>Bilophila</i> sp., <i>Veillonella</i> spp.	piruvato al 1 %
<i>Desulfovibrio</i> spp.	piruvato al 1 % con sulfato de magnesio al 0,25 %
<i>Fusobacterium</i> spp., y otros bacilos Gram negativos	bicarbonato de sodio al 1 %
anaerobios Gram positivos y Gram negativos	suero al 1 %
anaerobios Gram positivos.	tween 80 al 0,5 %

La técnica para evaluar la síntesis de enzimas que degradan azúcares, inicia con la siembra del microorganismo en un tubo de caldo tanto suplementado, como sin suplementar, luego llevar a incubación la cual se debe realizar por un periodo de 48 a 72 horas en anaerobiosis. Se considera un resultado positivo cuando se observa un mayor grado de turbiedad en el tubo con caldo suplementado, que en el sin suplementar.

Placas presumpto

Consiste en un sistema de placas de tres cuadrantes denominadas Presumpto I, II y III, que contienen medios diferenciales preparados a partir del agar Lombard-Dowell (LD), que proporcionan pruebas para identificar bacterias anaeróbicas. La placa Presumpto I se desarrolló inicialmente para ayudar a identificar los anaerobios Gram negativos específicamente *Bacteroides* y *Fusobacterium* spp. La II y la III suministra pruebas adicionales para la identificación de cepas Gram positivas. El agar LD apoya el crecimiento de una extensa diversidad de bacterias anaeróbicas, incluidas cepas exigentes.

Tabla 4.5. Descripción de las placas presumpto

Placa Presumpto	Prueba de identificación	Medio -substrato	Interpretación
I	Indol	Agar LD – triptófano y reactivo de Kovács	Positivo verde – azul Negativo incoloro o rosado
	Catalasa	Agar LD – H ₂ O ₂	Positiva producción de burbujas. Negativa no producción de burbujas.
	Lecitinasa	Agar yema de huevo	Positivo precipitado opaco alrededor de las colonias. Negativa sin precipitado opaco alrededor de las colonias.
	Lipasa	Agar yema de huevo	Positiva aparición de una capa perlada o brillo iridiscente sobre el crecimiento bacteriano Negativo no se observa la capa perlada ni brillo
	Proteólisis	Agar yema de huevo	Positivo aclaramiento del medio alrededor de las colonias. Negativo no hay cambio en el aspecto del medio
	Producción de H ₂ S	Agar esculina	Positivo ennegrecimiento en el medio Negativo no se observa color negro
	Hidrólisis de esculina	esculina – lámpara de luz UV	Positiva aparición de un color rojo – café después de 5 minutos de exposición al aire y no se observa fluorescencia azul Negativo no se observa el color café y se percibe fluorescencia azul brillante
	Catalasa	Agar esculina - H ₂ O ₂	Positiva aparición de burbujas Negativo no aparición de burbujas
	Crecimiento en bilis	Agar bilis	Positivo desarrollo de colonias Negativo ningún crecimiento
	Precipitado	Agar bilis	Presencia de un precipitado en el agar

II	DNasa	Agar DNasa	Positiva aparición de un color rosado – rojizo en el agar Negativo no se observa cambio de color
	Glucosa	Agar glucosa	Positiva aparición de color amarillo en el medio Negativo no hay cambio de color
	Hidrolisis de caseína	Agar leche	Positivo aclaramiento del medio alrededor de la colonia Negativo no se observa aclaramiento
	Hidrólisis del almidón	Agar almidón – solución yodo yoduro de potasio	Positiva zona clara alrededor de la colonia Negativo color café – negro alrededor de la colonia
III	Fermentación de		
	Lactosa	Agar lactosa con azul de bromotimol	Positiva aparición de color amarillo en el medio Negativo no hay cambio de color (azul – verde)
	Manitol	Agar manitol con azul de bromotimol	Positiva aparición de color amarillo en el medio Negativo no hay cambio de color (azul – verde)
	Ramnosa	Agar ramnosa con azul de bromotimol	Positiva aparición de color amarillo en el medio Negativo no hay cambio de color (azul – verde)
	Hidrolisis de gelatina	Agar gelatina – reactivo Frazier	Positiva zona clara alrededor de la colonia Negativo zona opaca alrededor de la colonia

Prueba de tolerancia al oxígeno

Esta es una prueba presuntiva que se realiza sobre todo en estudios investigativos y preliminares para clasificar las bacterias de acuerdo con la síntesis de enzimas que participan en la desintoxicación frente al oxígeno. La prueba de tolerancia al oxígeno, es útil en estudios donde se sospecha un microorganismo anaerobio estricto, para tener mayor claridad antes de continuar con la identificación.

Para realizar la prueba es necesario sembrar cada muestra por triplicado en cada uno de los medios de cultivo e incubarlos en las diferentes atmósferas, como se muestra en la siguiente tabla.

Tabla 4.6. Prueba de tolerancia al oxígeno

INCUBACIÓN EN % DE O ₂ Y OTROS GASES				
Tipo de respiración	Ambiente aerobio	Capnofilia	Microaerobiosis	Anaerobiosis
Características del ambiente de incubación	21% O ₂ , 79% N ₂ , 0.93% de Ar, 0.0035% CO ₂ , 0.003 % de gases inertes	15 % O ₂ y más del 5%de CO ₂	Se reemplaza un porcentaje de O ₂ por 5% de CO ₂	5% CO ₂ , 5% H ₂ , 90% N ₂ 0% O ₂ ya que se combina con H ₂ para formar H ₂ O
Aerobio obligado	Positivo con desarrollo abundante	Positivo con desarrollo abundante	Positivo con desarrollo moderado	Negativo
Microaerófilo	Negativo	Positivo con desarrollo moderado	Positivo con desarrollo abundante	Generalmente negativo
Anaerobio facultativo	Positivo con desarrollo abundante	Positivo con desarrollo abundante	Positivo con desarrollo abundante	Positivo con desarrollo abundante
Anaerobio aerotolerante	Positivo con desarrollo muy escaso	Positivo con desarrollo escaso	Positivo con desarrollo moderado	Positivo con desarrollo abundante
Anaerobio obligado	Negativo	Negativo	Negativo	Positivo con desarrollo abundante

Métodos y sistemas de identificación

Existen varios métodos que permiten realizar la identificación de bacterias anaerobias; entre ellos, se encuentra el clásico o denominado macrométodo, que se utiliza con mayor frecuencia en los laboratorios de microbiología y está compuesto por pruebas bioquímicas enzimáticas. De este grupo de pruebas hacen parte las que se realizan en tubo con caldo tioglicolato sin dextrosa, o como las placas de Lombard-Dowell, a los cuales se les agrega agar, azúcares o aminoácidos en concentración del 1%.

Las baterías de pruebas bioquímicas incluyen medios pre-reducidos como: glucosa, lactosa, sacarosa, manitol, manosa, xilosa, L-arabinosa, trehalosa glicerol, ramnosa, salicina, almidón, indol, nitratos, motilidad, gelatina, esculina, urea y leche, ente otros.

También existen en el mercado microsistemas o métodos miniaturizados, listos para usar como el API- 20 A y Rapid ID 32A, API-ZYM de BioMerieux, Crystal para anaerobios de BBL, Vitek o Minitek de Becton Dickinson, RapID ANA II (Remel, Inc., Lenexa, KS), MicroScan (Siemens, Erlangen, Alemania), los cuales proveen una batería de sustratos cromogénicos para la detección de glucosidasas y aminopeptidasas, entre otras enzimas. La mayoría de estas pruebas toman bastante tiempo en mostrar resultados, debido a que estas bacterias tienen un metabolismo más inactivo, sumado a la dificultad y lentitud en su desarrollo. Estas pruebas permiten obtener datos de género y, en ciertos casos, a especie.

Los métodos automatizados generalmente se componen de medios liofilizados en pozos para rehidratación, son más prácticos e igualmente fáciles de usar, adicionalmente permiten la identificación de un mayor número de reacciones enzimáticas y son un buen complemento para las pruebas habituales. Algunos de estos son Vitek2 (bioMérieux, Marcy, l'Etoile, Francia) y paneles de lectura directa o automatizada como MicroScan (Siemens, Erlangen, Alemania), y ofrecen resultados con menos tiempo de incubación; sin embargo, persiste algo de inconveniente relacionado con la información y actualización en sus bases de datos.

También se cuenta con técnicas moleculares y otras nuevas tecnologías que permiten una identificación más fácil, sobre todo en los microorganismos que son difícilmente cultivables. Estas técnicas se basan en la proteómica. Enfocan el proceso de identificación en el estudio de un grupo de proteínas; las de uso más frecuente se apoyan en la electroforesis y en la espectrometría de masas.

Técnicas moleculares:

- Hibridación de sonda de ácido nucleico
- Amplificación de ácidos nucleicos
- Tipificación molecular
- Microarrays
- Espectrometría de masas (MALDI-TOFF).

Conocer cuál es el microorganismo que se encuentra causando determinada infección es importante no solo desde el punto de vista terapéutico, sino también epidemiológico para el reconocimiento de epidemias, brotes, transmisión cruzada de patógenos a nivel nosocomial o por alimentos y agua, detección de fuentes de infección y, particularmente, en el reconocimiento de cepas virulentas de la especie identificada.

La técnica de electroforesis en gel de campo pulsado (PFGE, pulsed-field gel electrophoresis) es considerada la “gold standard” de los métodos de tipificación molecular. Al respecto Cardozo- Bernal, refiere que en este método el ADN genómico de la bacteria es digerido con enzima de restricción de corte infrecuente y posteriormente los fragmentos resultantes son separados en un gel de agarosa, que se somete a un campo eléctrico cuya polaridad (ánodo-cátodo) es cambiada a intervalos variables. El campo pulsado permite la separación nítida de fragmentos de ADN con peso molecular de 10 a 800 kilo bases (kb), los patrones resultantes de la electroforesis se digitalizan para el análisis de las bandas, el cual se ejecuta con un software como Applied Math, Bio-Rad, BioSystematics, Media Cybernetics o Scanalytics. La técnica de PFGE, es muy eficiente, pero conlleva un alto costo, lo cual hace que no esté disponible en todos los laboratorios de microbiología.

En la tipificación basada en amplificación por RPC, como alternativa a la anterior, determinados loci genéticos pueden amplificarse y por ende se pueden examinar más fácilmente

para detectar variaciones individuales de microorganismos. Se inicia por amplificar los loci con partidores definidos, sometidos a análisis de RFLP (restriction fragment length polymorphism), para luego visualizar por electroforesis. Este método de tipificación se utiliza en el análisis de algunos loci que presentan heterogeneidad dentro de una misma especie. Mediante esta técnica, aunque es muy práctica, solo se puede evaluar una parte pequeña del genoma lo cual es una falencia, si se compara con la técnica PFGE.

El método RAPD (random amplified polymorphic DNA), se fundamenta en que pequeños partidores de 10 pares de bases (pb) que tienen secuencias inespecíficas y que no están dirigidas a un locus genético en particular sino que, hibridiza en forma arbitraria en ciertos sitios cromosómicos de alineamiento a temperaturas bajas, con afinidad suficiente para dar paso a la iniciación de la polimerización; lo anterior implica que la presencia de estos sitios en dos puntos en las hebras de ADN complementarias en dirección opuestas una a la otra consiente la amplificación del fragmento entre estos dos puntos. De acuerdo con el tipo de bacteria varía el número de localizaciones de estos puntos.

Rep-PCR (repetitive-PCR), esta técnica se basa en la presencia de secuencias repetitivas encontradas en casi todas las especies bacterianas susceptibles de utilizarse como secuencias de consenso que permiten la hibridización de partidores, los cuales tienen como función iniciar la amplificación en estos sitios. La ubicación de estas secuencias no es única, ya que se pueden encontrar generalmente en sitios variados del genoma bacteriano, de esta forma cuando dos secuencias repetidas se localizan una cerca de la otra, se amplifica la región flanqueada. El mismo proceso se usa con secuencias repetitivas, como las de los operones del ribosoma, las secuencias de inserción y las secuencias Shine Dalgarno (sitio de fijación de ribosoma). La información de la secuencia genética completa de algunas bacterias y otros microorganismos, con sus respectivos análisis, facilitan la discriminación entre

diferentes clones, lo que aporta sustancialmente al conocimiento microbiológico.

Multilocus sequence typing (MLST) forma parte de los muchos avances para la caracterización de microorganismos. Esta técnica consiste en una red abierta para la comparación objetiva de secuencias de determinados genes bacterianos. En esta técnica son secuenciados de 6 a 8 genes constitutivos de un microorganismo. Con las secuencias obtenidas se forma un perfil alélico susceptible de ser cotejado en las bases de datos que almacenan la información en bancos genómicos con otros perfiles alélicos de cepas que han sido aisladas, caracterizadas y reportadas; lo cual facilita la conformación y mantenimiento de una base de datos orientada hacia una red epidemiológica que contenga esta información actualizada a nivel mundial.

La espectrometría de masas por tiempo de vuelo de ionización por desorción láser asistida por matriz (MALDI-toff MS), es un método confiable para diagnosticar una serie de infecciones bacterianas, fúngicas, e inclusive, parasitarias. Al respecto Eliane R. Tsukimoto y Flávia Rossi en 2018 realizaron un trabajo cuyo objetivo fue evaluar la espectrometría de masas MALDI-TOF (VITEK-MS, bioMérieux, Francia) en comparación con la tarjeta ANC (VITEK 2, bioMérieux, Francia) para la identificación de anaerobios, y también para verificar la variación de costos entre ambas metodologías. En este estudio identificaron 421 anaerobios; no se identificaron treinta y cinco cepas por ANC (VITEK 2), y solo un aislado no fue identificado por MALDI-TOF (VITEK MS). De los 386 anaerobios identificados por las dos metodologías, se observó un 97% de concordancia en la identificación de género y especie bacteriano entre las metodologías.

Cromatografía de gas-líquido (GLC), es una técnica que se utiliza para revelar productos finales del metabolismo bacteriano y consiste en un análisis cuantitativo de mezclas de componentes orgánicos volátiles útil en la identificación de bacterias anaerobias. Es una técnica de separación muy

eficiente, de fácil realización y bajo costo. Requiere contar con un buen crecimiento (biomasa) en un medio líquido, preferiblemente que contenga glucosa. Complementario a la evaluación de características macro y microscópicas, la identificación de los productos metabólicos, es una herramienta para identificar una variedad de bacterias anaerobias como por ejemplo: del género *Fusobacterium*, *Leptotrichia*, *Veillonella*, *Acidaminococcus*, *Megasphaera*, *Propionibacterium*; en otros casos presta una gran ayuda para establecer diferencias entre géneros *Actinomyces* y *Bifidobacterium*, *Lactobacillus* y *Eubacterium*, así como también para diferenciar géneros bacterianos recientemente descritos y algunas especies dentro de géneros que muy son grandes y que presentan diversidad de características como *Clostridium*.

En esta técnica, se lleva a cabo un proceso molecular de partición que sucede en una fase de vapor y el substrato; la fase estacionaria está conformada por moléculas de líquido que han sido inmovilizadas en la superficie de un sólido inerte. En este proceso se utiliza cultivo bacteriano en medio líquido, se le adiciona ácido sulfúrico al 50% para acidificarlo, luego se somete a centrifugación para obtener el sobrenadante, en el cual se obtienen los metabolitos a identificar. Los principales metabolitos que tienen importancia para la identificación bacteriana son:

- Ácidos grasos volátiles: fórmico, acético, propiónico, isobutírico, butírico, isovalérico, valérico, isocaproico y caproico, los cuales se extraen con éter.
- Ácidos grasos no volátiles: láctico y succínico, estos se metilan con ácido sulfúrico y metanol, y los metil-derivados obtenidos que se extraen con cloroformo. La técnica se realiza en un cromatógrafo de gases; este equipo tiene varios componentes: uno es el gas portador, otro es el sistema de inyección de la muestra, la columna que se encuentra dentro de un horno, y por último el detector.

Finalmente, en casos específicos se pueden realizar otros métodos en el laboratorio relacionados con la observación del efecto citotóxico o citotónico de infiltrados de cultivos bacterianos sobre células de líneas como Vero, Hela, CHO, Hep-2, entre otras.

Preparación de las muestras

Es importante realizar un examen macroscópico de la muestra, pues este puede orientar la presunción del tipo de infección que se presenta, y/o dependiendo de características particulares, hasta del agente causal. Tener en cuenta características como:

- mal olor, el cual se asocia con los productos finales generados a partir del metabolismo de las bacterias anaerobias.
- fluorescencia roja a la luz ultravioleta, como indicativo de la producción de protoporfirina, por las especies pigmentadas de *Prevotella* y *Porphyromonas*, principalmente.
- exudados sanguinolentos, que denotan lesión en vasos sanguíneos y tejido profundo.
- exudados negruzcos, por la presencia de bacterias productoras de pigmento.
- tejidos necróticos, o gas en los mismos, relacionados con la necrosis o destrucción del tejido afectado.
- gránulos de azufre en el exudado que indicaría la posible presencia de un *Actinomyces*.
- exudados purulentos, lo que indica una fuerte respuesta del sistema inmune.

De igual forma el examen microscópico aporta datos importantes los cuales al correlacionarlos con el macroscópico le permite al bacteriólogo hacer un proceso de aislamiento e

identificación más eficiente. Este se realiza mediante la tinción de Gram para ver la morfología, asociación, algunas estructuras y su afinidad por la coloración; también permite observar la presencia de leucocitos y otras células, entre otras características. Recordar que las bacterias anaerobias no toman los colorantes con la misma intensidad que lo hacen las bacterias aerobias y las facultativas, tanto de las muestras directas como de los cultivos, debido a que tienen tendencia a tornarse Gram negativos ya que son poco estables a la decoloración; debido a esto se recomienda realizar la decoloración con alcohol etílico sin la acetona, por un tiempo no mayor de 30 segundos, y asegurarse que el tiempo con el mordiente (lugol) sea mínimo de 1 minuto. Igualmente, es recomendable hacer varios extendidos de la muestra, pues a partir de la observación del Gram, es probable que se requiera hacer coloraciones especiales para confirmar la presencia de estructuras adicionales como esporas o cápsula.

Después del registro adecuado de las muestras y su examen inicial, se procesa con el mayor cuidado y en el menor tiempo posible, lo óptimo es antes de 15 minutos desde su recepción y si se cuenta con cámara de anaerobiosis, se garantiza una mejor anaerobiosis en el proceso de siembra. A las muestras que contienen material purulento es necesario someterlas a un proceso de homogenización, mezclándolas bien y de preferencia con agitador Vortex; las que provienen de tejidos o que se obtienen por biopsia, también se deben homogenizar, obteniendo trozos más finos con un bisturí o/y mediante macerado en mortero estéril con la adición de 1 mililitro de caldo de acuerdo con la consistencia de la muestra. En el caso de muestras recolectadas con hisopo, se debe sembrar inmediatamente sumergiéndolo en caldo con movimientos rotatorios y exprimiéndolo sobre las paredes del tubo, para desprender la muestra. Una vez depositada la muestra en el caldo, este se procesa como una muestra líquida.

Para la toma de muestras en piezas dentales se utilizan dos conos de papel estériles nº30 Maillefer®, los cuales se introducen por 20 segundos hasta su máxima longitud de forma paralela al eje mayor de la pieza dentaria. Los conos se sacan e inmediatamente se introducen en los viales o tubos con el medio de transporte.

En el caso de sospechar *Clostridium* se aconseja realizar un enriquecimiento, y en este proceso se elimina formas vegetativas del bacilo y se conservan las esporas, sometiendo la muestra a calor o tratándola con alcohol.

Siembra y procesamiento de la muestra

Una vez se tenga la muestra homogenizada, se toma en una pipeta Pasteur para la siembra; si el aspecto de la muestra es purulento se deposita una gota de la profundidad del caldo sobre los medios de aislamiento primario; si el aspecto no es purulento se toman de 2 a 3 gotas, para cada uno de los medios. También se toma una gota para realizar un extendido en un portaobjetos para la tinción de Gram y otras coloraciones especiales si es el caso y el resto de la emulsión de la muestra se inocula en un medio líquido de enriquecimiento.

Los líquidos corporales provenientes de cavidades estériles (transudados), como ascítico, de diálisis peritoneal, articular, pericárdico, amniótico, pleural, sinovial, intraocular y otros, se inoculan en frascos de hemocultivo para aerobios y anaerobios, reservando un pequeño volumen para hacer una tinción de Gram. Las muestras que no requieren centrifugación para realizar la coloración de Gram son el líquido amniótico y los líquidos obtenidos por culdocentesis.

La observación de los cultivos se realiza cada 24 horas si la incubación se lleva a cabo en cámara de anaerobiosis; si es el caso de incubación en jarras o cajas plásticas se observa a las 48 horas y de no observarse crecimiento se deja hasta 7 días. Por otro lado, la incubación de la muestra en el medio

líquido de enriquecimiento de debe dejar entre 7 y 10 días y si se observa turbidez o producción de gas como signo de crecimiento, realizar subcultivos en agar sangre y agar chocolate que se incuban en una atmosfera con 10% de CO_2 , y en agar sangre para anaerobios incubado en completa anaerobiosis.

El periodo de incubación, recomendado como mínimo son 7 días, si en este lapso no se detecta crecimiento, se debe incubar nuevamente, ya que hay bacterias anaerobias con un crecimiento más lento antes de reportar el cultivo como negativo. Un caso especial de incubación larga se relaciona con actinomicosis, donde el tiempo de incubación promedio esta entre 2 y 4 semanas, antes de dar un resultado definitivo.

En el caso de que se observe crecimiento en los frascos, con la ayuda de jeringa y aguja estéril, se extrae medio líquido teniendo cuidado de tomar de la porción donde se observe suspensión bacteriana, con esta muestra se realizan los subcultivos, lo cual se realiza en medios sólidos agar sangre, agar chocolate, agar sangre con colistina y ácido nalidíxico y agar MacConkey para aislar bacterias aerobias y facultativas; del frasco anaerobio, hacer subcultivo en agar sangre, agar chocolate y agar sangre para anaerobios, entre otros, de acuerdo con la bacteria que se sospecha.

Métodos de incubación

En el proceso de incubación se debe garantizar la atmósfera que conviene para el desarrollo y aislamiento del o los microorganismos que se sospechan están causando el proceso infeccioso. Cuando se trata de bacterias anaerobias estrictas, en las cámaras para anaerobiosis se obtiene la atmósfera anaerobia óptima producto de una mezcla de gases en concentraciones de 5% de H_2 , 5-10% de CO_2 y 85-90% de N_2 . Incluyen un sistema para el intercambio de gases a partir de tanques exteriores, que se introducen a la cámara mediante boquillas, cuenta con una puerta interior y otra exterior, con

la adición de guantes insertos en el sistema cerrado, los cuales permiten la manipulación de las muestras y evitan exponerlas al oxígeno.

Las jarras son recipientes cilíndricos, generalmente de plástico rígido o acrílico, que tienen un sistema de cerrado hermético; para obtener la atmósfera anaerobia se debe esperar entre 1 y 2 horas después de introducir los sobres generadores de H_2 (GasPak[®], Becton Dickinson), que mediante una reacción exotérmica se combina con el O_2 existente en el ambiente y forma H_2O , mediado por un catalizador compuesto por granalla de zinc y recubierto de paladio, que se ubica generalmente en la tapa de la jarra. Existen otros sistemas en los que no hace falta introducir el catalizador como Anaerogen[®], Oxoid y en sistemas automatizados se utilizan otros como Anoxomat[®]. Como ya se mencionó debe introducirse un indicador de anaerobiosis, que suelen ser trozos de papel con azul de metileno o resazurina, indicadores que en presencia de oxígeno se ponen de color azul o rosado intenso respectivamente y que se decoloran al desaparecer el oxígeno.

También se dispone de otros sistemas como bolsas de plástico transparente, flexible y de cierre hermético como GasPack Pouch[®] (Becton Dickinson), AnaerogenCompact[®] (Oxoid) o BioBag[®]; esta última contiene una ampolla de indicador de anaerobiosis con resazurina y una ampolla generadora de anaerobiosis. Se introducen una o dos placas de Petri antes de sellar la bolsa por calor. Luego se rompen las ampollas de indicador y generador. Las bacterias crecen y se mantienen viables al menos una semana. En estas bolsas se puede observar directamente si existe crecimiento, sin necesidad de abrir y alterar la atmósfera anaerobia. En general estos sistemas de incubación cuentan con generadores e indicadores adecuados, los cuales son muy prácticos también para el transporte de muestras al laboratorio.



Figura 4.4 *Sistemas para incubación en atmósfera anaerobia.*

Tablas y flujogramas de identificación

A continuación, se presenta en cuadros las principales características macroscópicas, microscópicas y bioquímicas de los géneros y especies con mayor implicación en procesos infecciosos.

Cocos Gram positivos

Tabla 4.7. Características microscópicas, macroscópicas y particulares de las especies de cocos Gram

Género <i>Peptococcus</i>			
Especie	Microscopía	Macroscopía	Algunas características
<i>P. niger</i>	Presentan forma cocoide o cocobacilar, las cuales pueden disponerse en forma aislada, en pares, cadenas o racimos. Su diámetro varía de 0.7 a 1.0 micra.	Sus colonias tienen un color marrón o negro característico.	Sensibles a vancomicina (5 µg) y resistentes a colistina (10 µg) Generalmente son sensibles al metronidazol de (5 µg) Indol negativo Nitratos negativo Esculina negativo Gelatina negativo Urea negativo Asacarolítico.
<i>P. anaerobius</i>	Presentan forma cocoide o cocobacilar, las cuales pueden disponerse en forma aislada, en pares, cadenas o racimos. Su diámetro varía de 0.7 a 1.0 micras.	Bacterias de lento crecimiento. Colonias de color gris blanquecino o incoloras y con un diámetro de 0,5 a 2,0	Sensibles a disco de PSS. Catalasa positiva Arginina dihidrolasa negativo fosfatasa alcalina negativo Indol positivo Ureasa negativo Glucosa / maltosa con fermentación débil o negativa.
<i>P. asaccharolyticus</i>	Son cocobacilos grandes que con frecuencia forman cadenas.	Colonias de color gris blanquecino o incoloras y con un diámetro de 0,5 a 2,0.	Inhibición por disco de PSS negativo Catalasa positiva arginina dihidrolasa negativo fosfatasa alcalina negativo Indol positivo Ureasa negativo Coagulasa negativo Asacarolítico.

Género <i>Parvimonas</i>			
Especie	Microscopía	Macroscopía	Algunas características
<i>P. micra</i>	Presentan forma cocoide o cocobacilar, las cuales pueden disponerse en forma aislada, en pares, cadenas o racimos. Su diámetro varía de 0.7 a 1.0 micras.	Colonias pequeñas, con un tamaño que colonia oscila entre 0,5-2 milímetros de diámetro, húmedas y brillantes, de color blanco generalmente y puede observarse un halo de decoloración a su alrededor.	Anaeróbico exigente En el medio (PMM), selectivo y diferencial (agar colistina-ácido nalidixico, complementado con glutatión y acetato de plomo), puede usar la forma reducida de glutatión para formar sulfuro de hidrógeno, que reacciona con el acetato de plomo para formar un precipitado negro debajo de la colonia. Indol y urea negativo capacidad heterofermentativa fuertemente proteolítica Sensibles a disco de PSS, con menor diámetro que <i>P. anaerobius</i>.

Género <i>Peptostreptococcus</i>			
Especie	Microscopía	Macroscopía	Algunas características
<i>Peptostreptococcus</i> spp.	Pueden verse como cocobacilos y formando cadenas. En cultivos viejos suelen verse Gram negativos.	Colonias diminutas, convexas, de color gris a blanco y opacas. Sus bordes son enteros; la superficie puede aparecer "picada" o marcada por depresiones. El tamaño de la colonia oscila entre 0,5-2 milímetros de diámetro.	Indol y urea negativo Capacidad heterofermentativa Producen ácido acético, ácido butírico, ácido isobutírico, ácido isovalérico y ácido isocaproico La mayoría de especies son moderadamente sacarolíticas. Algunas especies muestran resistencia a β - lactámicos de amplio espectro.
<i>P. magnus</i>	Tiene forma cocoide, mide en promedio 0,6 micras de diámetro y se presenta aislado o en masa similar a los <i>Staphylococcus</i> sp.	colonias medianas opacas o brillantes, de color crema o blanquecinas.	Indol y urea negativo Fermenta la glucosa débilmente, pero no otros azúcares. Utiliza la arginina, leucina, tirosina e histidina.
<i>P. asaccharolyticus</i>	Coco Gram positivo, con células pequeñas, esféricas que pueden agruparse en cadenas cortas, en pares o verse individualmente.	Su crecimiento se observa después de 72 horas, con colonias compactas pequeñas de alrededor de 1 milímetro de diámetro, rodeadas por una zona de β - hemólisis.	Producen ácido acético, ácido butírico, ácido isobutírico, ácido isovalérico y ácido isocaproico, como resultado del metabolismo Es asacarolítico.
<i>P. stomatis</i>	Cocos Gram positivos que miden entre 0,8 y 0,9 micras, agrupados en parejas o cadenas cortas-	De crecimiento lento, tras 5 días de incubación aparecen colonias opacas, brillantes, de color crema o blanquecinas y de 0,8 a 1,8 milímetros de diámetro.	débilmente sacarolítica (fructosa, glucosa y maltosa), no hidroliza gelatina ni esulina y no produce catalasa. Alrededor de los discos de SPS dan halos de inhibición de 19 a 25mm. Produce ácido acético, ácido butírico, ácido isobutírico, ácido isovalérico e ácido isocaproico como productos finales del metabolismo.

Género <i>Finegoldia</i>			
Especie	Microscopía	Macroscopía	Algunas características
<i>F. magna</i>	cocos gram-positivos, anaerobios estrictos, no esporulados e inmóviles, cuyas células poseen un diámetro aproximado de 0,6 micras y se disponen en pares, tétradas y acúmulos	tras 72 h de incubación en anaerobiosis, mostraron crecimiento bacteriano. En la placa se observaron colonias pequeñas de 1-2 mm de diámetro, blanco-grisáceas, circulares, con márgenes enteros y no hemolíticas	Anaerobia estricta Se caracteriza por ser asacarolítica, aunque algunas cepas pueden fermentar débil y lentamente la glucosa. Su principal fuente de energía la constituyen aminoácidos y peptonas. Sensible a vancomicina (5 µg) y kanamicina (1.000 µg), y resistente a colistina (10 µg). El disco de polianetol sulfonato de sodio (PSS) no presentó acción inhibitoria. Indol, ureasa, catalasa, fosfatasa alcalina y ácido sulfhídrico son negativos Reducción de nitratos negativo Fermentación de glucosa, lactosa, manosa, rafinosa y ribosa son negativas.
Género <i>Murdochiella</i>			
Especie	Microscopía	Macroscopía	Algunas características
<i>M. asaccharolytica</i>	Cocos Gram positivos pequeños, de 0,5 a 0,6 micras de diámetro, que se agrupan en parejas y cadenas cortas	A los 5 días de incubación da lugar a la aparición de colonias de 2-3 milímetros de diámetro, grises, planas o planoconvexas, circulares, enteras y opacas	Anaerobia estricta Asacarolítica Produce indol, pero no catalasa y ureasa. No reduce los nitratos.

Género <i>Peptoniphilus</i>			
Especie	Microscopía	Macroscopía	Algunas características
<i>P. coxii</i>, <i>P. gorbachii</i>	Cocos Gram positivos pequeños con un diámetro de 0,7 micras.	Crecimiento lento, a los 5 días de incubación da lugar a la aparición de colonias circulares, de color gris, enteras, opacas y de 1 a 2 milímetros de diámetro	Asacarolítica, No produce indol, catalasa, coagulasa ni ureasa No reduce los nitratos. El producto principal del metabolismo es el ácido acético; además, produce cantidades moderadas de ácido butírico y trazas de ácido propiónico.
<i>P. duerdenii</i> <i>P. koenoeneniae</i>	Cocos Gram positivos de 0,7 micras de diámetro	A los 5 días de incubación da lugar a la aparición de colonias de 1-2 milímetros de diámetro, grises, planas o planoconvexas, circulares, enteras y opacas.	Asacarolítica, Produce indol, pero no catalasa y ureasa No reduce los nitratos.
<i>P. tyrrelliae</i>	Cocos Gram positivos de 0,7 micras de diámetro.	Crecimiento lento, a los 5 días de incubación da lugar a la aparición de colonias circulares, enteras, opacas y de 1 a 2 milímetros de diámetro.	Produce indol Catalasa y ureasa negativas No reduce los nitratos.
<i>P. pacaensis</i>	Cocos Gram positivos con un diámetro de 0,6 a 0,8 micras.	Colonias translúcidas y grises con un diámetro de 1-1,5 milímetros.	Negativos para catalasa y oxidasa.

Género <i>Anaerococcus</i>			
Especie	Microscopía	Macroscopía	Algunas características
<i>Anaerococcus spp.</i>	Cocos Gram positivos con un diámetro aproximado de 0,7 micras, dependiendo de la especie, la disposición puede ser diferentes como pares, tétradas, cadenas cortas y formaciones irregulares	Colonias de color blanco con un diámetro medio de 2 milímetros.	La mayoría de las especies de este género son indol negativas y coagulasa negativas. Este género puede fermentar carbohidratos débilmente. Las principales fuentes de uso de energía en su metabolismo son las peptonas y los aminoácidos. Los tres principales azúcares fermentados son glucosa, manosa, fructosa y sacarosa, con la producción de ácidos débiles como ácido butírico, ácido láctico y algo de ácido propiónico y succínico. No obstante, el principal metabolito producido por <i>Anaerococcus</i> es el butirato.
<i>A. mediterraneensis</i>	Cocos Gram positivos con un diámetro aproximado de 0,7 micras	Colonias blancas con un diámetro medio de 2 milímetros.	La actividad de catalasa es positiva La actividad oxidasa es negativa.

Flujogramas de identificación de los cocos Gram positivos anaerobios

COCOS GRAM POSITIVOS ANAEROBIOS

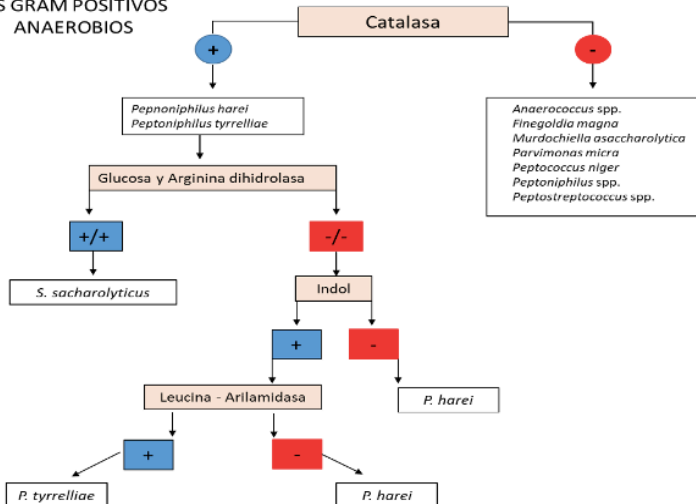


Figura 4.5. Diagrama de identificación cocos Gram positivos anaerobios. Fuente: Corrales, 2024

COCOS GRAM POSITIVOS ANAEROBIOS

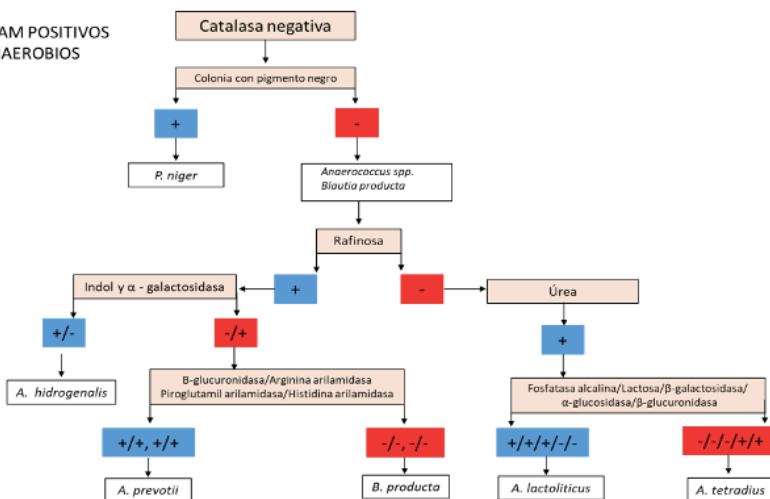


Figura 4.6. Diagrama de identificación cocos Gram positivos anaerobios, catalasa negativa y colonias con pigmento. Fuente: Corrales, 2024

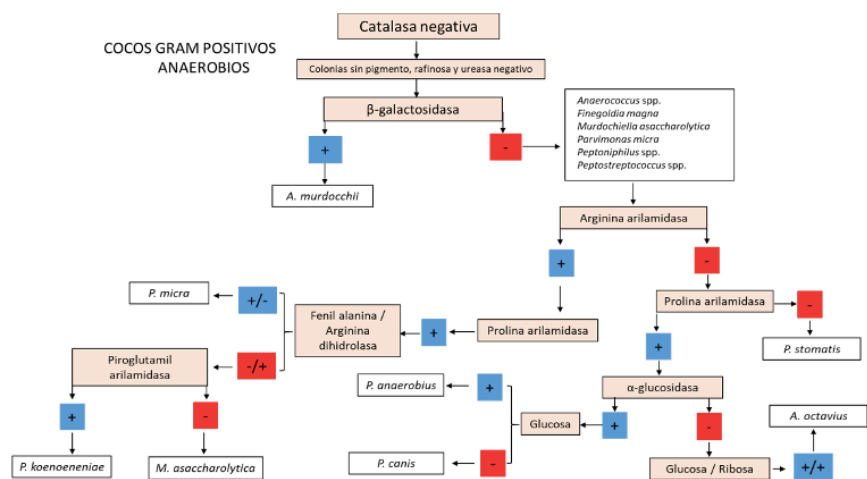


Figura 4.7. Diagrama de identificación cocos Gram positivos anaerobios, catalasa negativa y colonias sin pigmento. Fuente: Corrales, 2024

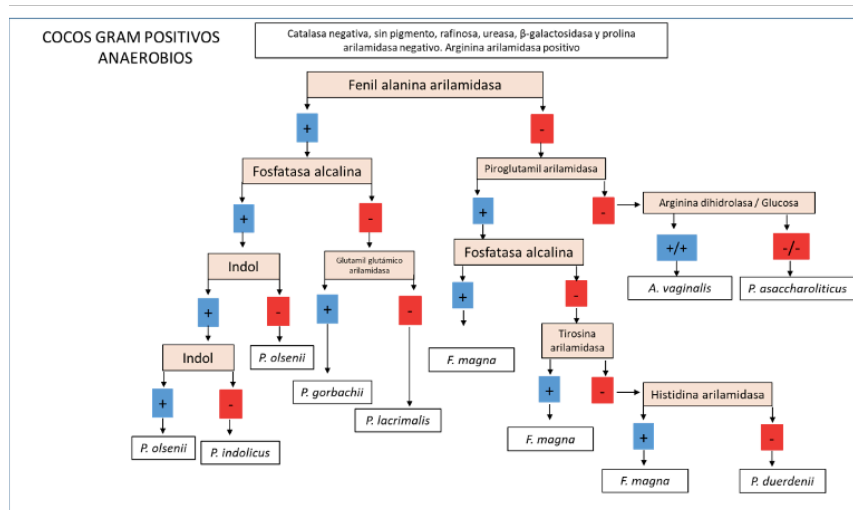


Figura 4.8. Diagrama de identificación cocos Gram positivos anaerobios, de acuerdo con la fenilalanina arilamidasa. Fuente: Corrales, 2024

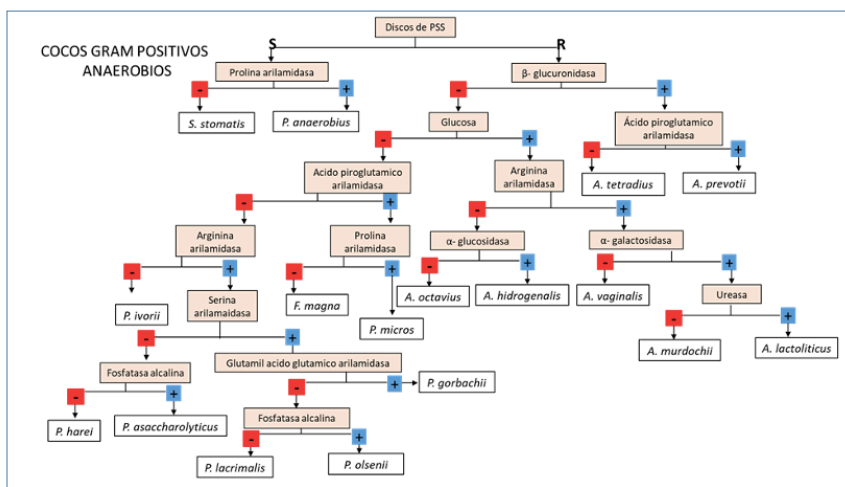


Figura 4.9. Diagrama de identificación cocos Gram positivos anaerobios, de acuerdo con la reacción a los discos PSS. Fuente: Corrales, 2024

Tablas de identificación por pruebas bioquímicas de los cocos Gram positivos anaerobios

Tablas 4.8 – 4.10. Identificación de los cocos Gram positivos anaerobios por especies

Microorganismo	Catalasa	Indol	Ureasa	Arginina	Esculina	Glucosa	Lactosa	Manitol	Manosa	Rafinosa	Fenil alanina	Fosfatasa alcalina	α-galactosidasa	β-galactosidasa	Inhibición por PSS	Pigmento
<i>Finegoldia magna</i>	-	-	-	V	Sin dato	Duda	-	Sin dato	-	-	-	V	-	-	-	-
<i>Murdochella asaccharolytica</i>	-	+	-	+	-	-	-	-	-	-	+ débil	-	-	-	-	-
<i>Parvimonas micra</i>	-	-	-	-	Sin dato	-	-	Sin dato	-	-	+	+	-	-	V	-
<i>Peptococcus niger</i>	-	-	-	-	Sin dato	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Sin Dato	+
<i>Peptostreptococcus anaerobius</i>	-	-	-	-	Sin dato	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-
<i>Peptostreptococcus canis</i>	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Sin dato	-
<i>Peptostreptococcus tomatitis</i>	-	-	-	-	Sin dato	+ débil	-	Sin dato	Sin dato	-	-	-	-	-	+	-

Microorganismo	Catalasa	Indol	Ureasa	Arginina	α -glucosidasa	Glucosa	Lactosa	Ribosa	Manosa	Rafinosa	Fenil alanina	Fosfatasa alcalina	α -galactosidasa	β -galactosidasa	Inhibición por PSS	Pigmento
<i>Anaerococcus hydrogenalis</i>	-	+	V	-	V	+	+		+	+	-	-	-	-	-	-
<i>Anaerococcus lactolyticus</i>	-	-	+	-		+	+		+	-	-	-	-	+	-	-
<i>Anaerococcus murdocchii</i>	-	-	-	+		+	Sin dato		+	-	-	+	-	+	-	-
<i>Anaerococcus octavius</i>	-	-	-	-		+	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-
<i>Anaerococcus prevotii</i>	-	-	V	-	+	V	-	+	V	+	-	-	+	-	-	-
<i>Anaerococcus tetradius</i>	-	-	+	-	+	+	-		+	-	+ débil	-	-	-	-	-
<i>Anaerococcus vaginalis</i>	-	V	-	+		+	-		V	-	-	-	-	-	-	-

Microorganismo	Catalasa	Indol	Ureasa	Arginina	Esculina	Glucosa	Lactosa	Manitol	Manosa	Rafinosa	Fenil alanina	Fosfatasa alcalina	α -galactosidasa	β -galactosidasa	Inhibición por PSS	Ribosa
<i>Peptoniphilus asacharolyticus</i>	-	V	-	-	Sin dato	-	-	Sin dato	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Peptoniphilus harei</i>	+	V	-	-	Sin dato	-	-	Sin dato	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Peptoniphilus Indolicus</i>	-	+	-	-	Sin dato	-	-	Sin dato	-	-	+	+	-	-	-	-
<i>Peptoniphilus Ivorii</i>	-	-	-	-	Sin dato	-	-	Sin dato	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Peptoniphilus duerdeni</i>	-	Sin dato	-	+ débil	Sin dato	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Peptoniphilus gorbachii</i>	-	V	-	-	Sin dato	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-
<i>Peptoniphilus olsenii</i>	-	V	-	-	Sin dato	-	-	Sin dato	-	-	+	+	-	-	-	-

Pruebas confirmatorias: microsistemas de pruebas bioquímicas, ELISA, radioinmunoensayo, coaglutinación, aglutinación en látex, moleculares, cromatografía gas – líquido.

Cocos Gram negativos

Tabla 4.11. Características microscópicas, macroscópicas y particulares de las especies de cocos Gram negativos

Género Veillonella			
Especie	Microscopía	Macroscopía	Algunas características
<i>V. parvula</i>	Cocos Gram negativos que miden de 0,3-0,5 micras de diámetro, dispuestos en pares (diplococos), cadenas y grupos.	Las colonias de esta especie en agar Veillonella miden aproximadamente de 2 a 4 milímetros de diámetro, con bordes enteros y de color blanco grisáceo.	Oxidasa negativa Catalasa positiva Reduce los nitratos Metabolizan el lactato y succinato Reducen la cisteína, cistina, tiosulfato con formación de radicales SH ₂ . Esta especie produce gas, y como productos finales principales del metabolismo produce lactato y propionato. Son sensibles a colistina (10 µg) y resistente a la vancomicina (5 µg) .
<i>V. montpellierensis</i>	Cocos Gram negativos que miden 0,3-0,5 micras de diámetro, dispuestos en pares(diplococos), cadenas y grupos.	En el medio agar sangre Columbia miden de 1 a 3 milímetros de diámetro, con superficie lisa, opacas y de color blanco grisáceo.	Oxidasa negativa Catalasa positiva Produce gas Reduce el nitrato Productos finales principales del metabolismo: lactato y propionato.
<i>V. atypica</i>	Cocos Gram negativos que miden 0,3-0,5 micras de diámetro, dispuestos en pares(diplococos), cadenas y grupos.	En el medio agar sangre Columbia miden de 1 a 3 milímetros de diámetro, con superficie lisa, opacas y de color blanco grisáceo.	Oxidasa negativa Catalasa positiva Reduce el nitrato Prueba de tolerancia al oxígeno: anaerobio obligado.

<i>V. rogosa</i>	Cocos Gram negativos 0,3-0,5 micras de diámetro, dispuestos en pares (diplococos), cadenas y grupos.	En el medio agar sangre Columbia miden de 1 a 3 milímetros de diámetro, con superficie lisa, opacas y de color blanco grisáceo.	Oxidasa negativo Catalasa positiva Reduce el nitrato No hidroliza la esculina ni la arginina No produce ácidos a partir de los carbohidratos Produce piroglutámico a partir de la arilamidasa Fosfatasa variable Principales productos del metabolismo: acetato y propionato.
<i>V. denticariosi</i>	Cocos Gram negativos que miden 0,3-0,5 micras de diámetro, dispuestos en pares (diplococos), cadenas y grupos.	En el medio agar sangre Columbia miden de 1 a 3 milímetros de diámetro, con superficie lisa, opacas y de color blanco grisáceo.	Oxidasa negativo Catalasa positiva Reduce el nitrato Y otras características similares a las otras especies.
Género <i>Megasphaera</i>			
Especie	Microscopía	Macroscopía	Algunas características
<i>M. elsdenii</i> y otras especies	Su diámetro varía entre 1,7 y 2,6 micras cocos Gram negativos relativamente grandes, agrupados en pares, rara vez agrupados en cadena.	son capaces de proliferar a valores de pH relativamente bajos, inferiores a pH 5,0 y tan bajos como de 4,5 y con velocidad de crecimiento relativamente baja.	Inmóviles Anaerobios obligados Utiliza una variedad de fuentes de carbono, incluidos succinato, gluconato, fructosa, ribosa y piruvato, así como muchos aminoácidos individuales. Fermenta el lactato principalmente a butirato, propionato, isobutirato, valerato, CO ₂ , H ₂ Fermentan la glucosa y la maltosa, y producen múltiples ácidos grasos, incluyendo el ácido caproico.

Género <i>Negativicoccus</i>			
Especie	Microscopía	Macroscopía	Algunas características
<i>N. succinivorans</i>	Coco Gram negativo de 0,4 micras de diámetro.	Crecimiento rápido; a las 48 horas de incubación produce colonias de 0,5 milímetros circulares, convexas y translúcidas El succinato sódico estimula su crecimiento.	Anaerobio y microaerófilo Inmóvil Asacarolítico Es resistente a vancomicina, colistina y metronidazol Sensible a kanamicina. Crece en medios con bilis Produce ácido acético y propiónico y trazas de 2-hidroxisalicílico.
<i>N. massiliensis</i>	Forma cocoide de 0,2 a 0,5 micras de diámetro. Gram negativa.	Colonias circulares, translúcidas y muy pequeñas de 0.5 milímetros de diámetro después de 72 horas de incubación.	Anaerobia Inmóvil, Catalasa negativa Oxidasa negativa.
Género <i>Acidaminococcus</i>			
Especie	Microscopía	Macroscopía	Algunas características
<i>A. fermentans</i> <i>A. intestini</i>	Cocos Gram negativos solos o asociados en pareja con un diámetro de 0,5 a 0,6 micras.	Producen colonias no pigmentadas ni hemolíticas de 0,3 a 0,5 milímetros de diámetro tras 2 días de incubación.	Utilizan aminoácidos como fuente de energía para el crecimiento Produce ácido butírico como producto del metabolismo fermentativo y en menor proporción ácido propiónico. Tiene actividad ácido glutámico arilamidasa y leucil glicina arilamidasa.

Género <i>Dialister</i>			
Especie	Microscopía	Macroscopía	Algunas características
<i>Dialister pneumosintes</i>	cocos y cocobacilos Gram negativos muy pequeños que miden 0,2 a 0,4 micras de diámetro por 0,3 a 0,6 micras de largo	Las colonias son translúcidas o transparentes de 0,5 a 0,7mm tras 7 días de incubación	inmóviles, no esporulados, no producen catalasa, son asacarolíticos y bastante inactivos y pueden ser microaerófilos Produce ácido acético y ácido propiónico
<i>Dialister invisus</i>	Se presentan aislados, en parejas, en cadenas cortas y pequeños grupos	Las colonias son translúcidas o transparentes de 0,5 a 0,7mm tras 7 días de incubación	inmóviles, no esporulados, no producen catalasa, son asacarolíticos y bastante inactivos
<i>Dialister microaerophilus</i>	Se presenta como elementos aislados, en parejas o en grupo	colonias translúcidas y muy pequeñas en agar sangre (0,5mm)	capacidad de crecer en microaerofilia actividad fenilalanina arilamidasa y tirosina arilamidasa No se detectan ácidos grasos como productos finales de su metabolismo

Flujograma de identificación de los cocos anaerobios

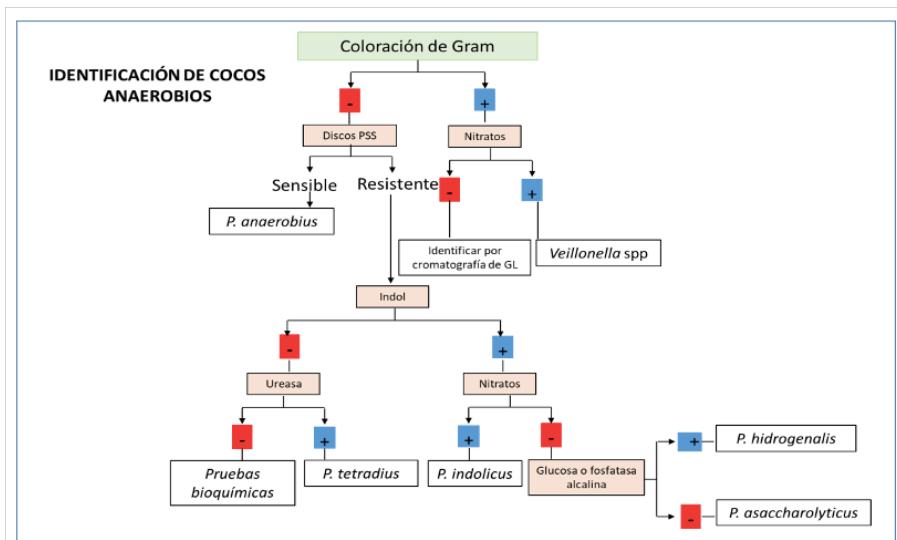


Figura 4.10. Identificación de cocos anaerobios. Fuente: Corrales, 2024

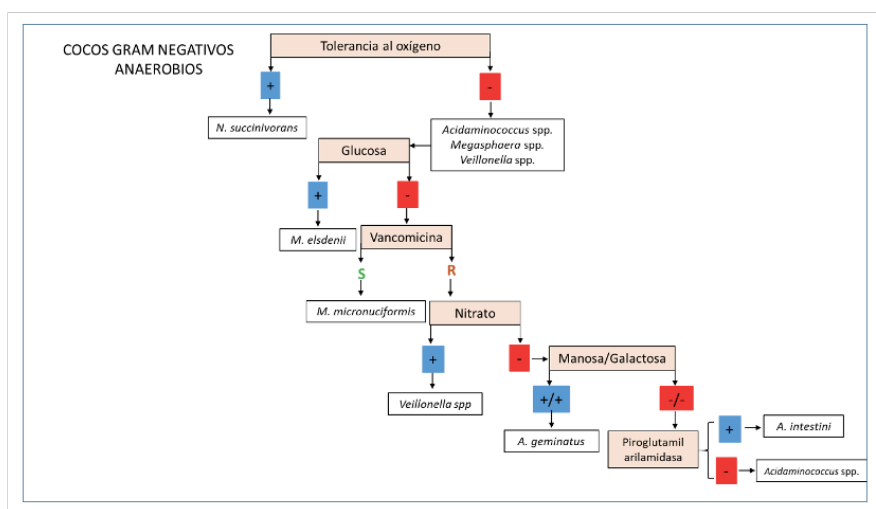


Figura 4.11. Identificación de cocos Gram negativos anaerobios. Fuente: Corrales, 2024

Tablas de identificación por pruebas bioquímicas de los cocos Gram negativos anaerobios

Tablas 4.12- 4.14. Identificación por especies de los cocos Gram negativos anaerobios

Microorganismo	Microaerobiosis	Resistencia a la bilis 20%	Vancomicina (5ug)	Colistina (10ug)	Kanamicina (1000ug)	Catalasa	Reducción nitratos	Glucosa	Galactosa	Manosa
<i>Veillonella parvula</i>	-	S	R	S	S	V	+	-	-	-
<i>Veillonella atípica</i>	-	S	R	S	S	V	+	-	-	-
<i>Veillonella denticariosi</i>	-	S	R	S	S	V	+	-	-	-
<i>Veillonella dispar</i>	-	S	R	S	S	V	+	-	-	-
<i>Veillonella rogosa</i>	-	S	R	S	S	V	+	-	-	-
<i>Veillonella tobetsuensis</i>	-	S	R	S	S	V	+	-	-	-

Microorganismo	Microaerobiosis	Resistencia a la bilis 20%	Vancomicina (5ug)	Colistina (10ug)	Kanamicina (1000ug)	Catalasa	Reducción nitratos	Glucosa	Galactosa	Manosa
<i>Acidaminococcus fermentans</i>	-	S	R	S	S	-	-	-	-	-
<i>Acidaminococcus intestini</i>	-	S	R	S	S	-	-	-	-	-
<i>Acidaminococcus geminatus</i>	-	S	R	S	S	-	-	-	+	+
<i>Megasphaera micronuciformis</i>	-	S	S	S	S	-	-	-	-	-
<i>Megasphaera elsdenii</i>	-	Sin dato	Sin dato	Sin dato	Sin dato	-	-	+	-	-
<i>Negativicoccus succinivorans</i>	+	Sin dato	Sin dato	Sin dato	Sin dato	Sin dato	-	-	-	-

Cocos Gram negativos anaerobios		
<i>Dialister invisus</i>	-	Ureasa
<i>Dialister microaerophilus</i>	-	Indol
<i>Dialister propionifaciens</i>	-	Arginina dihidrolasa
	-	Nitratos
	-	α - glucosidasa
	-	β - glucosidasa
	-	β - galactosidasa
	-	β - NAG
	+	Fenil alanina arilamidasa
	-	Manosa
	-	Rafinosa
	S	S/R Kanamicina 1000 mcg
	R	S/R Colistina 10 mcg
	R	S/R Vancomicina 5 mcg
	S	S/R Metronidazol 5 mcg
	S	S/R discos de bilis 20%--

Pruebas confirmatorias: Microsistemas de pruebas bioquímicas, ELISA, radioinmunoensayo, coaglutinación, aglutinación en látex, moleculares, cromatografía gas – líquido.

Bacilos Gram positivos

Tabla 4.15. Características microscópicas, macroscópicas y particulares de las especies de bacilos Gram positivos

Género <i>Actinomyces</i>			
Especie	Microscopía	Macroscopía	Algunas características
<i>A. israelii</i>	Bacilo Gram positivo que se observa en forma de filamentos delgados, ramificados, difteroides o hasta cocobacilares.	El crecimiento de <i>Actinomyces</i> es lento; aparece en al menos 5 días y puede tardar hasta 15-20 días. Las colonias forman estructuras semejantes en forma a las hifas de los hongos o pueden ser blancas o crema, lisas y brillantes y también en forma de molar y miden 1- 2 milímetros de diámetro.	En general es de crecimiento lento, anaerobia estricta y no hemolítica. Catalasa negativa Indol negativa Licuefacción de la gelatina negativa Reducción de nitratos variable Hidrólisis del almidón positiva A partir de la glucosa produce ácido fórmico, acético y láctico.
<i>A. timonensis</i>	Bacilo Gram positivo recto, que mide desde 1,0 hasta 3,2 micras de largo por 0,3- a 0,5 micras de diámetro	A las 48 h da colonias puntiformes en agar sangre. Miden desde 0.5 hasta 2 milímetros de diámetro.	Es sacarolítico. No produce catalasa ni oxidasa. Crece en microaerofilia y con 5% de CO ₂

Género <i>Mobiluncus</i>			
Especie	Microscopía	Macroscopía	Algunas características
<i>M. curtisii</i>	Bacilos curvos, extremos agudos, no capsulado, Gram positivos o Gram variables, se presentan individualmente o en pareja con una apariencia de gaviotas. Mide 1,5 a 3.0 micras de longitud y menos de 0,5 micras de ancho.	Es un género difícil de cultivar, y requiere medios suplementados con proteosa - peptona, hemina, menadiona, extracto de levadura, digerido de hígado, eritrocitos, y antibióticos como trimetoprim. polimixina B y vancomicina. A los 5 días, origina colonias pequeñas de 1 - 2 milímetros de diámetro o medianas de 2 a 4 milímetros, incoloras, planas convexas, lisas, translúcidas con bordes enteros.	Anaerobio estricto. Móviles por múltiples flagelos subpolares o penacho. Catalasa y oxidasa negativa. Reducción de nitratos positiva. Fermentación de inositol y maltosa. Producen succinato y acetato como producto final
<i>M. mulieris</i>	2,9 micras de longitud y menos de 0,5 micras de diámetro.	Colonias pequeñas de 1 - 2 milímetros de diámetro o medianas de 2 a 4 milímetros, incoloras, planas convexas, lisas, translúcidas y de bordes enteros	Se diferencia de <i>M. curtisii</i> , porque no reduce los nitratos. Indol negativo Fermenta inositol y maltosa.
Género <i>Eubacterium</i>			
Especie	Microscopía	Macroscopía	Algunas características
<i>E. brachy</i>	Bacilo o cocobacilos Gram positivos	Crecimiento anaeróbico lento las colonias miden 0,5 a 1,0 milímetro de diámetro, con forma lenticular y aspecto transparente - translúcido	Movilidad variable No sacarolítico Generalmente es poco reactivo en las pruebas bioquímicas. Requieren para su crecimiento vitamina K1 y hemina.
<i>E. rectale</i>	Bacilo o cocobacilos Gram positivo	Crecimiento anaeróbico lento las colonias miden 0,5 a 1,0 milímetro de diámetro	Productor de butirato. Consume una gama limitada de sustratos, incluido el almidón

Género <i>Propionibacterium</i>			
Especie	Microscopía	Macroscopía	Algunas características
<i>Propionibacterium spp.</i>	Son bacilos Gram positivos pleomórficos, En forma de varillas, las cuales pueden tener ramificaciones o no. Además, se han reportado células en forma de cocos, individuales o asociadas en pares y cadenas cortas y algunas veces en caracteres chinos. Miden de 1,0 – 5,0 micras de largo por 0,5 – 0,8 micras de diámetro. No presentan una cápsula ni flagelos.	Son mesófilos, con una temperatura óptima de crecimiento entre 30 y 37 °C. Las colonias son convexas, brillantes y semiopacas. De igual forma, se han observado colonias que presentan cierta pigmentación, la cual va desde el banco, hasta el rojo.	Anaerobias y facultativas. Inmóvil. Son anaerobias o microaerotolerantes, quimioheterótrofas. Catalasa, indol y nitratos positivos. Fermentación de azúcares a ácido propanoico. Utiliza glucosa o el lactato y los transforma en ácido propiónico y ácido acético. También produce vitamina B12.
<i>P. freudenreichii</i>	Bacilos pleomórficos, difteroides, ramificados.	Colonias redondas, ligeramente convexas de color blanco – crema.	Hidrólisis de la esculina positiva. Licuefacción de la gelatina negativa. Producción de ácido a partir de inositol, lactosa, maltosa y sucrosa.

Género <i>Gordonibacter</i>			
Especie	Microscopía	Macroscopía	Algunas características
<i>G. pamelaee</i>	Cocobacilo Gram positivo.	Colonias pequeñas, blanquecinas y translúcidas. En agar sangre a los 2 días de incubación son grises, no hemolíticas y de 0,5 milímetros de diámetro.	Movilidad positiva, por flagelos subpolares. Catalasa positiva y no reduce los nitratos.

Género <i>Scardovia</i>			
Especie	Microscopía	Macroscopía	Algunas características
<i>S. wiggsiae</i>	Bacilos pleomórficos que pueden ser rectos, ligeramente curvos y a veces con forma de mazo, que aparecen aislados en parejas o cadenas cortas, con alguna ramificación y aspecto difteroides.	Crecimiento lento, tras 7 días de incubación da lugar a colonias de 0,4 a 1,2 milímetros de diámetro, pleomórficas, circulares, irregulares o con aspecto molar, enteras u onduladas, grises, blanquecinas o crema, convexas y opacas	Sacarolítica. No produce indol, ureasa ni catalasa No reduce los nitratos. Los productos finales del metabolismo son ácido acético y ácido láctico.
Género <i>Cutibacterium</i>			
Especie	Microscopía	Macroscopía	Algunas características
<i>C. acnes</i>	Bacilo Gram-positivo, de crecimiento relativamente lento y anaerobio, tamaño pequeño y se agrupa en empalizadas o letras chinas.	Colonias color blanco-crema con un diámetro de 0,5 milímetros, β hemolíticas. Tiene la capacidad de formar biofilm.	Pueden tener aerotolerancia. Produce proteasas, catalasa, hialuronidasa, lipasa, fosfolipasa C, neuraminidasa, fosfatasa ácida. La clasificación de biotipos está basada en la capacidad de fermentación de tres azúcares (ribosa, eritritol, sorbitol) y los serotipos en la detección de la galactosa en la pared.
Género <i>Lactobacillus</i>			
Especie	Microscopía	Macroscopía	Algunas características
<i>Lactobacillus</i> spp.	Bacilos Gram positivos, que miden en promedio 1.6 – 2.0 micras de largo x 0.60 micras de diámetro.	Facultativas o microaerófilas. Colonias blancas cremosas grandes o pequeñas de acuerdo con la especie.	Algunos <i>lactobacilos</i> poseen un metabolismo homofermentativo (es decir, producen solo ácido láctico partir de azúcares. otras especies también producen alcohol (son hetero fermentativas). Son catalasa y oxidasa negativo. Son aerotolerantes a pesar de la ausencia de cadena respiratoria. Son generalmente inmóviles. Fermentan azúcares como trehalosa, melobiosa, rhamnosa y lactosa.

Género <i>Eggerthella</i>			
Especie	Microscopía	Macroscopía	Algunas características
<i>Eggerthella</i> spp.	Bacilos cocoides, con forma difteroide grampositivos.	Colonias de aspecto liso, sin pigmento	Anaerobio obligado. Catalasa negativa. Indol negativo. No se encuentra bien caracterizada debido a dificultades de identificación. Reducción de nitratos variable. Producen ácido como resultado del metabolismo fermentativo. Es un patógeno emergente
Género <i>Atopobium</i>			
Especie	Microscopía	Macroscopía	Algunas características
<i>A. vaginae</i>	Cocobacilo Gram positivo en forma de bastón o elíptico que se encuentra cómo elemento individual, en pares o cadenas cortas.	Forman pequeñas colonias en agar sangre a 37 ° C	Anaeróbico facultativo. Positivo para fosfatasa ácida. Hidroliza la arginina, glicina, serina y la histidina. Ureasa e indol negativos. No reduce los nitratos. Hidrólisis de la gelatina y la esculina negativos.
Género <i>Catabacter</i>			
Especie	Microscopía	Macroscopía	Algunas características
<i>Catabacter</i> spp.	Cocobacilos Gram positivos	Colonias puntiformes a las 48 horas y no hemolíticas.	Móviles por un penacho lateral de flagelos. Aerotolerante y sensible a la bilis. Fermenta arabinosa, glucosa, manosa y xilosa. Actividad ureasa negativa y son inactivos frente a los aminoácidos.

Género <i>Moryella</i>			
Especie	Microscopía	Macroscopía	Algunas características
<i>Moryella</i> spp.	Bacilo estructuralmente Gram positivo, pero que se observa como Gram variable, mide 0,8 a 1,7 micras de largo por 0,5 a 0,6 micras de diámetro. A veces se observa deforme, con extremos afilados, aislado, en parejas y a veces en cadena	Tras 24 a 48 horas de incubación da lugar a la aparición de colonias puntiformes o muy pequeñas que miden de 0,5 a 1,0 milímetro de diámetro.	Es inmóvil. Débilmente sacarolítico. Fermenta glucosa, galactosa, maltosa y ribosa de forma variable- No produce catalasa. No hidroliza la gelatina ni la esculina- No reduce los nitratos. Es sensible a kanamicina, colistina, vancomicina, metronidazol y bilis. Produce ácidos acético, butírico y láctico como productos finales principales del metabolismo.

Flujogramas de identificación de los bacilos Gram positivos anaerobios

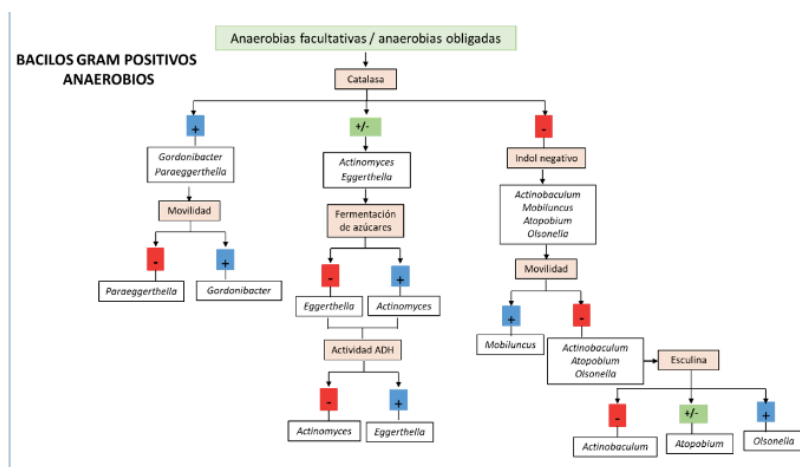


Figura 4.12. Identificación de Bacilos Gram positivos anaerobios facultativos y obligados. Fuente: Corrales, 2024

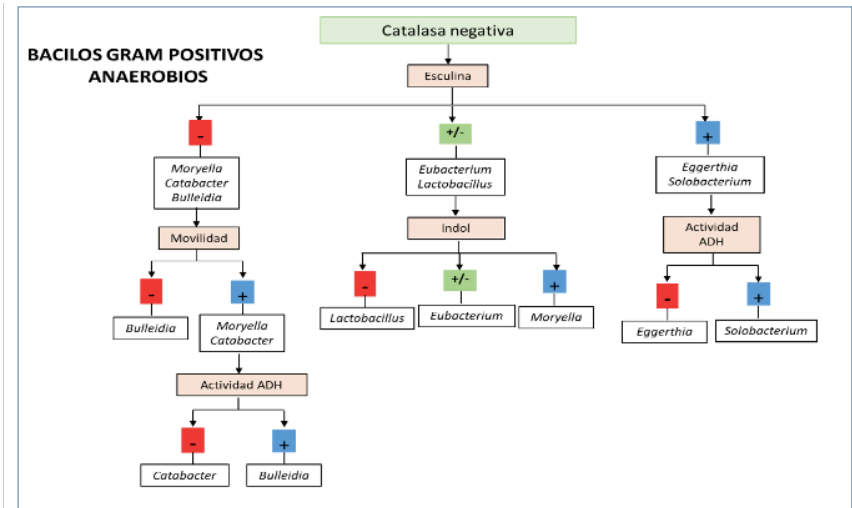


Figura 4. 13. Identificación de Bacilos Gram positivos anaerobios catalasa negativa. Fuente: Corrales, 2024

Tablas de identificación por pruebas bioquímicas de los bacilos Gram positivos anaerobios

Tablas 4.16 – 4.21. Identificación por especies de los bacilos Gram positivos anaerobios

Microorganismo	Nitratos	Movilidad	Esculina	Arabinosa	Glucosa	Maltosa	Manitol	Rafinosa	Trehalosa	Prueba de CAMP	α-glucosidasa	β-galactosidasa	β-glucosidasa	B-NAG	Arginina dihidrolasa	Fosfatasa alcalina	Almidón	Hipurato
Actinomyces cardiffensis	V	-	-	-	+	V	V	V	-	-	+	-	-	-	-	-	Sin dato	Sin dato
Actinomyces dentalis	-	-	+	-	+	+	+	+	-	-	+	V	+	-	-	-	Sin dato	Sin dato
Actinomyces hongkongensis	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	Sin dato	+
Actinomyces israelii	+/-	-	+	+/-	+	+	+	+	+/-	-	+	+	+	-	+	-	Sin dato	Sin dato
Actinomyces meyeri	-	-	-/+	V	+	V	-	-	-	V	+	+	-	+	V	-	Sin dato	Sin dato
Actinomyces nasicola	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+	+	V	+	V	-	Sin dato	Sin dato
Mobiluncus curtisii	-/+	+	-/+	-	V	V	-/+ débil	-/+ débil	-	+	V	+/-	-	-	+	-	+	+/-

Microorganismo	Catalasa	Indol	Ureasa	Nitratos	Movilidad	Hidrólisis esculina	Hidrólisis gelatina	Crecimiento en bilis	Glucosa	Manitol	Rafinosa
<i>Cutibacterium acnes</i>	+/-	+/-	-	+/-	-	-	+	+	+/-	+/-	-
<i>Propionibacterium acidifaciens</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+
<i>Propionibacterium avidum</i>	+	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+/-
<i>Propionibacterium granulosum</i>	+	-	-	-	-	-	-/+	-	+	+	+/-
<i>Propionibacterium propionicum</i>	-	-	-	+	-	-	D	-	+	D	+

Microorganismo	Catalasa	Indol	Nitratos	Movilidad	Hidrólisis esculina	β-galactosidasa	Arginina dihidrolasa	Prolina arilamidasa	Glucosa	Manosa	Rafinosa	Ribosa	Sacarosa
<i>Atopobium minutum</i>	-	-	-	-	-/+	-	+	+	+	+	-	-	-
<i>Atopobium parvulum</i>	-	-	-	-	+/-	+	-	-	+	+	-	-	+
<i>Atopobium rimaie</i>	-	-	-	-	+/-	-	V	-	+	+	-	+	+
<i>Atopobium vaginae</i>	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-
<i>Olsonella profusa</i>	-	-	-	-	+	+	-	-	+	+	+	-	+
<i>Olsonella uli</i>	-	-	-	-	+	-	+	V	+	+	-	-	+

Microorganismo	Catalasa	Indol	Nitratos	Hidrólisis esculina	Glucosa	Lactosa	Maltosa	Manitol	Rafinosa	Movilidad	H ₂ S	Hidrólisis gelatina	Hidrólisis almidón	Arginina dihidrolasa	Voges Proskauer
<i>Eubacterium brachy</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Sin dato
<i>Eubacterium limosum</i>	-	-	-	+	+	-	-/+ lento	-/+ Lento	-	-	V	V	-/+	V	+/-
<i>Eubacterium minutum</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Sin dato
<i>Eubacterium nodatum</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	V	Sin dato
<i>Eubacterium rectale</i>	-	-	-	+	+	+/-	+	-/+	+	V	-	-	+	Sin dato	-/+
<i>Eubacterium saburreum</i>	-	+	-	+	+	V	V	-/+	V	-	-	-	-	+	-
<i>Eubacterium sulci</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Eubacterium tenue</i>	-	+	-	-	+lento /-	-	+lento /-	-	-	V	+	+	-	Sin dato	Sin dato
<i>Eubacterium yurii</i>	-	+	-	-	-/+ lento	-	-/+ lento	-	-	-	+	-	-	-	-

Microorganismo	Catalasa	Indol	Nitratos	Hidrólisis esculina	Glucosa	Lactosa	Maltosa	Manitol	Rafinosa	Movilidad	Arginina dihidrolasa	Hidrólisis gelatina	H ₂ S	Arginina arilamidasa	Crecimiento en bilis
<i>Collinsella aerofaciens</i>	-	-	-	V	+	+	+	+	-/+	-	+	Sin dato	Sin dato	+	Sin dato
<i>Collinsella intestinalis</i>	Sin dato	Sin dato	Sin dato	Sin dato	+	-	-	+	-	-	+	Sin dato	Sin dato	-	Sin dato
<i>Collinsella stercoris</i>	Sin dato	Sin dato	Sin dato	Sin dato	+	+	+	+	-	-	+	Sin dato	Sin dato	-	Sin dato
<i>Collinsella tanakaei</i>	-	-	-	-	+	+	+	+	-	-	+	-	Sin dato	+	+
<i>Eggertella lenta</i>	V	-	V	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+	Sin dato	+
<i>Eggertella sinensis</i>	+	-	-	Sin dato	-	-	-	-	-	-	+	Sin dato	Sin dato	Sin dato	Sin dato
<i>Paraeggerthella hongkongensis</i>	+	-	-	Sin dato	-	-	-	-	-	-	+	Sin dato	Sin dato	Sin dato	Sin dato
<i>Filifactor alocis</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	Sin dato	Sin dato	Sin dato
<i>Shuttleworthia sattles</i>	-	+	-	+	+	V	+	-	-	-	-	-	-	Sin dato	-
<i>Solobacterium moorei</i>	-	-	-	+	+	-	+	-	-	-	+	-	-	Sin dato	-

Microorganismo	Tolerancia al O ₂	Catalasa	Movilidad	Nitratos	Glucosa	Lactosa	Manitol	Rafinosa	Ramnosa	Sacarosa	Salicina	Trehalosa	Xilosa	Arginina dihidrolasa	Hidrólisis esculina	Hidrólisis almidón	Hidrólisis gelatina
<i>Lactobacillus acidophilus</i>	-/+	-	-	-	+	+	-	+/-	-	+	+	+/-	-	-	+	V	Sin dato
<i>Lactobacillus casei</i>	-	-	-	-	+	+	+	-	-	+	+	+	-	-	+	Sin dato	Sin dato
<i>Lactobacillus fermentum</i>	+	-	-	-/+	+	+	-	+	-	+	-	+/-	+/-	+	+	Sin dato	Sin dato
<i>Lactobacillus gasseri</i>	+	-	-	-	+	+/-	-	+/-	-	+	+	+/-	-	-	+	+/-	Sin dato
<i>Lactobacillus paracasei</i>	+	-	-	-	+	+/-	+	-	-	+	+	+	-	-	+	Sin dato	Sin dato
<i>Lactobacillus plantarum</i>	+	-/+ lento	-	-/+	+	+	+	+	V	+	+	+	+/-	-	+	Sin dato	+
<i>Lactobacillus rhamnosus</i>	+	-	-	-	+	+	+	-	+	+	+	+	-	-	+	Sin dato	Sin dato
<i>Lactobacillus ultunensis</i>	-/+ lento	-	-	-	+	+	-	+/-	-	+	+	+	-	Sin dato	+	Sin dato	Sin dato

Pruebas confirmatorias: microsistemas de pruebas bioquímicas, ELISA, radioinmunoensayo, coagulación, aglutinación en látex, moleculares, cromatografía gas – líquido.

Bacilos Gram negativos

Tabla 4.22. Características microscópicas, macroscópicas y particulares de las especies de bacilos Gram negativos

Género <i>Porphyromonas</i>			
Especie	Microscopía	Macroscopía	Pruebas de identificación
<i>P. gingivalis</i>	Bacilo Gram negativo, mide 0,7-1 micra de diámetro $\times$ 0,8-6 micras de largo. Generalmente presenta cápsula.	Produce colonias pigmentados, que varían del marrón a negro, debido a la formación de protoporfirina a partir del grupo hemo de la Hemoglobina. Bajo luz UV (366 nm), las especies pigmentadas dan fluorescencia rosa-anaranjado a roja. Son rugosas, convexas, de forma circular y difícil de disgregar o pueden ser de borde liso, de color marrón oscuro, poca elevación y fáciles de disgregar. Miden en promedio 1 milímetro de diámetro.	Inmóviles Anaerobios estrictos Asacarolíticos Se inhiben en presencia de bilis al 20 %. Sensibles a la vancomicina y resistentes a la kanamicina y a la colistina. Produce enzimas como fosfatasa ácida y alcalina, fosfolipasa A, heparinasa, desoxirribonucleasa y gelatinasa.
<i>P. endodontalis</i>	Bacilo Gram negativo, mide 0,6-0,9 micras de diámetro $\times$ 0,8-6 micras de largo.	Colonias de aparición a las 48 horas de incubación, pigmentadas de negro. Miden en promedio 1 milímetro de diámetro.	Inmóvil Muy sensible al oxígeno Asacarolítica Posee collagenasas y proteasas
<i>P. brennisonis</i>	Bacilo Gram negativo, mide 0,6-1 micra de diámetro $\times$ 0,8-6 micras de largo.	Es de crecimiento rápido, a las 48 h de incubación las colonias son pequeñas circulares, enteras, convexas y ligeramente hemolíticas. A los 10 días se pigmentan ligeramente pero no dan fluorescencia roja a la luz UV.	Inmóvil, asacarolítica. Sensible a la bilis. Licua la gelatina No produce indol, ni ureasa No hidroliza la esculina. No reduce los nitratos. Produce ácidos acético y succínico como principales productos del metabolismo de la glucosa.

Género <i>Prevotella</i>			
Especie	Microscopía	Macroscopía	Pruebas de identificación
<i>Prevotella spp.</i>	Se observan como bacilos o cocobacilos Gram negativos, pleomórficos, generalmente miden de 0,4 a 0,7 micras de diámetro x 1,5 a 2,0 micras de largo y ocasionalmente pueden llegar a medir hasta 12 micras de longitud.	Algunas especies dan colonias negras. Miden 0,5 a 2 milímetros de diámetro, con forma circular de borde continuo, poco convexas, translúcida, lisa y β -hemolítica; las colonias más grandes pueden ser opacas. La colonia al inicio presenta un color gris marrón rojizo, a partir del cuarto día de incubación se presenta una pigmentación de café a negra, producto de la acumulación del pigmento hierro protoporfirina IX y como un mecanismo para defenderse del H_2O_2 ; la intensidad y la velocidad de la pigmentación dependen del tipo de sangre, la hemólisis, temperatura, el pH, y la presencia de otras bacterias.	Son anaerobios estrictos. Inmóviles. Sensibles a la bilis (20%) Débilmente sacarolíticos, con producción de ácido acético y ácido succínico. Indol positivo. Produce ácido a partir de fructosa, glicógeno, inulina, maltosa, rafinosa, almidón y sucrosa. Emiten fluorescencia de color rojo brillante bajo la luz ultravioleta 365 nm.
<i>P. bivia</i>	Bacilos Gram negativos que miden 0,8–3,0 micras de largo x 0,5–1.5 micras de diámetro.	Produce colonias no pigmentadas. A las 48 horas de incubación son blancas, lisas y brillantes, de menos de 1 milímetro de diámetro.	Inmóviles. Relativamente aerotolerantes. Moderadamente sacarolíticos sobre glucosa, lactosa, maltosa Hidroliza la esculina, pero no la gelatina. Produce alfafucosidasa Produce betagalactosidasa-6-fosfato.

Género <i>Prevotella</i>			
Especie	Microscopía	Macroscopía	Pruebas de identificación
<i>P. amnii</i>	Bacilos o cocobacilos Gram negativos que miden 0,8–3,0 micras de largo × 0,5–1.5 micras de diámetro	Produce colonias no pigmentadas. A las 48 horas de incubación son blancas, lisas y brillantes, de menos de 1 milímetro de diámetro.	Inmóviles. Relativamente aerotolerantes, hasta por 6 horas al igual que <i>P. bivia</i> . Moderadamente sacarolítica sobre glucosa, lactosa, maltosa. Hidroliza la esculina pero no la gelatina.
<i>P. bergensis</i>	Bacilos o cocobacilos Gram negativos que miden 0,7–0,8 micras de diámetro × 0,8–6 micras de largo Presenta cápsula.	Es de crecimiento moderadamente lento, las colonias se observan en promedio a los 4 días, no pigmentadas de 0,6 a 0,8 milímetros de diámetro, opacas y de coloración gris a blanquecina.	Inmóvil. Sacarolítica, fermenta celobiosa, fructosa, glucosa, lactosa, maltosa, manosa, ramnosa, salicina y xilosa y además, como <i>Prevotella buccae</i> , <i>Prevotella dentalis</i> , <i>Prevotella oris</i> y <i>Prevotella salivae</i> , fermenta arabinosa, a diferencia de otras prevotelas.
<i>P. maculosa</i>	Bacilos o cocobacilos Gram negativos que miden 0,7–0,8 micras de diámetro × 0,8–6 micras de largo.	Son de crecimiento moderadamente lento, a los 4 días produce colonias no pigmentadas de 0,6 a 0,8 milímetros de diámetro, opacas y de coloración gris a blanquecina.	Hidroliza la esculina, pero no la gelatina, no produce catalasa. Es arabinosa positiva y sacarosa positiva. Produce ácido acético, ácido succínico y trazas de ácido isovalérico como productos finales del metabolismo.
<i>P. massiliensis</i>	Bacilos o cocobacilos Gram negativos que miden 0,8–3,0 micras de largo × 0,5–1.5 micras de largo.	Son de crecimiento relativamente lento después de 4 días de incubación produce colonias de aproximadamente 1 a 2 milímetros de diámetro, no pigmentadas, brillantes, lisas y no hemolíticas.	Produce indol. Oxidasa positiva. No hidroliza la gelatina ni la esculina. Es asacarolítica. Sensible a kanamicina y es resistente a vancomicina.

Género <i>Prevotella</i>			
Especie	Microscopía	Macroscopía	Pruebas de identificación
<i>P. nanceiensis</i>	Bacilos Gram negativos cocoides o cortos que miden 0,4–0,5 micras de diámetro × 0,5–1 micras de largo.	Son de crecimiento moderadamente lento Producen colonias pequeñas de 0,5 a 1 milímetro de diámetro, blancas, lisas, no pigmentadas y rodeadas de una zona de β -hemólisis.	Sacarolítica, fermenta glucosa, lactosa, maltosa, manosa, rafinosa y sacarosa y variablemente celobiosa. Hidroliza la esculina, pero no la gelatina, no produce catalasa. Produce ácido acético, ácido láctico y ácido succínico como productos finales del metabolismo.
<i>P. pleuritidis</i>	Bacilo Gram negativos que miden 0,8×1,7 micras de diámetro × 4,2 micras de largo.	Colonias de 0,5 a 1,5 milímetros de diámetro, grises o blanco grisáceas, lisas, brillantes y no pigmentadas.	inmóvil. Moderadamente sacarolítica, fermenta glucosa, lactosa, maltosa y manosa. Hidroliza la gelatina pero no la esculina. Produce catalasa.
<i>P. timonensis</i>	Bacilos Gram negativos que miden 0,3–0,5 micras de diámetro × 0,8–1,4 micras de largo.	Después de 72 horas de incubación en agar sangre, se observa la aparición de colonias lisas, brillantes, blanco grisáceas, no pigmentadas y no hemolíticas. Crece entre 25 y 37°C con una temperatura óptima de crecimiento de 37°C.	inmóvil. Moderadamente sacarolítica, fermenta glucosa, lactosa y maltosa. Hidroliza gelatina, pero no la esculina No produce catalasa. No fermenta manosa ni rafinosa.

Género <i>Bacteroides</i>			
Especie	Microscopía	Macroscopía	Pruebas de identificación
<i>Bacteroides spp.</i>	Bacilos Gram-negativos, capsulados, que miden en promedio 0,5 a 2,0 micras de diámetro x 1,6 a 12 micras de largo, mostrando en sus formas más pequeñas forma de cocobacilo	Las colonias presentan pigmento café en agar sangre y miden entre 1 y 3 milímetros de diámetro, de forma convexa y circulares con borde continuo, textura lisa, de color blanco a gris y no hemolíticas.	Son anaerobias, pero pueden tolerar el oxígeno Pueden ser móviles o inmóviles, dependiendo de la especie. Las membranas de <i>Bacteroides</i> contienen esfingolípidos, así como ácido mesodiaminopimélico en su capa de peptidoglicano. Su principal fuente de energía son los polisacáridos, y producen ácido acético y succínico a partir de la glucosa Resistente a la bilis (20%) Utilizan la esculina son catalasa y nitratos negativos
<i>B. fragilis</i>	Bacilos Gram negativos uniformes, pleomórficos o con vacuolas dependiendo de la edad y el medio de cultivo. Miden de 0,5 a 2,0 micras de diámetro x 1,6 a 12 micras de largo y tienen cápsula	Las colonias son quebradizas o frágiles en un medio con sangre de carnero miden de 1 a 3 milímetros de diámetro, son de forma convexa y circulares con borde continuo, y de textura lisa, de color blanco a gris y no hemolíticas.	Crecen en 20% de sales biliares, utilizan la esculina, son catalasa y nitratos negativos; son altamente fermentativas y producen ácido acético y succínico a partir de la glucosa

Género <i>Parabacteroides</i>			
Especie	Microscopía	Macroscopía	Algunas características
<i>P. gordonii</i>	Bacilo Gram negativo que mide 0,8- 1,7 micras de diámetro x 2,5 micras de largo	De crecimiento rápido, a las 48 horas de incubación muestra colonias de 1 a 2 milímetros de diámetro, de color gris o blanco grisáceas, circulares, enteras, ligeramente convexas y lisas.	Inmóvil. No produce indol ni ureasa. No hidroliza la gelatina ni la esculina. No reduce los nitratos. Es sacarolítico Resistente a la bilis. A partir de la glucosa produce ácido acético y pequeñas cantidades de ácido succínico.
Género <i>Fusobacterium</i>			
Especie	Microscopía	Macroscopía	Algunas características
<i>Fusobacterium spp.</i>	Bacilos Gram negativos largos fusiformes, con extremos afilados. Miden en promedio 0.5 a 0.6 micras de diámetro por 3 a 8 micras o más de largo	Colonias grandes, con bordes irregulares y generalmente con el centro más levantado, que miden de 1 a 2 milímetros o más de diámetro	Inmóviles. Anaerobio estricto Generalmente no fermentativos. La producción de ácido butírico como principal producto metabólico permite diferenciar el género <i>Fusobacterium</i> de <i>Prevotella</i> , <i>Porphyromonas</i> y <i>Bacteroides</i>

Género <i>Fusobacterium</i>			
Especie	Microscopía	Macroscopía	Algunas características
<i>F. nucleatum</i>	Bacilos Gram negativos delgados, en forma de huso con extremos afilados o puntiagudos de 0,4 a 0,7 micras de diámetro y de 4 a 10 micras de largo, y se observan individualmente, en parejas de extremo a extremo, o en paquetes de bacilos en paralelo.	Las colonias son por lo general no hemolíticas, de color blanco a amarillo-gris, lisas, de apariencia manchada o con aspecto de miga de pan, después de 2 días de incubación las colonias miden de 3 a 4 milímetros o más de diámetro y se distinguen de varios tamaños en un mismo cultivo. Los cultivos producen un olor desagradable pero no fétido	Inmóvil. Anaerobio estricto. Indol positivo. Catalasa negativa. Nitratos negativo. Esculina negativo. No forman ácido a partir de ningún carbohidrato
<i>F. necrophorum</i>	Bacilo Gram negativo, que no forma cápsula, con extremos afilados o puntiagudos de 0,4 a 0,7 micras de diámetro y de 4 a 10 micras de largo	Colonias son por lo general no hemolíticas, de color blanco a amarillo-gris, lisas, de apariencia manchada o bordes tornasolados, miden de 1 a 2 milímetros de diámetro	Anaerobio estricto. Inmóvil Producen lipasa. Indol positivo. Fermentación de glucosa. Reacción negativa para lecitinasa.
Género <i>Acetofilamentum</i>			
Especie	Microscopía	Macroscopía	Algunas características
<i>A. rigidum</i>	Bacilos Gram negativos extremadamente delgados, miden de 0,18 a 0,3 micras de diámetro × 2 a 3 micras de largo. Con frecuencia forman filamentos de más de 100 micras de longitud.	Su crecimiento óptimo se da entre 35 a 38 °C, a un pH entre 7.3 y 8.5, como nutriente requiere extracto de levadura	Inmóvil. Productores de acetato (forman acetato, CO ₂ y el H ₂ , a partir de hexosas).

Género <i>Acetomicrobium</i>			
Especie	Microscopía	Macroscopía	Algunas características
<i>Acetomicrobium spp.</i>	Bacilos Gram negativos, con un tamaño de 1,7-2,7 micras de largo x 0,4-0,5 micras de diámetro	Colonias muy pequeñas, de menos de 1 milímetro de diámetro.	Bacteria termofílica. Móvil. La temperatura, pH y concentración de NaCl óptimos para el crecimiento de la cepa son 55 °C, pH 7 y 10 g /L, respectivamente. Fermenta D-fructosa, D-glucosa, maltosa, D-manosa, α-cetoglutarato, L- glutamato, malonato, piruvato, L- tartrato, L-asparagina.
Género <i>Tanerella</i>			
Especie	Microscopía	Macroscopía	Algunas características
<i>T. forsythia</i>	Bacilos Gram negativos, con un diámetro de 0,3 a 0,5 micras y una longitud de 1 a 30 micras, a nivel central la célula bacteriana presenta un ensanchamiento de hasta 3 micras. Puede parecerse a un bacilo filamentoso, por lo cual podría confundirse con el género <i>Fusobacterium</i>	Colonias redondas de tamaño pequeño, translucidas que toman el color del medio y se observan parches en su interior. Como forma particular presenta una depresión central que le da forma de una dona.	Anaerobio estricto. Inmóvil. Indol negativo. Actividad positiva para α-glucosidasa, β-glucosidasa y sialidasa, Produce una enzima tipo tripsina. Positivo a la prueba CAAM,

Género <i>Leptotrichia</i>			
Especie	Microscopía	Macroscopía	Algunas características
<i>Leptotrichia spp.</i>	Bacterias Gram negativas pleomorficas, que van desde cocobacilos a formas largas y fusiformes que a veces se unen por el extremo y dan la sensación de filamentos largos.	Requieren medios con sangre para anaerobios en los que crecen lentamente. Las colonias miden de 0,8 a 2,0 milímetros de diámetro son grisáceas y ligeramente marrones, brillantes, opacas, secas y β -hemolíticas.	Producen ácido láctico como producto final de su metabolismo. Inmóvil. Anaerobio poco estricto, pues puede crecer en aerobiosis. Produce catalasa. Hidroliza la esculina.
<i>L. goodfellowii</i>	Bacilos Gram negativos que miden de 2–4 micras de largo x 3–0,6 micras de diámetro, se pueden observar agrupados en parejas o en cadenas, unidos por sus extremos aplanados, algunos son ligeramente curvos.	Las colonias miden de 0,8 a 2,0 milímetros de diámetro, de color grisáceo hasta ligeramente marrones, de aspecto brillantes u opacas, secas y β -hemolíticas.	Anaerobio poco estricto. Produce catalasa. Hidroliza la esculina. Positivo para las enzimas arginina dihidrolasa, β -galactosidasa, N-acetil-glucosaminidasa, arginina arilamidasa, leucina arilamidasa e histidina arilamidasa. Negativa para alfa-glucosidasa.
<i>L. trevisanii</i>	Bacilos Gram negativos largos que miden 0,8–0,9 micras de diámetro x 6–13 micras de largo, de aspecto fusiforme agrupados en parejas o en cadenas y con los extremos unidos	Después de 5 días de incubación produce colonias de aproximadamente 2 milímetros de diámetro, grisáceas y lisas.	Inmóvil. Aerotolerante, crece con un 5% de CO ₂ . Produce catalasa y ureasa. No produce indol ni oxidasa. Fermenta la glucosa y produce ácido láctico como producto final.

Género <i>Aggregatibacter</i>			
Especie	Microscopía	Macroscopía	Algunas características
A. <i>actinomycetemcomitans</i>	Cocobacilo Gram negativo, que mide 0.4-0.5 micras de diámetro x 1.0-1.5 micras de largo.	Las colonias tienen aproximadamente de 0.5 – 1 milímetros de diámetro son translúcidas, de forma circular, bordes irregulares, convexa, con una estrella de 6 puntas en el centro, no hemolíticas.	Anaerobio facultativo, que se desarrolla bien con 5 - 10% de CO ₂ y mejor en anaerobiosis. Inmóvil. Oxidasa negativa. Indol negativo. Catalasa positiva. Reduce los nitratos. Es fosfatasa ácida y alcalina positiva. Fermentador de carbohidratos como almidón, sacarosa, trehalosa y lactosa y más débilmente xilosa, maltosa y manitol.
Género <i>Campylobacter</i>			
Especie	Microscopía	Macroscopía	Algunas características
<i>Campylobacter spp.</i>	Bacilos Gram negativo con forma de coma y móviles por la presencia de uno o dos flagelos polares. Miden entre 0,5 y 5 micras de largo por 0,2 a 0,8 micras de ancho, tomando forma cocoide en cultivos antiguos o por exposición de forma prolongada al aire. Tienen una morfología característica al observarlas al microscopio, en forma de "S", de "coma", o también llamada "en caballito de mar". No presentan cápsula.	Es microaerófilo, o anaerobio estricto de acuerdo con la especie. Las colonias de este género no suelen presentar pigmentación, son redondas de bordes lisos. Algunas especies se desarrollan mejor a 42 y 43 oC.	Poseen metabolismo respiratorio. Movilidad positiva, por uno o varios flagelos polares. Oxidasa positiva. Catalasa variable. Reducen los nitratos. Producen ácido sulfhídrico. Hidrolizan el hipurato de sodio. Son asacarolíticos.

Género <i>Odoribacter</i>			
Especie	Microscopía	Macroscopía	Algunas características
<i>O. splanchnicus</i>	Bacilos Gram negativos de 1 a 2.5 micras de largo x 0.7 micras de diámetro	Las colonias presentan pigmento café en agar sangre y miden entre 1 y 3 milímetros de diámetro, de forma convexa y circulares con borde continuo, textura lisa, de color blanco y no hemolíticas .	Anaerobio estricto. Fermentadores de glucosa, fructosa, galactosa, manosa, lactosa y arabinosa con formación de ácido y gas. Descarboxilan el ácido glutámico. Forman indol y H ₂ S. A partir de la glucosa producen ácido acético, propiónico, isobutírico, butírico e isovalérico. A partir de la lisina producen butirato.
Género <i>Eikenella</i>			
Especie	Microscopía	Macroscopía	Algunas características
<i>E. corrodens</i>	Bacteria Gram negativa de forma cocobacilar o bacilar, pequeño, recto, pleomórfico, no ramificado, y no presenta cápsula. Mide entre 0,3 a 0,4 micras de ancho por 1,5 a 4 micras de largo.	Crece lentamente en condiciones aeróbicas en agar sangre o agar chocolate, y la presencia de 5% de CO ₂ favorece su crecimiento. Después de 48 horas a 35- 37°C las colonias miden 0,5-1 milímetro de diámetro, con aspecto rugoso, convexas, de bordes circulares o irregulares, de color grisáceo, translúcidas, no hemolíticas y con olor a humedad o a cloro. Después de varios días de incubación adquieren una pigmentación amarillenta y se puede observar que algunas colonias corroen o producen pequeños surcos en el agar.	Inmóvil. Indol positivo. Oxidasa positiva. Nitratos positivos. Ornitina descarboxilasa positiva. Produce trazas de sulfuro de hidrógeno (H ₂ S). Hidroliza la esculina. Fermenta carbohidratos Actividad ureasa y gelatinasa negativas. Variabilidad en la reacción frente a catalasa y lisina descarboxilasa.

Género <i>Capnocytophaga</i>			
Especie	Microscopía	Macroscopía	Algunas características
<i>Capnocytophaga</i> spp.	Bacilo Gram negativo con aspecto fusiforme semejante al de las fusobacterias, y también suele presentarse de formas curvas o cocoides	Requieren de un 5 a 10% de CO₂ o HCO₃ - y de medios de cultivo enriquecidos. Las colonias en el agar sangre son muy pequeñas a las 24 horas a 37°C y alcanzan 2-4 milímetros de diámetro en dos a cuatro días. Son convexas o planas, de borde irregular y ligeramente rosa - amarillentas	Inmóviles Catalasa y oxidasa variables. Urea, nitratos e indol negativos. Metabolismo estrictamente fermentativo, con productos finales como ácido acético y succínico.
Género <i>Barnesiella</i>			
Especie	Microscopía	Macroscopía	Algunas características
<i>B. intestinihominis</i>	Bacilo Gram negativo, con un tamaño de 0,8–1,6 micras de diámetro × 1,7–11 micras de largo	En agar Eggerth-Gagnon, las colonias miden 1 a 2 milímetros de diámetro, con un color entre gris a grisáceo blanquecino, circulares, enteras, ligeramente convexas y lisas.	Sacarolítico, con metabolismo estrictamente fermentativo, a partir del cual se producen ácidos acético y succínico. El crecimiento se inhibe en medios con más del 20% de bilis. Hidroliza la esculina. Indol negativo.

Género <i>Alistipes</i>			
Especie	Microscopía	Macroscopía	Algunas características
<i>Alistipes</i> spp.	Bacilos rectos o ligeramente curvos.	Crecimiento rápido, producen colonias pigmentadas de negro en medios con sangre (no es el caso de <i>A. putredinis</i>), que no producen fluorescencia con luz ultravioleta. <i>Alistipes finegoldii</i> y <i>Alistipes onderdonkii</i> son débilmente beta hemolíticos.	Inmóviles. Pueden resistir un 20% de bilis (no es el caso de <i>A. putredinis</i>). Son sacarolíticos. Producen ácido succínico como elemento final principal de su metabolismo y, a diferencia de <i>Porphyromonas</i>, no produce ácido butírico. <i>Alistipes finegoldii</i>, no produce catalasa, hidroliza gelatina y la hidrólisis de esculina es variable. Fermenta glucosa y lactosa.
Género <i>Jonquetella</i>			
Especie	Microscopía	Macroscopía	Algunas características
<i>Jonquetella</i> spp.	Bacilos Gram negativos rectos que miden 0,8–0,9 micras de diámetro × 1,4–1,7 micras de largo.	Son de crecimiento relativamente lento (3 a 5 días); genera colonias muy pequeñas de 0,5 milímetros de diámetro, no hemolíticas, circulares, grises y brillantes.	Anaerobios estrictos, con requerimientos nutricionales complejos. No produce oxidasa ni catalasa. Es sensible a la bilis. Es asacarolítica y no reactiva en otras pruebas fenotípicas habituales. Los productos finales principales de su metabolismo son ácido acético, ácido láctico, ácido succínico y ácido isovalérico.

Género <i>Desulfovibrio</i>			
Especie	Microscopía	Macroscopía	Algunas características
<i>Desulfovibrio spp.</i>	Bacilos Gram negativos curvos	Producen un pigmento denominado desulfovirdina, cuyo cromóforo denominado sirohidroclorina, muestra fluorescencia roja cuando se mezcla un inóculo denso de colonias con una gota de NaOH 2N y se observa bajo luz UV (366 nm).	Movilidad variable según la especie. Asacarolíticos. Reductores de sulfato.

Flujogramas de identificación de los Bacilos Gram negativos anaerobios

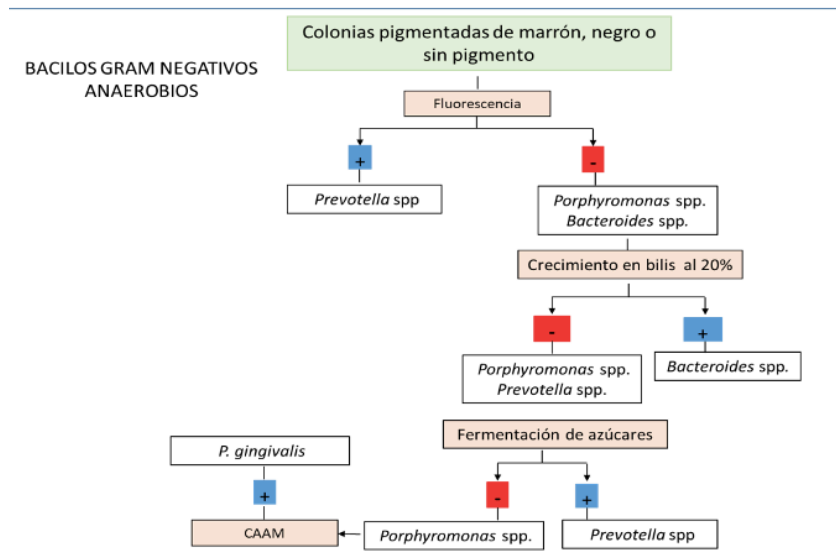


Figura 4.14. Identificación de bacilos Gram negativos anaerobios, colonias con y sin pigmento. Fuente: Corrales, 2024

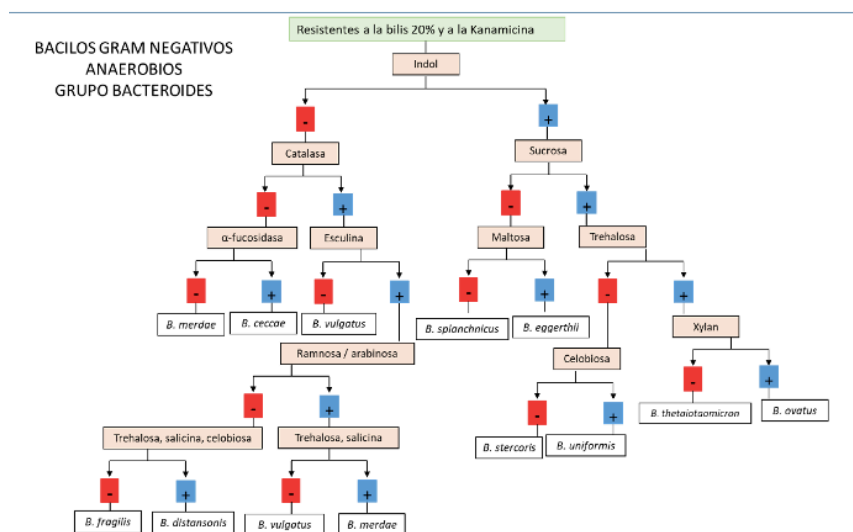


Figura 4.15. Identificación de bacilos Gram negativos anaerobios, resistentes a la bilis y a la kanamicina. Fuente: Corrales, 2024

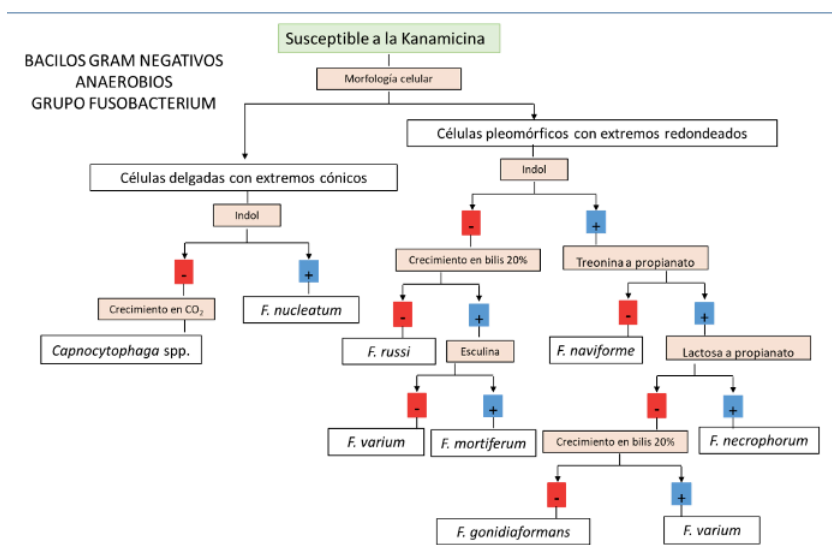


Figura 4.16. Identificación de bacilos Gram negativos anaerobios, susceptibles a la kanamicina. Fuente: Corrales, 2024

Tablas de identificación por pruebas bioquímicas de los bacilos Gram negativos anaerobios

Tablas 4.23 – 4.36. Identificación por especies de los bacilos Gram negativos anaerobios

Bacilos Gram negativos anaerobios Características del Género (especie tipo)	Morfología	S/R Vancomicina	S/R Kanamicina	S/R Colistina	Movilidad	Producción de pigmento	Crecimiento 20% de bilis	Catalasa	Indol	Reducción de nitratos	Fermentación carbohidratos
<i>Bacteroides</i> (<i>B. fragilis</i>)	corto	R	R	R	-	-	+	-	V	-	+
<i>Alistipes</i> (<i>A. putredinis</i>)	corto	R	R	R	-	V	V	V	V	-	+
<i>Odoribacter</i> (<i>O. splanchnicus</i>)	Pleomórfico	R	R	R	-	-	V	V	+	-	V
<i>Porphyromonas</i> (<i>P. asaccharolitica</i>)	V	S	R	R	-	+	-	V	V	-	V
<i>Parabacteroides</i> (<i>P. distansoni</i>)	corto	R	R	R	-	-	+	V	-	-	+
<i>Tannerella</i> (<i>T. forsythia</i>)	Pleomórfico	R	S	S	-	-	-	V	-	-	-
<i>Prevotella</i> (<i>P. melaninogenica</i>)	coco-bacilo	R	V	V	-	V	-	-	V	-	+
<i>Fusobacterium</i> (<i>F. nucleatum</i>)	V	R	S	S	-	-	V	-	V	-	V

Bacilos Gram negativos anaerobios	Morfología	S/R Vancomicina	S/R Kanamicina	S/R Colistina	Movilidad	Producción de pigmento	Crecimiento 20% de bilis	Catalasa	Indol	Reducción de nitratos	Fermentación carbohidratos
<i>Leptotrichia</i> (<i>L. buccalis</i>)	V	R	S	S	-	-	-	V	-	-	+
<i>Dialister</i> (<i>D. pneumosintes</i>)	cocoide	R	S	V	-	-	-	-	-	-	-
<i>Selenomonas</i> (<i>S. sputigena</i>)	curvo	R	S	V	+	-	-	-	-	+	+
<i>Sutterella</i> (<i>S. wadworthensis</i>)	recto	R	S	S	-	-	V	-	-	V	-
<i>Bilophila</i> (<i>B. wardsworthia</i>)	recto	R	S	S	-	-	+	+	-	+	-
<i>Desulfovibrio</i> (<i>D. desulfuricans</i>)	curvo	R	S	R	+	+	V	V	-	V	-
<i>Campilobacter</i> (<i>C. curvus</i>)	curvo	R	S	S	+	-	V	V	-	+	-
<i>Anaerobiospirillum</i> (<i>A. succiniproducens</i>)	espiral largo	R	S	V	+	-	V	-	-	-	+

Bacilos Gram negativos anaerobios	Indol	Catalasa	Hidrólisis esculina	α -fructosidasa	α -arabinosa	β -glucosidasa	β -glucuronidasa	Arabinosa	Cellobiosa	Ramnosa	Salicina	Sacarosa	Trehalosa	Xilano	Xilosa
<i>Bacteroides caccae</i>	-	-	+	+	+	+	-	+	V	V	V	+	+	-	+
<i>Bacteroides cellulosilyticus</i>	Sin dato	-	+ débil	+ débil	+	+	-	+ débil	+ débil	Sin dato	+ débil	+	-	+ débil	+
<i>Bacteroides dorei</i>	-	Sin dato	-	+	+	+	+	+	-	+	-	+	-	Sin dato	+
<i>Bacteroides eggerthii</i>	+	-	+	-	+	+	+	+	V	V	-	-	-	+	+
<i>Bacteroides faecis</i>	+	-	+	+	-	+	-	+	+	+	-	+	-	Sin dato	+
<i>Bacteroides finegoldii</i>	-	Sin dato	+	-	+	+	-	+	+	+	+	+	-	Sin dato	+
<i>Bacteroides fragilis</i>	-	+	+	+	-	+	-	-	V	-	-	+	-	-	+
<i>Bacteroides intestinalis</i>	+	Sin dato	+	+	+	+	Sin dato	-	+	+	-	+	-	Sin dato	+
<i>Bacteroides massiliensis</i>	-	-	V	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-	Sin dato	-
<i>Bacteroides pyogenes</i>	-	-	-	+	-	+	-	-	-	-	-	V	-	-	-
<i>Bacteroides stercoris</i>	+	V	V	V	-	+	-	-	-	+	-	+	-	+	+
<i>Bacteroides vulgatus</i>	-	-	-	+	+	-	+	+	-	+	-	+	-	V	+

Bacilos Gram negativos anaerobios	Pigmento	Indol	Catalasa	α -fructosidasa	β -NAG	Tripsina	Quimi tripsina	Fermentación azúcares	Resistencia bilis 20%	Origen
<i>Porphyromonas asaccharolytica</i>	+	+	-	+	-	-	-	-	-	Humano
<i>Porphyromonas bennonis</i>	+ débil	-	v	-	+	-	+	-	-	Humano
<i>Porphyromonas catoniae</i>	-	-	-	+	+	v	+	+ débil	-	Humano
<i>Porphyromonas endodontalis</i>	+	+	-	-	-	-	-	-	-	Humano
<i>Porphyromonas gingivalis</i>	+	+	-	-	+	+	+	-	-	Humano
<i>Porphyromonas somerae</i>	+	-	-	-	+	-	+	+ débil	-	Humano
<i>Porphyromonas uenonis</i>	+	+	-	-	-	-	-	-	-	Humano
<i>Porphyromonas cangingivalis</i>	+	+	+	-	-	-	-	-	-	Animal
<i>Porphyromonas canoris</i>	+	+	+	-	+	-	-	-	-	Animal
<i>Porphyromonas cansulci</i>	+	+	+	-	-	-	-	-	-	Animal
<i>Porphyromonas gingivicanis</i>	+	+	+	-	-	-	-	-	-	Animal
<i>Porphyromonas gulae</i>	+	+	+	-	+	+	+	-	-	Animal

Bacilos Gram negativos anaerobios	Pigmento	Indol	Lipasa	α -glucosidasa	α -fructosidasa	β -galactosidasa	β -NAG	Hidrólisis gelatina	Hidrólisis esculina	Celobiosa	Lactosa	Manosa	Sacarosa	Arabinosa	Rafinosa	Salicina
<i>Prevotella aurantiaca</i>	Marrón/negro	+	Sin dato	+	+	-	-	+	-	-	-	+	+	-	+	-
<i>Prevotella corporis</i>	Marrón	-	-	+	-	-	-	+	-	-	-	+	+	-	-	-
<i>Prevotella denticola</i>	Marrón/ninguno	-	-	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	-	+	-
<i>Prevotella fusca</i>	Marrón-naranja central	-	Sin dato	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	-	+	+ débil
<i>Prevotella intermedia</i>	Marrón/negro	+	+	+	+	-	-	+	-	-	-	v	+	-	v	-
<i>Prevotella loeschi</i>	Marrón	-	v	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-
<i>Prevotella melaninogenica</i>	Marrón	-	-	+	+	+	+	+	v	-	+	+	+	-	+	-
<i>Prevotella nigrescens</i>	Marrón/negro	+	+	+	+	-	-	+	-	-	-	+	+	-	+	-
<i>Prevotella pallens</i>	Beige claro	+	-	+	+	-	-	+	-	-	-	-	+	-	+	-
<i>Prevotella shahii</i>	Tostado/ beige claro	-	-	+	+ débil	+ débil	+	+	-	-	+	+	+	-	+	-
<i>Prevotella tannerae</i>	Marrón	-	-	+	+	+	+	+	-	-	v	v	v	-	v	-
<i>Prevotella bivia</i>	Ninguno/ Marrón claro	-	-	+	+	+	+	+	-	-	+	+	-	-	-	-
<i>Prevotella buccae</i>	Ninguno	-	-	+	-	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+

Bacterias anaerobias: importancia y diagnóstico

Bacilos Gram negativos anaerobios	Pigmento	Indol	Lipasa	α -glucosidasa	α -fructosidasa	β -galactosidasa	β -NAG	Hidrólisis gelatina	Hidrólisis esculina	Celulosa	Lactosa	Manosa	Sacarosa	Arabinosa	Rafinosa	Salicina
<i>Prevotella dentalis</i>	ninguno	-	→	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-
<i>Prevotella disiens</i>	Ninguno/ Marrón claro	-	-	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Prevotella heparinolytica</i>	Ninguno	+	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	-	+
<i>Prevotella maculosa</i>	Ninguno	-	-	+	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>Prevotella multiformis</i>	Ninguno	-	-	+	V	+	+	+	-	+	+	+	+	-	+	-
<i>Prevotella marshii</i>	Ninguno	-	-	+	-	-	-	+	-	-	-	V	-	-	-	-
<i>Prevotella nanceiensis</i>	Ninguno	-	-	+	+	+	+	-	+	V	+	+	+	-	+	-
<i>Prevotella oralis</i>	Ninguno	-	-	+	+	+	+	V	+	+	+	+	+	-	+	+
<i>Prevotella oulorum</i>	Ninguno	-	-	+	+	+	+	-	-	-	+	+	-	-	+	-
<i>Prevotella saccharolytica</i>	Ninguno	-	Sin dato	+	-	+	+	+	débil	+	+	+	+	+	+	+
<i>Prevotella salivae</i>	Ninguno	-	-	+	+	débil	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+
<i>Prevotella stercorea</i>	Ninguno	-	-	+	+	V	+	-	-	-	+	+	-	-	+	-
<i>Prevotella timonensis</i>	Ninguno	-	-	+	+	+	+	+	-	-	+	-	-	-	-	-

Bacilos Gram negativos anaerobios	Morfológicos	Nitratos	Crecimiento en bilis 20%	Indol	Lipasa	Lactato a propionato	Treonina a propionato
<i>Fusobacterium gonidiaformans</i>	Forma de gonidia	-	-	+	-	-	+
<i>Fusobacterium mortiferum</i>	Pleomorficos con cuerpos grandes y redondeados	-	+	-	-	-	+
<i>Fusobacterium naviforme</i>	Forma de barco	-	-	+	-	-	-
<i>Fusobacterium necrophorum</i> subsp. <i>funduliformi</i>	Pleomorficos / cocoides, enredados, rizados	-	V	+	+	+	+
<i>Fusobacterium necrophorum</i> subsp. <i>necrophorum</i>	Pleomorficos	-	V	+	+	+	+
<i>Fusobacterium nucleatum</i>	Largos, delgados con extremos fusiformes	-	-	+	-	-	+
<i>Fusobacterium periodonticum</i>	Largos, delgados	-	-	+	-	-	+
<i>Fusobacterium russi</i>	Grandes con extremos redondeados	-	-	-	-	-	-
<i>Fusobacterium varium</i>	Grandes con extremos redondeados	-	+	V	-	-	+
<i>Fusobacterium ulcerans</i>	Grandes con extremos redondeados	-	+	-	-	-	+

Bacilos Gram negativos anaerobios	Hemólisis	Nitratos	Hidrólisis esculina	Indol	Catalasa	α -glucosidasa	β -glucosidasa	α -galactosidasa	β -galactosidasa	β -NAG	Fosfatasa alcalina
<i>Leptotrichia amnionii</i>	Sin dato	-	+	-	-	-	-	-	-	-	+
<i>Leptotrichia buccalis</i>	-	-	+	-	-	+	+	+	-	-	+
<i>Leptotrichia goodfellowii</i>	β	-	+ lento	-	+	-	+	-	+	+	+
<i>Leptotrichia hofstadii</i>	β	-	+ lento	-	+	+	+	-	-	-	+
<i>Leptotrichia shahii</i>	-	-	+ lento	-	+	+	-	-	-	-	-
<i>Leptotrichia trevisanii</i>	Sin dato	-	+	-	+	+	+	-	-	+	+
<i>Leptotrichia wadei</i>	β	-	+	-	+	+	+	-	-	-	-
<i>Sneathia sanguinegens</i>	Sin dato	-	+	-	-	-	-	-	-	-	+

Bacilos Gram negativos anaerobios	Indol	Catalasa	Hidrólisis esculina	α -fructosidasa	α -arabinosa	β -glucosidasa	β -glucuronidasa	Arabinosa	Celobiosa	Ramnosa	Salicina	Sacarosa	Trehalosa	Xilano	Xilosa
<i>Odoribacter laneus</i>	+	-	+	+	-	-	+ débil	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Odoribacter splanchnicus</i>	+	V	+	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-
<i>Parabacteroides distansoni</i>	-	+	+	-	+	+	-	-	+	V	+	+	+	-	+
<i>Parabacteroides goldsteinii</i>	-	V	+	-	-	+	V	-	+	+	-	+	+	-	+
<i>Parabacteroides gordonii</i>	-	V	+	-	+	-	-	+	-	-	-	+	-	Sin dato	+
<i>Parabacteroides johnsonii</i>	-	+	+	-	+	-	+	+	-	+	-	+	+	Sin dato	+
<i>Parabacteroides merdae</i>	-	-	+	-	+	-	+	-	V	V	V	+	+	-	+

Bacilos Gram negativos anaerobios	Nitratos	Hidrólisis esculina	Tolerancia bilis 20%	Catalasa	Indol	Urea	α -glucosidasa	α -galactosidasa	β -galactosidasa	β -NAG	α -fructosidasa	Glucosa	Manitol	Sorbitol	Trehalosa	Rafinosa	Sacarosa
<i>Selenomonas artemidis</i>	V	-	-	-	-	-	V	-	-	-	-	+	+	V	-	-	+
<i>Selenomonas diana</i>	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	+	V	+
<i>Selenomonas flueggei</i>	+	-	-	-	-	-	+	V	-	-	-	+	+	+	-	V	+
<i>Selenomonas infelix</i>	+	+	-	-	-	-	V	V	-	-	-	+	+	V	-	+	+
<i>Selenomonas noxia</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	lento	-	-	-	-
<i>Selenomonas sputigena</i>	V	-	-	-	-	-	+	lento	+	V	-	-	+	-	-	+	+

Bacilos Gram negativos anaerobios	Indol	Catalasa	Hidrólisis esculina	α -fructosidasa	α -arabinosa	β -glucosidasa	β -glucuronidasa
<i>Alistipes putredinis</i>	+	+ débil	-	-	-	-	Sin dato
<i>Alistipes finegoldi</i>	+	-	V	+	Sin dato	-	Sin dato
<i>Alistipes onderdonkii</i>	+	-	V	-	V	-	Sin dato
<i>Alistipes shahii</i>	+	-	+	+	-	+	-

Bacilos Gram negativos anaerobios	Nitratos	Hidrólisis esculina	Tolerancia bilis 20%	Catalasa	Indol	Urea	α -glucosidasa	α -galactosidasa	β -galactosidasa	β -NAG	α -fructosidasa	Glucosa	Manitol	Sorbitol	Trehalosa	Rafinosa	Sacarosa
<i>Desulfovibrio desulfuricans</i>	+	Sin dato	-	-	-	+	Sin dato	Sin dato	Sin dato	Sin dato	Sin dato	Asacarolítico, desulfoviridina +					
<i>Desulfovibrio fairfieldensis</i>							Sin dato	Sin dato	Sin dato	Sin dato	Sin dato	Asacarolítico, desulfoviridina +					
<i>Desulfovibrio piger</i>							Sin dato	Sin dato	Sin dato	Sin dato	Sin dato	Asacarolítico, desulfoviridina +, movilidad -					
<i>Desulfovibrio vulgaris</i>							Sin dato	Sin dato	Sin dato	Sin dato	Sin dato	Asacarolítico, desulfoviridina +					
<i>Anaerobispirillum succiniproducens</i>	-	-	-	-	-	-	+	-	+	+	-	+	Sin dato	-	-	+	+
<i>Anaerobispirillum thomasi</i>	-	-	V	-	-	-	-	-	-	+	-	+	Sin dato	-	-	-	-
<i>Phocaeicola abscessus</i>	-	-	Sin dato	-	-	Sin dato	+ lento	+	+	+	+	Asacarolítico					

Bacilos Gram negativos anaerobios	Catalasa	Oxidasa	Nitratos	Producción H ₂ S en TSI	Desarrollo a 25°C	Desarrollo a 42°C	Hidrólisis del hipurato	Hidrólisis del indoxil acetato	S/R ácido nalidixico 30 mcg	S/R cefalotina 30 mcg	Requerimiento de formato de sodio 0,2% y ácido fumarico 0,3%	Movilidad	Urea
<i>Campylobacter gracilis</i>	V	+	+	-	+	-	-	V	R	S	+	-	-
<i>Campylobacter showae</i>	+	+	+	+	-	-	-	V	R	S	+	+	-
<i>Campylobacter concisus</i>	-	+	+	+	-	+	-	-	R	R	-	+	-
<i>Campylobacter curvus</i>	-	+	+	+	-	+	-	+	S	Sin dato	+	+	-
<i>Campylobacter rectus</i>	-	+	+	+	-	+ lento	-	+	S	Sin dato	+	+	-
<i>Campylobacter hominis</i>	-	+	-	-	Sin dato	-	-	-	S	S	Sin dato	+	-
<i>Campylobacter ureolyticus</i>	-	Sin dato	+	-	-	-	-	-	R	S	+	+	+

Pruebas confirmatorias: microsistemas de pruebas bioquímicas, ELISA, radioinmunoensayo, coaglutinación, aglutinación en látex, moleculares, cromatografía gas – líquido.

Bacilos Gram positivos esporulados

Tabla 4.36. Características microscópicas, macroscópicas y particulares de las especies de bacilos Gram positivos anaerobios esporulados

Género <i>Clostridium</i>			
Especie	Microscopía	Macroscopía	Algunas características
<i>C. perfringens</i>	Bacilos Gram positivos, que se decoloran fácilmente. Miden 0.8 a 1.5 micras de diámetro por 2 a 4 micras de largo y presenta los extremos romos. Las esporas son grandes, ovaladas, en posición central o subterminal y deforman la célula.	Las colonias jóvenes miden 1 a 3 milímetros de diámetro y hasta 15 milímetros en incubación prolongada, son chatas o rizoides y elevadas en el centro con doble zona de hemólisis en agar sangre.	Inmóvil Fermenta carbohidratos como la sucrosa, fructosa, manosa, maltosa. Produce lecitinasa, pero no lipasa, Nitratos variable Indol negativo Coagulación tormentosa de la leche. Produce ácido cítrico, propiónico e isobutírico.
<i>C. botulinum</i>	Bacilo Gram positivo, con tinción puede verse Gram negativa en cultivo de más de 24 horas y en fase de esporulación. La espora es ovalada subterminal y deformante.	En el medio <i>Clostridium botulinum</i> agar base, suplementado con 125 miligramos de D-Cicloserina, 2 miligramos de Trimetoprim y 38 miligramos de Sulfametoxazol, incubado hasta 7 días, muestra colonias grandes, irregulares, rodeadas de un precipitado iridiscente de lipasa cuando se observan con luz oblicua.	Es móvil por flagelos periticos. No produce cápsula Es proteolítico y lipolítico.

Género <i>Clostridium</i>			
Especie	Microscopía	Macroscopía	Algunas características
<i>C. tetani</i>	Bacilos Gram positivos, no capsulado, que miden de 0,5 a 1,7 micras de diámetro por unas 10 micras de largo, con esporas que se ubican en la porción terminal y son de mayor diámetro que la célula vegetativa, por lo cual esta se observa como un palillo de tambor.	Sus colonias miden cerca de 1 milímetro de diámetro y se extienden en forma de red con finos filamentos. Son translúcidas, de color grisáceo, borde irregular y con un discreto halo de β - hemólisis. Por su gran movilidad presenta crecimiento en velo (efecto Swarming)	Móvil por flagelos peritricos. Hidroliza la gelatina Indol positivo. Asacarolítico. Proteolítico
<i>C. difficile</i>	Bacilos Gram positivos, dispuestos en pares o cadenas cortas, móviles por medio de flagelos peritricos y miden de 0,5 a 1,9 micras de diámetro x 3,0 a 16,0 micras de largo. Algunas cepas se disponen en cadenas de 2 a 6 células alineadas de extremo a extremo. Las esporas son de forma ovalada, en posición subterminal y raramente terminal.	A las 48 horas de incubación las colonias miden aproximadamente de 2 a 5 milímetros, de color grisáceo con un centro ligeramente más blanco, planas o convexas, de borde irregular y con frecuencia apuntando hacia la dirección de la propagación. Olor típico a estiércol de caballo.	Todas las cepas producen una fluorescencia de color verde pálido bajo la luz ultravioleta después de 48 horas de incubación. Negativos a las pruebas de indol, nitratos, lipasa y lecitinasa.
<i>C. aldenense</i>	Bacilo Gram positivo de esporulación infrecuente, mide 0,8 a 1,1 micras de diámetro por 2 a 5 micras de largo.	Las colonias miden de 1 a 2 milímetros de diámetro, pueden ser opacas o blancas y no hemolíticas.	Produce indol. Presenta actividad alfa galactosidasa y beta galactosidasa. Es sacarolítico, fermenta la glucosa, maltosa, manosa, rafinosa, sacarosa y xilosa, y variablemente arabinosa, lactosa, salicina y trehalosa. No hidrolizan almidón, ni gelatina.

Género <i>Clostridium</i>			
Especie	Microscopía	Macroscopía	Algunas características
<i>C. amygdalinum</i>	Bacilo Gram positivo, ovales o largos, miden de 0,5–1,0 micra de diámetro × 0,5–10 micras de largo, se pueden observar aislados, en parejas o en cadenas. Las esporas se localizan en posición terminal.	Crece a 45 ° C. y en caldo de extracto de levadura-tripticosa sin glucosa, pero suplementado con 10 milimoles de benzaldehído / litro.	Anaerobio estricto. Son móviles por un flagelo polar en los cultivos jóvenes. Fermentan arabinosa, celobiosa, galactosa, glucosa, fructosa, maltosa, manitol, melibiosa, rafinosa, ribosa, sacarosa, trehalosa y xilosa. No producen lipasa ni lecitinasa. Producen indol. No hidrolizan la gelatina. No producen catalasa. Hidrolizan la esculina. Producen ácido acético, ácido propiónico, ácido butírico y ácido valérico como productos finales del metabolismo.
<i>C. citroniae</i>	Bacilo Gram positivo de esporulación difícil, mide 0,8 a 1,1 micras de diámetro por 2 a 5 micras de largo	Sus colonias son opacas, blancas, no hemolíticas y miden de 1 a 2 milímetros de diámetro.	Produce indol. No presenta actividad alfa-galactosidasa y beta-galactosidasa. Es sacarolítica, fermenta glucosa, maltosa, manosa, ramnosa, sacarosa y xilosa y variablemente arabinosa, lactosa, salicina y trehalosa. No hidroliza esculina, almidón ni gelatina.
<i>C. chauvoei</i>	Bacilos Gram positivos, se caracterizan por su forma alargada, cuya longitud es de 3 a 8 micras, de bordes redondeados. No posee cápsula, pero sí esporas ovales y en posición subterminal.	Colonias pequeñas e irregulares, extendidas, transparentes, finamente granuladas en el centro, con bordes de los cuales se desprenden filamentos de color azul grisáceo.	Móvil gracias a los flagelos peritricos. Actividad fosfolipasa y DNasa positiva. Produce H ₂ S. Indol negativo. Hidroliza la gelatina. Fermenta glucosa, lactosa y maltosa.

<i>C. septicum</i>	Bacilos Gram positivos con espora subterminal y cápsula	Colonias pequeñas e irregulares, extendidas, transparentes, granulares y con bordes filamentosos	Móvil. Produce H ₂ S. Indol negativo. Hidroliza la gelatina. Fermenta glucosa, lactosa, maltosa y salicina.
<i>C. novyi</i>	Bacilo Gram positivo, no capsulado que produce endosporas subterminales.	Colonias pequeñas con bordes irregularmente ondulados, finamente granulosas y de color gris. En agar sangre se observa β - hemolisis.	Anaerobio obligado. Móvil. Catalasa negativa. Produce H ₂ S. Indol negativo. Urea negativo. Esculina negativo. Hidroliza la gelatina. Fermenta glucosa, lactosa, ramnosa, celobiosa y maltosa.
<i>C. sordellii</i>	Bacilo Gram positivo, no capsulado que produce endosporas centrales.	Colonias pequeñas, pleomórficas que parecen discos biconvexos o multiplanos con pelusas excéntricas o masas densas de aspecto plumoso.	Móvil por flagelos peritricos. Ureasa positivo. Indol negativo. Hidrólisis de la gelatina negativa.
Género <i>Robinsoniella</i>			
Especie	Microscopía	Macroscopía	Algunas características
<i>R. peoriensis</i>	Bacilo Gram positivo corto posee esporas subterminales que no deforman el cuerpo del bacilo.	Tras 2 días de incubación en anaerobiosis produce colonias de 0,5-1,5 milímetros de diámetro y no hemolíticas	Movilidad negativa. Sacarolítica. No produce indol, ni ureasa. No reduce los nitratos. Sus productos finales del metabolismo son principalmente ácido acético y ácido succínico.

Flujogramas de identificación de los bacilos Gram positivos esporulados anaerobios

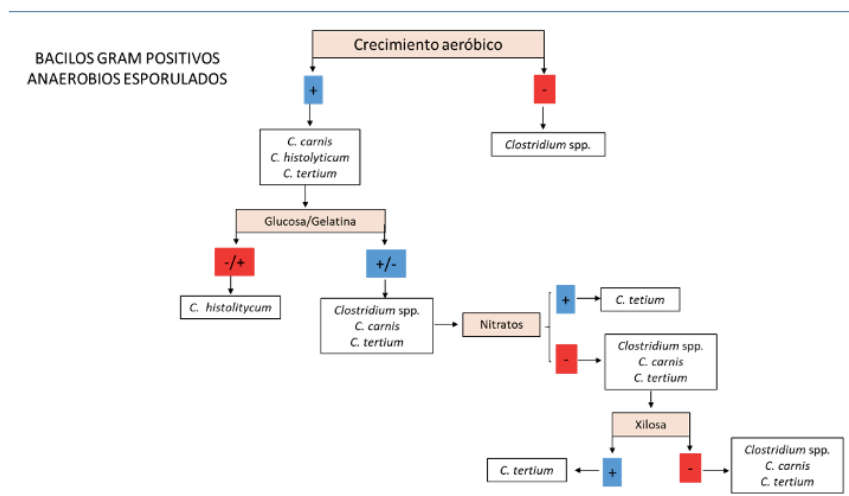


Figura 4.17. Identificación de bacilos Gram positivos anaerobios esporulados, de acuerdo con el crecimiento en aerobiosis. Fuente: Corrales, 2024

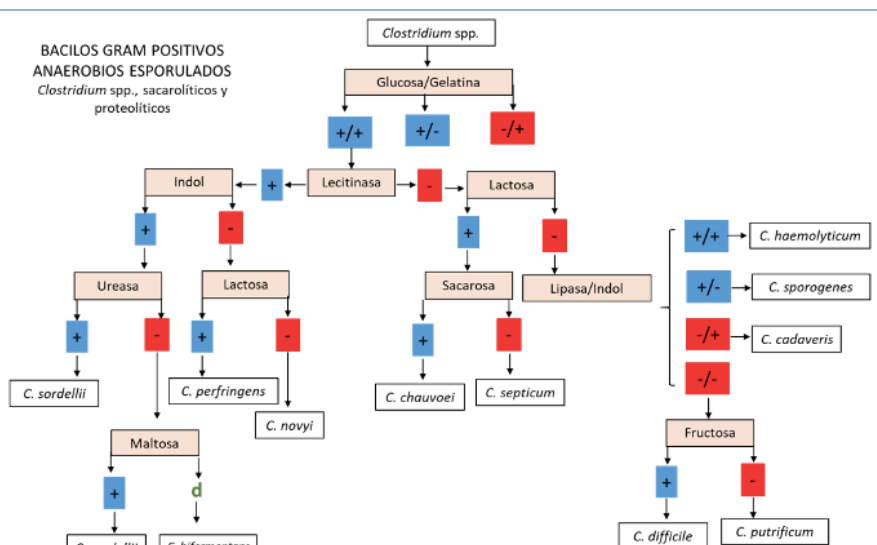


Figura 4.18. Identificación de bacilos Gram positivos anaerobios esporulados, sacarolíticos y proteolíticos. Fuente: Corrales, 2024

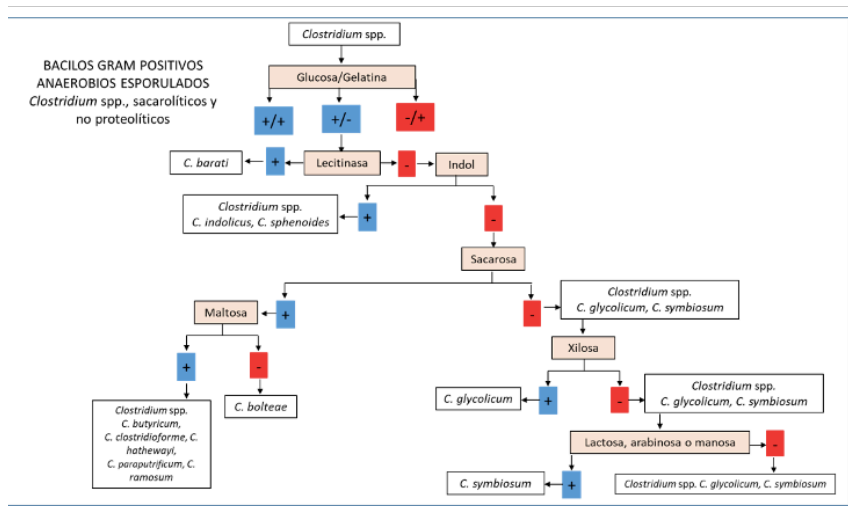


Figura 4.19. Identificación de bacilos Gram positivos anaerobios esporulados, sacarolíticos y no proteolíticos. Fuente: Corrales, 2024

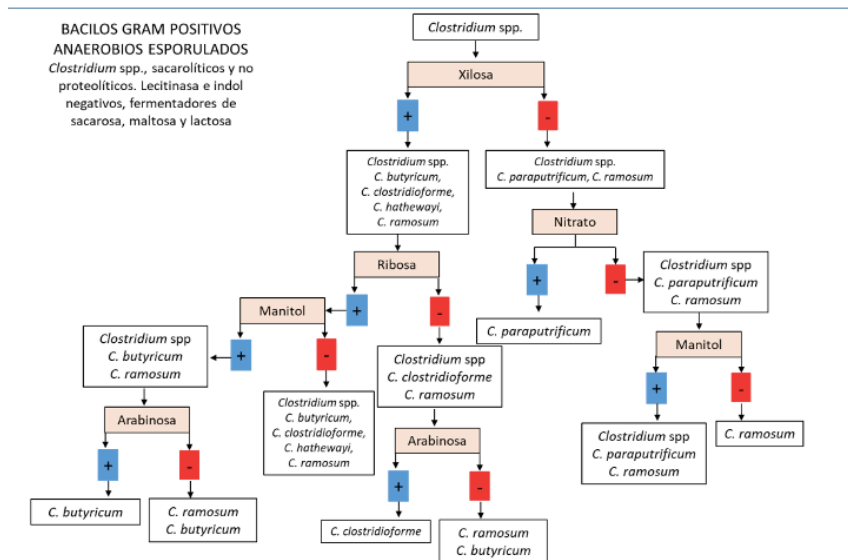


Figura 4.20. Identificación de bacilos Gram positivos anaerobios esporulados, sacarolíticos y no proteolíticos de acuerdo con la fermentación de xilosa. Fuente: Corrales, 2024

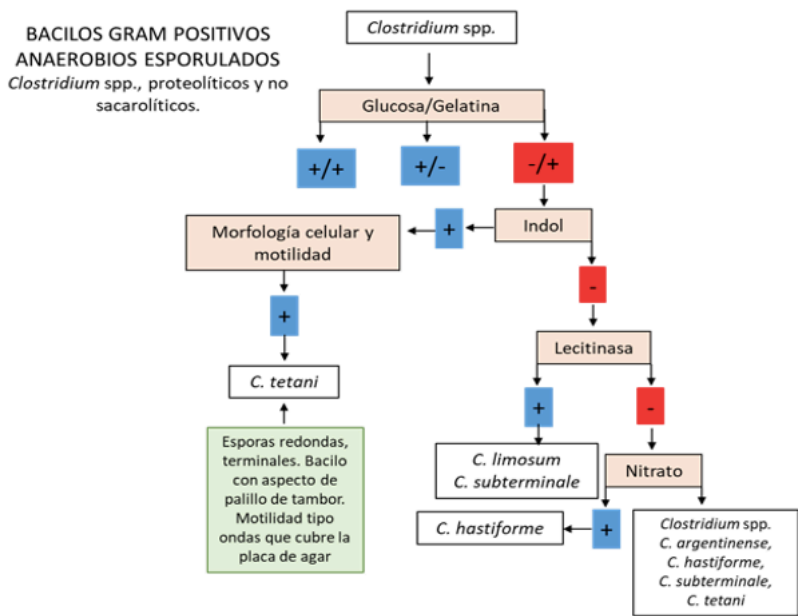


Figura 4.21. Identificación de bacilos Gram positivos anaerobios esporulados proteolíticos y no sacarolíticos de acuerdo con la fermentación de glucosa e hidrólisis de la gelatina. Fuente: Corrales, 2024

Tablas de identificación por pruebas bioquímicas de los bacilos Gram positivos anaerobios esporulados

Tablas 4.37 – 4.38. Identificación presuntiva de algunas especies del género *Clostridium*

Microorganismo	Indol	Lecitinasa	CAMP invertida	Ureasa	Nitratos
<i>C. perfringens</i>	-	+	+	-	+
<i>C. baratii</i>	-	+	-	-	V
<i>C. sordellii</i>	+	+	-	+	-
<i>C. bifermentans</i>	+	+	-	-	-
<i>C. septicum</i>	-	-	-	-	V
<i>C. difficile</i>	-	-	-	-	-

V: significa reacción variable
CAMP invertida, se realiza mediante una estria con una cepa conocida de *Streptococcus agalactiae* y cruzando otra estria con el bacilo Gram positivo anaerobio esporulado a identificar. En la zona de contacto se producirá la potenciación de la hemólisis determinado por la hemolisina de *C. perfringens* y el factor CAMP del *S. agalactiae*.

Microorganismo	Glucosa	Maltosa	Lactosa	Salicina	H ₂ S	Gelatina	Indol	Acción sobre la leche
<i>C. chauvoei</i>	+	+	+	-	+	+	-	Acidificada
<i>C. septicum</i>	+	+	+	+	+	+	-	Acidificada
<i>C. novyi</i>	+	+	+	-	+	-	-	Digerida
<i>C. perfringens</i>	+	+	+	-	+	+	-	Muy fermentada
<i>C. haemolyticum</i>	+	-	-	-	+	+	+	Acidificada
<i>C. tetani</i>	-	-	-	-	+/-	-	-	Sin cambio
<i>C. botulinum</i>	+	+	-	-	+	+	-	Acidificada

Tabla 4.39. Identificación por especies del género *Clostridium*

Microorganismo	Forma de la espora	Ubicación espora	Hidrólisis gelatina	Lecitinasa	Lipasa	Prod de indol	Hidrólisis esculina	Reducción nitrato	Glucosa	Arabinosa	Celobiososa	Fructosa	Lactosa	Maltosa	Manitol	Manosa	Sacarosa	Xilosa
<i>C. botulinum</i>	o	t	+	-	+	-/+	-/+	-	+	-	-	-/+	-	+/-	-	+/-	-/+	-
<i>C. chauvoei</i>	o	St	+	-	-	-	+	+/-	+	-	-	-	+	+	-	+	+	v
<i>C. difficile</i>	o	st	+	-	-	-	+	-	+	-	+/-	+	-	-	+/-	+/-	-	-
<i>C. haemolyticum</i>	o	st	+	-	+	+	-	-	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-
<i>C. histolyticum</i>	o	st	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>C. novyi</i>	o	st	+	+	+/-	-	-	-	+	-	-	-	-	+/-	-	-	-	-
<i>C. perfringens</i>	o	st	+	+	-	-	+/-	+/-	+	-	-	+	+	+	-	+	+	-
<i>C. ramosum</i>	o	t	-	-	-	-	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
<i>C. septicum</i>	o	st	+	-	-	-	+	+/-	+	-	+	+	+	+	-	+	-	-
<i>C. tertium</i>	o	t	-	-	-	-	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+/-
<i>C. tetani</i>	r	t	+	-	-	+/-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

O: oval, st: subterminal, t: terminal.

A. microbiología

Galeria de fotos de la morfología macroscópica y microscópica de algunas bacterias anaerobias

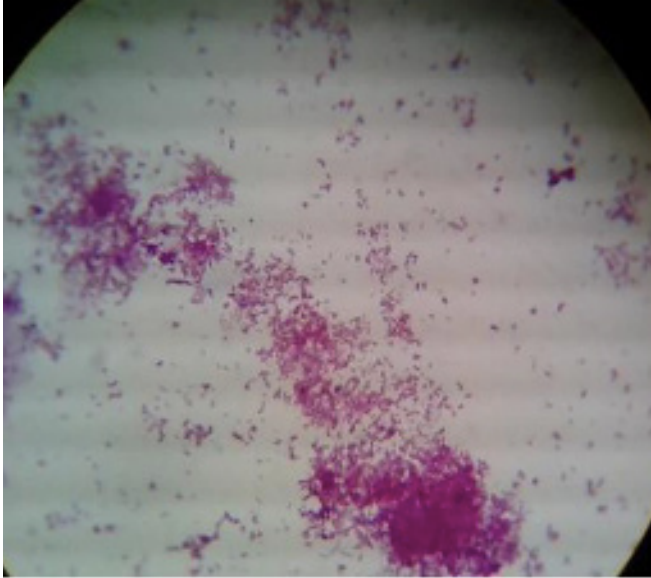


Foto 4.3. Gram para bacterias anaerobias con morfología mixta. Fuente: Corrales, 2024

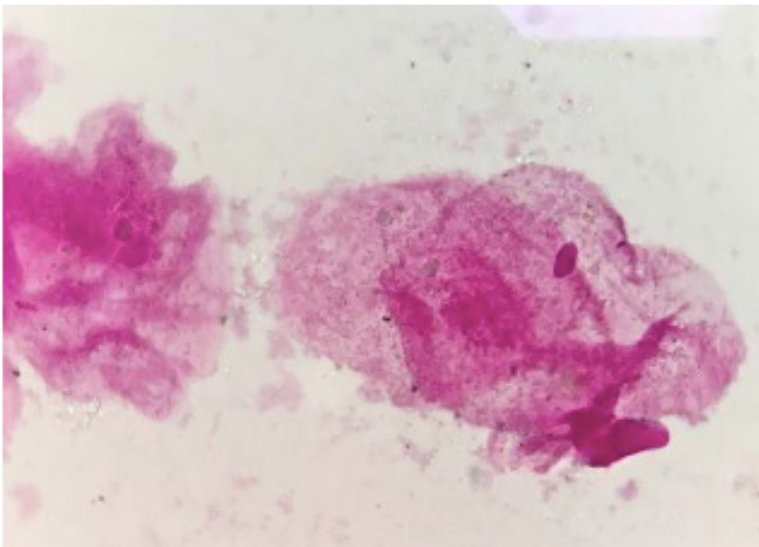


Foto 4.4. Bacterias anaerobias con morfología mixta al Gram tipo vaginosis bacteriana. Fuente: Corrales, 2024

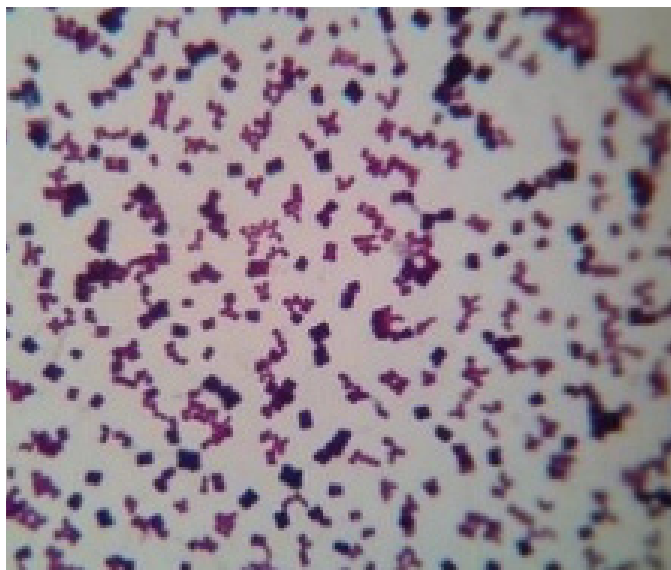


Foto 4.5. Coloración con cocos Gram positivos y Gram negativos. Fuente: Corrales, 2024

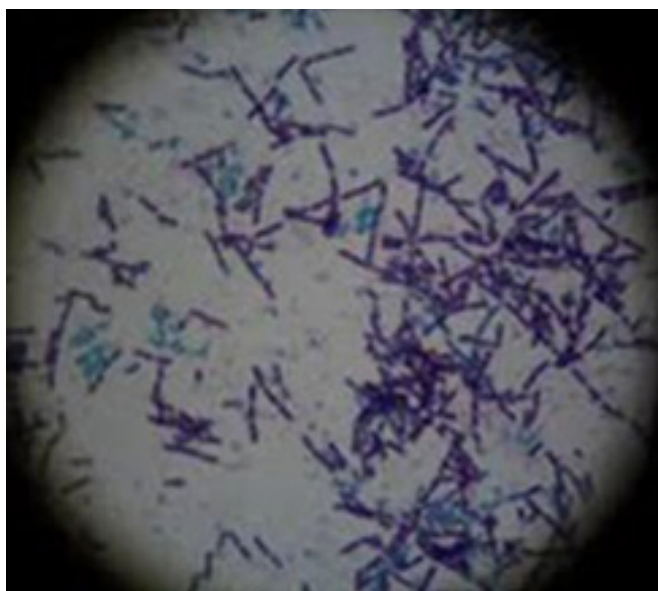


Foto 4.6. Coloración con bacilos Gram positivos esporulados. Fuente: Corrales, 2024

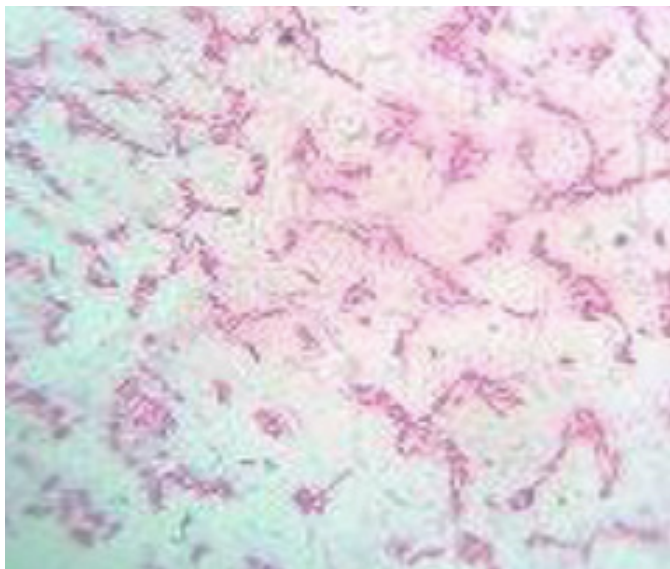


Foto 4.7. Coloración con bacilos Gram negativos capsulados. Fuente: Corrales, 2024

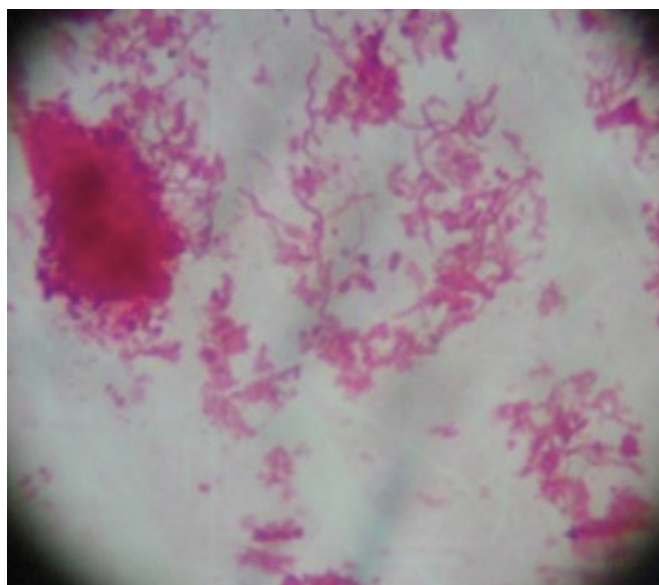


Foto 4.8. Coloración de Echio Riv con flora mixta y espiroquetas. Fuente: Corrales, 2024

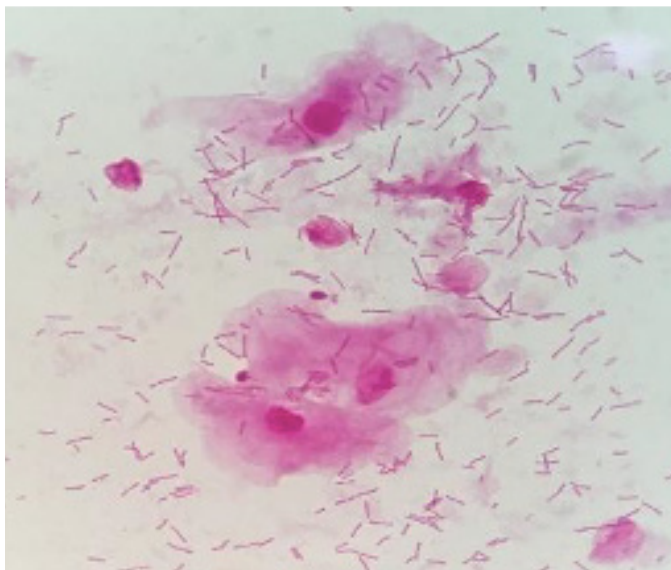


Foto 4.9. Coloración con bacilos Gram positivos y levaduras. Fuente: Corrales, 2024

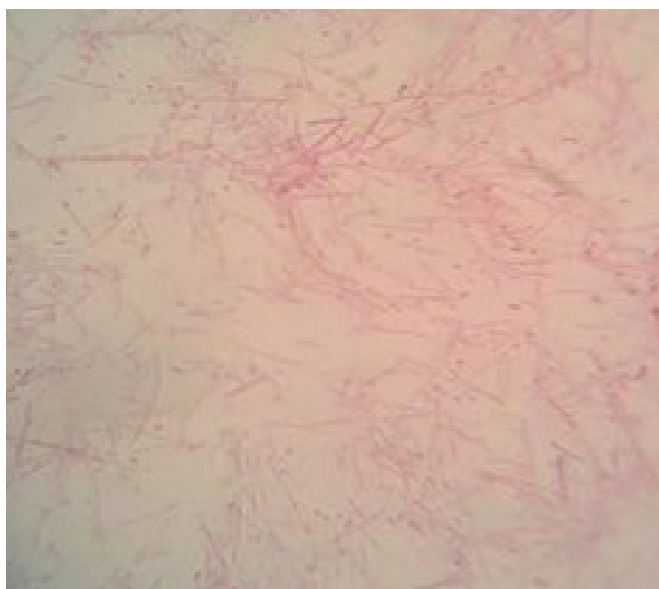


Foto 4.10. Coloración con bacilos Gram negativos con forma fusiforme. Fuente: Corrales, 2024

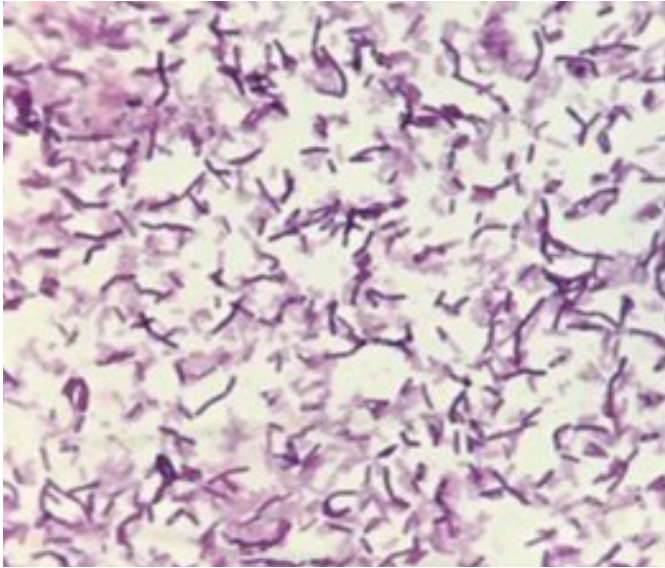


Foto 4.11. Coloración con bacilos Gram positivos largos sin esporas. Fuente: Corrales, 2024

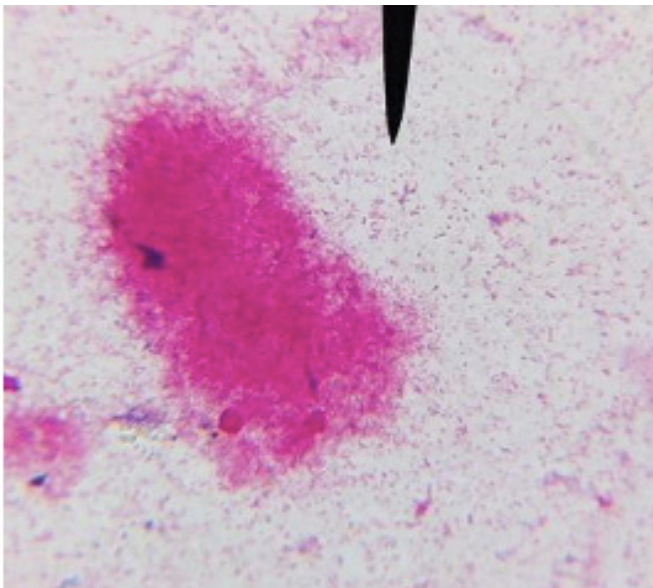


Foto 4.12. Coloración con diplococos Gram negativos. Fuente: Corrales, 2024

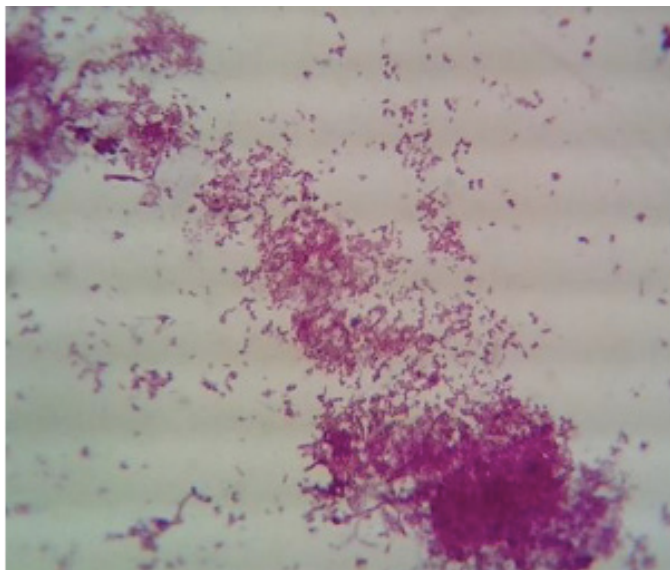


Foto 4.13. Coloración con predominio de cocos Gram positivos. Fuente: Corrales, 2024

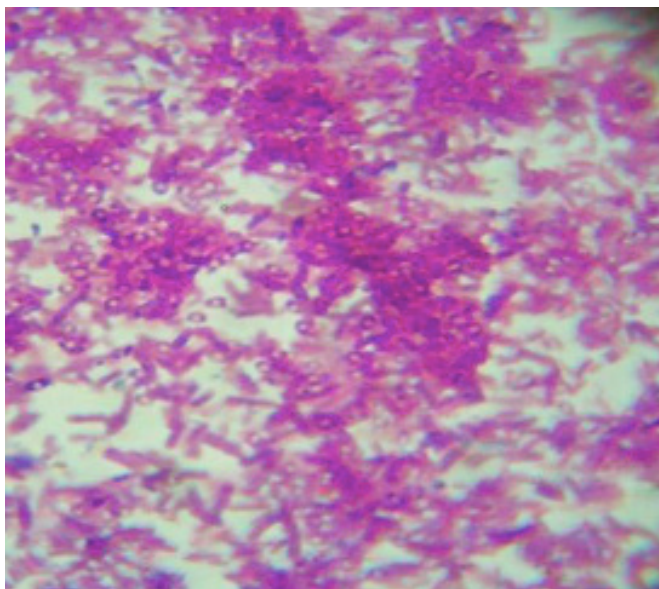


Foto 4.14. Coloración con bacilos Gram positivos con espora oval subterminal. Fuente: Corrales, 2024



Foto 4.15 Cultivo de bacterias anaerobias con crecimiento mixto. Fuente: Corrales, 2024

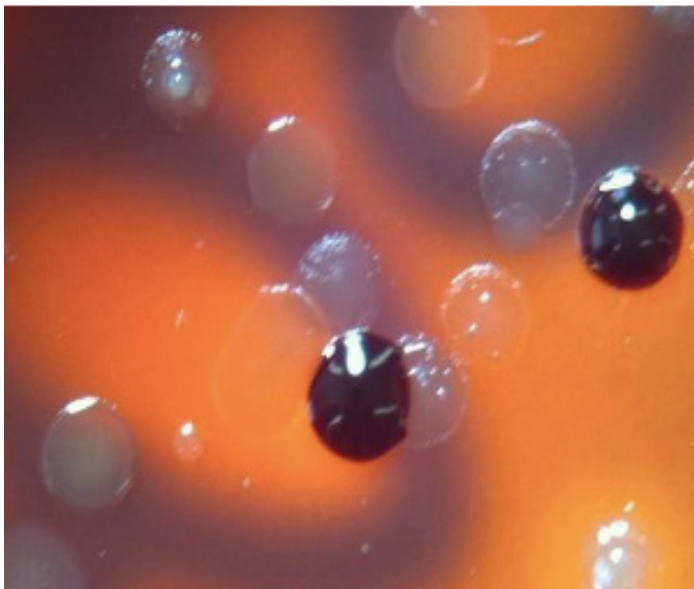


Foto 4.16 Cultivo de bacterias anaerobias con crecimiento de colonias negro pigmentadas. Fuente: Corrales, 2024

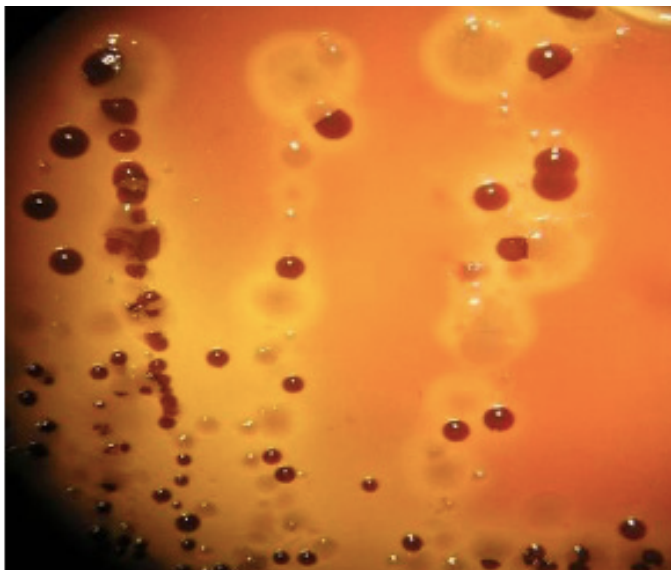


Foto 4.17. Cultivo de bacterias anaerobias con crecimiento de colonias pigmentadas. Fuente: Corrales, 2024



Foto 4.18. Cultivo de bacterias anaerobias con crecimiento de colonias mixtas. Fuente: Corrales, 2024

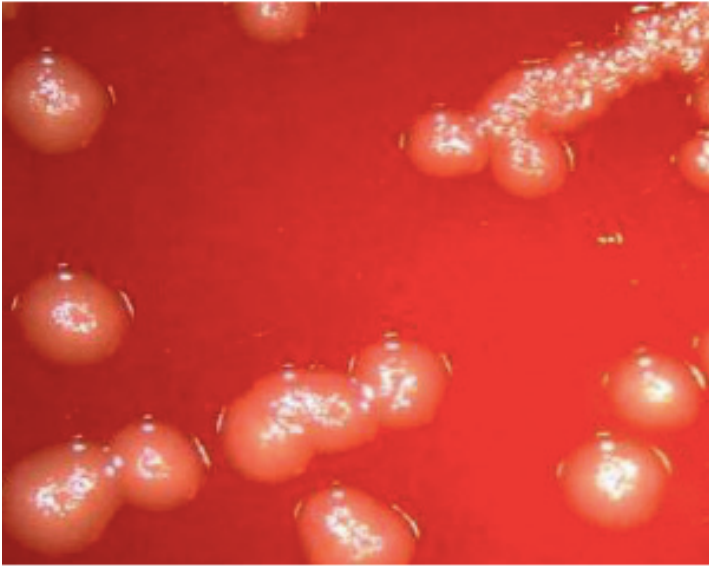


Foto 4.19. Colonias de *Actinomyces* spp. en agar Brucella con sangre y hemina.
Fuente: Corrales, 2024

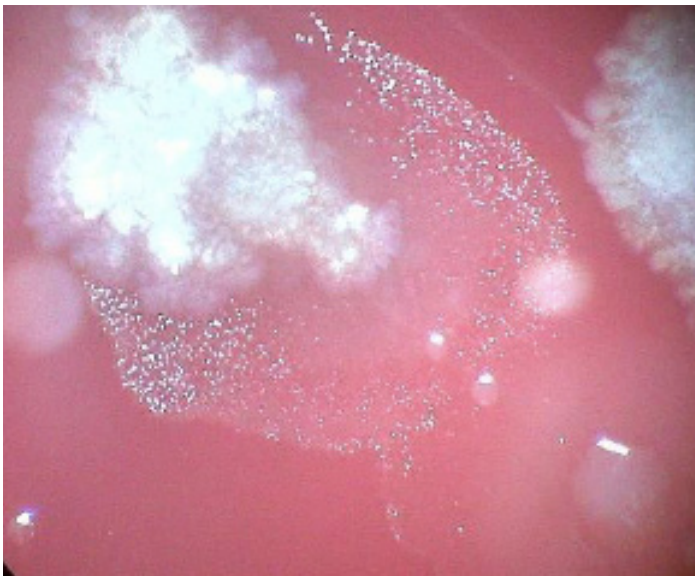


Foto 4.20. Colonias de *Fusobacterium* spp y *Eikenella corrodens* en agar Brucella con sangre y hemina. Fuente: Corrales, 2024

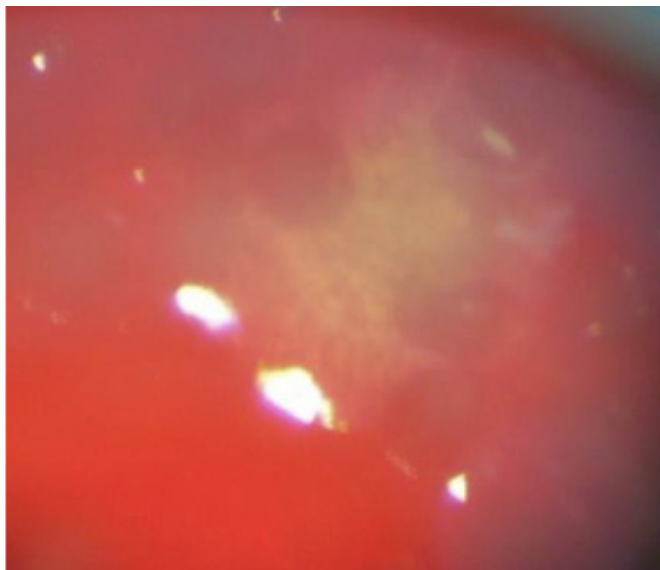


Foto 4.21. Colonia de *Capnocytophaga* spp. en agar sangre con vitamina K y hemina. Fuente: Corrales, 2024

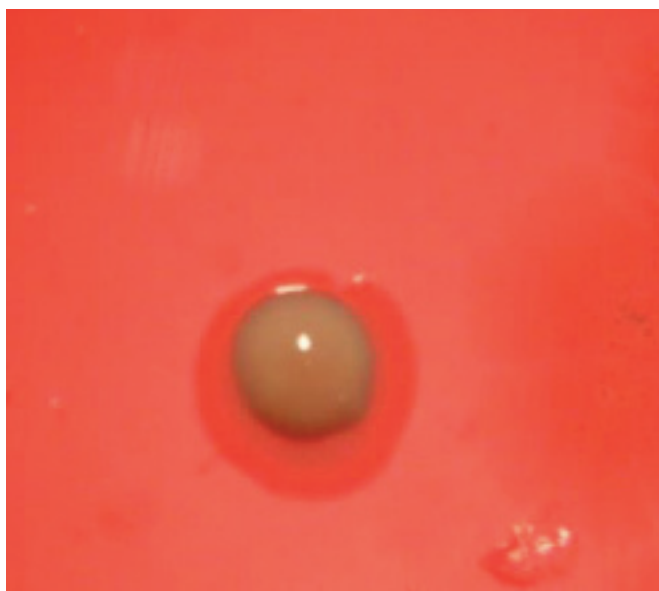


Foto 4.22. Colonia de *Prevotella* spp. en agar sangre con vitamina K y hemina. Fuente: Corrales, 2024

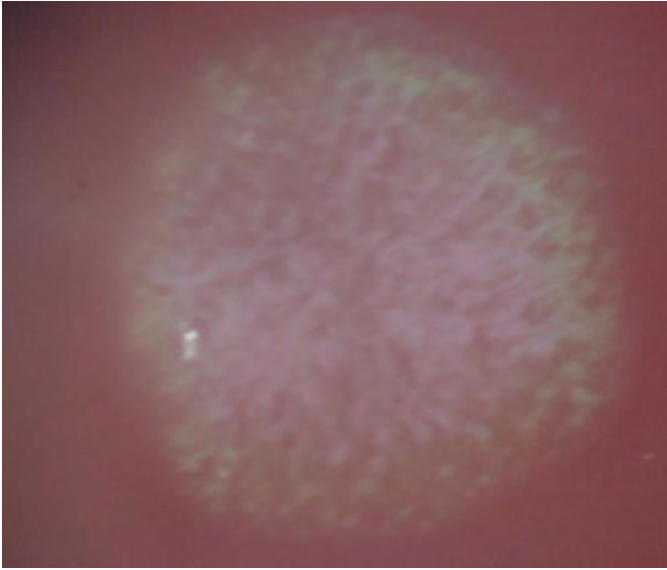


Foto 4.23. Colonia de *Fusobacterium* spp. en agar sangre con vitamina K y hemina. Fuente: Corrales, 2024



Foto 4.24. Colonia de *Actinomyces* spp. en agar Schaedler. Fuente: Corrales, 2024

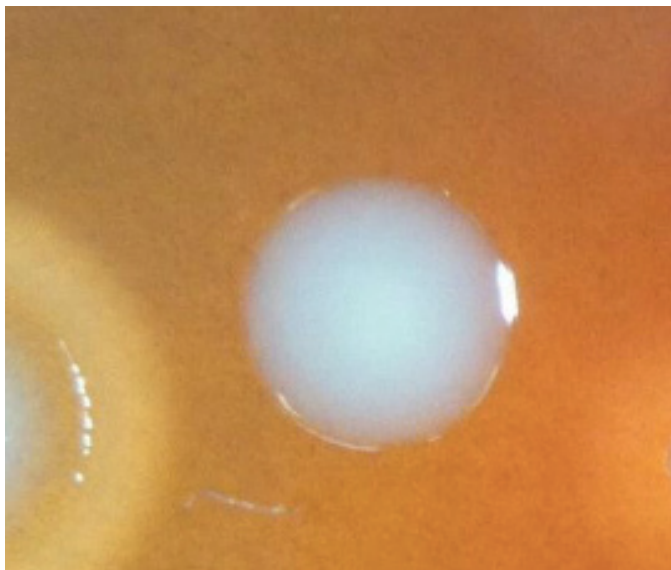


Foto 4.25. Colonia de *Peptococcus* spp. en agar sangre anaerobios. Fuente: Corrales, 2024



Foto 4.26. Colonia de *Eikenella corrodens* en agar sangre anaerobios. Fuente: Corrales, 2024

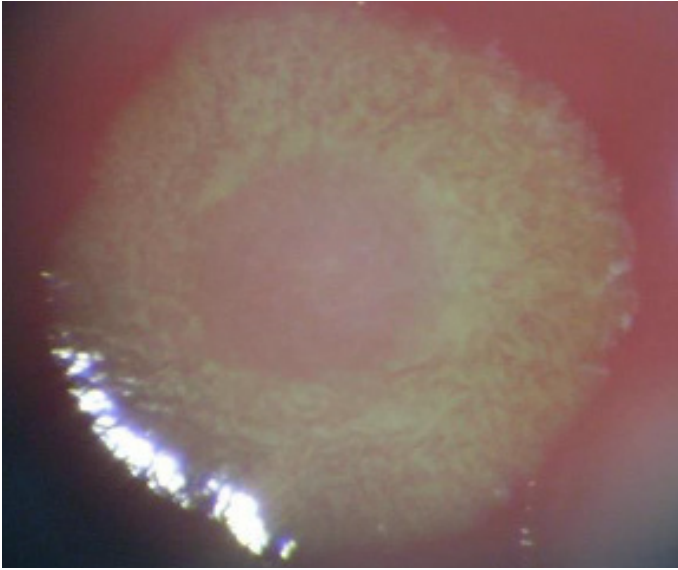


Foto 4.27. Colonia de *Fusobacterium* spp. en agar sangre anaerobios. Fuente: Corrales, 2024

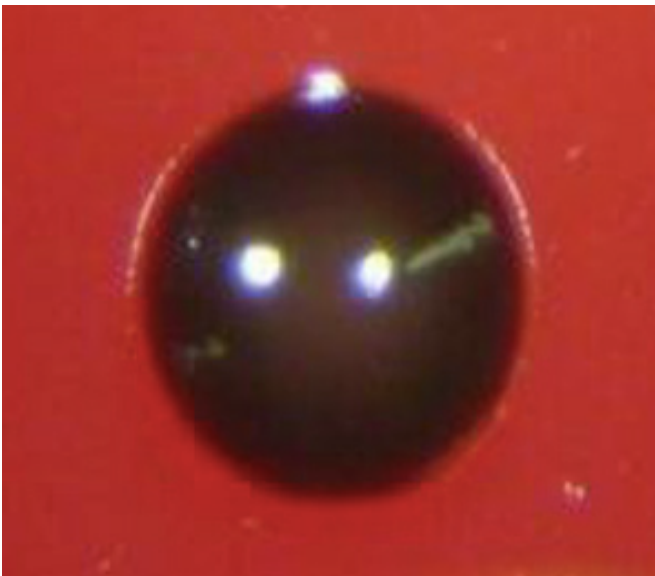


Foto 4.28. Colonia de *Porphyromonas* spp. en agar sangre con hemina. Fuente: Corrales, 2024



Foto 4.29. Colonia de *Prevotella* spp. en agar sangre anaerobios. Fuente: Corrales, 2024

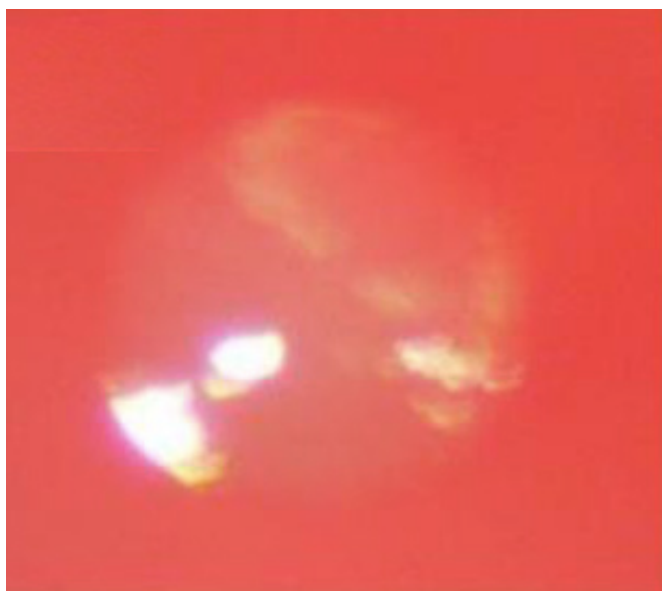


Foto 4.30. Colonia de *Tannerella forsythia* en agar sangre anaerobios. Fuente: Corrales, 2024

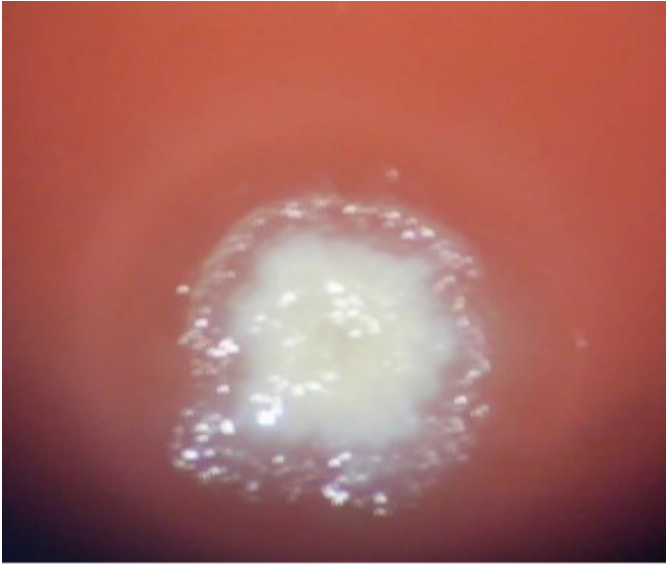


Foto 4.31. Colonia de *Actinomyces* spp. en agar sangre anaerobios. Fuente: Corrales, 2024

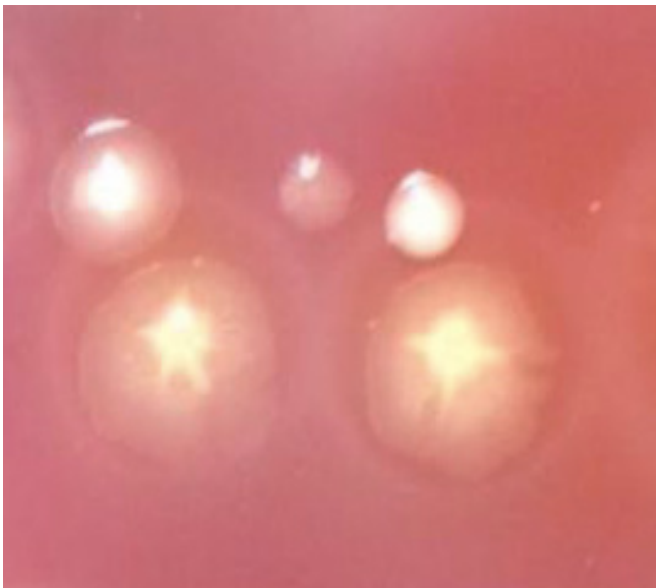


Foto 4.32. Colonia de *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* en agar sangre anaerobios. Fuente: Corrales, 2024

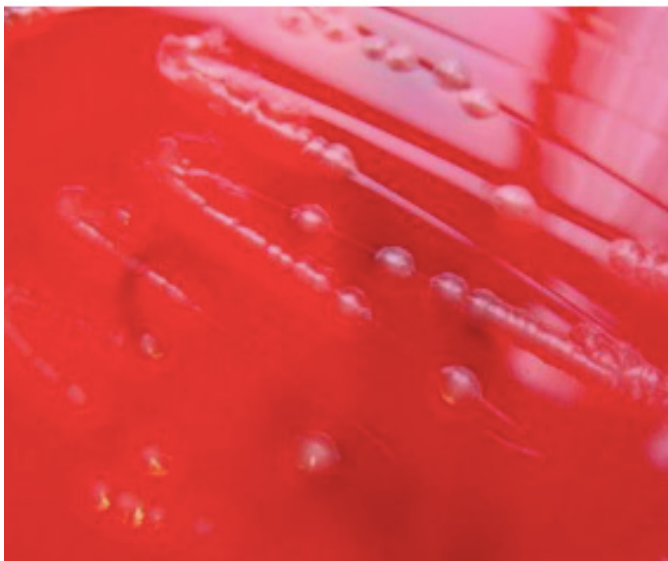


Foto 4.33. Colonias de *C. perfringens* en agar sangre anaerobios. Tomado de : <https://www.flickr.com/photos/nathanreadin/g/6721583599/in/photostream/>

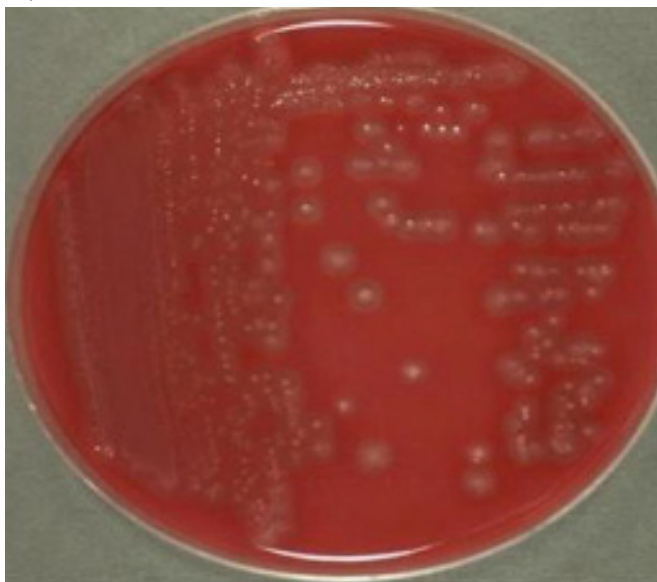


Foto 4.34. Colonias de *C. novyi* en agar sangre anaerobios. Tomado de : <https://app.emaze.com/@AWLWZFCC#3>

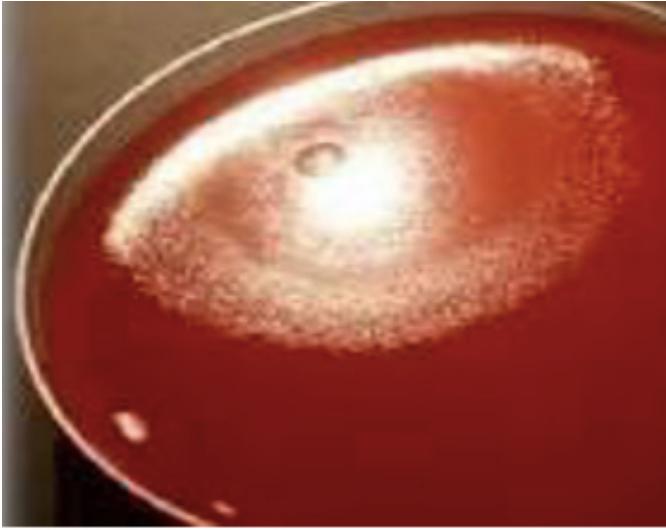


Foto 4.35. Colonias de *Clostridium* spp. en agar fenil-etil-alcohol con sangre. .
Fuente: Corrales, 2024

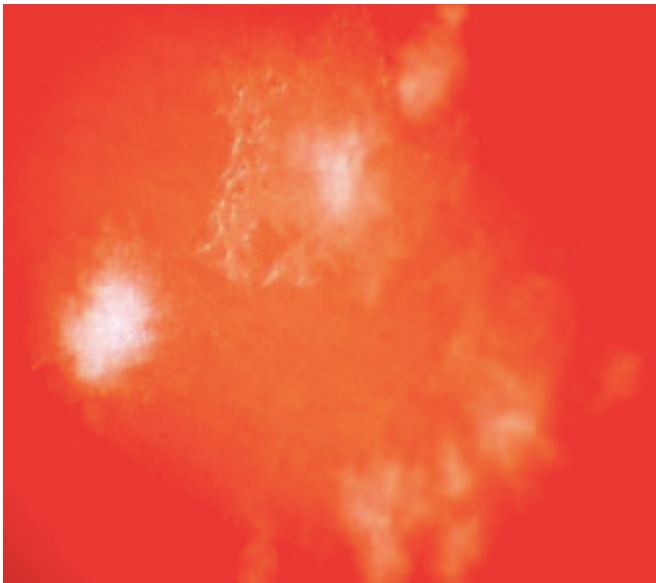


Foto 4.36. Colonias de *Clostridium* spp. en agar sangre con vitamina K y hemina.
Tomado de: <https://pixnio.com/es/ciencia/imagenes-microscopia/botulismo-clostridium-botulinum/petri-plato-cultura-sangre-celulas-gramo-positivo-clostridium-septicos-bacterias-rojo-tejido>

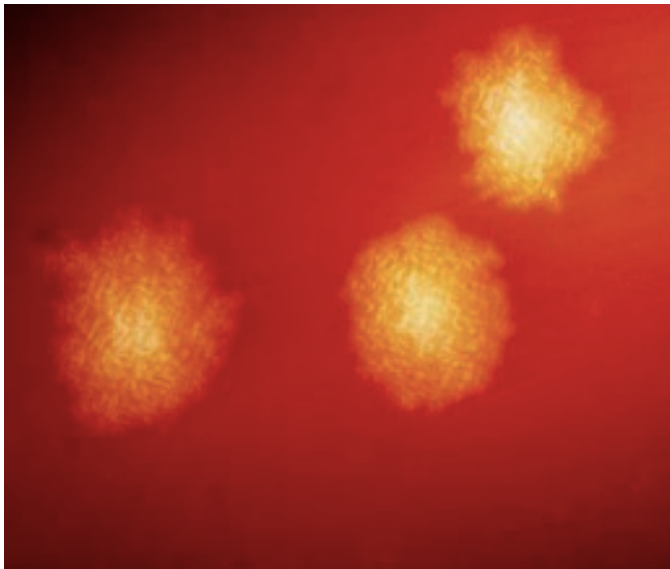


Foto 4.37. Colonias de *Clostridium difficile* en agar sangre con vitamina K y he-
mina. Tomado de: https://es.wikipedia.org/wiki/Clostridioides_difficile#/media/Archivo:Clostridium_difficile_colonies.png



Foto 4.38. Colonias de *Cutibacterium acnes*
en agar sangre con vitamina K. Fuente: Corrales, 2024

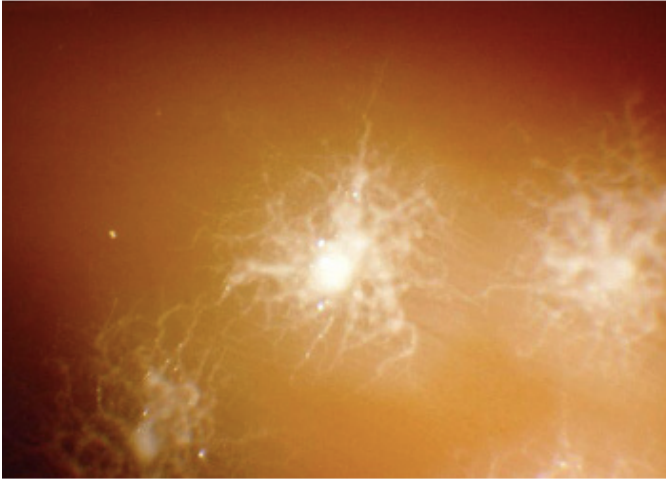


Foto 4.39. Colonias de *Clostridium sporogenes* en agar sangre con vitamina K y hemina. Tomado de: <https://pixnio.com/es/ciencia/imagenes-microscopia/botulismo-clostridium-botulinum/clostridium-sporogenes-colonias-crecido->

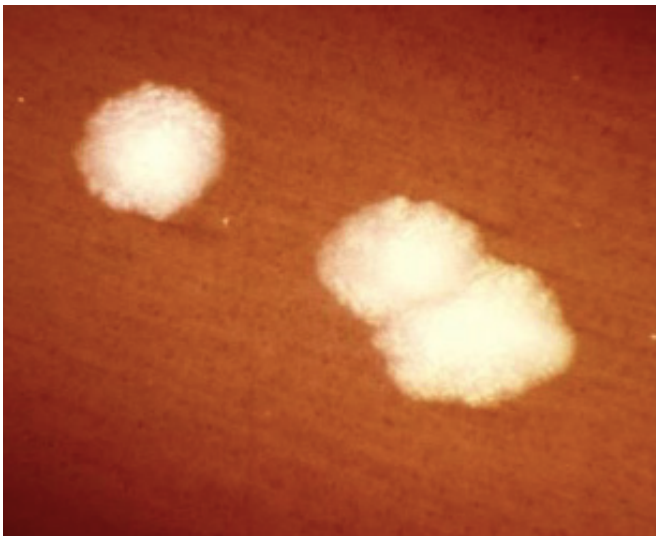


Foto 4.40. Colonias de *Clostridium botulinum* en agar sangre con vitamina K y hemina. Tomado de: <https://pixnio.com/es/ciencia/imagenes-microscopia/botulismo-clostridium-botulinum/clostridium-sporogenes-colonias-crecido-48hr-agar-sangre-placa-ampliacion>



Foto 4.41. Caldo con carne y caldo tioglicolato sin sembrar. Fuente: Corrales, 2024

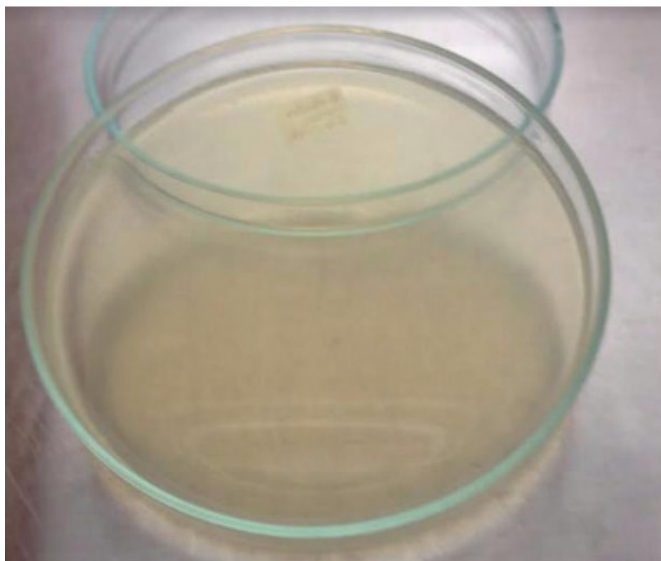


Foto 4.42. Agar Schaedler sin sembrar. Fuente: Corrales, 2024



Foto 4.43. Agar Chocolate sin sembrar. Fuente: Corrales, 2024

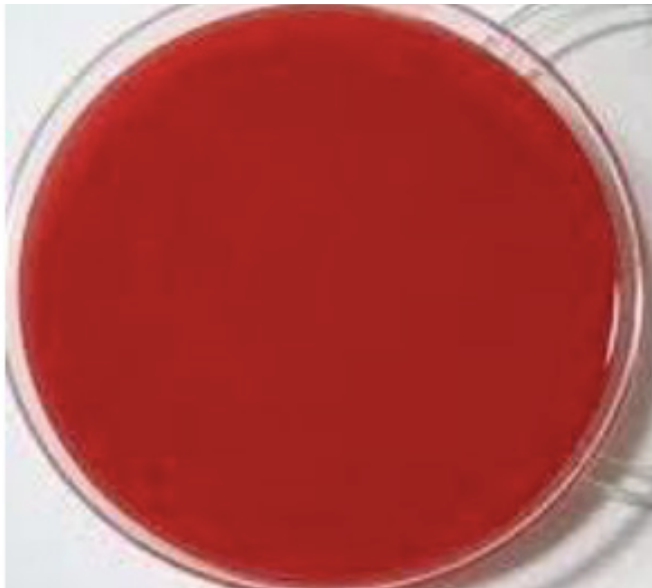


Foto 4.44. Agar Sangre anaerobios sin sembrar. Fuente: Corrales, 2024

Evaluación de repaso

1. ¿Cuáles son las condiciones óptimas para el desarrollo de las bacterias anaerobias en el laboratorio?
2. ¿Qué condiciones específicas se deben considerar cuando se toman muestras clínicas para la identificación de bacterias anaerobias?
3. ¿Cuáles son las muestras adecuadas para el aislamiento de bacterias anaerobias y cuál es su método de recolección?
4. En un diagrama explique la técnica recomendada para el aislamiento de bacterias anaerobias a partir de muestras orales
5. ¿Qué es un medio de transporte, que características tienen? ¿Y cuáles son los que más se utilizan en el caso de bacterias anaerobias?
6. ¿Cuáles son los medios de aislamiento primario más utilizados en el caso del diagnóstico de bacterias anaerobias y por qué?
7. ¿Cuáles son los suplementos nutricionales que requieren las bacterias anaerobias para crecer?
8. ¿Qué se denomina cultivo primario?
9. A qué se refieren los términos: características microscópicas, características macroscópicas y examen presuntivo
10. ¿Cuáles son los antibióticos que se adicionan a los medios de cultivo, como parte del examen presuntivo?
11. En un cuadro liste las principales pruebas bioquímicas que se realizan para la identificación de las bacterias anaerobias y explique su fundamento.
12. Qué son las placas presumpto, explique su utilidad.
13. Explique brevemente en qué consisten otros métodos de identificación para las bacterias anaerobias, aparte de las pruebas bioquímicas.

Lista de figuras

- Figura 4.1. Toma de muestra de placa subgingival para estudio de anaerobios. L. Corrales.
- Figura 4.2. Operón de la lactosa. Imagen modificada de “Regulación génica procariota, de OpenStax College, Biología (CC BY 4.0). Imagen modificada por L. Corrales.
- Figura 4.3. Inducción del operón de la lactosa. Imagen modificada de “Regulación génica procariota, de OpenStax College, Biología (CC BY 4.0). Imagen modificada por L. Corrales.
- Figura 4.4. Sistemas para incubación en atmósfera anaerobia. L. Corrales.
- Figura 4.5. Diagrama de identificación cocos Gram positivos anaerobios. L. Corrales.
- Figura 4.6. Diagrama de identificación cocos Gram positivos anaerobios, catalasa negativa. L. Corrales.
- Figura 4.7. Diagrama de identificación cocos Gram positivos anaerobios, catalasa negativa y colonias sin pigmento. L. Corrales.
- Figura 4.8. Diagrama de identificación cocos Gram positivos anaerobios, de acuerdo con la fenilalanina arilamidasa. L. Corrales.
- Figura 4.9. Diagrama de identificación cocos Gram positivos anaerobios, de acuerdo con la reacción a los discos PSS. L. Corrales.
- Figura 4.10. Identificación de cocos anaerobios. L. Corrales.

- Figura 4.11. Identificación de cocos Gram negativos anaerobios. L. Corrales.
- Figura 4.12. Identificación de Bacilos Gram positivos anaerobios facultativos y obligados. L. Corrales.
- Figura 4.13. Identificación de Bacilos Gram positivos anaerobios catalasa negativa. L. Corrales.
- Figura 4.14. Identificación de bacilos Gram negativos anaerobios, colonias con y sin pigmento. L. Corrales.
- Figura 4.15. Identificación de bacilos Gram negativos anaerobios, resistentes a la bilis y a la kanamicina. L. Corrales.
- Figura 4.16. Identificación de bacilos Gram negativos anaerobios, susceptibles a la kanamicina. L. Corrales.
- Figura 4.17. Identificación de bacilos Gram positivos anaerobios esporulados, de acuerdo con el crecimiento en aerobiosis. L. Corrales.
- Figura 4.18. Identificación de bacilos Gram positivos anaerobios esporulados, sacarolíticos y proteolíticos. L. Corrales.
- Figura 4.19. Identificación de bacilos Gram positivos anaerobios esporulados, sacarolíticos y no proteolíticos. L. Corrales.
- Figura 4.20. Identificación de bacilos Gram positivos anaerobios esporulados, sacarolíticos y no proteolíticos de acuerdo con la fermentación de xilosa. L. Corrales.
- Figura 4.21. Identificación de bacilos Gram positivos anaerobios esporulados proteolíticos y no sacarolíticos de acuerdo con la fermentación de glucosa e hidrólisis de la gelatina. L. Corrales.

Lista de tablas

- Tabla 4.1. Muestras adecuadas para el aislamiento de bacterias anaerobias.
- Tabla 4.2. Características de las muestras relacionadas con infecciones anaerobias.
- Tabla 4.3. Medios de cultivo de uso más frecuente para aislar bacterias anaerobias.
- Tabla 4.4. Pruebas para estimulación del crecimiento en algunas bacterias anaerobias.
- Tabla 4.5. Descripción de las placas presunto.
- Tabla 4.6. Prueba de tolerancia al oxígeno.
- Tabla 4.7. Características microscópicas, macroscópicas y particulares de las especies de cocos Gram positivos.
- Tablas 4.8, 4.9 y 4.10. Identificación de los cocos Gram positivos anaerobios por especies.
- Tabla 4.11. Características microscópicas, macroscópicas y particulares de las especies de cocos Gram negativos.
- Tablas 4.12, 4.13 y 4.14. Identificación por especies de los cocos Gram negativos anaerobios.
- Tabla 4.15. Características microscópicas, macroscópicas y particulares de las especies de bacilos Gram positivos.
- Tablas 4.16, 4.17, 4.18, 4.19, 4.20 y 4.21. Identificación por especies de los bacilos Gram positivos anaerobios.
- Tabla 4.22. Características microscópicas, macroscópicas y particulares de las especies de bacilos Gram negativos.
- Tablas 4.23, 4.24, 4.25, 4.26, 4.27, 4.28, 4.29, 4.30, 4.31, 4.32, 4.33, 4.34, 4.35. Identificación por especies de los bacilos Gram negativos anaerobios.

- Tabla 4.36. Características microscópicas, macroscópicas y particulares de las especies de bacilos Gram positivos anaerobios esporulados.
- Tablas 4.37 – 4.38. Identificación presuntiva de algunas especies del género *Clostridium*.
- Tabla 4.39. Identificación por especies del género *Clostridium*.

Lista de fotos

- Foto 4.1. Medio AnaeroLin. Tomado de: <https://docplayer.es/16620411-Toma-de-muestras-medios-de-transporte-medios-de-cultivo-y-pruebas-diferenciales.html>
- Foto 4.2. Sistema BD BBL Port-A-Cul. Tomado de: <https://www.bd.com/en-us/offering/capabilities/specimen-collection/swab-based-specimen-collection/bbl-port-a-cul-transport-systems>
- Foto 4.3. Gram para bacterias anaerobias con morfología mixta
- Foto 4.4. Bacterias anaerobias con morfología mixta al Gram tipo vaginosis bacteriana
- Foto 4.5. Coloración con cocos Gram positivos y Gram negativos
- Foto 4.6. Coloración con bacilos Gram positivos esporulados
- Foto 4.7. Coloración con bacilos Gram negativos capsulados
- Foto 4.8. Coloración de Echio Riv con flora mixta y espiroquetas
- Foto 4.9. Coloración con bacilos Gram positivos y levaduras
- Foto 4.10. Coloración con bacilos Gram negativos con forma fusiforme

- Foto 4.11. Coloración con bacilos Gram positivos largos sin esporas
- Foto 4.12. Coloración con diplococos Gram negativos
- Foto 4.13. Coloración con predominio de cocos Gram positivos
- Foto 4.14. Coloración con bacilos Gram positivos con espora oval subterminal
- Foto 4.15. Cultivo de bacterias anaerobias con crecimiento mixto.
- Foto 4.16. Cultivo de bacterias anaerobias con crecimiento de colonias negro pigmentadas
- Foto 4.17. Cultivo de bacterias anaerobias con crecimiento de colonias pigmentadas
- Foto 4.18 Cultivo de bacterias anaerobias con crecimiento de colonias mixtas
- Foto 4.19. Colonias de *Actinomyces* spp. en agar brucella con sangre y hemina
- Foto 4.20. Colonias de *Fusobacterium* spp y *Eikenella corrodens* en agar brucella con sangre y hemina
- Foto 4.21. Colonia de *Capnocytophaga* spp. en agar sangre con vitamina K y hemina
- Foto 4.22. Colonia de *Prevotella* spp. en agar sangre con vitamina K y hemina
- Foto 4.23. Colonia de *Fusobacterium* spp. en agar sangre con vitamina K y hemina
- Foto 4.24. Colonia de *Actinomyces* spp. en agar Schaedler
- Foto 4.25. Colonia de *Peptococcus* spp. en agar sangre anaerobios
- Foto 4.26. Colonia de *Eikenella corrodens* en agar sangre anaerobios

- Foto 4.27. Colonia de *Fusobacterium* spp. en agar sangre anaerobios
- Foto 4.28. Colonia de *Porphyromonas* spp. en agar sangre con hemina
- Foto 4.29. Colonia de *Prevotella* spp. en agar sangre anaerobios
- Foto 4.30. Colonia de *Tanarella forsythia* en agar sangre anaerobios
- Foto 4.31. Colonia de *Actinomyces* spp. en agar sangre anaerobios
- Foto 4.32. Colonia de *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* en agar sangre anaerobios
- Foto 4.33. Colonias de *C. perfringens* en agar sangre anaerobios
- Foto 4.34. Colonias de *C. novyi* en agar sangre anaerobios
- Foto 4.35. Colonias de *Clostridium* spp. en agar fenil-etil-alcohol con sangre
- Foto 4.36. Colonias de *Clostridium* spp. en agar sangre con vitamina K y hemina
- Foto 4.37. Colonias de *Clostridium difficile* en agar sangre con vitamina K y hemina
- Foto 4.38. Colonias de *Cutibacterium acnes* en agar sangre con vitamina K
- Foto 4.39. Colonias de *Clostridium sporogenes* en agar sangre con vitamina K y hemina
- Foto 4.40. Colonias de *Clostridium botulinum* en agar sangre con vitamina K y hemina
- Foto 4.41. Caldo con carne y caldo tioglicolato
- Foto 4.42. Agar Schaedler
- Foto 4.43. Agar Chocolate
- Foto 4.44. Agar Sangre anaerobios

Referencias bibliográficas

- AH Togo, S. Khelaifia, R. Valero, F. Cadoret, D. Raoult, M. Millón. *Negativicoccus massiliensis*, a new species identified from human feces from an obese patient after bariatric surgery. *New Microbe and New Infect.* 2016; 13:43-44.
- Ali RW, Bancescu G, Nielsen O, Skaug N. Viability of four putative periodontal pathogens and enteric rods in the anaerobic transport medium VMGA III. *Oral Microbiol Immunol.* 1995; 10(6):365-71.
- Angela Restrepo. *Microbiología de las Infecciones Humanas.* 2007
- Ardila Medina C.M., Arbeláez Montoya M.I., Guzmán Zu-luaga I.C. Perfil microbiológico subgingival de pacientes con periodontitis crónica en una población de Colombia. *Avances en Periodoncia.* 2012; 24(1): 47-53.
- Arteaga GRI, Doval UR. *Manual de prácticas de Bacteriología Médica.* México. Instituto Politécnico Nacional, 2009: 145-166.
- Bloch S, Tomek M, Friedrich V, Messner P, Schaffer CH. Nonulosonic acids contribute to the pathogenicity of the oral bacterium *Tannerella forsythia*. *Interface Focus.* 2019;9(2):20180064
- Ángela María Cardozo-Bernal. Utilidad de la Electroforesis en Gel de Campo Pulsado (PFGE) para la tipificación molecular de *Listeria monocytogenes*. Repositorio Pontificia Universidad Javeriana, Facultad de Ciencias, Programa Microbiología Industrial. Trabajo de grado. Bogotá, 2012. <https://repository.javeriana.edu.co/bitstream/handle/10554/11813/CardozoBernalAngelaMaria2012.pdf?sequence=1>

- Collins DA, Hawkey PM, Riley TV. Epidemiology of *Clostridium difficile* infection in Asia. *Antimicrob Resist Infect Control*. 2013; 2:21.
- Corvalán R. Alejandro, Aguayo G. Francisco, Lévicán G. Jorge, Corvalán V. Ignacio. *Biología molecular en Infectología: Parte II: Diagnóstico molecular de agentes infecciosos*. *Rev. chil. infectol* 2003; 20(1): 26- 38.
- Corvalán R. Alejandro, Aguayo G. Francisco, Lévicán G. Jorge, Corvalán V. Ignacio. *Biología molecular en Infectología: Parte II: Diagnóstico molecular de agentes infecciosos*. *Rev. chil. Infectol*. 2003; 20(1): 26-38.
- Dahlén G, Pipattanagovit P, Rosling B, Möller AJ. A comparison of two transport media for saliva and subgingival samples. *Oral Microbiol Immunol*. 1993 Dec;8(6):375-82.
- Damnjanovic D, Vázquez-Campos X, Winter DL, Harvey M, Bridge WJ. Bacteriophage genotyping using BOXA repetitive-PCR. *BMC Microbiol*. 2020 Jun 11;20(1):154.
- Deak E, Miller S, Humphries R. Comparison of Illumigene, Simplexa, and AmpliVue *Clostridium difficile* molecular assays for diagnosis of *C. difficile* infection. *J Clin Microbiol*. 2014; 52:960-3.
- Donald Ramos-Perfecto. *Tannerella forsythia*: patógeno importante en la periodontitis, integrante del complejo rojo. *Odontol. Sanmarquina* 2020; 23(3): 253-260.
- Dongneng J, Pu X, Wu J, Li M, Liu P. Rapid, sensitive and specific detection of *Clostridium tetani* by loop-mediated isothermal amplification assay. *J Microbiol Biotechnol*. 2013; 23:1-6.
- Dréno B, Pécastaings S, Corvec S, Veraldi S, Khammari A, Roques C. *Cutibacterium acnes* (*Propionibacterium acnes*) and *acne vulgaris*: a brief look at the latest updates. *J Eur Acad Dermatol Venereol*. 2018; 32 Suppl 2:5-14.

- Eliane R. Tsukimoto; Flávia Rossi. Evaluation of MALDI-TOF mass spectrometry (VITEK-MS) compared to the ANC card (VITEK 2) for the identification of clinically significant anaerobes. *J Bras Patol Med Lab.* 2018; 54(4): 206-212.
- Fabiola Valenzuela-González, Ramón Casillas-Hernández, Enrique Villalpando, Francisco Vargas-Albores. El genARNr 16S en el estudio de comunidades microbianas marinas. *Cienc. Mar.* 2015; vol.41 no.4
- Grant C. Paulsen, Paul K. Sue. 30 - *Nocardia* and *Actinomyces*. *Pediatric Transplant and Oncology InfectiousDiseases.* Elsevier, 2021; 233-240
- J.E. José Elías García-Sánchez, M. María José Fresnadillo, Enrique García-Sánchez. Nuevas bacterias anaerobias implicadas en enfermedades infecciosas humanas. *Enferm Infecc Microbiol Clin.* 2010; 28(3):173–184.
- Jeon BS, Kim S, Sang BI. *Megasphaera hexanoica* sp. nov., a medium-chain carboxylic acid- producing bacterium isolated from a cow rumen. *Int J Syst Evol Microbiol.* 2017; 67(7):2114- 2120.
- Jiang, Dongneng, Xiaoyun Pu, Jiehong Wu, Meng Li, and Ping Liu. Rapid, Sensitive, and Specific Detection of *Clostridium tetani* by Loop-Mediated Isothermal Amplification Assay. *J. Microbiol. Biotechnol.* (2013), 23(1), 1–6
- K. Diop, F. Bretelle, O. Mediannikov, P.E Fournier, F. Fenollar. *Peptoniphilus pacaensis* sp. nov., a new species isolated from human female genital tract. *New microbe and new infect.* 2016; 13: 37-39.
- K. Diop, F. Bretelle, P.-E. Fournier, F. Fenollar. *Anaerococcus mediterraneensis* sp. nov., a new species isolated from human female genital tract. *New Microbes and New Infections* 2017; 17: 75-76.
- Kamil Piwowarek, Edyta Lipińska, Elżbieta Hać-Szymańczuk, Marek Kieliszek, Iwona Ścibisz. *Propionibacterium*

- spp.—source of propionic acid, vitamin B12, and other metabolites important for the industry. *Appl Microbiol-Biotechnol.* 2018; 102:515–538.
- Lau SK, Tang BS, Teng JL, Chan TM, Curreem SO, Fan RY, Ng RH, Chan JF, Yuen KY, Woo PC. Matrix-assisted laserdesorption ionisation time-of-flight mass spectrometry for identification of clinically significant bacteria that are difficult to identify bin clinical laboratories. *J Clin Pathol.* 2014;67:361-6.
- Litterio MR, Lopardo H. “La anaerobiosis más allá de las bacterias anaerobias. Su importancia en la recuperación de microorganismos aerobios a partir de materiales purulentos”. *Rev Argentina Microbiol* 2010; 42: 102-107.
- Luis Alcalá-Hernández, Ana Mena-Ribas, Jordi Niubó-Bosh, Mercedes Marín-Arriaza. Diagnóstico microbiológico de la infección por *Clostridium difficile*. *Enferm Infecc Microbiol Clin.* 2016;34(9):595 –602.
- Maki JJ, Looft T. *Megasphaera stantonii* sp. nov., a butyrate-producing bacterium isolated from the ceSrinivasan S, Beamer MA, Fiedler TL, Austin MN, Sizova MV, Strenk SM, Agnew KJ, Gowda GAN, Raftery D, Epstein SS, FredricksDN, Hillier SL. *Megasphaera lornae* sp. nov., *Megasphaera hutchinsoni* sp. nov., and *Megasphaera vaginalis* sp. nov.: novel bacteria isolated from the female genital tract. *Int J Syst Evol Microbiol.* 2019; 68(11):3409-3415.
- Mansfield JM, Campbell JH, Bhandari AR, Jesionowski AM, Vickerman MM. Molecular analysis of 16S rRNA genes identifies potentially periodontal pathogenic bacteria and archaea in the plaque of partially erupted third molars. *J Oral Maxillofac Surg.* 2012; 70:1507-14 e1-6.
- Mariela S. Zárate, Vanesa Romano, Jimena Nievas, Jorgelina Smayevsky. Utilidad de la espectrometría de masas MALDI-TOF en la identificación de bacterias anaerobias. *Rev Argent Microbiol.* 2014;46(2):98 - 102

- Mayorga-Fayad I, Lafaurie G, Contreras A, Castillo D, Barón A, Aya M. Microflora subgingival en periodontitis crónica y agresiva en Bogotá, Colombia: un acercamiento epidemiológico. *Biomédica*. 2007; 27:21-33
- Michael J. Leboffe, Burton E. Pierce *Microbiology: Laboratory Theory and Application Essentials* 1st Edition 2019 Morton Publishing Company
- Morand A, Cornu F, Tsimaratos M, Lagier JC, Cadoret F, Fournier PE, Raoult D. “*Anaerococcus urinomassiliensis* sp. Nov., Aislado de una muestra de orina de un niño de 17 años afectado por hepatitis autoinmune y glomerulonefritis membranoproliferativa”. *Nuevos microbios y nuevas infecciones*. 2016;13: 56–8.
- Ostria Hernández, Martha Lorena, Hernández Cortez, Cecilia, Castro Escarpulli, Graciela. ¿Por qué estudiar a las bacterias anaerobias obligadas? *Enf inf microbiol* 2014 34 (3): 105 -114.
- Patel’ P. [MALDI-TOFF mass spectrometry: transformative proteomics in clinical microbiology]. *Klin Lab Diagn*. 2014 Nov;59(11):8-10.
- Patel R. MALDI-TOF MS for the diagnosis of infectious diseases. *Clin Chem*. 2015; 61:100-11.
- Rodríguez E, Gamboa M, Hernández F. *Bacteriología General: Principios y Prácticas de Laboratorio*. Costa Rica: Editorial Universidad de Costa Rica; 2005.
- Sawai T, Koga S, Ide S, Yoshioka S, Matsuo N, Mukae H. Un absceso del psoas ilíaco causado por *Parvimonas micra*: reporte de un caso. *J Med Case Rep*. 2019; 13 (1): 47.
- Syed SA, Loesche WJ. Survival of human dental plaque flora in various transport media. *Appl Microbiol*. 1972;(4):638-44.
- Togo AH, Diop A, Tall ML, Million M, Khelaifia S, Maraninchi M, Raoult D, Fournier PE, Dubourg G. Draft genome and description of *Negativicoccus massiliensis* strain

- Marseille-P2082, a new species isolated from the gut microbiota of an obese patient. *Antonie Van Leeuwenhoek*. 2020; 113(7):997-1008.
- Valor F, Sénéchal A, Dupieux C, Karsenty J, Lustig S, Breton P, Gleizal A, Boussel L, Laurent F, Braun E, Chidiac C, Ader F, Ferry T. Actinomycosis: etiología, características clínicas, diagnóstico, tratamiento, y manejo. *Infection and drug resistance*. 2014; 7: 183-97.
- van Steenberghe TJ, Petit MD, Tjihof CJ, van Winkelhoff AJ, van der Velden U, de Graaff J. Survival in transport media of *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Porphyromonas gingivalis* and *Prevotella intermedia* in human subgingival samples. *Oral Microbiol Immunol*. 1993; 8 (6):370-4.
- Veruska de João Malheiros, Mario Julio Avila-Campos. *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* y *Fusobacterium nucleatum* en biopelículas subgingivales de pacientes brasileños con y sin enfermedad periodontal: comparación de dos métodos de detección. *Odontol. Sanmarquina* 2018; 21(4): 268-277
- Woo PC, Wong SS, Teng JL, Leung KW, Ngan AH, Zhao DQ, Tse H, Lau SK, Yuen KY. *Leptotrichia hongkongensis* sp.nov., una nueva especie de *Leptotrichia* con la cavidad bucal como reservorio natural. *J Zhejiang Univ Sci B*. 2010;11 (6): 391-401.
- Yang, WT., Grant, M. *Actinomyces neuii*. Reporte de un caso de una causa rara de endocarditis infecciosa aguda y revisión de la literatura. *BMC Infect Dis*. 2019; 19, 511
- Yi-Wei Tang, Andrew Sails. *Molecular Medical Microbiology*. 2nd Edition, Academic Press. 2014.
- Zárate MS, Romano V, Nievas J, Smayevsky J. Utility of MALDI-TOF MS for the identification of anaerobic bacteria. *Rev Argent Microbiol*. 2014; 46:98-102.

Capitulo V

Resistencia bacteriana y pruebas de sensibilidad a los antibióticos

Tipos de resistencia y métodos de
evaluación de la sensibilidad de los
anaerobios a los antibióticos.

Resumen

En las infecciones por anaerobios es necesario optimizar el establecimiento de una terapia antibiótica empírica adecuada, consciente de la cobertura, y de acuerdo con perfiles de susceptibilidad conocidos.

Las bacterias anaerobias se han caracterizado por presentar buena respuesta a los agentes antimicrobianos, sin embargo, los patrones de resistencia de muchas de las especies asociadas a infecciones graves en humanos han cambiado en los últimos años por múltiples factores; en la actualidad se observa la aparición de resistencia a la acción de antimicrobianos de uso frecuente para el tratamiento de infecciones causadas por estas bacterias.

En este capítulo se mencionarán los diferentes métodos para el estudio de la sensibilidad de las bacterias anaerobias frente a los antibióticos y las bases de la interpretación de los resultados obtenidos *in vitro*.

En general, los métodos que se utilizan para evaluar la sensibilidad de las bacterias anaerobias a los antimicrobianos son:

- Dilución en agar
- Microdilución en caldo
- Epsilométrico

Introducción

El uso excesivo de antibióticos ha desencadenado la aparición de bacterias resistentes a ellos, las cuales se están propagando de los hospitales a la comunidad, muy rápidamente. De éstas, existen muchos ejemplos: bacterias aerobias como los *enterococos* resistentes a la vancomicina (VRE) y *Staphylococcus aureus* resistentes a la meticilina (MRSA) y hoy en día suelen encontrarse con mucha frecuencia; también se encuentran cepas de *Mycobacterium tuberculosis* extremadamente resistentes a medicamentos (XDR-TB), las cuales incrementan el porcentaje de mortalidad en los pacientes.

Los antibióticos son medicamentos utilizados para prevenir y tratar las infecciones bacterianas que actúan sobre las bacterias de diversas formas como: produciendo toxicidad selectiva, inhibiendo la síntesis de compuestos, inhibiendo la función de la membrana celular, impidiendo la síntesis de proteínas o inhibiendo la síntesis de los ácidos nucleicos.

La resistencia a los antibióticos se produce cuando las bacterias mutan o adquieren información genética para evadir el efecto o la acción de estos fármacos. En consecuencia, las bacterias farmacorresistentes causan infecciones en el ser humano y en los animales más difíciles de tratar que si se tratara de una no resistente. La resistencia a los antibióticos hace que se incrementen los costos en el tratamiento, se prolonguen las estancias hospitalarias y que aumente la mortalidad.

Con el aumento de la resistencia a los antimicrobianos, empezó a ser más difícil la selección empírica de la terapia adecuada. Lo anterior hace necesario realizar pruebas *in vitro* de sensibilidad de los diferentes agentes patógenos frente a los antimicrobianos, utilizando métodos estandarizados y

validados. Como antecedente acerca de la susceptibilidad antibiótica en bacterias anaerobias, se conoce desde la década de los 90s, por el estudio de Tanner et al, sobre abscesos dentoalveolares, donde entre las bacterias anaerobias facultativas se encontraron porcentajes de resistencia similares para la amoxicilina y la amoxicilina/ácido clavulánico (7%) y que entre los anaerobios estrictos, dicha resistencia aumenta hasta un 13%; información que generó interés en conocer más sobre la resistencia a los antibióticos en bacterias anaerobias; indagación se ha ampliado con estudios recientes.

Teniendo en cuenta lo anterior, el estudio de la sensibilidad bacteriana a los antibióticos es una de las funciones más importantes de los laboratorios de microbiología clínica, porque a través de ello se logra:

- Dirigir la terapéutica una vez que el germen es conocido.
- Generar una base de datos que permita seleccionar los antibióticos a utilizar para un tratamiento.
- Desarrollar políticas de uso de antimicrobianos y conocer las resistencias emergentes.
- Vigilar la aparición de nuevos mecanismos de resistencia.
- Detectar precozmente la diseminación epidémica de una cepa, tanto a nivel hospitalario como comunitario.

Lo adecuado para prescribir un antibiótico es contar con la información acerca de los perfiles de sensibilidad y resistencia; pero esto no siempre es posible, pues hay que considerar la urgencia en el tratamiento, la dificultad de obtención de la muestra adecuada y los tiempos que se toma el análisis en el laboratorio. Sin embargo, estas dificultades no deben ser razón para omitir realizar las pruebas de sensibilidad, dado que sus resultados marcan una pauta para evaluar la

conducta seguida con el paciente, pronosticar el éxito terapéutico y, además, nutrir la información del comportamiento epidemiológico de la bacteria aislada en la infección.

¿Qué son los antibióticos?

La palabra antibiótico se deriva del griego anti, que significa lo opuesto o con propiedades contrarias y, biotikós, que hace referencia a los seres vivos o a la vida. En general, los antibióticos son sustancias químicas producidas por los seres vivos, para defenderse de otros organismos vivos y a partir de las cuales se han generado derivados sintéticos similares que cumplen la misma función.

Se utilizan para tratar infecciones bacterianas, virales, parasitarias y micóticas y hacen parte de los medicamentos que se recetan con mayor frecuencia, dada la gran diversidad de agentes infecciosos con que se convive. Su mecanismo de acción se basa en inhibir o detener el crecimiento de los patógenos.

En el año 1928, Alexander Fleming descubrió el primer antibiótico que conocemos como penicilina y que se utilizó ampliamente en la Segunda Guerra Mundial. Sin embargo, las sulfamidas fueron la primera clase de antibióticos usados clínicamente en 1930. El descubrimiento de los antibióticos hizo un gran aporte a la ciencia, por sobre todo a la medicina que, cambio el discurso de enfermedades mortales por tratables disminuyendo las tasas de mortalidad de la época, generadas por agentes infecciosos.

Los antibióticos actúan de diferentes formas de acuerdo con su composición y estructura; un ejemplo es la penicilina que causa el debilitamiento de la pared celular bacteriana lo que conlleva al estallido osmótico y la muerte; hay otros como las tetraciclinas que no producen la muerte a la bacteria, sino que inhiben su crecimiento al interrumpir la síntesis de proteínas esenciales en sus procesos metabólicos.

También hay unos que pueden usarse para tratar un amplio rango de infecciones, mientras que otros se usan para tratar infecciones producidas por unos tipos específicos de bacterias y, a esto, se refiere el espectro de acción. Sin embargo, es importante tener en cuenta que al ser sustancias externas al organismo pueden causar algunos efectos adversos que se deben considerar.

Los antibióticos habitualmente se seleccionan para tratar una infección basándose en el tipo de infección, la historia clínica del paciente y las pruebas de laboratorio, que identifica la bacteria que produce la enfermedad, para así poder determinar el o los antibióticos más adecuados para combatir la infección; también se utilizan para tratamiento profiláctico.

Los antibióticos que se clasifican en varias categorías:

1. Según su origen:
 - Natural
 - Sintético
 - Semisintético
2. Según su efecto:
 - Bacteriostático
 - Bactericida
3. Según su espectro de actividad:
 - Amplio
 - Intermedio
 - Reducido
4. Según su mecanismo de acción:
 - Inhibición de la síntesis de la pared celular
 - Alteración de la permeabilidad celular
 - Inhibición de la síntesis proteica
 - Inhibición de la síntesis de ADN y ARN

Algunos antibióticos se extraen de organismos vivos mediante el proceso conocido como biosíntesis. El ejemplo más conocido es el de la penicilina que es extraída del hongo *Penicillium notatum*.

Tabla 5.1 Descripción de algunos antibióticos naturales

ANTIBIÓTICOS NATURALES			
Nombre	Fuente	Espectro	Mecanismo
Cecropinas	Drosophila, cerdo	Gram (-) y Gram (+)	Afecta síntesis de proteínas o la replicación del DNA, induce la formación de poros y lisis
Magainina	Piel de la rana	Gram (-), Gram (+) y hongos	Afecta síntesis de proteínas o la replicación del DNA, induce la formación de poros.
Bactenecinas	Neutrófilos bovinos	Gram (-)	Afecta la permeabilidad de la membrana interna y externa.
Proteinasa 3	Neutrófilos humanos y de mono	Gram (-), Gram (+) y hongos	Actividad proteolítica, activación de citoquinas, control de crecimiento y diferenciación celular y formación de especies reactivas de oxígeno.
Azurocidina	Neutrófilos humanos y de bovinos	Gram (-), Gram (+) y hongos	actividad hidrolítica en sus lisosomas, sintetasa del óxido nítrico, fosfatasa ácida, lisozima
Catepsina G	Neutrófilos humanos	Gram (-), Gram (+) y hongos	Actividad proteolítica, Inhibición del metabolismo

El antibiótico ideal debe ser aquel que muestra toxicidad selectiva, lo cual significa que es nocivo para el microorganismo patógeno sin dañar al hospedador. La toxicidad selectiva a menudo es relativa y no absoluta. Esto implica que un fármaco, a la concentración que tolera el hospedador, es nocivo para el microorganismo infeccioso. La toxicidad selectiva es una función de un receptor específico necesario para la fijación del fármaco o depende de la inhibición de algún acontecimiento bioquímico indispensable para el microorganismo patógeno, pero no para el hospedador.

Las clases de antibióticos más comunes incluyen:

- Penicilinas
- Cefalosporinas
- Carbapenémicos
- Aminoglucósidos
- Tetraciclinas
- Macrólidos
- Fluoroquinolonas
- Sulfamidas

Cuando se utilizan los antibióticos es necesario considerar las siguientes relaciones:

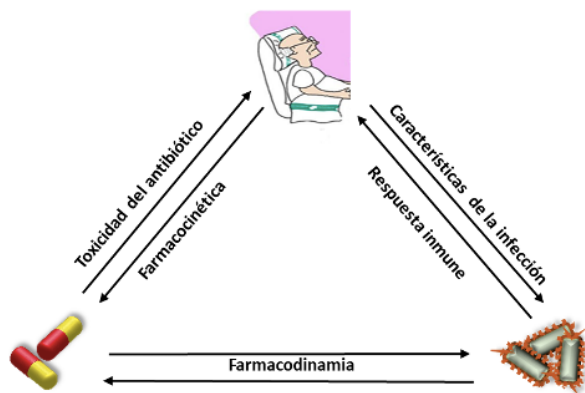


Figura 5.1. Relación paciente, microorganismo y antibiótico, a considerar en la prescripción terapéutica. Fuente: Corrales, 2024

La farmacocinética, se refiere a lo que hace el organismo del enfermo con el fármaco. Denota el movimiento que tiene el fármaco por el organismo una vez es administrado; abarca la absorción, distribución, metabolismo, excreción, efecto máximo y duración.

La absorción es la velocidad con que pasa el fármaco desde su punto o vía de administración hasta el punto de actuación. En esta absorción influyen factores como la vía de administración, alimentos con que se ingiere o que se encuentran en el estómago o fluidos, la formulación de la dosificación, la superficie de absorción, irrigación y acidez del estómago y la motilidad gastrointestinal principalmente.

Es importante considerar que, en el organismo, el estado de la actividad metabólica es variado, de tal forma que muchos microorganismos tienen una actividad reducida de biosíntesis y, por consiguiente, son relativamente insensibles a la acción farmacológica. Estos microorganismos se denominan latentes y a menudo sobreviven el contacto con una gran concentración de fármacos y posteriormente generan una recurrencia clínica de la infección.

Otro aspecto importante a considerar en esta relación es que, en el cuerpo, la distribución del antibiótico en los tejidos y los líquidos es desigual. Muchos medicamentos no llegan al sistema nervioso central. A menudo se encuentra que la concentración en la orina es mucho mayor que en la sangre o los otros tejidos; otras veces, la respuesta inmune o inflamatoria que induce el microorganismo en los tejidos, lo protege de la acción del fármaco. El tejido necrótico y el pus absorben al fármaco e impiden su contacto con la bacteria, como ocurre en muchas infecciones por anaerobios.

En el cuerpo, los microorganismos con frecuencia se localizan al interior de las células de los tejidos y esto genera ineficacias en el tratamiento ya que los fármacos no penetran estas células a la misma velocidad y también puede variar la concentración.

La farmacodinamia se entiende como el efecto bioquímico y modo de acción específico del fármaco en el organismo. Se refiere a la compleja interrelación establecida entre la susceptibilidad que presenta la bacteria en las pruebas de laboratorio y el perfil farmacocinético del antimicrobiano.

En cuanto a la eficacia microbiológica y clínica del antibiótico, es posible predecirla mediante tres parámetros farmacodinámicos que son: concentración máxima/concentración mínima inhibitoria (C_{max}/C_{MI}); área bajo la curva concentración plasmática/tiempo contra CMI (ABC/C_{MI}); duración del intervalo de la dosis en la que la concentración del antimicrobiano supera la CMI ($T > C_{MI}$). Intervienen también el grado de unión a proteínas plasmáticas La absorción gastrointestinal, subcutánea o muscular.

La toxicología, se ocupa de estudiar la toxicidad o efecto tóxico que conlleva el uso de los fármacos. Y el estudio del origen de los fármacos / antibióticos, está a cargo de la farmacognosia. Los fármacos provienen de organismos vivos que incluye el hombre, los animales, las plantas y los microorganismos.

En cuanto a la necesidad de pronosticar la eficacia de un antibiótico, tanto *in vivo* como *in vitro*, se requiere conocer la naturaleza del microorganismo para el cual se usa. Por lo anterior cuando se realizan estudios de sensibilidad y resistencia a bacterias, es importante conocer y aplicar los principios de la farmacocinética y farmacodinamia, de esta forma se realizan pruebas con mayor idoneidad y se contribuye a disminuir la aparición de nuevas resistencias en subpoblaciones de organismos.

Los antibióticos actúan no sólo en los microorganismos que están causando la enfermedad infecciosa, sino también en las bacterias sensibles del microbioma normal, generándose un desequilibrio que en ocasiones causa otros problemas que pueden ser más graves como es el caso de pacientes que se encuentran en los servicios de salud recibiendo tratamientos

antibióticos, en ellos se elimina el microbioma normal. En estos pacientes se reemplazan las bacterias autóctonas con *bacterias aerobias Gram negativas* que son farmacorresistentes y que además son las que se encuentran en mayor cantidad en el ambiente.

En algunas mujeres que ingieren por vía oral antibióticos de manera frecuente, se observa que esta práctica puede generar una disminución del microbioma vaginal normal, lo que facilita el desarrollo excesivo de otros microorganismos que son patógenos y que puede llevar a una enfermedad pélvica inflamatoria.

En las personas que consumen antibióticos por largos periodos de tiempo, se produce la eliminación en diferente grado del microbioma normal del intestino, de tal forma que aquellas bacterias que poseen resistencia a los fármacos colonizan el intestino, situación que desencadena en muchos casos enterocolitis que puede ser grave, como se reporta en la diarrea por consumo de antibióticos causada por *Clostridium difficile*.

En cuanto a las infecciones por anaerobios, hay que recordar que la mayor parte de las bacterias que componen el microbioma humano normal es anaerobia. Cuando aquellas se desplazan de sus sitios normales y pasan a tejidos o espacios corporales pueden ocasionar enfermedades. Al respecto, muchos de los anaerobios importantes desde el punto de vista patogénico, excepto *Bacteroides* y algunas *Prevotellas*, son muy susceptibles a la penicilina G.

Las infecciones que se producen en el aparato respiratorio en su mayoría provienen de infecciones periodontales, abscesos peribucales, sinusitis y mastoiditis que se producen de con mayor frecuencia por *Prevotella melaninogenica*, *Fusobacterium* spp. y *Peptoestreptococcus* spp., que colonizan las vías respiratorias bajas a partir de la aspiración de saliva, conllevando a procesos como neumonía necrosante, abscesos pulmonares y empiema, que requieren no solo tratamiento

antibiótico, sino drenaje postural o quirúrgico, para una eliminación del o los patógenos más eficiente.

En el sistema nervioso central los anaerobios rara vez pueden causar infección, sin embargo, cuando se presentan producen abscesos cerebrales, empiema y tromboflebitis séptica; su origen generalmente se relaciona con bacterias que provienen generalmente de las vías respiratorias que colonizan vía sanguínea o por extensión.

En referencia a las infecciones intraabdominales, hay que recordar que el microbioma del colon comprende de modo predominante bacterias anaerobias. En este ecosistema *Bacteroides fragilis*, *Clostridium* spp y *Peptostreptococcus* spp., son los mayores implicados en la formación de abscesos a partir de perforaciones del intestino.

En cuanto a las infecciones pélvicas, que ocurren en el aparato genital femenino, se encuentran importantes agentes anaerobios como *Prevotella bivia* y *Prevotella disiens*, que acarrearán fracasos en el tratamiento debido a su resistencia a la penicilina y se debe recurrir a otros antimicrobianos como clindamicina y metronidazol.

En las infecciones en piel y tejidos blandos, las bacterias anaerobias generalmente se asocian con otras, de tal forma que potencian su posibilidad infecciosa, como se observa en el caso de la gangrena gaseosa, fascitis necrotizante y la celulitis; para el tratamiento además de la administración de antibióticos se requiere realizar drenaje quirúrgico, aspiración de pus o fluidos en la lesión, debridación de tejido necrótico y es fundamental restablecer la circulación sanguínea.

Mecanismos de acción de los antimicrobianos

La acción de un antibiótico se define por su espectro de acción sobre las bacterias patógenas que pueden ser impactadas por las concentraciones del antibiótico suministrado y

que no generan efecto tóxico en el hospedero. Los antibióticos alteran el funcionamiento bacteriano por los siguientes mecanismos: inhibiendo la síntesis o formación de la pared celular, alterando la membrana citoplasmática, inhibiendo la síntesis de proteínas, interfiriendo la síntesis y/o el metabolismo de los ácidos nucleicos, y por la interrupción de la síntesis de ácido fólico.

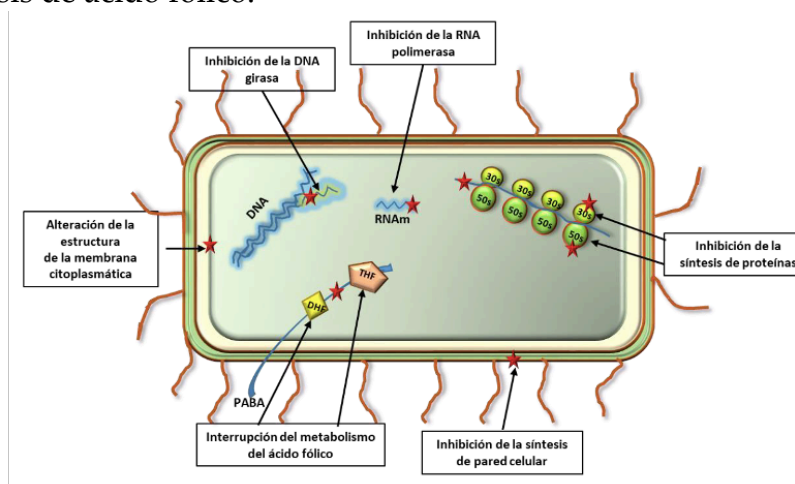


Figura 5.2. Mecanismos de acción de los antibióticos sobre las bacterias - Farmacodinámica. Fuente: Corrales, 2024

Inhibición de la síntesis de la pared celular

La pared celular le permite a la bacteria conservar la forma y tamaño, soportando la elevada presión osmótica del interior. Si la pared celular sufre se daña o se inhibe su formación, se produce la lisis por acumulación de líquido y por ende la muerte de la bacteria.

La pared celular bacteriana está conformada por un polímero complejo de tipo mucopéptido denominado peptidoglucano, el cual en su estructura contiene polisacáridos y un polipéptido que se mantienen unidos por múltiples enlaces cruzados. En su estructura los polisacáridos cuentan con los

aminoglucósidos como la N-acetilglucosamina y el ácido acetilmurámico. En su estructura se observa que los aminoácidos se encuentran unidos a moléculas de péptidos organizadas en cadenas cortas y la rigidez final de la pared reside en los enlaces cruzados de las cadenas peptídicas que resultan de las reacciones de transpeptidación enzimática. Como ya se ha mencionado, la capa de peptidoglucano es mucho más gruesa en la pared celular de las bacterias Gram positivas que en la de las Gram negativas; aspecto importante al considerar el uso de los antibióticos en estos grupos de bacterias.

Los β lactámicos, actúan inhibiendo selectivamente la síntesis de la pared celular de las bacterias, por ello tienen buena actividad sobre las bacterias en reproducción y corresponde a una de las diferentes acciones de este grupo de fármacos. Su actividad farmacológica se centra en acoplar el antibiótico a los receptores que se ubican en la bacteria denominados PBP (penicilin binding proteins), que en español se traduce proteínas de unión a la penicilina. Existen diferentes PBP, se conocen cerca de seis, con un peso molecular que oscila de 40 a 120 kilodalton (kD), de las cuales algunas se catalogan como enzimas de transpeptidación.

Las bacterias poseen variedad de receptores, los cuales poseen una afinidad definida por los antibióticos y que como resultado se obtiene un efecto diferente sobre la bacteria. En el caso de la unión del antibiótico penicilina a una PBP, induce generalmente estiramiento extraño en la bacteria y, en otros casos, da origen a un defecto en el contorno periférico de la pared celular lo cual conlleva a la lisis. La presencia de las PBP en las bacterias depende de una regulación cromosómica; así que la afinidad por los β lactámicos, se ve alterada por la aparición de mutaciones.

Cuando el antibiótico β lactámico se adhiere al o los receptores, se suprime la ocurrencia de reacciones de transpeptidación, por lo cual no se forma peptidoglucano. Enseguida se elimina o se inactiva un supresor de la acción que cumplen

las enzimas autolíticas en la pared de la bacteria; es así como adquiere actividad la enzima encargada de producir lisis y, por ende, el proceso lítico si la bacteria se encuentra en un medio isotónico, pues en concentración hipertónica las bacterias se convierten en protoplastos, formas que no presentan pared.

El grupo de antibióticos conformado por penicilinas y cefalosporinas actúan inhibiendo a las enzimas de la transpeptidación, como se dijo anteriormente; inhibición que puede darse por la estructura similar a la acil-alanil-d-alanina. Cuando se produce la pérdida de una d-alanina de la molécula del pentapéptido, ocurre la transpeptidación. La diferente sensibilidad de las bacterias Gram positivas y Gram negativas a las diversas clases de penicilinas o cefalosporinas, se asocia con las diferencias estructurales que pueden tener las paredes celulares de las bacterias, así como la concentración de peptidoglucano, contar con receptores y lípidos, la complejidad de los enlaces cruzados y la actividad de enzimas autolíticas, entre otros, que establecen la penetración, la unión y la actividad de los fármacos.

La resistencia a las penicilinas depende principalmente de la producción de enzimas β lactamasas, cuya función es destruir los anillos β lactámico, específicamente produciendo apertura de ellos lo cual implica perder su actividad.

Inhibición o alteración de la función de la membrana celular

Las células protegen el citoplasma con la membrana citoplasmática la cual cumple la función de ser barrera selectiva de permeabilidad, donde se llevan a cabo funciones de transporte activo, regulando la constitución interna de la célula. La alteración de la integridad de esta membrana conlleva a la salida de iones y macromoléculas esenciales, provocando desbalance y muerte. Los antibióticos pueden ocasionar este problema y de

esta manera contribuyen a la eliminación selectiva de bacterias en caso de procesos infecciosos. En este caso encontramos:

Las polimixinas, comprometen esencialmente los péptidos cíclicos, estos antibióticos actúan como detergentes que dañan de manera selectiva las membranas citoplasmáticas que contienen fosfatidiletanolamina.

El ácido nalidíxico, interfiere de manera definida en la biosíntesis de las membranas citoplasmáticas y del DNA. La novobiocina, también inhibe la síntesis de DNA, pero también del ácido teicoico.

Los ionóforos, como la valinomicina que transfiere K^+ y la nigericina que introduce H^+ y saca K^+ , facilitan la rápida difusión de cationes a través de la membrana. Estos destruyen las bacterias cuando descargan el potencial de membrana, necesario en el proceso de fosforilación oxidativa, así como para otros procesos que regula la membrana.

La daptomicina, es un antibiótico de naturaleza lipopéptida. Con acción letal para la bacteria cuando se une a la membrana citoplasmática por un mecanismo dependiente del calcio que produce la despolimerización del potencial de la membrana y produce la muerte.

La telavancina, es un lipoglucopeptido que también puede despolarizar las membranas. Otro ejemplo de antibióticos, cuya acción es inhibir la función de la membrana celular es, colistina que es de naturaleza polipeptídica con efecto bactericida, se une a la membrana celular externa de bacterias Gram negativas por sus lipopolisacáridos y fosfolípidos, lo que produce alteración en la permeabilidad.

Inhibición de la síntesis de proteínas

Cumpliendo la función de inhibir la síntesis de proteínas se encuentran macrólidos, lincosamidas, tetraciclinas, glicilciclinas, aminoglucósidos y cloranfenicol.

Las bacterias poseen ribosomas con dos subunidades 30S y 50S diferentes a los ribosomas del humano y animales. Al ser diferentes las subunidades que conforman los ribosomas bacterianos, en lo referente a su constitución química y la función que cumplen, se comprende el por qué los antibióticos que se administran a humanos y animales, solo inhiben la síntesis de proteínas en las bacterias. Cuando las proteínas microbianas se sintetizan, el mensaje que lleva el mRNA es leído de manera paralela en los diferentes ribosomas localizados de forma dispersa en la tira de mRNA, lo que se conocen también como polisomas.

Dentro del grupo de los aminoglucósidos, se encuentran: amikacina, gentamicina, kanamicina, neomicina, plazomicina, tobramicina, frameticina, dibekacina, sisomicina, isepamicina, plazomicina y, el que más se ha estudiado, la estreptomicina. En su estructura los antibióticos de este grupo tienen un alcohol cíclico con grupos amino, denominado aminociclitol, unidos por un enlace glucosídico con un número variable de aminoazúcares, por lo que químicamente corresponden a aminoglucósidos-aminociclitoles. La acción de estos antibióticos incluye varios pasos: el primero, corresponde al acople del aminoglucósido a una proteína receptora específica en la bacteria (en el caso de la estreptomicina es la P12), y el cual se encuentra en la subunidad 30S del ribosoma. El segundo, consiste en el bloqueo que produce el aminoglucósido sobre la actividad normal del complejo de iniciación que lleva a la formación del péptido (mRNA + formilmetionina + tRNA). El tercero, corresponde a la lectura errónea en la región de reconocimiento en el ribosoma del mensaje que lleva el mRNA; lo que produce la inserción de aminoácidos equivocados, por lo que se obtiene la formación de una proteína no funcional. En el cuarto, la fijación del aminoglucósido causa la separación de los polisomas y la conformación de monosomas, que produce como consecuencia la imposibilidad de sintetizar proteínas. Los cuatro pasos

mencionados se llevan a cabo de manera casi simultánea con efecto irreversible que conlleva a la muerte de la bacteriana.

Las bacterias pueden presentar resistencia cromosómica a los aminoglucósidos; esto está condicionado fundamentalmente por no poseer un receptor proteínico específico, probablemente, como resultado de la alteración del sitio efector ocasionado por mutaciones en la subunidad 30S del ribosoma. También se encuentra resistencia a estos antibióticos asociada a plásmidos, en este caso está condicionada principalmente por la producción bacteriana de enzimas adeniladoras, fosforiladoras o acetiladoras, las cuales van a destruir el aminoglucósido. Y está la resistencia que se relaciona con una falla de la permeabilidad, que da origen a cambios en la estructura de la membrana externa con la disminución del transporte activo del antibiótico al interior de la célula de tal forma que el aminoglucósido no llega al ribosoma; este tipo de resistencia con frecuencia está codificado por plásmidos.

Otro grupo de antibióticos son los macrólidos y azalidos, de ellos hacen parte: eritromicina, azitromicina, claritromicina, espiramicina, diritromicina y roxitromicina. Entre sí guardan bastante relación y se identifican por poseer un anillo macrocíclico de lactona y variedad de desoxiazúcares. La azitromicina y la claritromicina se relacionan estructural y farmacológicamente con la eritromicina. Particularmente la azitromicina se diferencia de la estructura de la eritromicina por el cambio de un grupo metilo en el carbono 9 del anillo de lactona por un átomo de nitrógeno. En cuanto a la claritromicina, la diferencia reside en la metilación de un grupo hidroxilo en la posición 6 del anillo de lactona. Estas modificaciones confieren a los antibióticos mayor eficacia frente a bacterias Gram negativas, así como para resistir los efectos nocivos que puede provocarle la acidez del jugo gástrico y llegar mejor a los tejidos.

Los macrólidos fundan su efecto en la inhibición de la síntesis de proteínas mediada por su fijación a la subunidad

ribosomal 50S, por lo que no sucede la translocación del aminoácil ARNt, también actúan a sobre la peptidil transferasa. Estos antibióticos actúan de dos formas: con efecto bacteriostático o efecto bactericida, lo cual depende de la especie bacteriana a la cual va dirigida, la concentración que alcanza el fármaco en el sitio de infección o la fase de curva de crecimiento en que estén las bacterias. Los macrólidos en general ingresan con mayor facilidad en bacterias Gram positivas, sin embargo, la claritromicina, aunque de forma escasa es el único aminoglucósido que tiene acción frente a las bacterias Gram negativas.

Los cetólidos son telitromicina y cetromicina, corresponden a un grupo nuevo de antibióticos que se relacionan estructuralmente con los macrólidos. Su empleo se prioriza cuando se identifican bacterias resistentes a los macrólidos relacionadas con infecciones del tracto respiratorio.

Estos antibióticos también se unen a la subunidad 50S del ribosoma y el sitio de enlace es un rRNA 23S en el dominio V, donde interfieren en la generación de los complejos de iniciación necesarios para la síntesis de las cadenas peptídicas, y también evitando que ocurran reacciones de translocación del aminoácilo.

En algunos casos bacterias que presentan resistencia a los macrólidos, es porque no poseen el receptor correcto en el ribosoma, ocurrido por metilación del sitio efector 23S rRNA. La metilación ribosómica a eritromicina se relaciona con los genes *erm* y pueden ser tanto de tipo plasmídico como cromosómico. La expresión de estos genes puede ser de forma constitutiva o ser inducidos por concentraciones muy bajas del antibiótico. Otra forma menos usual de resistencia se relaciona con la elaboración de enzimas inactivadoras del antibiótico codificadas por los genes *mef* y *msr*, la cual no interfiere en la susceptibilidad a los cetólidos y la presencia de los genes *mef* da lugar a la presencia de bombas de eflujo dando paso a resistencia limitada a los macrólidos.

Los antibióticos lincosamidas, como la lincomicina proviene del *Streptomyces lincolnensis*. Este antibiótico ha sido transformado estructuralmente para obtener la clindamicina, fármaco que se ha convertido de uso frecuente. Estas lincosamidas actúan uniéndose a la subunidad 50S del ribosoma bacteriano y se comportan de forma similar a los macrólidos en lo relacionado con el sitio de unión, la actividad antibacteriana y su acción. Las resistencias dependen de mutaciones cromosómicas, donde la bacteria no tiene el sitio de unión a la subunidad 50S del ribosoma.

En el grupo de las tetraciclinas, se encuentran: la demeclociclina, doxiciclina, clortetraciclina, metaciclina, oxitetraciclina, tetraciclina, minociclina, rolitetraciclina, penimepici-clina, clomociclina, provienen tanto de origen natural, como los conseguidos por semisíntesis; tienen actividad antimicrobiana de espectro amplio. Se derivan de la naftacenocarboxamida policíclica, con un núcleo tetracíclico. Su mecanismo de acción se caracteriza porque originan desacople en la fosforilación oxidativa de las bacterias. Otro de sus efectos se relaciona con la inhibición de la síntesis de proteínas, al pegarse a la subunidad 30S del ribosoma e impedir que se una el ácido ribonucleico de transferencia (tRNA), así como el transporte de aminoácidos a la subunidad 50S, por lo cual no se logra la introducción de aminoácidos en la cadena de peptídica nueva; proceso que puede ser reversible cuando cesa el contacto con el antibiótico.

Estudios preliminares plantean que estos antibióticos también actúan alterando la membrana citoplasmática, lo cual desencadena la salida de componentes esenciales.

La resistencia a las tetraciclinas se produce por mecanismos como expulsión del antibiótico por bombas de eflujo, por protección ribosómica y modificación química, entre otros. La protección del ribosoma se relaciona con los productos del gen tet, protección que probablemente se da a través de mecanismos que provocan cambios en la conformación. Lo

anterior impide la unión de estos antibióticos o porque inducen su separación del ribosoma. Estos mecanismos son regulados con frecuencia por plásmidos.

Los antibióticos denominados glicilciclinas, tienen un origen sintético y son similares a las tetraciclinas; en su estructura presentan cuatro anillos carbocíclicos procedentes de la minociclina. La tigeciclina presenta un cambio estructural en la posición D-9, lo cual le otorga actividad de amplio espectro. Su acción se relaciona con la inhibición de la síntesis de proteínas, producto de la unión más específica a la subunidad 30S del ribosoma, mostrando efecto bacteriostático, frente a un gran número de bacterias Gram positivas y Gram negativas, aún contra las que presentan resistencia a las tetraciclinas. Son antibióticos de elección muy eficientes en caso de infecciones cutáneas, intraabdominales y algunas respiratorias como neumonitis, cuando son causadas por agentes bacterianos resistentes a otros fármacos.

El cloranfenicol o cloromicetina, proviene de *Streptomyces venezuelae* y otras especies que posteriormente dio paso a su producción por síntesis química. Sus formas químicas de palmitato y succinato de cloranfenicol requieren hidrolizarse a cloranfenicol en el organismo para que su acción se active. Su poder antibacteriano se basa en la inhibición de la síntesis de proteica, por el bloqueo de la acción de la enzima peptidil transferasa al fijarse a la subunidad 50S del ribosoma, y allí impide la formación del enlace peptídico. Se reconoce principalmente como un agente bacteriostático, de tal forma que al interrumpir la terapia con este antibiótico se continua de nuevo el desarrollo de los microorganismos. Las bacterias que presentan resistencia a este antibiótico, por lo general sintetizan acetiltransferasas de cloranfenicol, enzimas que afecta la actividad del antibiótico. La formación de la enzima está bajo el control de genes de resistencia contenida en plásmidos denominados cat. También se encuentra resistencia asociada a

bombas de expulsión y afectación de la permeabilidad de membrana.

Las estreptograminas, son antibióticos que provienen de dos derivados de la pristinamicina que se combinaron obteniéndose la quinupristina-dalfopristina, los cuales funcionan de manera sinérgica con resultado de acción bactericida frente a bacterias Gram positivas.

De estas se conocen dos subgrupos, las estreptograminas A y B, las cuales naturalmente provienen del género *Streptomyces*. Estos subgrupos tienen actividad bacteriostática al estar separados, pero en conjunto se pueden comportar como bactericidas. La actividad de estos antibióticos se relaciona con la unión de estos al sitio P donde se localiza la peptidil transferasa del ribosoma, de tal forma que se frenan varios pasos relacionados con el proceso de elongación en la traducción del mRNA e inducen cambio en la conformación de la subunidad 50S del ribosoma, lo que incrementa la acción de las estreptograminas. Las del grupo B, específicamente reprimen la extensión de las cadenas proteicas estimulando que péptidos incompletos se liberen. La resistencia en este caso resulta por cambios en el punto de actividad o por mecanismos de expulsión o también por la inactivación enzimática.

Las oxazolidinonas, son una clase de compuestos orgánicos heterocíclicos que contienen nitrógeno y oxígeno que en su estructura cuentan con anillos de 2-oxazolidona. El linezolid, 1,3-oxazolidinona fue el primer fármaco de este grupo disponible en el mercado, más adelante se introdujeron otros como el posizolid, que tiene una gran y efectiva acción contra todas las bacterias Gram positivas resistentes o no a otros grupos de antibióticos. Otros miembros de esta familia son ranbelocid y torezolid.

Su acción se centra en la inhibición de la síntesis de proteínas y su mecanismo se enfoca en obstruir la traducción de la proteína al imposibilitar la formación de N-formilmetionil-tRNA, complejo de comienzo en el ribosoma 23S y que

corresponde a un paso necesario en el proceso. Su rango de actividad *in vitro* es muy eficiente cuando se trata de bacterias Gram positivas, sin embargo, cuando se trata de bacterias Gram negativas se observan limitaciones.

Hasta el momento solo hay un mecanismo de resistencia descrito, específicamente para el linezolid, y se relaciona con la modificación del sitio blanco; como aspecto positivo todavía no se reporta transferencia entre bacterias de esta resistencia. En cuanto a la presencia de mutaciones, se sabe que estas suceden por la sustitución de guanina a uracilo en la posición 2376 del centro de la peptidil-transferasa del ARNr de 23 S. Existen nuevos miembros de este grupo que se encuentran en experimentación y, en estas, han demostrado mayor potencia antibacteriana contra bacterias anaerobias y micobacterias.

Inhibición de la síntesis de ácidos nucleicos

Este punto de acción no es tan usual en los antibióticos como si lo es actuar a nivel de la síntesis de proteínas; los más conocidos son: quinolonas, pirimetamina, rifampicina, sulfonamidas, trimetoprim y trimetrexato.

La rifampicina, es un antibiótico con estructura macrocíclica caracterizada por poseer un grupo naftohidroquinona cromóforo, separado por un largo puente alifático, con un grupo acetilo en C25. Tiene acción bactericida con amplio espectro y como todos los del grupo imposibilita la síntesis de ácidos nucleicos al unirse a la subunidad β de la polimerasa de RNA dependiente del DNA y establecer un complejo estable de fármaco-enzima. Lo anterior trae como consecuencia la imposibilidad de formar cadenas en la síntesis de ARN.

Las resistencias que se han reportado a la rifampicina se asocian con una modificación en la RNA polimerasa con origen en una mutación cromosómica de ocurrencia frecuente.

Las quinolonas y las fluoroquinolonas son de origen sintético. Se utilizan para el tratamiento de un variado y extenso número de infecciones de tipo bacteriano como las de vías urinarias y respiratorias, del aparato genital y gastrointestinal, cutáneas, óseas y articulares, entre otras. Las que poseen un grupo fluoruro en el anillo central normalmente en posición 6, se denominan fluoroquinolonas. De este grupo de antibióticos se encuentran varias generaciones.

Tabla 5.2. Evolución de las quinolonas y fluoroquinolonas

EVOLUCIÓN DE LAS QUINOLONAS Y FLUOROQUINOLONAS	
Generación	Nombre del antibiótico
Primera	Ácido nalidíxico Ácido pipemídico
Segunda	Norfloxacin Ciprofloxacina Ofloxacina Pefloxacina
Tercera	Lomefloxacina Levofloxacino
Cuarta	Gatifloxacina Moxifloxacina

Se utilizan comúnmente para tratar bacterias que presentan resistencia a otros antibióticos. La acción del grupo se centra en producir el bloqueo de la actividad de la subunidad A de la ADN girasa bacteriana denominada topoisomerasa II, por inhibición de la función de las enzimas topoisomerasa II y topoisomerasa IV. El resultado es una actividad bactericida rápida, ya que al interferir en la replicación del ADN se produce la muerte bacteriana ya que estas dos enzimas son esenciales para la bacteria, pues de ellas depende la transcripción, replicación, reparación y almacenamiento del ADN. En bacterias *Gram negativas* la ADN girasa es uno de los blancos preferidos por estos antibióticos. Cuando se trata

de bacterias *Gram positivas*, es la ADN topoisomerasa IV, sin embargo, se han descubierto un buen número de bacterias sobre las cuales actúan con los dos mecanismos y por lo tanto se implican las dos enzimas.

Su acción específica trae consecuencias directas en la reproducción bacteriana y la replicación del ácido ribonucleico; procesos en los que se requiere que los dos cordones de la doble hélice del ADN se encuentren separados. Al separar los cordones se origina un desenrollado o un superenrollado positivo del ADN que en general es exagerado. La ADN girasa es la que regula esta etapa del proceso de replicación, de tal forma que introduce superespiras negativas, para aliviar del enrollamiento del ADN y evitar su ruptura.

Heddle, J. y Maxwell, A, en 2002, plantean que el mecanismo de acción de las quinolonas, desde el punto de vista químico, involucra la interacción de las funciones carbonilo, carboxilo y flúor con residuos de ácido aspártico, serina y lisina de las enzimas arriba citadas y con los residuos de purina, guanina y magnesio (II) presentes en el ADN. Estas interacciones crean una cerradura para las topoisomerasas, las cuales no pueden efectuar al movimiento (impulsado por ATP) para abrir las hebras de ADN, lo que da al traste con los procesos nucleicos necesarios para la vida de la bacteria.

Las sulfas, son sustancias químicas sintéticas derivada de la sulfonamida, con una fórmula básica que tiene similitud estructural con el ácido p-aminobenzoico.

El ácido p-aminobenzoico (PABA, p-aminobenzoic acid) es un metabolito indispensable para el desarrollo de muchas bacterias. El PABA tiene una acción específica ligada al trifosfato de adenosina (ATP) de una pteridina con lo cual se obtiene ácido dihidropteroico, el cual a continuación se transforma en ácido fólico. Entonces el PABA es fundamental porque interviene en la síntesis de ácido fólico, precursor importante para la síntesis de ácidos nucleicos.

Las propiedades químicas, físicas, farmacológicas y antibacterianas de las diferentes sulfamidas se logran al ligar radicales (R) al grupo amida ($-\text{SO}_2-\text{NH}-\text{R}$) o al grupo amina ($-\text{NH}_2$) del núcleo sulfamida bacteriostática y de amplio espectro. Lo anterior les permite ingresar en la reacción a cambio del PABA y competir por el centro activo de la enzima, obteniéndose la formación de análogos no funcionales de ácido fólico como resultado, y como resultado se imposibilita la multiplicación de la bacteria. La acción inhibitoria de las sulfonamidas sobre la multiplicación bacteriana puede estar neutralizada por la presencia de PABA en el ambiente en cantidad excesiva. Las bacterias susceptibles a las sulfamidas necesitan PABA extracelular para producir ácido dihidrofólico, el cual es esencial para producir purinas y sintetizar ácidos nucleicos. Sin embargo, se conocen bacterias que no presentan inhibición bajo el efecto de las sulfonamidas.

Por su parte el trimetoprim (3,4,5-trimetoxibencilpirimidina), actúa inhibiendo el enzima ácido dihidrofólico reductasa en las bacterias con una eficacia 50.000 veces mayor que sobre las células de otros organismos vivos. Su actividad se basa en que la enzima reduce el ácido dihidrofólico para formar ácido tetrahidrofólico, etapa importante en la síntesis de purinas, para llegar posteriormente a la del DNA. Así, tenemos que su acción se dirige a producir la inhibición de la síntesis de tetrahidrofolato (forma activa del ácido fólico) y, por ende, inhabilita el crecimiento bacteriano. Las sulfonamidas y el trimetoprim, son antibióticos que se pueden usar individualmente y se consigue con ello reprimir la multiplicación bacteriana; sin embargo, cuando se utilizan al mismo tiempo, se obtiene un bloqueo secuencial y se potencia la acción. Las mezclas de sulfonamidas (cinco partes) con trimetoprim (una parte) son usadas en el tratamiento de numerosas y diversas infecciones dado su amplio espectro de acción y eficacia.

Resistencia a los antibióticos

La resistencia a los antibióticos es un problema de salud pública mundial y su gravedad crece año tras año. Las bacterias a través del tiempo han desarrollado nuevas formas de virulencia como parte de su proceso evolutivo dependiente de la relación hospedero - patógeno, en tanto que la evolución de la resistencia bacteriana a los antibióticos ha sido diferente, se da en tiempos más cortos, es más dinámica y depende de la presión biológica que ejerce el ataque de los antimicrobianos. Todos estos cambios influyen en el comportamiento y adaptación de las bacterias a su medio ambiente y desde luego que genera nuevos retos para el control y tratamiento.

Los factores involucrados en la relación virulencia y resistencia, son numerosos y diversos, encontrando con frecuencia que existen genes asociados en las dos circunstancias los cuales comparten características como el mismo medio de transporte y dispersión. Existen diferentes mecanismos de virulencia integrados en el cromosoma bacteriano como es el caso de las islas de patogenicidad y los integrones; también están los plásmidos y transposones que corresponden a elementos genéticos móviles. Cuando una bacteria adquiere resistencia a los antibióticos, se afecta de forma variable la virulencia de la bacteria; ésta variabilidad depende de factores como la especie, características morfofisiológicas, del ambiente y del mecanismo de resistencia que se adquiera.

La adquisición de resistencia a los antimicrobianos se debe considerar como un factor de virulencia ya que por medio de ésta la bacteria adquiere la capacidad de prolongar su replicación, aún bajo la presión de un antimicrobiano, desplazando a las que son sensibles, además de expresar la información genética relacionada con la resistencia, lo cual amplifica el problema infeccioso. La virulencia y la resistencia bacteriana muestran muchas características comunes, como los mecanismos de transmisión horizontal

que pueden existir entre diferentes especies. De otro lado, los principales vehículos de traspaso de elementos genéticos extracromosómicos que codifican los factores de virulencia y resistencia son los plásmidos. En relación con la virulencia y la resistencia se ha descrito que corresponden a componentes adaptativos similares que se activan bajo condiciones de estrés, tales como el caso de infección o colonización, o la presión por la presencia de antibióticos en el medio.

Vías de adquisición de la resistencia:

1. Por mutaciones en el cromosoma, que tienen la característica de ser espontáneas, estables y de transmisión vertical de generación en generación.
2. Mediante el intercambio de genes de resistencia por transferencia horizontal, que se puede dar de diferentes formas: una de ellas por la conjugación, la cual está ligada a material genético extracromosómico y móvil, principalmente por plásmidos, integrones y transposones; otras son traducción y transformación, por medio de las cuales una bacteria adquiere la resistencia a los antibióticos sin que tenga haber estado en contacto con estos.

Transferencia horizontal de la resistencia

Las bacterias patógenas tienen genes de virulencia que les otorga la posibilidad de causar daño a un huésped susceptible. La expresión de factores de virulencia y de la sensibilidad a los antibióticos, se relaciona con los sistemas reguladores conformados por dos componentes, sensor-receptor (SDC, two component systems), que como mecanismos fundamentales regulan y controlan variadas funciones celulares. Estos sistemas están compuestos por una proteína denominada histidina quinasa que se encuentra fija en la membrana citoplasmática, con la función de captar estímulos desde el

ambiente y activar al segundo componente, que se trata de una proteína reguladora de respuesta citoplasmática, la cual regula la expresión genética mediante unión a las regiones promotoras.

La diseminación de virulencia entre especies bacterianas por medio de transferencia horizontal de genes, determina el progreso y diseminación de bacterias patógenas emergentes, ya que mediante ésta se trasfiere información genética entre bacterias como un proceso diferente a la replicación, trayendo como consecuencia mayor variabilidad genética y evolución bacteriana, que confiere además mayor capacidad para adaptarse al medio y sus variaciones.

Los mecanismos de conjugación, transducción y transformación constituyen los mayores determinantes en la evolución bacteriana. Mediante estos se diseminan genes no solo de virulencia, pues cuentan con una transmisión dinámica que ofrece flexibilidad en los genomas, y aportan factores de patogenicidad a otras bacterias, previamente inocuos.

1. Conjugación

Como se mencionó anteriormente, los plásmidos son posiblemente el mecanismo más común de propagación de genes de virulencia y de resistencia a antibióticos tanto horizontal como vertical. Estos plásmidos no son fundamentales para la bacteria y a menudo muestran una gran habilidad de conjugación entre especies bacterianas, por lo cual se les otorga un papel significativo en la evolución de las bacterias por su fácil transmisión.

Ejemplos hay muchos, uno de ellos son los plásmidos IncF, distribuidos ampliamente en bacterias de la familia Enterobacteriaceae, los cuales llevan genes con la información de resistencia a numerosas familias de antibióticos; de igual forma posee genes que aportan a la virulencia relacionada con la síntesis de varias enzimas de tipo hemolisinas o invasinas, o también para la síntesis de toxinas.

Otros ejemplos, como lo mencionan Beceiro et al en 2012, son: el plásmido pRSB107 de 120 megabases encontrado en bacterias provenientes de lodos de una planta de tratamiento de aguas residuales, específicamente cepas transformantes de *E. coli*, la cual mostraba resistencia a por lo menos 10 diferentes antimicrobianos e igualmente codificaba cuatro factores de virulencia al mismo tiempo que eran dos sistemas para captación de hierro, un sistema de transporte de glicerol-fosfato y los genes *vagCD* asociados a virulencia, por lo cual el plásmido pRSB107 es considerado una especie de quimera formada a partir de diferentes plásmidos provenientes de múltiples ambientes adquiridos mediante transmisión horizontal.

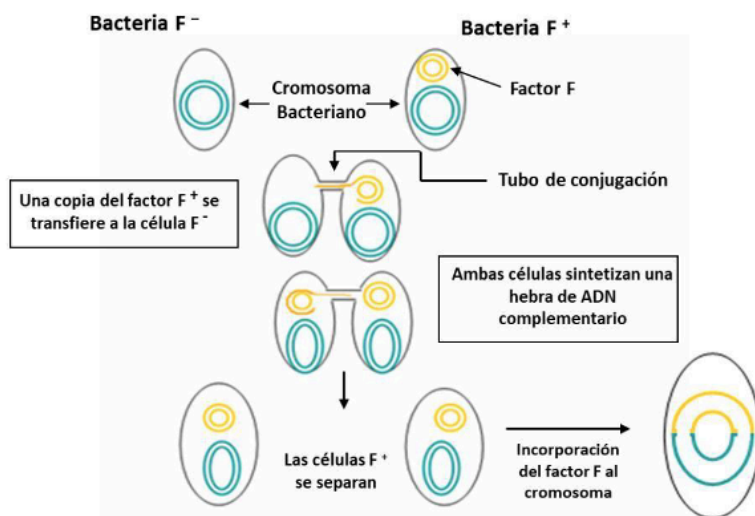


Figura 5.3. Proceso de conjugación .Fuente: Corrales, 2024

Otro elemento mencionado por Beceiro et al en 2012 son los genes codificantes de la lipoproteína de membrana externa *traT* comprometida en la conjugación de los plásmidos y otros componentes de la virulencia bacteriana, entre las que se encuentran: resistencia al suero, resistencia a la fagocitosis o formación de biofilms. Los plásmidos conjugativos son muy importantes y tienen un doble papel por desarrollar de manera fácil diversos mecanismos de resistencia y por la

propia implicación directa de los genes *traT* sobre la virulencia de la bacteria.

Es necesario considerar que algunos ambientes bacterianos muy específicos provocan el surgimiento y la distribución de los plásmidos por encontrarse en éstos, una diversidad biológica muy grande con su correspondiente carga genética y, que este fenómeno, no depende solamente del sometimiento de la bacteria a la presión antibiótica. Pero si es claro que una bacteria que posea plásmidos que codifiquen al mismo tiempo para determinantes de resistencia y de virulencia, tiene mayor capacidad patógena.

Los elementos transponibles poseen la capacidad para escindirse e integrarse en numerosas y variadas regiones del ADN celular. La mayoría de los episodios relacionados con la movilización en el genoma de factores de virulencia o resistencia son debido a los transposones o integrones.

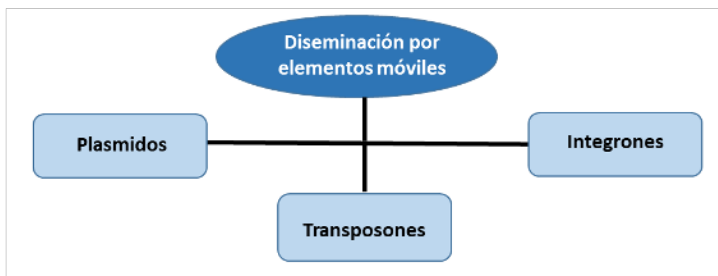


Figura 5.4. *Movilización en el genoma de factores de virulencia.* Fuente: Corrales, 2024

Los transposones, son secuencias de ADN capaces de moverse por sí solos mediante un fenómeno denominado transposición de un fragmento de ADN a otro. Se caracterizan por poseer en sus extremos secuencias nucleotídicas invertidas y complementarias que se conocen como secuencias de inserción, las cuales son reconocidas por la enzima transposasa y que le confiere la capacidad de movilizarse a lo largo del material genético bacteriano.

Los integrones son elementos que no tienen la capacidad de moverse. Corresponden a pequeños sistemas genéticos modulares. En su estructura se observan pequeños fragmentos que se conocen como casete, los cuales transportan un gen o más y que tienen la capacidad de incrustarse o separarse del integron; lo que hacen de igual forma si se encuentran contenidos en un transposon o si son trasportados en un plásmido. En su estructura básica los integrones presentan tres elementos: el sitio blanco de las recombinaciones (*attI*), al cual se fijan los casetes, un gen que codifica la integrasa (*intI*), cuya función es permitir la recombinación de los casetes en el sitio *attI*, y dentro del *intI*, en el extremo 3', una o más secuencias promotoras (*P_c*, *P₂*); y finalmente un promotor (*P_{ant}*), que controla la expresión de los genes de los casetes. *intI1*: gen que codifica la integrasa clase 1; *attI*: sitio de recombinación del integron en el cual los casetes son integrados; *P_I*: promotor que transcribe la integrasa; *P_C*: promotor que dirige la transcripción de los casetes integrados. *attC*: sitio de recombinación del casete genético.

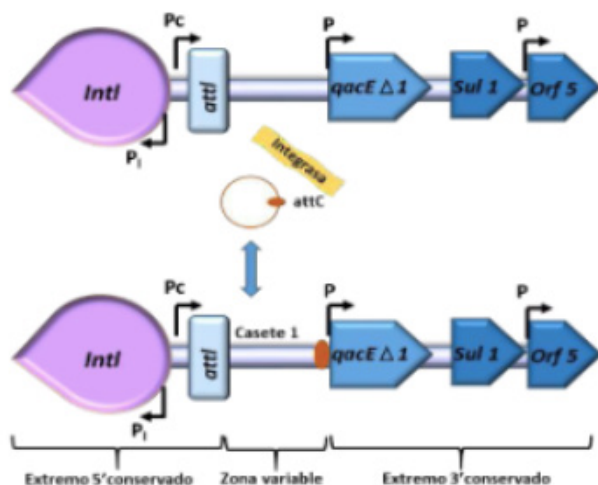


Figura 5.5. Composición de los integrones y de la adquisición de casetes de resistencia. Tomado de González R Gerardo, Mella M Sergio, Zemelman Z Raúl, Bello T Helia, Domínguez Y Mariana. Integrones y casetes genéticos de resistencia: estructura y rol frente a los antibacterianos. *Rev. méd. Chile.* 2004; 132(5): 619-626.

Estos integrones intervienen en la transmisión de genes, además de la síntesis de las proteínas que lo codifican, lo cual favorece la resistencia. Estos casetes se encuentran adheridos de diferente manera y combinación. El integron mayormente descrito es el integron I (Int1), que se relaciona con resistencia antibiótica en bacterias Gram negativas y del que se han informado más de 100 diferentes arreglos de casetes de resistencia.

También se encuentran las islas de patogenicidad o islas de resistencia, poseen información genética que puede ayudar a co-seleccionar componentes de virulencia y resistencia, conocidos también como regiones hot spot.

2. Transformación

Este proceso se define como la alteración genética de una célula o bacteria como resultado de la absorción, incorporación y expresión de material genético exógeno y libre proveniente de otras bacterias, tomado del ambiente en que se encuentra y que es interiorizado por la célula aceptora.

La transformación bacteriana es el proceso en el cual una bacteria capta el ADN libre en el medio que crece proveniente de otras bacterias que se han lisado. Una vez se realiza la transformación empieza la recombinación entre los genes que se han interiorizado a partir del ambiente y los del cromosoma de la bacteria receptora.

Las bacterias que captan el ADN se denominan competentes. La competencia adjudicada a estas bacterias se ve condicionada por la fase de crecimiento, la concentración de ADN y algunas condiciones del medio como en escases de nutrientes y una sobrepoblación celular. Otra característica de este proceso es que el ADN que toma una bacteria puede tener diversos orígenes y no solamente bacteriano, lo cual les permite mayor versatilidad en la adquisición de información genética foránea, que se constituye en mejores procesos de

adaptación al medio, más potencia en su persistencia, virulencia y / o patogenicidad.

Cuando el ADN va ingresando al interior de la célula una cadena se hidroliza y se puede emparejar con una región homóloga, de tal forma que ocurre entrecruzamiento y recombinación con el ADN de la bacteria que lo está recibiendo. Por otro lado, el ADN monocatenario que sobra es degradado por acción enzimática. Para lograr efectividad en transformación, se requiere que los fragmentos de ADN donante posean un tamaño específico ya que, aquellos que son muy grandes, no consiguen traspasar la membrana celular, y si son demasiado pequeños, no son detectados y tampoco podrán ser interiorizados.

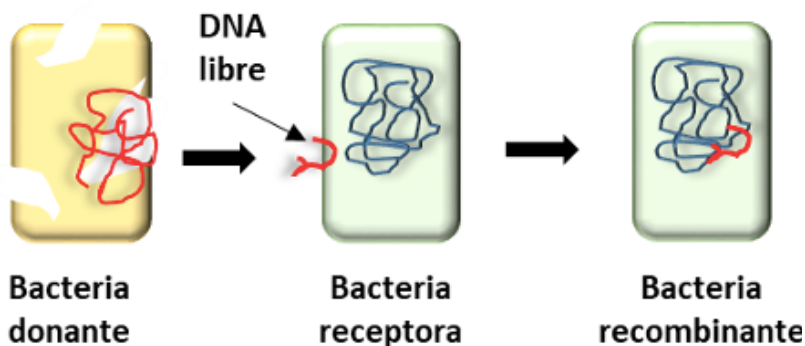


Figura 5.6. Proceso de transformación. Fuente: Corrales, 2024

El proceso de transformación sucede de forma natural en algunas especies bacterianas, sin embargo, también se logra efectuar artificialmente. El ARN también puede ser transferido en las células usando métodos similares, sin provocar cambios heredables, de ahí que no se considera una transformación real.

3. Transducción

La transducción se refiere a la incorporación de ADN de una bacteria en otra, mediada por el transporte de un virus bacteriano, denominado bacteriófago. Una vez en el interior de la bacteria el ADN introducido se puede recombinar con el cromosoma bacteriano como ocurre en la transformación. La mayoría de los bacteriófagos posee una variedad de hospedadores limitado, por lo que ésta sucede regularmente entre bacterias de la misma especie o que están relacionadas estrechamente.

Un virus es una estructura simple que se replica, compuesta por ácido nucleico rodeado por una cubierta proteica. Cuentan con dos ciclos de vida alternativos: el lítico y el lisogénico.

Estos bacteriófagos cuando están temperados no se consideran virulentos y pueden utilizar tanto el ciclo lítico como el ciclo lisogénico. El ciclo lisogénico inicia con la adherencia del fago a la pared de la célula bacteriana y le inyecta o introduce su ADN. Cuando ya está dentro del citoplasma bacteriano, el ADN del fago se integra al cromosoma de la bacteria, y allí puede permanecer como un profago inactivo y replicarse junto con el cromosoma bacteriano, pasando a las nuevas generaciones en el proceso de división celular. Este proceso incrementa la capacidad biológica y el éxito de supervivencia de la bacteria, en el cual el virus también se ve beneficiado. Otro beneficio que obtiene la bacteria transformada lisogénicamente es su protección contra el ataque de otros bacteriófagos. La conversión lisogénica también puede incrementar la patogenicidad de la bacteria en sus hospederos por el cambio en el genoma que es permanente y heredable.

Algunos estímulos específicos hacen que el profago se disocie del cromosoma bacteriano y entre en el ciclo lítico, originando partículas nuevas de fagos y causando la lisis bacteriana.

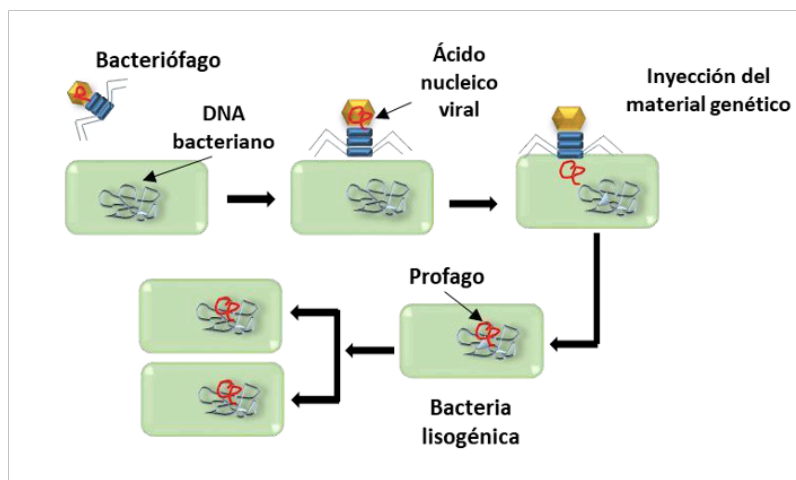


Figura 5.7. Ciclo lisogénico. Fuente: Corrales, 2024

En el ciclo lítico, el fago se adhiere a la pared celular bacteriana y a continuación inyecta el ADN que lleva. Una vez dentro el ADN viral comienza a replicarse, transcribirse y traducirse, dando lugar a ADN viral en gran cantidad, así como de proteínas del fago, que son utilizadas para el ensamblaje de partículas virales nuevas. Con el avance del proceso se ocasiona la digestión del ADN de la bacteria, por lo que el cromosoma bacteriano se rompe en fragmentos al azar. En este paso, puede suceder que porciones del ADN de la bacteria se encapsule en la cubierta viral, en cambio del ADN del fago. Esta clase de fagos se denominan transductantes.

La clase transductantes produce una enzima que lesiona la pared bacteriana para liberar los nuevos fagos. Entonces, si este nuevo fago llega a infectar otra bacteria, el ADN de la bacteria inicial que llevaba el fago al ser introducido en la nueva bacteria, puede integrarse al cromosoma de la nueva bacteria por medio de entrecruzamiento doble. Este proceso permite que los genes provenientes de bacteria se movilicen de una cepa bacteriana a otras, lo que trae como consecuencia la aparición de bacterias recombinantes transductantes.

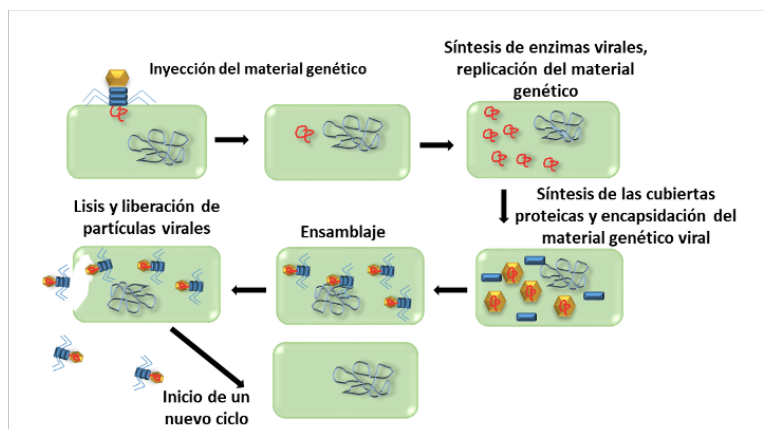


Figura 5.8. Ciclo lítico. Fuente: Corrales, 2024

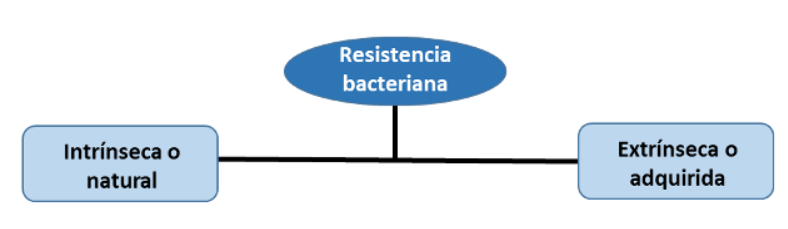
La transferencia de genes de toxinas extracelulares mediada por fagos es el tipo clásico de conversión lisogénica; un ejemplo, es el fago CE β que codifica la producción de la neurotoxina botulínica tipo C1. Sin embargo, en muchos casos, los fagos no codifican genes de toxinas y, por lo tanto, son incapaces de convertir directamente a su huésped en productores de toxinas. En *C. difficile* se ha demostrado que los profagos pueden modular indirectamente la producción de toxinas de una manera inesperada. Estudios recientes han reportado un aumento en la producción de toxinas en cepas lisógenas de *C. difficile* que llevan los fagos templados ϕ C2, ϕ C6 y ϕ C8. Así mismo, se demostró que el fago templado ϕ CD38-2 estimula la producción de toxinas TcdA y TcdB aproximadamente 2 veces una vez introducido como un profago en cepas epidémicas de esta misma bacteria.

Mecanismos de resistencia que presentan las bacterias

La mayoría de bacterias resistentes a los antibióticos se relaciona con alguno de los cambios genéticos y diversos

procesos de selección subsiguientes, por contacto con los antibióticos.

La resistencia bacteriana puede ser de dos tipos: intrínseca (natural) o extrínseca (adquirida).



Resistencia intrínseca o natural

Esta se desarrolla o aparece de forma natural sin contactos ni presión de selección antibacteriana y en particular sin exposición previa al fármaco; lo que se traduce en que solo algunas especies bacterianas son resistentes de forma natural a los antibióticos. El ejemplo clásico de este grupo de bacterias es el *Mycoplasma* que hace resistencia a los antibióticos β -lactámicos, pues esta clase de bacterias no poseen pared (peptidoglicanos), así que el antibiótico no encuentra el punto blanco para fijarse y actuar; otro ejemplo de esta resistencia es el del género *Pseudomonas*, que presenta resistencia natural a los macrólidos, ya que estos antibióticos son hidrofóbicos y la membrana externa de esta bacteria posee muy baja permeabilidad para las sustancias hidrofóbicas.

También encontramos que para que el antibiótico sea efectivo la mayoría de las veces es necesario que la bacteria se encuentre en la fase de replicación. Por lo tanto, los microorganismos que carecen de actividad metabólica y no se están multiplicando en el momento de recibir el antibiótico son fenotípicamente resistentes, denominándose bacterias persistentes; aunque su progenie es sensible, solo hasta cuando empiezan a multiplicarse de nuevo, se reanuda su sensibilidad.

En otras bacterias se puede observar la pérdida del sitio específico de actividad para un determinado antibiótico hasta por varias generaciones lo que da origen a que se vuelvan resistentes como ocurre en ciertas oportunidades con las bacterias sensibles a la penicilina, que pasan a formas L, que se caracterizan porque presentan falta de la pared celular durante la administración de penicilina y de esta forma no pueden ser inhibidas por antibióticos que impidan la formación de pared, constitución morfológica que puede persistir por varias generaciones. Pero cuando se devuelven a sus formas originales recuperando la producción de pared celular, también retorna la sensibilidad a la penicilina.

Otros microorganismos infectan al hospedero en sitios donde los antibióticos no penetran o son inactivos como el caso de los aminoglucósidos que no actúan intracelularmente.

Resistencia extrínseca o adquirida

Dentro de este tipo de resistencia encontramos que se puede generar por mecanismos como:

1. *Producción de enzimas que inactivan el antibiótico*: en este caso se observa una expresión de enzimas bacterianas capaces de originar transformaciones en la estructura del antibiótico lo que hace que éste pierda su funcionalidad. Algunas de ellas se presentan a continuación:

- Oxacilinasas, enzimas que degradan oxacilinas, cloxacilina y similares, corresponde a un grupo de β lactamasas, En este caso sus genes se encuentran integrados en el cromosoma bacteriano, los plásmidos o los integrones (OXA-1 a OXA- 19), tienen un perfil de sustrato similar TEM-1, TEM- 2 (tipo temoniera) o SHV-1 (variable de sulfhidrilo). Estos genes poseen gran variabilidad en la secuencia de aminoácidos y se han identificado 498 variantes, que se inactivan mediante el ácido clavulánico y el EDTA. La más común

es OXA-1 la cual está distribuida de manera amplia en la familia Enterobacteriaceae y codifican la síntesis de β lactamasas de amplio espectro; estas enzimas tienen la capacidad de hidrolizar cefalosporinas de tercera generación y monobactámicos.

- Cefotaximasas (CTX-M), estas enzimas son un tipo de beta lactamasas de espectro extendido (BLEE), pero que no se relaciona con el grupo de las TEM o las SHV. Su función es hidrolizar la cefotaxima y la ceftriaxona con mayor eficacia que a la ceftazidima, y también, hidrolizan la cefepima. La acción de estas enzimas se ve más inhibida por el tazobactam que con el ácido clavulánico. Estas enzimas de tipo CTX-M están sustituyendo las variantes TEM y SHV y ahora son el prototipo de BLEE más común, tanto así que se consideran un problema endémico en Latinoamérica, Norteamérica, Asia y Europa, y se suelen encontrar en el entorno de los servicios de salud y la comunidad. De estas se han identificado más de 170 variantes con características diferentes, divididas en cinco grupos de acuerdo a la secuencia de aminoácidos que presentan y estas son: CTX-M-1, CTX-M-2, CTX-M-8, CTX-M-9 y CTX-M-25.
- NDM (metalo-betalactamasas de tipo Nueva Delhi), son enzimas que otorgan una alta resistencia a la mayoría de los antibióticos, generando fracasos en los tratamientos. Pertenecen a la clase molecular B y comprende 16 variantes. La primera vez que se reportó fue en el 2008 en Nueva Delhi, a partir de unas cepas de *K. pneumoniae* y *E. coli* que fueron aisladas de un paciente sueco. Las enzimas NDM confieren resistencia a los antibióticos de la clase carbapenémicos y a muchos otros que se han probados, a excepción de la colistina. La dispersión de esta enzima

se ha encontrado principalmente en enterobacterias y con menor frecuencia en *Acinetobacter* spp. y *P. aeruginosa*.

- NMC-A (no metalo-carbapenemasas de clase A), enzimas que fueron identificadas en Francia en 1990, a partir de una cepa aislada de *E. cloacae* que presentó resistencia a ampicilina, cefalotina e imipenem, pero que se mostró sensible al ceftazidima y a las cefalosporinas de espectro extendido. El gen que se codificó en el cromosoma de esta bacteria fue diferente, y en sus características fenotípicas de las carbapenemasas que ya estaban descritas.
- AmpC y de clase molecular C, son enzimas activas frente a las penicilinas, y con mucha mayor actividad frente a las cefalosporinas: tienen la capacidad de hidrolizar oximino-cefalosporinas (ceftazidima, cefotaxima y ceftriaxona), cefamicinas (cefoxitin y cefotetan) y monobactámicos (aztreonam), a excepción de las cefalosporinas de cuarta generación (cefepima, cefpiroma) y los carbapenémicos. Una característica importante que las hace más potentes, es que presentan resistencia a la combinación de betalactámicos con inhibidores de betalactamasas, sin embargo, presentan inhibición en presencia del ácido borónico y la cloxacilina. Generalmente se codifican en el cromosoma de ciertas enterobacterias y bacterias Gram negativas no fermentadoras y, generalmente, se pueden expresar de forma inducible cuando se encuentran en presencia de algunos betalactámicos. Asimismo, hay especies bacterianas con betalactamasas de tipo AmpC que son codificadas por plásmidos, y que además pueden ser inducibles. Por ejemplo *E. coli* presenta un gen *ampC* cromosómico que se expresa de manera constitutiva, además de los genes

ampC transferidos mediante plásmidos desde otros microorganismos.

- Betalactamasas de espectro extendido (BLEE). La producción de estas enzimas constituye uno de los principales y más frecuentes mecanismos de resistencia bacteriana. Se relaciona sobre todo con enterobacterias y bacilos Gram negativos no fermentadores de glucosa. Su mecanismo de acción se basa en la capacidad de inactivar los antibióticos de la familia betalactámicos como penicilinas, cefalosporinas, monobactámicos y carbapenémicos. Poco a poco fueron apareciendo nuevas variantes de betalactamasas, como consecuencia de la creación y utilización repetitiva de nuevos betalactámicos, penicilinas semisintéticas y cefalosporinas. Las de espectro extendido, tienen la capacidad de inactivar las cefalosporinas de tercera generación (ceftriaxona, cefotaxima, ceftazidima) y el aztreonam. También tienen la capacidad de romper el puente amida del anillo penicilánico o cefalosporánico y producir derivados ácidos sin propiedades bactericidas, y así evitan que estos antibióticos se unan al sitio blanco (PBP) evitando la lisis bacteriana. En el momento se han descrito más de 160 tipos de TEM y 100 tipos de SHV; otras familias de BLEE menos frecuentes son las PER, VEB-1 y BES-1, SFO-1, TLA-1, CME-1, GES/IBS. Su codificación es de tipo plasmídico y se transfieren a otras bacterias por conjugación.

Tabla 5.3 Clasificación de las β -lactamasas de Bush, Jacoby y Medeiros

Grupo funcional y subgrupo	Clase molecular (Ambler)*	Características
1	C	Cefalosporinasas, a menudo cromosómicas, pero pueden ser plasmídicas. Resistencia a todos los β-lactámicos, excepto carbapenémicos (a no ser que coexistan alteraciones en las porinas). No inhibidas por el ácido clavulánico.
2	A,D	Penicilinasas, cefalosporinasas o ambas. La mayoría son inhibidas por el ácido clavulánico (salvo casos de hiperproducción o subgrupos determinados).
2a	A	Penicilinasas. Incluye las de <i>Enterococcus</i> y <i>Staphylococcus</i>. Resistencia a penicilinas. Inhibidas por ácido clavulánico.
2b	A	β-lactamasas de amplio espectro (penicilinasas y cefalosporinasas), incluyendo TEM-1 y SHV-1.
2be	A	β-lactamasas de espectro extendido (BLEE). Resistencia a oximino-cefalosporinas y a monobactámicos (aztreonam).
2br	A	β-lactamasas tipo IRT (<i>Inhibitor Resistant</i> TEM). Resistentes a los inhibidores de β-lactamasas ácido clavulánico y sulbactam, pero sensible a tazobactam.
2c	A	Enzimas hidrolizantes de carbenicilina fundamentalmente, con algún efecto sobre cloxacilina.

Grupo funcional y subgrupo	Clase molecular (Ambler)*	Características
2d	D	Enzimas hidrolizantes de cloxacilina (oxacilina) fundamentalmente, con algún efecto sobre carbenicilina. Inhibidas escasamente por ácido clavulánico. Algunas son BLEE (BLEE tipo OXA).
2e	A	Cefalosporinas y aztreonamasas. Inhibidas por ácido clavulánico.
2f	A	Serina- β - lactamasas. Carbapenemasas. Inhibidas por ácido clavulánico.
3a, 3b, 3c	B	Metalo (Zn)- β - lactamasas. Resistencia a carbapenémicos y a todos los β -lactámicos, excepto los monobactámicos. No inhibidas por ácido clavulánico.
4		Miscelánea. Penicilinasas no incluidas en los otros grupos. No inhibidas por ácido clavulánico

En la mayoría de los casos las infecciones que implican bacterias que producen BLEE se diseminan por contacto directo con fluidos corporales (sangre, drenaje de una herida, orina, defecaciones o flemas), o también por contacto con equipos o superficies contaminadas con la bacteria.

- KPC (*Klebsiella pneumoniae* productora de carbapenemasas), corresponden a enzimas de la clase molecular A, siendo las más prevalentes a nivel mundial. Su mecanismo de acción se basa en que hidrolizan las penicilinas de manera eficiente, igual que las cefalosporinas,

los monobactámicos y los carbapenémicos. Pueden tener inhibición por el ácido borónico y, con menor efectividad por los inhibidores de las β lactamasas, como el ácido clavulánico y el tazobactam. Actualmente, se reconocen 23 variantes.

- Están también las enzimas que actúan sobre cefamicinas y oximinobetalactámicos hidrolizándolas y que además muestran resistencia al clavulanato. Tienen un amplio espectro, de acción que cubre todos los β lactámicos con excepción de los carbapenémicos. También hidrolizan cefamicinas, incluyendo la cefoxitina; generalmente no se inhiben con el ácido clavulánico y manifiestan una actividad hidrolítica menor con las cefalosporinas de cuarta generación, mostrando espectro de acción cromosómica de clase C con los que tienen entre 40 y 98% de homología. Estas cefamicinas se diferencian de las β lactamasas cromosómicas, porque en su mayoría no son inducibles y se expresan de manera constitutiva cuando están en niveles elevados y operativos.
- Las carbapenemasas, son una familia muy variable entre las betalactamasas, su acción se enfoca a producir hidrólisis de antibióticos como penicilina en sus diferentes versiones, cefalosporinas y carbapenémicos. Para su codificación cuenta con genes que se encuentran tanto en el cromosoma como en plásmidos, lo que beneficia su rápida propagación y transferencia. Se consideran una amenaza de gran importancia a nivel de la salud pública a nivel global. Lo anterior por cuanto se encuentran afectando los betalactámicos de última generación y reduce las opciones de tratamiento para infecciones graves sobre todo ocasionadas por bacterias Gram negativas. Se han nombrado también como metaloenzimas, debido a que requieren para su activación el Zn^{2+} como cofactor y no son inactivadas por el ácido clavulánico, pero sí por la acción del EDTA.

- Carbecilinasas, hidrolizan la penicilina y oximino B-lactamasa diferentes a las Betalactamasas de espectro extendido.

2. *Modificación enzimática del antibiótico*: asociadas a este mecanismo encontramos las enzimas modificadoras de aminoglucósidos, las cuales se codifican en plásmidos como las que catalizan estas modificaciones. En este grupo sobresalen las acetil transferasa (AAC) y las 16S rARN metilasas, que otorgan resistencia a unos cuantos aminoglucósidos, entre los que están kanamicina, amikacina y tobramicina; otras enzimas del grupo son fosfatidil transferasa (APH) y adenil transferasa (ANT o AAD).

Cuando sucede la inactivación de un aminoglucósido este pierde la capacidad de unión a la subunidad 30S del ribosoma y por ello ya no podrá actuar en la síntesis proteica. En relación con las enzimas 16S rARN metilasas, se sabe que pueden crear resistencia frente las fluoroquinolonas, que son antibióticos de naturaleza sintética y no se relacionan con los aminoglucósidos, en los cuales además se ha encontrado que portan mecanismos de resistencia asociados a las proteínas Qnr y la bomba de salida QepA. Los genes responsables de la producción de estas metilasas se localizan en los genes bacterianos, y cuyo espectro de acción provee resistencia a bacterias Gram negativas.

El mecanismo de resistencia que se encuentra relacionado con la eritromicina es el mismo que a lincosamidas y estreptograminas (grupo MLS). Generalmente es por la producción de la enzima eritromicina esterasas, la cual cataliza la hidrólisis del anillo de lactona del antibiótico, de esta se han descrito dos: estearasa I y II en bacterias Gram negativas.

De otro lado, el cloranfenicol es modificado por una enzima de carácter intracelular denominada cloranfenicol acetil transferasa (CAT), la cual se encuentra en bacterias Gram positivas y Gram negativas. La acción de la enzima se centra en acetilar los dos grupos hidroxilo del antibiótico y evitar que se una a la unidad 50S del ribosoma.

3. *Modificación del sitio blanco del antibiótico*: se trata de cambiar la estructura terciaria del sitio o punto blanco de acción del antibiótico. Los sitios de acción son variados y se encuentran localizados en diferentes partes de la morfología bacteriana asociados a actividades celulares vitales. Cuando sucede la síntesis de la pared celular, las proteínas responsables de la transpeptidación, son las fijadoras de penicilinas y son el blanco de todos los antibióticos β lactámicos. Este mecanismo de acción es de suma importancia en las bacterias Gram positivas y menos importante en las Gram negativas.

La síntesis de proteínas es otro sitio de acción de los antibióticos. Esta síntesis puede inhabilitarse cuando se atacan los mecanismos nucleares de la replicación del ADN y la transcripción del ARN. Algunas de estas situaciones se observan en las quinolonas, las cuales inhiben la topoisomerasa, enzima responsable del desdoblamiento del ADN para su replicación. La síntesis de proteínas, que sucede en los ribosomas, se puede inhibir por antibióticos de las familias aminoglucósidos, tetraciclinas, clindamicina, macrólidos y el cloranfenicol. Toda alteración que se produzca en sitio blanco o de unión del antibiótico originan resistencia de la bacteria.

Otra posibilidad es por la modificación de las Proteínas de Enlace con la Penicilina (PBP), específicamente se los estafilococos que presentan resistencia a la oxacilina (llamados estafilococos "Meti-R"); igualmente la variación de un sitio blanco de tipo intracelular, como la que se observa en la resistencia a la estreptomycin, que sucede por modificación del ribosoma y modificación del sitio blanco extracelular que realiza el *S. aureus* meticilino resistente, cuando cambia la PBP2 por una PBP2a.

4. *Modificación de la permeabilidad de la pared bacteriana*: en este proceso se encuentran involucradas las porinas que son canales embebidos en la membrana externa de las bacterias Gram negativas, las cuales cumplen la función de filtrar las sustancias que entran y salen por la membrana permeable.

La pared y membrana celular, cumplen funciones imprescindibles para conservar la fisiología y el metabolismo en la bacteria, entre muchas de las funciones poseen la capacidad de retrasar y por lo tanto es más lenta la entrada de los antibióticos al citoplasma bacteriano. El proceso de modificación de la permeabilidad encierra tres componentes básicos: el primero, es la estructura de la membrana externa de la bacteria; el segundo, son las porinas y; el tercero, se relaciona con los canales inespecíficos que expulsan el antibiótico de acuerdo con el tamaño molecular.

La permeabilidad de la membrana externa, claramente definida en los microorganismos Gram negativos que poseen una membrana lipídica externa, constituye una barrera intrínseca para la penetración del antibiótico. La resistencia a la amicacina y otros aminoglucósidos depende en ocasiones de la falta de permeabilidad a los medicamentos, en apariencia por un cambio de la membrana externa que daña el transporte activo hacia el interior de la célula. De acuerdo con lo anterior se entiende que la permeabilidad de la membrana interna, es otro mecanismo de resistencia con que cuentan las bacterias, el cual radica en realizar modificaciones energéticas que lleven a comprometer el transportador aniónico que acarrea el antibiótico y lo introduce en la bacteria. La capa lipídica que se encuentra en la membrana se comporta como un mecanismo de resistencia para antibióticos de naturaleza hidrofóbica.

Las porinas son canales proteicos de difusión presentes en la membrana externa de la bacteria, que de acuerdo con la modificación que adquieran por mutación, se genera una disminución del paso del antibiótico. Éste es el mecanismo del que dispone *Salmonella typhimurium* (*OmpC*) para hacer resistencia a las cefalosporinas de primera generación y *Serratia marcescens*, *E. coli* y *Pseudomonas aeruginosa*, frente a los aminoglucósidos y el carbapenem.

Para entrar a la bacteria los antibióticos β -lactámicos requieren hacerlo a través de estos canales. Se observa que cuando se pierde una porina por mutaciones se aumenta la

CIM para el antibiótico. Las porinas pueden ser específicas o inespecíficas dependiendo de su selectividad para las moléculas que dejan pasar.

5. *Mecanismo de efusión o expulsión de la molécula del antibiótico*: proceso que requiere unos canales específicos y las bombas de salida localizadas en la membrana externa de la bacteria, cuya función es expulsar al exterior la mayor cantidad de moléculas del antibiótico antes de que logren hacer contacto con el sitio blanco. En este proceso la bacteria requiere hidrolizar ATP o un mecanismo de contra-transporte iónico como sustrato energético. Con este mecanismo la bacteria logra que solo bajas concentraciones del antibiótico se conserven al interior, lo cual ya no representa peligro para ellas. Comúnmente, los mecanismos de efusión o expulsión se encuentran reprimidos o poco expresados, se activan frente a condiciones y estímulos específicos del medio en que se encuentren.

Este mecanismo se caracteriza porque requiere proteínas de membrana especializadas, también porque se produce una alteración en la producción de energía; como consecuencia se observa disminución de la entrada del antibiótico, reducción de la concentración del antibiótico al interior y se origina la salida activa del mismo. Con esto las bacterias hacen resistencia a tetraciclinas, fluoroquinolonas, cloranfenicol y B-lactámicos, antisépticos y desinfectantes de tipo amonio cuaternario.

En este tipo de mecanismo de resistencia se encuentran las bombas multidrogas, conformadas por una variedad de transportadores con capacidad para expulsar, inespecíficamente un extenso número de sustratos estructuralmente relacionados. Corresponden a una clase de transportadores relacionados con la captación de nutrientes esenciales y iones, así como la expulsión de metabolitos no deseados y sustancias tóxicas, y en procesos de comunicación con el medio en que se encuentran.

Estas bombas se clasifican en cinco grandes familias. Dos de ellas pertenecen a las superfamilias denominadas ABC (ATP-binding cassette) y MFS (major facilitator superfamily).

Las otras tres son las familias RND (resistance-nodulation-cell division), MATE (multidrug and toxic compound extrusión) y SMR (small multidrug resistance). Estas familias se diferencian sobre todo por la fuente de energía que utilizan para expulsar los distintos sustratos. En la superfamilia ABC Los transportadores dependen de la hidrólisis de ATP para realizar la expulsión de los distintos compuestos; en la familia MATE sus transportadores requieren un gradiente electroquímico cedido por Na^+ o H^+ . Y la superfamilia MFS y las familias RND y SMR, sus transportadores utilizan la fuerza protón-motriz para lograr la expulsión.

Las bombas de eflujo pueden ser específicas para un antibiótico, caso en el que generalmente están codificadas en un plásmido, confiriéndoles la posibilidad de ser transmisibles; sin embargo, algunas pueden ser de tipo inespecífico y estar expresadas en el cromosoma bacteriano. Si se aumenta la expresión de una bomba inespecífica, puede generarse resistencia cruzada a múltiples clases de fármacos empleándose un solo mecanismo.

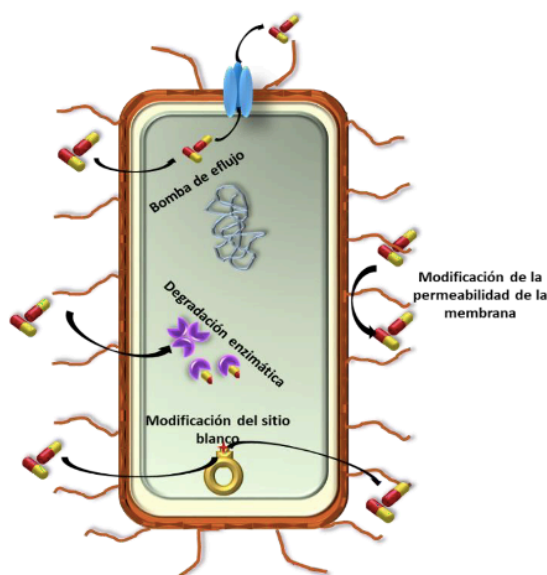


Figura 5.9. Mecanismos de resistencia adquirida. Fuente: Corrales, 2024.

Comúnmente, las bombas de eflujo originan aumentos pequeños en las CIM del antibiótico; sin embargo, cuando simultáneamente surgen varios mecanismos de resistencia, se manifiesta con mayor evidencia una resistencia clínica. De este modo, las bombas de eflujo, el cierre de porinas, las mutaciones en los sitios de acción y las enzimas hidrolíticas, actúan de manera armónica para proteger a la bacteria de la acción del antibiótico.

Otras denominaciones de resistencia son:

Resistencia relativa o intermedia: que se relaciona con el aumento progresivo de la MIC (concentración inhibitoria mínima) a través del tiempo. En este caso se debe considerar que para conseguir un efecto terapéutico se requiere alcanzar niveles séricos y tisulares adecuados del antibiótico. La susceptibilidad o resistencia de la bacteria en este caso depende de la concentración del antibiótico.

Resistencia absoluta: se presenta cuando hay un aumento súbito en la MIC de una cepa bacteriana durante o después de la terapia antibiótica. En este caso el incremento de la dosis clínica usual del antibiótico no funciona. Ejemplo de ello es cuando se presenta *Pseudomonas* spp. resistente a gentamicina y el *Streptococcus pneumoniae* resistente a penicilina y levofloxacina.

Seudorresistencia: se presenta cuando se observa resistencia *in vitro*, pero si se detecta gran efectividad *in vivo*.

Tolerancia antibiótica: se refiere al evento en el cual la diferencia entre la MBC (concentración bactericida mínima) y la MIC es muy grande lo cual ocurre con relaciones MBC/MIC mayores de 8, esto permite la permanencia del microorganismo, pese al tratamiento antibiótico.

Resistencia cruzada: se presenta principalmente entre fármacos con similitud química como es el caso de diferentes aminoglucósidos o que tienen un modo análogo de enlace

o acción como en los macrólidos y la lincosamida. Se debe a un mismo mecanismo de resistencia y que generalmente afecta la acción de varios antibióticos de una misma familia; aquí tenemos los estafilococos resistentes a la oxacilina, que se cruza con los demás β -lactámicos. En casos particulares se observa que puede afectar a antibióticos de otras familias, como se observa en la resistencia por impermeabilidad a las ciclinas, la cual se cruza con la resistencia al coloranfenicol y al trimetoprim.

En determinadas clases de fármacos, el núcleo activo de la sustancia química es tan similar entre otros análogos distintos (tetraciclinas), que la resistencia cruzada es muy amplia.

Resistencia asociada: se refiere a la afectación que se observa en varios antibióticos de familias diferentes y que generalmente se debe a la asociación de varios mecanismos de resistencia, como se reporta en la resistencia de los estafilococos a la oxacilina, que frecuentemente se ve asociada a las quinolonas, aminoglicósidos, macrólidos y ciclinas.

Actividad antimicrobiana *in vitro*

El estudio de la sensibilidad bacteriana a los antibióticos es una de las ocupaciones más importantes en los laboratorios de microbiología clínica. Este estudio se lleva a cabo realizando pruebas de sensibilidad, denominada también antibiograma, cuyo objetivo principal es evaluar en el laboratorio la respuesta de un microorganismo a uno o varios antibióticos. Los resultados que se obtienen en la prueba son una primera aproximación al resultado predictivo de la eficacia en el tratamiento clínico.

El antibiograma, permite definir la actividad *in vitro* de un antibiótico frente a una bacteria determinada y manifiesta si tiene o no la capacidad para inhibir una población bacteriana determinada. El resultado obtenido en el antibiograma, la farmacología del antimicrobiano, el lugar de la infección, y

los aspectos clínicos asociados al paciente y de su infección, son características que orientan la elección del o los antimicrobianos en el tratamiento. Los estudios de sensibilidad deben estar estandarizados y supeditados a procesos de control que aseguren su veracidad y reproducibilidad.

La actividad antimicrobiana debe ser caracterizada y medida *in vitro* para poder establecer criterios como: la eficacia de un antibiótico en solución; la concentración del antibiótico en líquidos corporales y tejidos; y la susceptibilidad de determinada bacteria a una concentración conocida del antibiótico.

La actividad antimicrobiana puede estar influenciada por muchos factores que llegan a modificar su comportamiento *in vitro*, por ello es necesario tomar en consideración los que afectan en mayor grado los resultados de las pruebas:

pH ambiental: es importante considerar a qué pH son activos los antibióticos. Algunos son más activos a un pH ácido como la nitrofurantoína; otros, a un pH alcalino como los aminoglucósidos y las sulfonamidas.

Componentes del medio: por ejemplo, el polianetolsulfonato de sodio componente que se adiciona al medio que se utiliza para la realización de hemocultivos, así como algunos detergentes aniónicos que inhiben la acción de los aminoglucósidos. En los extractos de tejido, se observa que el PABA es antagónico de las sulfonamidas. Las penicilinas se fijan a proteínas del suero en diversos grados que varían de 40% para la meticilina a 98% para la dicloxacilina. Por lo tanto, se ha comprobado que la adición de NaCl al medio de cultivo permite una detección más fácil de resistencia a la meticilina.

Estabilidad del antibiótico: para conservar la estabilidad se debe monitorear la temperatura a la cual se mantienen y trabajan los antibióticos. Se ha demostrado que a temperatura de incubadora algunos antibióticos ya no tienen actividad. Otro caso está relacionado con inactivación lenta de las

penicilinas, en tanto que los aminoglucósidos y la ciprofloxacina, son estables durante periodos más prolongados. Por lo tanto, es importante mantener los discos de antibióticos en las condiciones óptimas de almacenamiento recomendadas por el fabricante y revisar frecuentemente las fechas de vencimiento. Normalmente se deben mantener a 4°C y dejarlos a temperatura ambiente una hora antes de utilizarlos para su acondicionamiento a la temperatura del ambiente. Se recomienda congelar los discos si son antimicrobianos β -lactámicos y si transcurre más de una semana hasta su utilización. El deterioro de los discos sucede rápidamente cuando se humedecen o se someten a fluctuaciones de temperatura frecuentes.

Concentración del inóculo de siembra: debe estar estandarizada de acuerdo con la escala de Mac Farland, ya que los excesos y defectos producen resultados incorrectos. Entre mayor sea la concentración bacteriana de lo establecido en el protocolo, menor será la sensibilidad que muestre la bacteria en las lecturas, ya que la inhibición se produce con menor rapidez y probidad que la que se observa cuando se usa la concentración del inóculo estandarizada en la técnica. Este error en la técnica aumenta la posibilidad de que surjan mutaciones de resistencia en la cepa analizada. Por otro lado, un inóculo más pequeño al estandarizado produce sensibilidades mayores irreales que pueden llevar a un tratamiento no efectivo y a seleccionar las bacterias sensibles y frente a las resistentes.

Tiempo de incubación: cuando el tiempo de incubación es más corto del indicado, las bacterias con frecuencia tan solo son inhibidas al entrar en contacto con el antibiótico y, cuando el tiempo de incubación se prolonga, aumenta la probabilidad de que aparezcan mutantes resistentes o también que las bacterias que son menos sensibles comiencen a multiplicarse al tiempo que el antibiótico se degrada.

Actividad metabólica de los microorganismos: generalmente, las bacterias que están en la fase logarítmica o aquellas que son de división más activa y rápida, presentan mayor

sensibilidad a la acción del antibiótico, sí se comparan con las bacterias que se encuentran en fase de reposo. Las bacterias que se encuentran en fase de metabolismo inactivo y que sobreviven al contacto prolongado con el antibiótico, ocasionalmente, obtienen descendencia que continúa presentando sensibilidad al antibiótico.

Medio de cultivo utilizado para la prueba: la elección del medio es importante ya que sus componentes pueden influir de alguna manera al desarrollo del cultivo, la acción de los antibióticos y la estabilidad de la prueba durante el tiempo de incubación.

Cuando se utilizan medios sólidos para la técnica de difusión: la profundidad del medio es un aspecto importante que influye directamente en el resultado de la prueba. En este caso la estandarización recomienda 4 a 5 milímetros de profundidad; una profundidad menor facilita una mayor difusión del antibiótico y probablemente una supuesta mayor sensibilidad. El caso contrario una mayor profundidad dificulta esta difusión y se verá probablemente una supuesta menor sensibilidad o una resistencia al antibiótico testado.

También es importante considerar la humedad del medio, condiciones de almacenamiento, fecha de vencimiento y las pruebas de control de calidad, como su viabilidad y esterilidad.

Medición de la actividad antimicrobiana en bacterias anaerobias

Para la realización de pruebas de sensibilidad y resistencia a los antibióticos en las bacterias anaerobias es básicamente la misma que para las bacterias aerobias y facultativas, la principal diferencia se centra en su condición metabólica. Estas condiciones son particulares en relación con la necesidad de una atmósfera anaerobia; otros son algunos requerimientos relacionados con las necesidades nutricionales y, no menos

importante, la velocidad de crecimiento, diferente en unas y otras especies de este gran grupo. No todas las técnicas que se utilizan en la actualidad las recomienda el CLSI. Las que se utilizan son la dilución del antibiótico en el agar, la microdilución del antibiótico en caldo, la difusión del antibiótico a partir de tiras con gradientes exponenciales de antibiótico y algunas comerciales que combinan algunas de las mencionadas. Sin embargo, de las anteriores, la difusión en agar, es la menos recomendada ya que no presenta buena correlación entre los diámetros de los halos obtenidos en la prueba y las CMI reportadas. Por el contrario, la técnica del Épsilon Test (E-test) muestra buena eficiencia pues arroja resultados que muestran concordancia con el método de referencia y es muy fácil de usar.

Realizar la prueba de susceptibilidad a los antibióticos a partir de una muestra clínica directa como fluidos estériles y otros no estériles se debe evitar. Una excepción a esta recomendación se acepta en casos de urgencia y cuando la tinción de Gram muestra la presencia de un único tipo de bacteria, pero cuando se obtenga la bacteria aislada se debe repetir el procedimiento con el protocolo estandarizado.

Las pruebas de susceptibilidad son útiles para calcular la menor concentración de antibiótico que imposibilita el crecimiento visible de la bacteria, lo que se denomina concentración mínima inhibitoria (CMI). Para cualquier de los diferentes métodos de uso en el laboratorio se debe considerar especialmente:

- Las cepas, preferiblemente que provengan de aislamientos nuevos y en fase exponencial. Cuando son bacterias congeladas se deben despertar en subcultivos al menos 2 pases antes de montar las pruebas.
- Los antimicrobianos, se recomienda realizar pruebas de funcionalidad; importante recordar el mecanismo de acción del antibiótico, sobre qué bacterias cumple

su acción, si ya tiene resistencias reportadas. En clínica la penicilina se recomienda solo para Gram positivos, no en Gram negativos. *Bacteroides* spp. y *Parabacteroides* spp., son resistentes generalmente a: las penicilinas, aminopenicilinas, amoxicilina/ácido clavulánico, piperacilina/tazobactam, cefoxitina, clindamicina, ertapenem, imipenem, meropenem, metronidazol, tigeciclina y vancomicina.

- Cuando se está frente a una bacteria con multirresistencia el *espectro de resistencia* se extiende también a cloranfenicol, linezolid y moxifloxacino y otros que se encuentren en fase experimental.
- El medio de cultivo, tiene que ser aquel que pueda ofrecer las condiciones para el desarrollo de la mayor variedad de bacterias anaerobias y permitir obtener resultados reproducibles; además debe ser fresco y que se encuentre prerreducido para optimizar la anaerobiosis.
- El inóculo, debe ser el adecuado y estandarizado para el método que se escoge para la bacteria.
- El sistema que provee la atmósfera anaerobia, debe realizar el recambio de gases muy rápido ya que hay bacterias que toleran un máximo de 0.5 % de Oxígeno por poco tiempo, generalmente vienen en sobres que se depositan en las jarras anaerobias (de catálisis o reemplazo) y se usan indicadores para mayor seguridad. En las bolsas o cámara de anaerobios, el CO₂ debe encontrarse en una concentración de 4 al 7%. Se considera que la anaerobiosis es aprobada cuando un disco de 5 miligramos de metronidazol origina un halo de inhibición de crecimiento al *Clostridium perfringens*, mayor a 27 milímetros.

- El tiempo y la temperatura de incubación, el tiempo debe ser el adecuado de acuerdo con la especie bacteriana en estudio y la temperatura requiere ser controlada.
- Realizar pruebas de control de calidad con las cepas conocidas y estandarizadas; las más utilizadas para Gram negativas son: *Bacteroides fragilis* ATCC 25285, *Bacteroides thetaiotaomicron* ATCC 2974 y para Gram positivas: *Eggerthella lenta* ATCC 43055 y *C. difficile* ATCC 700057.
- La valoración, en relación con la CMI, el CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute) y por el EUCAST (European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing). Son los laboratorios de referencia que proponen los puntos de corte de acuerdo con estudios estandarizados. La lectura del CMI obtenida determina si la prueba de susceptibilidad antibiótica corresponde a la categoría de sensible, intermedia o resistente.

La selección del antibiótico más conveniente debe estar sujeto a los reportes recientes de comportamiento de las bacterias frente al medicamento y ajustarse en cada laboratorio clínico en reunión con el comité de enfermedades infecciosas.

El Instituto de Estandarización para el Laboratorio Clínico (CLSI en Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. 27th ed. CLSI supplement M100. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute), sugiere para la selección del agente antimicrobiano y el reporte en las pruebas de rutina la siguiente clasificación:

1. Los agentes antimicrobianos del grupo A se consideran apropiados para su inclusión en una rutina, panel de pruebas primario, así como para informes de rutina de resultados para grupos de organismos específicos.

2. El grupo B incluye agentes antimicrobianos que pueden justificar pruebas primarias, pero pueden notificarse sólo de forma selectiva, como cuando el organismo es resistente a agentes de la misma clase antimicrobiana, como en el grupo A. Otras indicaciones para informar el resultado podría incluir una fuente de muestra seleccionada, infección polimicrobiana, infecciones que involucran múltiples sitios, casos de alergia, intolerancia o falta de respuesta del paciente a un agente antimicrobiano del grupo A o por infección prevención.

3. El grupo C incluye agentes antimicrobianos alternativos o suplementarios que pueden requerir pruebas en aquellas instituciones que albergan cepas endémicas o epidémicas resistentes a varios de los fármacos primarios (especialmente de la misma clase, por ejemplo, β -lactámicos); para el tratamiento de pacientes alérgicos a fármacos primarios; para el tratamiento de organismos inusuales (p. ej., cloranfenicol para aislados extraintestinales de *Salmonella* spp.); o para informar a la prevención de infecciones como ayuda epidemiológica.

4. El grupo U (“orina”) incluye ciertos agentes antimicrobianos (p. ej., nitrofurantoína y ciertas quinolonas) que se usan única o principalmente para el tratamiento de las infecciones urinarias. Estos agentes no deben reportarse rutinariamente contra patógenos recuperados de otros sitios de infección. Una excepción a esta regla es para Enterobacterales, en la que la cefazolina se utiliza como prueba sustituta.

Agente para cefalosporinas orales. Se pueden incluir en el grupo U otros agentes antimicrobianos con indicaciones más amplias para fines específicos. Patógenos urinarios.

5. El grupo O (“otros”) incluye agentes antimicrobianos que tienen una indicación clínica para el grupo de organismos pero que generalmente no son candidatos para pruebas e informes de rutina en los Estados Unidos.

6. Inv. de grupo. (“en investigación”) incluye agentes antimicrobianos que son en investigación para el grupo de organismos y aún no han sido aprobados por la FDA.

Método de dilución en agar

En este método se requiere sembrar diferentes bacterias; con la ayuda de un multiinoculador, se dispensan concentraciones crecientes de un antibiótico diluido en un agar, el cual debe permitir el crecimiento de la mayoría de anaerobios.

Es útil para conocer la sensibilidad de varias bacterias a la vez, característica que le confiere a este método su recomendación para la realización de estudios periódicos y multicéntricos y para investigar el comportamiento *in vitro* de antibióticos nuevos. Presenta una elevada reproducibilidad y se recomienda también con estudios en bacterias de crecimiento exigente y/o lento. Es un método que requiere más trabajo ya que incluye múltiples pasos y mayor cantidad de materiales, por lo que no es útil en rutina.

Los antimicrobianos o antibióticos, son sustancias que pueden ser obtenidos en forma de liofilizado puro de los laboratorios farmacéuticos que los comercializan o de laboratorios que suministran reactivos. De estas sustancias se debe conocer su lote, fecha de caducidad, potencia, estabilidad y solubilidad, antes del uso en las pruebas. Se requiere conocer sus características de conservación y almacenamiento para evitar su hidratación y degradación. Los cálculos de las cantidades a utilizar en la prueba parten de conocer la potencia antimicrobiana por miligramo. El antibiótico se disuelve en agua destilada estéril o en un solvente de acuerdo con las recomendaciones técnicas del productor. La solución madre del antibiótico debe estar en lo posible en una concentración de 1.000 gramos/mililitro o 10 veces mayor que la concentración más alta que se vaya a utilizar. Importante utilizar antibióticos en solución que puedan ser conservados en congelación a una temperatura $\leq 60^{\circ}\text{C}$ por varios meses.

Cuando se preparan las placas de agar a partir de una solución madre se debe montar en diluciones dobles, de tal forma que el volumen que se añada al agar contenga la cantidad de antimicrobiano necesario para conseguir la concentración requerida en cada una de ellas; para un volumen de 18 mililitros de medio con sangre se añaden 2 mililitros del antibiótico y para 27 mililitros hay que poner 3 mililitros (proporción de 3:1). Cuando la solución madre se descongela para uso, el sobrante se debe desechar.

Medio de cultivo: el más usual es agar Brucella, el cual se suplementa con hemina y vitamina K1. Para la prueba, el agar líquido, recién preparado o fundido, se mantiene de 48 a 59°C en baño maría en volumen por separado para cada placa, luego se le adiciona la sangre y 2 o 3 mililitros de la dilución del antibiótico. Se mezcla por inversión suavemente para homogenizar y sin hacer burbujas, se sirve en la caja de Petri debidamente marcada. Se recomienda el uso de estas placas hacerlo en menos de 72 horas y, si se ensaya imipenem o combinaciones con ácido clavulánico, el mismo día de la preparación, debido a la inestabilidad de estos antibióticos. Si son para uso de rutina se recomienda conservarlos en bolsas a 2-8°C, por un lapso máximo de una semana.

Controles: lo recomendado es que para un solo antibiótico se incluyan cuatro placas de agar Brucella suplementado y sin ningún antibiótico, el volumen correspondiente a la solución del antibiótico se reemplaza con agua destilada estéril y, por cada antibiótico que se adicione al estudio, es necesario usar una placa más sin antibiótico. Siempre contar con dos cepas control por cada treinta aislamientos.

Inóculo: para obtener este se parte de las colonias obtenidas en el agar Brucella suplementado. Se prepara de dos maneras: la primera, es tomando cinco o más colonias aisladas que muestren las mismas características macroscópicas, luego se emulsionan en un caldo Brucella prerreducido para eliminar el O₂; en segundo caso, sembrando cinco o más

colonias en un caldo tioglicolato suplementado sin indicador prerreducido, que se lleva a incubación de 6 a 24 horas a $36 \pm 1^\circ\text{C}$. En cualquiera de las dos técnicas la concentración bacteriana del inóculo se ajusta a la turbidez al 0,5 de la escala de McFarland.

Procedimiento: la inoculación de los antibióticos se puede hacer de forma manual o automática en pocillos a los que previamente se les ha adicionado 0,5 mililitros del inóculo de cada bacteria a estudiar, incluyendo las cepas control. Cada punta debe inocular en la superficie del agar unas 105 unidades formadoras de colonias (UFC) de los anaerobios y, en especial, para *B. fragilis*, pero no para todos. Esta siembra es posible de realizar en atmósfera normal de manera muy rápida, excepto para las bacterias susceptibles al oxígeno; se inicia con 2 placas control presiembra, una para el control de crecimiento en anaerobiosis y otra en aerobiosis, luego se les adicionan los antibióticos, empezando por el de menos concentración y al final 2 controles postsiembra para anaerobiosis y aerobiosis. Para cada serie de antibiótico se debe sembrar siempre una placa de control adicional. Los controles son los testigos que permiten comprobar el desarrollo en anaerobiosis y/o si sucedió contaminación. Incubar en anaerobiosis (por medio de jarra o campana), a $35-37^\circ\text{C}$ durante 42-48 horas y los controles aerobios van a su atmósfera correspondiente por el mismo tiempo.

Interpretación: se valora el crecimiento y las contaminaciones si las hubiera y se considera como CMI a la menor concentración de un antimicrobiano que produce una reducción marcada del crecimiento en comparación con el de la placa control, como un crecimiento ligero y difuso, la presencia de menos de 10 colonias diminutas o de 1-3 colonias de tamaño normal. En relación con el punto de corte, la cepa se considera sensible, intermedia o resistente.

Tabla 5.4 Intervalos de concentración mínima inhibitoria (CMI) de las cepas anaerobias para el control de calidad a distintos antimicrobianos obtenidas por el método de dilución en agar, según el CLSI.

Técnica Dilución en agar / cepas control (µg/mL*)				
Antimicrobiano	<i>Bacteroides fragilis</i> ATCC 25285	<i>Bacteroides thetaiotaomicron</i> ATCC 29741	<i>Clostridioides</i> (antes <i>Clostridium</i>) <i>difficile</i> ATCC 700057	<i>Eggerthella lenta</i> (antes <i>Eubacterium lentum</i>) ATCC 43055
Ampicilina	16-64	16-64	1-4	-
Ampicilina/ sulbactam (2:1)	0.5/0.25-2/1	0.5/0.25-2/1	0.5/0.25-4/2	0.25/0.125-2/1
Penicilina	8-32	8-32	1-4	-
Amoxicilina/ Ácido clavulánico (2:1)	0.25/0.125 - 1/0.5	0.25/0.125 - 2/1	0.25/0.125 - 1/0.5	-
Cadazolid	-	-	0.12-0.5	-
Cefmetazole	8-32	32-128	-	4-16
Cefoperazone	32-128	32-128	-	32-128
Cefoxitine	4-16	8-32	-	4-16
Cefotetan	4-16	32-128	-	32-128
Cefoxitin	4-16	8-32	-	4-16
Ceftaroline	4-32	16-128	2-16	8-32
Ceftaroline/ avibactam	0.12/4-0.5/4	4/4-16/4	0.5/4-4/4	4/4-16/4
Ceftizoxime	-	4-16	-	16-64
Ceftolozane/ tazobactam	0.12/4-1/4	16/4-128/4	-	-
Ceftriaxone	32-128	64-256	-	-
Chloramphenicol	2-8	4-16	-	-
Cinafloxacin	0.03-0.125	0.06-0.5	-	0.03-0.125
Clindamicina	0.5-2	2-8	2-8	0.06-0.25
Doripenem	-	-	0.5-4	-
Eravaciclina	0.06-0.25	0.12-1	0.06-0.25	-
Ertapenem	0.06-0.25	0.25-1	-	0.5-2
Faropenem	0.03-0.25	0.12-1	-	1-4

Técnica Dilución en agar / cepas control (µg/mL*)				
Antimicrobiano	<i>Bacteroides fragilis</i> ATCC 25285	<i>Bacteroides thetaiotaomicron</i> ATCC 29741	<i>Clostridioides</i> (antes <i>Clostridium</i>) <i>difficile</i> ATCC 700057	<i>Eggerthella lenta</i> (antes <i>Eubacterium lentum</i>) ATCC 43055
Fidaxomicina	-	-	0.06-0.25	-
Finafloxacina	0.12-0.5	1-4	1-4	0.12-0.5
Garenoxacina	0.06-0.5	0.25-1	0.5-2	1-4
Imipenem	0.03-0.125	0.125-0.5	-	0.125-0.5
Imipenem/ relabactam	0.03/4-0.25/4	0.06/4-0.5/4	-	0.12/4-1/4
Linezolid	2-8	2-8	1-4	0.5-2
Meropenem	0.03-0.25	0.125-0.5	0.5-4	0.125-1
Metronidazole	0.25-1	0.5-2	0.125-0.5	-
Mezlocilina	16-64	8-32	-	8-32
Moxifloxacino	0.125-0.5	1-4	1-4	0.125-0.5
Nitazoxanide	-	-	0.06-0.5	-
Omadacycline	0.25-2	0.5-4	0.25-2	0.25-2
Penicilina	8-32	8-32	1-4	-
Piperacilina	2-8	8-32	4-16	8-32
Piperacilina / tazobactam	0.125/4 - 0.5/4	4/4 - 16/4	4/4 - 16/4	4/4 - 16/4
Tigeciclina	0.125-1	0.5-2	0.125-1	0.06-0.5
Vancomicina	-	-	0.5-4	-

*(µg/mL): microgramo por mililitro

Método de microdilución en caldo

Este método se basa en que diferentes concentraciones de los antibióticos diluidas de manera progresiva en un caldo, se depositan en una microplaca de 96 pocillos de fondo redondo preferiblemente, a los cuales se les agrega el inóculo bacteriano; por el número de pocillos se pueden probar hasta ocho diluciones de doce antibióticos al mismo tiempo. Este método está aprobado y estandarizado por el CLSI y ya se

encuentran en el mercado paneles para anaerobios con los antimicrobianos congelados o liofilizados, listos para usar.

Antimicrobianos: es el mismo procedimiento que se describió para el método de dilución en agar en relación con su obtención, conservación y dilución en la obtención de las soluciones madre. Igualmente se parte de una solución madre 10 veces mayor que la concentración más alta a utilizar, a partir de la cual se obtienen las diluciones dobles seriadas.

Medio de cultivo: caldo Brucella suplementado con 5 gramos/mililitro de hemina y 1 gramo/mililitro de vitamina K1 y un 5% de sangre lisada de caballo, es el medio que se utiliza. A 9 partes de este caldo se le añade una parte de cada dilución del antimicrobiano. Luego, se dividen alícuotas de las mezclas en los pocillos mediante un dispensador. Generalmente se dispensan 0,05 mililitros por pocillo, con los antibióticos en concentración doble a la que se desea, que se consigue al añadir 0,05 mililitros del inóculo. Si se dispensa 0,1 mililitros, se debe añadir un inóculo de 0,01 mililitros. El volumen final por pocillo no debe ser inferior a 0,1 mililitros. Las placas preparadas se usan el día de su preparación o se congelan en bolsas a $\leq 60^{\circ}\text{C}$, una vez descongelados se deben desechar.

Controles: cada microplaca debe contar con dos controles, que corresponden a dos pocillos que contienen caldo, pero no antibiótico. Uno de los pocillos se inocula y será el control de crecimiento y el otro no se inocula y será el control de esterilidad después de la incubación, en aerobiosis y anaerobiosis. Es preciso incluir una cepa control.

Inóculo: se prepara de igual manera que como se describió en la técnica de dilución en agar ajustando la turbidez al 0,5 de la escala de McFarland. Si se inoculan 0,05 mililitros sobre 0,05 mililitros de las diluciones del antibiótico se diluye con caldo Brucella enriquecido al 1:75, lo que equivale a 106 UFC/ml. Si se dispensan, con un inoculador, 0,01 mililitros sobre 0,1 mililitro la dilución se hace con suero fisiológico o caldo al 1:15. Como control para recuento se toman 10 μl (microlitros),

se diluyen en 10 mililitros de solución salina y 0,1 mililitros se siembran en una placa de agar sangre para anaerobios, que se incuba en anaerobiosis por 48 horas. Un procedimiento similar se emplea para comprobar la ausencia de contaminación, en este caso se siembran 2 placas de agar sangre que se incuban una en aerobiosis y la otra en anaerobiosis.

Procedimiento: las placas congeladas se descongelan a temperatura ambiente. El intervalo de tiempo entre la preparación del inóculo y su inoculación no debe superar los 15 minutos. Las placas inoculadas se incuban en anaerobiosis a 35-37°C durante 46-48 horas con una humedad adecuada para evitar la evaporación de los pocillos.

Interpretación: se debe valorar la esterilidad y el crecimiento, el cual debe ser claro en el pocillo control. También se debe verificar si hay contaminación. La lectura se realiza valorando el crecimiento en el fondo de los pocillos con la ayuda de un lector de espejo y lupa. Se considera como CMI a la menor concentración de un antimicrobiano que produce ausencia de crecimiento o una reducción marcada de este. En relación con el punto de corte, la cepa se considera sensible, intermedia o resistente.

Tabla 5.5. Condiciones para la realización del CMI en bacterias anaerobias

CONDICIONES DE LA PRUEBA	
Medio de cultivo	Agar Brucella, suplementado con hemina (5µg/mL)* y sangre lacada (5% v/v)*. Caldo para microdilución en caso de una bacteria del grupo <i>B.fragilis</i> : caldo Brucella suplementado con hemina (5µg/mL), vitamina K1 (1µg/mL) y LHB (5% v/v).
Condiciones del inóculo	Método de colonia suspendida en caldo a una concentración al 0.5 de la escala de Mac Farland: en agar 10 ⁵ UFC*; caldo 10 ⁶ UFC/mL.
Características de la incubación	36°C +/- 1°C en total anaerobiosis. Microdilución en caldo: se incuba por 46 a 48 horas. Dilución en agar: 42 a 48 horas.

* (µg/mL): microgramo por mililitro

* (v/v): volumen a volumen

*UFC: unidades formadoras de colonias

Tabla 5.6. Intervalos de concentración mínima inhibitoria (CMI) a distintos antimicrobianos de las cepas anaerobias para el control de calidad obtenidas por la técnica de microdilución en caldo, según el CLSI.

Técnica Microdilución / cepas control CMI (µg/mL*)				
Antimicrobiano	Bacteroides fragilis ATCC 25285	Bacteroides thetaiotaomicron ATCC 29741	Clostridium difficile ATCC 700057	Eubacterium lentum ATCC 43055
Amoxicilina/ Ácido clavulánico (2:1)	0.25/0.125-1/0.5	0.25/0.125-1/0.5	-	-
Ampicilina/ sulbactam (2:1)	0.5/0.25-2/1	-	0.5/0.25-2/1	0.5/0.25-2/1
Cadazolid	-	-	0.06-0.25	-
Cefotetan	1-8	16-128	-	16-64
Cefoxitin	2-8	8-64	-	2-16
Ceftaroline	2-16	8-64	0.5-4	-
Ceftaroline/ avibactam	0.06/4-0.5-4	2/4-8/4	0.25/4-1/4	4/4-16/4
Ceftizoxime	-	-	-	8-32
Ceftolozane/ tazobactam	0.12/4-1/4	16/4-64/4	-	-
Chloramphenicol	4-16	8-32	-	4-16

*(µg/mL): microgramo por mililitro

Método de difusión a partir de tiras con gradiente creciente de antimicrobianos (E-test, MIC evaluator, MIC test strip)

La prueba E- test, o método PDM de epsilométrico ha sido usado exitosamente para analizar anaerobios y otros organismos aeróbicos. El término epsilométrico se refiere a una tira fina, de 5 x 50 milímetros, inerte y no porosa con un gradiente continuo exponencial de agente antimicrobiano inmovilizado en un lado y una escala de interpretación impresa en el otro lado. El gradiente de agente antimicrobiano cubre

un amplio rango de concentración, que corresponde aproximadamente diluciones dobles. La pendiente de los cambios y los rangos de concentración están óptimamente diseñados para corresponder a rangos y límites de CIM clínicamente relevantes que son seleccionados para categorizar grupos de susceptibilidad.

Después de la incubación, se observa una elipse de inhibición de crecimiento. La intersección entre el borde de la zona de inhibición y la tira de soporte se produce en la concentración del antimicrobiano que ya no es capaz de inhibir el crecimiento. El punto de intersección da la “concentración inhibitoria” (CI) en $\mu\text{g/mL}$ — una medida directa de la susceptibilidad del microorganismo al agente antimicrobiano probado. Las CIMs se leen directamente sobre la escala en la tira de soporte.

Este procedimiento (E-test) está aprobado por la Administración de Medicamentos y Alimentos de los EE.UU. FDA, pero no por el CLSI. Muestra buena correlación con la técnica de dilución en agar, las discordancias mayores se producen en *Bacteroides* del grupo *fragilis* y *Clostridium* spp. con metronidazol y penicilina. Es un método muy sencillo, útil en rutina, ya que permite probar la sensibilidad de cepas aisladas, incluidas las muy exigentes y de crecimiento lento; también es posible ensayar antimicrobianos nuevos e incluso realizar estudios multicéntricos. El único inconveniente es el costo elevado de las tiras.

Antimicrobianos: se parte de tiras de E-test (bioMérieux) o de MIC evaluator (Thermo Fisher Scientific). Los resultados obtenidos evaluando ambos tipos de tiras en anaerobios son similares. Se cuenta con tiras de los antimicrobianos usados habitualmente en las infecciones por anaerobios como: penicilina, amoxicilina/ácido clavulánico, cefoxitina, clindamicina, ertapenem, imipenem, meropenem, metronidazol, tigeciclina y vancomicina; y de los empleados en caso de resistencia que son cloranfenicol, linezolid y moxifloxacino, así

como de otros antibióticos que se encuentran en desarrollo. Las tiras deben conservarse adecuadamente de acuerdo con las instrucciones del fabricante.



Foto 5.1. Tiras de antibiótico E-test. Tomado de: <https://www.biomerieux.es/diagnostico-clinico/productos/etest>

Medio de cultivo: el medio de elección es el agar Brucella suplementado.

Inóculo: este se realiza emulsionando en caldo Brucella o en solución salina varias colonias de un cultivo de 48 horas en agar Brucella suplementado o un poco más para las especies que pueden requerir mayor tiempo para crecer. La emulsión se ajusta a una densidad equivalente al 0,5 o al 1 de la escala de McFarland.

Procedimiento: la suspensión se siembra de forma homogénea con un hisopo por toda la superficie de una placa de agar (igual que para el método Kirby Bauer), luego de unos minutos de reposo, pero sin que se seque completamente el inóculo, se depositan las tiras de antibiótico con una pinza o con un dispensador. En las placas de 90 milímetros de diámetro se pueden colocar 1 o 2, en este caso, se colocan paralelamente oponiendo el extremo con la concentración más alta. En las de 150 milímetros, hasta 6 tiras de antibiótico, que se disponen de forma radial con el extremo con mayor concentración hacia la periferia. Cuando la tira del antibiótico

hace contacto con la placa de agar inoculada, el gradiente antimicrobiano de la tira es liberado inmediatamente en el agar, creando un gradiente continuo y exponencial de concentraciones de agente antimicrobiano debajo del eje lineal del material de soporte.

Las placas se *incuban* invertidas a $36 \pm 1^\circ\text{C}$ en una cámara o en una jarra de anaerobios 48 horas; algunas especies pueden requerir más tiempo. En *Bacteroides*, *Parabacteroides* y *Clostridium* pueden ser suficientes 24 horas, excepto cuando se testea clindamicina. La incubación en cámara de anaerobios tiene ventajas porque la comprobación del crecimiento se puede hacer en cualquier momento y la anaerobiosis es inmediata; esta circunstancia es muy importante en las especies muy sensibles al oxígeno y en los ensayos con metronidazol, cuya actividad se afecta mucho por este elemento.

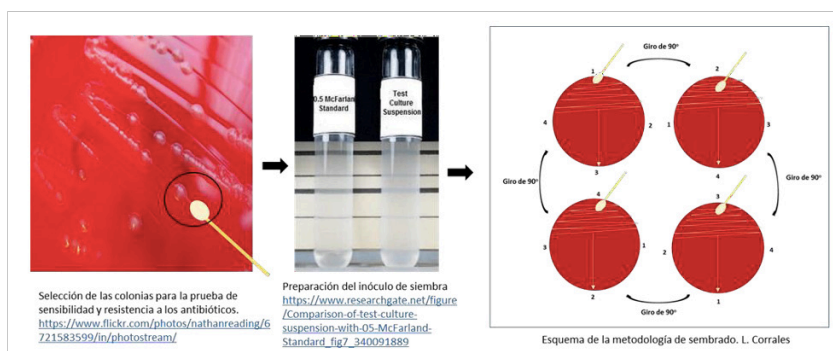


Figura 5.10. Esquema de la preparación del inóculo y siembra para la prueba de sensibilidad a los antibióticos por el método E-test

Controles: se requiere comprobar la actividad de cada lote con las cepas de control adecuadas.

Interpretación: después de la incubación se observa un elipse de inhibición del crecimiento bacteriano. La intersección entre el borde de la zona de inhibición y el número correspondiente a la concentración del antibiótico en la tira de

soporte se interpreta como la concentración del antimicrobiano que ya no es capaz de inhibir el crecimiento. El punto de intersección da la CMI en $\mu\text{g/ml}$, una medida directa de la susceptibilidad del microorganismo al agente antimicrobiano probado. Este procedimiento permite la detección de heterorresistencia en algunas bacterias y algunos antimicrobianos, como es el caso de *C. difficile* a metronidazol, que no se pone de manifiesto con la dilución en agar, o la de *B. fragilis* a carbapenémicos.

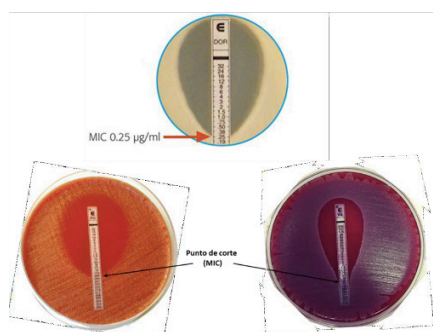


Foto 5.2. Prueba de sensibilidad por la técnica de E-test. Tomado de https://es.wikipedia.org/wiki/Prueba_de_epsilon%20C3%ADa; <https://www.elsevier.es/es-revista-anales-pediatria-continuada-51-articulo-el-antibiograma-interpretacion-del-antibiograma-S1696281809719274#imagen-2y> <https://www.biomerieux.es/diagnostico-clinico/productos/etest>

Nuevas definiciones:

- Un microorganismo se considera como sensible, con dosificación estándar* (S), cuando hay una alta probabilidad de éxito terapéutico usando un régimen de dosificación estándar del antibiótico.
- Un microorganismo se considera como sensible con exposición aumentada* (I), cuando hay una alta probabilidad de éxito terapéutico porque la exposición al antibiótico está aumentada por ajuste del régimen de dosificación o por su concentración en el sitio de la infección.

- Un microorganismo se considera como resistente (R), cuando hay una alta probabilidad de fracaso terapéutico incluso cuando haya un incremento de la exposición.
- El término intermedio, se modifica por la expresión Sensible con exposición aumentada, pero la abreviatura en los informes sigue siendo (I). La exposición varía en función de la vía de administración, la dosis, el tiempo de infusión, así como la distribución, el metabolismo y la eliminación del antimicrobiano.
- Con la nueva definición, un aislamiento sensible incluye las categorías: Sensible con dosificación estándar (S) y Sensible con exposición aumentada (I).

Tabla 5.7. Interpretación de las concentraciones mínimas inhibitorias (CMI) de las bacterias anaerobias a los antimicrobianos más utilizados en la clínica, de acuerdo con el CLSI y la EUCAST

Antimicrobiano	CLSI - CMI (µg/ml)			EUCAST - CMI (µg/ml)	
	Sensible	Intermedio	Resistente	Sensible	Resistente
Ampicilina	≤ 0.5	1	≥ 2	≤ 4	>8
Amoxicilina/ Ácido clavulánico	≤ 4/2	8-4	≥ 16/8	≤ 4	>8
Cefoxitina	≤ 16	32	≥ 64	-	-
Clindamicina	≤ 2	4	≥ 8	≤ 4	> 4
Cloranfenicol	≤ 8	16	≥ 32	≤ 8	> 8
Doripenem	≤ 2	4	≥ 8	≤ 1	>1
Ertapenem	≤ 4	8	≥ 16	≤ 1	> 1
Imipenem	≤ 4	8	≥ 16	≤ 2	> 8
Meropenem	≤ 4	8	≥ 16	≤ 2	> 8
Metronidazol	≤ 8	16	≥ 32	≤ 4*	> 4*
Moxifloxacino	≤ 2	4	≥ 8	-	-
Penicilina	≤ 0.5	1	≥ 2	≤ 0.25	>0.5
Piperacilina / tazobactam	≤ 32/4	64/4	≥ 128/4	≤ 8	>16
Vancomicina	-	-	-	≤ 2	> 2

Sistemas comerciales

Las placas de microdilución Sensititre®-Anaerobe MIC Plate (Trek Diagnostic Systems) están diseñadas para estudiar una cepa por placa y su utilización es sencilla porque su uso permite la semiautomatización. Los paneles contienen las distintas concentraciones de antimicrobianos desecados, así se pueden almacenar a temperatura ambiente y presentan larga caducidad (18- 24 meses). Tienen el inconveniente de que los antimicrobianos que incorporan son fijos y pueden no adaptarse a las necesidades de la población en cada laboratorio. Gracias a un autoinoculador se realiza una dispensación automática del inóculo. Sigue las normas del CLSI.

El ATB ANA® (bioMérieux) es un método de microdilución parcial. Consiste en una galería en la que hay 16 pares de pocillos con diferentes antibióticos que se ensayan a 2 concentraciones y cuya lectura es automatizada. El método se correlaciona bien con la dilución en agar.

El sistema Vitek es un sistema automatizado fabricado por bioMérieux, Inc., Hazelwood, MO. Está basado en el principio básico de fotometría, en éste, las bacterias utilizan un sustrato que produce un cambio de color generalmente para las pruebas bioquímicas y, densidad óptica, para las pruebas de sensibilidad a antibióticos. Estos cambios son detectados por diodos emisores de luz y detectores fototransistores. Este sistema está compuesto por un módulo de filtro-sello, una incubadora con lector, un módulo de computadora, una terminal de datos y una impresora.

El sistema MicroScan puede procesar paneles congelados o deshidratados. Los paneles cromogénicos convencionales son usados para la identificación de bacterias, también tiene disponibles pruebas de susceptibilidad antimicrobiana para la determinación de CIMs de organismos anaeróbicos.

Detección de β -lactamasas

Se puede realizar en anaerobios Gram negativos distintos a *Bacteroides* del grupo *fragilis*, que habitualmente las producen. Su utilidad es relativa, pues hay cepas resistentes a β -lactámicos por otros mecanismos. Su producción implica la resistencia a aminopenicilinas. Se detecta usando un método basado en la cefalosporina cromogénica (nitrocefina).

Existen disponibles varios métodos para la detección de β -lactamasas convenientes para uso de rutina y recomendados por el manual de Cumulative Techniques and Procedures in Clinical Microbiology (Cumitech 4A) como son el yodométrico, el acidométrico y el cromogénico.

Una de las pruebas es la que utiliza nitrocefina (C₂₁H₁₆N₄O₈S₂), cefalosporina cromogénica que vira del amarillo al rojo al ser hidrolizada, ésta se fundamenta en que cuando la fracción amida del compuesto, unida al anillo beta lactámico, es hidrolizada por la beta lactamasa, se produce un cambio de color de amarillo a rojo de la cefalosporina cromogénica (nitrocefina, cefinasa y otras).



Foto 5.3. Prueba de Beta lactamasas con disco de nitrocefina. (izquierda tubo con medio transparente, la bacteria es sensible y no hubo crecimiento. Derecha tubo con medio turbio la bacteria es resistente y hubo crecimiento). / Fuente: Corrales 2024.

En lo posible, esta prueba debe hacerse directamente del primer aislamiento, debido a que el plásmido que codifica la información es muy inestable y puede perderse en los subcultivos.

Otros métodos, explican los autores, se basan en la reducción del iodo por el ácido penicilinoico, el cual se deriva de la hidrólisis de la penicilina. En este caso, la reducción del iodo acompañado con almidón lleva a la decoloración del complejo. La prueba es particularmente sensible para la penicilinasasa estafilocócica. Sin embargo, es menos sensible que la prueba de nitrocefina para la mayoría de las β -lactamasas de bacterias Gram negativas.

La hidrólisis del anillo b-lactámico también puede ser detectada por métodos acidométricos, dado que se genera un grupo carboxilo (-COOH) que puede acidificar sistemas no tamponados. En uno de estos métodos se emplea una solución de bencilpenicilina y rojo fenol, en la cual se inoculan las bacterias. Si existe actividad -lactamasa la solución vira del violeta al amarillo en pocos minutos.

Resistencias reportadas en bacterias anaerobias

Según la Organización Mundial de la Salud (OMS), existen principalmente dos métodos de supervisión de resistencia: *in vivo* cuando se está frente a fracasos terapéuticos o *in vitro* mediante estudios en el laboratorio como la concentración mínima inhibitoria y los moleculares por pruebas genéticas. La vigilancia molecular, además de identificar los genes que codifican los mecanismos de resistencia en las bacterias, es una herramienta para la vigilancia epidemiológica. Estos genes son el resultado del uso de un antibiótico específico, pero que a su vez pueden generar también resistencia cruzada, afectando otros antibióticos de la misma clase o con el mismo mecanismo de acción, incluso a compuestos de familias diferentes. Asimismo, en numerosas ocasiones genes de

resistencia a diferentes antimicrobianos se encuentran asociados en una misma estructura genética como es el caso de los integrones, lo que da lugar al fenómeno de coselección de resistencia. De esta manera conocer la resistencia contribuye a optimizar estrategias de uso antibiótico que intenten controlar la diseminación de esta.

Lyudmila Boyanova et al, realizaron un estudio sobre la resistencia a múltiples fármacos (MDR) en anaerobios encontrando que los aislamientos del grupo de *Bacteroides fragilis* tienen numerosos determinantes de resistencia, como bombas de eflujo de múltiples fármacos, genes *cfiA* y *nimB* y secuencias de inserción activantes exhibiendo patrones extensos de resistencia a los fármacos. Las tasas de MDR en el grupo de *B. fragilis* fue de 1,5 a > 18% y hasta > 71% en cepas positivas para *cfiA* y *nimB* que llevaban secuencias de inserción. La MDR estuvo presente en más de la mitad de los aislamientos de *C. difficile*, con mayor frecuencia en cepas epidémicas e hipervirulentas, mostrando una resistencia inusualmente alta a metronidazol o vancomicina. Se encontró MDR en *Prevotella* spp. (en ≤10% de los aislamientos), *Finegoldia magna*, *Veillonella* spp. y *Cutibacterium acnes*. Los investigadores concluyen que la resistencia en los anaerobios tiende a ser menos predecible y se requiere trabajar más sobre microbiología anaeróbica en los laboratorios. También que las nuevas esperanzas pueden ser nuevos antibióticos como la eravaciclina, cadazolid, surotomicina, ridinilazol o vacunas de toxoide de *C. difficile*; sin embargo, se necesitan más esfuerzos para rastrear la MDR en anaerobios.

En otro estudio, Fernando Cobo et al, informaron sobre la susceptibilidad antimicrobiana de 276 bacterias anaerobias con significado clínico y pertenecientes a los principales géneros, las cuales fueron aisladas entre mayo de 2017 y noviembre de 2018 en un hospital de tercer nivel en Granada (España). La identificación de las bacterias se realizó mediante la técnica MALDI-TOF MS. También se les practicaron pruebas de susceptibilidad antimicrobiana frente a

penicilina, amoxicilina-clavulánico, imipenem, meropenem, moxifloxacino, clindamicina, metronidazol, vancomicina y piperacilina-tazobactam, por la técnica de difusión en gradiente y puntos de corte EUCAST (excepto al moxifloxacino). Los anaerobios identificados con mayor frecuencia fueron *Bacteroides* (29,7%; n = 82), *C. difficile* (15,9%, n = 44), *Prevotella* (10,8%, n = 30) y *Propionibacterium* (10,7%, n = 25). De los antimicrobianos testeados el metronidazol fue inactivo contra todos los géneros del estudio. Casi todos los anaerobios evaluados fueron susceptibles a los carbapenémicos y amoxicilina-clavulánico, excepto *Clostridioides difficile* (tasa de resistencia del 94%) y *Bacteroides* (19%), respectivamente. Se observaron altas tasas de resistencia general a la clindamicina, especialmente para los géneros *Finegoldia* (54%), *Bacteroides* (49%) y *Prevotella* (40%). Las tasas de resistencia a carbapenémicos y amoxicilina-clavulánico fueron muy bajas para la mayoría de los géneros analizados, pero fueron altas para *C. difficile* y *Bacteroides* spp., Respectivamente. La resistencia a la clindamicina fue muy alta, especialmente para *Bacteroides*, *Finegoldia magna*, *Prevotella* y *Peptoniphilus*.

En cuanto a los bacilos Gram negativos anaerobios, estudios realizados han mostrado que el gen tetQ, es el principal determinante de resistencia a la tetraciclina, la resistencia a la eritromicina se asocia frecuentemente a determinantes diferentes de ermF; sin embargo, la resistencia al metronidazol, parece deberse a un mecanismo desconocido, diferente a los que involucran los genes nim, así como tampoco a la sobre expresión de LDH. También se ha demostrado la transmisión horizontal de los genes tetQ y ermF, incluso, entre bacterias de diferentes especies aisladas de hospedadores distintos.

Con relación a las penicilinas más del 99% de aislamientos del grupo de *B. fragilis* son resistentes a este antibiótico. Esta resistencia se ha generado porque la mayoría produce β -lactamasas y otras cepas generan cambios en las proteínas unión a penicilinas (PBPs) en la membrana citoplasmática de la bacteria.

Aproximadamente el 50% de *Prevotella* spp. también produce β -lactamasa; sin embargo, la producción de esta enzima en otras especies anaerobias Gram negativas es poco común. La resistencia a la penicilina entre las bacterias Gram positivas anaeróbicas ocurre con poca frecuencia, en ocasiones se han reportado cepas de algunos *Clostridium* spp. como productoras de β -lactamasa.

En cuanto a la resistencia asociada con las cefalosporinas de primera y segunda generación, es necesario recordar que estos antibióticos tienen actividad restringida contra las bacterias anaerobias provenientes de muestras clínicas. Sin embargo, las cefamicinas, incluyendo cefoxitina y cefotetan, son activas contra los anaerobios. La cefoxitina es generalmente más activa que cefotetan frente al grupo de *B. fragilis*. *In vitro*, ceftizoxima, ceftriaxone y cefotaxima tienen limitada actividad contra los anaerobios; no obstante, ceftizoxima parece ser efectiva para tratar infecciones intra-abdominales; otros como ceftazidima y cefepime poseen baja actividad contra la mayoría de los anaerobios. La combinación de agentes inhibidores de β -lactamasa, incluyendo ampicilina-sulbactam, piperacilina-tazobactam y ticarcilina-ácido clavulánico, son activos contra la mayoría de bacterias anaerobias, abarcando las del grupo de *B. fragilis*, productoras de β -lactamasa. Se debe resaltar que el imipenem permanece altamente activo contra los anaerobios.

Las quinolonas y las fluoroquinolonas más antiguas, incluyendo ciprofloxacina y ofloxacina, tienen poca actividad contra las bacterias anaeróbicas. Algunas de las fluoroquinolonas más nuevas, como gatifloxacina, levofloxacina y moxifloxacina, son consideradas activas contra una variedad de especies anaeróbicas, a pesar que los datos en la literatura son escasos. La resistencia se ha observado en algunos aislamientos del grupo de *B. fragilis* y *Clostridium* spp. diferentes a *C. perfringens*.

Los aminoglucósidos requieren oxígeno para su transporte dentro de las células bacterianas, característica por la cual

ninguno de estos agentes es activo contra los anaerobios. El metronidazol es muy activo contra los anaerobios, pero no tiene ninguna actividad contra las bacterias aeróbicas o los anaerobios tolerantes al aire, como *Actinomyces* y *Propionibacterium* spp.

Históricamente, la clindamicina fue una de las primeras opciones para tratar infecciones anaeróbicas, sin embargo, dada la creciente resistencia, particularmente entre los aislamientos del grupo de *B. fragilis* y algunos *clostridios*, ya no se recomienda como el medicamento de primera elección para tratar infecciones anaeróbicas. Aproximadamente entre 15-20% de aislamientos de *B. fragilis* y 50% de aislamientos del grupo de *B. fragilis* son resistentes a clindamicina. Muchos *clostridios* y algunos *Peptoestreptococcus* spp. y *Prevotella* spp. son también resistentes a clindamicina.

El cloranfenicol se mantiene altamente activo contra los anaerobios, pero no es el caso de la tetraciclina donde muchos anaerobios muestran resistencia. En cuanto a la doxiciclina y minociclina muestran actividad contra una variedad de estas especies bacterianas.

Otras sensibilidades y resistencias reportadas específicamente para algunas especies anaerobias son:

- El grupo de *B. fragilis*, son resistentes a las penicilinas lábiles a la penicilinas como la ampicilina y penicilina. Algunas cepas de *B. fragilis* podrían ser resistentes a ampicilina y penicilina por un mecanismo diferente a la producción de beta-lactamasa, como otros anaerobios. Por tanto, un resultado de beta-lactamasa negativo no garantiza susceptibilidad a los β lactámicos. Si se considera terapia con ampicilina o penicilina, es necesario realizar una prueba de CIM.
- *Bacteroides* spp. y *Parabacteroides* spp., han mostrado resistencia a cefoxitina, ampicilina-sulbactam, amoxicilina-ácido clavulánico, clindamicina y

moxifloxacino; la piperacilina con tazobactam y los carbapenem siguen manteniendo muy buena actividad y la resistencia a los últimos también es creciente. La actividad de tigeciclina es inferior a la de carbapenem. La resistencia a metronidazol sigue siendo inexistente o puntual. La resistencia a los carbapenem se ha asociado a una carbapenemasas codificada por los genes *cfiA* activados por segmentos de inserción (IS) situados aguas arriba, pero se han descrito cepas que no presentan IS o genes *cfiA*, y en este caso se ha señalado que en la resistencia intervendrían alteraciones en la permeabilidad, en las porinas, o bombas de expulsión. La resistencia a metronidazol puede deberse a una nitroimidazol reductasa codificada por los genes *nim*, cromosómicos o plasmídicos, a una reducción de la captación, a la actividad de la nitrorreductasa y de la piruvato-ferredoxin oxidorreductasa, al aumento de la actividad de lactato deshidrogenasa o a mutaciones que alteran la utilización de hidratos de carbono que afectan al potencial redox.

- En *Fusobacterium* spp. y *Prevotella* spp., se ha constatado un incremento de resistencia a clindamicina y amoxicilina-ácido clavulánico. Sensibilidad disminuida a metronidazol.
- *Fusobacterium* spp., tradicionalmente se ha mostrado sensible a penicilina. No obstante, se viene detectando un aumento en el porcentaje de cepas productoras de betalactamasas (5- 30%). Frente a amoxicilina-ácido clavulánico, clindamicina y metronidazol, presentan muy buena actividad con tasas de resistencia inferiores al 5%. La mayoría de los macrólidos y las cefalosporinas son poco activos para su tratamiento.
- *Peptoniphilus* spp, es sensible a penicilina, metronidazol y linezolid y es resistente a doxiciclina; también

se han reportado cepas resistentes a clindamicina y moxifloxacino.

- *Gordonibacter pamelaee*, ha reportado CMI bajas para penicilina (0,5 mg/l).
- *Robinsoniella peoriensis*, ha mostrado sensibilidad a cefoxitina, clindamicina, amoxicilina- ácido clavulánico, piperacilina-tazobactam, imipenem, metronidazol y vancomicina y es variable a penicilina dependiendo de la cepa.
- *Negativicoccus succinicivorans*, es sensible a penicilina y resistente a clindamicina y metronidazol.
- *Finegoldia magna* también presenta resistencia a penicilina y clindamicina.
- En la diarrea asociada a *C. difficile* la fidaxomicina, ha mostrado una eficacia similar a vancomicina, pero con menos recurrencia, pues este antibiótico produce menos alteración de la microflora intestinal que vancomicina e inhibe *in vitro* la producción de toxina de *C. difficile*.
- *Anaerococcus murdochii*, algunas cepas mostraron sensibilidad intermedia a penicilina, aunque otras son resistentes, así como a clindamicina.
- *Fastidiosipila sanguinis*, es sensible a la asociación de betalactámico inhibidor de β - lactamasas, cefazolina, cefoxitina, imipenem, metronidazol y vancomicina.
- *Peptostreptococcus stomatis*, es sensible a amoxicilina, a la asociación de amoxicilina con ácido clavulánico, a cefoxitina, ertapenem, metronidazol y moxifloxacino. La mayoría son sensibles también a clindamicina y seguramente a azitromicina, aunque no hay puntos de corte para anaerobios.

- *Peptostreptococcus micros*, es sensible a penicilina y otros betalactámicos como amoxicilina, metronidazol y clindamicina, aunque del 5-15% de las cepas pueden ser resistentes a clindamicina y hasta un 10-20% a metronidazol. La actividad de macrólidos y tetraciclinas suele ser algo menor, con tasas de resistencia que se han observado entre el 30-50%.
- *Catabacter hongkongensis*, es sensible a metronidazol y vancomicina y resistente a cefotaxima; algunas cepas son sensibles a penicilina.
- *Moryella indoligenes*, la cepa tipo es sensible a penicilina, aminopenicilinas, cefalosporinas, imipenem y metronidazol; es intermedia a tetraciclinas y resistente a trimetoprim mas sulfametoxazol, eritromicina y rifampicina.
- *Solobacterium moorei*, es sensible a penicilina, vancomicina, metronidazol y cefotaxima.
- *Clostridium aldenense*, sensible a penicilina, a la asociación de betalactámicos inhibidores de betalactamasas, a ertapenem, metronidazol y clindamicina y resistente a moxifloxacino y levofloxacino.
- *Clostridium amygdalinum*, es sensible a penicilina, ampicilina, amoxicilina, a la asociación de amoxicilina con ácido clavulánico, a cefalotina, cefoxitina, imipenem, metronidazol, tetraciclina y rifampicina.
- *Clostridium citroniae*, es sensible a penicilina, a la asociación de betalactámicos inhibidores de betalactamasas, a ertapenem, metronidazol y clindamicina, y es resistente a moxifloxacino y levofloxacino.
- *Clostridium glycolicum*, es sensible a penicilina G, clindamicina y metronidazol.

- *Dialister invisus*, es sensible a amoxicilina, a la asociación de amoxicilina con ácido clavulánico, piperacilina, ceftioxitina, imipenem, eritromicina, clindamicina, ciprofloxacino, moxifloxacino, rifampicina, cloranfenicol y metronidazol.
- *Dialister micraerophilus*, es sensible a amoxicilina, a la asociación de amoxicilina con ácido clavulánico, piperacilina, ceftioxitina, imipenem, ertapenem, eritromicina, clindamicina, ciprofloxacino, levofloxacino, moxifloxacino, rifampicina, doxiciclina, cloranfenicol y metronidazol, aunque la CMI de este último puede ser alta.
- *Dialister propionificiens*, es sensible a amoxicilina, a la asociación de amoxicilina con ácido clavulánico, a piperacilina, ceftioxitina, imipenem, ertapenem, eritromicina, clindamicina, ciprofloxacino, levofloxacino, moxifloxacino, rifampicina, doxiciclina, cloranfenicol y metronidazol.
- *Alistipes finegoldii*, puede producir betalactamasas, por lo que su sensibilidad a penicilina es variable.
- *Alistipes onderdonkii*, es sensible a metronidazol, a clindamicina, a la asociación de betalactámico inhibidor de betalactamasas y a ertapenem.
- *Leptotrichia amnionii*, es sensible a amoxicilina, ceftriaxona, meropenem y ciprofloxacino.
- *Leptotrichia goodfellowii*, sensible a piperacilina más tazobactam y ceftriaxona más metronidazol.
- *Leptotrichia hongkongensis*, es sensible a penicilina, amoxicilina-ácido clavulánico, imipenem y vancomicina y resistente a metronidazol y levofloxacino.
- *Leptotrichia trevisanii*, es sensible a penicilina, a la asociación de amoxicilina con ácido clavulánico, a imipenem,

metronidazol y a cloranfenicol, sensibilidad intermedia a clindamicina y resistente a eritromicina.

- *Prevotella massiliensis*, es sensible a penicilina, imipenem, claritromicina, clindamicina y metronidazol.
- *Prevotella timonensis*, sensible a la asociación de betalactámico inhibidor de betalactamasas, imipenem y metronidazol.
- *Porphyromonas* spp, sensible a moxifloxacina, son productoras de betalactamasas, por lo cual son resistentes a penicilina y a amoxicilina, pero no a amoxicilina-ácido clavulánico, ni a otros betalactámicos estables a la acción de estas betalactamasas. La resistencia a tetraciclinas y macrólidos se sitúa en torno al 30-50% y 80-95% respectivamente, siendo azitromicina en general el macrólido más activo frente a estos bacilos Gram negativos anaerobios. El 5-25% de las cepas son resistentes a clindamicina y menos del 5% a metronidazol.
- *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, sensible a amoxicilina - ácido clavulánico, moxifloxacina y tetraciclinas, y para penicilina muestra tasas de resistencia de aproximadamente el 50%. La actividad de los macrólidos es variable, con resistencia que oscilan entre el 18% para claritromicina y el 90% para espiramicina. Y es resistente a metronidazol y clindamicina.

Evaluación y repaso

1. ¿Cuál es el efecto que tiene la adquisición de resistencia sobre la virulencia en una especie patógena?
2. Resistencia antibiótica y virulencia: ¿son mecanismos íntimamente ligados en el desarrollo del proceso infeccioso?

3. ¿Los microorganismos que provoquen patología infecciosa, serán cada vez más resistentes a los antimicrobianos y, a su vez, más virulentos?
4. ¿Cuáles son los factores que fomentan la dispersión de plásmidos con marcadores de resistencia?
5. ¿La pared celular es un buen blanco para la acción antimicrobiana debido a la diferencia entre la estructura de las células bacterianas y las células eucariotas?
- 6.Cuál de los siguientes enunciados describe de mejor manera el concepto de resistencia antimicrobiana emergente:
 - A. La transferencia de plásmidos bacterianos que contienen genes de resistencia mediante conjugación.
 - B. La incidencia creciente de resistencia a una variedad de agentes antimicrobianos en una variedad de especies bacterianas.
7. ¿Cuál de las siguientes afirmaciones describe los plásmidos bacterianos? Seleccione todas las que apliquen:
 - A. Estos resultan de mutaciones cromosómicas.
 - B. Estos son ADN extracromosómico.
 - C. Estos podrían contener genes de resistencia.
 - D. Estos podrían ser fácilmente transferidos entre bacterias.
 - E. Estos están frecuentemente presentes en bacterias que causan infecciones.
8. Conteste lo siguiente como verdadero o falso.
 - A. La pared celular de las bacterias gram-positivas es más gruesa que la pared celular de las bacterias gram-negativas.

- B. La variedad de antimicrobianos fluoroquinolonas actúa inhibiendo la síntesis de la pared celular.
 - C. El eflujo está asociado con el bombeo de antimicrobianos fuera de la célula.
 - D. Los cambios en las proteínas que se unen a la penicilina conducen a hidrólisis o desactivación de los agentes beta-lactámicos.
 - E. Los cambios en las porinas con frecuencia limitan la cantidad de agentes antimicrobianos que pueden entrar en la célula.
 - F. Las beta-lactamasas podrían ser transportadas fuera de la célula y actuar extracelularmente en algunos organismos.
9. Relacione los siguientes antimicrobianos con su modo de acción:

Mecanismo de acción	Antimicrobiano
Inhibición de la ruta del ácido fólico	Cefalosporinas
Inhibición de la síntesis de proteínas	Quinolonas
Inhibición de la síntesis de la pared celular	Trimetoprim
Inhibición de la síntesis de ADN	Aminoglucósidos

10. Indique si los siguientes antimicrobianos son (1) bacteriostáticos o (2) bactericidas:
- A. Ciprofloxacina
 - B. Tetraciclina
 - C. Gentamicina
 - D. Sulfamethoxazole
11. Relacione los siguientes antimicrobianos con su mecanismo de resistencia bacteriana:

Mecanismo de resistencia	Antimicrobiano
Porinas alteradas	Sulfonamidas
Alteración de ribosomas	Aminoglucósidos
Ruta metabólica alterada	Macrólidos
Producción de enzimas modificadoras	Beta-lactámicos

¿Cuáles son los antibióticos de elección para tratar anaerobios Gram positivos, Gram negativos y cuáles a los que presentan β -lactamasas?

Lista de figuras

- Figura 5.1. Relación paciente, microorganismo y antibiótico, a considerar en la prescripción terapéutica. L. Corrales.
- Figura 5.2. Mecanismos de acción de los antibióticos sobre las bacterias - Farmacodinámica. L. Corrales.
- Figura 5.3. Proceso de conjugación. L. Corrales.
- Figura 5.4. Movilización en el genoma de factores de virulencia. L. Corrales.
- Figura 5.5. Composición de los integrones y de la adquisición de casetes de resistencia. Tomado de González R Gerardo, Mella M Sergio, Zemelman Z Raúl, Bello T Helia, Domínguez Y Mariana. Integrones y casetes genéticos de resistencia: estructura y rol frente a los antibacterianos. Rev. méd. Chile. 2004; 132(5): 619-626.
- Figura 5.6. Proceso de transformación. L. Corrales.
- Figura 5.7. Ciclo lisogénico. L. Corrales.
- Figura 5.8. Ciclo lítico. L. Corrales.

- Figura 5.9. Mecanismos de resistencia adquirida. L. Corrales.
- Figura 5.10. Esquema de la preparación del inóculo y siembra para la prueba de sensibilidad a los antibióticos por el método E-test.

Lista de tablas

- Tabla 5.1. Descripción de algunos antibióticos naturales.
- Tabla 5.2. Evolución de las quinolonas y fluoroquinolonas.
- Tabla 5.3. Clasificación de las β -lactamasas de Bush, Jacoby y Medeiros.
- Tabla 5.4. Intervalos de concentración mínima inhibitoria (CMI) de las cepas anaerobias para el control de calidad a distintos antimicrobianos obtenidas por el método de dilución en agar, según el CLSI.
- Tabla 5.5. Condiciones para la realización del CMI en bacterias anaerobias.
- Tabla 5.6. Intervalos de concentración mínima inhibitoria (CMI) a distintos antimicrobianos de las cepas anaerobias para el control de calidad obtenidas por la técnica de microdilución en caldo, según el CLSI.
- Tabla 5.7. Interpretación de las concentraciones mínimas inhibitorias (CMI) de las bacterias anaerobias a los antimicrobianos más utilizados en la clínica, de acuerdo con el CLSI y la EUCAST.

Lista de fotos

- Foto 5.1. Tiras de antibiótico E-test. Tomado de: <https://www.biomerieux.es/diagnostico-clinico/productos/etest>
- Foto 5.2. Prueba de sensibilidad por la técnica de E-test. Tomado de https://es.wikipedia.org/wiki/Prueba_de_epsilonometr%C3%ADa; <https://www.elsevier.es/es-revista-anales-pediatria-continuada-51-articulo-el-antibiograma-interpretacion-del-antibiograma-S1696281809719274#imagen-2> <https://www.biomerieux.es/diagnostico-clinico/productos/etest>.
- Foto 5.3. Prueba de Beta lactamasas con disco de nitrocefina. (izquierda, tubo con medio transparente, la bacteria es sensible y no hubo crecimiento. Derecha, tubo con medio turbio la bacteria es resistente y hubo crecimiento). / L. Corrales.

Referencias bibliográficas

- A.C.M. Veloo, W.H. Baas, F.J. Haan, J. Coco, J.W. Rossen. Prevalence of antimicrobial resistance genes in *Bacteroides* spp. And *Prevotella* spp. Dutch clinical isolates. *Clinical Microbiology and Infection*. 2021 (Article in press)
- Admassie, M. Current Review on Molecular and Phenotypic Mechanism of Bacterial Resistance to Antibiotic. *Sci. J. Clin. Med.* 2018, 7, 13.
- Alicia Bravo, Sofía Ruiz-Cruz, Itziar Alkorta, Manuel Espinosa. When Humans Met Superbugs: Strategies to Tackle Bacterial Resistances to Antibiotics. *Biomol Concepts*. 2018; 31,9(1):216- 226.
- Ana Mercedes Rada, Christian Hernández-Gómez, Eliana Restrepo, María Virginia Villegas. Distribución y caracterización molecular de betalactamasas en bacterias Gram negativas en Colombia, 2001-2016. *Biomédica* 2019;39(Supl.1):199 -220.
- Andrés Opazo C., Sergio Mella M., Mariana Dominguez Y., Helia Bello T. y Gerardo González R. Bombas de expulsión multidrogas en *Acinetobacter baumannii* y resistencia a antimicrobianos. *Rev Chil Infect* 2009; 26 (6): 499-503.
- Beceiro Alejandro, Tomás María, Bou Germán. Resistencia a los antimicrobianos y virulencia, ¿una asociación beneficiosa para el mundo microbiano? *Enf inf y Microb clin.* 2012; 30, 492- 499 (October 2012).
- Boyanova L, Markovska R, Mitov I. Multidrug resistance in anaerobes. *Future Microbiol.* 2019; 14:1055-1064.
- Bush K, Jacoby GA, Medeiros AA. A functional classification scheme for β -lactamases and its correlation with

- molecular structure. *Antimicrob Agents Chemother* 1995; 39: 1211 - 1233
- Cabrera–Galeana, J. Cisneros-Jiménez, N. Guzmán-Guzmán, I. Castro–Alarcón, N. Resistencia a antibióticos en bacterias anaerobias de la microbiota intestinal de jóvenes obesos. *Revista de Ciencias de la Salud*, Vol.2 No.5 109-113 109. 2015.
- Calderón CV, Ximénez FLA, Chávez BE. “Estudio in vitro de la capacidad antibacteriana de la clorhexidina, hidróxido de calcio y yoduro de potasio yodado contra *Fusobacterium nucleatum*”. *Rev Odontol Mex* 2007; 11: 30 -37.
- Cassini, A.; Högberg, L.D.; Plachouras, D.; Quattrocchi, A.; Hoxha, A.; Simonsen, G.S.; Colomb - Cotinat, M.; Kretzschmar, M.E.; Devleeschauwer, B.; Cecchini, M.; et al. Attributable deaths and disability-adjusted life-years caused by infections with antibiotic-resistant bacteria in the EU and the European Economic Area in 2015: A population-level modelling analysis. *Lancet Infect. Dis.* 2019, 19, 56–66.
- Cobo F, Rodríguez-Granger J, Pérez-Zapata I, Sampedro A, Aliaga L, Navarro-Marí JM. Antimicrobial susceptibility and clinical findings of significant anaerobic bacteria in southern Spain. *Anaerobe*. 2019; 59:49-53.
- Chia-Ying L, Yu-Tsung H, Chun-Hsing L, Li-Ching Y, Hsiu-Ying L, Po-Ren H. “Increasing Trends in Antimicrobial Resistance among Clinically Important Anaerobes and *Bacteroides fragilis* Isolates Causing Nosocomial Infections: Emerging Resistance to Carbapenems”. *Antimicrob. Agents Chemother* 2008; 52: 3161–3168.
- Chih-Hung Wang, Yi-Hsien Hsieh, Zachary M Powers, Cheng-Yen Kao. Defeating Antibiotic- Resistant Bacteria: Exploring Alternative Therapies for a Post-Antibiotic Era. *Int J Mol Sci*. 2020; 5;21(3):1061.

- Citron D, Goldstein E, Merriam C, Lipsky B, Abramson M. "Bacteriology of Moderate -to- Severe Diabetic Foot Infections and in Vitro Activity of Antimicrobial Agents". J Clin Microbiol 2007; 45: 2819-2828.
- Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) M100: Performance standards for antimicrobial susceptibility testing: twenty-ninth informational supplement. 2019.
- Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI): Performance standards for antimicrobial susceptibility testing: twenty-eighth edition. 2018.
- Clinical Laboratory and Standards Institute. S25 Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Twenty-Fifth Informational Supplement. Wayne, Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI, 2018).
- CLSI. Methods for antimicrobial susceptibility testing of anaerobic bacteria; Approved standard. Eighth edition. CLSI document M11-A8. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2012.
- Corentine Alauzet, Alain Lozniewski, Helene Marchandin. Metronidazole resistance and nim genes in anaerobes: A review. Anaerobe 55 (2019) 40e53.
- Crook DW, Walker AS, Kean Y, Weiss K, Cornely OA, Miller MA, et al. Fidaxomicin versus vancomycin for *Clostridium difficile* infection: Meta-analysis of pivotal randomized controlled trials. Clin Infect Dis. 2012;55 Suppl 2: S93–103.
- Danny-Omar Suclupe-Campos, Franklin-Rómulo Aguilar-Gamboa. Bacterial persistence: a cellular phenotype of clinical significance in chronic and recurrent infections. Horiz. Med. 2020; Vol.20, no.1, 11.
- DDY, L.D.; Martin, M.V. Clindamycin and dentistry. British Dental Journal, v.199, n.1, 2005, p.23-26.

- E Nagy, L Boyanova, U S Justesen, ESCMID Study Group of Anaerobic Infections. How to isolate, identify and determine antimicrobial susceptibility of anaerobic bacteria in routine laboratories. *Clin Microbiol Infect.* 2018; 24(11):1139-1148.
- European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST). 2017.
- Ferlov-Schwensen SA, Sydenham TV, Moller Hansen KC, Hoegh SV, Justesen US. Prevalence of antimicrobial resistance and the *cfiA* resistance gene in Danish *Bacteroides fragilis* groups isolates since 1973. *Int J Antimicrob Agents* 2017; 50:552e6.
- Fernando Paredes, Juan José Roca. Acción de los antibióticos. Perspectiva de la medicación antimicrobiana. *Ámbito Farmacéutico Farmacología.* 2004; Vol. 23 (3):116- 124.
- García-Sánchez JE, García-Merino E, Martín-del-Rey A, García-Sánchez E. Antibioterapia para el siglo XXI, antibacterianos para la segunda década. ¿Posibilidades o realidades en un futuro? *Rev Esp Quimioter.* 2012; 25:100–21.
- Giannamaria Annunziato. Strategies to Overcome Antimicrobial Resistance (AMR) Making Use of Non-Essential Target Inhibitors: A Review. *Int J Mol Sci.* 2019; 21,20(23):5844.
- González R Gerardo, Mella M Sergio, Zemelman Z Raúl, Bello T Helia, Domínguez y Mariana. Integrones y cassettes genéticos de resistencia: estructura y rol frente a los antibacterianos. *Rev. méd. Chile.* 2004; 132(5): 619-626.
- Hecht DW. "Prevalence of Antibiotic Resistance in Anaerobic Bacteria: Worrisome Developments". *Clin Infect Dis* 2004; 39: 92-97.
- Hedde, J.; Maxwell, A. *Antimicrob. Agents Chemother.* 2002; 46, 1805.

José E. García-Sánchez, Enrique García-Sánchez, María Inmaculada.

García-García. Estudios de sensibilidad en bacterias anaerobias. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2014;32(Supl 1):23-29.

José Elías García-Sánchez, Enrique García-Sánchez, Ángel Martín-del-Rey y Enrique García-Merino. Las bacterias anaerobias 150 años después de su descubrimiento por Pasteur. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2015;33(2):119-128.

José Elías García-Sánchez, María José Fresnadillo y Enrique García-Sánchez. Nuevas bacterias anaerobias implicadas en enfermedades infecciosas humanas. *Enferm infecc Microbiol Clin*. 2010;28(3):173-184.

Juan-Ignacio Alós. Antibiotic resistance: A global crisis. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*. 2015; 33, Issue 10: 692-699.

Karla Marcela Moreno Monge. Carbapenémicos: tipos y mecanismos de resistencia Bacterianos. *Revista Médica de Costa Rica y Centro América*. 2013; LXX (608): 599-605

Li XZ, Plésiat P, Nikaido H. The challenge of efflux-mediated antibiotic resistance in Gram negative bacteria. *Clin Microbiol Rev*. 2015. 28(2):337-418.

Livermore DM, Maya JJ, Nordmann P, Patel JB, Paterson DL, Pitout J, Villegas MV, Wang H, Woodford N, Quinn JP. Clinical epidemiology of the global expansion of *Klebsiella pneumoniae* carbapenemases. *Lancet Infect Dis*. 2013.13:785-796.

Louis-Charles Fortier, Ognjen Sekulovic. Importance of prophages to evolution and virulence of bacterial pathogens. *Virulence*. 2013; 4(5): 354-365.

- Luis Felipe Upegui Jiménez & Diana Yuledi Molina Colorado. Susceptibilidad Antimicrobiana de Microorganismos Anaerobios Aislados de Infecciones Endodónticas Primarias a Amoxicilina y Metronidazol y su Asociación con los Parámetros Clínicos: Serie de Casos. *Int. J. Odontostomat.* 2016;10(1):149-159.
- Lysakowska, M. E.; Ciebiada-Adamiec, A.; Sienkiewicz, M.; Sokoowski, J. & Banaszek, K. The cultivable microbiota of primary and secondary infected root canals, their susceptibility to antibiotics and association with the signs and symptoms of infection. *Int. Endod. J.* 2016;49(5):422-30.
- María C. Legaria, Hebe M. Bianchini, Liliana Castello, et al. Primer consenso argentino para el estudio de la sensibilidad *in vitro* a los antimicrobianos de las bacterias anaerobias de importancia clínica en humanos. *Revista Argentina de Microbiología.* 2011; 43: 51-6
- Meggersee R, Abratt V. The occurrence of antibiotic resistance genes in drug resistant *Bacteroides fragilis* isolates from Groote Schuur Hospital, South Africa. *Anaerobe* 2015; 32:1e6.
- Morejón García Moisés. Betalactamasas de espectro extendido. *Rev cubana med.* 2013; 52,4): 272-280.
- Patrizia Spigaglia, Paola Mastrantonio, Fabrizio Barbanti. Antibiotic Resistances of *Clostridium difficile*. *Adv Exp Med Biol.* 2018; 1050:137-159.
- Pierce, B. A. Genética: Un enfoque conceptual. 5ta edición. Ed. Médica Panamericana. 2014. Madrid, España.
- Pitout JDD, Laupland KB. Extended-spectrum beta-lactamase-producing enterobacteriaceae: an emerging public-health concern. *Lancet Infect Dis.* 2008. 8:159- 166.

- Quiñones Pérez Dianelys. Resistencia antimicrobiana: evolución y perspectivas actuales ante el enfoque “Una salud”. *Rev cubana Med Trop.* 2017; 69 (3): 1 -17.
- Roca I, Akova M, Baquero F, Carlet J, Cavaleri M, Coenen S, Cohen J, Findlay D, Gyssens I, Heuer OE, Kahlmeter G, Kruse H, Laxminarayan R, Liébana E, López-Cerero L, MacGowan A, Martins M, Rodríguez-Baño J, Rolain JM, Segovia C, Sigauque B, Tacconelli E, Wellington E, Vila J. The global threat of antimicrobial resistance: science for intervention. *New Microbes New Infect.* 2015. 6: 22-9.
- Sherrard LJ, Schaible B, Graham KA, McGrath SJ, McIlreavey JH, Wolfgang MC, et al. Mechanisms of reduced susceptibility and genotypic prediction of antibiotic resistance in *Prevotella* isolated from cystic fibrosis (CF) and non-CF patients. *J Antimicrob Chemother* 2014; 69:2690e8.
- Sóki J, Eitel Z, Urbán E, Nagy E, on behalf of the ESCMID Study Group on Anaerobic Infections. Molecular analysis of the carbapenem and metronidazole resistance mechanisms of *Bacteroides* strains reported in a Europe-wide antibiotic resistance survey. *Int J Antimicrob Agents.* 2012, pii: S0924- 8579(12)00385-8
- Tanner A, Stillman N. Oral and dental infections with anaerobic bacteria: clinical features, predominant pathogens and treatment. *Clin Infect Dis.* 1993; 16:304 -9
- Tennert, C.; Fuhrmann, M.; Wittmer, A.; Karygianni, L.; Altenburger, M. J.; Pelz, K.; Hellwig, E. & Al-Ahmad, A. New bacterial composition in primary and persistent/ secondary endodontic infections with respect to clinical and radiographic findings. *J. Endod.* 2014; 40(5):670-7

- Trimble MJ, Mlynářčik P, Kolář M, Hancock RE. Polymyxin: Alternative Mechanisms of Action and Resistance. *Cold Spring Harb Perspect Med.* 2016; 6(10).
- Upegui Jiménez Luis Felipe, Molina Colorado Diana Yuledi. Susceptibilidad Antimicrobiana de Microorganismos Anaerobios Aislados de Infecciones Endodónticas Primarias a Amoxicilina y Metronidazol y su Asociación con los Parámetros Clínicos: Serie de Casos. *Int. J. odontostomat.* 2016;10(1): 149-159.
- Vardakas KZ, Rellos K, Triarides NA, Falagas ME. Colistin loading dose: evaluation of the published pharmacokinetic and clinical data. *Int J Antimicrob Agents.* 2016. 48(5):475 - 484.
- Veloo ACM, Chlebowicz M, Winter HJL, Bathoorn D, Rossen JWA. Three metronidazole-resistant *Prevotella bivia* strains harbour a mobile element, encoding a novel *nim* gene, *nimK*, and an efflux small MDR transporter. *J Antimicrob Chemother* 2018; 73:2687e90.
- Veloo ACM, van Winkelhoff AJ. Antibiotic susceptibility profiles of anaerobic pathogens in The Netherlands. *Anaerobe* 2015; 31:19e24
- Wexler HM. Pump it up: Occurrence and regulation of multi-drug efflux pumps in *Bacteroides fragilis*. *Anaerobe.* 2012; 18:200–8.
- Xavier BB, Lammens C, Ruhel R, Kumar-Singh S, Butaye P, Goossens H, Malhotra-Kumar S. Identification of a novel plasmid-mediated colistin-resistance gene, *mcr-2*, in *Escherichia coli*, Belgium. *Euro Surveill.* 2016; 21(27)
- Yunoki T, Matsumura Y, Nakano S, Kato K, Hotta G, Noguchi T, Yamamoto M, Nagao M, Takakura S, Ichiyama S. Genetic, phenotypic and matrix assisted laser desorption ionization time-of-flight mass spectrometry-based

- identification of anaerobic bacteria and determination of their antimicrobial susceptibility at a University Hospital in Japan. *J Infect Chemother*. 2016; 22(5):303-7.
- Zurfluh K, Glier M, Hächler H, Stephan R. Replicon typing of plasmids carrying blaCTX -M15 among Enterobacteriaceae isolated at the environment, livestock and human interface. *Sci Total Environ*. 2015; 521-522:75-8.
- Zurfluh K, Jakobi G, Stephan R, Hächler H, Nüesch-Inderbinen M. Replicon typing of plasmids carrying bla CTX-M-1 in Enterobacteriaceae of animal, environmental and human origin. *Front Microbiol*. 2014; 5:555.
- Zurfluh K, Poirel L, Nordmann P, Nüesch-Inderbinen M, Hächler H, Stephan R. Occurrence of the Plasmid-Borne mcr-1 Colistin Resistance Gene in Extended-Spectrum- β -Lactamase Producing Enterobacteriaceae in River Water and Imported Vegetable Samples in Switzerland. *Antimicrob Agents Chemother*. 2016; 60: 2594- 5.

ISBN: 978-958-6198-27-2



9 789585 198272