

Ostria Hernández, Martha Lorena\*  
Hernández Cortez, Cecilia\*  
Castro Escarpulli, Graciela\*

## ¿Por qué estudiar a las bacterias anaerobias obligadas?

Reasons to study obligate anaerobic bacteria

Fecha de aceptación: marzo 2014

### Resumen

Las bacterias anaerobias obligadas son un grupo de microorganismos que no requieren de oxígeno para su desarrollo y presentan altos requerimientos nutricionales. Constituyen un grupo heterogéneo de bacterias que pueden causar infecciones en humanos y en animales. Frecuentemente estas bacterias se asocian con otros grupos bacterianos, particularmente aerobios o anaerobios facultativos, para causar infecciones polimicrobianas o mixtas. El aislamiento e identificación de estas bacterias no se realiza de forma rutinaria en los laboratorios clínicos, sin embargo, ciertas características de las infecciones en los pacientes así como de las muestras, podrían sugerir su presencia como agentes etiológicos. El tratamiento de las infecciones por bacterias anaerobias por lo general es empírico y debe cubrir también al grupo de las aerobias dada la naturaleza de la infección, no obstante, la resistencia a los antimicrobianos clásicos va en aumento en algunos géneros de importancia clínica.

Esta revisión pretende dar a conocer los aspectos más importantes sobre el aislamiento e identificación de las bacterias anaerobias obligadas, la importancia de las infecciones causadas por estos microorganismos y los estudios más recientes enfocados a su identificación en México.

**Palabras clave:** bacterias anaerobias obligadas, infección por anaerobios.

### Abstract

Obligate anaerobic bacteria are a group of microorganisms which do not need molecular oxygen for their development and have high nutritional requirements. They can cause infections in humans and animals. Often, these bacteria are associated with other bacterial group like aerobes or facultative anaerobes to cause polymicrobial or mixed infections. The isolation and identification of these bacteria are not routinely performed in clinical laboratories; however, certain characteristics of infections in patients as well as samples could suggest their presence as etiologic agents. Treatment of anaerobic bacterial infections is usually empirical but the antimicrobial resistance is increasing in some genera of clinical importance.

This review intended to highlight the most important aspects of the isolation and identification of obligate anaerobic bacteria, the importance of infections caused by these microorganisms and recent studies focused on their identification in Mexico.

**Keywords:** Obligate anaerobic bacteria, anaerobic infection.

Las bacterias anaerobias se pueden definir como aquellas bacterias que no requieren oxígeno para multiplicarse debido a que éste tiene poder tóxico y puede inhibir su desarrollo. Un anaerobio obligado crece únicamente en ausencia de oxígeno molecular ( $O_2$ ), varía en su susceptibilidad al mismo y puede clasificarse como anaerobio moderado (incapaces de desarrollarse en atmósferas que contengan del 2-8%

de  $O_2$ , sin embargo, toleran la exposición al aire por unas pocas horas), o anaerobio estricto (no pueden multiplicarse en presencia de 0.5% de  $O_2$  y mueren en pocos minutos de exposición al aire).<sup>1,2</sup>

Estas bacterias se encuentran distribuidas ampliamente en la naturaleza y requieren una vía de entrada para poder producir una infección. Las fuentes de infección

\*Laboratorio de Bacteriología Médica. Departamento de Microbiología. Escuela Nacional de Ciencias Biológicas. Instituto Politécnico Nacional. Prolongación de Carpio y Plan de Ayala. s/n, Colonia Santo Tomás. Delegación Miguel Hidalgo. C.P. 11340. México, Distrito Federal.

Correspondencia: Dra. en C. Graciela Castro Escarpulli  
Laboratorio de Bacteriología Médica, Departamento de Microbiología. Escuela Nacional de Ciencias Biológicas. Prolongación de Carpio y Plan de Ayala s/n, Col. Santo Tomás, 11340 México, D. F.  
Teléfono: 57296300 ext. 62374  
Dirección electrónica: chelacastro@hotmail.com

pueden ser endógenas, es decir, pueden ser causadas por microorganismos que pertenecen a la microbiota normal del hospedero, o bien exógena, en esta situación el hospedero adquiere a los microorganismos por el contacto con suelo, agua, alimentos o tracto gastrointestinal de animales.<sup>3,4</sup>

## Condiciones de crecimiento y factores de virulencia

La mayoría de los géneros de las bacterias anaerobias crece en un potencial de óxido-reducción (Eh) negativo, entre -100 a -250 voltios; de tal forma se previene en los tejidos normales el crecimiento bacteriano debido a que, en general, en los tejidos del cuerpo humano el Eh se encuentra entre +0.126 y 0.246 voltios, lo cual depende de que la medición se efectúe en un sitio de baja o de alta saturación de oxígeno (sangre arterial o venosa). Sin embargo, en sitios de infección con formación de abscesos el Eh llega a ser de -250 voltios, mientras que en el intestino y en lesiones de la mucosa bucal es de -300 voltios, ambiente que llega a ser óptimo para el desarrollo de estos microorganismos.<sup>1</sup>

Entre los factores de virulencia de las bacterias anaerobias se pueden incluir: el lipopolisacárido capsular, el cual promueve la formación de abscesos y resistencia a la opsonización y fagocitosis; endotoxinas; metabolitos secundarios, como ácidos grasos de cadena corta y ácido succínico que inhibe la fagocitosis y causa destrucción tisular; la enzima superóxido dismutasa que favorece la aerotolerancia y reduce los radicales superóxido producidos por los polimorfonucleares; las exotoxinas y exoenzimas, como las hemolisinas, leucocidinas, heparinasa, collagenasas, fibrinolisin, ADN-ARNasas, neuraminidasas y hialuronidasas, las cuales promueven la invasión tisular y causan inflamación, necrosis y supuración. En algunas otras se han observado porinas, proteína S y proteína L que poseen la propiedad de unirse inespecíficamente a Inmunoglobulinas (Igs) facilitando la invasión de mucosas. Sin embargo, en muchas de ellas se desconocen los factores de virulencia.<sup>5,6</sup>

## Consideraciones clínicas: tipo de infecciones frecuentes

Las infecciones por anaerobios obligados suelen ser endógenas, piogénicas, inespecíficas, oportunistas, polimicrobianas y mixtas. Se localizan en zonas cercanas a mucosas pero se pueden extender a tejidos contiguos o bien, por vía hemática.

Los signos clínicos sugestivos de una infección causada por anaerobios obligados pueden ser el olor pútrido de una lesión o secreción, la necrosis tisular, la formación de abscesos, el gas en los tejidos o las secreciones de color rojo ladrillo o negro fluorescente, con gránulos de azufre, infecciones secundarias a mordeduras humanas o de animales, cuadro clínico clásico (endotoxemia), o bien, la falta

de crecimiento aeróbico en los cultivos bacteriológicos.<sup>1,5,6</sup>

A 150 años de la descripción de las bacterias anaerobias, por su prevalencia actual puede considerarse como la emergencia o reemergencia de algunas especies y de cuadros clínicos, debido a que algunos anaerobios de la microbiota que no se habían aislado de infecciones humanas ahora sí se han aislado en algún cuadro clínico, ciertos anaerobios se han relacionado con síndromes infecciosos establecidos, ha aumentado la virulencia de algunas cepas y se ha confirmado su participación en ciertas enfermedades.<sup>7</sup>

Los principales cuadros infecciosos ocasionados por bacterias anaerobias obligadas son las infecciones intraabdominales, infecciones del tracto respiratorio, infecciones de la piel y tejidos blandos y las infecciones ginecológicas. Asimismo se debe considerar otras infecciones como meningitis, endocarditis y artritis séptica.<sup>1,4,7,8,9,10</sup>

Los géneros bacterianos que se aíslan con mayor frecuencia comprenden: los bacilos Gram negativos como *Bacteroides spp.*, *Prevotella spp.*, *Porphyromonas spp.*, *Fusobacterium spp.*; los cocos Gram negativos como *Veillonella sp.*; los cocos Gram positivos principalmente los *Peptostreptococcus*; bacilos Gram positivos no formadores de esporas: *Propionibacterium*, *Actinomyces*, *Eubacterium*, *Lactobacillus* y *Bifidobacterium*; bacilos Gram positivos formadores de esporas *Clostridium spp.* (Cuadro 1).<sup>1,4,7,8,9</sup>

Durante el 2010-2012 se han descrito por primera vez algunas especies involucradas en diferentes cuadros clínicos tales como: bacteriemias (*Bacteroides pyogenes*), carcinoma recto sigmoideo diseminado (*Gordonibacter pamelaeae*), en infección intraabdominal (*Parabacteroides goldsteinii*), en infecciones de heridas (*Parabacteroides merdae*), en una enterocolitis de un paciente neutropénico (*Clostridium chauvoei*) y el incremento de *Fusobacterium necrophorum*, particularmente en el síndrome de Lemierre.<sup>6</sup>

## Consideraciones microbiológicas: identificación

Para la identificación de este grupo de bacterias se debe considerar tres aspectos importantes: el sitio anatómico de la infección, la selección y la toma de muestra, así como el transporte de la misma. En el cuadro 2 se resumen los sitios anatómicos así como las muestras aceptables para el cultivo de bacterias anaerobias.

Para la toma de muestra no es recomendable el uso de hisopos ya que puede haber reducción del número de bacterias debido a la falta de humedad, exposición al oxígeno y adherencia a las fibras de algodón, sólo se recomienda su uso en infecciones de superficies mucocutáneas, previa descontaminación de la superficie de la lesión. Es importante que la muestra se tome de un sitio profundo (aspirado) donde la posibilidad de contaminación por microorganismos de la microbiota normal sea mínima. Se consideran muestras inadecuadas las que provienen de las superficies mucosas ya que es difícil diferenciar si el agente causal aislado es un comensal o es el patógeno.<sup>1,11</sup>

El transporte de las muestras es un paso crítico para el aislamiento de bacterias anaerobias ya que se sabe

que éstas pueden verse afectadas por la exposición al oxígeno, por la pérdida de la humedad o cuando se guardan en refrigeración, por otro lado, si la muestra permanece a temperatura ambiente puede haber multiplicación de otras bacterias acompañantes. Lo ideal es tomar la muestra y sembrarla de inmediato, de lo contrario, es conveniente

utilizar un medio de transporte con baja tensión de oxígeno y un indicador de óxido reducción. Se pueden usar también tubos, botellas o frascos con tapón de caucho a los cuales se les haya eliminado el aire por medio de una bomba de vacío y si es posible, el vacío puede reemplazarse por nitrógeno y bióxido de carbono.<sup>1</sup>

**Cuadro 1**  
**Principales sitios infectados por bacterias anaerobias y el género bacteriano relacionado con éstas**

Sitio de infección	Microorganismo relacionado
Intraabdominales	<i>Bacteroides fragilis</i>
	<i>Gemella morbillorum</i>
	<i>Bacteroides thetaiotaomicron</i>
Tracto respiratorio	<i>Peptococcus spp.</i>
	<i>Propionibacterium spp.</i>
	<i>Bacteroides spp.</i>
	<i>Prevotella spp.</i>
	<i>Porphyromonas spp.</i>
	<i>Fusobacterium spp.</i>
	<i>Peptostreptococcus spp.</i>
Piel y tejidos blandos	<i>Bacteroides spp.</i>
	<i>Prevotella spp.</i>
	<i>Porphyromonas spp.</i>
	<i>Fusobacterium spp.</i>
	<i>Clostridium spp.</i>
	<i>Cocos Gram positivos</i>
Boca	<i>Porphyromonas gingivalis</i>
	<i>Prevotella intermedia</i>
	<i>Eubacterium spp.</i>
	<i>Fusobacterium nucleatum</i>
	<i>Eikenella corrodens</i>
	<i>Peptostreptococcus micros</i>
Vagina	<i>Peptostreptococcus spp.</i>
	<i>Prevotella bivia</i>
	<i>Porphyromonas spp.</i>
	<i>Actinomyces spp.</i>
	<i>Eubacterium nodatum</i>
	<i>Clostridium</i>
	<i>Atopobium spp.</i>
Bacteremias	<i>B. fragilis</i>
	<i>Peptostreptococcus spp.</i>
	<i>Clostridium spp.</i>

Adaptado de 1, 4, 7, 8, 9, 10.

**Cuadro 2**  
**Sitios anatómicos y elección de las muestras para el aislamiento de bacterias anaerobias**

Sitio anatómico	Muestra de elección
Sistema Nervioso Central	LCR, aspirado de abscesos, biopsias
Oído, nariz, garganta y dientes	Aspirado de abscesos y biopsias
Úlcera cutánea	Aspirado (limpiar perfectamente antes de la toma de muestra)
Heridas	Aspirado tan profundo como sea posible
Tejidos profundos o hueso	Muestras obtenidas durante la cirugía (biopsia o aspirado) o de la base del hueso
Pulmón	Líquido pleural, punción directa al pulmón, biopsias
Intraabdominales	Aspirado de abscesos, líquido ascítico y biopsias
Aparato urinario	Aspiración suprapúbica de la vejiga
Aparato genital	Aspirado de abscesos, culdocentesis
Otros	Sangre, médula ósea, aspirado de líquido sinovial

LCR: Líquido ceforraquídeo. Tomado de 1, 9.

**Cuadro 3**  
**Medios de cultivo selectivos para el aislamiento de diversos géneros anaerobios obligados**

Medio de cultivo	Características
Gelosa Alcohol Fenil Etilico	Este medio resulta útil en el aislamiento de diferentes géneros anaerobios. Inhibe el desarrollo de bacilos facultativos y el <i>swarming</i> del género <i>Proteus</i>
Gelosa BHI (infusión cerebro-corazón) modificado	Adicionado de 0.02% de sulfato de Cadmio. Se utiliza para el aislamiento de especies del género <i>Actinomyces</i>
Gelosa Cefoxitina, Cicloserina, Fructosa (GCCFA)	Se utiliza para el aislamiento de <i>Clostridium difficile</i>
Gelosa de Forget-Fredette	Agar de soya tripticaseína adicionada de 0.05% de azida de sodio. Útil en el aislamiento de especies de <i>Fusobacterium</i>
Gelosa de Livingston	Se utiliza para el aislamiento de <i>Bacteroides fragilis</i>
Gelosa de bilis esculina	Se utiliza para el aislamiento de <i>B. fragilis</i>
Gelosa Sangre lisada con vitamina K, vancomicina y kanamicina	Este medio es útil para el primo aislamiento de anaerobios, particularmente para las especies de <i>Bacteroides</i> , <i>Prevotella</i> cuando están presentes en muestras que contienen microbiota mixta acompañante debido a que favorece la producción de pigmento
Gelosa yema de huevo con neomicina	Útil en el aislamiento de especies del género <i>Clostridium spp.</i>

Tomado de 1, 3, 12

Para la siembra de la muestra es necesario tomar en cuenta que los medios de cultivo sólidos sean de reciente preparación, que los medios líquidos se mantengan a temperatura ambiente y no en refrigeración (o bien, en anaerobiosis). La siembra se realiza con pipetas de vidrio estériles de punta larga (también conocidas como pipetas Pasteur) depositando unas gotas de la muestra sobre cada uno de los medios de cultivo que se van a sembrar, en el caso de los medios

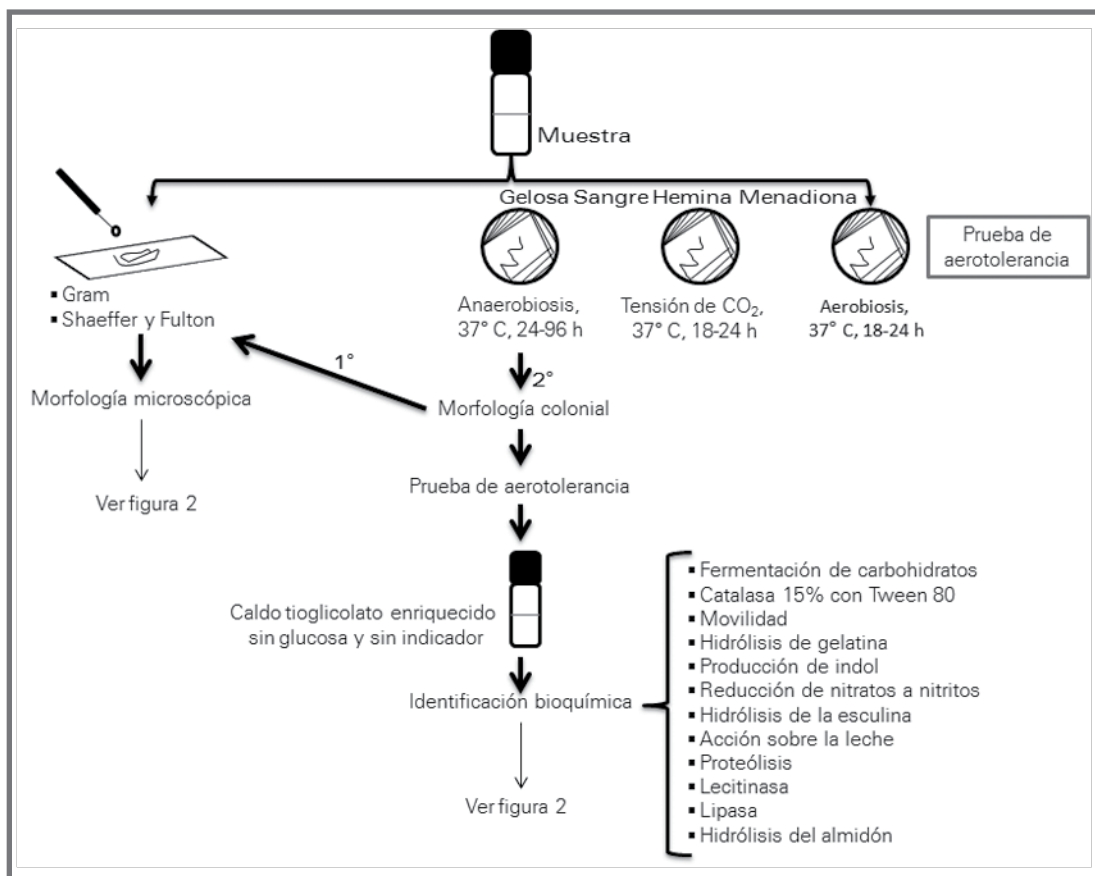
líquidos, se sigue el mismo procedimiento, sin embargo, la punta de la pipeta debe sumergirse hasta el fondo del tubo y se deposita el inóculo procurando no introducir burbujas. Los medios de cultivo sólido que se usan para el aislamiento primario de las bacterias anaerobias a partir de una muestra clínica pueden ser base de Agar Columbia, Agar Brucella, Agar Infusión Cerebro Corazón, suplementados con Hemina-Menadiona (vitamina K) al 1% y sangre

de carnero al 5%. A los medios mencionados se les puede adicionar antibióticos u otras sustancias como alcohol fenil etílico o azida de sodio por mencionar algunos para hacerlos selectivos (cuadro 3).<sup>1, 3, 12</sup>

El procesamiento de las muestras debe ser rápido e ir acompañado de una tinción de Gram ya que a partir de ésta se puede tener una visión general de cuáles medios de cultivo utilizar, los medios enriquecidos son esenciales e importantes para tener éxito en el aislamiento, los medios selectivos se adicionan a la marcha de trabajo o se ocupan cuando se trata de una infección mixta, mientras que los diferenciales permiten un diagnóstico presuntivo rápido.

Los cultivos anaeróbicos se incuban por al menos 48 horas y no deben descartarse hasta las 96 horas, por lo general, la temperatura óptima de crecimiento oscila entre los 35-37 °C. Es importante recalcar que es imprescindible hacer la prueba de aerotolerancia para confirmar que se trata de una bacteria anaerobia obligada para luego iniciar con la identificación. Este procedimiento consiste en sembrar por triplicado cada muestra en los diferentes medios de cultivo para que una de ellas se incube en condiciones de aerobiosis, otra en tensión de CO<sub>2</sub> y la última en condiciones anaeróbicas (Figura 1).<sup>1</sup>

Figura 1



Procedimiento general para el aislamiento e identificación de bacterias anaerobias. Si se sospecha que una muestra clínica pudiera contener bacterias anaerobias obligadas, ésta debe transportarse lo más pronto posible al laboratorio para realizar un análisis integral e identificar a todos los microorganismos presentes en la muestra. El análisis comienza con una tinción de Gram, Shaeffer y Fulton de la muestra para observar los morfotipos presentes en ella. Posteriormente, para el aislamiento primario, se realiza la siembra de la muestra en un medio enriquecido como lo es la Gelosa Sangre Hemina- Menadiona en tres condiciones ambientales: aerobiosis, tensión de CO<sub>2</sub> y anaerobiosis. Cada uno de los microorganismos que crezca en las condiciones probadas debe identificarse, en el caso de los hallados en anaerobiosis, ésta debe confirmarse con una segunda prueba de aerotolerancia. Para la identificación se requiere abundante biomasa por lo que sembrar las colonias en un medio líquido como podría ser tioglicolato sin glucosa ni indicador favorecerá su desarrollo para usarse en los diferentes sistemas de identificación disponibles. Figura construida a partir de 14.

La identificación puede realizarse por distintos métodos, el clásico y que se encuentra al alcance de la mayoría de los laboratorios de microbiología son las pruebas bioquímicas tradicionales o enzimáticas. Desde las pruebas en tubo (base caldo tioglicolato sin dextrosa) o las placas de

Lombard-Dowell adicionado de los carbohidratos o aminoácidos al 1%, pasando por los métodos miniaturizados y hasta los métodos automatizados pueden utilizarse en la identificación bioquímica de los géneros de bacterias anaerobias obligadas, muchas de estas pruebas de identificación

son lentas tanto por la inactividad bioquímica de muchas especies como por la dificultad y lentitud de crecimiento, además solo llegan a nivel de género y unas pocas a nivel de especie.

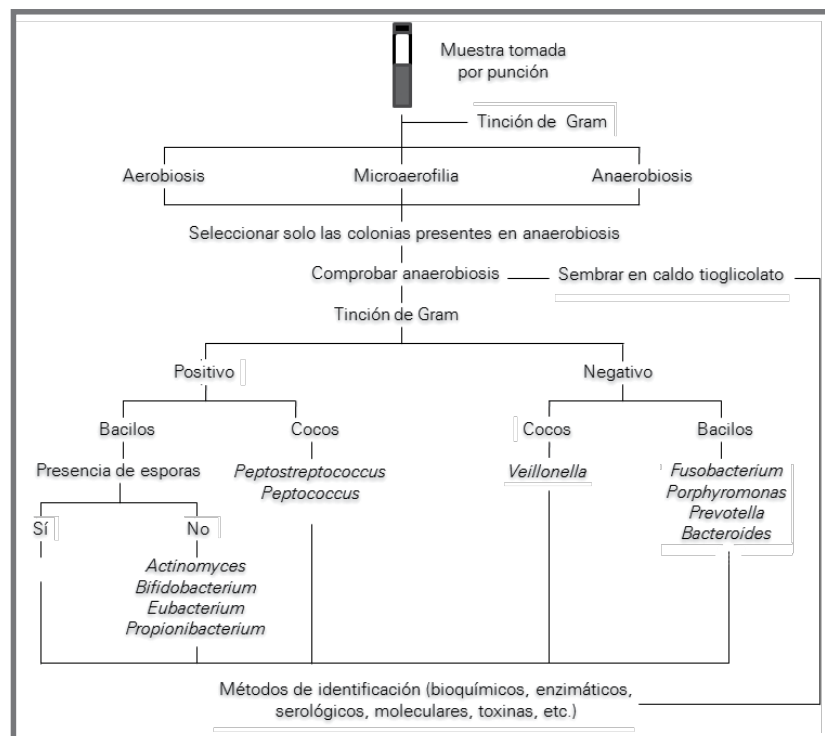
No obstante, existen otros métodos de identificación, como el perfil de ácidos grasos o metabolitos generados por cada especie, estas determinaciones a menudo se realizan solo para el área de investigación ya que se utiliza la cromatografía de gas líquido y no es tan accesible para la mayoría de los laboratorios clínicos. Las técnicas de biología molecular, en particular el análisis del gen 16S ARNr, se han utilizado para la identificación de las especies de este grupo bacteriano considerándose actualmente el estándar de oro en algunos países europeos,<sup>6</sup> así como la búsqueda de genes específicos de especie o toxintipo, como es el caso del gen *cpe* para las cepas productoras de la toxina CPE de *Clostridium perfringens*, o los genes *tcdA* y *tcdB* que codifican para las toxinas A y B, respectivamente, ambas responsables de la patogenicidad de *C. difficile*, sin embargo, el análisis es aún costoso para países en vía de desarrollo y poco disponible para un campo tan poco explorado como lo son las infecciones provocadas por las bacterias anaerobias.<sup>13</sup> En ocasiones, la identificación del perfil de toxinas de las cepas productoras de toxinas resulta útil para el diagnóstico de la infección o toxiinfección alimentaria. Los métodos de laboratorio para determinar toxinas bacterianas pueden ser *in vivo* o *in vitro*.

En los métodos *in vivo* se usan pruebas biológicas como son el asa ligada de conejo adulto o lactante, e inoculación endovenosa o intraperitoneal en conejo o cobayo, seguida de necropsia. Los métodos *in vitro* pueden ser:

- La observación del efecto citotóxico o citotónico de infiltrados de cultivo sobre líneas celulares (Vero, HeLa, CHO, Hep-2, etcétera);
- Pruebas enzimáticas como lecitinasa, colagenasa, sialidasa, heparinasa, etcétera;
- Ensayos inmunoenzimáticos como ELISA, radioinmunoensayo, coaglutinación o aglutinación en látex;
- Métodos de biología molecular: chips de ADN (*Oligonucleotide Array*) que permiten la identificación sobre la colonia de un número importante de bacterias anaerobias en unas 8 horas, utilizando hibridación.<sup>6</sup>

En la actualidad, uno de los desarrollos más importantes en el diagnóstico es el uso de la genómica que puede detectar a las bacterias anaerobias directamente en muestras clínicas, lo que permite no solo acortar el tiempo del diagnóstico sino también detectar elementos no viables o no cultivables.<sup>6</sup> Por ello, en los laboratorios clínicos que no cuentan con estas nuevas tecnologías deben realizarse estudios integrales por lo que se requiere identificar a todos los microorganismos presentes en el material clínico (Figura 2).<sup>1, 14</sup>

Figura 2



Procedimiento general para la identificación presuntiva de bacterias anaerobias obligadas dependiendo de la morfología microscópica. El morfotipo microscópico y la tinción de Gram pueden orientar hacia la identificación presuntiva de las bacterias anaerobias obligadas. En la figura también se muestran los principales géneros involucrados en las infecciones en humanos, sin embargo, otros nuevos géneros (como *Gordonibacter*) pueden encontrarse. La identificación confirmatoria se realiza con las diferentes opciones existentes dependiendo de las características del microorganismo involucrado. Figura construida a partir de 1.



## Consideraciones terapéuticas: susceptibilidad a los antimicrobianos

El manejo de las infecciones anaeróbicas incluye drenaje quirúrgico del material purulento, remoción de tejido necrótico y administración de agentes antimicrobianos contra aerobios y anaerobios. Debido a su lento crecimiento, las pruebas de susceptibilidad antimicrobiana toman varios días por lo que la terapia es generalmente empírica, se utilizan agentes antimicrobianos de espectro extendido ya que tienen actividad contra una mayor variedad de especies anaeróbicas. Los agentes comúnmente utilizados son ampicilina-sulbactam, cefoxitina, clindamicina, imipenem, metronidazol y piperacilina-tazobactam.<sup>8</sup> El cloranfenicol mantiene una alta actividad contra la mayoría de anaerobios, pero es prescrito con poca frecuencia en los Estados Unidos debido a sus potenciales efectos colaterales.<sup>11</sup> A pesar de que la clindamicina constituye el tratamiento de referencia para las infecciones por bacterias anaerobias, en los últimos 15 años se ha observado el aumento en la resistencia a este antibiótico. Un estudio realizado en Boston, EEUU, ha informado un incremento en la frecuencia de resistencia a la clindamicina por parte de bacterias del grupo de *B. fragilis*, del 3% en 1987 a un 26% en el año 2000. Entre todos los anaerobios, *Clostridium difficile* es el más resistente a la clindamicina, con un 67%. Otros anaerobios, como *Prevotella*, *Fusobacterium*, *Porphyromonas* y *Peptostreptococcus* presentan una resistencia mucho menor, la cual es inferior al 10%. Debido al rápido aumento de la resistencia a la clindamicina, ésta ya no constituye una terapia de primera línea para las infecciones por los microorganismos que presentan alta resistencia, pero aún es considerada útil para aquellos con sensibilidad conocida o para el tratamiento de infecciones orales o de neumonía por aspiración.<sup>15</sup> Citron y cols. en el año 2007, reportaron que 24% de los aislamientos anaerobios (principalmente cocos Gram positivos), obtenidos del 2001 al 2004 a partir de infecciones de pie diabético, son resistentes a moxifloxacino, uno de los antimicrobianos de elección para el tratamiento de pie diabético en Estados Unidos.<sup>16</sup> Chia-Ying y cols. 2008, reportan datos de susceptibilidad a los antimicrobianos de elección de los principales géneros anaerobios comúnmente aislados a partir de infecciones nosocomiales en Taiwán obtenidos del año 2000-2007, su estudio revela altas tasas de resistencia a carbapenemes especialmente en *B. fragilis*, *Fusobacterium spp.* y *Prevotella spp.* Así mismo, encuentran un decremento en la susceptibilidad de los anaerobios a cefoxitina, ampicilina-sulbactam, amoxicilina-ácido clavulánico, clindamicina y moxifloxacino proponiendo que estos fármacos no deban ser utilizados en terapia empírica. La piperacilina con tazobactam y los carbapenem siguen manteniendo muy buena actividad.<sup>17</sup>

## Prevalencia de bacterias anaerobias y estudios en México

En los laboratorios clínicos de México, la identificación de microorganismos anaerobios obligados no se realiza de

manera rutinaria, esto puede ser debido a que se desconoce la presencia y su participación en los distintos procesos infecciosos o al difícil manejo de cultivo y aislamiento para su identificación, por lo que son pocos los artículos publicados relacionados con estos microorganismos. Entre las bacterias anaerobias más importantes se encuentra a *C. difficile*, uno de los principales agentes causantes de diarrea nosocomial. La enfermedad que causa se le denomina CDAD por sus siglas en inglés "*C. difficile-associated diarrhea*" o diarrea asociada a *C. difficile* produce cuadros leves a cuadros que ponen en peligro la vida del paciente, el cuadro clínico incluye diarrea, dolor abdominal y síntomas sistémicos, fiebre, anorexia, náusea y malestar general. La forma fulminante se presenta en 1-3% de los casos acompañada de signos de toxemia aguda, fiebre, dolor abdominal difuso y distensión abdominal. Desde que se aceptó en 1978 que *C. difficile* causa colitis pseudomembranosa, ésta ha sido estudiada muy cuidadosamente por varios autores, sobretodo porque se considera que forma parte (al igual que otros clostridios) de la microbiota normal.<sup>18</sup>

Estudios realizados en Estados Unidos, Canadá y Europa, han demostrado un importante aumento de la incidencia de los casos de diarrea asociados a *C. difficile*. Se estima que anualmente se presentan entre 450 000 y 750 000 casos en Estados Unidos y Europa, respectivamente. Tan solo entre los años 2002 y 2006 ocurrieron 15 000 muertes relacionadas con la enfermedad asociada a *C. difficile* en el Reino Unido. En Canadá se estimó que el número de muertes fue de entre 1 000 a 3 000 casos, siendo la población adulta la más afectada. Estos cambios fueron atribuidos a la aparición y la diseminación de una cepa epidémica conocida como B1/NAP1/027 que se encontró en estos países.<sup>19</sup> Sin embargo, en México se desconoce la prevalencia y la incidencia real de enfermedades asociadas a esta bacteria. En un estudio realizado tras analizar 66 casos en un hospital privado del norte del país, se demostró que la mortalidad por esta entidad puede ser aproximadamente de 10%.<sup>20</sup> Los pocos trabajos publicados en México con relación al estudio de *C. difficile*, principalmente se tratan de reportes de casos aislados, de algunos métodos utilizados para la identificación de toxinas y el efecto que tienen éstas durante el proceso de la infección.<sup>21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29</sup>

La gangrena gaseosa es causada por *C. perfringens* en un 80% de los casos aunque pueden estar involucradas otras especies como *Clostridium novyi*, *Clostridium septicum* y *Clostridium histolyticum*. En el caso de heridas causadas por mordeduras de animales, del 80 a 90% causadas por perros, el 20 a 25% de las heridas se infectan; de un 3 a 15% causadas por gatos, el 50 a 80% ocurre infección; y en mordeduras humanas, la probabilidad de infección es del 18%. Entre los microorganismos involucrados se encuentran *Porphyromonas spp.*, *Prevotella spp.*, *Bacteroides spp.*, y *Fusobacterium spp.* La infección en herida quirúrgica ocupa el segundo lugar de entre las infecciones nosocomiales y entre las bacterias más frecuentemente aisladas se encuentra *B. fragilis*.<sup>30</sup>

En el caso de infecciones por el género *Actinomyces*, principalmente *Actinomyces israelii*, agente causal de la actinomicosis en un 52%, sólo se han reportado algunos casos aislados de infección, siendo la lesión cervicofacial

la más frecuente (50%), seguida de las torácica (30%) y abdominal (20%).<sup>31, 32, 33</sup> La actinomicosis se presenta en ambos sexos, generalmente entre los 20 y 60 años de edad, encontrándose la mayor incidencia entre los 11 y 40 años de edad en mujeres y en el caso de los hombres la incidencia es mayor entre los 21 y 50 años.<sup>31</sup> Los factores de riesgo asociados a actinomicosis en general son: diabetes (20%), enfermedad pélvica inflamatoria (EPI) por uso de dispositivo intrauterino (DIU) (15%), cirugía abdominal (10%), trauma local (5%), historia previa de enfermedad digestiva (20%), uso de antibióticos (45%), caries (31%), y la edad, afectando principalmente a las mujeres. Se dice que el 20% de los casos no presentan factores de riesgo. En el caso de actinomicosis pulmonar los factores de riesgo más frecuentes son: el tabaquismo (61%), el abuso del alcohol (14%), la enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC) (20%) y una mala higiene dental (31%).<sup>34</sup> Los abscesos hepáticos por *Actinomyces*, son raros y se reportan en menos del 5% del total de todos los casos.<sup>32</sup> Se han encontrado casos de actinomicosis pélvico-uterina causado principalmente por *A. israelii* en un estudio realizado en mujeres con y sin dispositivo intrauterino, encontrando también la presencia de otras bacterias anaerobias como: *Bifidobacterium spp.*, *Sarcina spp.*, *Propionibacterium spp.*, *Clostridium spp.*, *Peptostreptococcus spp.*, *Peptococcus sp.*, y *Lactobacillus spp.* que junto con *Actinomyces spp.*, se presentaron en un 41.4%. Las especies más frecuentemente aisladas fueron: *Bacteroides fragilis*, *Bacteroides vulgatus*, *Prevotella melaninogenica*, *Fusobacterium nucleatum*, *Mobiluncus spp.* y *Veillonella parvula*.<sup>35</sup> *Mobiluncus spp.* se encuentra altamente asociado a *Gardnerella vaginalis* y en un estudio realizado en México se encontró en un 2.5% de un total de 6 811 pacientes con infección vaginal.<sup>36</sup> Por otro lado, también se ha asociado *G. vaginalis* con *Atopobium vaginae*, existen pocos estudios para determinar su frecuencia en la población mexicana. No obstante, Ortiz et al en el 2010 investigó la frecuencia de *A. vaginae* en un grupo reducido de mujeres (N= 50) e informó que *A. vaginae* se presentó en 25.8% del grupo de mujeres sanas y en el 75% del grupo con vaginosis bacteriana (VB) Por otra parte, Hernández- Rodríguez y cols. 2011 identificaron a *Atopobium sp.* en 2% de un grupo de mujeres embarazadas con microbiota vaginal normal.

*B. fragilis*, *Peptostreptococcus*, *C. perfringens* y *Fusobacterium* también se encuentran asociados a infección puerperal.<sup>37, 38, 39, 40</sup>

Los géneros *Porphyromonas*, *Prevotella*, *Bacteroides*, *Peptostreptococcus* y *Fusobacterium* han sido asociados a periodontitis apical crónica al infectar el conducto radicular, siendo la infección por *Fusobacterium* la más prevalente (*F. nucleatum* en un 48%). También se ha reportado una prevalencia de *F. nucleatum* del 73% en Estados Unidos, 4 % en Brasil, mientras que en México no existen datos registrados a pesar de que la periodontitis apical crónica sea una de las patologías periapicales más frecuentes en la población mexicana. En un estudio realizado por Calderón y cols. 2007 y Alvarado-Cárdenas y cols. 2011, tras el análisis de muestras provenientes de pacientes con periodontitis apical crónica con necrosis pulpar y mediante el uso de técnicas como la Reacción en Cadena

de la Polimerasa, se demostró una prevalencia del 4.81% de *F. nucleatum*.<sup>41, 42</sup>

Entre las muestras más frecuentes para llevar a cabo la búsqueda de microorganismos anaerobios obligados se encuentran el contenido de abscesos obtenidos por punción, biopsias de tejidos necrosados o líquidos de cavidades sépticas o aspirados bronquiales, presentándose que el género frecuentemente aislado es *Bacteroides*, seguido de *Fusobacterium*, *Peptococcus*, *Gemella morbillorum*, *Veillonella parvula*, *Peptostreptococcus* y *Actinomyces* entre otros.<sup>4</sup>

## Prevención

Para evitar una infección por bacterias anaerobias es necesario tomar en cuenta algunas medidas de prevención, en el caso de adquirir una infección por *C. difficile* una de las recomendaciones para prevenir la enfermedad recurrente que ocasiona es hacer un uso adecuado de los antibióticos ya sea para erradicar infecciones ajenas a *C. difficile* como para prevenir una reinfección, pues se sabe que es un agente causal de la colitis pseudomembranosa y diarrea asociada a la terapia con antibióticos, además de evitar la aparición de cepas resistentes.<sup>43, 44</sup>

La incidencia de la infección por actinomicetos ha disminuido debido al uso frecuente de antibióticos y por una adecuada higiene bucodental, por lo que es recomendable una revisión odontológica de manera periódica sobretodo en pacientes inmunodeprimidos y el cambio de cepillo dental cada mes para evitar actinomicosis oral y torácica.<sup>33</sup>

En el caso de pacientes inmunocompetentes es necesario tener mayor cuidado, se sabe que esta condición es un factor predisponente para adquirir la infección, otros factores que se deben tener en cuenta son: malnutrición, radioterapia, alcoholismo, cáncer e inmunosupresión.<sup>31</sup>

Para prevenir una infección puerperal por anaerobios es necesario cumplir de manera estricta las normas de asepsia y antisepsia durante los procedimientos obstétricos, realizar correctamente las técnicas establecidas en los procedimientos médicos-quirúrgicos, administrar antibióticos en pacientes con riesgo y disminuir la frecuencia de operaciones cesáreas, por mencionar algunos.<sup>40</sup>

Si existe una infección por bacterias anaerobias obligadas en heridas causadas por mordeduras, intervenciones quirúrgicas o por algún accidente con objetos punzocortantes, éstas deben ser examinadas de inmediato cuando el paciente presenta fiebre o se observe deterioro en su estado clínico, ya que los clostridios son los microorganismos que se encuentran frecuentemente implicados, llegando a causar gangrena gaseosa y tétanos, por lo que un tratamiento quirúrgico correcto y oportuno de las heridas, el desbridamiento radical o la amputación (en casos graves), la vacunación (en el caso del tétanos), el tratamiento con antibióticos adecuados y la terapia hiperbárica pueden ayudar a prevenir una infección por bacterias anaerobias obligadas.<sup>45</sup>

Para la eliminación de la microbiota endodóntica anaerobia obligada presente en sistemas de conductos radiculares contaminados se sugiere que la limpieza biomecánica y la



conformación del sistema de conductos radiculares junto con la medicación intraconducto son esenciales.<sup>41</sup>

Por último, y debido a todo lo descrito anteriormente, resulta de gran importancia mencionar que en México son pocas las instituciones hospitalarias que se dedican al estudio de las bacterias anaerobias, tanto de material clínico como a nivel de investigación, por lo que vale la pena hacer algunas consideraciones:

Las infecciones causadas por bacterias anaerobias tienen distribución mundial, habitan muchas cavidades en el ser humano y pueden distribuirse a otros sitios que se encuentren libres de ellas, reproducirse en las condiciones ideales y causar infección. La mortalidad y la morbilidad causadas por estas bacterias van en aumento, debido a que las enfermedades infecciosas cambian cada día proporcionalmente al tratamiento empírico, al desarrollo de nuevos antimicrobianos y al desarrollo de quimioterapias.

Debido a la dificultad de obtener una muestra adecuada que permita el aislamiento de estos microorganismos, en ocasiones resulta complicado establecer un diagnóstico claro y preciso. Aunado a esto, los métodos serológicos no son prácticos para establecer el diagnóstico, ya que no existen pruebas estandarizadas para detectar anticuerpos o antígenos a partir de una muestra clínica.

Luego, si bien se sabe que las bacterias anaerobias son difíciles de trabajar, se propone que en los laboratorios se implemente la metodología mínima

necesaria para que puedan realizarse de manera rutinaria el aislamiento e identificación de las bacterias anaerobias, al menos utilizando los sistemas miniaturizados que puedan llegar a nivel de género, formar grupos de investigación que permitan dar a conocer más sobre estas bacterias tales como las implicaciones en otros cuadros clínicos, manejo de muestras clínicas, materiales y métodos para su aislamiento e identificación, asociación con otros microorganismos, factores de virulencia, conocer nuevos genes de resistencia a antimicrobianos, prevalencia real de estas infecciones, así como, las medidas de prevención y cuidados que se deben tener al presentarse una infección por anaerobios, porque como se observó en el texto, en nuestro país son pocos los trabajos publicados con relación a este tema.

### Agradecimientos

Los autores agradecen al Programa Institucional de Formación de Investigadores del Instituto Politécnico Nacional (PIFI-IPN), al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT), a la Comisión de Operación y Fomento de Actividades Académicas del IPN (COFAA), y a Estimulo al Desempeño de los Investigadores (EDI). Así como, a la Dra. Ma. Guadalupe Aguilera Arreola por los comentarios realizados a este documento. Este trabajo forma parte del programa "Diagnóstico bacteriológico y molecular de bacterias de interés médico", claves SIP- IPN 948 y1079.

## Referencias

- García-Cano E. *Diagnóstico de infecciones por Anaerobios*. 2ª edición. México: Instituto Politécnico Nacional, 2003: 1-17.
- Hamdan G. "Series: infecciones por gérmenes anaerobios". *Rev Med Int Med Crit* 2004; 1: 17-26. <http://www.facultadsalud.unicauca.edu.co/documentos/Enf/BacteriasAnaerobias%20IVsem-I-07.pdf>.
- Pérez-Miravete A, Jiménez TY. "Aislamiento de microorganismos anaerobios de abscesos e infecciones diversas ocurridas en el Hospital Infantil de México "Federico Gómez"". *Enf Infecc y Microbiol* 2001; 21: 126-128.
- Lerma C. "Significado de los anaerobios en la sepsis abdominal". *Rev Col Cirugía* 1993; 8: 198-202.
- 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>.
- Gomis M, Barberán J, Sánchez B, Prieto J. "Infecciones por anaerobios". *Medicine* 1998; 78: 3610-3614.
- Betri C, Picazo J. "El papel de los anaerobios en patología infecciosa." *Enferm Infecc Microbiol Clin* 2012; 28: 141-143.
- 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.
- Lassman B, Gustafson DR, Wood CM, Rosenblatt JE. "Reemergence of anaerobic bacteremia". *Clin Infect Dis* 2007; 44: 895-900. <http://www.paho.org/spanish/ad/ths/ev/16.pdf>.
- 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.
- Morris EW, Fernandez-Mitakawa EM. "Toxinas de *Clostridium perfringens*". *Rev Argentina Microbiol* 2009; 41: 251-260.
- Arteaga GRI, Doval UR. *Manual de prácticas de Bacteriología Médica*. México. Instituto Politécnico Nacional, 2009: 145-166.
- Hecht DW. "Prevalence of Antibiotic Resistance in Anaerobic Bacteria: Worrisome Developments". *Clin Infect Dis* 2004; 39: 92-97.
- 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.
- 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.

- Giono Cerezo S, Castro Escarpulli G. 2012. "Clostridium". En Tay Zavala J. *Microbiología y Parasitología Médica*. Ed. Méndez Editores. 4a. Edición. México, 2012; 175-182.
- Rodríguez-Pardo D, Mirelis B, Navarro F. "Infecciones producidas por *Clostridium difficile*". *Enferm infect microbiol Clin* 2013; 31: 254-63.
- Remes-Troche JM. "Diarrea asociada con infección por *Clostridium difficile*, ¿es tiempo de preocuparnos en México?" *Rev Gastroenterol Mex* 2012; 77: 58-59.
- 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.
- 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.
- Camacho-Ortiz A, Galindo-Fraga A, Rancel-Cordero A, et al. "Factors associated with *Clostridium difficile* disease in a tertiary-care medical institution in Mexico: a case-control study". *Rev Invest Clin* 2009; 61: 371-377.
- García-Osogobio S, Takahashi T, Gamboa-Domínguez A, et al. "Toxic pseudomembranous colitis in a patient with ulcerative colitis". *Inflamm Bowel Dis* 2000; 6: 188-190.
- Calderón GM, Torres-López J, Lin TJ, et al. "Effects of toxin A from *Clostridium difficile* on mast cell activation and survival". *Infect Immun* 1998; 66: 2755-2761.
- Solana de Lope J, Aguilera E, Vinageras JL, et al. "Pseudomembranous colitis: report of four cases". *Rev Gastroenterol Mex* 1997; 62: 113-116.
- González-Valencia G, Muñoz O, Torres JF. "Toxigenicity and adherence in *Clostridium difficile* strains isolated from patients with and without diarrhea". *Arch Invest Med* 1991; 22: 189-196.
- Camorlinga-Ponce M, Gamboa M, Barragan JJ, et al. "Epidemiological aspects of *Clostridium difficile* in a pediatric hospital and its role in diarrheal disease". *Eur J Clin Microbiol* 1987; 6: 542-546.
- Torres JF, Cedillo R, Sánchez J, et al. "Prevalence of *Clostridium difficile* and its cytotoxin in infants in Mexico". *J Clin Microbiol* 1984; 20: 274-275.
- <http://www.esteripharma.com/definiciones/INFECCIONES%20DE%20TEJIDOS%20BLANDOS.pdf>
- 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.
- Cornejo JP, Herrera GJC, Alatorre FCP, y col. "Absceso hepático por *Actinomyces*. Comunicación de un caso y revisión bibliográfica". *Med Int Mex* 2009; 25: 537-540.
- 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.
- [http://www.cenetec.salud.gob.mx/descargas/gpc/CatalogoMaestro/480\\_GPC\\_Actinomycosis/GER\\_ACTINOMICOSIS.pdf](http://www.cenetec.salud.gob.mx/descargas/gpc/CatalogoMaestro/480_GPC_Actinomycosis/GER_ACTINOMICOSIS.pdf)
- García-Cano RE, Camargo-Velasco A, Carrera-Terrazas A, y col. "Detección de *Actinomyces* spp. de muestras cérvico-vaginales de mujeres con y sin dispositivo intrauterino". *Bioquímica* 2002; 27: 60-68.
- Flores-Paz R, Rivera-Sánchez R, García-Jiménez E, Arriaga-Alba M. "Etiología de la infección cérvico vaginal en pacientes del Hospital Juárez de México". *Salud Pub Mex* 2003; 45: 694-697. Suplemento.
- Castro-Escarpulli G, Aguilera-Arreola MG, Rodríguez-Olvera AM. "Atopobium vaginae". En Tay Zavala J. *Microbiología y Parasitología Médica*. Ed. Méndez Editores 4a. Edición. 2012; 295-301.
- 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
- Hernández-Rodríguez C, Romero R, Albani M, Figueroa R, Meraz N, Hernández C. "Vaginal microbiota of healthy pregnant mexican women is constituted by Four *Lactobacillus* species and several vaginosis-associated bacteria". *Infect Dis Obstet Gynecol* 2011; <http://dx.doi.org/10.1155/2011/851485>.
- <http://www.salud.gob.mx/unidades/cdi/documentos/LineamientoTec.pdf>
- 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.
- 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.
- Portillo-López MI, Castellanos-Urdabay MA, Cortés-Nava E, Chiprut R. "Infección por *Clostridium difficile*". *Gac Med Mex* 2002; 138: 57-66.
- Camacho-Ortiz A, Ponce de León A, Sifuentes-Osornio J. "Enfermedad asociada a *Clostridium difficile* en América Latina". *Gac Med Mex* 2009; 145: 223-229.
- <http://www.scarfd.org/arxius/infeccions01.PDF>