

Estratégias para a identificação de *E. coli*

Isabel Chinen

Servicio Fisiopatogenia

INEI-ANLIS Dr Carlos G. Malbrán

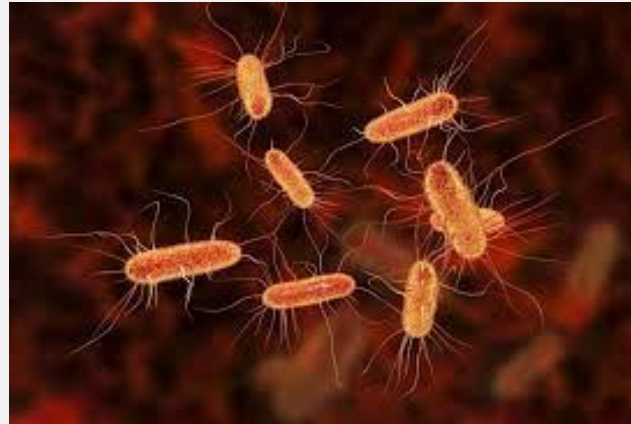
ichinen@anlis.gob.ar / fisiopatogenia.anlis@gmail.com

TRABAJANDO
JUNTOS
PARA COMBATIR
LA RESISTENCIA
A LOS ANTIMICROBIANOS

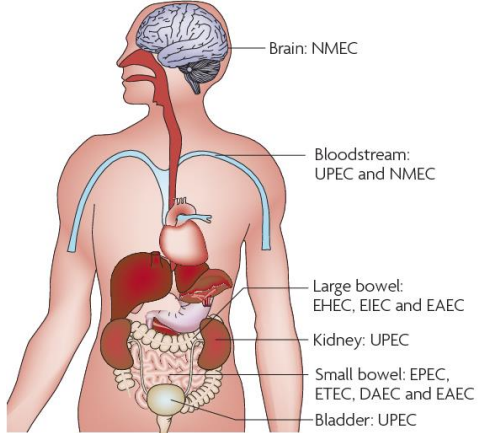
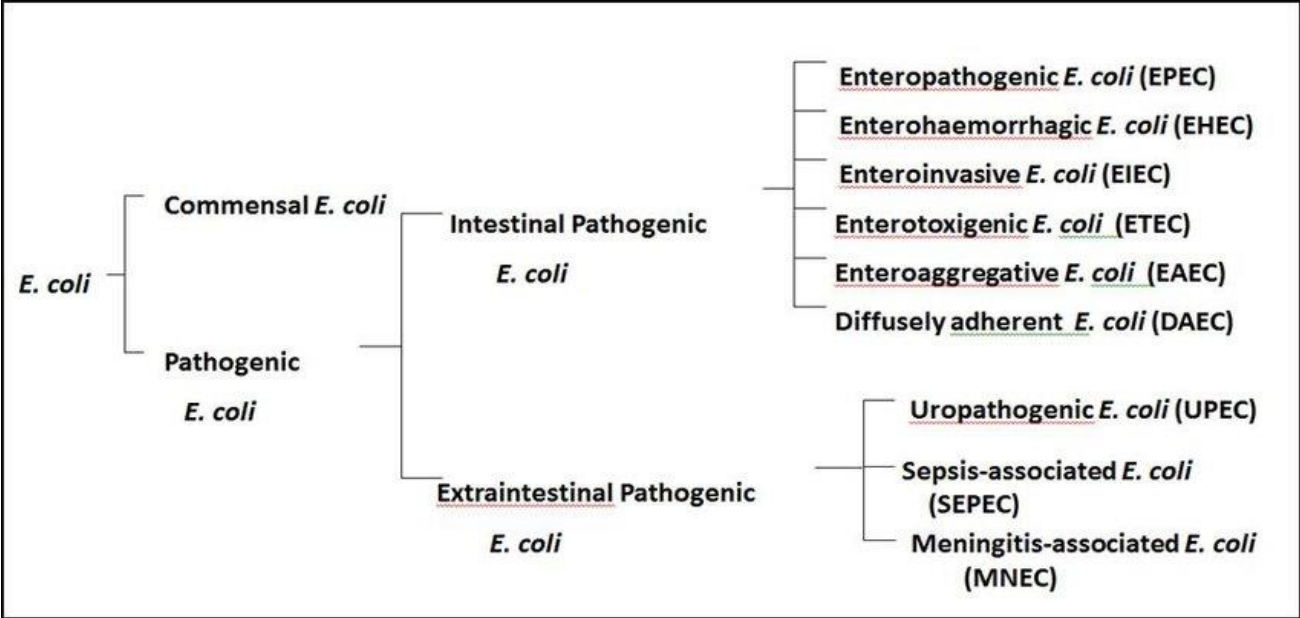


Escherichia coli

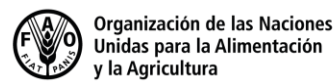
- Bacilo Gram-negativo, anaeróbico facultativo. Móvel com flagelos peritricos.
- Encontra-se no intestino do homem e dos animais de sangue quente. Também nos alimentos e no meio ambiente.
- Forma um grupo heterogêneo
 - Cepas comensais e patogênicas



Escherichia coli



TRABAJANDO
JUNTOS
PARA COMBATIR
LA RESISTENCIA
A LOS ANTIMICROBIANOS



E. coli em animais – Comensal / Patogênico

Pesquisa de RAM em *E. coli* a partir de amostras de animais



TRABAJANDO
JUNTOS
PARA COMBATIR
LA RESISTENCIA
A LOS ANTIMICROBIANOS



Organización de las Naciones
Unidas para la Alimentación
y la Agricultura



ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE SANIDAD ANIMAL
Proteger a los animales, preservar nuestro futuro

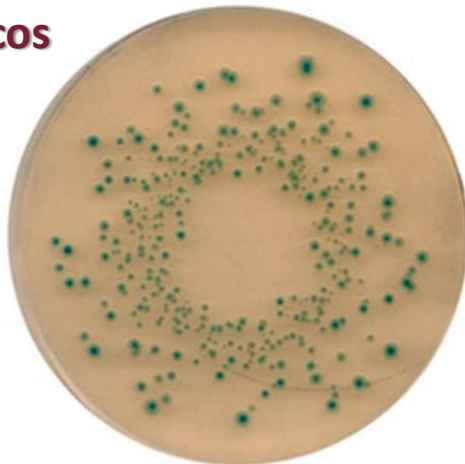


Unión Europea

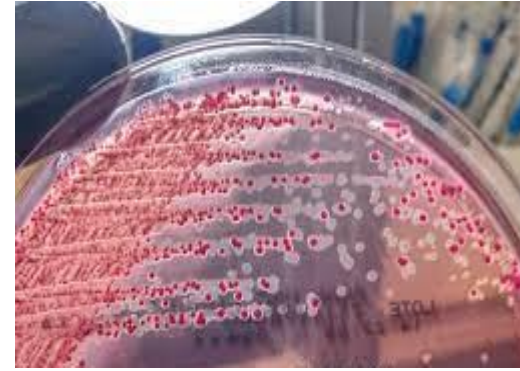
Isolamento de *E. coli* a partir de amostras de Animais – Detecção de RAM –

- **Materia fecal >>> ressuspensão em APT**
- **Cultura em um meio seletivo**
 - MacConkey
 - EMB-Levine
 - Cromogênicos
- **Incubar: Tempo e Temperatura definidos**
37 ± 1 ° C, 18 - 24 h

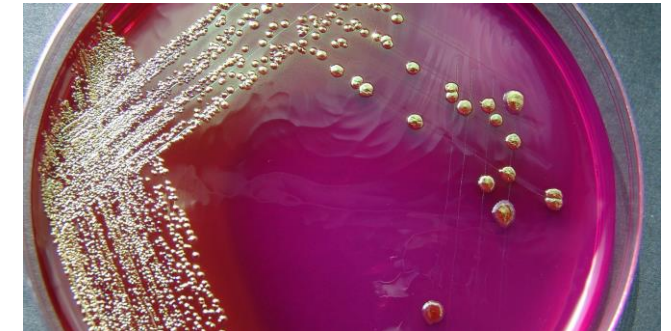
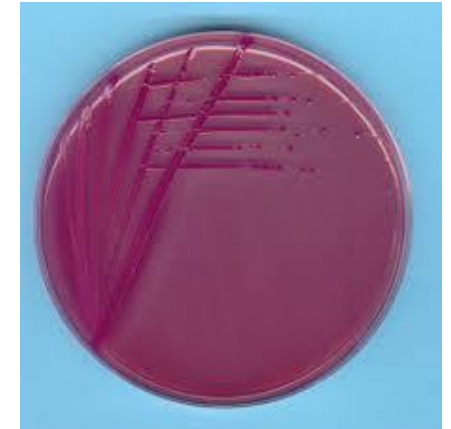
Cromogênicos
TBX



MAC



EMB



TRABAJANDO
JUNTOS
PARA COMBATIR
LA RESISTENCIA
A LOS ANTIMICROBIANOS

Identificação

Testes Bioquímicos de *E. coli*



- A partir de 5-7 colônias puras semear testes bioquímicos



Testes bioquímicos

- 1- TSI: Pico ácido/fundo ácido com produção de gás, SH2: neg.
- 2- Utilização de citrato: negativo
- 3- SIM: SH2 negativo, Indol: positivo, mobilidade: positivo
- 4- LIA: descarboxilação de lisina: positiva, SH2: negativo

Identificación de *E. coli*

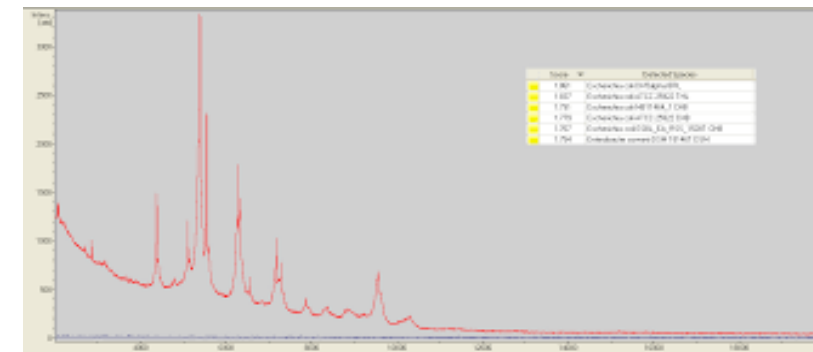
API 20 (bioMérieux)



Vitek (bioMérieux)

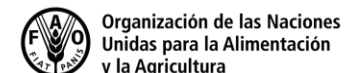


MALDI-TOF MS: espectrometría de masa
Limitación: no diferencia *E. coli* e *Shigella*



MALDI TOF

TRABAJANDO
JUNTOS
PARA COMBATIR
LA RESISTENCIA
A LOS ANTIMICROBIANOS



Caracterização dos isolamentos de *E. coli*

- Identificação de gênero/espécie



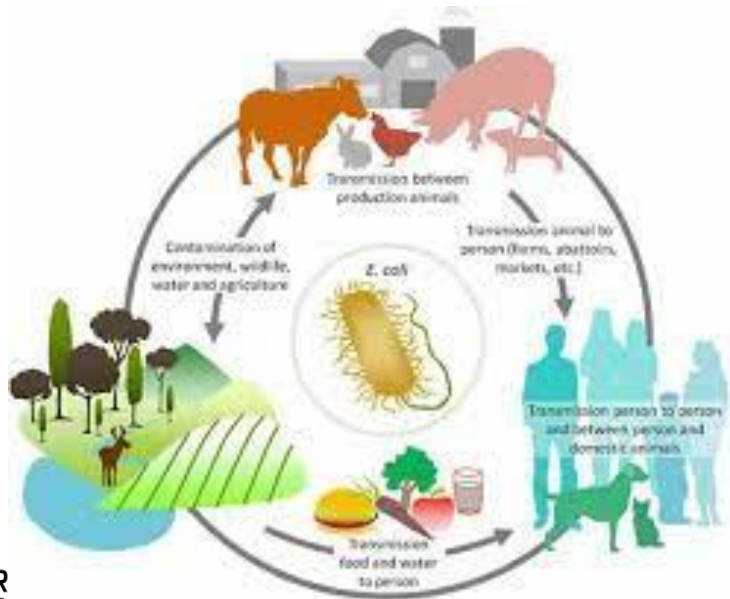
- Determinação de RAM



- Caracterização de fatores de virulência (PCR/PCR-RT)
 - Patógeno intestinal/extraintestinal (homem)
 - Patógeno em animais
 - Comensais
- Sorotipagem
- Subtipagem e filogenia

IDENTIFICAÇÃO de *Escherichia coli* para a pesquisa de RAM

- ✓ *E. coli* – em humanos, animais, alimentos e meio ambiente
- ✓ Protocolos de pesquisa de RAM em *E. coli* ≠ Protocolos para o estudo de mecanismos de patogênia
 - **Protocolo para pesquisa de RAM:**
 - Seleção aleatória de *E. coli* independentemente de serem comensais ou patógenos**
- ✓ Dado o desenvolvimento tecnológico é importante considerar as diferentes estratégias para sua identificação.



Importante

Isolamento e Identificação >>> Detecção RAM

TRABAJANDO
JUNTOS
PARA COMBATIR
LA RESISTENCIA
A LOS ANTIMICROBIANOS



Organización de las Naciones
Unidas para la Alimentación
y la Agricultura



ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE SANIDAD ANIMAL
Proteger a los animales, preservar nuestro futuro



Estratégias de identificação de *Salmonella* em animais

22/06/2022

Maria Rosa Viñas

Servicio Enterobacterias

INEI-ANLIS Dr Carlos G. Malbrán

TRABAJANDO
JUNTOS
PARA COMBATIR
LA RESISTENCIA
A LOS ANTIMICROBIANOS



ANLIS
MALBRÁN



Organización de las Naciones
Unidas para la Alimentación
y la Agricultura



ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE SANIDAD ANIMAL
Proteger a los animales, preservar nuestro futuro



Unión Europea

Características Microbiológicas do Gênero *Salmonella*

O membros do género *Salmonella*, Família Enterobacteriaceae, Ordem Enterobacterales

- ▶ são bacilos gram-negativos
- ▶ anaeróbios facultativos
- ▶ não esporulados



- ▶ **móveis por flagelos peritricos** → exceto ***S. ser. Gallinarum***: imóvel
- ▶ fermentam a glucose com produção gás → exceto ***S. ser. Typhi***: sem gás
- ▶ não fermentam a lactose → exceto ***S. enterica* subsp. *Arizonae IIIa* e *S. enterica* subsp. *Diarizonae IIIb***

Taxonomia do Gênero *Salmonella*

Salmonella *enterica* subspecie *enterica* I

- constituem mais de 99,5% dos isolamentos associados a *Salmonelose*
- Designa-se o sorotipo com um nome (com letras romanas, não em itálico)
- Ex: *S. Typhimurium*, *S. Orán* , (2.500 serovars)

As restantes subespécies de *S. enterica* e *Salmonella bongori*

- muito escassas em patologia humana e veterinária, animais de sangue fria e ambiente
- Designam-se com o nome da subespécie, seguido da fórmula antigénica.
- Ex: *Salmonella* IV 50 : b : -

SALMONELOSE

- É uma **zoonoses de distribuição mundial**, transmitida pela ingestão de **alimentos contaminados na sua origem**: carnes de aves de capoeira, ovos crus ou parcialmente cozidos, carnes bovinas, suínas e subprodutos, leite cru e produtos lácteos, água contaminada, por contacto com animais domésticos e selvagens infectados, ou por **manipulação de alimentos**.



- Nos animais:** pode manifestar-se clinicamente ou não. Os **sorotipos de *Salmonella* adaptadas a espécies**, por ex. *Salmonella* Gallinarum (tifus aviar, pullorosis), e *S. Cholerasuis* (Typhisuis suínos, sepses).

- Reservatórios animais** com subclínica, podem abrigar *Salmonella* em gânglios e eliminam através das fezes em forma intermitente ou persistente contaminando o ambiente.



- Salmonella* infecta tanto ao homem quanto aos animais: **Ex. *S. Typhimurium*, *S. Enteritidis*, *S. Newport*, *S. Anatum*, *S. Heidelberg*, *S. Paratyphi B* e outros serovares. (no quadro da vigilância de RND e monitoramento em alimentos e animais).**
- É a **causa mais comum de Doenças Transmitidas por Alimentos (ETA)**. Nos EE UU, *Salmonella* causa mais de 1 milhão de infecções/ano, representa um terço de ETAS.

Fluxograma de isolamento de *Salmonella* spp. a partir de amostras de Animais (Manual da OIE, RAM)

Amostra de animais: Matéria fecal e/ou Hissopado cloacal



Día 1 Pré-enriquecimento em meio líquido não seletivo: APT

(25g e/ou ml de amostra + 225ml APT)

Permite aos microrganismos que estão em baixa concentração e/ou injuriados, proliferar

- Incubar: Tempo e Temperatura definidos
37 ± 0,5 ° C, 18 - 24 h



PCR de triagem gene *invA* ou
PCR real time *ttr*
(Malorny et al. 2003, 2004) a
validar com matriz.

Día 2 Enriquecimento em meio líquido seletivo

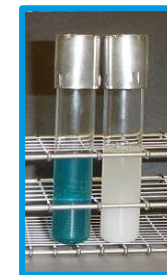
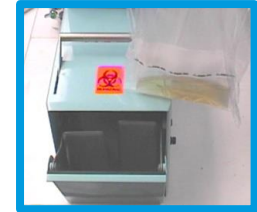
(2 caldos): Caldo RV e/ou meio semisólido MSRV,

Caldo tetrionato (*Salmonella* spp. contem a enzima tetrionato reductase e pode crescer no meio de cultura)

Caldo selenito-cisteína

Permite à *Salmonella* proliferar e ao mesmo tempo suprime o crescimento da microflora competitiva.

- Incubar: Tempo e Temperatura definidos
41,5 ± 1 ° C, 18 - 24 h



* Meios de culturas: Água peptona tamponada (APT); Meio Rappaport Vassiliadis modificado (MSRV); Caldo Rappaport Vassiliadis (RV).

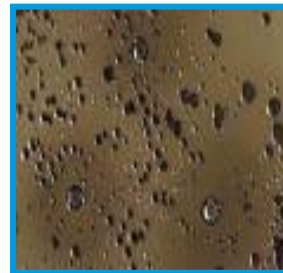
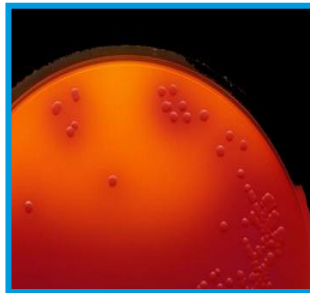
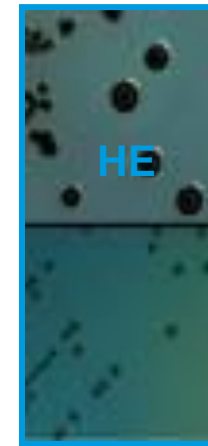
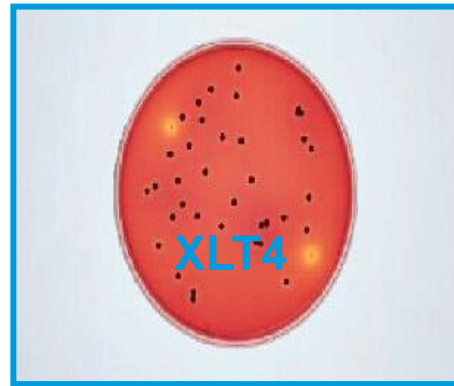
Día 3 Placas em meios seletivos e diferenciais: (não fermenta lactose e produção de SH₂)



Inibe o crescimento de microflora competitiva e permite o crescimento de colônias de *Salmonella* bem isoladas

● Incubar: Tempo e Temperatura definidos

37 ± 0,5 °C, 18 - 24 h



Rambach

BGA

BS

*Meios seletivos: Agar EF-18, Agar xilosa-lisina descarboxilase (XLD), Agar Hektoen (HE), Agar Verde Brilhante (BGA), Agar Sulfito de Bismuto (BS).
*BBL CHROMagar *Salmonella* (colônias malvas), Agar Rambach

Día 4 Seleção de colônias típicas **presuntivas de *Salmonella*** e atípicas (como *Proteus*, *Citrobacter*):

Cultura em TSI, LIA

- Incubar: Tempo e Temperatura definidos

Día 5 Confirmação Bioquímica

- Testes bioquímicos convencionais: TSI (K/A), LIA (K/K) SIM, Indol (reativo de Kovas), Citrato de Simmons (+), ONPG (-), Lisina decarb (+), Urea (-), Oxidase (-) e TSA



Espectrometria de massa MALDI-TOF *Salmonella* spp. (critério da equipe) e/ou PCR gene *invA* ou gene *ttr* a partir de cepa .

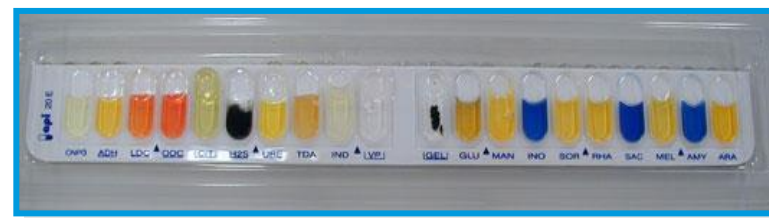


SH2 (+)



SH2 (-)

- API, Vitek (comerciais), testes bioquímicos complementares (dulcitol, gás de glucose) para diferenciar biotipos *S. Gallinarum* ou var *S. cholerasuis* ou derivar ao LNR.



Día 6 de TSA: Confirmação sorológica

- Antissoros polivalentes somáticos “O”, antissoros de grupo e fatores.
- Caldo TSB: Antissoros polivalentes flagelares “H”, antissoros de fase e fatores
- Antissoro Antígeno Capsular Vi (*S. Typhi* , *S. Paratyphi C*, *S. Dublin*)

PCR Múltiplo para antígenos somáticos O4, O8, O3,10; O9 e flagelares

Fase 1 e Fase 2 gene *fli C* e *flj B*
(Herrera León, 2004, 2007 ; Echeita 2002)



Relatório de resultados

Presença de *Salmonella* em 25 gramas ou ml do material estudado

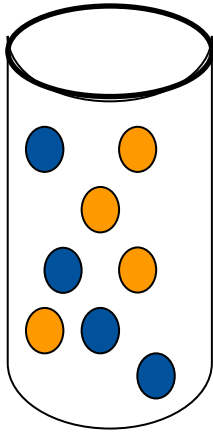


Antígenos somáticos O

Antígenos flagelares H

Inversão de Fase: evidenciar a fase que não se manifestou

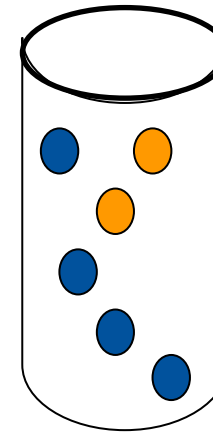
Culturas de *Salmonella* ser. Typhimurium (4,5,12.i:1,2) em caldo Tripticasa Soya (TSB)



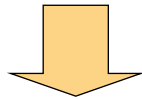
Flagelos de especificidade H:1,2



Flagelos de especificidade H:i

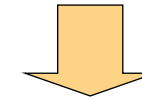


POPULAÇÃO BACTERIANA BALANCEADA
MANIFESTAM-SE IGUALMENTE AS DUAS FASES



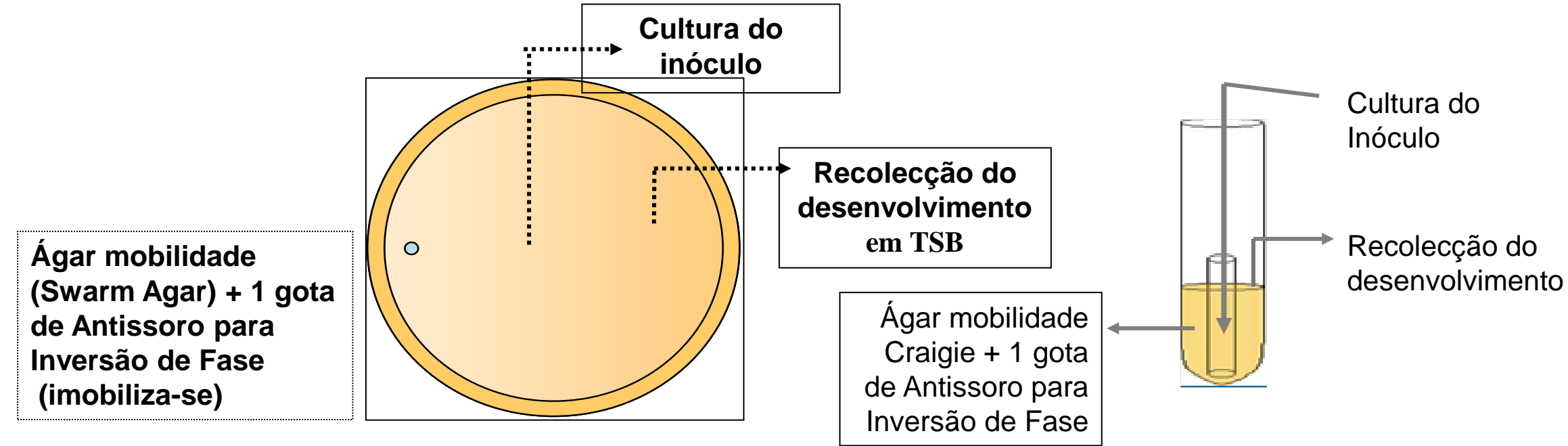
NÃO realizar inversão de fase

POPULAÇÃO BACTERIANA MAIORITÁRIA MANIFESTA
FLAGELOS DE ESPECIFICIDADE **H:1,2**



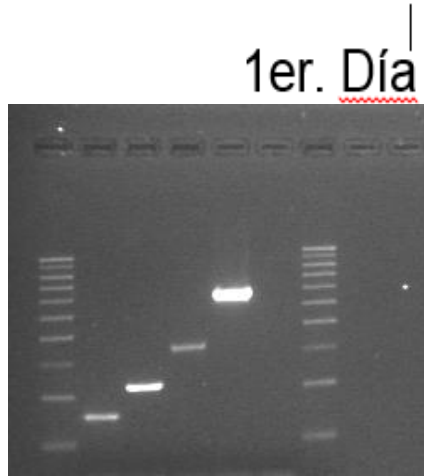
Realizar inversão de fase
(Inversão com antissoro H:1,2 para que manifeste a fase H:i)

Método de Inversão em Placa de Ágar Mobilidade (Swarm Agar) e em Tubo de Craigie



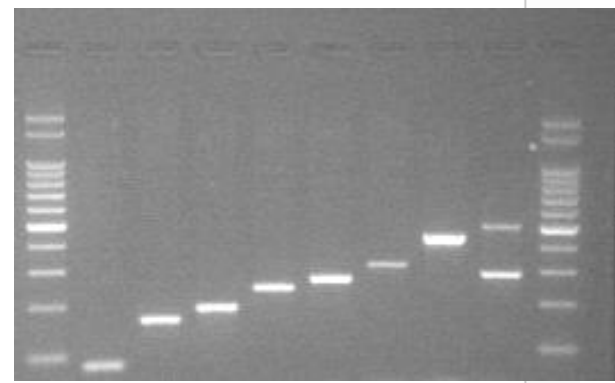
* Antissoros polivalentes somáticos e fatores, Antígenos flagelares Fase 1 e Fase 2 de INPB-ANLIS

SOROTIPAGEM MOLECULAR DE *Salmonella* (LNR)



***Salmonella spp.* :**

- cepa rugosas
- con serotipificación incompleta, imprecisa y/o monofásica.
- Cepas con sospecha de brote



Multiple PCR somático
(O4; O8; O3,10 y O9)

Múltiple PCR Flagelar 1
(H:d, H:b, H:e,h; H:i, H:r; H:z10; H:G;
H:l,v, enteritidis)

S. Enteritidis

H:G

Completar con serología

2do. día

Somático negativo

Flagelar F1 positivo o negativo

Simple PCR somático
(O7)

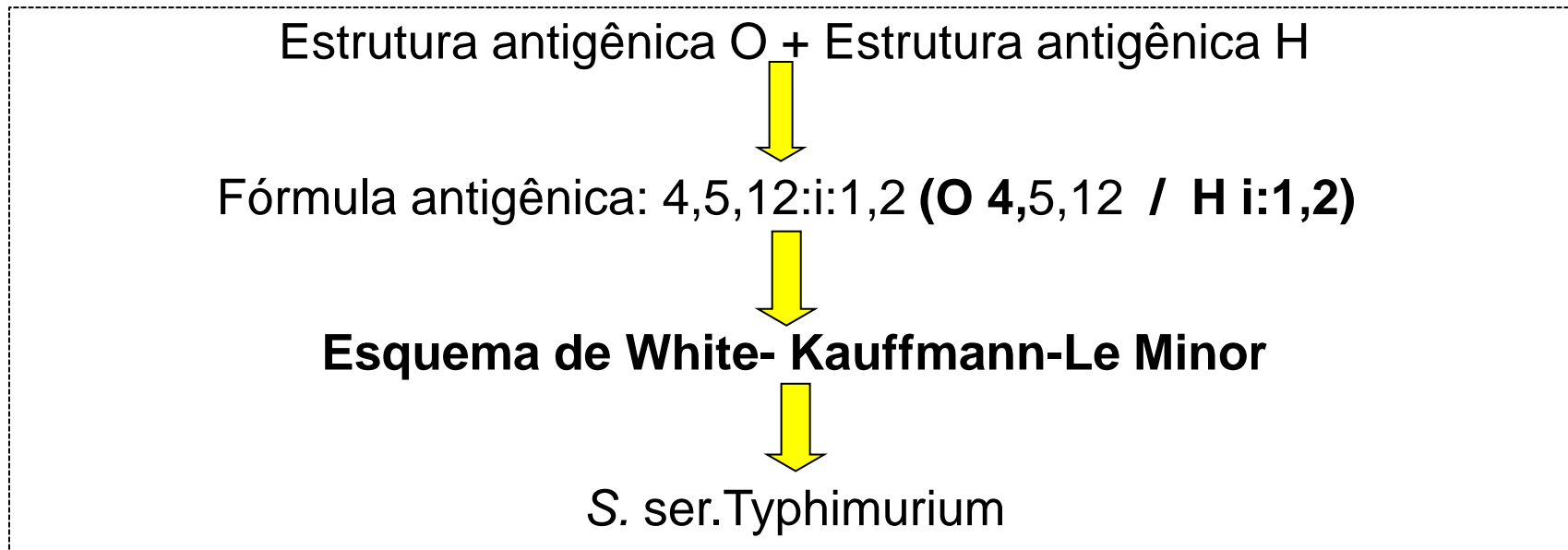
Múltiple PCR Flagelar 2
(H:e,n,x; H:1,5; H:e,n,z15; H:1,7; H:l,w;
H:1,6 y H:1,2)

*Isolamento de uma variante monofásica de *Salmonella* Typhimurium (4,12:i:-), em porcos com e sem diarreia, 2020
Estefanía Pérez ; Ibar, M; Dr. Javier Cappuccio ; Maria Alejandra Quiroga; Dr. Carlos Perfumo .Fac. Ciências Veterinárias, UNLP. Argentina.

SOROTIPAGEM de *Salmonella*

(interpretação segundo Esquema de White Kauffmann Le Minor)

- Umas poucas sorotipos de *Salmonella* spp. possuem apenas uma fase flagelar, denominam-se monofásicos
 - Exemplo: *Salmonella* ser. Enteritidis (9,12:g,m:-)
- *Salmonella* ser. Typhi (9,12 [Vi]:d:-)
- denominam-se difásicos : Ej. *S. Typhimurium*



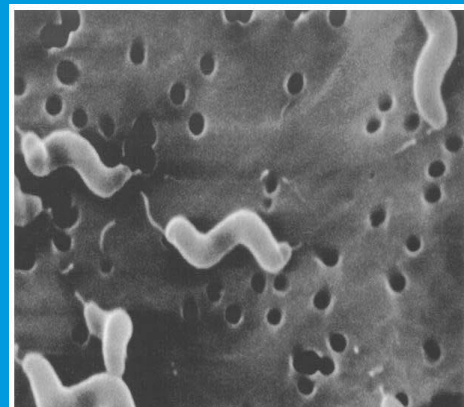
Relevância Diagnóstica de *Salmonella*

- ❑ Identificação de *Salmonella* a partir de meios seletivos , diferenciais e testes bioquímicos e/ou confirmação por técnicas genotípicas (PCR) ou MaldiToF.

- ❑ **Sorotipagem** convencional com antissoros, as vezes cepas rugosas que requerem exaltar mobilidade ou utilizar técnicas genotípicas (PCR para sorotipagem), interpretação segundo o esquema de White Kauffmann Le Minor.
 - É um importante complemento da identificação bioquímica.
 - Permite determinar a distribuição de um sorotipo em diferentes áreas geográficas e de diferente origem da amostra.
 - **É um marcador epidemiológico de utilidade na vigilância integral, baseada no laboratório e de ETA para conhecer fonte de infecção e vias de transmissão.**

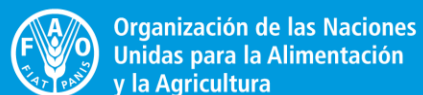


CAMPILOBACTERIOSE



Maria Isabel Farace
Serviço Bacteriología Sanitária.
Departamento Bacteriología
mifarace@anlis.gob.ar

**TRABAJANDO
JUNTOS
PARA COMBATIR
LA RESISTENCIA
A LOS ANTIMICROBIANOS**

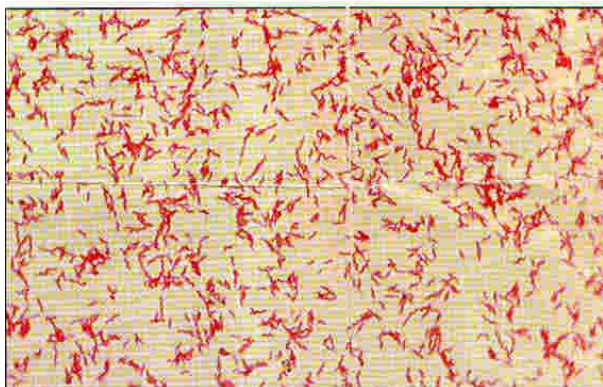


CARACTERÍSTICAS GERAIS

- Bacilos Gram-negativos.
- Tamanho: 0,2-0,5 µm
- Curvos, espiralados ou em forma de S.
- Flagelo único em um ou em ambos extremos.
- Em culturas de vários dias, degeneram a formas cocóides.
- **Crescem em microaerofilia**
- **Espécies termotolerantes (42°C)**
- **Espécies oportunistas -*C. fetus***
- **Sensíveis** ao cloro, dessecação, pH extremos, oxigênio



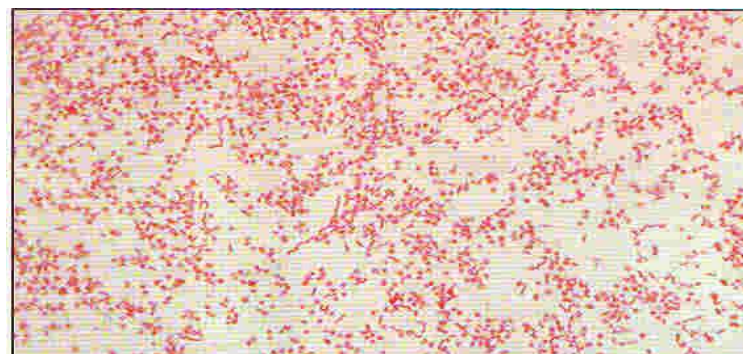
- cloro



Campylobacter jejuni

Campylobacter jejuni

Formas cocóides em culturas velhas.



Campylobacter termotolerantes

Morfología de colônias em ágar Skirrow



TRABAJANDO
JUNTOS
PARA COMBATIR
LA RESISTENCIA
A LOS ANTIMICROBIANOS



Organización de las Naciones
Unidas para la Alimentación
y la Agricultura

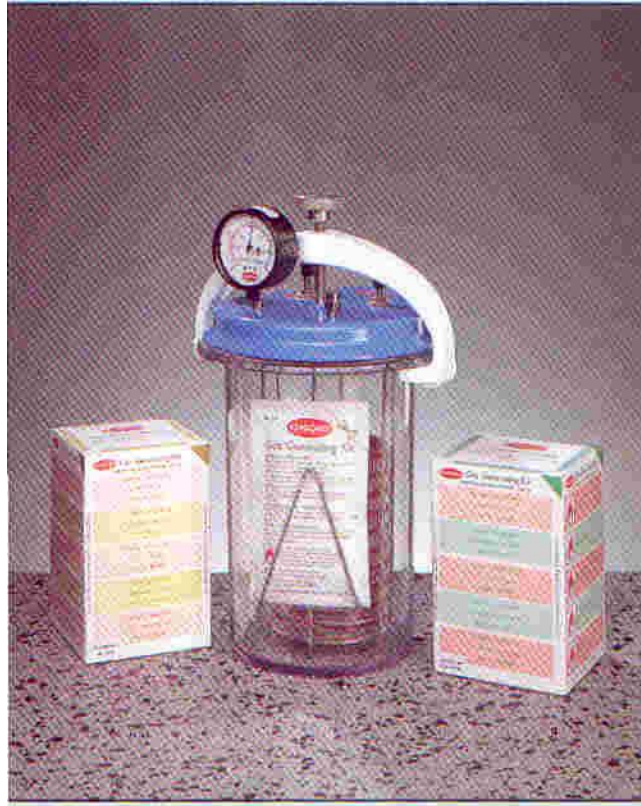


ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE SANIDAD ANIMAL
Proteger a los animales, preservar nuestro futuro



Unión Europea

Jarros e geradores de microaerofilia





Sistema de troca de gases em jarro

- Bomba de vácuo
- Jarro com manómetro
- Tubo com mistura de gases

85% de N₂, 10% de CO₂ y 5% de O₂

Campylobacter: espécie de patogenicidade bem reconhecida pelo homem

➤ ***Campylobacter jejuni***

➤ ***Campylobacter coli***

(Ambas são espécies termotolerantes (42° C temperatura ótima)

Crianças e adultos imunocompetentes:

Primeira causa de diarreia em países desenvolvidos.

Segunda ou terceira de diarreia em países em vias de desenvolvimento.

Excepcionalmente produz complicações extraintestinais: bacteremias meningites, endocardites, osteomielites, etc.

Hóspedes imunocomprometidos:

Primeiro agente causal de diarreias

Podem produzir complicações extraintestinais frequentemente.

➤ ***Campylobacter fetus*** (Espécie não termotolerante)

Escasso achado em diarreias

Agente de infecções sistêmicas: sepses com febre prolongada e irregular, meningites purulentas, formas supurativas localizadas, etc.

ESPÉCIES TERMÓFILAS

- Crescem a 42°C; não crescem a 25°C (*C. fetus*) todas a 37°C
- *Campylobacter jejuni** (Subsp. jejuni E doylei). Agente causal de diarreia (mais virulento, resistente à fagocitose)
- *Campylobacter coli** Produz diarreia mais benigna.

(*) Comensais de intestino de: vacas, ovelhas, porcos, cabras, cães, roedores domésticos e selvagens e AVES. (TEMPERATURA CORPORAL 42°C) MICROAEROFILIA SOB A PELE E DOBRAS DA ASA

- *Campylobacter lari*. Foi isolado do intestino de gaivotas. Não está definido o papel patogênico para o homem.
- *Campylobacter upsaliensis*. Raro isolá-lo de diarreias.
Produz bacteremias em HIC. Não está definida a fonte de infecção. Relacionado com animais, especialmente cães, alimentos como leite não pasteurizada e derivados.

Campylobacter em alimentos

- Foi isolado de carne bovina, aves, leite sem pasteurizar e água sem tratar
- Aves: *C. jejuni*. Em carcaças e fezes
- Suíno: *C. coli* e pouco frequente *C. jejuni*
- Bovino: ambos

A exposição ao oxigênio (carne de vaca, porco, cordeiro) não permite a sobrevivência da bactéria, *cuidado com a manipulação e a contaminação cruzada!*



PONTOS CRÍTICOS: ABATE E EVISCERAÇÃO



O cloro da água inativa-se com a presença de matéria orgânica: (Gordura, pele, penas, restos de vísceras, etc.)



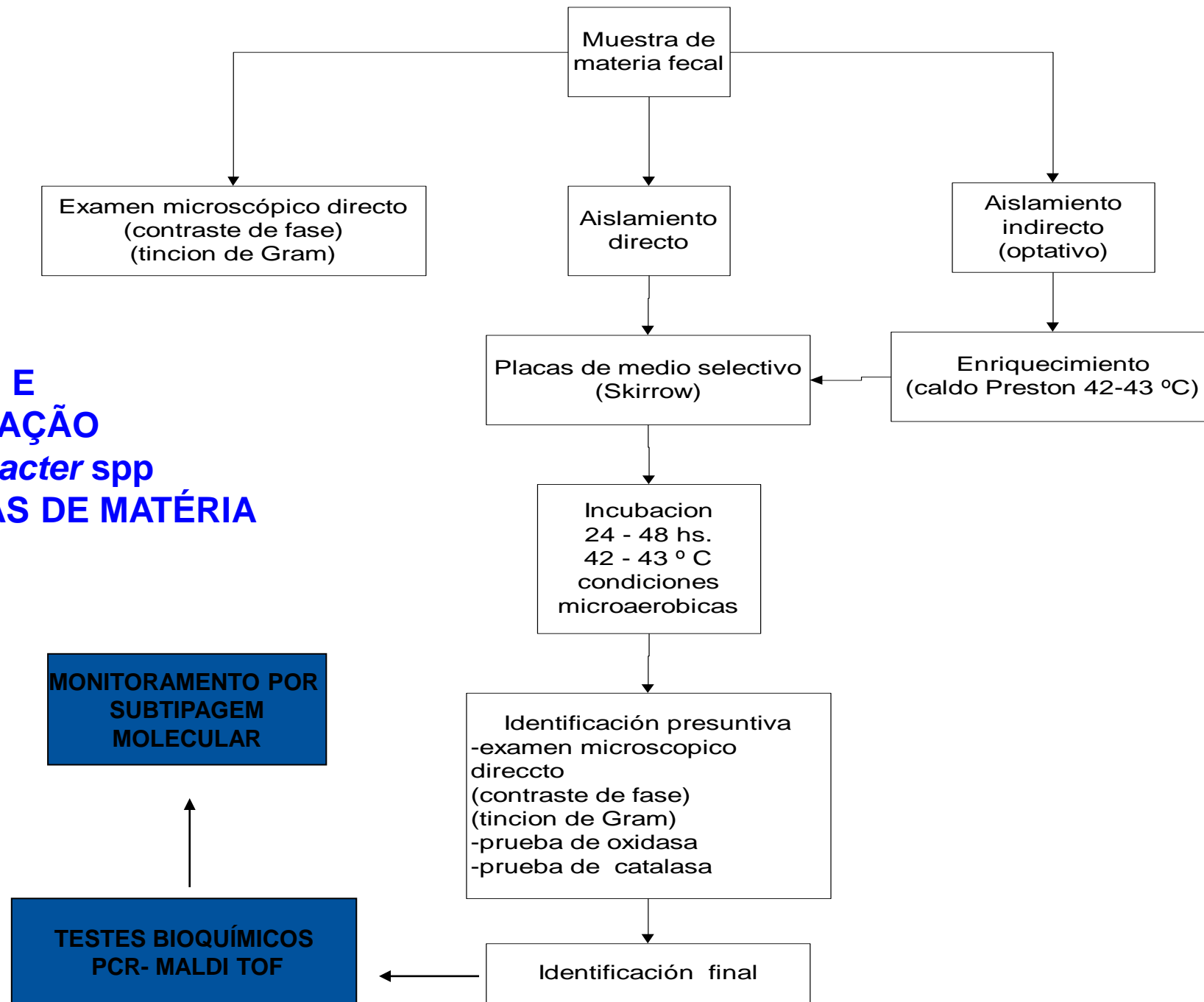




Coleta de amostras e envio

- As amostras devem ser colhidas durante a diarreia aguda.
- Colocar com cotonete em um meio de transporte Cary Blair.
- Conservar refrigerada no meio de transporte e enviá-la em não mais de 4 dias desde sua coleta.
- Se for enviada sem meio de transporte (fresca) o tempo de envio de deve ser o mais breve possível (durante o dia).

**ISOLAMENTO E
CARACTERIZAÇÃO
DE *Campylobacter* spp
EM AMOSTRAS DE MATÉRIA
FECAL**



Isolamento de Campylobacter em amostras de alimentos

25 g de alimento em 100 ml de
caldo de enriquecimento
(Preston)



Incubar 3 - 4 hs. a 37°C em
atmosfera microaéofila
(pre-enriquecimento)



Continuar la incubación 24 - 48 hs.
a 42°C atmosfera microaéofila
(enriquecimento)



Sembrar em placas de medios selectivo
(Skirrow)



Identificación de colonias sospechosas



Identificación presuntiva
-examen microscopico directo
(contraste de fase)
(tinción de Gram)
-prueba de oxidasa
-prueba de catalasa



Identificación final

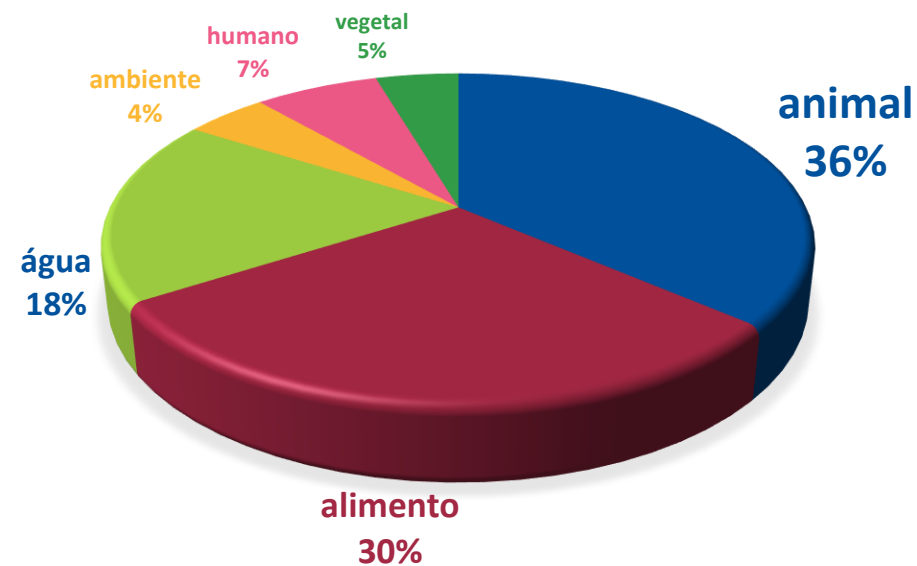
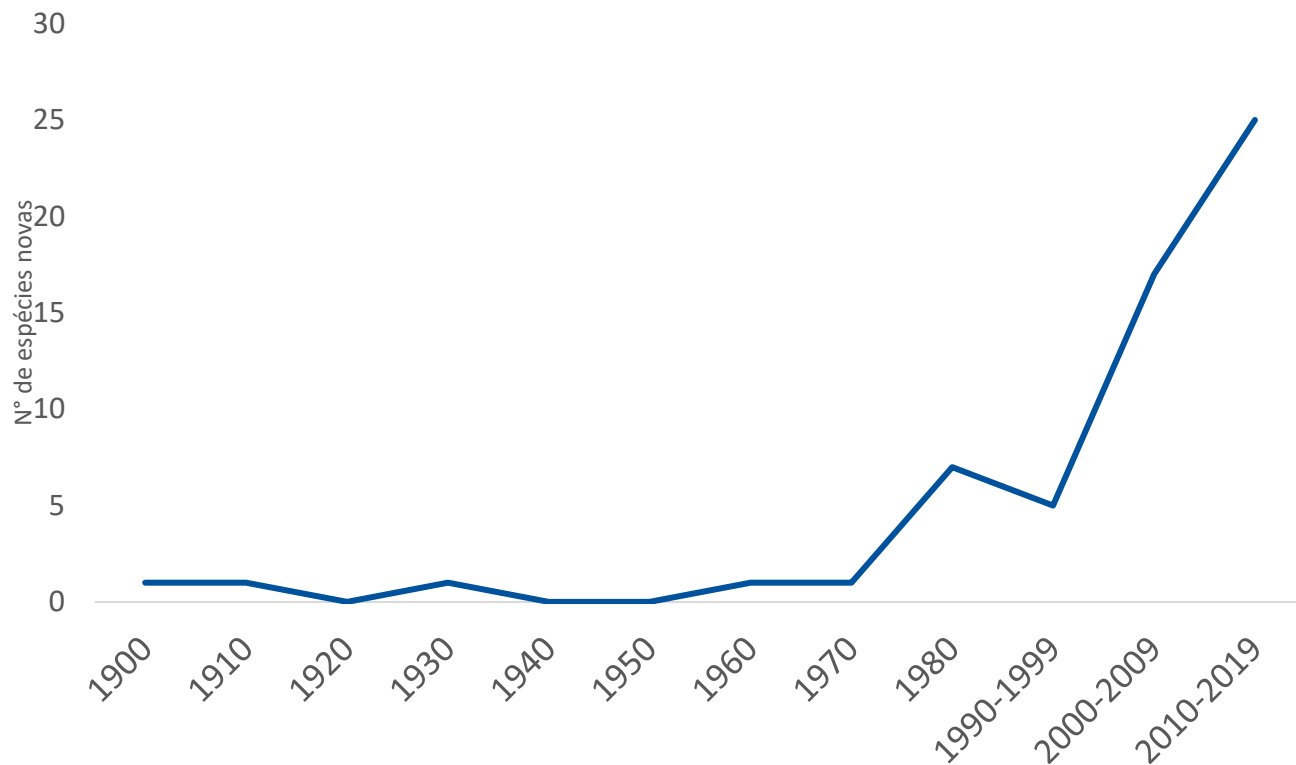
Estratégias para a identificação de *Enterococcus* spp.

Bioq. Mónica Prieto
Serviço Bacteriologia Especial
Departamento Bacteriologia
INEI-ANLIS Malbrán
mprieto@anlis.Gob.ar

TRABAJANDO
JUNTOS
PARA COMBATIR
LA RESISTENCIA
A LOS ANTIMICROBIANOS

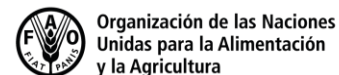


Descrição de novas espécies de *Enterococcus*



2000-2020

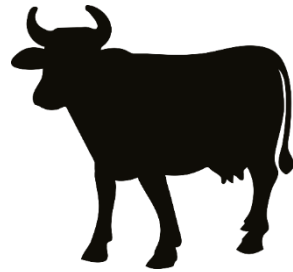
TRABAJANDO
JUNTOS
PARA COMBATIR
LA RESISTENCIA
A LOS ANTIMICROBIANOS



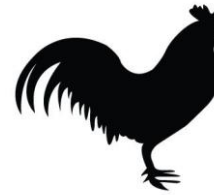
Distribuição de espécies



E. faecalis
E. faecium
E. durans
E. avium
E. hirae
E. gallinarum
E. casseliflavus
E. raffinosus



E. faecalis
E. faecium
E. hirae
outros

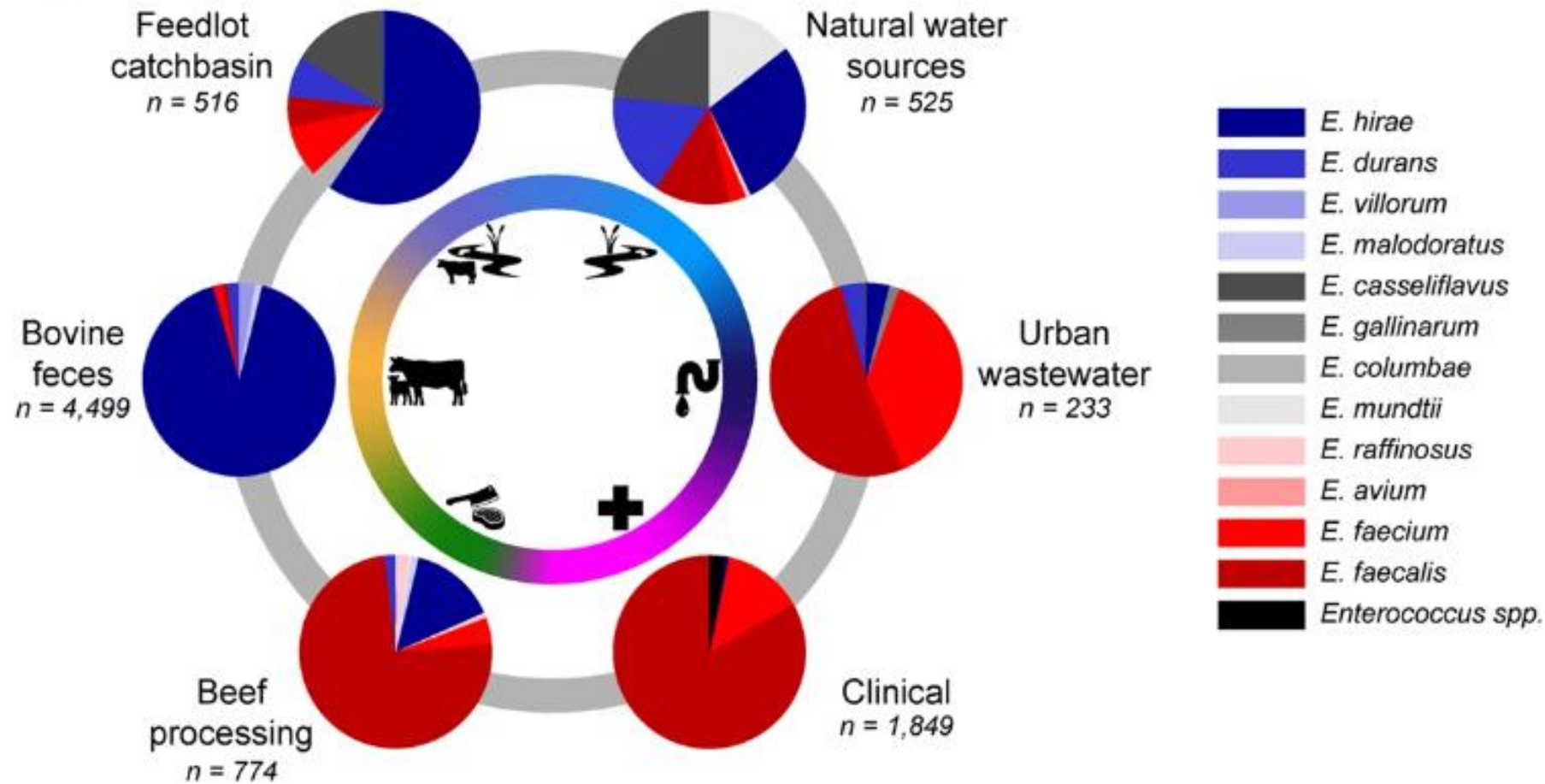


E. faecalis
E. faecium
E. cercorum
outros



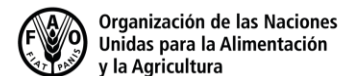
E. faecalis
E. faecium
outros

TRABAJANDO
JUNTOS
PARA COMBATIR
LA RESISTENCIA
A LOS ANTIMICROBIANOS



Zaheer R. *et al* 2020.. Sci Rep. 2020 Mar 3;10(1):3937. doi: 10.1038/s41598-020-61002-5.

TRABAJANDO
JUNTOS
PARA COMBATIR
LA RESISTENCIA
A LOS ANTIMICROBIANOS



Isolamento

Amostra de local estéril:

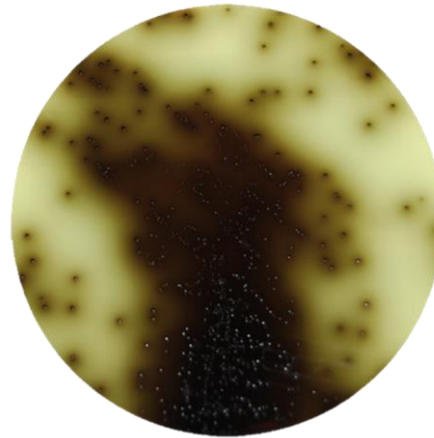
MEIO NÃO SELETIVO



Ágar sangue 5%

Amostra de local não estéril:

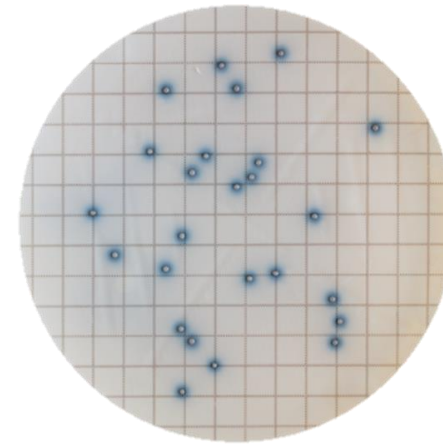
MEIO SELETIVO



Ágar Bilis Esculina Azida

Amostras de água:

FILTRAÇÃO-MEIOS SELETIVOS



USEPA, Method 1600: Enterococci in water by membrane filtration using membrane-Enterococcus Indoxyl- β -D-Glucoside Agar (mEI): U.S. Environmental Protection Agency Report 821-R-06-009, 42 p. (2006).

Identificação

1. Cocos gram-positivos em cadeias
2. Hemólises α ou não hemolíticos em ágar 5% sangue ovino
3. Não produzem citocromos= catalase negativa
4. Hidrolisam a esculina em presença de bÍlis (BE)
5. Desenvolvem em NaCL 6.5%
6. Hidrolisam leucina β -naftilamina (LAP)
7. Hidrolisam Pirrolidonil β -naftilamina (PYR)
8. Desenvolvem a 10°C y 45°C
9. Reagem com grupo D de Lancefield

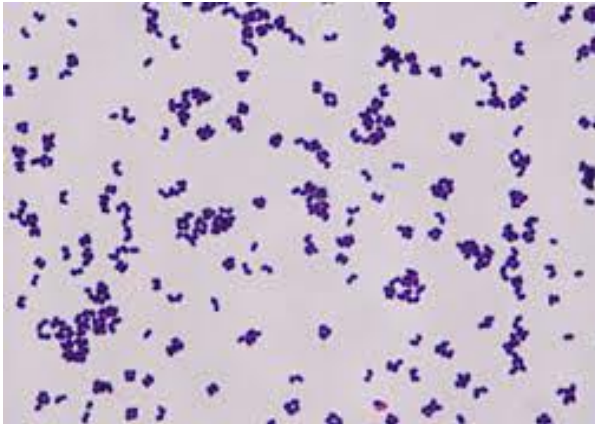
BE	+
NaCl 6.5%	+
PYR	+
LAP	+

1. Cocos gram-positivos em cadeias **MEIO LÍQUIDO!!!!**

Caldo tioglicolato



Ágar sangue



BE	+
NaCl 6.5%	+
PYR	+
LAP	+

Enterococcus spp.



Cadeias

Aerococcus sanguinicola



Acúmulos, tetradas

2. Hemólises α ou não hemolíticos em ágar 5% **sangue ovino**



33 %

E. faecalis

Beta hemolítico

(sangue cavalo, humano, coelho)

Excepcionalmente

E. faecalis

E. durans

Beta hemólises com qualquer tipo sangue

3. Não produzem citocromos= catalase negativa

Cuidado se for realizado a partir de ágar sangue (falso positivo)

Não utilizar aça de metal (falso positivo)



Catalase negativa




Catalase positiva

Identificação presuntiva
Enterococcus sp

4. Hidrolisam a esculina em presença de bÍlis (BE)
5. Desenvolvem em NaCl 6.5%
6. Hidrolisam leucina β -naftilamina (LAP)
7. Hidrolisam Pirrolidonil β -naftilamina (PYR)
8. Desenvolvem a 10°C e 45°C
9. Reagem com grupo D de Lancefield

BE	+
NaCl 6.5%	+
PYR	+
LAP	+

Gêneros fenotípicamente similares

	GRAM	VAN	GAS	BE	NaCl	PYR	LAP	MOV
 <i>Aerococcus sanguinicola</i>	R, T	NP	-	+	+	+	+	NP
<i>Aerococcus viridans</i>	R, T	S	-	V	+	+	-	-
<i>Enterococcus</i>	C	S/R	-	+	+	+	+	V
<i>Globicatella</i>	C	S	-	V	+	V	-	-
 <i>Lactococcus</i>	C	S	-	+	V	V	+	-
<i>Leuconostoc</i>	C	R	+	V	V	-	-	-
<i>Pediococcus</i>	R, T	R	-	+	V	-	+	-
<i>Tetragenococcus</i>	R, T	S	-	+	+	-	+	-
 <i>Vagococcus</i>	C	S	-	+	V	+	+	+
<i>Weissella</i> *	BC	R	+	+	V	V	-	-

Gêneros fenotípicamente similares

	GRAM	VAN	BE	NaCl	PYR	LAP	MOV	Grupo D Lancefield
<i>Aerococcus sanguinicola</i>	R, T	NP	+	+	+	+	NP	-
<i>Enterococcus</i>	C	S/R	+	+	+	+	V	+
<i>Lactococcus</i>	C	S	+	V	V	+	-	-
<i>Vagococcus</i>	C	S	+	V	+	+	+	-

80%

Lactococcus / E. faecalis
TeK 0.04%

Enterococcus spp.

PYR negativos

- E. bulliens*
- E. canintestini*
- E. cecorum*
- E. columbae*
- E. devriesei*
- E. moraviensis*
- E. pallens*
- E. saccharolyticus*
- E. termitis*
- E. viikkiensis*

	GRAM	LAP	BE	NaCl 6.5%	10 °C	45 °C	Van	Grupo D Lancefield	
Enterococos PYR negativos	C	+	+	+	+	+	S/R	+	80%
<i>Lactococcus</i>	C	+	+	V	+	V	S	-	
<i>Tetragenococcus</i>	R, T	+	+	+	-	+	S	-	



Manual de procedimientos Identificación fenotípica de cocos gram positivos catalasa negativa.

Edición 2022

<http://sgc.anlis.gob.ar/handle/123456789/2432>

TRABAJANDO
JUNTOS
PARA COMBATIR
LA RESISTENCIA
A LOS ANTIMICROBIANOS



Organización de las Naciones
Unidas para la Alimentación
y la Agricultura



ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE SANIDAD ANIMAL
Proteger a los animales, preservar nuestro futuro



Unión Europea

Métodos de identificación comercias

- API 20 Strep (bioMerieux)
- Rapid ID 32 (bioMerieux)
- Vitek (bioMerieux)
- Cristal Gram positive (BBL)
- Poenix (Becton Dickinson)

LIMITAÇÕES

E. casseliflavus/E.gallinarum

E. avium/E. raffinosus

E. durans/E. hirae/ E. faecalis

MALDITOF-MS

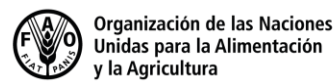
<i>E. avium</i>	<i>E. gallinarum</i>
<i>E. casseliflavus</i>	<i>E. hirae</i>
<i>E. cecorum</i>	<i>E. italicus</i>
<i>E. columbae</i>	<i>E. mundtii</i>
<i>E. durans</i>	<i>E. raffinosus</i>
<i>E. faecalis</i>	<i>E. saccharolyticus</i>
<i>E. faecium</i>	

VITEK-MS (IVD)

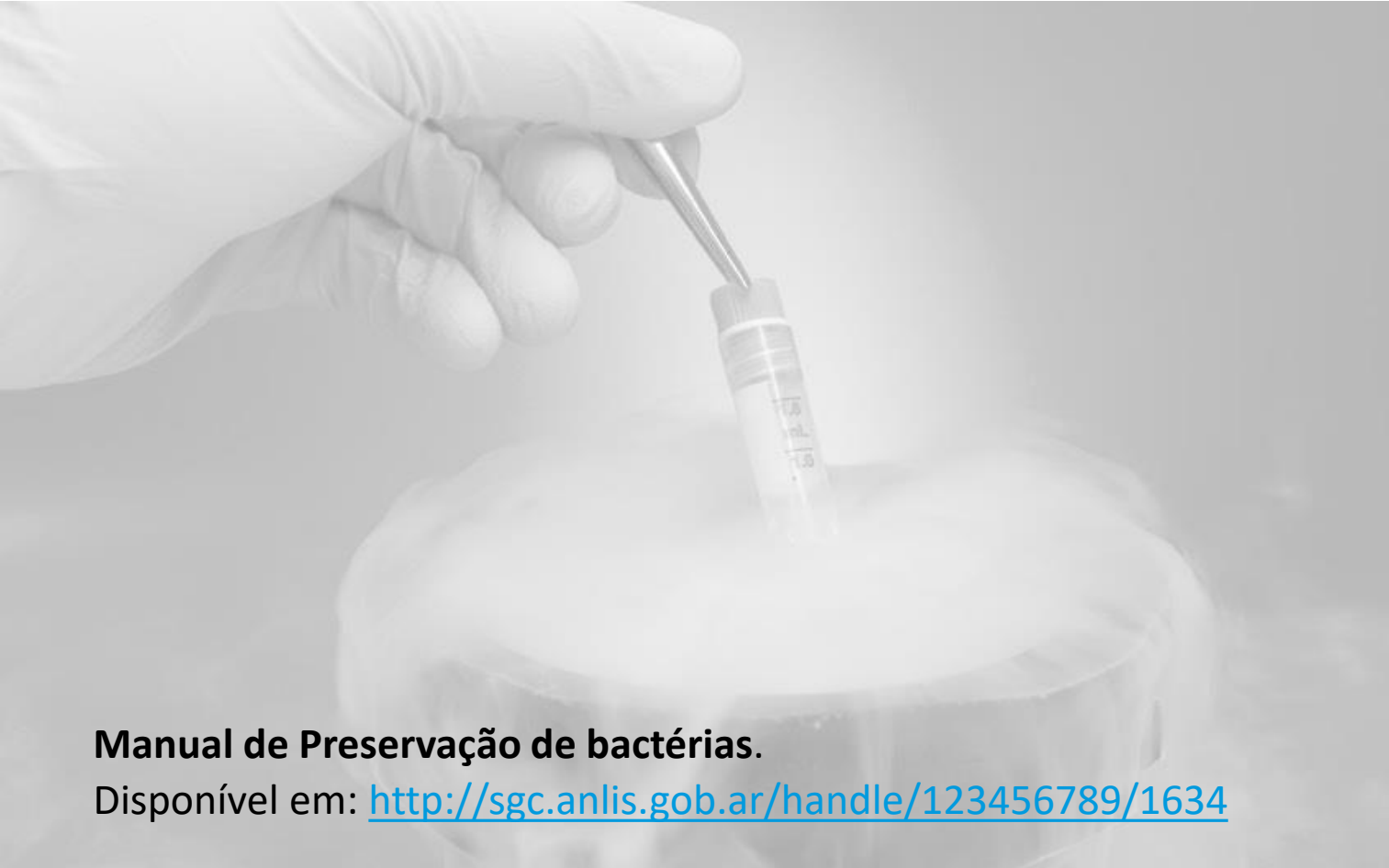
<i>E. avium</i>	<i>E. italicus</i>
<i>E. caccae</i>	<i>E. malodoratus</i>
<i>E. casseliflavus</i>	<i>E. mundtii</i>
<i>E. cecorum</i>	<i>E. pallens</i>
<i>E. columbae</i>	<i>E. raffinosus</i>
<i>E. devriesei</i>	<i>E. ratti</i>
<i>E. dispar</i>	<i>E. saccharolyticus</i>
<i>E. durans</i>	<i>E. silesiacus</i>
<i>E. faecalis</i>	<i>E. sulfureus</i>
<i>E. faecium</i>	<i>E. termitis</i>
<i>E. gallinarum</i>	<i>E. thailandicus</i>
<i>E. gilvus</i>	<i>E. villorum</i>
<i>E. hirae</i>	

BRUKER

TRABAJANDO
JUNTOS
PARA COMBATIR
LA RESISTENCIA
A LOS ANTIMICROBIANOS



PRESERVAÇÃO



Manual de Preservação de bactérias.

Disponível em: <http://sgc.anlis.gob.ar/handle/123456789/1634>

LIOFILIZAÇÃO (>30 anos)

ULTRACONGELAÇÃO (>20 anos)

-20 °C (1 a 3 anos)

Subcultura em ágar a 4 °C (até 4 meses)

Meio crioprotetor

Leite desnatado 10%

Caldo tripticasa de soia –glicerol 10%

MUITO OBRIGADO POR SUA ATENÇÃO!

- Departamento Bacteriologia. INEI-ANLIS “Dr. Carlos G. Malbrán”

Isabel Chinen

Serviço Fisiopatogenia

INEI-ANLIS Dr Carlos G. Malbrán

ichinen@anlis.gob.ar

fisiopatogenia.anlis@gmail.com

Maria Rosa Viñas

Serviço Enterobactérias

mrvinas@anlis.gob.ar

vinasmr@gmail.com

Mónica Prieto

Serviço Bacteriologia Especial

INEI-ANLIS Malbrán

mprieto@anlis.gob.ar

Maria Isabel Farace

Serviço Bacteriologia Sanitária.

Departamento Bacteriologia

mifarace@anlis.gob.ar

TRABAJANDO
JUNTOS
PARA COMBATIR
LA RESISTENCIA
A LOS ANTIMICROBIANOS



Organización de las Naciones
Unidas para la Alimentación
y la Agricultura



ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE SANIDAD ANIMAL
Proteger a los animales, preservar nuestro futuro



Unión Europea