

Estrategias para la identificación 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



Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura



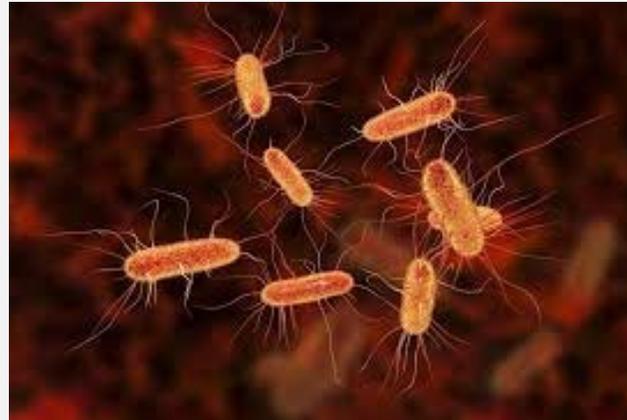
ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE SANIDAD ANIMAL
Proteger a los animales, preservar nuestro futuro



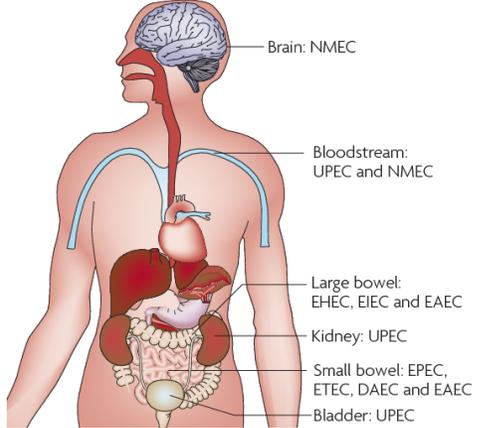
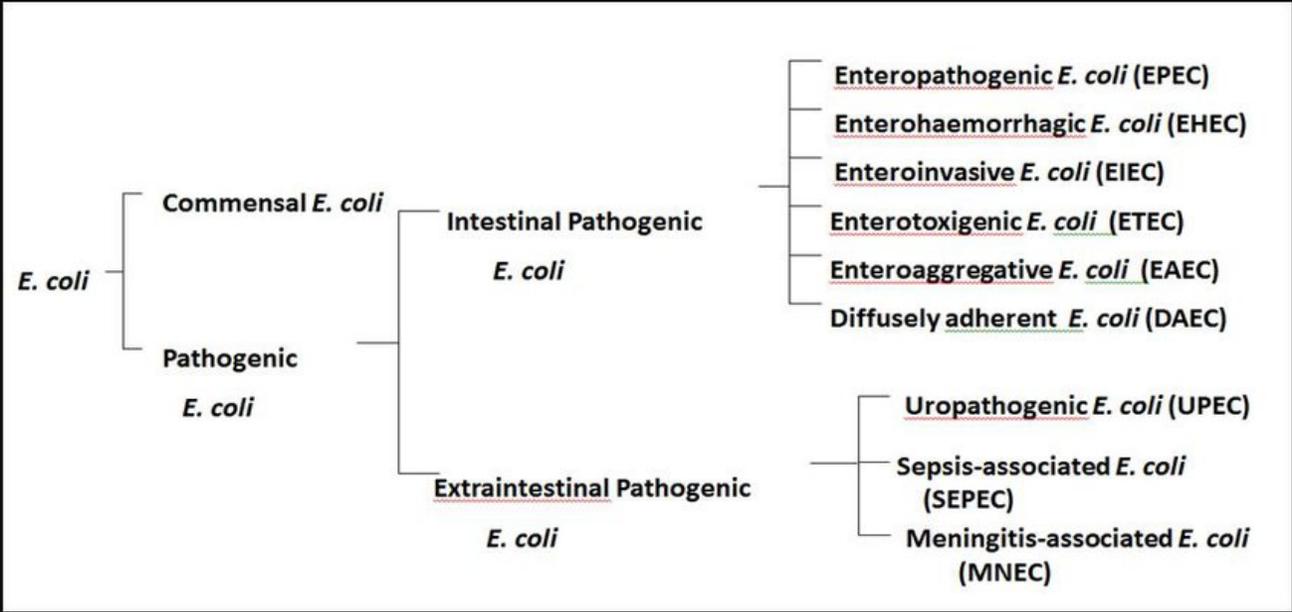
Unión Europea

Escherichia coli

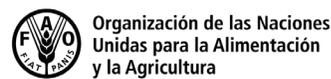
- Bacilo Gram negativo, anaerobio facultativo. Móvil con flagelos peritricos.
- Se encuentra en el intestino del hombre y animales de sangre caliente. También en alimentos y medio ambiente.
- Conformar un grupo heterogéneo
 - Cepas comensales y patógenas



Escherichia coli



TRABAJANDO
JUNTOS
PARA COMBATIR
LA RESISTENCIA
A LOS ANTIMICROBIANOS



E. coli en animales – Comensal / Patógeno

Investigación de RAM en *E. coli* a partir de muestras de animales



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

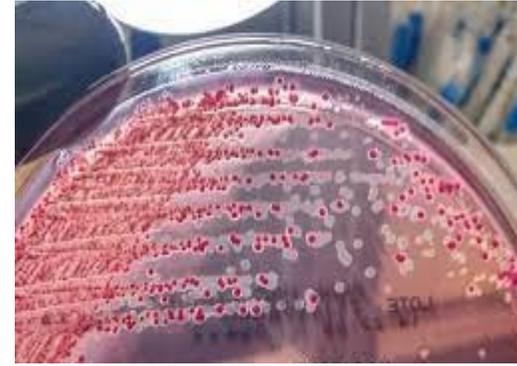


Unión Europea

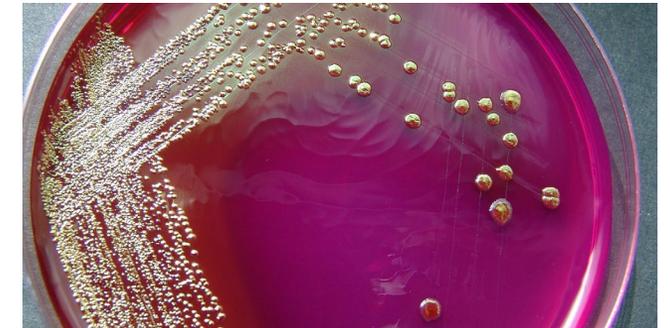
Aislamiento de *E. coli* a partir de muestras de Animales – Detección de RAM –

- Materia fecal >>> resuspensión en APT
- Siembra en un medio selectivo
 - MacConkey
 - EMB-Levine
 - Cromogénicos
- Incubar: Tiempo y Temperatura definidos
 $37 \pm 1^\circ \text{C}$, 18 - 24 h

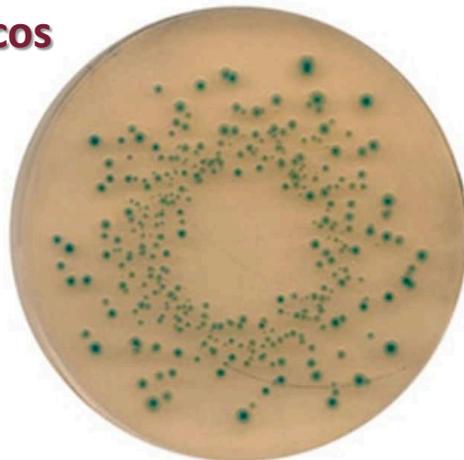
MAC



EMB



Cromogénicos
TBX



TRABAJANDO
JUNTOS
PARA COMBATIR
LA RESISTENCIA
A LOS ANTIMICROBIANOS

Identificación

Pruebas Bioquímicas de *E. coli*



- A partir de 5-7 colonias puras sembrar pruebas bioquímicas



Pruebas bioquímicas

- 1- TSI: Pico ácido/fondo ácido con producción de gas, SH2: neg.
- 2- Utilización de citrato: negativo
- 3- SIM: SH2 negativo, Indol: positivo, movilidad: positivo
- 4- LIA: decarboxilación de lisina: positiva, SH2: negativo

Identificación de *E. coli*

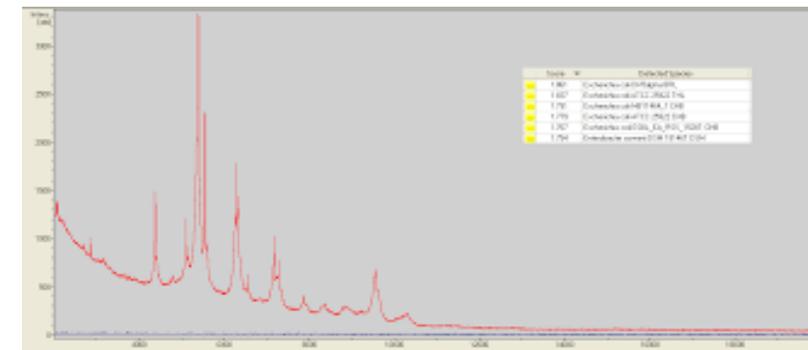
API 20 (bioMérieux)



Vitek (bioMérieux)



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



MALDI TOF

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

Caracterización de los aislamientos de *E. coli*

- Identificación de género/especie



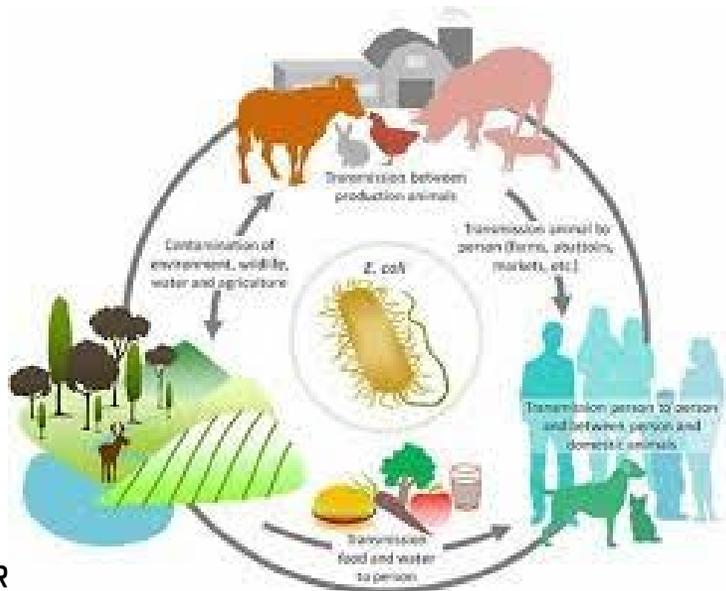
- Determinación de RAM



- Caracterización de factores de virulencia (PCR/PCR-RT)
 - Patógeno intestinal/extraintestinal (hombre)
 - Patógeno en animales
 - Comensales
- Serotipificación
- Subtipificación y filogenia

IDENTIFICACIÓN de *Escherichia coli* para la investigación de RAM

- ✓ *E. coli* – en humanos, animales, alimentos y medio ambiente
- ✓ Protocolos de investigación de RAM en *E. coli* ≠ Protocolos para el estudio de mecanismos de patogenia
 - **Protocolo para investigación de RAM:**
Selección al azar de *E. coli* independientemente sean comensales o patógenos
- ✓ Dado el desarrollo tecnológico es importante considerar las diferentes estrategias para su identificación.



Importante

Aislamiento e Identificación >>> Detección 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



Unión Europea

Estrategias de identificación de *Salmonella* en animales

22/06/2022

Maria Rosa Viñas

Servicio Enterobacterias

INEI-ANLIS Dr Carlos G. Malbrán

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

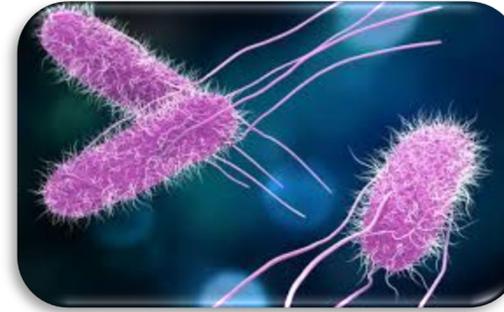


Unión Europea

Características Microbiológicas del Género *Salmonella*

Los miembros del género *Salmonella*, Familia Enterobacteriaceae, Orden Enterobacterales

- ▶ son bacilos gram-negativos
- ▶ anaerobios facultativos
- ▶ no esporulados



- ▶ **móviles por flagelos peritricos** → excepto **S. ser. Gallinarum**: inmóvil
- ▶ fermentan la glucosa con producción gas → excepto **S. ser. Typhi**: sin gas
- ▶ no fermentan la lactosa → excepto **S. enterica subsp. Arizonae IIIa y S. enterica subsp. Diarizonae IIIb**

Taxonomía del Género *Salmonella*

Salmonella enterica subespecie *enterica* I

- constituyen más del 99,5 % de los aislamientos asociados a *Salmonelosis*
- se designan la serovariedad con un nombre (con letras romanas, no en itálica)
- Ej: *S. Typhimurium*, *S. Orán* , (2.500 serovars)

Las restantes subespecies de *S. enterica* y *Salmonella bongori*

- muy escasas en patología humana y veterinaria, animales de sangre fría y ambiente
- se designan con el nombre de la subespecie, seguido de la fórmula antigénica.
- Ej: *Salmonella* IV 50 : b : -

SALMONELOSIS

- Es una **zoonosis de distribución mundial** , se transmite por la ingestión de **alimentos contaminados en su origen**: carnes de aves de corral, huevos crudos o parcialmente cocidos, carnes de bovinos y porcinos y subproductos, leche cruda y productos lácteos , agua contaminada), por contacto con animales domésticos y silvestres infectados o por **manipulador de alimentos**.
- **En los animales:** puede manifestarse clínicamente o no .Las **serovariedades de *Salmonella* adaptadas a especies**, por ej. *Salmonella* Gallinarum (tifus aviar, pullorosis), y *S. Cholerasuis* (Typhisuis porcinos, sepsis).
- **Reservorios animales** con subclínica, puede albergar *Salmonella* en ganglios y eliminan a través de sus heces en forma intermitente o persistente contaminando el ambiente.
- *Salmonella* infectan tanto al hombre como a los animales: Ej. *S. Typhimurium* , *S. Enteritidis*, *S. Newport* , *S. Anatum* , *S. Heidelberg*, *S. Paratyphi B* y otros serovares. (en el marco de la vigilancia de RND, y monitoreo en alimentos y animales).
- Es la **causa más común de Enfermedades Transmitidas por Alimentos (ETA)** . En EE UU, *Salmonella* causa mas de **1 million infecciones /año**, representa un tercio de ETAS.



Flujograma de aislamiento de *Salmonella* spp. a partir de muestras de Animales (Manual de la OIE, RAM)

Muestra de animales: Materia fecal y/o Hisopado cloacal

Día 1 Pre-enriquecimiento en medio líquido no selectivo: APT

(25 g y/o ml de muestra + 225 ml APT)

Permite a los microorganismos que está en baja concentración y/o injuriados, proliferar

- Incubar: Tiempo y Temperatura definidos
37 ± 0,5 ° C, 18 - 24 h

Día 2 Enriquecimiento en medio líquido selectivo

(2 caldos): Caldo RV y/o medio semisólido MSRV ,

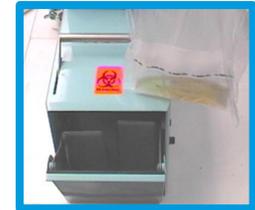
Caldo tetrionato (*Salmonella* spp. contiene la enzima tetrionato reductasa y puede crecer en el medio de cultivo)

Caldo selenito- cisteína

Permite a *Salmonella* proliferar y a la vez suprime el de la microflora competitiva.

- Incubar: Tiempo y Temperatura definidos
41,5 ± 1 ° C, 18 - 24 h

PCR de tamizaje gen *invA* o PCR real time *ttr* (Malorny et al. 2003, 2004) a Validar con matriz .



* Medios de cultivos: Agua peptona tamponada (APT); Medio Rappaport Vassiliadis modificado (MSRV); Caldo Rappaport Vassiliadis (RV).

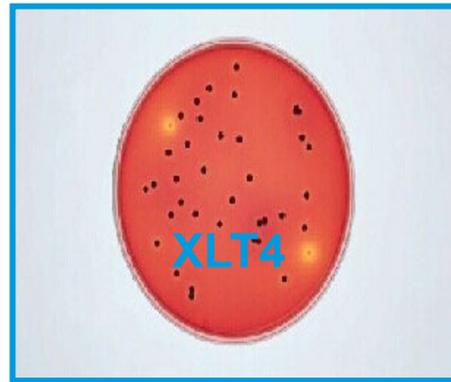
Día 3 Plaqueo en medios selectivos y diferenciales: (no fermenta lactosa y producción de SH₂)



Inhibe el crecimiento de microflora competitiva y permite el crecimiento de colonias de *Salmonella* bien aisladas

- Incubar: Tiempo y Temperatura definidos

37 ± 0,5 °C, 18 - 24 h



Rambach



BGA



BS

*Medios selectivos: Agar EF-18, Agar xilosa-lisina descarboxilasa (XLD), Agar Hektoen (HE), Agar Verde Brillante (BGA), Agar Sulfito de Bismuto (BS).
*BBL CHROMagar *Salmonella* (colonias malvas), Agar Rambach

Día 4 Selección de colonias típicas **presuntivas de *Salmonella*** y atípicas (como *Proteus*, *Citrobacter*):

Siembra en TSI, LIA

- Incubar: Tiempo y Temperatura definidos

Día 5 Confirmación Bioquímica

- Pruebas bioquímicas convencionales: TSI (K/A), LIA (K/K) SIM, Indol (reactivo de Kovas), Citrato de Simmons (+), ONPG (-), Lisina decarb (+), Urea (-), Oxidasa (-) y TSA



Espectrometría de masa MALDITOF
Salmonella spp. (criterio del equipo) y/o
PCR gen *invA* o gen *ttr* a partir de cepa .

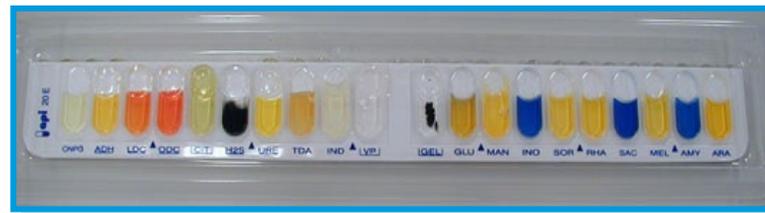


SH2 (+)



SH2 (-)

- API, Vitek (comerciales), pruebas bioquímicas complementarias (dulcitol, gas de glucosa) para diferenciar biotipos *S. Gallinarum* o var *S. cholerasuis* o derivar al LNR.



Día 6 del TSA: Confirmación serológica →

- Antisueros polivalentes somáticos “O”,
antisueros de grupo y factores.
- Caldo TSB: Antisueros polivalentes flagelares “H”,
antisueros de fase y factores
- Antisero Antígeno Capsular Vi
(*S. Typhi*, *S. Paratyphi C*, *S. Dublín*)



● **Reporte de resultados**
**Presencia de *Salmonella* en 25
gramos o ml del material
estudiado**

**PCR Múltiple para antígenos somáticos O4, O8, O3,10; O9 y
flagelares**

**Fase 1 y Fase 2 gen *fli C* y *fli B*
(Herrera León, 2004, 2007 ; Echeita 2002)**

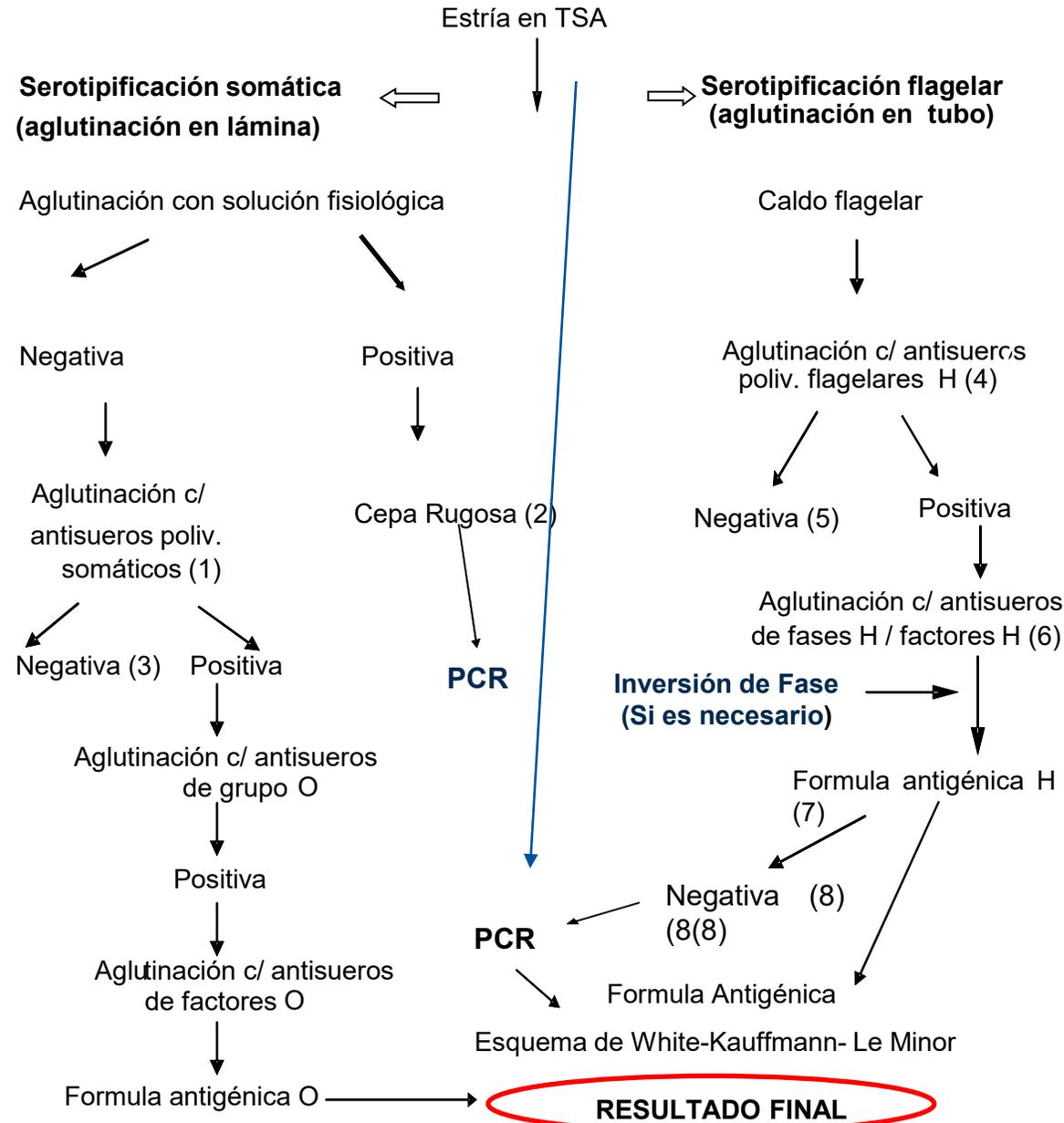


**Antígenos
somáticos O**

Flujograma de Serotipificación de *Salmonella* spp.

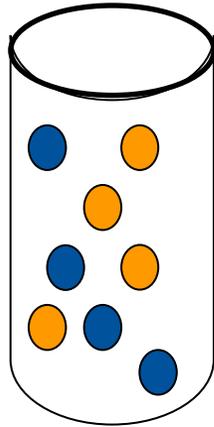
Aislamiento con identificación bioquímicas de *Salmonella* spp.

(Grimont, P.A.D. & Weill F.X., 9ª Ed, WHO Centre for Referente and Research on Salmonella, Instituto Pasteur, París, Francia, 2007).



Inversión de Fase: poner en evidencia la fase que no se expresa

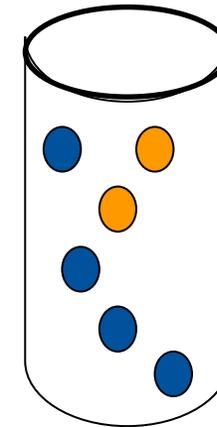
Cultivos de *Salmonella* ser. Typhimurium (4,5,12.i:1,2) en caldo Tripticasa Soya (TSB)



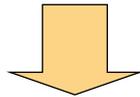
Flagelos de especificidad H:1,2



Flagelos de especificidad H:i



POBLACIÓN BACTERIANA BALANCEADA
SE EXPRESAN IGUALMENTE LAS DOS FASES



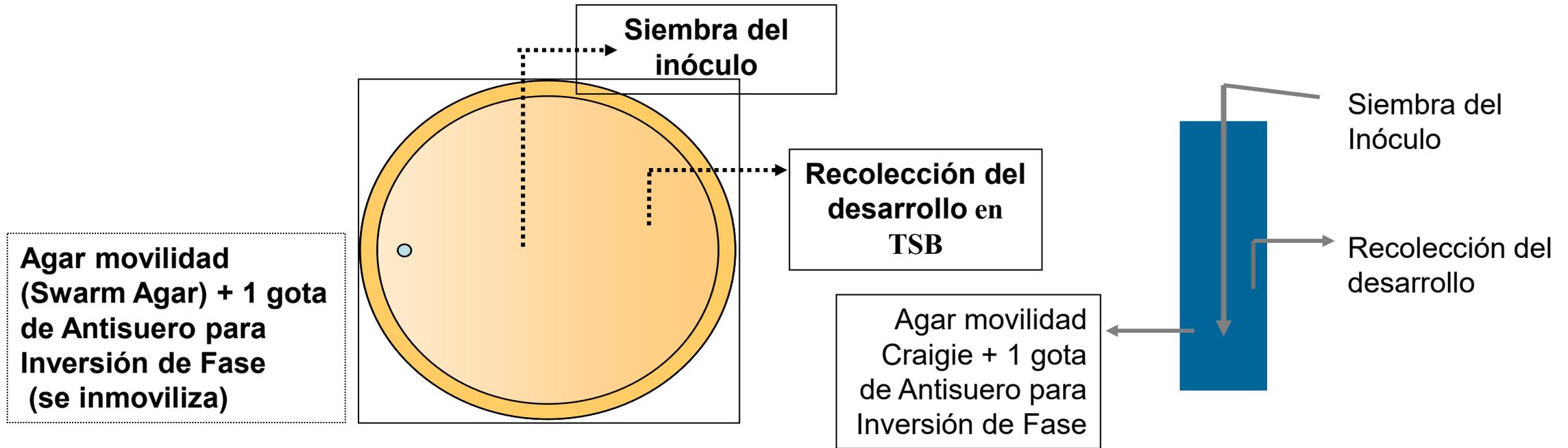
NO realizar inversión de fase

POBLACIÓN BACTERIANA MAYORITARIA EXPRESA FLAGELOS
DE ESPECIFICIDAD H:1,2



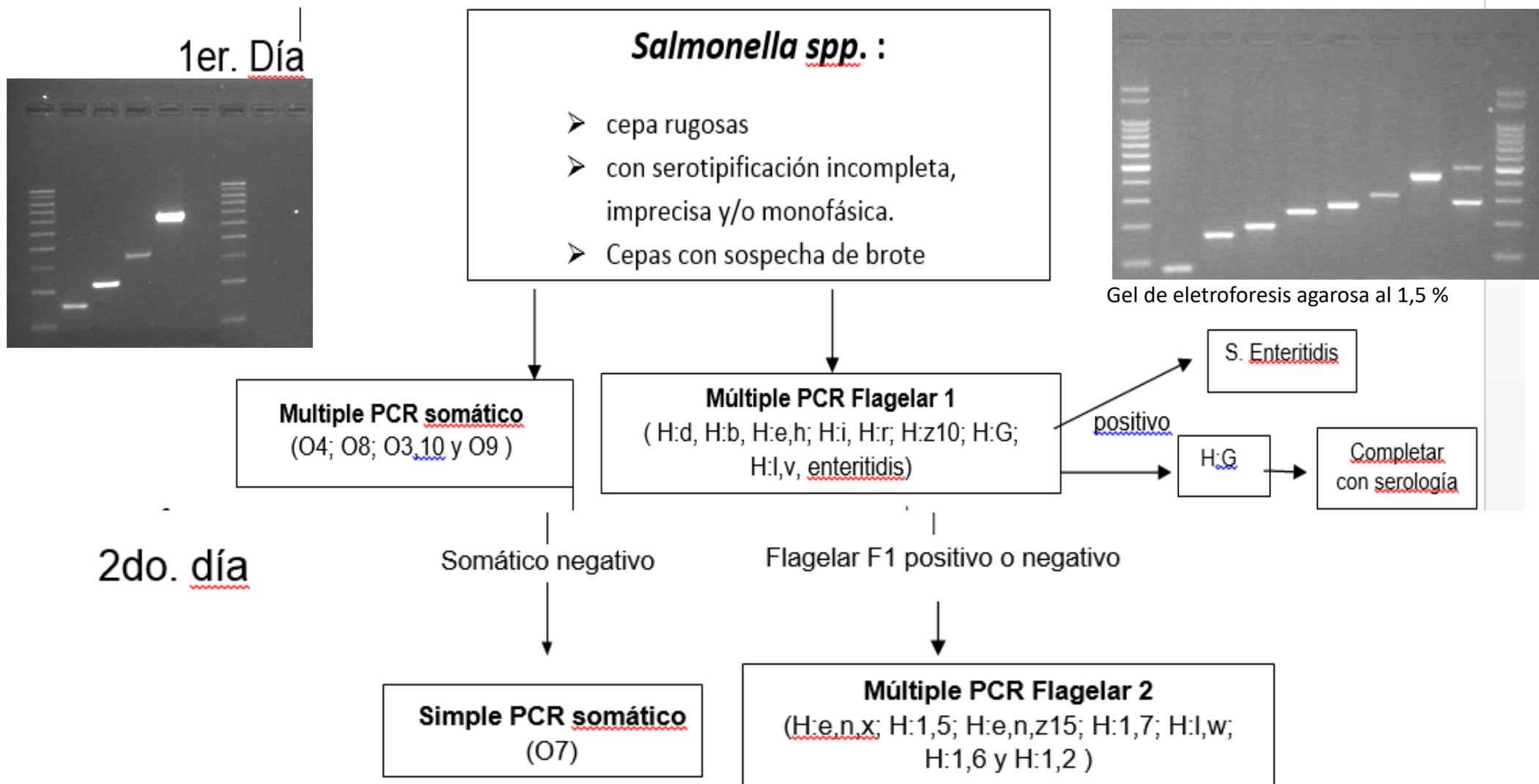
Realizar inversión de fase
(Inversión con antisuero H:1,2 para que exprese la fase H:i)

Método de Inversión en Placa de Agar Movilidad (Swarm Agar) y en Tubo de Craigie



* Antisueros polivalentes somáticos y factores , Antígenos flagelares Fase 1 y Fase 2 del INPB-ANLIS

SEROTIPIFICACIÓN MOLECULAR DE *Salmonella* (LNR)

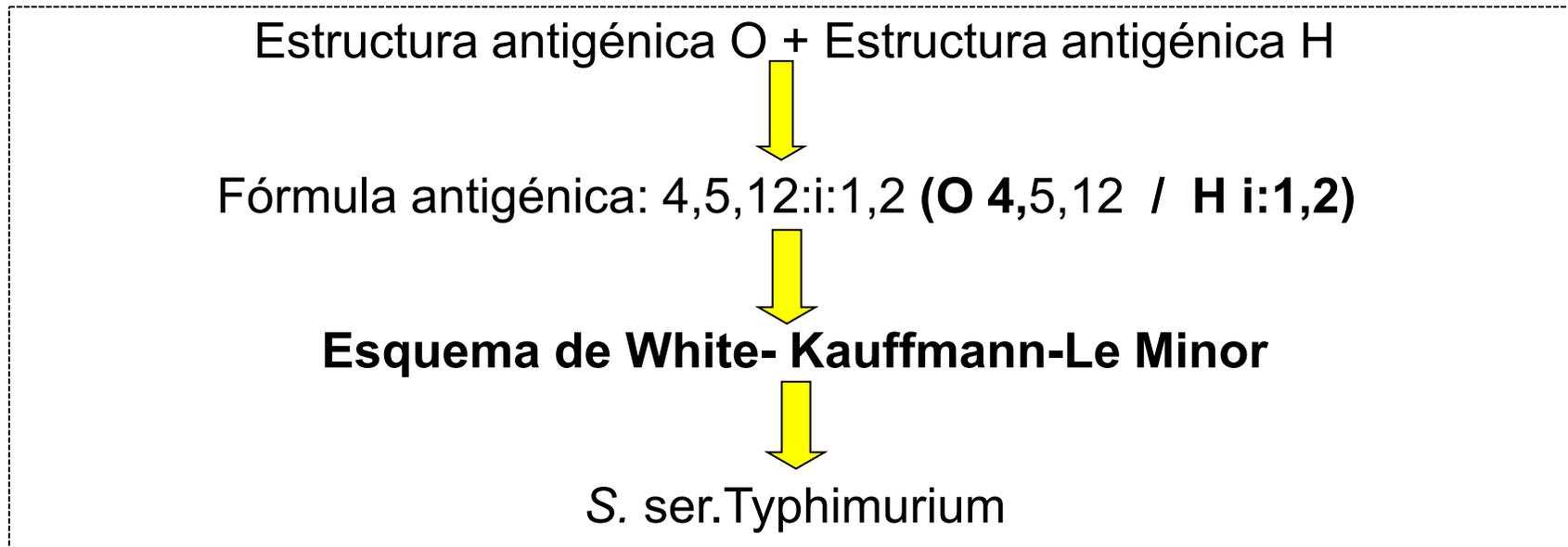


*Aislamiento de una variante monofásica de *Salmonella* Typhimurium (4,12:i:-), en cerdos con y sin diarrea, 2020
Estefanía Pérez ; Ibar, M; Dr. Javier Cappuccio ; Maria Alejandra Quiroga; Dr. Carlos Perfumo .Fac. Ciencias Veterinarias,
UNLP. Argentina.

SEROTIPIFICACION de *Salmonella*

(interpretación según Esquema de White Kauffmann Le Minor)

- Unas pocas serovariedades de *Salmonella* spp. poseen una sola fase flagelar, se denominan monofásicos
 - Ejemplo: *Salmonella* ser. Enteritidis (9,12:g,m:-)
- *Salmonella* ser. Typhi (9,12 [Vi]:d:-)
- se denominan difásicos : Ej. *S. Typhimurium*



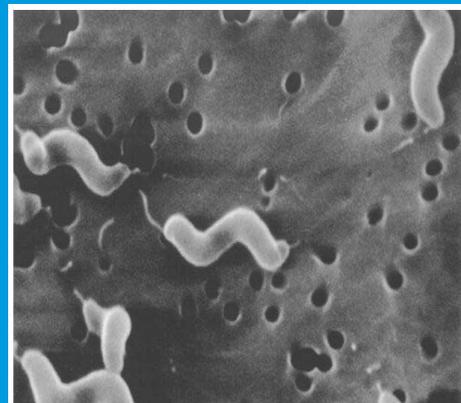
Relevancia Diagnóstica de *Salmonella*

- ❑ Identificación de *Salmonella* a partir de medios selectivos , diferenciales y pruebas bioquímicas y/o confirmación por técnicas genotípicas (PCR) o MaldiToF.

- ❑ **Serotipificación** convencional con antisueros , a veces cepas rugosas que requiere exaltar movilidad o usar técnicas genotípicas (PCR para serotipificación), interpretación según el esquema de White Kauffmann Le Minor.
 - Es un importante complemento de la identificación bioquímica.
 - Permite determinar la distribución de una serovariedad en distintas zonas geográficas y de distintos origen de muestra.
 - **Es marcador epidemiológico de utilidad en la vigilancia integral basada en el laboratorio y de ETA , para conocer fuente de infección y vías de transmisión**



CAMPILOBACTERIOSIS



Maria Isabel Farace
Servicio Bacteriología Sanitaria.
Departamento Bacteriología
mifarace@anlis.gob.ar

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



Organización de las Naciones
Unidas para la Alimentación
y la Agricultura



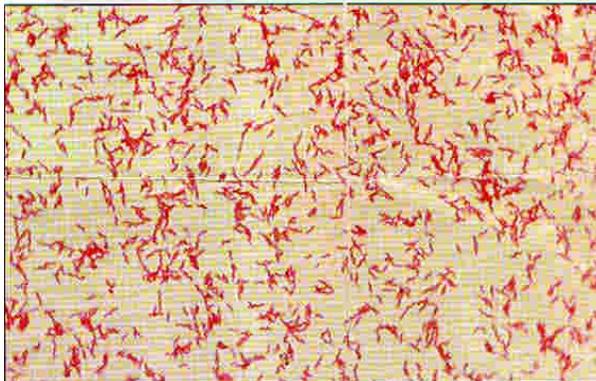
ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE SANIDAD ANIMAL
Proteger a los animales, preservar nuestro futuro



Unión Europea

CARACTERISTICAS GENERALES

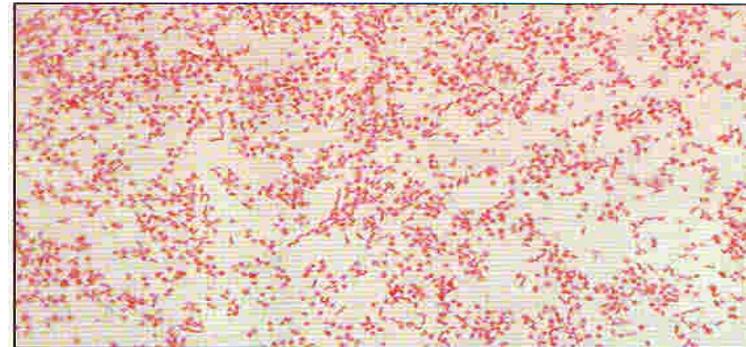
- Bacilos Gram negativos.
 - Tamaño: 0,2-0,5 μ
 - Curvos, espiralados o en forma de S.
 - Flagelo único en uno o en ambos extremos.
 - En cultivos de varios días, degeneran a formas cocoides.
 - **Crece en microaerofilia**
 - **Especies termotolerantes (42°C)**
 - **Especies oportunistas -C. fetus**
 - *Sensibles* al cloro, desecación, pH extremos, oxígeno
-
- cloro



Campylobacter jejuni

Campylobacter jejuni

Formas cocoides en cultivos viejos



TRABAJANDO
JUNTOS
PARA COMBATIR
LA RESISTENCIA
A LOS ANTIMICROBIANOS

Campylobacter termotolerantes

Morfología de colonias en agar Skirrow



TRABAJANDO
JUNTOS
PARA COMBATIR
LA RESISTENCIA
A LOS ANTIMICROBIANOS



Organización de las Naciones
Unidas para la Alimentación
y la Agricultura

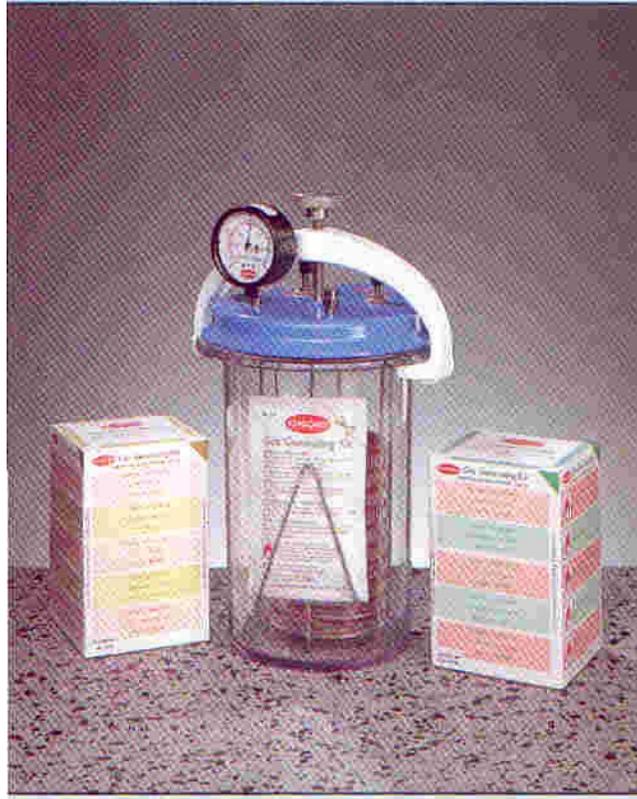


ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE SANIDAD ANIMAL
Proteger a los animales, preservar nuestro futuro



Unión Europea

Jarras y generadores de microaerofilia





Sistema de cambio de gases en jarra

- Bomba de vacío
- Jarra con manómetro
- Tubo con mezcla de gases

85% de N₂, 10% de CO₂ y 5% de O₂

Campylobacter: especies de patogenicidad bien reconocida para el hombre

➤ ***Campylobacter jejuni***

➤ ***Campylobacter coli***

(Ambas son especies termotolerantes (42°C temperatura óptima)

Niños y adultos inmunocompetentes:

Primera causa de diarrea en países desarrollados.

Segunda o tercera de diarrea en países en vías de desarrollo.

Excepcionalmente produce complicaciones extraintestinales: bacteriemias, meningitis, endocarditis, osteomielitis, etc.

Húespedes inmunocomprometidos:

Primer agente causal de diarreas

Pueden producir complicaciones extraintestinales frecuentemente.

➤ ***Campylobacter fetus*** (Especie no termotolerante)

Escaso hallazgo en diarreas

Agente de infecciones sistémicas: sepsis con fiebre prolongada e irregular, meningitis purulentas, formas supurativas localizadas, etc.

ESPECIES TERMOFILAS

- Crecen a 42 °C; no crecen a 25°C (*C. fetus*) todas a 37 °C
- *Campylobacter jejuni** (Subsp. jejuni y doylei). Agente causal de diarrea (más virulento, resistente a la fagocitosis)
- *Campylobacter coli** Produce diarrea más benigna.

(*)Comensales de intestino de: vacas, ovejas, cerdos, cabras, perros, roedores domésticos y silvestres y AVES. (TEMPERATURA CORPORAL 42 °C) MICROAEROFILIA DEBAJO DE LA PIEL Y PLEGUES DEL ALA

- *Campylobacter lari*. Ha sido aislado de intestino de gaviotas. No está definido el rol patógeno para el hombre.
- *Campylobacter upsaliensis*. Raro aislarlo de diarreas.
Produce bacteriemias en HIC. No está definida la fuente de infección. Relacionado con animales, especialmente perros, alimentos como leche no pasteurizada y derivados

Campylobacter en alimentos

- Se ha aislado de carne vacuna, aves, leche sin pasteurizar y agua sin tratar
- Aves: *C. jejuni*. En carcasas y heces
- Porcino: *C. coli* y poco frecuente *C. jejuni*
- Vacuno: ambos

La exposición al oxígeno (carne de vaca, cerdo, cordero) no permite la sobrevivencia de la bacteria, cuidado con la manipulación y la contaminación cruzada!



PUNTOS CRITICOS: FAENA Y EVISCERANCION



El cloro del agua se inactiva con presencia de materia orgánica:

(Grasa, piel, plumas, restos de vísceras , etc.)



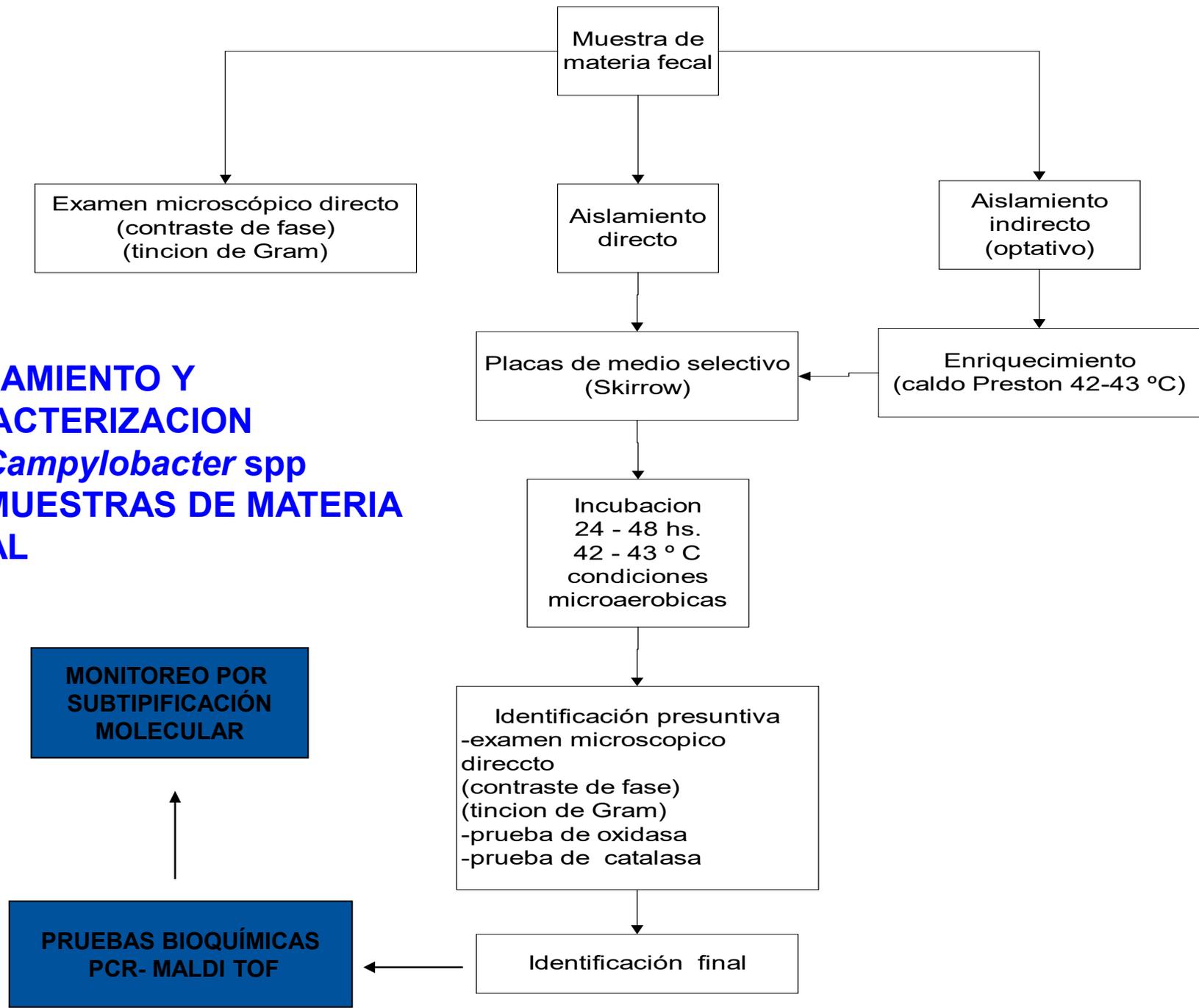




Toma y remisión de muestras

- Las muestras se deben tomar durante la diarrea aguda
- Colocar con un hisopo en un medio de transporte Cary Blair
- Conservar refrigerada en el medio de transporte y remitir en no mas de 4 días desde su recolección
- Si se remite sin medio de transporte (fresca) debe ser enviada en el tiempo mas breve posible (durante el día)

**AISLAMIENTO Y
CARACTERIZACION
DE *Campylobacter* spp
EN MUESTRAS DE MATERIA
FECAL**



Aislamiento de Campylobacter en muestras de alimentos

25 g de alimento en 100 ml de
caldo de enriquecimiento
(Preston)



Incubar 3 - 4 hs. a 37°C en
atmósfera microaéofila
(pre-enriquecimiento)



Continuar la incubación 24 - 48 hs.
a 42°C atmósfera microaéofila
(enriquecimiento)



Sembrar en 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

Estrategias para la identificación de *Enterococcus* spp.

Bioq. Mónica Prieto
Servicio Bacteriología Especial
Departamento Bacteriología
INEI-ANLIS Malbrán
mprieto@anlis.Gob.ar

TRABAJANDO
JUNTOS
PARA COMBATIR
LA RESISTENCIA
A LOS ANTIMICROBIANOS



Organización de las Naciones
Unidas para la Alimentación
y la Agricultura

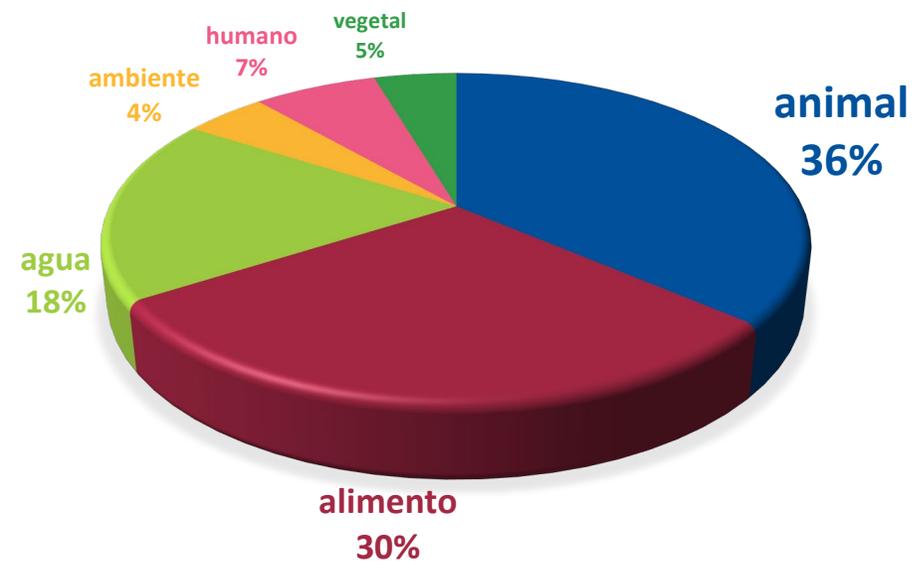
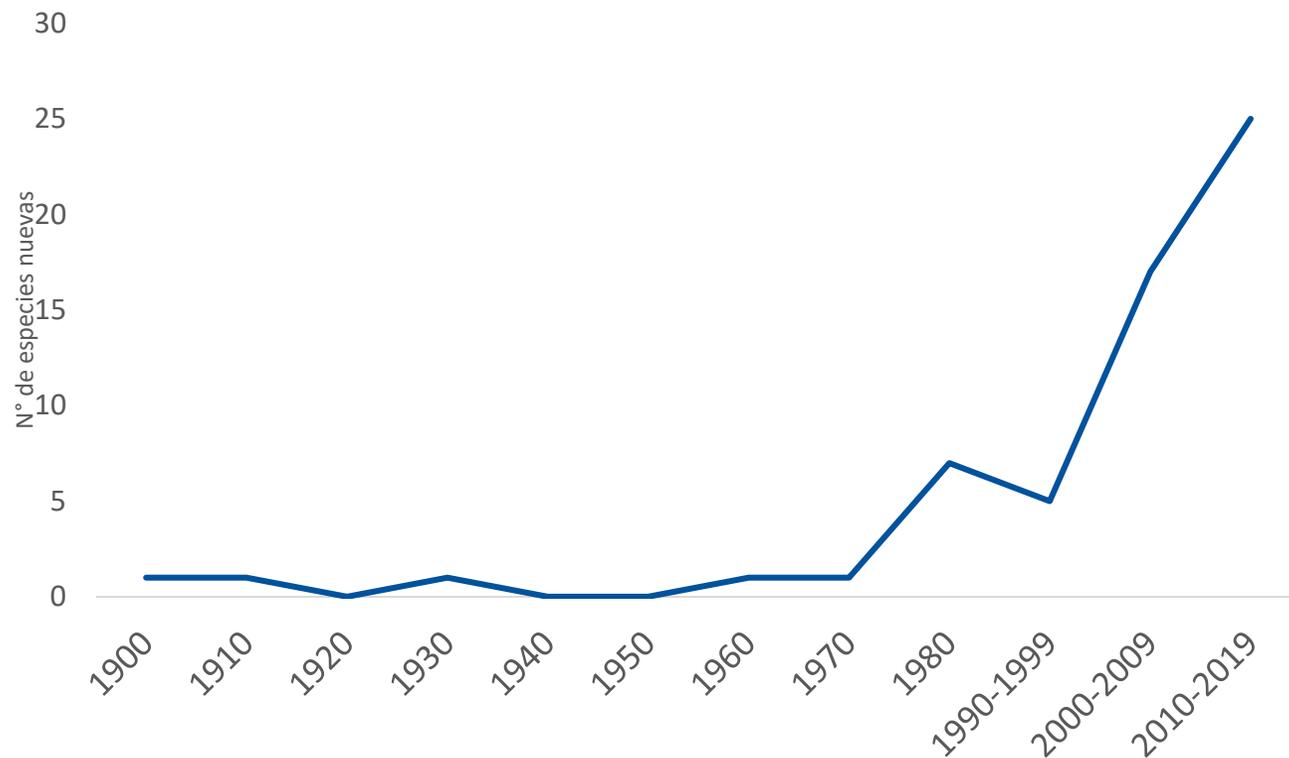


ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE SANIDAD ANIMAL
Proteger a los animales, preservar nuestro futuro



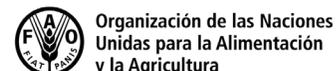
Unión Europea

Descripción de nuevas especies de *Enterococcus*



2000-2020

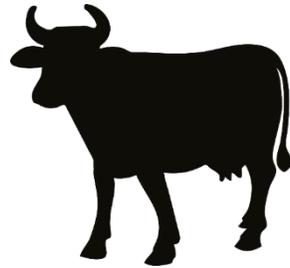
TRABAJANDO
JUNTOS
PARA COMBATIR
LA RESISTENCIA
A LOS ANTIMICROBIANOS



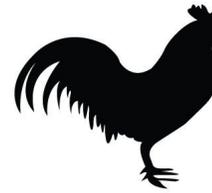
Distribución de especies



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



E. faecalis
E. faecium
E. hirae
otros

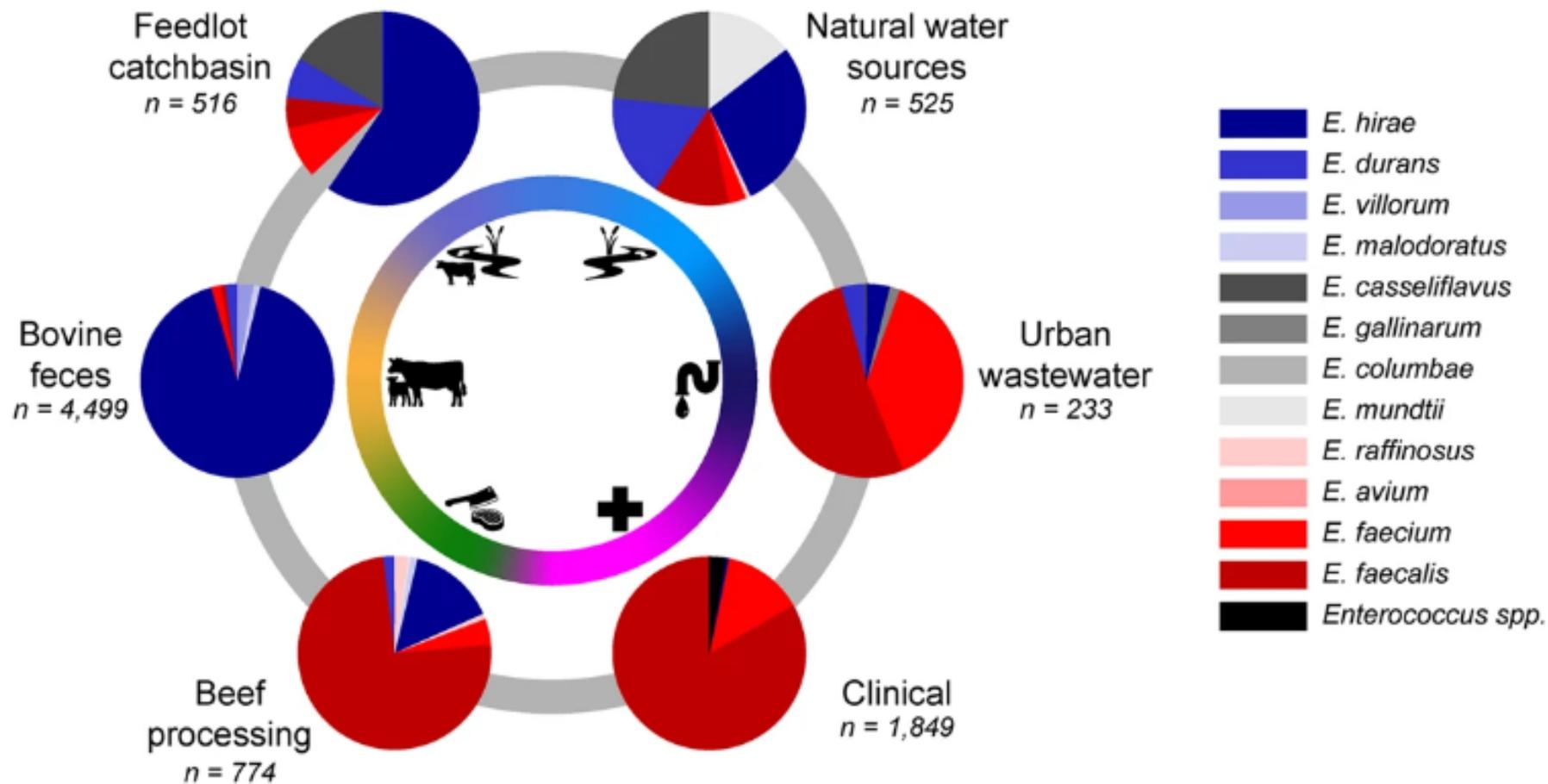


E. faecalis
E. faecium
E. cercorum
otros



E. faecalis
E. faecium
otros

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



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

Aislamiento

Muestra de sitio estéril:

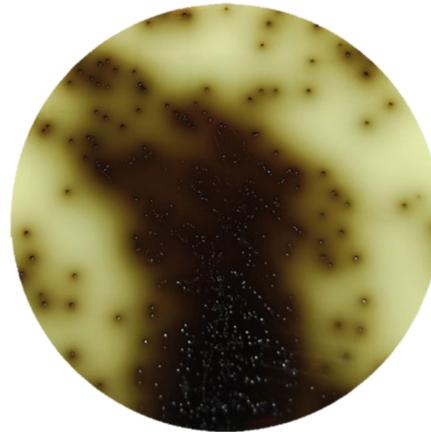
MEDIO NO SELECTIVO



Agar sangre 5%

Muestra de sitio no estéril:

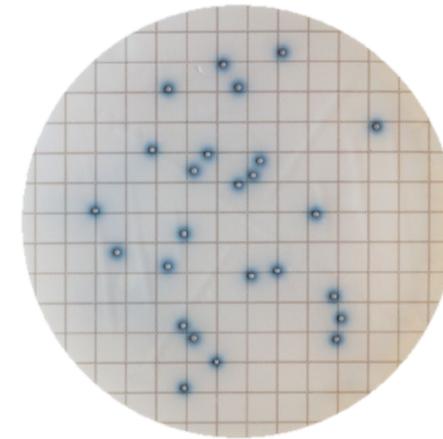
MEDIO SELECTIVO



Agar Bilis Esculina Azida

Muestras de agua:

FILTRACIÓN-MEDIOS SELECTIVOS



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).

TRABAJANDO
JUNTOS
PARA COMBATIR
LA RESISTENCIA
A LOS ANTIMICROBIANOS

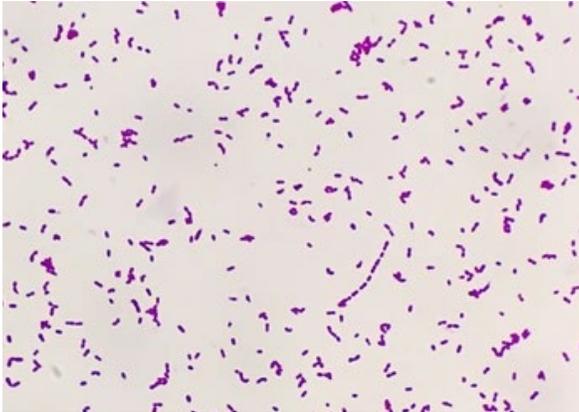
Identificación

1. Cocos gram positivos en cadenas
2. Hemólisis α o no hemolíticos en agar 5% sangre ovina
3. No producen citocromos= catalasa negativa
4. Hidrolizan la esculina en presencia de bilis (BE)
5. Desarrollan en NaCl 6.5%
6. Hidrolizan leucina β -naftilamina (LAP)
7. Hidrolizan Pirrolidoniol β -naftilamina (PYR)
8. Desarrollan a 10°C y 45°C
9. Reaccionan con grupo D de Lancefield

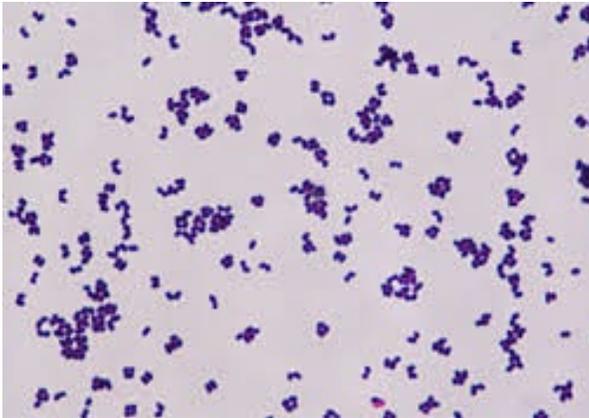
| | |
|------------------|----------|
| BE | + |
| NaCl 6.5% | + |
| PYR | + |
| LAP | + |

1. Cocos gram positivos en cadenas **MEDIO LÍQUIDO!!!!**

Caldo tioglicolato



Agar sangre



| | |
|------------------|----------|
| BE | + |
| NaCl 6.5% | + |
| PYR | + |
| LAP | + |

Enterococcus spp.



Cadenas

Aerococcus sanguinicola



Acúmulos, tetradas

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



2. Hemólisis α o no hemolíticos en agar 5% sangre ovina



33 %

E. faecalis

Beta hemolítico

(sangre caballo, humana, conejo)

Excepcionalmente

E. faecalis

E. durans

Beta hemólisis con cualquier tipo sangre

3. No producen citocromos= catalasa negativa

Cuidado si se realiza a partir de agar sangre (falso positivo)

No usar ansa de metal (falso positivo)



Catalasa negativa

Catalasa positiva

Identificación presuntiva *Enterococcus* sp

4. Hidrolizan la esculina en presencia de bilis (BE)
5. Desarrollan en NaCl 6.5%
6. Hidrolizan leucina β -naftilamina (LAP)
7. Hidrolizan Pirrolidonil β -naftilamina (PYR)
8. Desarrollan a 10°C y 45°C
9. Reaccionan con grupo D de Lancefield

| | |
|-----------|---|
| BE | + |
| NaCl 6.5% | + |
| PYR | + |
| LAP | + |

Géneros 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 | - | - |

Géneros 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%

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

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 comerciales

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

LIMITACIONES

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> | |

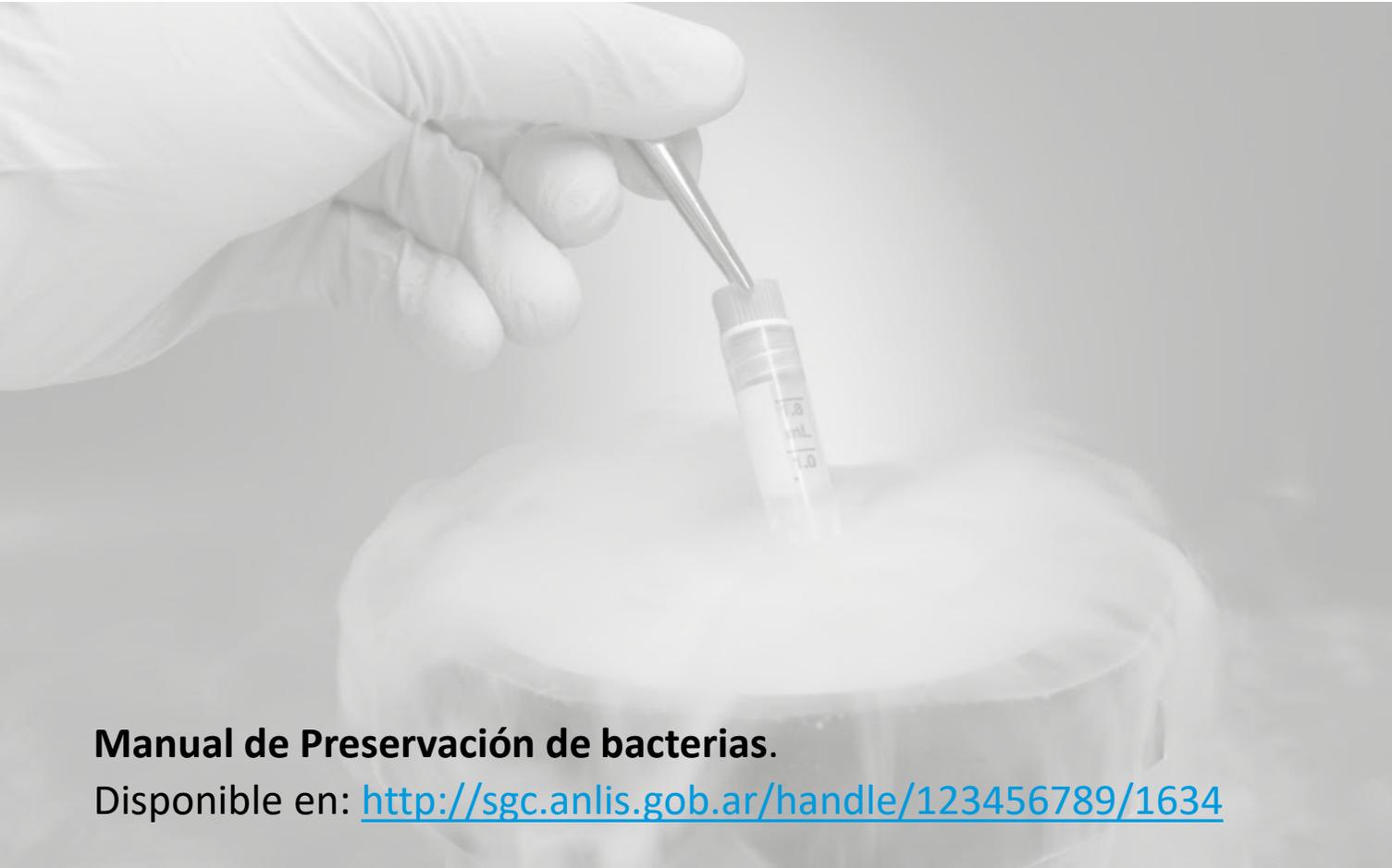
VITEK-MS (IVD)

| | |
|-------------------------|---------------------------|
| <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

PRESERVACIÓN



Manual de Preservación de bacterias.

Disponible en: <http://sgc.anlis.gob.ar/handle/123456789/1634>

LIOFILIZACIÓN (>30 años)

ULTRACONGELACIÓN (>20 años)

-20 °C (1 a 3 años)

Subcultivo en agar a 4 °C (hasta 4 meses)

Medio crioprotector

Leche descremada 10%

Caldo tripticasa de soja –glicerol 10%

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

MUCHAS GRACIAS POR SU ATENCION!

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

Isabel Chinen

Servicio Fisiopatogenia

INEI-ANLIS Dr Carlos G. Malbrán

ichinen@anlis.gob.ar

fisiopatogenia.anlis@gmail.com

Maria Rosa Viñas

Servicio Enterobacterias

mrvinas@anlis.gob.ar

vinasmr@gmail.com

Mónica Prieto

Servicio Bacteriología Especial

INEI-ANLIS Malbrán

mprieto@anlis.gob.ar

Maria Isabel Farace

Servicio Bacteriología Sanitaria.

Departamento Bacteriología

mifarace@anlis.gob.ar

TRABAJANDO
JUNTOS
PARA COMBATIR
LA RESISTENCIA
A LOS ANTIMICROBIANOS

