



**FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
ESCUELA DE TECNOLOGÍA MÉDICA**

**ACTUALIZACIÓN SOBRE EL GÉNERO *BACTEROIDES*:
TAXONOMÍA, CLÍNICA Y DIAGNÓSTICO**

**MEMORIA PARA OPTAR AL GRADO
DE LICENCIADO EN TECNOLOGÍA MÉDICA**

**AUTORA: IGNACIA MIRANDA MUÑOZ
PROFESORA GUÍA: TM Mg. CLAUDIA MORA PAREJA.**

TALCA-CHILE

2022

CONSTANCIA

La Dirección del Sistema de Bibliotecas a través de su unidad de procesos técnicos certifica que el autor del siguiente trabajo de titulación ha firmado su autorización para la reproducción en forma total o parcial e ilimitada del mismo.



Talca, 2023

Dedicatoria

A mi familia, que no me permitió rendirme.

A mi mamá que me llenaba de cariño y chocolates en las largas noches de estudio, a mi papá que me preguntaba y conversaba siempre de la carrera, dándome cuenta lo mucho que me gusta, a mi hermana menor recordándome lo inteligente que soy y puedo ser y a mi hermana Valentina, que siempre estuvo preocupada de cada paso en mi vida universitaria y que confió en mí desde el día uno.

A mis amigos y a las personas que hicieron esto posible.

Agradecimientos

A mis docentes de Tecnología médica y a todos quienes me enseñaron en la universidad, tanto de materia como de la vida. A mi profesora guía Claudia Mora Pareja, quien me apoyo y acompaño en este proyecto.

INDICE

RESUMEN.....	7
INTRODUCCIÓN.....	8
OBJETIVOS.....	10
1. OBJETIVO GENERAL	10
2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS	10
METODOLOGÍA DE BÚSQUEDA Y ORGANIZACIÓN DE LA INFORMACIÓN	11
MARCO TEÓRICO	12
1. INTRODUCCIÓN AL GÉNERO <i>BACTEROIDES</i>	12
1.1. Generalidades del género <i>Bacteroides</i>	12
2. CARACTERÍSTICAS BIOQUÍMICAS Y TAXONÓMICAS	14
3. PATOGENICIDAD	17
3.1. Factores de virulencia en <i>Bacteroides</i>	19
4. EVASIÓN DE LA RESPUESTA INMUNE	20
5. EPIDEMIOLOGÍA.....	22
6. ESPECIES DEL GÉNERO <i>BACTEROIDES</i>	24
6.1. <i>Bacteroides fragilis</i>	24
6.2. <i>Bacteroides thetaiomicon</i>	28
6.3. <i>Bacteroides vulgatus</i>	31
7. PRINCIPALES INFECCIONES ASOCIADAS CON <i>BACTEROIDES</i>	32
8. RELACIÓN CON ENFERMEDADES INTRAABDOMINALES	34
9. RESISTENCIA A ANTIBIÓTICOS	35
10. TRATAMIENTO	38
11. CULTIVO Y DETECCIÓN	40
11.1. Muestras	40
11.2. Requisitos para la recolección de muestras para microbiología anaeróbica	41
11.3. Transporte de muestras.....	41
11.4. Métodos de cultivo.....	43
11.4.1. Agar <i>Bacteroides bilis esculina</i> (BBE) con amikacina	43
11.4.2. <i>Bacteroides Fragilis</i> Isolation Agar	46
11.5. Detección y diagnóstico	49
CONCLUSIONES.....	58
BIBLIOGRAFÍA.....	60

ÍNDICE DE TABLAS

	Pág.
Tabla 1: Taxonomía de <i>Bacteroides</i>	14
Tabla 2: Clasificación Según Tolerancia A La Bilis.....	16
Tabla 3: Incidencia De Bacteroides Spp. En Heces Y Muestras Clínicas.....	29
Tabla 4: Reactivos Agar Bilis Esculina <i>Bacteroides</i> (BBE) Con Amikacina.....	44
Tabla 5: Resultados Agar Bilis Esculina <i>Bacteroides</i> (BBE) Con Amikacina.....	46
Tabla 6: Bd Schaedler Kanamicina-Vancomicina. Agar Con 5% de Sangre De Carnero.....	48
Tabla 7: Resultados Control De Calidad, Agar Bd Schaedler Kanamicina-Vancomicina. Agar Con 5% De Sangre De Carnero.....	49

ÍNDICE DE FIGURAS

	Pág.
Figura 1: Ubicación habitual de <i>Bacteroides Spp</i>	17
Figura 2: Tinción Gram De <i>Bacteroides fragilis</i>	24
Figura 3: Micrografías Electrónicas de Especies de <i>Bacteroides</i> de Referencia...	27
Figura 4: Variación de La Estructura Superficial: Variación De Fase.....	28
Figura 5: Mecanismo de Diseminación De <i>Bacteroides Spp</i>	33
Figura 6: Frasco Transporte Anaerolin®.....	42
Figura 7: Resultados Agar <i>Bacteroides Bilis Esculina</i> (Bbe) Con Amikacina.....	45
Figura 8: Thermo Scientific™ Remel™ <i>Bacteroides Fragilis</i> Isolation Agar.....	47
Figura 9: Funcionamiento EM MALDI-TOF.....	51
Figura 10: Etest® Tiras De Antibiograma Listas Para Su Uso Para Determinar Gradiente De CMIS.....	55
Figura 11: Métodos Actuales de Detección de Resistencia de Bacterias del Género <i>Bacteroides</i>	57

RESUMEN

Las bacterias del género *Bacteroides* son bacilos Gram negativo anaerobios, siendo el grupo más importante de anaerobios que causan infecciones en humanos.

Colonizadores predominantes de la mucosa intestinal, oral y genitourinaria, se caracterizan por ser microorganismos comensales, pero cuando cambian las cualidades del medio pueden convertirse en importantes agentes patógenos, capaces de generar enfermedades graves e incluso la muerte.

Dentro de las especies principales tenemos a *Bacteroides fragilis*, especie más relevante del género, *Bacteroides thetaiotaomicron* y *Bacteroides ovatus*.

Bacteroides posee una patogenicidad asociada a factores de virulencia tales como, presencia de una cápsula polisacárida, toxinas, fimbrias, proteína de membrana externa, lipopolisacáridos, enzimas y algunos metabolitos.

Son resistentes a antibióticos, como betalactámicos, lincosamidas, tetraciclinas, glicopéptidos, entre otros. El metronidazol es el antimicrobiano de elección para el manejo de infecciones producidas por *Bacteroides*, ya que es uno de los antibióticos a los que este microorganismo ejerce menos resistencia y posee mayor actividad.

Para el cultivo, transporte y detección de *Bacteroides*, se utilizan muestras de heces, sangre, heridas, abscesos, exudado y LCR, el medio de transporte debe ser en un ambiente de anaerobiosis, como el frasco transporte AnaeroLin®. Para el cultivo se utilizan, el agar *Bacteroides bilis* esculina con amikacina y el agar BD Schaedler Kanamicina-Vancomicina.

La detección y diagnóstico actual se realiza a través de métodos como EM MALDITOF y PCR, esto para apoyar y en un futuro reemplazar a las pruebas de bioquímica clásica, ya que estos métodos poseen mayor resolución y rapidez.

El objetivo principal es dar a conocer este relevante género bacteriano, su importancia clínica y principalmente, la actualización respecto a métodos de identificación y detección.

Palabras clave: *Bacteroides*, diagnóstico, enfermedades, bacterias anaerobias, especies de *Bacteroides*, microbiota humana.

INTRODUCCIÓN

La microbiota intestinal hace referencia al ecosistema de microorganismos que colonizan el tracto intestinal que juegan un papel importante en la salud humana.

Dentro de esta microbiota, tenemos a las bacterias anaerobias, las cuales constituyen el grupo más numeroso, alcanzando densidades de alrededor de 10^{11} unidades formadoras de colonias por g (UFC/g) en el intestino grueso. Pueden actuar como patógenos y estar involucradas en infecciones oportunistas.

La aparición de nuevas técnicas de investigación han permitido no sólo describir la composición de la comunidad bacteriana que habita el tracto gastrointestinal, sino también las funciones metabólicas de las que proveen al huésped.

Gran parte de la microbiota adulta sana, está constituida por dos filos bacterianos, los cuales son los *Firmicutes* y los *Bacteroidetes*, principalmente *Bacterioides*.

Los integrantes del género *Bacterioides* son bacterias anaerobias, comensales y mutualistas, por lo que constituyen uno de los componentes principales de la microbiota intestinal, lo que sugiere una fuerte adaptación a él. Son bacterias que aportan en la biotransformación del ácido biliar, compiten por nutrientes con patógenos verdaderos como *Salmonella spp.*, su metabolismo anaerobio provee una gran cantidad de energía. Además, tienen la capacidad de fermentar carbohidratos.

Este género ha despertado gran interés en la comunidad científica, ya que a pesar de ser un grupo de bacterias beneficiosas para sus hospederos, algunas especies tienen la capacidad de transformarse en patógenos oportunistas, volviéndose patógenos clínicos importantes, incluso contribuyendo a enfermedades celiacas y cáncer, por lo que son frecuentemente aislados en relevantes infecciones anaerobias en seres humanos, tanto por su morbilidad, pudiendo causar infecciones en la cavidad peritoneal y gastrointestinal, y mortalidad, la cual es del 19%.

Además, han desarrollado gran cantidad de factores de virulencia, que le permiten adherirse, invadir y constituirse en biofilms, se asocian con una elevada mortalidad,

probablemente vinculada a la presencia de cápsula, a la producción de endotoxinas y las altas tasas de resistencia contra los antimicrobianos.

Bacteroides es resistente a una amplia variedad de antibióticos, entre los que se encuentran betalactámicos y aminoglicósidos. Este alto nivel de resistencia antibiótica produce una gran preocupación y amenaza para la salud humana, debido a la posible transferencia de estas resistencias a otras especies bacterianas más patógenas. Lo anterior implica un reforzamiento en la vigilancia epidemiológica de esta resistencia con el fin de evitar fallos terapéuticos.

Dentro de este género tenemos a *Bacteroides fragilis*, la más relevante del grupo, la cual ha registrado una resistencia emergente hacia antimicrobianos de la familia de los carbapenémicos con cursos clínicos letales. Se considera la especie más virulenta y se ha relacionado con diversas infecciones como la sepsis intraabdominal, abscesos profundos e infecciones necrotizantes de la piel y los tejidos blandos.

En esta revisión, se pretende realizar una actualización sobre el género *Bacteroides*, sus generalidades, taxonomía, patogénesis, identificación y detección, relevancia en el laboratorio, cuadros clínicos y diagnóstico, resistencia a antibióticos, además de profundizar sobre las especies del género clínicamente más relevantes.

OBJETIVOS

1. OBJETIVO GENERAL

- 1.1. Desarrollar una revisión actualizada del género *Bacteroides* y sus especies con mayor importancia clínica.

2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- 2.1. Revisar la taxonomía, morfología y características bioquímicas correspondientes al género *Bacteroides*.
- 2.2. Informar la importancia clínica, detección y diagnóstico actualizado de las infecciones relacionadas al género *Bacteroides*.
- 2.3. Describir las principales especies de *Bacteroides* con capacidades patogénicas que pueden afectar a los seres humanos.

METODOLOGÍA DE BÚSQUEDA Y ORGANIZACIÓN DE LA INFORMACIÓN

Se realizó una revisión de tipo virtual sobre la información disponible acerca del género *Bacteroides*, sus generalidades, taxonomía, patogenicidad, epidemiología, especies, tratamiento, etc.

Adquirida de fuentes de información online, como: los motores de búsqueda Pubmed y Google académico, bases de datos como Scopus, Web of science, bibliotecas electrónicas como Scielo, editoriales como Elsevier y Science Direct, etc. Y a través de documentos, manuales y libros online sobre microbiología.

Las palabras clave para realizar la investigación fueron: *Bacteroides*, microbiota humana, bacterias anaerobias, especies del género *Bacteroides*.

No existió un límite referido a idiomas, pero principalmente se obtuvo información en inglés y secundariamente en idioma español.

Si existió un límite de años para adquirir la información, el cual fue entre el año 2004 y 2022, con una excepción basada en la información aportada en documentos por el descubridor del género.

No fue necesario la aprobación de un comité ético debido a que la información utilizada ya se encuentra aprobada por cada revista y fuente de información, no se utilizaron animales y ningún ser viviente con motivo de investigación.

MARCO TEÓRICO

1. INTRODUCCIÓN AL GÉNERO *BACTEROIDES*

1.1. Generalidades del género *Bacteroides*

Las bacterias pertenecientes al género *Bacteroides* son bacilos Gram negativo, anaerobios estrictos, ya que el oxígeno es tóxico para esta clase de bacterias, lo que puede explicarse por la ausencia de enzimas catalasa, superóxido dismutasa y peroxidasa, las cuales sirven de defensa antioxidante ante este elemento (1-3). Es el grupo más importante de anaerobios que causan infecciones en humanos, no forman endosporas, dentro del género pueden ser móviles o inmóviles, sus integrantes se caracterizan por ser sacarolíticos, es decir, producen acetato y succinato como los principales productos finales metabólicos de los carbohidratos (4), son resistentes a la bilis al 20% (5) y generalmente no pigmentados, pero pueden presentar un pigmento café en agar sangre (6).

Las especies de *Bacteroides* producen colonias grandes a las 48 h de incubación, grises, convexas sobre medios de cultivo nutritivos (6).

Son colonizadores predominantes de la mucosa intestinal, oral y genitourinaria (4). El rol principal de *Bacteroides* se basa en la función mutualista del metabolismo (1). Genera beneficios en su hospedero mediante la exclusión de patógenos potenciales en las zonas donde habita, como el intestino, previene la invasión de agentes infecciosos y evita el sobrecrecimiento de especies residentes con potencial patógeno (7).

La propiedad sacarolítica de *Bacteroides*, especialmente de *B. thetaiotaomicron*, le permite procesar diversos polisacáridos del hospedero y de la dieta para satisfacer sus propias necesidades metabólicas, facilitando la digestión y la liberación de nutrientes para su hospedero y bacterias comensales (5).

Sin embargo, algunas especies, como *B. fragilis*, son patógenos oportunistas, capaces de causar infecciones en la cavidad peritoneal, en cirugías gastrointestinales, y apendicitis a través de la formación de abscesos (4). Además, pueden inducir la inhibición de la respuesta inmune y la inactivación de algunos antibióticos betalactámicos (8).

El género *Bacteroides* está compuesto por las especies: *B. fragilis*, *B. thetaiotaomicron*, *B. ovatus*, *B. vulgatus*, *B. intestinalis*, *B. gingivalis*, entre muchos otros (4).

2. CARACTERÍSTICAS BIOQUÍMICAS Y TAXONÓMICAS

Se propuso el Género *Bacteroides*, para agrupar a la mayoría de los bacilos anaerobios estrictos Gram negativo. La primera especie perteneciente al género *Bacteroides* fue descrita en 1898 como *Bacillus fragilis*, luego fue reclasificada en 1919 como *Bacteroides fragilis* (9).

Durante muchos años los *Bacteroides* fueron un conjunto de bacilos pleomórficos Gram negativo, anaeróbicos obligados, asociados con el hospedador, que no podían ser asignados a ningún otro género (4).

Divergió bastante temprano en el linaje evolutivo de las bacterias, por lo que los *Bacteroides*, aunque son organismos Gram negativo, no están estrechamente relacionados con los Gram negativo entéricos como *Escherichia coli* (9).

La morfología y afinidad tintorial de los bacilos anaerobios Gram negativo varía según las diferentes especies. Las de *Bacteroides*, por lo general, aparecen como bacilos pleomórficos que se tiñen débilmente con la tinción de Gram (10).

La clasificación taxonómica de este género mostrada en la tabla 1, fue posible gracias a la caracterización filogenética de la subunidad 16S del ARN ribosómico bacteriano (1)

Tabla 1. Taxonomía de *Bacteroides*.

Clasificación científica de <i>Bacteroides fragilis</i>	
Reino	Bacteria
Filo	<i>Bacteroidetes</i>
Orden	<i>Bacteroidales</i>
Familia	<i>Bacteroidaceae</i>
Género	<i>Bacteroides</i>

Tomado de Alves J, et al., 2017 (11).

Las especies identificadas se clasifican en dos grupos: *fragilis* y *no fragilis*. El grupo *Bacteroides fragilis* incluye, entre otras, la especie *Bacteroides fragilis*, la cual es la más relevante desde el punto de vista clínico-patológico y más frecuentemente aislado de muestras clínicas. En este momento, se incluyen más de veinte especies en el género (4).

Hasta la actualidad se han realizado una gran cantidad de cambios taxonómicos dentro del género *Bacteroides*, quizás porque en el pasado existía una definición escasa del género, incluía más de 50 especies (12).

Se propuso una reclasificación del género *Bacteroides* en dos nuevos géneros: *Porphyromonas*, que incluía aquellas especies asacarolíticas de *Bacteroides* y las especies productoras de pigmento, entre las que encontramos *Bacteroides gingivalis*, *Bacteroides asaccharolyticus*, y *Bacteroides endodontalis*, y *Prevotella*, que incluía las especies moderadamente sacarolíticas, predominantes en cavidad bucal (13, 14).

Más recientemente fue propuesto un nuevo género, *Tannerella*, importante en la patogénesis de enfermedad periodontal, *Bacteroides forsythus* se reclasificó como *Tannerella forsythensis* (13).

Taxonómicamente, el género *Bacteroides* puede ser dividido en especies que son resistentes a una concentración del 20% de bilis (5, 15) y otras que son sensibles. Las sales biliares, forman parte de la bilis, son compuestos antibacterianos que alteran las membranas, desnaturalizan proteínas, y pueden causar daño oxidativo al ADN. Las especies bacterianas adaptadas al intestino de mamíferos pueden soportar las actividades antibacterianas de la bilis mediante ajustes fisiológicos que incluyen la remodelación de la envoltura celular y la activación de los sistemas de eflujo y las respuestas al estrés (15).

Dentro de las especies bilis resistentes tenemos al grupo *fragilis* que comprende 10 especies (16), las cuales son el principal tipo de bacterias anaerobias Gram negativo que se suele aislar a partir de muestras clínicas (17) y un grupo *no fragilis* formado por 5 especies, además dentro del grupo bilis sensibles tenemos 3 especies, mostrado en la tabla 2 (16).

Tabla 2. Clasificación según tolerancia a la bilis.

Especies bilis resistentes		Especies bilis-sensibles
Grupo <i>Bacteroides fragilis</i>	Otras especies de <i>Bacteroides</i>	
<i>Bacteroides caccae</i>	<i>Bacteroides coagulans</i>	<i>Bacteroides capillosus</i> (algunas cepas son bilis-resistentes) <i>Bacteroides forsythus</i> (recientemente reclasificado como <i>Tannerella forsythensis</i>) <i>Bacteroides ureolyticus</i>
<i>Bacteroides distasonis</i>	<i>Bacteroides putredenis</i> (algunas cepas son bilis-sensible)	
<i>Bacteroides eggerthii</i>	<i>Bacteroides pyogenes</i>	
<i>Bacteroides fragilis</i>	<i>Bacteroides splanchnicus</i>	
<i>Bacteroides merda</i>	<i>Bacteroides tectus</i>	
<i>Bacteroides ovatus</i>		
<i>Bacteroides stercoris</i>		
<i>Bacteroides thetaiotaomicron</i>		
<i>Bacteroides uniformis</i>		
<i>Bacteroides vulgatus</i>		

Tomado de López Pesántez AM, Samaniego Jara JM, 2016 (16).

3. PATOGENICIDAD

Como se mencionó anteriormente, las bacterias que componen el género *Bacteroides* generan una gran cantidad de beneficios en la salud de su huésped, pero también, son capaces de generar importantes enfermedades humanas, siendo agentes etiológicos en múltiples infecciones importantes, tanto por su morbilidad como mortalidad (1). Por lo general, invaden como patógenos oportunistas a través de una ruptura en los tejidos. Algunas especies producen factores de virulencia o interfieren con las defensas del huésped (6).

Los *Bacteroides* habitan la cavidad oral, gastrointestinal y urogenital (figura 1), son capaces de generar infecciones graves cerca de superficies mucosas y heridas, además de bacteriemias, abscesos y lesiones, infectando la cavidad peritoneal, causando cuadros de apendicitis y peritonitis, entre otras enfermedades (4).

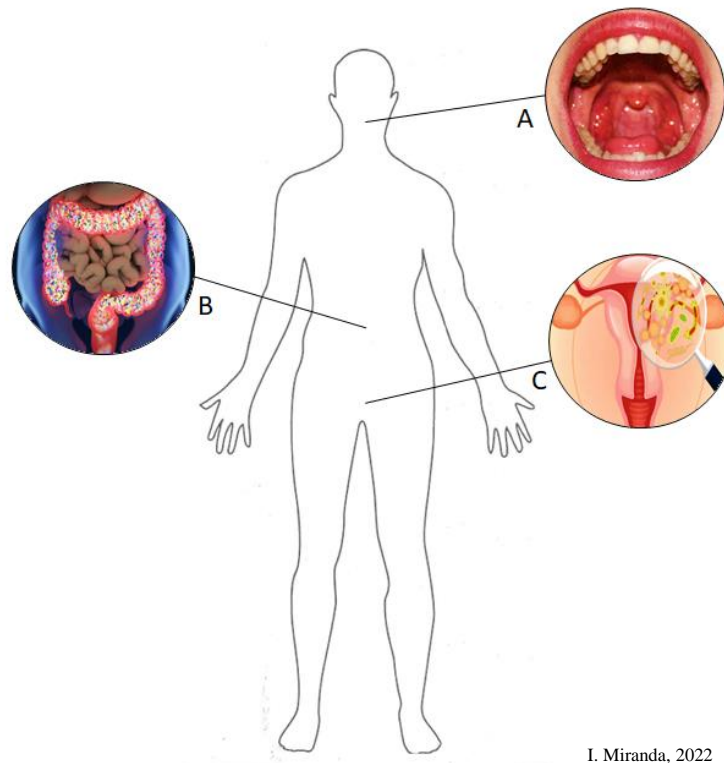


Figura 1. Ubicación habitual de *Bacteroides spp.* Bacterias Normalmente comensales, constituyen el principal componente de la microbiota (A) oral, (B) intestinal y (C) genitourinaria, encontrándose principalmente a nivel vaginal (4).

La transformación de un microorganismo comensal en uno patógeno puede deberse a la adquisición de genes que codifican para factores de virulencia, entre los que tenemos, habilidad de adhesión e invasión de tejidos, producción de toxinas, síntesis de enzimas histolíticas, producción de superóxido dismutasa y catalasa, formación de biopelículas, además de polisacáridos capsulares y lipopolisacáridos (4, 18).

Algunos *Bacteroides*, al final de la 2da - 3ra generación en contacto con el aire, aumentan la transcripción de los genes que codifican la superóxido dismutasa, volviéndose más aerotolerables, adaptados al medio ambiente y virulentos hacia el huésped (11).

En miembros del grupo *B. fragilis*, es conocida la patogenicidad asociada a factores de virulencia tales como la presencia de una cápsula polisacárida responsable de la formación de abscesos, los cuales, al romperse pueden causar bacteriemia e infección diseminada, lo cual supone un gran riesgo a la vida del paciente (19). Además poseen enzimas histolíticas que pueden mediar la destrucción tisular (20).

Las especies del género *Bacteroides* no solo producen su propio efecto patogénico en el huésped, sino que también son capaces de darle esta capacidad patogénica a bacterias de otros géneros, como por ejemplo *Escherichia coli* (1).

El patógeno intestinal enterohemorrágico *E. coli* (*EHEC*) es conocido por generar el borramiento de las microvellosidades de los enterocitos y producir toxinas, lo que causa diarrea sanguinolenta afebril y síndrome hemolítico urémico. Sorprendentemente, su patogenicidad se ve reforzada por *Bacteroides thetaiotaomicron* y *B. vulgatus*, los cuales aumentan la expresión de sus genes de virulencia (1).

Sumado a lo anterior, entre las características patogénicas que posee el género *Bacteroides*, tenemos la transferencia cromosómica, la cual actúa como un impulsor de la diversidad antigénica y la adaptación de nutrientes, lo que permite una mejor adaptación al entorno e incluso puede conferir características patogénicas entre las especies de este género, ya que un locus de patogenicidad se podría transferir de una cepa productora de toxina a cepas receptoras no toxigénicas (21).

3.1. Factores de virulencia en *Bacteroides*

La adhesión de las bacterias a las células epiteliales es un paso importante en el proceso infeccioso, siendo un prerrequisito para la colonización, es un proceso irreversible y que previene que las bacterias sean rápidamente eliminadas por mecanismos de defensa del hospedero (22). Se ha observado que la unión de *B. fragilis* y *B. ovatus* a las células intestinales está mediada por estructuras tipo pili. Además, se ha descrito la presencia de fimbrias peritricas y adhesinas tipo lectina en algunas cepas de *B. fragilis* (4).

Otros factores de virulencia de *B. fragilis* son, cápsula, fimbrias, proteína de membrana externa, lipopolisacáridos, enzimas, biofilms y algunos metabolitos (23).

Además, las cepas enterotoxigénicas de *B. fragilis* producen una exotoxina de 20 kDa, perteneciente a la familia de las metaloproteasas dependientes del zinc, denominada fragilisina, la cual es una metaloproteasa extracelular, citopática para las células epiteliales intestinales e induce la secreción de líquido y daño tisular en el intestino, se asocia cuadros diarreicos en neonatos, niños y adultos (21, 23). El gen de esta exotoxina está contenido dentro de un elemento genético denominado islote de patogenicidad de la fragilisina (21).

4. EVASIÓN DE LA RESPUESTA INMUNE

El sistema inmune es la herramienta fisiológica formada por un conjunto de moléculas, células y tejidos que nos defienden de las agresiones causadas por agentes externos o desconocidos, como microorganismos patógenos. Este sistema se divide en sistema inmune innato y adquirido (24). El sistema inmune innato brinda una temprana e inespecífica respuesta contra los microorganismos. El sistema inmune adquirido humoral y celular nos brinda una respuesta específica para diferentes moléculas, posee memoria frente a los antígenos y diversidad para reaccionar a una gran variedad de antígenos (25).

Los microorganismos patógenos producen factores de virulencia, que son moléculas que permiten inhabilitar o eludir las defensas del hospedero y lograr los efectos necesarios para garantizar su sobrevivencia. Entre las funciones más importantes están la adherencia y colonización, invasión celular, producción de toxinas y la evasión del sistema inmune (26).

La inmunoevasión es un mecanismo para evadir las defensas del sistema inmune. Diversos microorganismos, incluidas bacterias, emplean factores para evitar ser destruidos por la respuesta humoral o celular del hospedador. Entre estos factores tenemos el polisacárido capsular, los lipopolisacáridos y diversas enzimas que los protegen de la respuesta inmune (20, 27).

Los lipopolisacáridos (LPS) se encuentran abundantemente en la membrana externa de las bacterias gramnegativas y es un potente estimulador de la respuesta inmunitaria. Los microorganismos cuentan con sistemas que les permiten controlar la expresión y estructura del LPS, lo cual es útil para modular la respuesta inmunitaria del hospedero y lograr la infección (28).

El LPS es una molécula que puede ser dividida en tres regiones: la porción del lípido A, el núcleo de oligosacáridos y el antígeno O. La región del lípido A representa el centro inmunorreactivo del LPS debido al reconocimiento de esta estructura por numerosos componentes de la inmunidad innata (28).

Existen diferencias en la estructura del lípido A entre las especies de bacterias. Por ejemplo, el lípido A puede variar dependiendo de la especificidad de las enzimas que realizan

la acilación de los residuos de azúcares, como es el caso de *Bacteroides fragilis*, en donde las enzimas que catalizan la acilación de los restos de azúcar parecen ser multifuncionales, por lo tanto, son capaces de reconocer más de una cadena de acilo específica como sustrato (28).

Esta diferencia puede ocasionar que el reconocimiento del lípido sea más débil, lo cual permite que los patógenos puedan evadir la respuesta inmune innata y afecten a la inmunidad adaptativa (28).

Respecto al antígeno o cadena O, está totalmente ausente en las bacterias pertenecientes al género *Bacteroides* (29).

Sumado a lo anterior, *B. fragilis* tiene la capacidad de producir ácidos grasos de cadena corta que pueden inhibir la actividad bactericida de los neutrófilos, así como la capacidad de esta bacteria de interactuar con macrófagos peritoneales induciendo actividad procoagulante y deposición de fibrina, lo que dificulta la eliminación de los microorganismos infectantes (4).

5. EPIDEMIOLOGÍA

Las bacterias anaerobias están relacionadas en los medios hospitalarios como causa importante de morbilidad, razón por la cual es conveniente conocer la epidemiología y prevalencia de especies involucradas (30).

Están diseminadas en la naturaleza, la mayoría de estas bacterias que causan infecciones en humanos son parte de la microbiota normal de piel y mucosas, superando en cantidad a las bacterias facultativas en el intestino por un factor de 1000:1, mientras que en piel, boca, vías aéreas superiores y tracto genital inferior femenino la relación anaerobios facultativos es de 10:1 (30).

Como se mencionó anteriormente, los microorganismos pertenecientes al género *Bacteroides*, son bacterias anaerobias y comensales, forman el componente principal de la microbiota gastrointestinal, vaginal (23, 31) y bucal (13) en la especie humana. Es el género más abundante en el hábitat intestinal (32). Es el anaerobio más importante desde el punto de vista clínico, ya que posee una alta frecuencia de aislamiento (31).

Son las especies de anaerobios que se aíslan con mayor frecuencia en casos de abscesos, osteomielitis, enfermedad vascular periférica y úlceras de decúbito (4).

Los casos de bacteriemias causadas por bacterias anaerobias son poco frecuentes, pero cuando ocurren, la mayor parte de las veces, el agente etiológico pertenece al género *Bacteroides*, las fuentes más importantes de estas bacteriemias son las cirugías y las enfermedades intestinales. Asimismo, en las pericarditis, cuando se involucran anaerobios, las especies de *Bacteroides* son predominantes, probablemente por diseminación vía sanguínea a partir de lesiones del tracto gastrointestinal (4, 11).

Los cuadros de meningitis, raramente, se asocian con bacterias anaerobias; cuando es así, *B. fragilis* es la especie que se ha aislado con más frecuencia (4).

Bacteroides fragilis es la bacteria anaerobia más importante desde el punto de vista clínico, ya que posee una alta prevalencia de aislamiento en casos de infecciones intestinales

debido a su capacidad de persistir en alto número en el intestino como comensal y patógeno (33).

Respecto a Sudamérica, en estudios pertenecientes a la comunidad colombiana, se concluyó que *B. fragilis* es uno de los anaerobios predominantes en la infección intra-abdominal, la cual es una de las causas más frecuentes de abdomen agudo que puede adquirirse en la comunidad o durante la hospitalización, esta infección representa 23% de las consultas médicas por dolor abdominal (34).

En un estudio realizado en el Hospital Universitario de San José de Bogotá (Colombia), en pacientes mayores de 16 años sometidos a apendicectomía abierta, se observó que entre los microorganismos aislados con mayor frecuencia se encontraba *Bacteroides spp.* con una frecuencia del 25%, donde la especie de *Bacteroides* más identificada fue *B. thetaiotaomicron* (35).

A pesar de la notable presencia de *Bacteroides* como agente causal de diversas infecciones a nivel mundial. En Chile, no existe una gran variedad de estudios que profundicen en la prevalencia de dicho género bacteriano. Pero, a través de diversos estudios, se puede constatar que en nuestro país, son relevantes agentes patógenos de enfermedades como, la vaginosis bacteriana (36), periodontitis agresiva localizada (donde encontramos principalmente a *B. fragilis*, *B. ureolyticus* y *B. diastasonis*) (37), periodontitis crónica (38), absceso cerebral con un foco primario localizado a nivel dental, periodontal y senos nasales, donde la tasa de mortalidad de esta patología varía en el rango de 4,5 a 30% (39).

Sumado a lo anterior, a nivel nacional, *B. fragilis* es la bacteria anaerobia aislada con mayor frecuencia en peritonitis secundaria, con una incidencia del 31% y *Bacteroides spp.* posee una frecuencia de aislamiento del 7% en peritonitis posoperatoria (40).

6. ESPECIES DEL GÉNERO BACTEROIDES

6.1. *Bacteroides fragilis*

6.1.1. Características generales de *B. fragilis*

Bacteroides fragilis es un bacilo anaeróbico estricto Gram negativo (figura 2) que constituye alrededor del 1 al 2% de la microbiota bacteriana normal en humanos (41, 42). Aunque es un componente menor de la microbiota intestinal, es la bacteria anaerobia más aislada en casos de infecciones clínicas intestinales (33, 42).

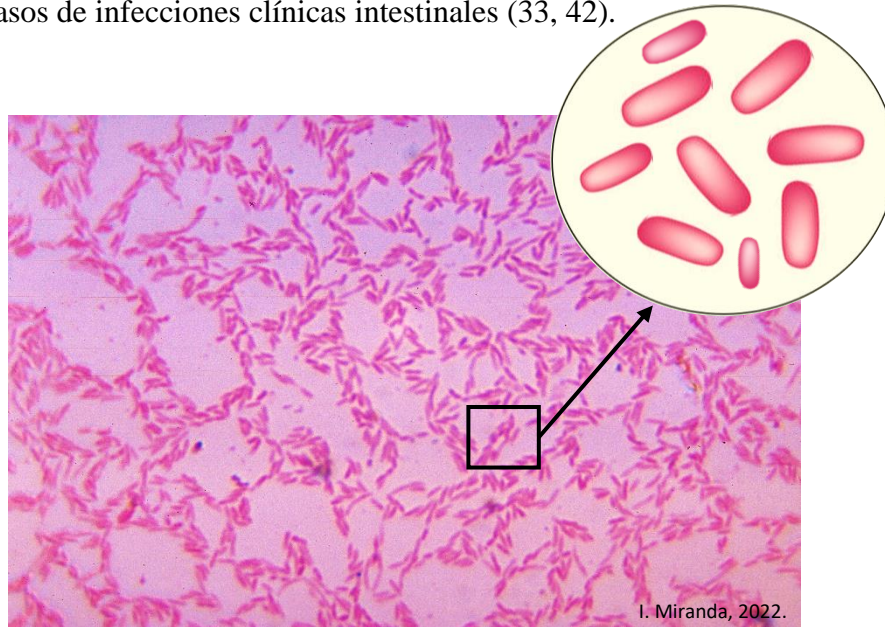


Figura 2. Tinción Gram de *Bacteroides fragilis*. Los microorganismos aparecen como bacilos Gram negativo pleomorfos y débilmente teñidos (43).

Sumado a lo anterior, *B. fragilis* se ha asociado a infecciones de tejidos blandos, abscesos intrabdominales, retroperitoneales, cerebrales, enfermedad inflamatoria pélvica, peritonitis, heridas profundas y bacteriemia en humanos. La frecuencia de aislamientos en hemocultivos ha aumentado en los últimos años, ya que se han reportado porcentajes que alcanzan el 70% de los anaerobios recuperados (23, 41).

También se ha aislado de infecciones del tracto genital femenino, donde de manera normal se encuentra en una frecuencia relativamente baja (23, 42). Además, se han obtenido de abscesos en la glándula de Bartolino y en las trompas uterinas e incluso, se ha reportado un único aislamiento de la placenta de un feto en un caso de aborto espontáneo a mitad de gestación (11).

6.1.2. Factores de Resistencia de *B. fragilis*

Dentro de los principales factores que contribuyen a su habilidad para permanecer en alto número en el intestino como comensal y patógeno, se incluyen su habilidad para tolerar sales biliares, metabolismo altamente sacarolítico y alta resistencia a los antimicrobianos de uso clínico (33).

6.1.3. Factores de virulencia de *B. fragilis*

Los factores de virulencia para este microorganismo incluyen: enzimas, fimbrias, proteínas de membrana externa, enterotoxinas y lipopolisacáridos. El factor de virulencia más estudiado es el polisacárido capsular (23, 42).

B. fragilis es el más virulento dentro del grupo de *Bacteroides fragilis*, ya que presenta fimbrias y aglutininas que funcionan como adhesinas permitiéndole establecerse en los tejidos del huésped (20).

La toxina de *B. fragilis* (BFT) es una metaloproteasa termosensible dependiente de zinc, también conocida como fragilisina (11), se encuentra codificada en un elemento transponible denominado isla de patogenicidad de *B. fragilis* (BFP AI). Se asocia con diarrea infantil y cáncer de colon (44), ya que es capaz de inducir cambios de líquido en las asas intestinales ligadas y una respuesta citotóxica (41).

Aunque los primeros aislados de *B. fragilis* enterotoxigénico fueron de heces, también ha sido aislado de una variedad de muestras extraintestinales. La mayor frecuencia es en muestras de sangre, favorecido por la acción de la enterotoxina, que acelera el paso del microorganismo al torrente sanguíneo, por lo cual se sugiere que esta enterotoxina puede jugar un papel patogénico importante en la septicemia causada por este microorganismo (23).

6.1.3.1. Cápsula polisacárida

Bacteroides fragilis contiene una cápsula polisacárida compuesta por al menos 4 polisacáridos capsulares distintos: PSA, PSB, PSC y PSD, que tienen características zwitterónicas. Los polisacáridos zwitterónicos son los únicos antígenos células-T dependientes que intervienen en la proliferación de linfocitos T CD4⁺ in vitro (45). Además, esta capsula está compuesta por L-fucosa, D-galactosa, DL-quinovasamina y D-glucosamina. Tiene la característica de ser antifagocítica y anticomplementaria, es decir, protege de la fagocitosis mediada por el complemento, esto favorece el establecimiento y multiplicación de este microorganismo en los tejidos (46, 47).

Una neuraminidasa de *B. fragilis* actúa como factor de crecimiento y hace que el tamaño de la cápsula sea mayor (45).

Además, esta cápsula, es capaz de adherirse a la superficie peritoneal, lo cual promueve la formación de abscesos (46, 47), siendo el mayor factor de virulencia que interviene en la formación de estos abscesos. Demostrado en estudios donde la cápsula purificada puede estimular la formación de un absceso histológicamente idéntico, incluso cuando no hay células viables, lo que indica que es este componente de la bacteria el que estimula el sistema inmunitario del huésped para que deposite fibrina, formando la membrana externa del absceso. La formación de este absceso protege a *Bacteroides spp.* y a las bacterias vecinas de la exposición a altas concentraciones de antibióticos y del ataque posterior de la bacteria (46, 48).

Como se mencionó, la cápsula de *B. fragilis* (figura 3 y 4) tiene una estructura inusual, compuesta por unidades repetitivas de polisacáridos distintos, cada uno de los cuales contiene cadenas laterales expuestas con carga positiva y negativa. La mayoría de los polisacáridos bacterianos estimulan una respuesta inmunitaria mediada por anticuerpos, pero la cápsula de *B. fragilis* estimula una respuesta mediada por células T. Sumado a los anterior, dichos polisacáridos capsulares son capaces de alterar su estructura para evadir la respuesta inmunitaria del huésped (46). Siendo capaz de retardar la fagocitosis y ha demostrado ser inmunogénica en animales y humanos (48).

Respecto a la cirugía y el traumatismo, estos acentúan el problema, ya que rompen el absceso, lo que permite la propagación endógena del organismo hacia el torrente sanguíneo. Cuando esto ocurre, el patógeno libera enzimas degradantes que destruyen las células del huésped (47).

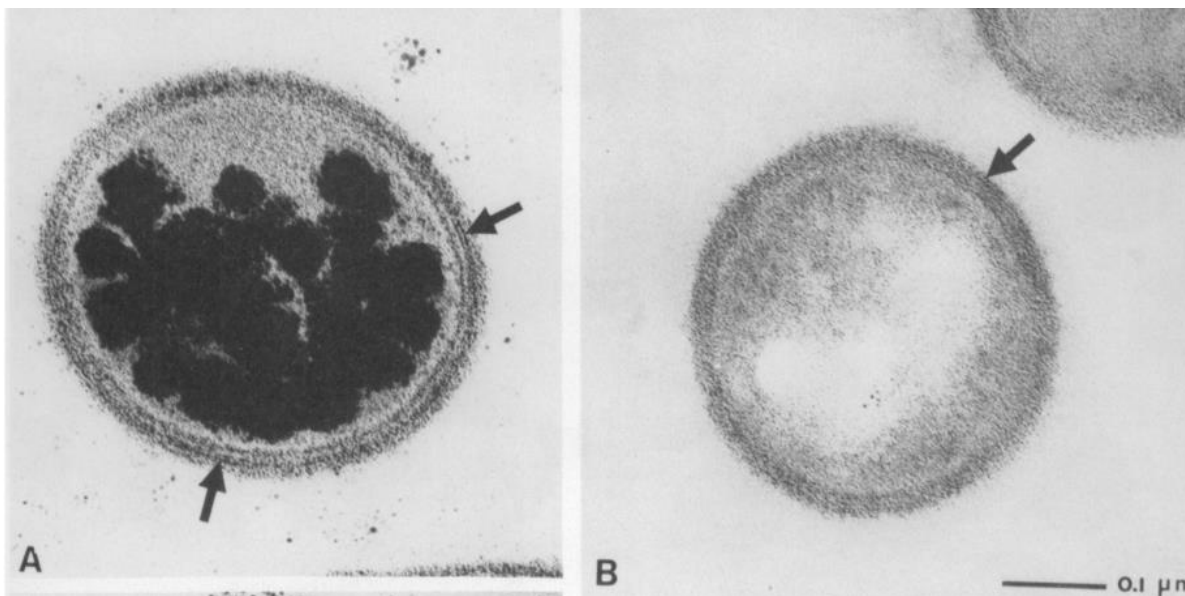


Figura 3. Micrografías electrónicas de especies de *Bacteroides* de referencia. (A) *Bacteroides fragilis* (ATCC 23745). El material capsular denso en electrones parece liso y es externo a la membrana externa de la pared celular. Grandes lagos de glucógeno intracelular llenan el citoplasma. (B) Control de *Bacteroides fragilis* (48).

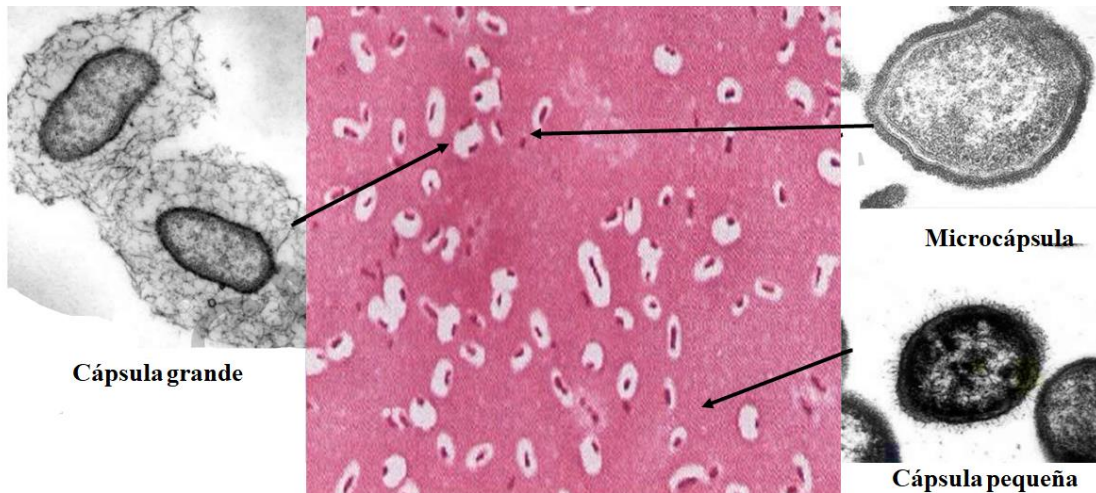


Figura 4. Variación de la estructura superficial: variación de fase. *Bacteroides fragilis* posee 3 tipos de variación de la estructura capsular. Donde se encuentran la cápsula grande, cápsula pequeña y microcápsula. Tomado y adaptado de S. Patrick, 2016 (49).

6.2. *Bacteroides thetaiotaomicron*

6.2.1. Características generales de *B. thetaiotaomicron*

Es la segunda especie más estudiada del género *Bacteroides* y la segunda con mayor incidencia en muestras de heces y muestra clínicas (50) (tabla 3), es utilizado como un modelo representativo de la microbiota intestinal, debido a su amplia distribución entre las poblaciones humanas y la relativa facilidad de estudio en condiciones de laboratorio (51).

Tiene una gran importancia en estudios bacteria-hospedador en el intestino humano, por lo que se ha convertido en el organismo modelo para la investigación de la microbiota funcional (51), incluso se han realizado ensayos clínicos utilizando *B. thetaiotaomicron* como candidato bioterapéutico vivo para el tratamiento de la enfermedad de Crohn (52).

Tabla 3: Incidencia de *Bacteroides spp.* en heces y muestras clínicas.

Especies de Bacteroides	Heces (%)	Muestras clínicas (%)
<i>Bacteroides vulgatus</i>	43-45	2-3
<i>Bacteroides thetaiotaomicron</i>	15-29	13-17
<i>Bacteroides fragilis</i>	4-13	63-81
<i>Bacteroides ovatus</i>	4	0-7

Tomado y adaptado de S. Patrick, 2016 (49).

La gran utilidad de este microorganismo comensal es debido a sus relaciones simbióticas, además *B. thetaiotaomicron* confiere varios beneficios a la salud del huésped, por lo que es deseable incrementar su abundancia (52). Entre estos beneficios tenemos sus habilidades digestivas y su potencial de romper enlaces de polisacáridos de los vegetales, ya que posee un proteoma que contiene los medios estructurales para hidrolizar los polisacáridos no digeribles, así como un mecanismo de detección medioambiental (51, 53).

Además, se demostró que *B. thetaiotaomicron* contribuye al desarrollo de la capa de la mucosa intestinal y modula la función del sistema inmunitario intestinal (54).

Sin embargo, a pesar de comportarse como una bacteria intestinal no patógena y ser una bacteria prometedora para los ensayos clínicos, también se encuentra asociada con infecciones abdominales y heridas profundas, representando hasta el 14% de las bacterias encontradas en estos sitios. Sumado a este potencial extremo de causar enfermedades, es también resistente a los antibióticos, lo cual la hace de interés clínico (54, 55).

6.2.2. Estructura genómica

Bacteroides thetaiotamicron se compone de un genoma de 6.26 Mb y contiene 4776 genes que codifican proteínas. El genoma se presenta como un cromosoma circular de DNA de doble cadena. El contenido de G+C de esta bacteria ronda el 42.8 % y el 90% del genoma está involucrado en codificar proteínas esenciales en la unión e importación de diferentes polisacáridos (53).

Además, *Bacteroides thetaiotaomicron* contiene un plásmido circular (p5482) que tiene 33.038 pb de longitud y que contiene 38 genes que codifican para 38 proteínas cuya función principal está en el sensing ambiental. El contenido de G+C del plásmido es de un 47.2% y el 83% del genoma está implicado en codificar para proteínas (53).

6.2.3. Biofilms

Los biofilms bacterianos son comunidades de bacterias adheridas que expresan propiedades distintas en comparación con sus contrapartes de vida libre, incluida una mayor tolerancia a los antibióticos y capacidades metabólicas originales (56).

En las últimas décadas, las biopelículas a menudo se investigaron en condiciones aeróbicas utilizando modelos bacterianos aeróbicos genéticamente susceptibles, y los estudios de biopelículas anaeróbicas se centraron, principalmente, en anaerobios orales. Aunque estos estudios avanzaron considerablemente, nuestra comprensión de este importante estilo de vida bacteriano, muchos procesos importantes tienen lugar en condiciones anaeróbicas y son llevados a cabo por anaerobios comensales y patógenos estrictos, donde encontramos al género *Bacteroides*, principalmente a *B. thetaiotaomicron* (54).

La formación de biopelículas o biofilms, podría estar involucrada en varios aspectos importantes de la biología de *B. thetaiotaomicron*, incluida la colonización intestinal, las interacciones entre especies e intraespecies y la virulencia en sitios extraintestinales.

Se ha observado que la capacidad de biopelícula está muy extendida entre las diversas cepas de *B. thetaiotaomicron*. Incluso se ha visto que *B. fragilis* también muestra una capacidad variable de formación de biopelículas (54).

6.3. *Bacteroides vulgatus*

6.3.1. Características generales de *B. vulgatus*

Bacteroides vulgatus es una de las especies correspondientes al género *Bacteroides*, perteneciente al grupo de *B. fragilis*, que se encuentra con mayor frecuencia en la microbiota intestinal humana. (57)

B. vulgatus junto a *B. fragilis* y *B. thetaiotaomicron* son las especies mayormente aisladas de infecciones intrabdominales (4).

6.3.2. Importancia clínica

El patobionte *Bacteroides vulgatus*, es decir el microorganismo endógeno benigno con la capacidad de provocar determinadas patologías en condiciones de un ecosistema alterado (disbiosis) (58), se ha asociado a la enfermedad de Crohn (EC) y a la colitis ulcerosa, aunque se sabe relativamente poco sobre cómo su crecimiento y actividad funcional, podría impulsar la respuesta inflamatoria del huésped (59).

Un ejemplo es la cepa mpk de *Bacteroides vulgatus*, que se presenta comúnmente en el tracto gastrointestinal de la población estadounidense y de Europa occidental. Estudios recientes demostraron que esta bacteria ejercía fuertes propiedades inmunomoduladoras que conducen a la prevención de la inducción de colitis en modelos de ratón (60).

Además, estudios sugieren que la abundancia de *B. vulgatus* tiene un impacto directo en la síntesis de lipopolisacáridos (LPS) microbianos en el intestino humano, pudiendo mejorar así el ambiente entérico, proporcionando a las bacterias intestinales buenas condiciones de vida y teniendo un efecto beneficioso sobre la producción de LPS bacterianos (57), esto es de gran relevancia, ya que los lipopolisacáridos (LPS) de las bacterias intestinales pueden desencadenar respuestas proinflamatorias e inmunomoduladoras sistémicas y locales en sus huéspedes (61).

7. PRINCIPALES INFECCIONES ASOCIADAS CON BACTEROIDES

Las infecciones anaeróbicas van desde infecciones periodontales hasta neumonías, bacteriemias y abscesos potencialmente mortales (62). Las bacterias anaerobias más frecuentemente aisladas de muestras clínicas son las pertenecientes al género *Bacteroides*, principalmente las especies *B. fragilis*, *B. thetaiotaomicron* y *B. vulgatus*, los cuales se encuentran como agentes etiológicos en una amplia variedad de infecciones. (4, 43).

Como se explicó en páginas anteriores, *Bacteroides* son colonizadores predominantes de la mucosa intestinal, oral y genitourinaria, por lo que sus reservorios principales son la cavidad oral, el tubo digestivo y el tracto genital, lo que los lleva a ser una causa común de infecciones de origen endógeno, asociadas con entidades clínicas graves, fulminantes y potencialmente fatales (4, 11).

En su mayoría, se comportan como patógenos oportunistas, causando infecciones cuando se rompe el equilibrio homeostático entre el hospedero y dichas bacterias, las cuales colonizan y establecen el proceso infeccioso (4).

Como patógenos oportunistas se relacionan con una gran cantidad de cuadros clínicos que pueden afectar diversos sitios anatómicos, incluyendo sistema nervioso central, cavidad oral, cabeza y cuello, tórax, abdomen, pelvis, piel y tejidos blandos, logrando generar infecciones abdominales, peritonitis, infecciones ginecológicas, abscesos periodontales, neumonía, abscesos pulmonares, infección neonatal, bacteriemia, abscesos rectales, entre otras afecciones (4, 11).

Asimismo, en las pericarditis, cuando se involucran bacterias anaerobias, a pesar de ser una causa poco común, las especies de *Bacteroides* son predominantes, probablemente por diseminación vía sanguínea a partir de lesiones del tracto gastrointestinal (4, 63).

En infecciones pediátricas, los aislamientos de *Bacteroides* se asocian principalmente a sepsis intraabdominales, infecciones en huesos y articulaciones y bacteriemias (4).

La forma principal de infección de *Bacteroides spp.* es mediante apendicitis, cirugías o traumas a nivel intestinal (zona donde se encuentra mayor cantidad de bacterias de este género), cuando esto ocurre y la cantidad de bacterias sobrepasa el mecanismo de acción del sistema inmune se genera la infección en la zona abdominal, formándose abscesos de fibrina, los cuales generan contaminación bacteriana y si se agrava una posible bacteriemia (invasión del torrente circulatorio por microorganismos), la cual posee una mortalidad del 30% si no es tratado (49, 64) (figura 5).

Específicamente *Bacteroides fragilis* es capaz de producir enfermedades intraabdominales, como apendicitis, trauma, post cirugía gastrointestinal. Sepsis ginecológicas, post aborto (espontáneo o inducido), post parto, post cirugía, asociado a DIU. Puede producir abscesos en tejido blandos e incluso bacteriemia (49).

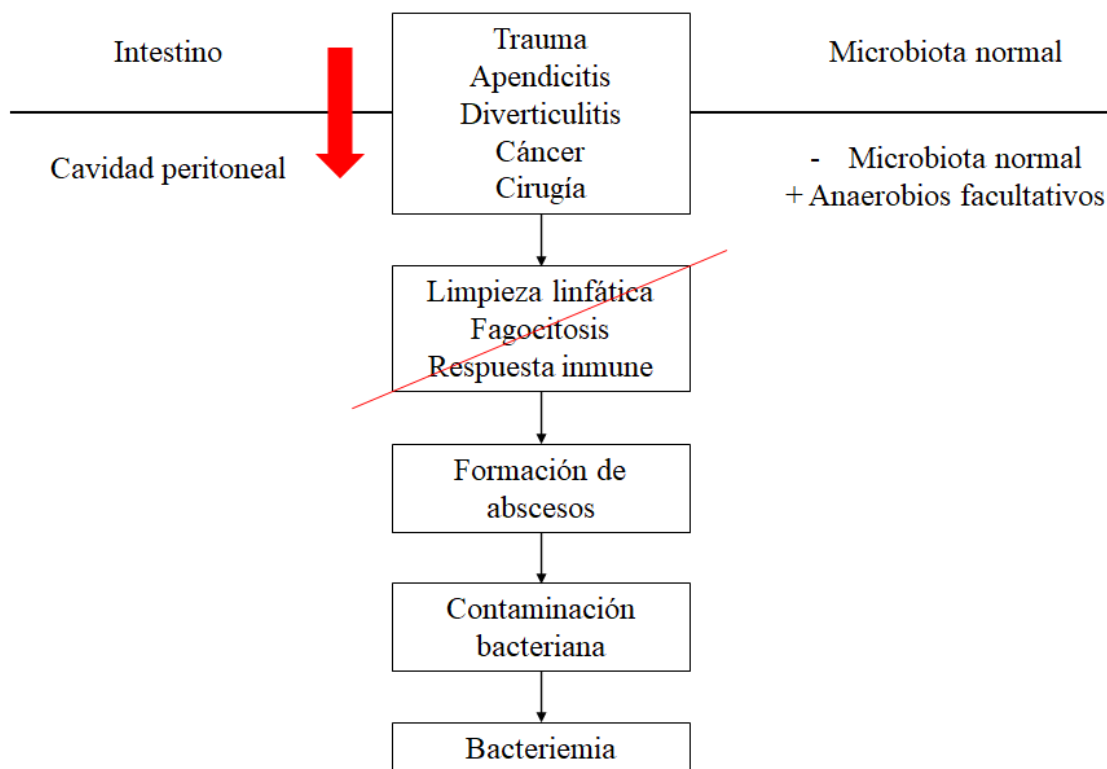


Figura 5. Mecanismo de diseminación de *Bacteroides spp.* Tomado y adaptado de S. Patrick, 2016 (49).

8. RELACIÓN CON ENFERMEDADES INTRAABDOMINALES

Las infecciones intraabdominales incluyen un grupo heterogéneo de procesos infecciosos que se localizan anatómicamente en el sitio ubicado entre el diafragma y la pelvis (65). Constituyen un amplio y diverso grupo de procesos intra y retroperitoneales que incluyen infecciones no complicadas, en las que el proceso infeccioso se limita al órgano o tejido de origen, como la apendicitis; y complicadas, cuando la infección se extiende y afecta al peritoneo desencadenando cuadros generales, como como los abscesos intraabdominales (66).

La mayoría se produce por perforación o inflamación de la pared intestinal, a partir de la flora gastrointestinal, por lo que suelen ser infecciones polimicrobianas con predominio de bacterias anaerobias (66).

Una de las características de las bacterias pertenecientes al género *Bacteroides*, es que se asocian principalmente a este tipo de infecciones, donde las podemos encontrar como agente patógeno de infecciones intestinales, pancreáticas e incluso en cáncer de colon (4, 66).

Dentro de las infecciones intestinales tenemos el síndrome de abdomen agudo, el cual engloba una serie de diagnósticos que en su gran mayoría requieren tratamientos quirúrgicos y antibióticos de urgencia. Se caracteriza por dolor abdominal, signos de reacción peritoneal y efectos sobre el estado general (67, 68).

Constituye una de las primeras causas de ingresos hospitalarios y quirúrgicos. La apendicitis y la colecistitis agudas son las causas más frecuentes de este síndrome en Chile, siendo causas habituales de infección intraabdominal. El agente más frecuente es *Bacteroides fragilis*, probablemente presente en la mitad de estas infecciones (67).

9. RESISTENCIA A ANTIBIÓTICOS

Los microorganismos anaerobios, no se han librado de la presión selectiva que ejercen los antimicrobianos usados en terapéutica y profilaxis, por lo que la resistencia en ellos es preocupante, ya que afecta a múltiples especies y antimicrobianos. Esta resistencia a los antibióticos ha ido en aumento, lo que ha llevado a la aparición de cepas multirresistentes (69).

Su frecuencia es mayor en las especies más habituales e importantes en clínica, muchas pertenecientes al género *Bacteroides*, donde hay importantes variaciones entre especies, ya que presentan una marcada variabilidad en su sensibilidad a los antibióticos (69, 70).

Como sabemos, el género *Bacteroides* es el componente anaeróbico más abundante de la microbiota humana, por lo que se ha vuelto un motivo de interés dentro de la microbiología y las enfermedades infecciosas, ya que la adquisición de resistencias por parte de este género frente a agentes antimicrobianos que se utilizan en su tratamiento constituye un problema importante en la actualidad (1, 4, 69).

Infecciones producidas por especies de *Bacteroides* son más virulentas y con una sensibilidad poco predecible a los antibióticos comúnmente utilizados para el tratamiento de las infecciones por anaerobios (10).

El hecho es inquietante y obliga a realizar pruebas de sensibilidad, al menos en algunas circunstancias, como es el caso de las infecciones graves en las que este conocimiento puede ser determinante para el paciente, también cuando se aíslan de lugares estériles como sangre, SNC, hueso o articulaciones, en los fracasos terapéuticos y en las especies que presentan elevada resistencia, variable sensibilidad y alto poder patógeno, particularmente las del género *Bacteroides* que conforman el grupo *fragilis* (69).

Dado que la mayoría del grupo *B. fragilis* son productores de β -lactamasas, se consideran de forma natural resistentes a penicilina (10).

La mayoría de los aislamientos de *B. fragilis* resultan resistentes a los antibióticos β -lactámicos, siendo el principal mecanismo de resistencia la producción de β -lactamasas. Las

β -lactamasas catalizan la hidrólisis irreversible del enlace amida del anillo β -lactámico, liberando productos biológicamente inactivos. La gran mayoría de las β -lactamasas clínicamente relevantes presentan una serina en su sitio activo responsable de la hidrólisis del β -lactámico (20).

En *B. fragilis* se han descrito 3 β -lactamasas diferentes: CepA, una cefalosporinasa endógena que le confiere resistencia a la mayoría de los antibióticos β -lactámicos con excepción de las cefamicinas y carbapenems, y es inhibida por los inhibidores de β -lactamasas. CfxA la cual confiere resistencia a cefaloridina, cefoxitina y otros antibióticos β -lactámicos excepto imipenem. Y una metalo- β -lactamasa CfiA con actividad frente a penicilinas, cefalosporinas, incluyendo las cefamicinas, y carbapenems. CfiA no es inhibida por el ácido clavulánico ni el sulbactam, pero sí por EDTA y su actividad se recupera por el agregado de Zn^{2+} (20).

Bacteroides spp, en su mayoría son resistentes a antibióticos como amoxicilina/ácido clavulánico, piperacilina/tazobactam, cefoxitina, clindamicina, ertapenem, imipenem, meropenem, tigeciclina, vancomicina y doxiciclina, donde *B. fragilis* presenta un alto porcentaje de resistencia. En caso de multiresistencia se amplía a cloranfenicol, linezolid y moxifloxacino (69, 70).

Como se mencionó, el principal mecanismo conocido de resistencia a los carbapenémicos en bacterias anaeróbicas implica la producción de una metalobetalactamasa dependiente de zinc codificada por el gen CFI, las cuales utilizan iones de zinc para romper el anillo β -lactámico. Se ha sugerido que esta conversión puede tener lugar después de una exposición prolongada al imipenem durante el tratamiento (4, 20). Se han detectado aislamientos con alto nivel de resistencia ($CIM \geq 32 \mu\text{g/ml}$) a los carbapenems (20).

Al ser microorganismos anaerobios poseen resistencia intrínseca contra algunos agentes antimicrobianos; tal es el caso de los aminoglicósidos y monobactámicos, ya que carecen de los sistemas necesarios para su penetración, estas drogas necesitan, para su ingreso a la célula, un sistema de transporte de electrones dependiente de oxígeno o nitrato que no existe en los anaerobios (4, 10). Pueden desarrollar resistencia a otros antimicrobianos habitualmente eficaces, particularmente el grupo de *Bacteroides fragilis* (10).

Respecto a este grupo, la resistencia del grupo de *Bacteroides fragilis* a la cefoxitina y a la clindamicina es elevada, como lo es más a la penicilina, situación compartida por otros bacilos gramnegativos (10).

10. TRATAMIENTO

El manejo de las infecciones por anaerobios y su terapia antibiótica posee complicaciones, debido fundamentalmente al crecimiento lento de dichos microorganismos, lo que retrasa su identificación en el laboratorio y se traduce en un prolongado tiempo de emisión de los informes microbiológicos. Otra dificultad es la naturaleza polimicrobiana de la mayoría de estas infecciones y el aumento en la resistencia de las bacterias anaerobias contra los agentes antimicrobianos (4, 71).

Para la elección de los agentes antimicrobianos adecuados en una infección por anaerobios, se deben tomar en cuenta aspectos como: buena actividad contra todos los microorganismos involucrados en la infección, procurar que el antimicrobiano escogido induzca poca o ninguna resistencia, que alcance la concentración adecuada en el sitio de infección, que presente niveles mínimos de toxicidad y que tenga la mayor estabilidad y longevidad posibles (4). Las consecuencias del uso inapropiado son muy graves, ya que incrementa la mortalidad y la morbilidad de los pacientes, y las resistencias microbianas (72).

Los fármacos de elección entre 1960- 1970 eran penicilinas en infecciones por encima del diafragma, y clindamicina, cefoxitina, cloranfenicol y metronidazol para infecciones subdiafragmáticas. Los cambios en la sensibilidad a antimicrobianos de las bacterias anaerobias y la cobertura inadecuada produjeron fallas en el tratamiento. En la actualidad en líneas generales, los antimicrobianos de uso empírico inicial más activos son la combinación β -lactámicos con inhibidores de β -lactamasas, los carbapenems y el metronidazol (20).

El metronidazol es el antimicrobiano de elección para el manejo de infecciones sistémicas producidas por *Bacteroides*, principalmente *B. fragilis*. Este antimicrobiano exhibe un efecto bactericida rápido dependiente de la concentración, además de un prolongado efecto post antibiótico (EPA) sobre bacterias anaeróbicas sensibles. Adicionalmente, este efecto se puede prolongar al mantenerse una concentración del antimicrobiano bajo la concentración inhibitoria mínima (CIM) del microorganismo (62).

En la actualidad, para el manejo de las infecciones anaerobias, se requiere de la administración habitual de dosis bajas de metronidazol, con elevada frecuencia (62).

Estudios demuestran que los clásicos antibióticos beta-lactámicos anaerobicidas, como amoxicilina-ácido clavulánico y cefoxitina muestran un porcentaje de sensibilidad inferior al 90%. Por el contrario, las CMI y la resistencia a carbapenémicos tipo imipenem son muy bajas. La sensibilidad a lincosamidas es escasa, donde las resistencias a este antibiótico son crecientes. La resistencia a metronidazol es poco frecuente (71).

Sumado a los anterior, dado que la formación de abscesos es una complicación frecuente en las infecciones por anaerobios en general y *Bacteroides* en particular, uno de los puntos claves en la terapéutica, es el drenaje (20).

11. CULTIVO Y DETECCIÓN

Las bacterias anaerobias pueden convertirse en un patógeno potencial cuando ocurre una alteración en el tejido del huésped, cuando se mueven a otros órganos o cuando el hospedero se encuentra susceptible, ya que, en su mayoría, los anaerobios se comportan como patógenos oportunistas, causando infecciones cuando se rompe el equilibrio homeostático entre el hospedero y dichos microorganismos (4, 73).

Otra fuente de infección por estas bacterias es mediante el ambiente externo, ingresan con el agua, tierra o partículas de polvo a través de traumas y heridas, para luego invadir y producir daño en el hospedero (73).

Las especies que más se recuperan en clínica son *Bacteroides fragilis* y *Bacteroides thetaiotaomicron*, especialmente en las infecciones infradiafragmáticas, ya que forman parte de la microbiota colorrectal, además son las más resistentes a los antibióticos (74).

El éxito en el diagnóstico de estas infecciones se encuentra en utilizar una adecuada selección, recolección y transporte de la muestra (75).

11.1. Muestras

Heces: *Bacteroides fragilis* es capaz de producir casos de diarrea acuosa autolimitada, provocado por una exotoxina metaloproteasa que altera las células intestinales y provoca la salida de líquido el lumen intestinal, afecta principalmente a niños, y se han relacionado con casos de diarrea asociada a antibióticos (4, 17).

Sangre: Bacteremias por diseminación vía sanguínea a partir de lesiones del tracto gastrointestinal (4), ya que aunque las cepas toxigénicas de *B. fragilis* se aíslan generalmente de heces, en la actualidad también se aíslan de fuentes clínicas extraintestinales, principalmente de muestras de sangre (23).

Heridas, abscesos y exudados: Se han encontrado especies del género *Bacteroides* infectando heridas, tejido subcutáneo y abscesos de esta área rectal. También se ha aislado de abscesos en la glándula de Bartolino y en las trompas uterinas (4). Además, se pueden encontrar en exudado vaginal (23).

LCR: Los cuadros de meningitis, raramente, se asocian con bacterias anaerobias; cuando es así, *B. fragilis* es la especie que se ha aislado con más frecuencia. En contraste, es usual encontrar especies de *Bacteroides* a partir de abscesos cerebrales (4). La meningitis bacteriana anaerobia debida a *B. fragilis* rara vez se diagnostica, ya que es poco común. La mayor parte de los casos se presentan en neonatos y es secundaria a infecciones del tracto intestinal, materno-fetales (76, 77).

11.2. Requisitos para la recolección de muestras para microbiología anaeróbica

Las muestras deben ser recolectadas antes del inicio del tratamiento con antibióticos, si no es posible, debe ser justo antes de la administración (78).

Deben ser recolectados desde el sitio de la infección, como las orillas de las heridas, donde las bacterias se multiplican o sitios con presencia de pus, es necesario que la toma se efectúe en el sitio exacto de la lesión con las máximas condiciones de asepsia que eviten la contaminación con microbios exógenos (78, 79). Se recomienda que sean aspirados profundos o biopsias para evitar contaminación. Para garantizar esta condición es preferible que la muestra sea obtenida en cirugía bajo las condiciones asépticas o realizar aspirados guiados con ayuda imagenológica. Recordar en todo momento que se debe realizar en condiciones de anaerobiosis (75, 78).

Deben tomarse volúmenes suficientes, dependiendo del tipo de muestra (78).

11.3. Transporte de muestras

Como se mencionó anteriormente las especies pertenecientes al género *Bacteroides* son bacterias anaerobias, por lo que es muy importante el transporte adecuado de la muestra (11).

Se debe proteger a los microorganismos de los efectos nocivos del oxígeno atmosférico durante el tiempo que transcurre entre la extracción y la siembra anaeróbica de la muestra, ya que pueden afectar el crecimiento de estos microorganismos (80). Las muestras deben ser colocadas en un sistema de transporte que asegure la anaerobiosis, como bolsas, cajas, frascos y cámaras anaeróbicas, las condiciones adecuadas permiten a estos microorganismos sobrevivir varias horas hasta días, incluso se han podido recuperar anaerobios hasta 24-48 horas después de realizada la extracción (81).

Un medio de transporte utilizado es el frasco transporte AnaeroLin[®] (figura 6), el cual es un sistema de recolección de muestras anaerobias que está compuesto por un frasco-ampolla con tapón de goma y sello de aluminio, que contiene un medio líquido especial para recolección y desarrollo de anaerobios, al cual se le han agregado sustancias reductoras que aseguran la reducción del medio (80).



Figura 6: Frasco transporte AnaeroLin[®]. (A) Frasco transporte AnaeroLin[®], se compone de una jeringuilla de 1 ml con la cual se debe recolectar la muestra y un frasco, cuidando que no entre oxígeno a la jeringa. (B) Imagen representativa de la punción del frasco transporte AnaeroLin[®], se demuestra la forma de introducir la muestra de la jeringuilla al frasco, donde se debe inyectar el material dentro del frasco puncionando el tapón de goma sin sacar la tapa. (C) Imagen de un absceso producido por *Bacteroides fragilis*, muestra que será trasladada por el frasco de transporte AnaeroLin[®]. Tomado y adaptado de manual microdiagnostica, 2012 (80).

11.4. Métodos de cultivo

Después del examen visual de las muestras, todas deben homogeneizarse en medio líquido (como caldo de tioglicolato). La tinción de Gram directa de la muestra es obligatoria para el diagnóstico anaeróbico, ya que muestra la morfología bacteriana y revela si existe contaminación (78).

Entre los anaerobios detectados con mayor frecuencia en infecciones clínicas humanas se encuentran los miembros del grupo *B. fragilis* y *B. thetaiotaomicron*. Otras especies incluidas en el grupo son: *B. caccae*, *B. distasonis*, *B. eggerthii*, *B. merdae*, *B. ovatus*, *B. stercoris*, *B. uniformis* y *B. vulgatus* (11).

El género *Bacteroides* crece fácilmente en agar sangre. Una característica de este género es que hidroliza la esculina y su crecimiento mejora con bilis. Los miembros del grupo *B. fragilis*, en Agar *Bacteroides* Bilis Esculina (BBE) producen colonias, convexas, oscuras (grises o negras) y mayores a 1 mm de diámetro (16).

11.4.1. Agar *Bacteroides bilis esculina* (BBE) con amikacina

Se utiliza como un medio de aislamiento primario para la identificación selectiva y presuntiva del género *Bacteroides*. Contiene un hidrolizado enzimático de caseína altamente nutritivo, que ayuda al crecimiento de bacterias anaerobias exigentes (tabla 4). Mediante la amikacina y la bilis de buey, se obtiene una inhibición selectiva de anaerobios facultativos y de la mayoría de los organismos anaerobios Gram negativo (16).

La diferenciación del grupo *B. fragilis* se basa en la hidrólisis de la esculina, durante la que se producen esculetina y glucosa. La esculetina reacciona con la sal férrica (citrato férrico amónico) para producir un complejo de marrón oscuro a negro que aparece en el medio alrededor de las colonias de los miembros del grupo *B. fragilis*. (82) La gentamicina, además, inhibe a microorganismos diferentes de *Bacteroides* que sean bilis-resistentes y esculina positivos. (16)

Tabla 4: Reactivos Agar bilis esculina *Bacteroides* (BBE) con Amikacina

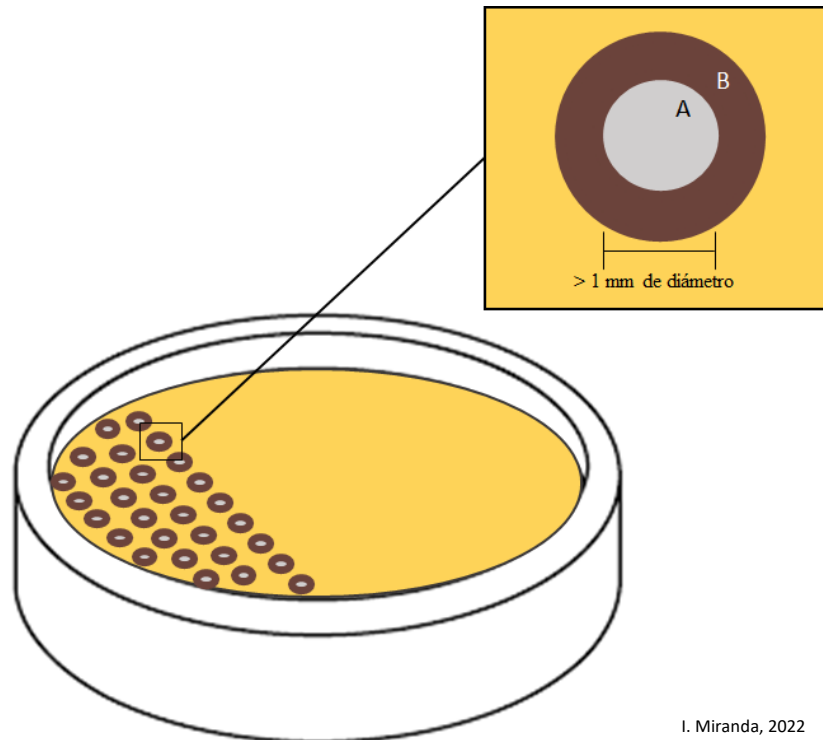
Reactivos	Unidad (gramos)
Digerido pancreático de caseína	14,5
Digerido papaico de harina de soja	5,0
Cloruro sódico	5,0
Esculina	1,0
Citrato férrico de amonio	0,5
Bilis de buey	15,0
Hemina	0,01
Amicacina	0,075
Vitamina K1	0,01
Agar	14,0
Factores de crecimiento	1,8

Fórmula* por litro de agua purificada, pH $7,0 \pm 0,2$ *Ajustada y/o suplementada para satisfacer los criterios de rendimiento. Tomado de Becton, Dickinson and Company, 2011 (82).

a) Resultados

Después de 48 h de incubación, las colonias del grupo *B. fragilis* deben medir más de 1 mm de diámetro y tener un aspecto grisáceo, circular, entero y elevado. Se debe realizar una tinción de Gram para facilitar la identificación. (82) (figura 7).

La hidrólisis de esculina se indica mediante el oscurecimiento del medio alrededor de las colonias. Se inhibe la mayoría de los anaerobios diferentes del grupo *B. fragilis*. (82)



I. Miranda, 2022

Figura 7. Resultados Agar *Bacteroides bilis esculina* (bbe) con amikacina. (A) Las colonias deben ser circulares, elevadas y de una coloración grisácea, el diámetro debe ser mayor a 1mm (> 1mm). (B) Alrededor de las colonias se debe observar una coloración marrón oscuro a negro, esto debido a que la esculina reacciona con la sal férrica (citrato férrico amónico), formando un complejo que da esta coloración (82).

Este medio se utiliza para el aislamiento selectivo e identificación presuntiva del grupo *Bacteroides fragilis*, tal como *B. fragilis*, *B. thetaiotaomicron* (tabla 5), *B. caccae*, *B. distasonis*, *B. eggerthii*, *B. merdae*, *B. ovatus*, *B. stercoris*, *B. uniformis* y *B. vulgatus*. Se ha encontrado que algunas cepas de *Bacteroides vulgatus* no producen hidrólisis de la esculina (82).

Tabla 5: Resultados Agar bilis esculina *Bacteroides* (BBE) con Amikacina.

Cepas	Resultados del crecimiento
<i>Bacteroides fragilis</i> ATCC 25285	Crecimiento de bueno a excelente; colonias grises rodeadas por zonas de marrón a negro
<i>Bacteroides thetaiotaomicron</i> ATCC 29741	Crecimiento de bueno a excelente; colonias grises rodeadas por zonas de marrón a negro

Tomado y adaptado de Becton, Dickinson and Company, 2011 (82).

11.4.2. *Bacteroides fragilis* Isolation Agar

El agar de aislamiento selectivo y diferencial Thermo Scientific™ Remel™ *Bacteroides fragilis* Isolation Agar (figura 8) permite aislar e identificar presuntivamente el grupo *Bacteroides fragilis* a partir de muestras clínicas (83).

La selectividad de este medio la proporciona la adición de gentamicina y bilis, la gentamicina inhibe la mayoría de los anaerobios facultativos y la bilis inhibe los bacilos Gram negativo anaerobios con la excepción del grupo *Bacteroides fragilis* y otros *Bacteroides* (83).

La diferenciación se ve facilitada por la hidrólisis de esculina a esculetina por el grupo *Bacteroides fragilis*. Se agrega citrato de amonio férrico al medio para que reaccione con la esculetina y produzca un complejo marrón-negro que rodea la colonia, lo que permite una fácil lectura (83).



Figura 8. Thermo Scientific™ Remel™ *Bacteroides Fragilis* Isolation Agar. Tomado de Thermo Fisher Scientific™, 2022. (83).

11.4.3. BD Schaedler Kanamicina-Vancomicina. Agar con 5% de sangre de carnero (Schaedler-KV Agar)

Se utiliza para el aislamiento selectivo de *Bacteroides* y diversos otros anaerobios Gram negativo a partir de muestras clínicas (10, 84).

Es un medio altamente nutritivo, desarrollado específicamente para el crecimiento de anaerobios obligados. Con la adición de vitamina K1 y hemina, constituye la base para varios medios selectivos, incluidos Schaedler-KV Agar with 5% Sheep Blood. La combinación de kanamicina y vancomicina se utiliza para el aislamiento selectivo de anaerobios Gram negativo (84).

Tres peptonas proporcionan los nutrientes y la glucosa es una fuente de energía. Incluye también Tris para evitar una reducción excesiva del pH durante la fermentación de la glucosa. El extracto de levadura es una rica fuente de vitaminas. La hemina y la sangre de carnero suministran el grupo hemo necesario para una variedad de anaerobios estrictos y sustancias que favorecen el crecimiento adicional (84) (tabla 6).

Se considera que la vitamina K favorece el crecimiento de una variedad de anaerobios Gram negativo. El cloruro de sodio proporciona los electrolitos esenciales. La kanamicina inhibe los bacilos anaerobios Gram negativo facultativos y muchas otras bacterias facultativas, mientras que la vancomicina inhibe las bacterias Gram positiva. La adición de estos agentes antimicrobianos convierte al medio en selectivo para anaerobios Gram negativos estrictos, como *Bacteroides* (84) (tabla 6).

Tabla 6: BD Schaedler Kanamicina-Vancomicina. Agar con 5% de sangre de carnero.

Reactivos	Unidad (gramos)
Digerido pancreático de caseína	8,2
Digerido péptico de tejido animal	2,5
Digerido papaico de harina de soja	1,0
Glucosa	5,8
Extracto de levadura	5,0
Cloruro sódico	1,7
Fosfato dipotásico	0,8
L-cistina	0,4
Hemina	0,01
Vitamina K1	0,01
Tris(-hidroximetil-aminometano)	3,0
Agar	13,5
Kanamicina	0,1
Vancomicina	0,0075
Sangre de carnero, desfibrinada	5%

Fórmula* por litro de agua purificada, pH $7,6 \pm 0,2$ * Ajustada y/o suplementada para satisfacer los criterios de rendimiento. Tomado de Becton, Dickinson and Company, 2013 (84).

Tabla 7: Resultados control de calidad, Agar BD Schaedler Kanamicina-Vancomicina. Agar con 5% de sangre de carnero

Cepas	Resultados de crecimiento
<i>Bacteroides fragilis</i> ATCC 25285	Crecimiento de bueno a excelente
<i>Bacteroides thetaiotaomicron</i> ATCC 29741	Crecimiento de bueno a excelente

Incubar durante 48 – 72 h en atmósfera anaerobia (por ejemplo, el sistema anaerobio BD GasPak). Tomado y adaptado de Becton, Dickinson and Company, 2013 (84).

11.5. Detección y diagnóstico

Muchas infecciones por anaerobios se diagnostican porque se sospecha la presencia de estos, ya que la infección se encuentra cercana a mucosas con microbiota anaerobia habitual, como el tubo digestivo, la cavidad bucal o el aparato genital femenino. El diagnóstico muchas veces es clínico, ya que el cultivo suele ser complicado por la etiología mixta de los procesos, por recogidas incorrectas de las muestras, por un transporte inadecuado al laboratorio y por las propias características de los anaerobios. Los signos que acompañan a las infecciones por anaerobios como el olor fétido o la presencia de gas, aunque no siempre están presentes, y la falta de respuesta a un tratamiento antibiótico hace pensar en la presencia de ellos (85).

Los métodos para diagnosticar enfermedades infecciosas deben ser rápidos, precisos, sencillos y asequibles. La rapidez en el diagnóstico juega un papel crucial, ya que permite la administración de un tratamiento adecuado. Un aspecto que condiciona la necesidad de disponer de técnicas de diagnóstico rápido es el aumento de las tasas de infecciones graves causadas por bacterias resistentes a antibióticos (86).

La mayoría de los laboratorios de microbiología clínica siguen utilizando métodos de cultivo específicos, detección de antígenos y el examen microscópico para detectar bacterias, principalmente *B. fragilis*, en muestras de heces de pacientes con diarrea (86).

Existen estudios que demuestran que la identificación bioquímica clásica, donde la identificación tradicional de bacterias anaerobias en el laboratorio de microbiología se basa

en el uso de pruebas fenotípicas que generalmente requieren largos períodos de incubación (87), tiene una resolución insuficiente para la identificación de la gran variedad de bacterias anaerobias potencialmente patógenas para el hombre, por lo que son necesarias otras técnicas con mayor valor para dicha identificación (88). Entre estas técnicas tenemos:

a) Espectrometría de masas MALDI-TOF

La espectrometría de masas (EM), conocida como matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry, (MALDI-TOF MS) (89), es decir, que emplea la tecnología de desorción/ionización láser asistida por matriz - tiempo de vuelo (90), es una técnica utilizada en la identificación de microorganismos mediante la creación de un espectro basado en el perfil de proteínas, principalmente ribosomales, a partir de colonias; este análisis conduce a la creación de un espectro de masas que es único para cada especie (87, 89) (figura 9).

La EM-MALDI-TOF ha revolucionado la metodología de identificación de microorganismos en microbiología clínica por su rapidez, fiabilidad y bajo costo, convirtiéndose en un recurso de referencia para dicha identificación (87, 88). Diversos estudios demuestran su gran fiabilidad en la identificación de diferentes grupos de microorganismos (88).

Un estudio reciente demuestra que, si se elaboran bases de datos de referencia amplias de los grupos fenotípicos, basadas en una identificación inequívoca por secuenciación de ARNr 16S, los resultados posteriores de la EM MALDI-TOF en muestras clínicas mejoran sensiblemente (88).

Del mismo modo, un estudio reciente limitado al género *Bacteroides* muestra que la correlación con la secuenciación del ARNr 16S es mucho mayor en el caso de la EM MALDI-TOF que en el de la identificación bioquímica convencional (87% frente a 52,3%) (88).

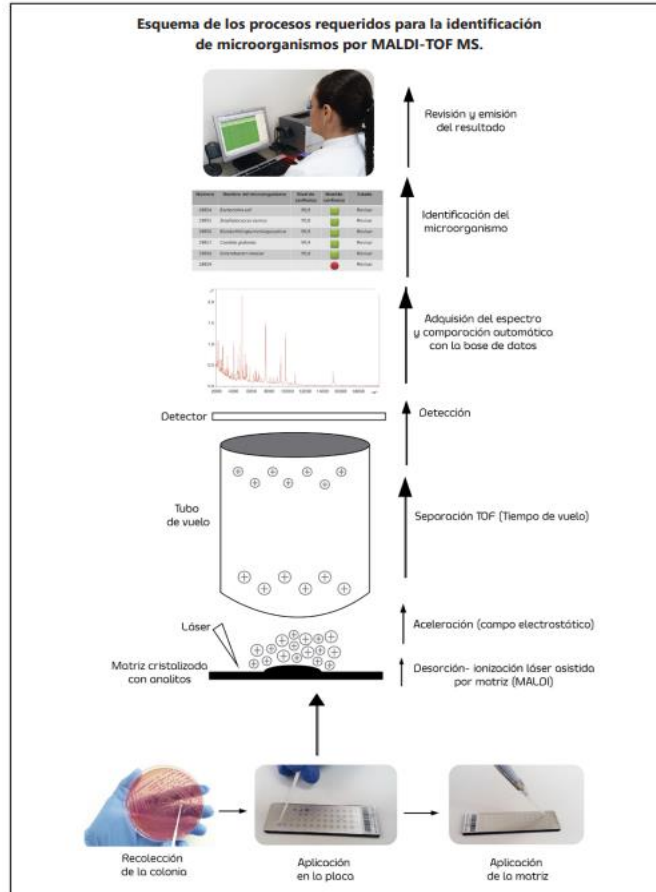


Figura 9. Funcionamiento EM MALDI-TOF. Una pequeña porción de una colonia bacteriana se deposita sobre una placa metálica conductora. Se cristaliza y se introduce en el espectrómetro de masas, se bombardea con una ráfaga de pulsos de láser, lo que ioniza la muestra. Las moléculas ionizadas se llevan a un detector, los iones más pequeños viajan más rápido que los iones más grandes, por lo tanto, los analitos son separados para crear un espectro de masas. Un espectro es una firma del microorganismo que se compara automáticamente con una base de datos para la identificación a nivel de género y especie. Tomado y adaptado de Zárate MS, Romano V, Nieves J, Smayevsky J, 2018 y bioMérieux España, 2022 (90, 91).

Los datos disponibles, demuestran que, en conjunto, la EM ofrece una identificación de bacterias anaerobias sensiblemente más fiable que la identificación bioquímica convencional (88).

EM MALDI-TOF a pesar de ser una tecnología recientemente adaptada para el uso en el laboratorio clínico-microbiológico, da una visión más exacta de la complejidad real del grupo de los microorganismos anaerobios patógenos y de la importancia como patógenos de especies que, hasta ahora, estaban probablemente infradiagnosticadas (87, 88), teniendo un notable impacto en el diagnóstico de los numerosos microorganismos anaerobios que crecen mal en los medios de cultivo habituales y se identifican de manera poco fiable por los sistemas de identificación convencionales (88).

Además, dentro de las principales ventajas de la tecnología MALDI-TOF es la facilidad de uso y la automatización del procedimiento que conlleva a mejorar la oportunidad de los resultados. La capacidad para analizar un gran número de aislamientos simultáneamente permite incrementar el rendimiento; además, una vez cargado el instrumento, las identificaciones se pueden realizar en menos de un minuto. Esta mejora en el tiempo de respuesta representa un beneficio sustancial en la oportunidad del resultado y la atención del paciente, así como en el ahorro que genera en los costos de atención (91).

b) PCR en tiempo real

En la actualidad, la reacción en cadena de la polimerasa en tiempo real (QRT-PCR) es la técnica más sensible para la detección de ácidos nucleicos (ADN y ARN). Esta variante de la PCR añade marcadores fluorescentes como los fluorocromos SYBR Green o sondas marcadas, con el objetivo de saber la cantidad de ADN inicial en todo momento y detectar la presencia de variaciones genéticas (92, 93).

La emisión de fluorescencia es proporcional al número de moléculas producidas, haciendo que la técnica sea cuantitativa (94). Posee características importantes como alta especificidad, amplio rango de detección y rapidez en la visualización del producto ya que no es necesario realizar una electroforesis posterior (92).

Para la realización de esta técnica, además de los reactivos necesarios para la PCR convencional, se necesitan sondas marcadas con enzimas, sustratos antigénicos, radioisótopos, quimioluminiscencia o fluorescencia, con capacidad de unión a la cadena de ácido nucleico que se requiere amplificar (94).

El grupo *B. fragilis* y los organismos relacionados, son los patógenos anaerobios más frecuentemente aislados de muestras clínicas. Sin embargo, el cultivo y la identificación fenotípica consumen mucho tiempo. Por lo que, en comparación con el cultivo anaeróbico convencional, la PCR en tiempo real puede proporcionar una detección e identificación precisa y más rápida del grupo *B. fragilis* y especies similares (95).

Para identificar bacterias del tracto gastrointestinal se ha utilizado el gen del ARNr 16S, puesto que se han encontrado secuencias blanco que permiten diferenciar entre una especie bacteriana de otra. Con la técnica de PCR en tiempo real se han amplificado y cuantificado dichas secuencias, para determinar la presencia y abundancia de las bacterias, aunque se encuentren en baja proporción. Por ejemplo, en muestras fecales de humanos se han identificado diversas bacterias entre las que encontramos a *Bacteroides fragilis* (93).

Sumado a esto, también se ha demostrado que la PCR cuantitativa en tiempo real es más rápida y sensible que el cultivo en la detección de *Bacteroides* en heridas, las cuales se producen principalmente en tórax y miembros superiores (74, 95), por lo que la QRT-PCR es un método rápido y sensible que tiene un gran potencial para la detección del grupo *B. fragilis* y organismos relacionados en muestras de heridas (95).

11.5.1. Métodos de detección de resistencias

Las bacterias anaerobias tienen perfiles impredecibles de susceptibilidad, por esto, cuando se encuentra una infección provocada por bacterias pertenecientes al género *Bacteroides*, es de suma importancia realizar pruebas de susceptibilidad antimicrobiana (96).

Esto, para comprobar la evolución de las resistencias, sobre todo en las especies más importantes a nivel de clínica, donde un tercio de los anaerobios aislados de muestras de rutina enviadas al laboratorio clínico de microbiología forma parte del grupo *Bacteroides fragilis* (incluyendo *B. fragilis*, *B. thetaiotaomicron*, *B. distasonis* y otras siete especies) (85, 96).

La detección de estas resistencias se utiliza para establecer pautas de tratamiento empíricas adecuadas y para comprobar la actividad de los nuevos antimicrobianos (85).

Entre estos métodos, tenemos:

a) Método de difusión a partir de tiras con gradiente creciente de antimicrobianos (E-test).

Etest® (figura 10) es un gradiente predefinido y estable de 15 concentraciones antimicrobianas sobre una tira de plástico. Es una herramienta sencilla y de bajo costo. Etest® cuenta con una amplia gama de más de 100 referencias antimicrobianas disponibles, donde se encuentra la Detección de Resistencia Antimicrobiana (ARD) (97).

La mayoría de los laboratorios clínicos utilizan sistemas de antibiograma automatizados disponibles en el mercado, tales como VITEK® de bioMérieux, o de disco-difusión como formas principales de realizar el antibiograma. Esto suele ser lo adecuado, ya que la mayoría de los sistemas de antibiograma cubren aproximadamente el 90% de las necesidades. Etest® es el método de elección para complementar el restante, 10% de las pruebas (97).

El procedimiento E-test está aprobado por la FDA pero no por el CLSI. Muestra buena correlación con la dilución en agar, las discordancias mayores se producen en *Bacteroides* del grupo *fragilis* con metronidazol y penicilina. Es un método muy sencillo, útil en rutina,

ya que permite probar la sensibilidad de cepas aisladas, incluidas las muy exigentes y de crecimiento lento. Es el procedimiento más utilizado en rutina (69).

Existen tiras de los antimicrobianos usados habitualmente en las infecciones por anaerobios (penicilina, amoxicilina/ácido clavulánico, cefoxitina, clindamicina, ertapenem, imipenem, meropenem, metronidazol, tigeciclina y vancomicina), de los empleados en caso de resistencia (cloranfenicol, linezolid, moxifloxacino) (69).

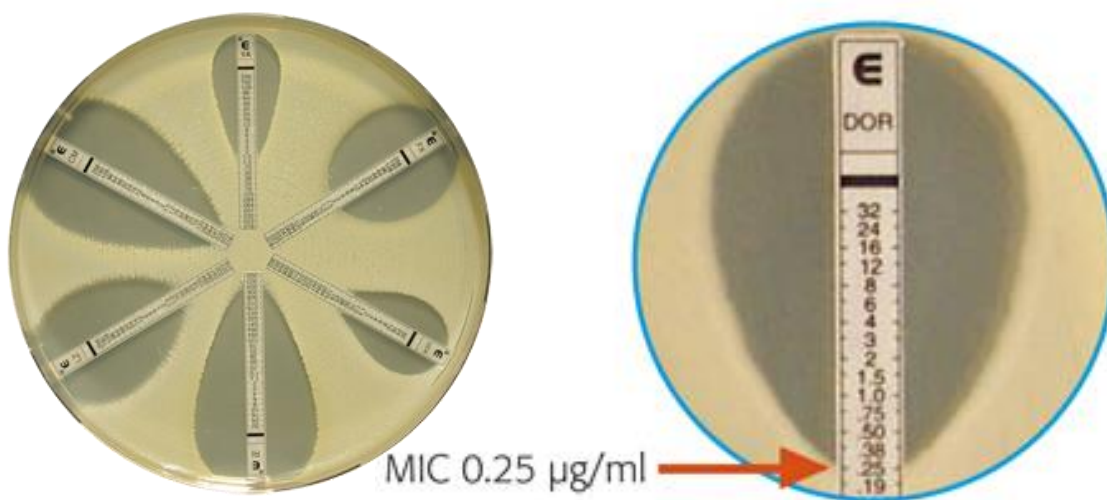


Figura 10. Etest® Tiras de antibiograma listas para su uso para determinar gradiente de CMI. Tomado y adaptado de bioMérieux España, 2022 (97).

b) Detección de resistencia a agentes antibacterianos mediante MALDI-TOF espectrometría de masas.

En la última década se ha observado un notable incremento en el número de cepas bacterianas que son productoras de β -lactamasas de espectro extendido (BLEE) o, más recientemente, de carbapenemasas, donde, como se mencionó anteriormente, bacterias del género *Bacteroides*, principalmente pertenecientes al grupo *fragilis* no se quedan atrás (20, 98). Esta situación genera la necesidad de disponer de un sistema de detección rápida de estos mecanismos de resistencia. Estudios recientes avalan la posibilidad de usar sistemas de espectrometría de masas (MS), específicamente sistemas MALDI-TOF, para identificar determinados mecanismos de resistencia ya que su empleo ofrece diversas ventajas (98).

Por lo que este método no solo nos permite la identificación bacteriana, como se explicó en páginas anteriores, también nos permite la identificación de diversos mecanismos de resistencia (98).

Mediante el uso de MALDI-TOF, se ha logrado discernir aislados de *Bacteroides fragilis* portadores del gen *cfiA*, responsable de la resistencia a los antibióticos carbapenémicos, de cepas *cfiA* negativas. Es importante resaltar que la discriminación entre cepas portadoras y no-portadoras del gen *cfiA* no se basa exclusivamente en la presencia o ausencia de un único pico específico, correspondiente al enzima que codifica dicho gen, sino en un análisis completo de los espectros de espectrometría de masas característicos de cada grupo genético (98, 99).

Aunque existe la posibilidad de obtener falsos positivos debido a la presencia silenciosa del gen *cfiA*, sería interesante agregar aislados *cfiA* positivos a las bases de datos MALDI-TOF MS utilizadas para la identificación bacteriana y usarlos como marcadores sustitutos para la detección de carbapenémicos resistencia. Debido a que el análisis MALDI-TOF MS está disponible en menos de 10 minutos, esta información se puede usar para guiar el tratamiento empírico de las infecciones por *B. fragilis*, ya que las pruebas de susceptibilidad demoran aproximadamente 48 horas (99).

Recientemente han sido publicados diversos trabajos donde se ha llevado a cabo la detección de actividad β -lactamasa usando una metodología basada también en la

espectrometría de masas MALDI-TOF. Esta nueva estrategia se basa en la comparación del perfil de picos que genera el agente antimicrobiano intacto (no-hidrolizado) con el perfil obtenido después de la hidrólisis de anillo β -lactámico por parte de las β -lactamasas presentes en el microorganismo objeto de análisis (98).

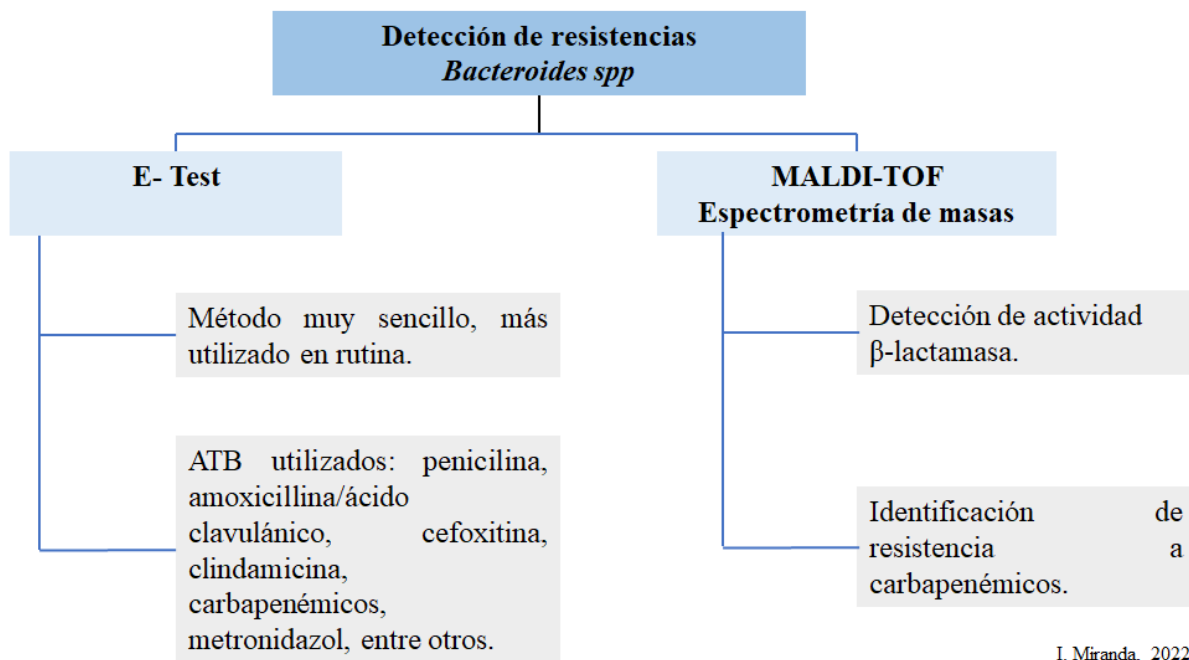


Figura 11. Métodos actuales de detección de resistencia de bacterias del género *Bacteroides*.

CONCLUSIONES

Las bacterias pertenecientes al género *Bacteroides*, son bacterias con una gran relevancia clínica, esto debido a que desempeñan un papel importante tanto, actuando como bacterias comensales como patógenos oportunistas.

El papel principal que cumplen estas bacterias se encuentra a nivel intestinal, específicamente colon, pero eso no impide que tengan un gran protagonismo en otros tejidos y regiones del cuerpo, como la cavidad oral, aparato respiratorio superior, urogenital y gastrointestinal, donde encontramos las infecciones intrabdominales.

Las bacterias representativas y más nombradas del género son *B. thetaiotaomicron*, *B. vulgatus* y *B. fragilis*, siendo esta última, la especie con mayor relevancia, ya que posee una elevada frecuencia de aislamiento en infecciones causadas por microorganismos anaerobios, además posee una alta patogenicidad y virulencia, donde principalmente encontramos el lipopolisacárido capsular, que se encuentra en la gran cantidad en la membrana externa de esta bacteria.

Para un correcto diagnóstico y tratamiento de una infección causada por bacterias del género *Bacteroides*, es importante una buena toma de muestra (desde diversos sitios como sangre, heces, heridas, exudados, abscesos, incluso LCR), transporte en las condiciones adecuadas, como anaerobiosis; el cultivo y estudio rutinario es fundamental para un correcto y exitoso manejo clínico de los pacientes. Donde actualmente el tratamiento de elección es el metronidazol en dosis bajas, con elevada frecuencia, esto para disminuir la posibilidad de contraer resistencia a este antimicrobiano.

Actualmente la adquisición de diversas resistencias, principalmente en bacterias anaerobias del género *Bacteroides*, ha sido un tema de auge mundial, esto debido a que hace más complicados los tratamientos y recuperación del paciente, causando un aumento de la morbilidad y mortalidad por este tipo de infecciones.

El conocimiento de los agentes etiológicos anaerobios involucrados en procesos infecciosos, concretamente enfocado en la resistencia antimicrobiana, se torna relevante no solo por el peligro potencial que podría representar para el paciente, sino también por el papel

que las especies de este grupo juega en la diseminación de genes de resistencia a nivel intestinal.

Durante los últimos años, métodos como MALDI-TOF y la QRT-PCR en laboratorios de microbiología clínica han mejorado significativamente el diagnóstico de infecciones. En comparación con el cultivo, estos métodos utilizados para detectar bacterias anaerobias, especialmente bacterias pertenecientes al género *Bacteroides*, parecen ser más sensibles, rápidos y fiables (95).

Por lo que los métodos de cultivo tradicionales podrían estar sesgados como herramienta de diagnóstico, ya que los organismos fácilmente cultivables se detectarían fácilmente, pero las bacterias difíciles de cultivar, como las anaerobias, que se encuentran en un estado viable pero no cultivable, son propensas a pasarse por alto, lo cual es riesgoso, ya que tienen el potencial de exacerbar la infección si no se tratan (95).

BIBLIOGRAFÍA

1. Wexler AG, Goodman AL. An insider's perspective: Bacteroides as a window into the microbiome. *Nature microbiology*. 2017;2:17026.
2. Noor A, Khetarpal S. Anaerobic Infections. StatPearls. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing Copyright © 2021, StatPearls Publishing LLC.; 2021.
3. Carvajal Carvajal C. Especies reactivas del oxígeno: formación, función y estrés oxidativo %J *Medicina Legal de Costa Rica*. 2019;36:91-100.
4. C. Q-G. Infecciones en humanos por bacterias anaerobias del género Bacteroides: actualización en aspectos taxonómicos, bioquímicos, inmunológicos, patogénicos y clínicos. 2010.
5. PREDARI SC. Manual de Microbiología de la Asociación Argentina de Microbiología. In: Aires FBdlPdB, editor. MICROORGANISMOS ANAEROBIOS 2018.
6. Finegold SM. In: Baron S eMMGTUoTMBaGC. Anaerobic Gram-Negative Bacilli. S B, editor. Galveston (TX): University of Texas Medical Branch at Galveston 1996. Chapter 20 p.
7. Guarner F. Papel de la flora intestinal en la salud y en la enfermedad %J *Nutrición Hospitalaria*. 2007;22:14-9.
8. Majewska A, Kierzkowska M, Kawecki D. What we actually know about the pathogenicity of Bacteroides pyogenes. *Medical Microbiology and Immunology*. 2021.
9. Shah HN. The Genus Bacteroides and Related Taxa. In: Balows A, Trüper HG, Dworkin M, Harder W, Schleifer K-H, editors. *The Prokaryotes: A Handbook on the Biology of Bacteria: Ecophysiology, Isolation, Identification, Applications*. New York, NY: Springer New York; 1992. p. 3593-607.
10. Luis Alcalá CB, José Elías García Sánchez, Milagros Reig. Bacterias Anaerobias. 2004. In: *Procedimientos de microbiología clínica [Internet]*. Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica. Available from: <https://www.seimc.org/contenidos/documentoscientificos/procedimientosmicrobiologia/seimc-procedimientomicrobiologia16.pdf>
11. Alves J, Peres S, Gonçalves E, Mansinho K. Anaerobic Bacteria with Clinical Relevance: Morphologic and Taxonomic Classification, Distribution among Human Microbiota and Microbiologic Diagnosis. 2017. 2017;30(5):9 %J *Acta Médica Portuguesa*.
12. Holdeman LV, Nelly, R W. & Moore. In *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*. WEC Genus I. Bacteroides Castellani and Chalmers 1919, ed: N.R. Krieg & J.G Holt. Baltimore: Williams & Williams.; 1984. p. 604-31.
13. Briceño C E, Pardi C G, Perrone C M. Nuevas especies del género Prevotella y su importancia en el área odontológica: Revisión de la literatura %J *Acta Odontológica Venezolana*. 2009;47:167-73.
14. Guilarte C, Pardi, G, Céspedes, C. Cambios Taxonómicos En El Grupo De Bacilos Anaerobios Gram Negativos De Interés En Odontología - Revisión Bibliográfica. 2005;43.

15. Urdaneta V, Casadesús J. Interactions between Bacteria and Bile Salts in the Gastrointestinal and Hepatobiliary Tracts. *Frontiers in medicine*. 2017;4:163.
16. López Pesántez AM, Samaniego Jara JM. Evaluaciones de la viabilidad y caracterización bacteriana anaeróbica estricta de la flora intestinal humana para ensayos in-vitro [bachelorThesis]. Internet: Cuenca; 2016.
17. Miguel Quirós Quesada CARS, Evelyn Rodríguez - Cavallini. Resistencia antimicrobiana en bacterias del grupo *Bacteroides fragilis* aisladas a partir de muestras diarreas de pacientes pediátricos y geriátricos costarricenses. *Revista Médica de la Universidad de Costa Rica*. 2008;2:43-51.
18. Chakravarty S, Massé E. RNA-Dependent Regulation of Virulence in Pathogenic Bacteria. *Frontiers in cellular and infection microbiology*. 2019;9:337.
19. de RE, Investigación Ce. *Pediatría*. *Revista Española de Clínica e Investigación*. 2013;69:39.
20. Litterio MR. Detección del determinante genético (*cfiA*) de la resistencia a carbapenems y su entorno molecular en aislamientos clínicos de bacilos gram negativos anaerobios [Tesis de maestría]: Universidad de Buenos Aires; 2016.
21. Husain F, Tang K, Veeranagouda Y, Boente R, Patrick S, Blakely G, et al. Novel large-scale chromosomal transfer in *Bacteroides fragilis* contributes to its pan-genome and rapid environmental adaptation. *Microbial genomics*. 2017;3(11).
22. Nazar C J. Biofilms bacterianos %J *Revista de otorrinolaringología y cirugía de cabeza y cuello*. 2007;67:161-72.
23. Polanco N, Manzi L, Carmona O. Posible papel de *Bacteroides fragilis* enterotoxigénico en la etiología de la vaginitis infecciosa %J *Investigación Clínica*. 2012;53:28-37.
24. Monserrat Sanz J, Gómez Lahoz AM, Sosa Reina MD, Prieto Martín A. Introducción al sistema inmune. Componentes celulares del sistema inmune innato. *Medicine - Programa de Formación Médica Continuada Acreditado*. 2017;12(24):1369-78.
25. Paola TP. Visión panorámica del sistema inmune. *Revista Médica Clínica Las Condes*. 2012;23(4):446-57.
26. Flisser A. *Temas Selectos De Microbiología Médica E Infectología*. Primera edición ed. México 2015.
27. Miranda-Rodríguez A dL-DJ, Sanchez N. Concertación de la inmunoevasión y la inflamación intrínseca como consecuencia de la transformación neoplásica in vitro de células madre mesenquimales. *Centro de Inmunología Molecular*. 2016.
28. Gustavo Aldapa-Vega RP-P, Armando Isibasi, Mario A. Moreno-Eutimio, Constantino López-Macías. Modulación de la respuesta inmune por los lipopolisacáridos bacterianos. *Revista alergia México*. 2016.
29. Campos NR. El Lipopolisacárido Bacteriano: Una Potente Endotoxina Con Múltiples Actividades Biológicas. *Recientes Avances En Estructura, Genética Y Bioquímica*, Facultad de Microbiología, Universidad de Costa Rica.

30. Solano Alpízar LB. Epidemiología de bacterias anaerobias aisladas en muestras clínicas en el hospital san juan de dios, San José, Costa Rica, durante el trienio 2014, 2015 y 2016 %J Revista Costarricense de Salud Pública. 2018;27:82-92.
31. Pacheco MA, Jiménez AM, Franco LA. Aislamientos bacterianos en apendicitis aguda. Revista Repertorio de Medicina y Cirugía. 2014;23(3):184-8.
32. Suárez JE. Microbiota autóctona, probióticos y prebióticos %J Nutrición Hospitalaria. 2013;28:38-41.
33. Cascante-Serrano D. Multirresistencia en el mundo anaerobio: Bacteroides fragilis. Laboratorio Clínico, Hospital San Juan de Dios, Caja Costarricense del Seguro Social. 2019;25.
34. Vallejo M, Cuesta DP, Flórez LE, Correa A, Llanos CE, Isaza B, et al. Características clínicas y microbiológicas de la infección intra-abdominal complicada en Colombia: un estudio multicéntrico %J Revista chilena de infectología. 2016;33:261-7.
35. Jiménez A, Sánchez A, Rey A, Fajardo C. Recovery of aerobic and anaerobic bacteria from patients with acute appendicitis using blood culture bottles. Biomedica : revista del Instituto Nacional de Salud. 2019;39(4):699-706.
36. Gloria Venegas GB, Erica Castro. Prevalencia de vaginosis bacteriana en trabajadoras sexuales chilenas. Hospital Las Higueras, Unidad de Atención de Control en Salud Sexual, Concepción, Chile. Universidad de Concepción, Salud Pública, Concepción, Chile. Universidad de Concepción, Obstetricia y Puericultura, Concepción, Chile [Internet]. 2011:[45-50 pp.]. Available from: <https://www.scielosp.org/pdf/rpsp/2011.v30n1/46-50/es>.
37. Aristizábal JA, Cataño LC, Sanabria JH, Henao JH, Cardona D. Sensibilidad a la amoxicilina de bacterias anaerobias de pacientes con periodontitis agresiva %J CES Odontología. 2012;25:12-21.
38. Valentina Sandoval Gallardo CVF. Frecuencia del Hábito Tábaco como Factor de Riesgo en Pacientes Tratados Periodontalmente en la Clínica Odontológica de la Universidad Finis Terrae: Universidad Finis Terrae; 2018.
39. Ledmar Jovanny Vargas Rodríguez MTA, Álvaro F. Suárez Chaparro. Absceso cerebral: diagnóstico, manejo, complicaciones y pronóstico. Revista Chilena de Neurocirugía. 2018:60-8.
40. Silva MU. Uso de antimicrobianos en peritonitis. Revista Chilena de Cirugía. 2003:413-21.
41. Shetab R, Cohen SH, Prindiville T, Tang YJ, Cantrell M, Rahmani D, et al. Detection of Bacteroides fragilis enterotoxin gene by PCR. Journal of clinical microbiology. 1998;36(6):1729-32.
42. Ferreira Ede O, de Carvalho JB, Peixoto RJ, Lobo LA, Zingalli RB, Smith CJ, et al. The interaction of Bacteroides fragilis with components of the human fibrinolytic system. FEMS immunology and medical microbiology. 2009;56(1):48-55.
43. E. Rodríguez MMG, C. Rodríguez y P. Vargas. Grupo Bacteroides fragilis en heces humanas no diarreicas y su sensibilidad antimicrobiana. Laboratorio de Investigación en

Bacteriología Anaerobia y Centro de Investigación en Enfermedades Tropicales, Facultad de Microbiología, Universidad de Costa Rica, San José, Costa Rica. 2006;19:357-62.

44. Casterline BW, Hecht AL, Choi VM, Bubeck Wardenburg J. The *Bacteroides fragilis* pathogenicity island links virulence and strain competition. *Gut microbes*. 2017;8(4):374-83.
45. Gauna AMPdRRd. Utilización de cepas de bacteroides spp. como probiótico en conejos: Universidad Autónoma de Barcelona; 2014.
46. University EC. What are Bacteroides? Waybackmachine [Internet]. 2012. Available from:
<http://web.archive.org/web/20120228220107/http://borg.med.ecu.edu/~webpage/about.html>
47. Stanley Oiseth LJ, Evelin Maza. Bacteroides2022. Available from:
<https://www.lecturio.com/es/concepts/bacteroides/#lecturio-toc>.
48. Strohm H, Payne CM, Ryan KJ. Demonstration of Bacteroides Capsules by Light Microscopy and Ultrastructural Cytochemistry. *American Journal of Clinical Pathology*. 1983;79(5):591-7.
49. Patrick S. An overview of the pathogenesis and resistance of *Bacteroides fragilis*: and invader from the microbiota. Centre of infection and immunity, medicine, dentistry and biomedical science, Queen's University Belfast. 2016.
50. Porter NT, Hryckowian AJ, Merrill BD, Fuentes JJ, Gardner JO, Glowacki RWP, et al. Phase-variable capsular polysaccharides and lipoproteins modify bacteriophage susceptibility in *Bacteroides thetaiotaomicron*. *Nature microbiology*. 2020;5(9):1170-81.
51. Ryan D, Jenniches L, Reichardt S, Barquist L, Westermann AJ. A high-resolution transcriptome map identifies small RNA regulation of metabolism in the gut microbe *Bacteroides thetaiotaomicron*. *Nature Communications*. 2020;11(1):3557.
52. Oba S, Sunagawa T, Tanihiro R, Awashima K, Sugiyama H, Odani T, et al. Prebiotic effects of yeast mannan, which selectively promotes *Bacteroides thetaiotaomicron* and *Bacteroides ovatus* in a human colonic microbiota model. *Scientific Reports*. 2020;10(1):17351.
53. Taxonomy: a comprehensive update on curation, resources and tools. [Internet]. 2020.
54. Mihajlovic J, Bechon N, Ivanova C, Chain F, Almeida A, Langella P, et al. A Putative Type V Pilus Contributes to *Bacteroides thetaiotaomicron* Biofilm Formation Capacity. *Journal of bacteriology*. 2019;201(18).
55. Taketani M, Zhang J, Zhang S, Triassi AJ, Huang Y-J, Griffith LG, et al. Genetic circuit design automation for the gut resident species *Bacteroides thetaiotaomicron*. *Nature Biotechnology*. 2020;38(8):962-9.
56. Béchon N, Ghigo J-M. Gut biofilms: *Bacteroides* as model symbionts to study biofilm formation by intestinal anaerobes. *FEMS Microbiology Reviews*. 2022;46(2):fuab054.
57. Yoshida N, Emoto T, Yamashita T, Watanabe H, Hayashi T, Tabata T, et al. *Bacteroides vulgatus* and *Bacteroides dorei* Reduce Gut Microbial Lipopolysaccharide Production and Inhibit Atherosclerosis. *Circulation*. 2018;138(22):2486-98.

58. Sebastián-Domingo J-J, Sánchez-Sánchez C. De la flora intestinal al microbioma %J Revista Española de Enfermedades Digestivas. 2018;110:51-6.
59. P ÓC, de Wouters T, Giri R, Mondot S, Smith WJ, Blottière HM, et al. The gut bacterium and pathobiont *Bacteroides vulgatus* activates NF-κB in a human gut epithelial cell line in a strain and growth phase dependent manner. *Anaerobe*. 2017;47:209-17.
60. Zhu Q, Shen Z, Chiodo F, Nicolardi S, Molinaro A, Silipo A, et al. Chemical synthesis of glycans up to a 128-mer relevant to the O-antigen of *Bacteroides vulgatus*. *Nature Communications*. 2020;11(1):4142.
61. Mandell D, and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases. *Bacteroides vulgatus*. 2015;Octava edición.
62. Morales-León F, von Plessing-Rossel C, Villa-Zapata L, Fernández-Rocca P, Sanhueza-Sanhueza C, Bello-Toledo H, et al. Evaluación farmacocinética/farmacodinámica (PK/PD) de un esquema de administración oral de metronidazol en intervalo ampliado para el manejo de infecciones producidas por *Bacteroides fragilis* %J Revista chilena de infectología. 2015;32:135-41.
63. Saouma S, Olson PC, Uddin A, Spagnola J, Mobarakai N, Lafferty JC. Purulent Pericarditis Caused by *Bacteroides fragilis*: A Rare Complication of Cholangitis. *Cardiology research*. 2019;10(5):309-11.
64. Ruiz-Giardin JM, Noguerado Asensio A. Bacteriemias %J Anales de Medicina Interna. 2005;22:5-9.
65. Dolores Lovera GS, Antonio Arbo. Infecciones Intra-abdominales. *Revista del Instituto de Medicina Tropical*. 2007.
66. García-Sánchez JE, García-García MI, García-Garrote F, Sánchez-Romero I. Diagnóstico microbiológico de las infecciones intraabdominales. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*. 2013;31(4):230-9.
67. Rodríguez C. T, Moreno B. N, Sanguineti M. A, Carrillo G. K, Bocic A. G, Abedrapo M. M, et al. Hallazgos microbiológicos y susceptibilidad antimicrobiana en cirugía abdominal de urgencia %J Revista de cirugía. 2020;72:217-23.
68. Cirugía AMd. *Cirugía y Cirujanos*2004. 114 p.
69. José E. García-Sánchez EG-SyMIG-G. Estudios de sensibilidad en bacterias anaerobias. *ELSEVIER*. 2014;32:23-9.
70. Hilda Bolaños RB, Elena Campos, Jorge Mora, Manuel Piza, y Olga Sánchez Susceptibilidad A Los Antibioticos De Los Principales Grupos De Bacterias Aisladas De Pacientes Con Sepsis Intraabdominal En Dos Hospitales Generales De Costa Rica.
71. Jover-García J, Gil-Tomás JJ, Colomina-Rodríguez J. [Towards the empirical treatment of choice in anaerobic infections]. *Revista española de quimioterapia : publicacion oficial de la Sociedad Espanola de Quimioterapia*. 2018;31(5):455-6.
72. Cisneros JM, Ortiz-Leyba C, Lepe JA, Obando I, Conde M, Cayuela A, et al. Uso prudente de antibióticos y propuestas de mejora desde la medicina hospitalaria. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*. 2010;28:28-31.
73. G. CLS. Bacterias anaerobias. *Universidad de Antioquia*2013. p. 56-60.

74. José Elías García-Sánchez, EG-S, Ángel Martín-del-Rey, Enrique García-Merino. Las bacterias anaerobias 150 años después de su descubrimiento por Pasteur. 332015. p. 119-28.
75. Jon Perez CR, M. Mota. Temas De Bacteriología y Virología Médica Bacterias anaerobias. Accelerating the world's research. 2006;21:355-80.
76. Ngan CC, Tan AL. Bacteroides fragilis meningitis. Singapore medical journal. 1994;35(3):283-5.
77. Silvia Martínez Tudela FJD, José María Cuadrado Pastor, Victoria Ortiz de la Tabla Duccase. Meningitis por Bacteroides fragilis en pacientes con infección por el VIH. Unidad de Enfermedades Infecciosas Servicio de Medicina Interna Hospital Universitario de San Juan Alicante. 2006;126:239.
78. Nagy E, Boyanova L, Justesen US. How to isolate, identify and determine antimicrobial susceptibility of anaerobic bacteria in routine laboratories. Clinical microbiology and infection : the official publication of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases. 2018;24(11):1139-48.
79. Sánchez JEG, Centelles MLG-L, López FCR, Gil AT. Procedimientos en Microbiología Clínica. In: Enfermedades RdlSEd, Clínica IyM, editors. p. 45.
80. S.A. LL. Toma De Muestras, Medios De Transporte, Medios De Cultivo, Y Pruebas Diferenciales. In: S.A. LL, editor. 2012.
81. Quintero B. LA. Infecciones Por Bacterias Anaerobias: Criterios De Manejo Clínico Y Procedimientos Micro- Biológicos De Diagnóstico. Revista Logos, Ciencia & Tecnología 2009;1:121-36.
82. Company Da. BD Bacteroides Bile Esculin Agar with Amikacin 2011.
83. Scientific™ T. Bacteroides Fragilis Isolation Agar Thermo Fisher Scientific™2022 [Available from: <https://www.thermofisher.com/order/catalog/product/R01104?SID=srch-srp-R01104>].
84. Becton DaCB. BD Schaedler Kanamycin-Vancomycin. Agar with 5% Sheep Blood (Schaedler-KV Agar). In: BD, editor. Instrucciones De Uso – Medios En Placa Listos Para Usar 2013.
85. Hernáez Crespo S. Infecciones por gérmenes anaerobios. Medicine. 2018;12(51):2991-9.
86. Jordi Vilaa MDG, Miguel Salavert, Jordi Boscha. Métodos de diagnóstico rápido en microbiología clínica: necesidades clínicas. ELSEVIER. 2016;35:41-6.
87. Zárata MS, Romano V, Nievas J, Smayevsky J. Utilidad de la espectrometría de masas MALDI-TOF en la identificación de bacterias anaerobias. Revista Argentina de Microbiología. 2014;46(2):98-102.
88. Vega-Castaño S, Ferreira L, González-Ávila M, Sánchez-Juanes F, García-García MI, García-Sánchez JE, et al. Eficacia de la espectrometría de masas MALDI-TOF en la

identificación de bacterias anaerobias. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*. 2012;30(10):597-601.

89. Relloso MS, Nievas J, Fares Taie S, Farquharson V, Mujica MT, Romano V, et al. Evaluación de la espectrometría de masas: MALDI-TOF MS para la identificación rápida y confiable de levaduras. *Revista Argentina de Microbiología*. 2015;47(2):103-7.

90. BioMérieux E. VITEK® MS 2022 [Available from: <https://www.biomerieux.es/diagnostico-clinico/productos/vitekr-ms>].

91. Maldonado N, Robledo C, Robledo J. La espectrometría de masas MALDI-TOF en el laboratorio de microbiología clínica %J *Infectio*. 2018;22:35-45.

92. al PAE. PCR en tiempo real. Universidad de Guadalajara. 2014.

93. Phandanouvong L V, Betancourt L L, Rodriguez V F. Determinación y cuantificación de bacterias acidolácticas por PCR en tiempo real %J *Revista MVZ Córdoba*. 2010;15:1897-906.

94. Mellado OMD. Técnicas de biología molecular en el diagnóstico de enfermedades infecciosas. *NPunto*. 2020;III:24.

95. Tong J, Liu C, Summanen P, Xu H, Finegold SM. Application of quantitative real-time PCR for rapid identification of *Bacteroides fragilis* group and related organisms in human wound samples. *Anaerobe*. 2011;17(2):64-8.

96. Cavalieri SJ. Manual de Pruebas de Susceptibilidad Antimicrobiana. Drug resistance in microorganisms. 2005.

97. España b. Etest®Tiras de antibiograma listas para su uso para determinar gradiente de CMI. bioMérieux. 2022.

98. Yuliya Zboromyrska MF-N, Francesc Marco, Jordi Vila Estapé, editor. Detección de resistencia a agentes antibacterianos mediante MALDI-TOF espectrometría de masas. *Revista Española de Quimioterapia*.

99. Wybo I, De Bel A, Soetens O, Echahidi F, Vandoorslaer K, Van Cauwenbergh M, et al. Differentiation of *cfiA*-negative and *cfiA*-positive *Bacteroides fragilis* isolates by matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry. *Journal of clinical microbiology*. 2011;49(5):1961-4.