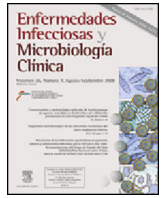




Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica

www.elsevier.es/eimc



Revisión

Las bacterias anaerobias 150 años después de su descubrimiento por Pasteur

José Elías García-Sánchez^{a,*}, Enrique García-Sánchez^a, Ángel Martín-del-Rey^b y Enrique García-Merino^c

^a Departamento de Medicina Preventiva, Salud Pública y Microbiología Médica, Facultad de Medicina, Universidad de Salamanca, Salamanca, España

^b Departamento de Matemática Aplicada, Escuela Politécnica Superior de Ávila, Universidad de Salamanca, Ávila, España

^c Departamento de Salud, Instituto de Educación Secundaria Ramón y Cajal, Valladolid, España

INFORMACIÓN DEL ARTÍCULO

Historia del artículo:

Recibido el 14 de enero de 2013

Aceptado el 11 de marzo de 2013

On-line el 4 de mayo de 2013

Palabras clave:

Bacterias anaerobias
Nuevas especies
Infecciones
Diagnóstico
Resistencia
Modelos matemáticos

R E S U M E N

El año 2011 marcó el 150 aniversario del descubrimiento de las bacterias anaerobias por Louis Pasteur. Tras este tiempo el interés biomédico por ellas se mantiene, y *Clostridium difficile* es probablemente la que más interés despierta en la actualidad. En estos últimos años se han producido importantes avances en taxonomía gracias al desarrollo tecnológico e informático, particularmente en el campo de la genética; así, se han caracterizado un número importante de nuevas especies implicadas en infecciones humanas y se han reclasificado algunas ya conocidas. A nivel patogénico, algunos anaerobios de la microflora que no se habían aislado de infecciones humanas se han aislado en algún cuadro clínico, ha habido emergencia o reemergencia de algunas especies y cuadros, ciertos anaerobios se han relacionado con síndromes infecciosos establecidos, ha aumentado la virulencia de algunas cepas y se han formulado hipótesis sobre su participación en ciertas enfermedades. En cuanto al diagnóstico, la generalización del MALDI-TOF ha supuesto una reducción de tiempo y un abaratamiento en la identificación que mejora día a día según se optimizan las bases de datos. La aplicación de la PCR en tiempo real ha sido otro gran avance, y la secuenciación del ARNr 16S y otros genes es ya una realidad para muchos laboratorios. Los anaerobios han ido aumentando su resistencia a los antimicrobianos, y la aparición de la resistencia a carbapenem y metronidazol y la mutirresistencia son ya una realidad. En esta última situación linezolid puede ser una buena alternativa en *Bacteroides*. Fidaxomicina es el único antianaerobio introducido en los últimos años, en concreto para la diarrea por *C. difficile*. Por último, se han desarrollado modelos matemáticos para el estudio de esta especie.

© 2013 Elsevier España, S.L.U. y Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica. Todos los derechos reservados.

Anaerobic bacteria 150 years after their discovery by Pasteur

A B S T R A C T

In 2011 we celebrated the 150th anniversary of the discovery of anaerobic bacteria by Louis Pasteur. The interest of the biomedical community on such bacteria is still maintained, and is particularly focused on *Clostridium difficile*. In the past few years important advances in taxonomy have been made due to the genetic, technological and computing developments. Thus, a significant number of new species related to human infections have been characterised, and some already known have been reclassified. At pathogenic level some specimens of anaerobic microflora, that had not been isolated from human infections, have been now isolated in some clinical conditions. There was emergence (or re-emergence) of some species and clinical conditions. Certain anaerobic bacteria have been associated with established infectious syndromes. The virulence of certain strains has increased, and some hypotheses on their participation in certain diseases have been given. In terms of diagnosis, the routine use of MALDI-TOF has led to a shortening of time and a cost reduction in the identification, with an improvement directly related to the improvement of data bases. The application of real-time PCR has been another major progress, and the sequencing of 16s rRNA gene and others is currently a reality for several laboratories. Anaerobes have increased their resistance to antimicrobial agents, and the emergence of resistance to carbapenems

Keywords:

Anaerobic bacteria
New species
Infections
Diagnosis
Resistance
Mathematical models

* Autor para correspondencia.

Correo electrónico: joegas@usal.es (J.E. García-Sánchez).

and metronidazole, and multi-resistance is a current reality. In this situation, linezolid could be an effective alternative for *Bacteroides*. Fidaxomicin is the only anti-anaerobic agent introduced in the recent years, specifically for the diarrhoea caused by *C. difficile*. Moreover, some mathematical models have also been proposed in relation with this species.

© 2013 Elsevier España, S.L.U. and Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica. All rights reserved.

Introducción

En 2011 se cumplió el 150 aniversario de la descripción por parte de Louis Pasteur de las bacterias anaerobias. El insigne científico escribía en 1861: «... l'accompagne, c'est que ces animancules infusoires vivent et se multiplient à l'infini sans qu'il soit nécessaire de leur fournir la plus petite quantité d'air ou d'oxygène libre»¹. Por esta razón se revisan las últimas aportaciones en el campo de las infecciones por bacterias anaerobias desde las 2 últimas revisiones aparecidas en esta revista^{2,3}.

Las bacterias anaerobias constituyen un grupo heterogéneo de microorganismos desde un punto de vista morfológico, estructural, fisiológico y genético, pues engloban cocos, bacilos y espiroquetas, grampositivos y gramnegativos, aespurulados y esporulados, móviles o inmóviles, con cápsula o sin ella... con vías evolutivas diferenciadas que tienen en común que necesitan la ausencia de oxígeno para crecer. Este gas es tóxico para dichas bacterias, aunque tienen diferente grado de sensibilidad a él, que varía según la especie o cepa, y hay bacterias anaerobias desde bastante aerotolerantes hasta muy estrictas. Este hecho determina que precisen una tecnología especial que elimine el oxígeno en todos los pasos del procedimiento diagnóstico para poder ser cultivadas. El desarrollo de sistemas adecuados de anaerobiosis en torno a 1970 determinó un auténtico *revival* de estos microorganismos en las décadas posteriores. En la actualidad el interés por ellos se mantiene pero ha disminuido cuantitativamente, salvo en el caso de *Clostridium difficile*, como se puede comprobar en una búsqueda en PubMed, probablemente debido al establecimiento de pautas profilácticas de terapia empírica eficaces, aunque su papel en las enfermedades humanas sigue siendo importante.

En los últimos años ha habido importantes avances en taxonomía, patogenia, clínica y diagnóstico y se han incrementado los problemas terapéuticos por el aumento de la resistencia y la no disponibilidad de nuevos antibióticos. También se ha empezado a investigar en el desarrollo de modelos matemáticos, como en otro tipo de infecciones.

Avances en taxonomía

La aplicación de procedimientos polifásicos, tanto genéticos —hibridación ADN-ADN y la secuenciación total y parcial del ARNr 16S y de otros genes (*dnaK*, *hsp60* [*groEL*], *gyrA*, *gyrB*, *recA*, *recN*, *rpoB*...)— como quimiotaconómicos —perfiles de ácidos grasos celulares, proteínas, quinonas...— o fenotípicos —morfológicos, bioquímicos, enzimáticos y cromatográficos—, ha permitido la descripción de nuevos géneros y especies relacionados con infecciones humanas y la reclasificación de especies mal situadas taxonómicamente². La generalización del MALDI-TOF y la secuenciación del ARNr 16S ha derivado en la implicación de especies que no habían sido descritas en clínica y de otras aún no caracterizadas, aunque algunas ya han recibido nombre, como *Anaerococcus provenciensis*, *Anaerococcus pacaensis*, *Prevotella conceptionensis*, *Casaltella massiliensis*, *Fenollara massiliensis* o *Levyella massiliensis*⁴.

Nuevos géneros con especies anaerobias implicadas en infecciones humanas

El género *Alloprevotella* está relacionado pero es distinto (del griego *allos*, diferente) de *Prevotella*. Comprende bacilos

gramnegativos inmóviles moderada o débilmente sacarolíticos que son sensibles a la bilis, licuan la gelatina, no hidrolizan la urea y no reducen los nitratos. Sus productos finales del metabolismo son ácido acético y ácido succínico⁵.

El género *Flavonifractor* (2010) debe su nombre a su capacidad de destruir los flavonoides. Comprende bacilos gramvariables, esporulados o no, móviles o inmóviles y asacarolíticos, aunque pueden fermentar débilmente la glucosa, la fructosa y la ribosa. Vancomicina muestra una actividad moderada y son sensibles a teicoplanina. Es un clostridial no clasificado que pertenece al grupo IV de *Clostridium*⁶.

El género *Gordonibacter* (2009), propuesto en honor de Jeffrey I. Gordon, integra cocobacilos grampositivos, móviles y no esporulados anaerobios estrictos. Definido por secuenciación del ARNr 16S y quimiotaconomía. Está situado en la familia *Coriobacteriaceae*⁷.

El género *Murdochiella* (2010), cuya denominación procede de David A. Murdoch, un investigador en cocos anaerobios, incluye cocos grampositivos, inmóviles, anaerobios obligados. Produce indol y no catalasa, ureasa o gelatinasa. No reduce los nitratos, no fermenta los hidratos de carbono ni hidroliza la esculina, y es sensible a la bilis. Pertenecen a la familia *Peptostreptococcaceae* y al grupo XIII de *Clostridium*⁸.

El género *Negativicoccus* (2010) tiene un nombre descriptivo que refleja que engloba cocos gramnegativos; pertenece a la familia *Veillonellaceae*⁹.

El género *Paraeggerthella* (2009) está muy próximo al género *Eggerthella*—lo que justifica su nombre—, del que se ha separado por estudios de quimiotaconomía. Tiene ácidos grasos y quinonas diferentes. Comprende bacilos grampositivos. Es uno de los miembros de la familia *Coriobacteriaceae*⁷.

El género *Phocaeicola* (2009), cuya denominación deriva de *Phocaea* (ciudad de Foça, en la actualidad en Turquía) y de *cola* (habitante), incluye cocobacilos gramnegativos, no esporulados, móviles por flagelos lofotricos. Este hecho lo diferencia entre otros de los miembros de *Bacteroides*, *Prevotella*, *Dysgonomonas*, *Porphyromonas*, *Parabacteroides* y *Tannerella*. No pigmentado. Catalasa y oxidasa positiva. Sensible a la bilis y asacarolítico. Aún no ha sido asignado a una familia dentro del orden *Bacteroidales*¹⁰.

El género *Pseudoflavonifractor* (2010) está relacionado con *Flavonifractor*, de aquí su nombre (falso *Flavonifractor*). Es un clostridial no clasificado que pertenece al grupo IV de *Clostridium*. Incluye bacilos gramnegativos, inmóviles y no esporulados⁶.

El género *Robinsoniella* (2009)—en reconocimiento a Isadore M. Robinson por sus aportaciones a la microbiología de los cerdos— incorpora bacilos cortos u ovoides esporulados, aislados o en parejas, cuyos productos finales del metabolismo son los ácidos acético y succínico, pero no el butírico. Es un clostridial no clasificado que pertenece al grupo XIVa de *Clostridium*¹¹.

Nuevas especies anaerobias

Dentro de los cocos grampositivos anaerobios se han descrito *Gemella asaccharolytica*, *Murdochiella asaccharolytica*, *Peptoniphilus coxii*, *P. duerdenii*, *P. koenoenienae* y *P. tyrelliae*, todas implicadas en infecciones humanas.

Gemella asaccharolytica (2010) recibe su denominación específica en razón de su incapacidad de fermentar azúcares. Sus

miembros son cocos gramvariables, de alrededor de 0,5 μm de diámetro, exigentes y de crecimiento lento. A los 5 días de incubación da lugar a la aparición de colonias pequeñas, lisas, convexas, circulares, enteras, semitranslúcidas, de 0,4 a 0,5 mm de diámetro y alfa-hemolíticas. Especie sacarolítica que produce indol, catalasa y oxidasa, no ureasa, no reduce los nitratos y es capnófila. Aunque inicialmente es anaerobia en los subcultivos, se hace aerotolerante. Se ha caracterizado genéticamente por secuenciación del ARNr 16S. La descripción se realizó con 3 aislamientos de heridas. La secuencia del ARNr 16S depositada en GenBank es la EU427463¹².

Murdochella asaccharolytica (2010) también debe su nombre específico a su incapacidad de fermentar azúcares. Comprende cocos grampositivos pequeños, de 0,5 a 0,6 μm de diámetro, que se agrupan en parejas y cadenas cortas. A los 5 días de incubación da lugar a la aparición de colonias de 2-3 mm grises, planas o planoconvexas, circulares, enteras, opacas. Asacarolítica, produce indol pero no catalasa y ureasa. No reduce los nitratos y es anaerobia estricta. Se ha caracterizado genéticamente por secuenciación del ARNr 16S. La descripción se realizó con 2 cepas aisladas de heridas. La secuencia del ARNr 16S depositada en GenBank es la EU483153⁸.

Peptoniphilus coxii (2012) recibe su designación específica para honrar a Mike Cox, «anaerobista» americano. Incluye cocos grampositivos pequeños ($\leq 0,7 \mu\text{m}$). A los 5 días de incubación da lugar a la aparición de colonias circulares, enteras, opacas y de 1 a 2 mm de diámetro. Asacarolítica, no produce indol, catalasa y ureasa y no reduce los nitratos. Se ha caracterizado genéticamente por secuenciación del ARNr 16S. La descripción se realizó con 7 cepas aisladas de diferentes muestras clínicas obtenidas de absceso de flanco, quiste de espalda, piernas, fluido endometrial y biopsia amigdalina. Todas fueron sensibles a penicilina, metronidazol y linezolid y resistentes a doxiciclina. Dos cepas fueron resistentes a clindamicina y moxifloxacino. La secuencia del ARNr 16S depositada en GenBank es la GU938836¹³.

Peptoniphilus duerdenii (2011) se llama así para honrar al «anaerobista» británico Brian Duerden. Incluye cocos grampositivos de $\geq 0,7 \mu\text{m}$ de diámetro. A los 5 días de incubación da lugar a la aparición de colonias de 1-2 mm grises, planas o planoconvexas, circulares, enteras, opacas. Asacarolítica, produce indol pero no catalasa y ureasa y no reduce los nitratos. Se ha caracterizado genéticamente por secuenciación del ARNr 16S y por quimiotaixonomía por su composición en ácidos grasos de cadena larga. Se ha descrito estudiando una cepa aislada en un absceso vaginal. La secuencia del ARNr 16S depositada en GenBank es la EU526290¹⁴.

Peptoniphilus koenoenienae (2011) debe su nombre específico a la «anaerobista» finesa Eija Kõnönen. Incluye cocos grampositivos de $\geq 0,7 \mu\text{m}$ de diámetro. A los 5 días de incubación da lugar a la aparición de colonias de 1-2 mm grises, convexas, circulares, enteras, opacas. Asacarolítica, produce indol pero no catalasa y ureasa y no reduce los nitratos. Se ha caracterizado genéticamente por secuenciación del ARNr 16S y por quimiotaixonomía por su composición en ácidos grasos de cadena larga. Se ha descrito estudiando una cepa aislada en un absceso glúteo. La secuencia del ARNr 16S depositada en GenBank es la EU526291¹⁴.

Peptoniphilus tyrrelliae (2012) recibe su epíteto por Kerin L. Tyrrell, un «anaerobista» americano. Contiene cocos pequeños ($\leq 0,7 \mu\text{m}$) de crecimiento lento y asacarolíticos. A los 5 días de incubación da lugar a la aparición de colonias circulares, enteras, opacas y de 1 a 2 mm de diámetro. Produce indol y catalasa, no ureasa y no reduce los nitratos. Se ha caracterizado genéticamente por secuenciación del ARNr 16S. La descripción se realizó con 4 cepas aisladas de diferentes muestras clínicas, incluidas herida quirúrgica isquémica, pierna y absceso perirectal. Todas fueron sensibles a penicilina, doxiciclina, metronidazol y linezolid y resistentes a moxifloxacino. Una cepa fue resistente a clindamicina. La secuencia del ARNr 16S depositada en GenBank es la GU938835¹³.

Entre los bacilos grampositivos anaerobios no esporulados se han comunicado *Actinomyces timonensis*, *Gordonibacter pamelaee*, *Paraeggerthella hongkongensis* y *Scardovia wiggisiae*, todas recuperadas de infecciones humanas.

Actinomyces timonensis (2010) debe su denominación al Hôpital de la Timone (Marsella), donde fue aislada. Bacilo (1,0-3,2X0,3-0,5 μm) grampositivo recto. A las 48 h da colonias puntiformes en agar sangre. Fermentativa, no produce catalasa y oxidasa. Crece en microaerofilia y con 5% de CO_2 . Se ha caracterizado genéticamente por secuenciación del ARNr 16S, fenotípicamente y por proteómica (MALDI-TOFMS). La descripción se realizó con una cepa aislada de una sacroileítis. La secuencia del ARNr 16S depositada en GenBank es la EU484334¹⁵.

Gordonibacter pamelaee es la única especie del género, descrita en 2009 y denominada así en honor de la bioquímica Pamela Lee Oxley. Es un cocobacilo grampositivo móvil por flagelos subpolares. Da lugar a colonias pequeñas, blanquecinas y translúcidas⁷. En agar sangre a los 2 días de incubación son grises, no hemolíticas y de 0,5 mm¹⁶. Es asacarolítica, catalasa positiva y no reduce los nitratos. La descripción se realizó a partir de una cepa aislada del colon de un paciente con enfermedad de Crohn basándose en la secuenciación del ARNr 16S y quimiotaixonomía⁷. Posteriormente se ha recuperado de una bacteriemia y el aislado mostró CMI bajas para penicilina (0,5 mg/l)¹⁶. La secuencia del ARNr 16S depositada en GenBank es la AM886059⁷.

Paraeggerthella hongkongensis (2009) es inmóvil y anteriormente estaba incluida en el género *Eggerthella*, como *E. hongkongensis*, pero a partir de los datos obtenidos en los estudios de quimiotaixonomía se ha transferido a *Paraeggerthella*⁷. Se ha aislado de bacteriemias¹⁷.

Scardovia wiggisiae (2010) debe su nombre específico a la «anaerobista» Lois S. Wiggs. Los miembros de esta especie son bacilos (0,6-0,7 \times 1,6-4 μm) grampositivos, inmóviles, pleomórficos (rectos, ligeramente curvos ya veces con forma de maza) que aparecen aislados en parejas o cadenas cortas, con alguna ramificación y aspecto difteroido. De crecimiento lento, tras 7 días de incubación da lugar a colonias de 0,4 a 1,2 mm de diámetro, pleomórficas, circulares, irregulares o con aspecto molar, enteras u onduladas, grises, blanquecinas o crema, convexas y opacas. Es sacarolítica. No produce indol, ureasa o catalasa y no reduce los nitratos. Sus productos finales del metabolismo son ácido acético y ácido láctico. La descripción se realizó genéticamente y por quimiotaixonomía de 6 cepas, una clínica se había aislado de una infección de brazo de un usuario de drogas parenterales. La secuencia del ARNr 16S depositada en GenBank es la AY278626 y la de *hsp60* la GU301684. El contenido de G + C del ADN es de 55 mol%¹⁸.

Las especies de bacilos grampositivos anaerobios esporulados de interés clínico ya no se sitúan con exclusividad en el género *Clostridium*, sino también en los géneros *Flavonifractor* y *Robinsoniella*.

Robinsoniella peoriensis (2009) recibe su nombre de la ciudad de Peoria, en Illinois, donde se descubrió. Este bacilo grampositivo corto posee esporas subterminales que no deforman el soma y es inmóvil. Tras 2 días de incubación en anaerobiosis produce colonias de 0,5-1,5 mm no hemolíticas. Sacarolítica, no produce indol y ureasa y no reduce los nitratos. Sus productos finales del metabolismo son principalmente ácido acético y ácido succínico. La descripción se realizó genéticamente, bioquímicamente (quimiotaixonomía) y fenotípicamente utilizando 6 cepas, 5 obtenidas de estiércol porcino y una de clínica que se había aislado de una herida de talón¹¹. Posteriormente se ha aislado de un hematoma muscular¹⁹, bacteriemias²⁰⁻²², infección intraabdominal, infección de partes blandas²¹ e infección de dispositivo ortopédico²³. Se ha comunicado que es sensible a cefoxitina, clindamicina, amoxicilina-ácido clavulánico, piperacilina-tazobactam, imipenem, metronidazol y vancomicina y variable a penicilina^{19,20,23}. La secuencia del ARNr 16S depositada en GenBank es la AY278626

y la de *hsp60* la GU301684. El contenido de G+C del ADN es de 55 mol%¹¹.

Únicamente se han caracterizado 4 nuevas especies dentro de los bacilos gramnegativos anaerobios: *Leptotrichiahongkongensis*, *Parabacteroides gordonii*, *Phocaeicola abscessus* y *Porphyromonas benmonis*, y se han reclasificado 3: *Bacteroides ureolyticus*, *Bacteroides capillosus* y *Prevotella tannerae*.

Alloprevotella tannerae (2010) es la nueva denominación de *Prevotella tannerae*, que genéticamente difiere del género *Prevotella*⁵. Es una bacteria implicada en infecciones endodónticas²⁴.

Campylobacter ureolyticus (2010) es la nueva denominación de *Bacteroides ureolyticus*; por sus características no encaja en el género *Bacteroides* y sí en el *Campylobacter*²⁵.

Leptotrichia hongkongensis (*Leptotrichia* sp. HKU24) (2010), cuyo nombre específico deriva de la ciudad en que se aisló, es un bacilo gramvariable recto e inmóvil. Exigente, no crece en cultivo primario en placa. Tras subcultivos en BACTEC Plus Anaerobic/F lo hace en medios enriquecidos lentamente, en 96 h, en anaerobiosis y aerobiosis con 5% de CO₂. Muy inactivo, es asacarolítico y no produce catalasa o ureasa. Sensible a penicilina, amoxicilina-ácido clavulánico, imipenem y vancomicina, resistente a metronidazol y levofloxacino. La descripción se realizó genéticamente utilizando una cepa aislada de un hemocultivo de una paciente con carcinoma de mama metastásico²⁶. Ulteriormente se ha aislado de un paciente con mieloma que recibía quimioterapia²⁷. Forma parte de la flora oral. La secuencia del ARNr 16S depositada en GenBank es la EU919515²⁶.

Phocaeicola abscessus (2009) debe su denominación específica a que fue aislado de un absceso. La mayoría de sus componentes son cocobacilares (0,3-0,6 × 0,4-0,9 μm) y solo un pequeño porcentaje bacilares (1,7-0,4 × 1,2-6,5 μm). Móviles por flagelos lofotricos. Exigente (necesita agar chocolate) y de crecimiento lento (al menos 5 días). Tras 7 días de incubación da lugar en agar chocolate a colonias de 1 mm, blancas, enteras, circulares, regulares, lisas, brillantes y convexas. Asacarolítico y sensible a la bilis. No produce indol, ureasa, catalasa u oxidasa, y no reduce los nitratos. Su espectro proteico ha sido determinado por MALDI-TOF MS. Caracterizada por una cepa aislada de un absceso cerebral. La secuencia del ARNr 16S depositada en GenBank es la EU694176¹⁰.

Parabacteroides gordonii (2009) debe su denominación específica a Jeffrey L. Gordon, un biólogo americano. Bacilo (0,8-1,7 × 2,5 μm) gramnegativo, inmóvil, de crecimiento rápido, a las 48 h de incubación las colonias son de 1 a 2 mm de diámetro, grises o blanco grisáceas, circulares, enteras, ligeramente convexas y lisas. No produce indol y ureasa, ni digiere la gelatina o hidroliza la esculina. Esta última prueba lo diferencia de otras especies de *Parabacteroides*. No reduce los nitratos. Sacarolítico y resistente a la bilis. De la glucosa produce ácido acético y pequeñas cantidades de ácido succínico. Las 3 cepas empleadas para su descripción se aislaron de hemocultivos. La secuencia del ARNr 16S depositada en GenBank es para MS-1^T la AB470343. El contenido de G+C del ADN es de 44,6 mol%²⁸.

Porphyromonas benmonis (2009) debe su nombre específico a Yoshimi Benno, un «anaerobista» japonés. Bacilo (0,7-1 × 0,8-6 μm) gramnegativo, inmóvil, de crecimiento rápido, a las 48 h de incubación las colonias son pequeñas, circulares, enteras, convexas y ligeramente β-hemolíticas. A los 10 días se pigmentan ligeramente pero no dan fluorescencia roja a la luz UV. Asacarolítica, es sensible a la bilis y licua la gelatina. No produce indol y ureasa o hidroliza la esculina y no reduce los nitratos. Produce ácidos acético y succínico como principales productos del metabolismo de la glucosa. Se ha caracterizado por secuenciación del ARNr 16S y por los ácidos grasos celulares. Las 14 cepas empleadas para su descripción se aislaron de infecciones mixtas de piel y partes blandas no orales, principalmente de abscesos de la zona glútea y de la ingle, por lo

que se presupone forma parte de la flora intestinal. El 15% (2) de las cepas produjeron β-lactamasas. La secuencia del ARNr 16S depositada en GenBank es la EU414673. Su contenido de G+C del ADN es de 58 mol%²⁹.

Pseudoflavonifractor capillosus (2010) es el nuevo nombre de *Bacteroides capillosus*, que genéticamente es un clostridial⁶.

Dentro de los cocos gramnegativos anaerobios solo se ha descrito una especie.

Negativicoccus succinicivorans, según indica su denominación, es un coco gramnegativo que consume ácido succínico. Incluye cocos (0,4 μm) gramnegativos, inmóviles, no esporulados y de crecimiento rápido; a las 48 h de incubación produce colonias de 0,5 mm circulares, convexas y translúcidas. Anaerobio y microaerófilo, asacarolítico, muy inactivo⁹. Utilizando discos diagnósticos para anaerobios es resistente a vancomicina, colistina y metronidazol y sensible a kanamicina y bilis³⁰. Produce ácido acético y propiónico y trazas de 2-hidroxivalérico. El succinato sódico estimula su crecimiento. Se ha caracterizado por secuenciación del ARNr 16S y de *dnaK*. Es parte de la microbiota cutánea y se ha aislado en infecciones de partes blandas⁹ y en una bacteriemia, cuya cepa fue sensible a penicilina y resistente a clindamicina y metronidazol³⁰. La secuencia del ARNr 16S depositada en GenBank es la FJ715930 y la de *dnaK* FJ715931⁹.

Novedades en patología y en clínica

Las bacterias anaerobias participan en la génesis de multitud de cuadros clínicos específicos e inespecíficos. Los específicos suelen ser consecuencia de las toxinas producidas por algunas especies de *Clostridium*. Los inespecíficos pueden localizarse en casi cualquier localización corporal, pero especialmente en las zonas donde forman parte de la microbiota normal, que son su origen. Estas infecciones suelen ser de origen endógeno, piogénicas, polimicrobianas y mixtas. Su aislamiento en cultivo puro refuerza su patogenicidad. Las especies que más se recuperan en clínica son *Bacteroides fragilis* y *Bacteroides thetaiotaomicron*, especialmente en las infecciones infradiafragmáticas, porque forman parte de la flora colorrectal, y son además las más resistentes a los antibióticos. Esto ha sido una constante al menos en los últimos 40 años.

De una forma amplia se pueden considerar como novedades en la patogenicidad la implicación de anaerobios inicialmente descritos como parte de la microflora en cuadros clínicos, la emergencia o reemergencia de algunas especies y cuadros, la implicación de algunas bacterias en cuadros establecidos y el aumento de virulencia de algunas cepas.

Se ha comunicado por primera vez el aislamiento en una bacteriemia en cultivo puro de *Bacteroides pyogenes* tras una mordedura de gato³¹, de *Gordonibacter pamelaee* en un paciente con carcinoma rectosigmoideo diseminado¹⁶ y de *Parabacteroides goldsteinii* en infección intraabdominal³². *Bacteroides caccae* y *Bacteroides stercoris* han sido cultivados y detectados por PCR en tiempo real, y por este método también *Parabacteroides merdae* en infecciones de heridas³³; *Clostridium chauvoei*, un patógeno importante en veterinaria, en una enterocolitis del neutropénico³⁴, y *Clostridium disporicum* en bacteriemia³⁵ e infección intraabdominal³⁶.

Leptotrichia spp. parece ser un patógeno emergente en la producción de bacteriemias en pacientes neutropénicos que reciben altas dosis de quimioterapia, en particular en casos de mieloma múltiple tratados con quimioterapia citotóxica para trasplante autólogo de células madre hematopoyéticas. Los pacientes presentan fiebre con mucositis y/o enteritis²⁷.

Las infecciones por *Fusobacterium necrophorum*, que fueron muy frecuentes en la era preantibiótica, aun siendo infrecuentes han vuelto a crecer a escala mundial en las últimas 2 décadas, particularmente el síndrome de Lemierre³⁷⁻⁴⁰, hecho que también se ha señalado en España⁴¹. Este incremento parece que está relacionado

con la disminución del uso de las penicilinas³⁷. De las 2 subespecies, está implicada sobre todo *F. necrophorum* spp. *funduliforme*. A diferencia de otros anaerobios no esporulados, la infección se estima que es de origen exógeno³⁷. El síndrome de Lemierre es un cuadro específico y generalmente de etiología monomicrobiana. Tras una amigdalitis aparece un absceso periamigdalino y una tromboflebitis séptica de la vena yugular interna con bacteriemia que puede metastatizar en diferentes localizaciones, particularmente en el pulmón. Es una urgencia terapéutica que a veces se asocia con una mononucleosis. *F. necrophorum* también puede causar amigdalitis recurrentes o persistentes³⁷⁻⁴⁰.

Existe controversia sobre la frecuencia de la bacteriemia por anaerobios, pues solo existen 2 estudios que cubren un periodo temporal amplio y que ofrecen resultados contrapuestos. Lassmann et al.⁴², analizando un periodo de 12 años (1993-1994 a 2004), han comunicado que en la Clínica Mayo ha incrementado su frecuencia en las últimas 2 décadas, aumento que han relacionado particularmente con pacientes con enfermedades subyacentes complejas. Por el contrario, Fenner et al.⁴³, tras analizar un periodo de 10 años (1997-2006) en el Hospital Universitario de Basilea han encontrado que la frecuencia ha disminuido. Lazarovitch et al.⁴⁴ también han constatado una disminución de la bacteriemia por anaerobios con un incremento de los bacteroides de 1998 a 2007 en el Assaf Harofeh Medical Center de Israel. En estos estudios se resalta el creciente papel de los cocos grampositivos y el de los bacteroides. En España se ha comunicado una incidencia de 0,89 casos/1.000 ingresos hospitalarios. El origen abdominal, la edad avanzada y la presencia de comorbilidad son los factores predictivos de este estudio⁴⁵. Tanto si la bacteriemia está creciendo como si no lo hace, el hecho es que su prevalencia es muy baja, por lo que es útil disponer de modelos clínicos predictivos para orientar su diagnóstico. El desarrollado por Ruiz-Giardin et al.^{46,47} considera el origen abdominal y cutáneo (OR: 14,85), el origen desconocido (OR: 3,46), la hipotensión (OR: 1,99), la ausencia de manipulaciones vasculares (OR: 2,62) y la edad > 60 años (OR: 3,21). Aunque muchas publicaciones, generalmente antiguas, han comunicado la ausencia de relación entre la mortalidad y un tratamiento antibiótico antianaerobio adecuado⁴⁶, otras sí han hallado correlación⁴⁸ y encuentran que la cirugía adecuada mejora el pronóstico^{49,50}, con lo que sigue siendo un tema abierto.

Se ha formulado una hipótesis en la que las bacterias anaerobias intestinales pueden ser un factor en la aparición del autismo⁵¹, entre ellas los clostridios, productores del ácido 3-(3-hidroxifenil)-3-hidroxiacético que se encuentra en altas concentraciones en la orina de niños con este cuadro⁵², y especies de *Desulfovibrio*^{53,54}, más comunes que en la población normal. Se ha comunicado respuesta en niños autistas tratados con vancomicina⁵⁵, así como en un caso de un brote agudo de esquizofrenia que tenía niveles elevados de ácido 3-(3-hidroxifenil)-3-hidroxiacético en su orina⁵². Su papel, si es que lo desempeña, entraría dentro del marco de las modificaciones de la microbiota, como ocurre en otros procesos en los que han sido implicados los anaerobios, como la vaginosis bacteriana, la diarrea por *C. difficile* o las periodontitis del adulto.

Las bacterias del dorso de la lengua que producen compuestos volátiles sulfurados se han implicado en la etiología de la halitosis oral. Las de los sujetos sanos no siempre coinciden con la de los que padecen halitosis, y en estos se encuentran especialmente, entre las identificables, *Atopobium parvulum*, *Dialister*, *Eubacterium surci* y *Solobacterium moorei*⁵⁶. De todas ellas, *S. moorei* ha ido cobrando importancia como agente de esta condición en los últimos años, pues se detecta o cultiva en todos los casos de halitosis y no en sanos^{57,58}.

Desde que en 1984 se sugirió el posible papel de *B. fragilis* enterotoxigénico como agente productor de diarrea en corderos recién nacidos⁵⁹, diversos estudios lo han relacionado con la producción de diarrea aguda en niños y adultos⁶⁰. Los resultados de investigaciones recientes no han demostrado diferencias significativas en la

detección de genes de enterotoxina (fragilisina) en muestras fecales procedentes de pacientes con diarrea y sujetos sanos, por lo que se precisan estudios adicionales para determinar su verdadero papel en humanos tanto en la diarrea como en otros cuadros que afectan al colon. Hay 3 tipos de toxina que controlan la producción de la toxina; son los *bft*, de los que hay 3 isotipos, siendo el 1 el más prevalente^{61,62}.

La forma iatrogénica es un nuevo tipo de botulismo que se une a los ya conocidos: la intoxicación alimentaria, de heridas, del lactante, intestinal del adulto y por inhalación⁶³. Se produce por la utilización de la toxina botulínica con fines terapéuticos⁶⁴ o estéticos⁶⁵, tanto con la toxina A (OnabotulinumtoxinA [Botox®], AbobotulinumtoxinA [Dysport®])⁶⁴ como con la B (RimabotulinumtoxinB [Myobloc®])⁶⁶.

Con relación a *C. difficile*, el principal problema clínico es la aparición y la diseminación del biotipo 027 (*C. difficile* B1/NAP1/027/toxinotipo III), de alta agresividad y potencialidad epidémica. Esta cepa produce más toxinas A y B, por delección del gen regulador, y una toxina binaria⁶⁷. Aunque el biotipo 027 se ha diseminado por América y Europa, aún no se ha comunicado en España⁶⁸, donde sin embargo han aumentado las tasas de infección hospitalaria⁶⁹ y comunitaria⁶⁸, y probablemente lo harían más si se aplicaran procedimientos diagnósticos más sensibles⁶⁸, así como la mortalidad⁷⁰. Otros problemas relacionados con la infección por *C. difficile* son su impacto en la comunidad, donde suele afectar a pacientes más jóvenes y producir cuadros menos leves⁷¹, y en niños⁷². Aunque un metaanálisis ha mostrado evidencias de la asociación de la diarrea asociada a *C. difficile* y el uso de inhibidores de la bomba de protones⁷³, un estudio poblacional en el que se ajustaron la edad y las comorbilidades no demostró que el uso de inhibidores de la secreción ácida se asociara con una mayor propensión a padecer cuadros más graves por *C. difficile* ni más complicaciones, fracasos de tratamiento o recurrencias⁷⁴.

La cromatografía líquida-espectrometría de masas ha sido utilizada para el análisis de proteínas que puedan estar implicadas en la virulencia de las bacterias involucradas en la infecciones endodónticas, procesos de etiología mixta donde los anaerobios juegan un importante papel⁷⁵.

Progresos en el diagnóstico

El diagnóstico bacteriológico directo tradicional de la mayoría de las infecciones por bacterias anaerobias sigue un esquema muy parecido, en gran parte coincidente, al de las producidas por aerobios y facultativos. Su condición de anaerobios, sus exigencias nutricionales, la velocidad de crecimiento y su naturaleza mixta condicionan sus etapas. La recogida de la muestra es esencial, debe ser representativa y evitarse cuando se toma la contaminación por la microbiota normal. Se debe enviar rápidamente al laboratorio empleando procedimientos que eliminen su exposición al oxígeno. Su procesamiento debe ser rápido, y en los laboratorios que dispongan de cámara de anaerobios, en esta. Se procederá a la siembra en medios enriquecidos (son esenciales), selectivos (infecciones mixtas), diferenciales (permiten un diagnóstico presuntivo rápido) y de enriquecimiento, y a la realización de extensiones para tinción de Gram. Si no se dispone de cámara de anaerobios, los medios sembrados se introducen en jarras de anaerobiosis. Al cabo de 48 h, en algunos casos antes, hay crecimiento de clostridios, bacteroides, algunas prevotelas... pero la mayoría de las especies requieren mucho más tiempo para crecer o para manifestar alguna propiedad como la pigmentación negra de *Porphyromonas* spp. y algunas especies de *Prevotella*. Cada tipo de colonia se siembra en placas de un medio enriquecido que se incuban en aerobiosis, microaerofilia y anaerobiosis para determinar la tolerancia al oxígeno. Las bacterias que resultan ser anaerobias se identifican y se puede determinar su sensibilidad a los antimicrobianos. La identificación es lenta y no siempre posible por los métodos tradicionales, tanto por la

inactividad bioquímica de muchas especies como por la dificultad y lentitud de crecimiento; por ello se ha desarrollado un sistema de identificación presuntiva utilizando discos con antimicrobianos y bilis. Los procedimientos bioquímicos tradicionales y la cromatografía gas líquida habitualmente no se emplean. Se suelen utilizar sistemas comerciales en los que se valoran las propiedades bioquímicas (API 20A, Minitek) o enzimáticas (Rapid ID 32A, Vitek 2 ANC, RapID™ ANA II, BBL Crystal Anaerobe ID Kit, API ZYM®). Estos últimos son mejores, pero no satisfactorios, pues identifican a nivel de especie o género entre el 60-80% de los aislados y en demasiadas ocasiones la caracterización es incorrecta^{76,77}. Muchas especies fenotípicamente similares quedan sin identificar. En algunas bacterias el proceso diagnóstico es distinto, como es el caso de *Clostridium botulinum*, en el que fundamentalmente se busca toxina en distintas muestras, y el de *C. difficile* productor de diarrea, donde se investiga su presencia, sus toxinas y/o sus componentes en heces.

Con relación a las muestras, existe disparidad de criterios sobre la necesidad o no de realizar hemocultivos para anaerobios. La incidencia de la bacteriemia por estos microorganismos es baja⁴⁶, la eficacia del tratamiento antibiótico es controvertida⁴⁸ y en muchas ocasiones el espectro de la terapia empírica utilizada cubre a los anaerobios⁷⁸. Hay razones que justifican su empleo selectivo, como una sospecha clínica elevada, pacientes con inmunodepresión grave y origen desconocido de la bacteriemia⁷⁹ o generalizado basándose en razones básicamente microbiológicas —en el frasco de anaerobios crecen más rápidamente los anaerobios facultativos, y algunos solo en él— y terapéuticas en razón del incremento de la resistencia de los anaerobios⁸⁰, y si se piensa que el pronóstico mejora con una terapia empírica adecuada⁴⁸.

La determinación de la sensibilidad a los antimicrobianos se realiza en general por dilución en agar o E-test. En algunas especies de fácil crecimiento, como es el caso de las que actualmente conforman el género *Bacteroides*, se realiza por microdilución. El incremento de resistencia en algunas bacterias anaerobias de crecimiento rápido aconseja disponer de métodos sencillos, y por ello se está reevaluando el método de difusión utilizando discos; los resultados obtenidos con *Bacteroides* spp., *F. necrophorum* y *C. difficile* son prometedores⁸¹.

Dentro de la identificación ha habido avances importantes. La regla de oro es la secuenciación genómica, que cada vez es más sencilla y asequible, aunque lenta. Se emplea como referencia, en especial la secuenciación del ARNr 16S, para para la taxonomía, para validar otros procedimientos⁸², para la identificación correcta de aislados «raros» y bacterias con propiedades fenotípicas similares^{34,83}, y como rutina en ciertos procedimientos, como los hemocultivos^{84,85}. Su generalización se facilitará con la utilización automatizada de bases de datos⁸⁶.

Se han desarrollado chips de ADN (Oligonucleotide Array) que permiten la identificación sobre colonia de un número importante de bacterias anaerobias —las más importantes en clínica— en unas 8 h, utilizando amplificación de las regiones ITS e hibridación⁸⁷.

La introducción de la proteómica ha supuesto un importante paso hacia delante⁸⁸. En la actualidad es el procedimiento ideal en la rutina de laboratorio, pues es barato, muy rápido, evade la dificultad y la lentitud de crecimiento de estas bacterias y es sustancialmente más fiable que la identificación bioquímica. Su principal inconveniente es el número, aún limitado, de especies —y en menor medida de géneros— que se incluyen en sus bases de datos⁸², situación que mejora día a día. Su utilidad ha sido probada en estudios generales⁸² y de grupos bacterianos específicos: cocos grampositivos⁸⁹, *Bacteroides* spp.⁹⁰, los 2 grupos genéticos de *Bacteroides fragilis* (el *cfiA*-negativo y el *cfiA*-positivo)⁹¹, *Prevotella* spp.⁹², *Clostridium* spp. —donde ha demostrado que es capaz de diferenciar especies muy próximas genéticamente, como *C. septicum* y *C. chauvoei*⁹³—, y los ribotipos 001, 027 y 126/078 de *C. difficile*⁹⁴. Todos los estudios resaltan la necesidad de mejorar las bases de datos. Los resultados

obtenidos con los 2 sistemas comerciales (Bruker MS y Shimadzu MS) son similares⁹⁵, y los obtenidos por extensión directa de la colonia no son, en cuanto a significación estadística, peores que los que siguen a una extracción⁹⁶.

Un paso más adelante es la detección genómica de las bacterias anaerobias directamente en muestras clínicas, lo que permite no solo acortar el tiempo del diagnóstico sino también detectar elementos no viables o no cultivables. Se ha utilizado PCR, secuenciación y chips de ADN. Una PCR ha demostrado ser más sensible que el cultivo en el diagnóstico de infecciones de prótesis articulares por *Fingoldia magna*⁹⁷ y una PCR cuantitativa en tiempo real en la detección de bacteroides en heridas³³. La secuenciación de ARNr 16S con cromatografía ha demostrado su utilidad en la identificación de bacterias en infecciones mixtas⁹⁸, así como los chips de ADN⁸⁷.

La necesidad de mejores pruebas para el diagnóstico de la diarrea asociada a *C. difficile*⁶⁸ se ha resuelto con la introducción de la detección de la glutamato deshidrogenasa y, en especial, de la amplificación del ADN⁹⁹.

El problema de la resistencia

La resistencia de las bacterias anaerobias a los antimicrobianos es creciente y puede ocasionar problemas terapéuticos de difícil abordaje. La situación es variable geográficamente y afecta de forma diferente a los distintos microorganismos que presentan este tipo de metabolismo.

Las especies de *Bacteroides* y *Parabacteroides* que formaban el «grupo *fragilis*» son las más problemáticas. El incremento de resistencia de los componentes de estos géneros se comprueba nítidamente en estudios recientes que han analizado numerosas cepas pertenecientes a diversos periodos de tiempo, como los multicéntricos realizados en Europa¹⁰⁰ y en Estados Unidos^{101,102} o los realizados en algunos hospitales españoles^{103,104}.

El porcentaje de cepas resistentes a cefoxitina, ampicilina-sulbactam, amoxicilina-ácido clavulánico, clindamicina y moxifloxacino hace que estos fármacos no deban ser utilizados en terapia empírica. La piperacilina con tazobactam y los carbapenem siguen manteniendo muy buena actividad, y la resistencia a los últimos también es creciente. La actividad de tigeciclina es inferior a la de carbapenem¹⁰¹⁻¹⁰⁴. La resistencia a metronidazol sigue siendo inexistente o puntual¹⁰¹⁻¹⁰⁵.

En España se ha comunicado la existencia de cepas resistentes tanto a carbapenem^{103,104,106} como a metronidazol¹⁰⁴. La resistencia a los carbapenem se ha asociado a una carbapenemasa codificada por los genes *cfiA* activados por segmentos de inserción (IS) situados aguas arriba, pero se han descrito cepas que no presentan IS o genes *cfiA*, y en este caso se ha señalado que en la resistencia intervendrían alteraciones en la permeabilidad, en las porinas¹⁰⁵ o bombas de expulsión¹⁰⁷. La resistencia a metronidazol puede deberse a una nitroimidazol reductasa codificada por los genes *nim*, cromosómicos o plasmídicos, a una reducción de la captación, a la actividad de la nitrorreductasa y de la piruvato-ferredoxin oxidoreductasa, al aumento de la actividad de lactato deshidrogenasa o a mutaciones que alteran la utilización de hidratos de carbono que afectan al potencial redox¹⁰⁵.

La existencia de cepas de *Bacteroides* spp. multiresistentes es un hecho desde hace años y su impacto en un futuro está por determinar. En Europa, desde 1995 se han comunicado 7: *B. fragilis*, un *B. vulgatus* y un *P. distasonis*, aislados de sangre (una), sangre y exudados purulentos (3) y abscesos y heridas (3). Al menos 5 pacientes fallecieron¹⁰⁸. En Estados Unidos también se han aislado cepas multiresistentes, un *B. fragilis* de sangre¹⁰⁹ y otro de herida y sangre¹¹⁰. La multiresistencia se debe a la suma de mecanismos de resistencia codificados tanto por el cromosoma como por elementos móviles¹¹¹.

Por todo lo expuesto, la realización de pruebas de sensibilidad a los aislamientos de *Bacteroides* y *Parabacteroides*, especialmente si proceden de sangre donde la resistencia es mayor¹¹², debe ser obligatoria, sobre todo teniendo en cuenta que, a diferencia de las de otros anaerobios, son sencillas de realizar. En la misma línea está la conveniencia de realizar estudios multicéntricos sistemáticos de sensibilidad de estas bacterias.

Los datos de sensibilidad de otras bacterias anaerobias son relativamente escasos, especialmente los relacionados con la evolución de la resistencia. Por un lado, su importancia clínica suele ser menor, y por otro, muchas de ellas son difíciles de cultivar y las dificultades de realizar estudios de sensibilidad pueden ser importantes. Se ha constatado un incremento de resistencia a clindamicina y amoxicilina-ácido clavulánico en *Fusobacterium* spp. y *Prevotella* spp., y a clindamicina en cocos anaerobios¹¹². La resistencia y sensibilidad disminuida a metronidazol en *Fusobacterium* spp., *Prevotella* spp. y *Porphyromonas* spp. es un hecho¹¹³, y su importancia local requiere la realización de estudios sistemáticos de sensibilidad. *Finexodia magna* también presenta resistencia a penicilina y clindamicina¹¹⁴.

Terapéutica

Los antimicrobianos y la cirugía, si hay una infección localizada —que es lo más común—, siguen siendo los fundamentos del tratamiento de las infecciones por bacterias anaerobias. Los avances técnicos han permitido, en el caso de infecciones cerradas, el drenaje guiado por imagen o a través de endoscopia.

La terapia antimicrobiana empírica debe cubrir bacterias anaerobias y aerobias, dada la naturaleza habitualmente mixta de la infección, por lo que carbapenem, piperacilina-tazobactam y metronidazol asociado a antimicrobianos con actividad frente a aerobios son las mejores opciones en el momento actual, y tigeclina, una alternativa. El metronidazol sigue siendo el fármaco de elección para los anaerobios que no presentan resistencia natural¹¹⁵. En los casos de multiresistencia las pruebas de sensibilidad determinan el fármaco de elección, y linezolid ha mostrado ser una buena alternativa solo o asociado^{104,108-110}.

La investigación de nuevos antimicrobianos con buena actividad frente a bacterias anaerobias es muy limitada, y parece que no es un objetivo prioritario para la industria¹¹⁶. Ranbezolid, una oxazolidinona en desarrollo preclínico, ha mostrado buena actividad frente a especies de anaerobios, incluido *B. fragilis*, frente al que es bactericida; es un inhibidor potente de la síntesis proteica con actividad sobre la síntesis de la pared celular¹¹⁷. El único antimicrobiano nuevo introducido es fidaxomicina, que se ha mostrado tan eficaz como vancomicina en la diarrea asociada a *C. difficile* pero con menos recurrencias¹¹⁸. Fidaxomicina produce menos alteración de la microflora intestinal que vancomicina¹¹⁹ e inhibe *in vitro* la producción de toxina de *C. difficile*¹²⁰.

En los casos de recurrencia en la diarrea asociada a *C. difficile* el trasplante de heces se ha mostrado eficaz, pero la posibilidad de transmitir infecciones del donante y la aceptación han limitado su uso. Recientemente se ha comunicado el éxito, en 2 pacientes, de la aplicación de un sustituto fecal sintético realizado con una mezcla de 33 bacterias cultivadas de un donante sano; el cuadro revirtió a los 2-3 días y los pacientes se mantenían asintomáticos a los 6 meses y mantenían el 25% de las secuencias del ARNr del sustituto fecal en sus heces¹²¹.

Modelos matemáticos para las infecciones por bacterias anaerobias

Son herramientas que permiten predecir el comportamiento de una enfermedad infecciosa, de manera que a partir de ellas se pueden establecer y simular estrategias de control. Se han

desarrollado para *C. difficile*, y para su realización es fundamental partir de supuestos válidos¹²².

Ya en 1997 Starr et al.¹²² estudiaron el impacto producido en los procesos diarreicos por *C. difficile* cuando se introducía y posteriormente se retiraba el tratamiento con un único antibiótico usando un modelo matemático compartimental basado en ecuaciones diferenciales. En este modelo el proceso de colonización e infección se relacionó con el número reproductivo básico, mientras que el tránsito entre el estado susceptible y el resistente dependía del número de pacientes susceptibles. El estudio concluyó que el riesgo de contraer la diarrea es el mismo en cada día de la administración de la terapia antimicrobiana, que crece exponencialmente a medida que disminuye el periodo de tiempo comprendido entre la finalización de la terapia antimicrobiana y el alta médica¹²³.

Ulteriormente el mismo grupo¹²⁴ mejoró el modelo anterior y propuso un estocástico discreto basado en cadenas de Markov —los modelos discretos simulan mejor la propagación de las enfermedades infecciosas cuando el número de individuos es pequeño—. Con él concluyeron que el reservorio ambiental por sí solo no da lugar a un brote, que solo se produce si hay un número suficiente de pacientes colonizados.

Más recientemente, Lanzas et al.¹²⁵ han desarrollado 2 modelos compartimentales: uno determinista basado en el uso de un sistema de ecuaciones diferenciales, y otro de naturaleza estocástica basado en el uso de cadenas de Markov. Se trata de un trabajo más matemático que los anteriores; por tanto, se estudian las principales propiedades matemáticas del modelo (estabilidad) y se calcula de manera explícita el número reproductivo básico. Los resultados obtenidos reflejan, por un lado, que los distintos tipos de pacientes colonizados considerados (protegidos contra *C. difficile*, no protegidos contra *C. difficile* e infectados) tienen la misma influencia en la propagación de la bacteria. La sola presencia de esos pacientes no garantiza el proceso epidémico. Por otro lado, la admisión de nuevos pacientes colonizados juega un papel clave en la propagación de la epidemia. Otro parámetro fundamental es el coeficiente de transmisión para los colonizados asintomáticos.

Grima et al.¹²⁶ han propuesto un modelo compartimental basado en un sistema de ecuaciones diferenciales que no es más que la adaptación de otro propuesto previamente para el caso de enterococos resistentes a vancomicina. Se relacionan ambas infecciones llegándose a la conclusión de que el tratamiento no antibiótico de los pacientes hospitalizados con diarrea asociada a *C. difficile* puede reducir significativamente la incidencia de *Enterococcus* resistente a vancomicina.

Conflicto de intereses

Los autores declaran que no existe ningún conflicto de intereses.

Bibliografía

1. Pasteur L. Animalcules infusoires vivant sans gaz oxygène libre et déterminant des fermentations. Comptes rendus hebdomadaires des séances de l'Académie des Sciences. 1861;52:344–7.
2. García-Sánchez JE, José Fresnadillo M, García-Sánchez E. Nuevas bacterias anaerobias implicadas en enfermedades infecciosas humanas. Enferm Infecc Microbiol Clin. 2010;28:173–84.
3. Betriu C, Picazo JJ. El papel de los anaerobios en patología infecciosa. Enferm Infecc Microbiol Clin. 2010;28:141–3.
4. La Scola B, Fournier PE, Raoult D. Burden of emerging anaerobes in the MALDI-TOF and 16S rRNA gene sequencing era. Anaerobe. 2011;17:106–12.
5. Downes J, Dewhirst FE, Tanner AC, Wade WG. *Alloprevotella rava* gen. nov., sp. nov., isolated from the human oral cavity, and reclassification of *Prevotella tanneriae* (Moore, Johnson & Moore, 1994) as *Alloprevotella tanneriae* gen. nov., comb. nov. Int J Syst Evol Microbiol. 2013;63:1214–8.
6. Carlier JP, Bedora-Faure M, K'ouas G, Alauzet C, Mory F. Proposal to unify *Clostridium orbiscindens* Winter et al. 1991 and *Eubacterium plautii* (Séguin 1928) Hofstad and Aasjord 1982, with description of *Flavonifractor plautii* gen. nov., comb. nov., and reassignment of *Bacteroides capillosus* to *Pseudoflavonifractor capillosus* gen. nov., comb. nov. Int J Syst Evol Microbiol. 2010;60:1013–6.

7. Würdemann D, Tindall BJ, Pukall R, Lünsdorf H, Strömpl C, Namuth T, et al. *Gordonibacter pamelaee* gen. nov., sp. nov., a new member of the *Coriobacteriaceae* isolated from a patient with Crohn's disease, and reclassification of *Eggerthella hongkongensis* Lau et al., 2006 as *Paraeggerthella hongkongensis* gen. nov., comb. nov. *Int J Syst Evol Microbiol*. 2009;59:1405–15.
8. Ulger-Toprak N, Liu C, Summanen PH, Finegold SM. *Murdochella asaccharolytica* gen. nov., sp. nov., a Gram-stain-positive, anaerobic coccus isolated from human wound specimens. *Int J Syst Evol Microbiol*. 2010;60:1013–6.
9. Marchandin H, Teyssier C, Campos J, Jean-Pierre H, Roger F, Gay B, et al. *Negativicoccus succinicivorans* gen. nov., sp. nov., isolated from human clinical samples, emended description of the family *Veillonellaceae* and description of *Negativicoccus classis* nov., *Selenomonadales* ord. nov. and *Acidaminococcaceae* fam. nov. in the bacterial phylum Firmicutes. *Int J Syst Evol Microbiol*. 2010;60:1271–9.
10. Al Masalma M, Raoult D, Roux V. *Phocaeicola abscessus* gen. nov., sp. nov., an anaerobic bacterium isolated from a human brain abscess sample. *Int J Syst Evol Microbiol*. 2009;59:2232–7.
11. Cotta MA, Whitehead TR, Falsen E, Moore E, Lawson PA. *Robinsoniella peoriensis* gen. nov., sp. nov., isolated from a swine-manure storage pit and a human clinical source. *Int J Syst Evol Microbiol*. 2009;59:150–5.
12. Ulger-Toprak N, Summanen PH, Liu C, Rowlinson MC, Finegold SM. *Gemella asaccharolytica* sp. nov., isolated from human clinical specimens. *Int J Syst Evol Microbiol*. 2010;60:1023–6.
13. Citron DM, Tyrrell KL, Goldstein EJ. *Peptoniphilus coxii* sp. nov. and *Peptoniphilus tyrrelliae* sp. nov. isolated from human clinical infections. *Anaerobe*. 2012;18:244–8.
14. Ulger-Toprak N, Lawson PA, Summanen P, O'Neal L, Finegold SM. *Peptoniphilus duerdenii* sp. nov. and *Peptoniphilus koenoeneniensis* sp. nov. isolated from human clinical specimens. *Int J Syst Evol Microbiol*. 2012;62:2336–41.
15. Renvoise A, Raoult D, Roux V. *Actinomyces timonensis* sp. nov., isolated from a human clinical osteo-articular sample. *Int J Syst Evol Microbiol*. 2010;60:1516–21.
16. Woo PC, Teng JL, Lam KK, Tse CW, Leung KW, Leung AW, et al. First report of *Gordonibacter pamelaee* bacteremia. *J Clin Microbiol*. 2010;48:319–22.
17. Lau SK, Woo PC, Woo GK, Fung AM, Wong MK, Chan KM, et al. *Eggerthella hongkongensis* sp. nov. and *Eggerthella sinensis* sp. nov., two novel *Eggerthella* species, account for half of the cases of *Eggerthella* bacteremia. *Diagn Microbiol Infect Dis*. 2004;49:255–63.
18. Downes J, Mantzourani M, Beighton D, Hooper S, Wilson MJ, Nicholson A, et al. *Scardovia wiggisiae* sp. nov., isolated from the human oral cavity and clinical material, and emended descriptions of the genus *Scardovia* and *Scardovia inopinata*. *Int J Syst Evol Microbiol*. 2011;61 Pt 1:25–9.
19. López P, Belda S, García M, Royo G. Infección de hematoma muscular espontánea por *Robinsoniella peoriensis* en un paciente con cirrosis hepática alcohólica. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2010;28:565–7.
20. Shen D, Chen R, Ye L, Luo Y, Tang YW. *Robinsoniella peoriensis* bacteremia in a patient with pancreatic cancer. *J Clin Microbiol*. 2010;48:3448–50.
21. Gomez E, Gustafson DR, Colgrove R, Ly T, Santana R, Rosenblatt JE, et al. Isolation of *Robinsoniella peoriensis* from four human specimens. *J Clin Microbiol*. 2011;49:458–60.
22. Jeon Y, Kim TS, Kim HB, Park KU, Song J, Kim EC. First Korean case of *Robinsoniella peoriensis* bacteremia in a patient with aspiration pneumonia. *Ann Lab Med*. 2012;32:370–4.
23. Cassir N, Laget L, Renvoisé A, Gennari JM, Drancourt M. *Robinsoniella peoriensis* infection following surgery for scoliosis: A case report. *J Med Case Rep*. 2012;6:174.
24. Xia T, Baumgartner JC, David LL. Isolation and identification of *Prevotella tannerae* from endodontic infections. *Oral Microbiol Immunol*. 2000;15:273–5.
25. Vandamme P, Debruyne L, De Brandt E, Falsen E. Reclassification of *Bacteroides ureolyticus* as *Campylobacter ureolyticus* comb. nov., and emended description of the genus *Campylobacter*. *Int J Syst Evol Microbiol*. 2010;60:2016–22.
26. Woo PC, Wong SS, Teng JL, Leung KW, Ngan AH, Zhao DQ, et al. *Leptotrichia hongkongensis* sp. nov., a novel *Leptotrichia* species with the oral cavity as its natural reservoir. *J Zhejiang Univ Sci B*. 2010;11:391–401.
27. Couturier MR, Slechts ES, Gouillon C, Fisher MA, Hanson KE. *Leptotrichia* bacteremia in patients receiving high-dose chemotherapy. *J Clin Microbiol*. 2012;50:1228–32.
28. Sakamoto M, Suzuki N, Matsunaga N, Koshihara K, Seki M, Komiya H, et al. *Parabacteroides gordonii* sp. nov., isolated from human blood cultures. *Int J Syst Evol Microbiol*. 2009;59:2843–7.
29. Summanen PH, Lawson PA, Finegold SM. *Porphyromonas bennonis* sp. nov., isolated from human clinical specimens. *Int J Syst Evol Microbiol*. 2009;59:1727–32.
30. Church DL, Simmon KE, Sporina J, Lloyd T, Gregson DB. Identification by 16S rRNA gene sequencing of *Negativicoccus succinicivorans* recovered from the blood of a patient with hemochromatosis and pancreatitis. *J Clin Microbiol*. 2011;49:3082–4.
31. Madsen IR, Justesen US. Bacteremia with *Bacteroides pyogenes* after a cat bite. *J Clin Microbiol*. 2011;49:3092–3.
32. Awadel-Kariem FM, Patel P, Kapoor J, Brazier JS, Goldstein EJ. First report of *Parabacteroides goldsteini* bacteremia in a patient with complicated intra-abdominal infection. *Anaerobe*. 2010;16:223–5.
33. 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;17:64–8.
34. Weatherhead JE, Tweardy DJ. Lethal human neutropenic enterocolitis caused by *Clostridium chauvoei* in the United States: Tip of the iceberg? *J Infect*. 2012;64:225–7.
35. Woo PC, Lau SK, Chan KM, Fung AM, Tang BS, Yuen KY. *Clostridium* bacteraemia characterised by 16S ribosomal RNA gene sequencing. *J Clin Pathol*. 2005;58:301–7.
36. Plassart C, Mauvais F, Heurté J, Sautereau J, Legeay C, Bouvet P. First case of intra-abdominal infection with *Clostridium disporicum*. *Anaerobe*. 2013;19:77–8.
37. Riordan T. Human infection with *Fusobacterium necrophorum* (Necrobacillosis), with a focus on Lemierre's syndrome. *Clin Microbiol Rev*. 2007;20:622–59.
38. Dahlén G, Ebenfelt A. Necrobacillosis in humans. *Expert Rev Anti Infect Ther*. 2011;9:227–36.
39. Kuppalli K, Livorsi D, Talati NJ, Osborn M. Lemierre's syndrome due to *Fusobacterium necrophorum*. *Lancet Infect Dis*. 2012;12:808–15.
40. Wright WF, Shiner CN, Ribes JA. Lemierre syndrome. *South Med J*. 2012;105:283–8.
41. Gargallo E, Nuevo JA, Cano JC, Castuera AI, Andueza JA, Fernandez M. Síndrome de Lemierre: distintas presentaciones clínicas de una «enfermedad olvidada». *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2010;28:701–5.
42. Lassmann B, Gustafson DR, Wood CM, Rosenblatt JE. Reemergence of anaerobic bacteremia. *Clin Infect Dis*. 2007;44:895–900.
43. Fenner L, Widmer AF, Straub C, Frei R. Is the incidence of anaerobic bacteremia decreasing? Analysis of 114,000 blood cultures over a ten-year period. *J Clin Microbiol*. 2008;46:2432–4.
44. Lazarovitch T, Freimann S, Shapira G, Blank H. Decrease in anaerobe-related bacteraemias and increase in *Bacteroides* species isolation rate from 1998 to 2007: A retrospective study. *Anaerobe*. 2010;16:201–5.
45. Bassa A, García-Gasalla M, Losada IA, Payeras A, Pareja A, Garau M, et al. Bacteriemia por anaerobios estrictos: estudio de 68 pacientes. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2010;28:144–9.
46. Ruiz-Giardín JM, Noguerado A, Delgado-Iribarren A, Valverde-Cánovas JF, Aranda-Cosgaya C, Delgado-Yagüe M, et al. Modelo clínico predictivo y validación de bacteriemias por anaerobios (incluidas las bacteriemias polimicrobianas). *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2010;28:421–9.
47. Ruiz-Giardín JM. Bacteriemia por anaerobios y tratamiento. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2011;29:477.
48. Robert R, Deraignac A, le Moal G, Ragot S, Grollier G. Prognostic factors and impact of antibiotherapy in 117 cases of anaerobic bacteraemia. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2008;27:671–8.
49. Park Y, Choi JY, Yong D, Lee K, Kim JM. Clinical features and prognostic factors of anaerobic infections: A 7-year retrospective study. *Korean J Intern Med*. 2009;24:13–8.
50. Cheng CW, Lin HS, Ye JJ, Yang CC, Chiang PC, Wu TS, et al. Clinical significance of and outcomes for *Bacteroides fragilis* bacteremia. *J Microbiol Immunol Infect*. 2009;42:243–50.
51. Martirosian G, Ekiel A, Aptekorz M, Kazek B, Marszał E, Jankowska-Steifer E, et al. Intestinal anaerobic bacteria and autistic mind: Is there some relations? Comment to: the autistic mind: A case study. *Katarzyna Markiewicz, Bruce Duncan MacQueen*. *Med Sci Monit*. 2009;15:CS5–13.
52. Shaw W. Increased urinary excretion of a 3-(3-hydroxyphenyl)-3-hydroxypropionic acid (HPPA), an abnormal phenylalanine metabolite of *Clostridia* spp. in the gastrointestinal tract, in urine samples from patients with autism and schizophrenia. *Nutr Neurosci*. 2010;13:135–43.
53. Finegold SM. *Desulfovibrio* species are potentially important in regressive autism. *Med Hypotheses*. 2011;77:270–4.
54. Finegold SM, Downes J, Summanen PH. Microbiology of regressive autism. *Anaerobe*. 2012;18:260–2.
55. International Committee on Systematics of Prokaryotes. Subcommittee on the Taxonomy of Gram-negative Anaerobic Rods. Minutes of the open meeting, 1–2 February 2011, Health Protection Agency, Colindale, London, UK. *Int J Syst Evol Microbiol*. 2012;62:467–71.
56. Kazor CE, Mitchell PM, Lee AM, Stokes LN, Loesche WJ, Dewhirst FE, et al. Diversity of bacterial populations on the tongue dorsa of patients with halitosis and healthy patients. *J Clin Microbiol*. 2003;41:558–63.
57. Haraszthy VI, Zambon JJ, Sreenivasan PK, Zambon MM, Gerber D, Rego R, et al. Identification of oral bacterial species associated with halitosis. *J Am Dent Assoc*. 2007;138:1113–20.
58. Haraszthy VI, Gerber D, Clark B, Moses P, Parker C, Sreenivasan PK, et al. Characterization and prevalence of *Solobacterium moorei* associated with oral halitosis. *J Breath Res*. 2008;2:017002.
59. Myers LL, Shoop DS, Stackhouse LL, Newman FS, Flaherty RJ, Letson GW, et al. Isolation of enterotoxigenic *Bacteroides fragilis* from humans with diarrhea. *J Clin Microbiol*. 1987;25:2330–3.
60. Sears CL. Enterotoxigenic *Bacteroides fragilis*: A rogue among symbiotes. *Clin Microbiol Rev*. 2009;22:349–69.
61. Akpınar M, Aktaş E, Cömert F, Külah C, Sümbüloğlu V. Evaluation of the prevalence of enterotoxigenic *Bacteroides fragilis* and the distribution of *bft* gene subtypes in patients with diarrhea. *Anaerobe*. 2010;16:505–9.
62. Merino VR, Nakano V, Liu C, Song Y, Finegold SM, Avila-Campos MJ. Quantitative detection of enterotoxigenic *Bacteroides fragilis* subtypes isolated from children with and without diarrhea. *J Clin Microbiol*. 2011;49:416–8.
63. Sobel J. Botulism. *Clin Infect Dis*. 2005;41:1167–73.
64. Bakheit AM, Ward CD, McLellan DL. Generalized botulism-like syndrome after intramuscular injections of botulinum toxin type A: a report of two cases. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 1997;62:198.

65. Chertow DS, Tan ET, Maslanka SE, Schulte J, Bresnitz EA, Weisman RS, et al. Botulism in 4 adults following cosmetic injections with an unlicensed, highly concentrated botulinum preparation. *JAMA*. 2006;296:2476–9.
66. Partikian A, Mitchell WG. Iatrogenic botulism in a child with spastic quadriplegia. *J Child Neurol*. 2007;22:1235–7.
67. Warny M, Pepin J, Fang A, Killgore G, Thompson A, Brazier J, et al. Toxin production by an emerging strain of *Clostridium difficile* associated with outbreaks of severe disease in North America and Europe. *Lancet*. 2005;366:1079–84.
68. Alcalá L, Martín A, Marín M, Sánchez-Somolinos M, Catalán P, Peláez T, et al. The undiagnosed cases of *Clostridium difficile* infection in a whole nation: Where is the problem? *Clin Microbiol Infect*. 2012;18:E204–13.
69. Asensio A, Vaqué-Rafart J, Calbo-Torrecillas F, Gestal-Otero JJ, López-Fernández F, Trilla-García A, et al. Increasing rates in *Clostridium difficile* infection (CDI) among hospitalized patients, Spain 1999–2007. *Eurosurveillance*. 2008. [Consultado 15 Oct 2012]. Disponible en: <http://www.eurosurveillance.org/ViewArticle.aspx?ArticleId=18943>
70. Nogareda F, Soler P, Llácer A. Incremento de la mortalidad por *Clostridium difficile* en España (1999 a 2006). *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2009;27:483–90.
71. Khanna S, Pardi DS, Aronson SL, Kammer PP, Orenstein R, St Sauver JL, et al. The epidemiology of community-acquired *Clostridium difficile* infection: A population-based study. *Am J Gastroenterol*. 2012;107:89–95.
72. Sammons JS, Toltzis P. Recent trends in the epidemiology and treatment of *C. difficile* infection in children. *Curr Opin Pediatr*. 2013;25:116–21.
73. Janarthanan S, Ditah I, Adler DG, Ehrinpreis MN. *Clostridium difficile*-associated diarrhea and proton pump inhibitor therapy: A meta-analysis. *Am J Gastroenterol*. 2012;107:1001–10.
74. Khanna S, Aronson SL, Kammer PP, Baddour LM, Pardi DS. Gastric acid suppression and outcomes in *Clostridium difficile* infection: A population-based study. *Mayo Clin Proc*. 2012;87:636–42.
75. Nandakumar R, Madayiputhiy N, Fouad AF. Proteomic analysis of endodontic infections by liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Oral Microbiol Immunol*. 2009;24:347–52.
76. Blairon L, Maza ML, Wybo I, Piérard D, Dediste A, Vandenberg O. Vitek 2 ANC card versus BBL Crystal Anaerobe and RapID ANA II for identification of clinical anaerobic bacteria. *Anaerobe*. 2010;16:355–61.
77. Lee EH, Degener JE, Welling GW, Veloo AC. Evaluation of the Vitek 2 ANC card for identification of clinical isolates of anaerobic bacteria. *J Clin Microbiol*. 2011;49:1745–9.
78. Muttaiyah S, Paviour S, Buckwell L, Roberts SA. Anaerobic bacteraemia in patients admitted to Auckland City Hospital: Its clinical significance. *N Z Med J*. 2007;120:U2809.
79. Iwata K, Takahashi M. Is anaerobic blood culture necessary? If so, who needs it? *Am J Med Sci*. 2008;336:58–63.
80. Planes AM. Utilidad del frasco anaerobio en el diagnóstico de bacteriemia o fungemia. *Med Clin (Barc)*. 2009;132:743–5.
81. Justesen US. Antibiotic resistance determination; dilution methods versus disc diffusion. The old story comes back. En Practical approach to diagnose mixed anaerobic infections in 'real time'. 22nd European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases (ECCMID). Londres 31.03.2012-03.04.2012 [Internet] [consultado 10 Ene 2013]. Disponible en: <http://registration.akm.ch/einsicht.php?XNABSTRACT.ID=146228&XNSPRACHE.ID=1&XNKONGRESS.ID=161&XNMASKEN.ID=900>
82. 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. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2012;30:597–601.
83. Bouvet P, K'Ouas G, le Coustumier A, Popoff MR. *Clostridium celerecrescens*, often misidentified as *Clostridium clostridioforme* group, is involved in rare human infection cases. *Diagn Microbiol Infect Dis*. 2012;74:299–302.
84. Simmon KE, Mirrett S, Reller LB, Petti CA. Genotypic diversity of anaerobic isolates from bloodstream infections. *J Clin Microbiol*. 2008;46:1596–601.
85. Justesen US, Skov MN, Knudsen E, Holt HM, Søgaard P, Justesen T. 16S rRNA gene sequencing in routine identification of anaerobic bacteria isolated from blood cultures. *J Clin Microbiol*. 2010;48:946–8.
86. Woo PC, Teng JL, Yeung JM, Tse H, Lau SK, Yuen KY. Automated identification of medically important bacteria by 16S rRNA gene sequencing using a novel comprehensive database, 16SpathDB. *J Clin Microbiol*. 2011;49:1799–809.
87. Lin YT, Vanechoutte M, Huang AH, Teng LJ, Chen HM, Su SL, et al. Identification of clinically important anaerobic bacteria by an oligonucleotide array. *J Clin Microbiol*. 2010;48:1283–90.
88. Shah HN, Keys CJ, Schmid O, Gharbia SE. Matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry and proteomics: A new era in anaerobic microbiology. *Clin Infect Dis*. 2002;35 Suppl 1:S58–64.
89. Veloo AC, Erhard M, Welker M, Welling GW, Degener JE. Identification of Gram-positive anaerobic cocci by MALDI-TOF mass spectrometry. *Syst Appl Microbiol*. 2011;34:58–62.
90. Nagy E, Maier T, Urban E, Terhes G, Kostrzewa M, ESCMID Study Group on Antimicrobial Resistance in Anaerobic Bacteria. Species identification of clinical isolates of *Bacteroides* by matrix-assisted laser-desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry. *Clin Microbiol Infect*. 2009;15:796–802.
91. 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. *J Clin Microbiol*. 2011;49:1961–4.
92. Wybo I, Soetens O, De Bel A, Echahidi F, Vancutsem E, Vandoorslaer K, et al. Species identification of clinical *Prevotella* isolates by matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry. *J Clin Microbiol*. 2012;50:1415–8.
93. Grosse-Herrenthey A, Maier T, Gessler F, Schaumann R, Böhnel H, Kostrzewa M, et al. Challenging the problem of clostridial identification with matrix-assisted laser desorption and ionization-time-of-flight mass spectrometry (MALDI-TOF MS). *Anaerobe*. 2008;14:242–9.
94. Reil M, Erhard M, Kuijper EJ, Kist M, Zaiss H, Witte W, et al. Recognition of *Clostridium difficile* PCR-ribotypes 001, 027 and 126/078 using an extended MALDI-TOF MS system. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2011;30:1431–6.
95. Veloo AC, Knoester M, Degener JE, Kuijper EJ. Comparison of two matrix-assisted laser desorption ionisation-time of flight mass spectrometry methods for the identification of clinically relevant anaerobic bacteria. *Clin Microbiol Infect*. 2011;17:1501–6.
96. Fournier R, Wallet F, Grandbastien B, Dubreuil L, Courcol R, Neut C, et al. Chemical extraction versus direct smear for MALDI-TOF mass spectrometry identification of anaerobic bacteria. *Anaerobe*. 2012;18:294–7.
97. Levy PY, Fenollar F, Stein A, Borrione F, Raoult D. *Finexgoldia magna*: A forgotten pathogen in prosthetic joint infection rediscovered by molecular biology. *Clin Infect Dis*. 2009;15:1244–7.
98. Hartmeyer GN, Justesen US. Direct 16S rRNA gene sequencing of polymicrobial culture-negative samples with analysis of mixed chromatograms. *J Med Microbiol*. 2010;59:486–8.
99. Barkin JA, Nandi N, Miller N, Grace A, Barkin JS, Sussman DA. Superiority of the DNA amplification assay for the diagnosis of *C. difficile* infection: A clinical comparison of fecal tests. *Dig Dis Sci*. 2012;57:2592–9.
100. Nagy E, Urbán E, Nord CE, ESCMID Study Group on Antimicrobial Resistance in Anaerobic Bacteria. Antimicrobial susceptibility of *Bacteroides fragilis* group isolates in Europe: 20 years of experience. *Clin Microbiol Infect*. 2011;17:371–9.
101. Snyderman DR, Jacobus NV, McDermott LA, Golan Y, Hecht DW, Goldstein EJ, et al. Lessons learned from the anaerobe survey: historical perspective and review of the most recent data (2005–2007). *Clin Infect Dis*. 2010;50 Suppl 1:S26–33.
102. Snyderman DR, Jacobus NV, McDermott LA, Golan Y, Goldstein EJ, Harrell L, et al. Update on resistance of *Bacteroides fragilis* group and related species with special attention to carbapenems 2006–2009. *Anaerobe*. 2011;17:147–51.
103. Betriu C, Culebras E, Gómez M, López F, Rodríguez-Avial I, Picazo JJ. Resistance trends of the *Bacteroides fragilis* group over a 10-year period, 1997 to 2006, in Madrid, Spain. *Antimicrob Agents Chemother*. 2008;52:2686–90.
104. Treviño M, Areses P, Peñalver MD, Cortizo S, Pardo F, del Molino ML, et al. Susceptibility trends of *Bacteroides fragilis* group and characterisation of carbapenemase-producing strains by automated REP-PCR and MALDI TOF. *Anaerobe*. 2012;18:37–43.
105. Sókó J, Eitel Z, Urbán E, Nagy E, on behalf of the ESCMID Study Group on Anaerobic Infections. Molecular analysis of the carbapenem and metronidazole resistance mechanisms of *Bacteroides* strains reported in a Europe-wide antibiotic resistance survey. *Int J Antimicrob Agents*. 2012. pii:S0924-8579(12)00385-8; <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2012.10.001>
106. García N, Gutiérrez G, Lorenzo M, García JE, Piriz S, Quesada A. Genetic determinants for cfxA expression in *Bacteroides* strains isolated from human infections. *J Antimicrob Chemother*. 2008;62:942–7.
107. Wexler HM. Pump it up: Occurrence and regulation of multi-drug efflux pumps in *Bacteroides fragilis*. *Anaerobe*. 2012;18:200–8.
108. Hartmeyer GN, Sókó J, Nagy E, Justesen US. Multidrug-resistant *Bacteroides fragilis* group on the rise in Europe? *J Med Microbiol*. 2012;61:1784–8.
109. Wareham DW, Wilks M, Ahmed D, Brazier JS, Millar M. Anaerobic sepsis due to multidrug-resistant *Bacteroides fragilis*: Microbiological cure and clinical response with linezolid therapy. *Clin Infect Dis*. 2005;40:e67–8.
110. Sherwood JE, Fraser S, Citron DM, Wexler H, Blakely G, et al. Multi-drug resistant *Bacteroides fragilis* recovered from blood and severe leg wounds caused by an improvised explosive device (IED) in Afghanistan. *Anaerobe*. 2011;17:152–5.
111. Pumbwe L, Wareham DW, Aduse-Opoku J, Brazier JS, Wexler HM. Genetic analysis of mechanisms of multidrug resistance in a clinical isolate of *Bacteroides fragilis*. *Clin Microbiol Infect*. 2007;13:183–9.
112. Liu CY, Huang YT, Liao CH, Yen LC, Lin HY, Hsueh PR. Increasing trends in antimicrobial resistance among clinically important anaerobes and *Bacteroides fragilis* isolates causing nosocomial infections: Emerging resistance to carbapenems. *Antimicrob Agents Chemother*. 2008;52:3161–8.
113. Katsandri A, Avlami A, Pantazatou A, Houhoula DP, Papaparaskevas J. Dissemination of nim-class genes, encoding nitroimidazole resistance, among different species of Gram-negative anaerobic bacteria isolated in Athens, Greece. *J Antimicrob Chemother*. 2006;58:705–6.
114. Hawser SP. Activity of tigecycline and comparators against recent clinical isolates of *Finexgoldia magna* from Europe. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2010;29:1011–3.
115. Löfmark S, Edlund C, Nord CE. Metronidazole is still the drug of choice for treatment of anaerobic infections. *Clin Infect Dis*. 2010;50 Suppl 1:S16–23.
116. García-Sánchez JE, García-Merino E, Martín-del-Rey A, García-Sánchez E. Antibioterapia para el siglo XXI, antibacterianos para la segunda década. ¿Posibilidades o realidades en un futuro? *Rev Esp Quimioter*. 2012;25:100–21.
117. Mathur T, Kalia V, Barman TK, Singhal S, Khan S, Upadhyay DJ, et al. Anti-anaerobic potential of ranbezolid: Insight into its mechanism of action against *Bacteroides fragilis*. *Int J Antimicrob Agents*. 2013;41:36–40.
118. Crook DW, Walker AS, Kean Y, Weiss K, Cornely OA, Miller MA, et al. Fidaxomicin versus vancomycin for *Clostridium difficile* infection: Meta-analysis of pivotal randomized controlled trials. *Clin Infect Dis*. 2012;55 Suppl 2:S93–103.

119. Tannock GW, Munro K, Taylor C, Lawley B, Young W, Byrne B, et al. A new macrocyclic antibiotic, fidaxomicin (OPT-80), causes less alteration to the bowel microbiota of *Clostridium difficile*-infected patients than does vancomycin. *Microbiology*. 2010;156:3354–9.
120. Babakhani F, Bouillaut L, Sears P, Sims C, Gomez A, Sonenshein AL. Fidaxomicin inhibits toxin production in *Clostridium difficile*. *J Antimicrob Chemother*. 2013;68:515–22.
121. Petrof EO, Gloor GB, Vanner SJ, Weese SJ, Carter D, Daigneault MC, et al. Stool substitute transplant therapy for the eradication of *Clostridium difficile* infection: 'RePOOPulating' the gut. *Microbiome* [Internet] 2013;1:3. doi:10.1186/2049-2618-1-3 [consultado 12 Ene 2013]. Disponible en: <http://www.microbiomejournal.com/content/pdf/2049-2618-1-3.pdf>
122. Starr JM, Rogers TR, Impallomeni M. Hospital-acquired *Clostridium difficile* diarrhoea and herd immunity. *Lancet*. 1997;349:426–8.
123. Starr JM, Campbell A. Mathematical modeling of *Clostridium difficile* infection. *Clin Microbiol Infect*. 2001;7:432–7.
124. Starr JM, Campbell A, Renshaw E, Poxton IR, Gibson GJ. Spatio-temporal stochastic modelling of *Clostridium difficile*. *J Hosp Infect*. 2009;71:49–56.
125. Lanzas C, Dubberke ER, Lu Z, Reske KA, Gröhn YT. Epidemiological model for *Clostridium difficile* transmission in healthcare settings. *Infect Control Hosp Epidemiol*. 2011;32:553–61.
126. Grima DT, Webb GF, D'Agata EM. Mathematical model of the impact of a nonantibiotic treatment for *Clostridium difficile* on the endemic prevalence of vancomycin-resistant enterococci in a hospital setting. *Comput Math Methods Med*. 2012:605861. <http://dx.doi.org/10.1155/2012/605861>