



FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
ZARAGOZA



Manual de Diagnóstico Microbiológico de *Moraxella catarrhalis*

TESIS

Para obtener el título de
Químico Farmacéutico Biólogo

PRESENTA:

Yaravid Rosales Morales

Director: M. en C. Roberto Cruz González Meléndez

No. Cuenta: 40804701-4

Área del proyecto: Microbiología Médica

Lugar de desarrollo: Facultad de Estudios Superiores Zaragoza

Opción de titulación: Actividad de apoyo a la docencia

AGRADECIMIENTOS

A mi familia, por brindarme las herramientas para lograr mis metas, por su apoyo, comprensión, cariño y palabras de aliento, por acompañarme día a día, por sus consejos y la gran felicidad que infunden en mí, simplemente gracias por existir.

A Cris, mi ángel de la guarda, por que llego en el momento que más lo necesitaba, por sus enseñanzas, por creer en mí, por brindarme su compañía en los buenos y malos momentos, por las palabras correctas dichas en el momento preciso, pero principalmente por el amor que incondicionalmente me ofrece.

A mis amigos, profesores, compañeros de trabajo y pacientes que han dejado huella en mi vida, por compartir sus conocimientos y experiencias, por sus buenos deseos, por su amistad y por los grandes momentos compartidos.

¡Sé tú misma!

Sé suave.

No permitas que el mundo te haga dura.

No permitas que el dolor te haga odiar.

No permitas que la amargura robe tu dulzura.

Y siéntete orgullosa porque aun cuando el resto
del mundo no esté de acuerdo...

Tu SABES que éste es un lugar maravilloso.

ÍNDICE

Resumen	5
Introducción.....	6
Marco teórico.....	8
1. Historia taxonómica	8
2. Características generales de <i>Moraxella catarrhalis</i>	8
2.1. Morfología	9
2.2. Antígenos de superficie	9
2.3. Patogenicidad y virulencia de <i>Moraxella catarrhalis</i>	10
2.4. Factores de inmunidad	10
2.5. Epidemiología	11
2.6. Moraxellas de importancia médica	11
3. Enfermedades por <i>Moraxella catarrhalis</i>	12
3.1. Otitis media aguda.....	12
3.1.1. El oído y su funcionamiento.....	12
3.1.2. Definición y cuadro clínico	13
3.1.3. Etiología.....	13
3.1.4. Patogenia.....	13
3.1.5. Diagnóstico.....	14
3.1.6. Tratamiento.....	14
3.2. Sinusitis maxilar aguda	14
3.2.1. Cavidades sinusales.....	14
3.2.2. Definición y cuadro clínico	14
3.2.3. Etiología.....	15
3.2.4. Patogenia.....	15
3.2.5. Diagnóstico.....	15
3.2.6. Tratamiento.....	15
3.3. Infección broncopulmonar	16
3.3.1. Los pulmones.....	16
3.3.2. Definición y cuadro clínico	16
3.3.3. Etiología.....	16
3.3.4. Patogenia.....	17
3.3.5. Diagnóstico.....	18
3.3.6. Tratamiento.....	18

3Otros síndromes	18
4. Procedimiento de diagnóstico para <i>Moraxella catarrhalis</i>	18
4.1. Examen microscópico	18
4.2. Cultivo	19
4.3. Pruebas de identificación	19
5. Tratamiento	20
Problema de investigación.....	21
Objetivos	23
Diseño de la investigación	24
Resultados.....	25
Discusión	123
Conclusión.....	126
Perspectivas	127
Referencias.....	128

RESUMEN

Moraxella catarrhalis es una bacteria cuya clasificación taxonómica y su potencial patógeno se ha cuestionado mucho. Esta bacteria ha emergido ocupando un tercer lugar entre los agentes etiológicos más importantes de otitis media en niños después de *Streptococcus pneumoniae* y *Haemophilus influenzae*; afectando el tracto respiratorio de niños de corta edad y ancianos con alguna enfermedad concomitante. Sin embargo, debido a su estrecha similitud morfológica microscópica y colonial y de origen con las especies de *Neisseria sp.* (ambas forman parte de la biota comensal del tracto respiratorio superior) ha sido limitada su identificación en el laboratorio clínico, por lo que se abordan en el presente manual las técnicas de identificación de *Moraxella catarrhalis*.

El objetivo es apoyar el aprendizaje del módulo de Microbiología Médica impartido en la Licenciatura de Química Farmacéutico Biológica para que el estudiante sea capaz de realizar un diagnóstico adecuado y relacionar lo aprendido. Para lo cual, se realizó un estudio monográfico de la bacteria a través de una investigación teórica y selección de libros, artículos científicos e ilustraciones. Tras la búsqueda, se encontró que recientes estudios, no demostraron cambios significativos en cuanto a la epidemiología, patogenia y pruebas de identificación para *Moraxella catarrhalis* comparado con los primeros estudios realizados. En cuanto a su diagnóstico, existe una gran similitud especialmente con la especie de *Neisseria cinerea*, por lo cual se pueden diferenciar mediante las pruebas de reducción de nitrato, hidrólisis de la tributirina y la prueba de la DNasa, todas positivas para *Moraxella catarrhalis*.

De esta manera, el trabajo final, consiste en un Manual de Diagnóstico Microbiológico de *Moraxella catarrhalis*, que permitirá al Químico Farmacobiologo relacionar cada etapa del proceso de diagnóstico mediante información estructurada e ilustraciones que lo llevaran de la mano, a su vez, la información del presente manual, permite ampliar su utilidad a carreras relacionadas con el área de la salud en el proceso del diagnóstico como medicina, pediatría, otorrinolaringología, entre otras.

Sin embargo, la bacteria es susceptible a cambios taxonómicos, por lo que se sugiere la revisión de próximas ediciones del Manual Bergey de Bacteriología Sistemática.

INTRODUCCIÓN

En los últimos decenios *Moraxella catarrhalis* ha recibido varios nombres científicos. *Moraxella catarrhalis* es un diplococo gramnegativo descrito por primera vez en 1896 por Ghon y Pfeiffer como *Micrococcus catarrhalis* por sus características morfológicas. En 1920, se asignó al género *Neisseria sp.*, debido a su semejanza con la morfología de este género y fue considerada como biota normal del tracto respiratorio; en 1970 se cambió al género *Branhamella sp.* y, en 1979, se propone que sea parte del género *Moraxella sp.* por sus características genéticas. Sin embargo, aún existe confusión en torno a la posición taxonómica de *Moraxella catarrhalis* que no ha sido resuelta y que actualmente todavía es objeto de discusiones y desacuerdos. En el presente manual se utiliza el término *Moraxella catarrhalis* de acuerdo a su más reciente clasificación taxonómica.^{2, 3, 4, 5}

Moraxella sp., recibe su nombre del oftalmólogo suizo Victor Morax, quien reconoció el género por primera vez, en cuanto a la especie *catarrhalis* se deriva del latín *catarrhus*, catarro (en referencia a la inflamación de las membranas mucosas de las vías respiratorias).¹

En 1905, fue aislado de niños con bronquitis y bronconeumonía, pero al identificarse también como un comensal del aparato respiratorio superior de personas sin enfermedad, se puso en duda su potencial como patógeno. No fue hasta 1970 que se le reconoció como agente causal de neumonías y se notificó por primera vez la resistencia a la penicilina en cepas aisladas, lo que en parte ha favorecido su resurgimiento como patógeno en infecciones respiratorias, ya que en la actualidad se encuentra esta característica en 95% al 100% de las cepas clínicas aisladas.^{2, 4, 5, 7}

Actualmente es considerado un patógeno oportunista y cada vez se identifica más como causa de sinusitis e infección broncopulmonar. Raras veces da lugar a enfermedades sistémicas como bacteriemia, sepsis, endocarditis, meningitis e infección urinaria. Esta bacteria ha demostrado de manera repetida ser el tercer aislado bacteriano más frecuente en el oído medio de los niños con otitis media. Además, la mayoría de las personas infectadas que presentan neumonía tienen más de 60 años y presentan antecedentes de enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC) subyacente, por lo que ha sido considerado a esta edad como un patógeno primario de vías respiratorias bajas. En hombres y mujeres la tasa de infección es equivalente y la transmisión se da por contacto directo a través de las secreciones respiratorias.^{2, 3, 4, 8}

De esta manera, en el presente manual de diagnóstico se describe la especie *Moraxella catarrhalis* haciendo referencia a las características morfológicas y bioquímicas propias de esta bacteria causantes de su patogenicidad, además se hace mención de las manifestaciones clínicas y su relación con las pruebas de laboratorio que permiten diferenciarla especialmente de las especies de *Neisseria sp.* cuya morfología es indistinguible de *Moraxella catarrhalis* y que también colonizan el tracto respiratorio originando confusión para el químico laboratorista, por lo que se realizó una investigación basada en la búsqueda de información actualizada en fuentes informativas tales como bibliográficas y consultas vía internet con ilustraciones que orientan a un diagnóstico microbiológico asertivo.

Con esto, se pretende apoyar y actualizar a los profesionales del área de la salud y personas relacionadas con el diagnóstico microbiológico, entre ellos a los Químicos Farmacéuticos Biológicos, de los cuales también se pretende reforzar los conocimientos proporcionados en el módulo de Microbiología médica para la identificación y diagnóstico de *Moraxella catarrhalis*, una bacteria que ha resurgido por su patogenicidad, de gran controversia en cuanto a su taxonomía y de la cual existen una variedad de datos que causan desacuerdos o todavía no son aceptados por todos los autores consultados.

MARCO TEÓRICO

El presente manual integral sobre la especie *Moraxella catarrhalis* incluye una recopilación basada en información bibliográfica y electrónica reciente para la actualización sobre esta bacteria de reciente resurgimiento y que ha inquietado por su frecuencia en el diagnóstico de varias infecciones de vías respiratorias en pacientes de diversas edades.

1. Historia taxonómica

Moraxella catarrhalis tiene una interesante y accidentada historia taxonómica. Después de haberse denominado al principio *Micrococcus catarrhalis*, con posterioridad se cambió su nombre a *Neisseria catarrhalis*, debido a sus similitudes en fenotipo y nicho ecológico con las especies de *Neisseria sp.* En 1970, se transfirió al nuevo género *Branhamella sp.*, en función de las diferencias en el contenido de ácidos grasos y de estudios de hibridación de ADN en comparación con otras *Neisseriaceae*. Así, en la edición de 1984 del Manual Bergey de Bacteriología Sistemática el género *Moraxella sp.* estaba dividido en dos subgéneros: el subgénero *Moraxella* y el subgénero *Branhamella*, este último incluía a *Moraxella Branhamella catarrhalis*.^{5,9}

Rossau y col. reconocieron dentro de la clase de las *Proteobacteria* a un grupo que denominaron “grupo (cluster) de rRNA *Moraxellaceae*”. Este grupo contenía el género *Acinetobacter sp.* y el grupo *Moraxella-Psychrobacter*.^{5,10}

La categoría taxonómica de *Moraxella catarrhalis*, las otras especies de *Moraxella sp.* existentes y de reciente descripción, y las falsas neisserias todavía son objeto de investigación y debate.^{5,9}

2. Características generales de *Moraxella catarrhalis*

Moraxella catarrhalis es miembro de la microbiota normal del aparato respiratorio superior y ocasionalmente del tracto genital femenino. Se le considera un patógeno oportunista.^{10, 11, 12}

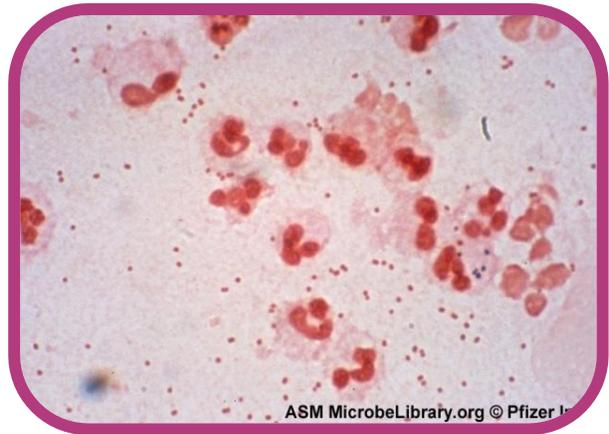
Es un microorganismo capsulado, inmóvil, positivo para oxidasa y catalasa, aerobio estricto y no muy exigente en cuanto a requerimientos nutritivos, creciendo fácilmente en agar nutritivo a 37°C y en medios enriquecidos como agar sangre y agar chocolate a 22°C, una atmósfera húmeda acelera su crecimiento. Su morfología y su reacción positiva a la oxidasa

pueden hacer que se confunda con neisserias. Se diferencia de este género por su incapacidad de producir ácido a partir de hidratos de carbono, por su capacidad de hidrolizar el ADN, por su capacidad de hidrolizar los grupos butirato con unión éster y por el color grisáceo de sus colonias. Reduce el nitrato. A menudo produce β -lactamasa por lo que no suele ser susceptible a la penicilina. ^{6, 7, 8, 10, 11, 13, 14, 15 16}

2.1 Morfología

Moraxella catarrhalis es un coco gramnegativo indistinguible de *Neisseria sp.* mediante la tinción de Gram, que se caracteriza por que no es totalmente esférico, si no arriñonado, dispuesto a pares (Ver fig. 1). ^{10, 11, 17, 18}

Figura 1. Esputo con tinción Gram de *Moraxella catarrhalis*. Esta imagen muestra cocos gramnegativos, solos y en parejas simulando pares de riñones. ^{19, 20}



2.2 Antígenos de superficie

Sus principales antígenos de superficie son proteínas de membrana externa, pili y el lipooligosacárido. ¹⁶

Se han identificado y caracterizado varias OMP principales. El estudio de la OMP de *Moraxella catarrhalis* es un área de investigación activa. Se han identificado varias adhesinas de *Moraxella catarrhalis*, entre ellas las proteínas de membrana externa UspA1 y MID (Hag). La OMP CD, una proteína porina muy conservada, se une a la mucina humana. Parece que muchas cepas de *Moraxella catarrhalis* expresan pili, que probablemente participan en la adhesión a las células epiteliales. ⁹

La membrana externa de *Moraxella catarrhalis* contiene una endotoxina, el lipooligosacárido (LOS). El LOS consta de un núcleo de lípido A unido a oligosacáridos. La estructura del LOS se asemeja a la de otras bacterias gramnegativas no intestinales, porque la molécula carece de las largas cadenas laterales de polisacáridos. En el LOS se pueden distinguir tres tipos antigénicos principales, que suponen el 95% de todas las cepas. ⁹

2.3 Patogenicidad y factores de virulencia de *Moraxella catarrhalis*

La mayoría de los aislamientos clínicamente importantes producen β -lactamasas. En la actualidad se han descrito dos tipos de β -lactamasas en las cepas de *Moraxella catarrhalis*, BRO-1 y BRO-2. Las dos β -lactamasas BRO hidrolizan penicilina, ampicilina, meticilina y cefaclor.^{3,5}

Las cepas de *Moraxella catarrhalis* poseen pili y el gen que codifica los pili está relacionado con el gen de los pili de *M. bovis*, lo que refuerza aún más la cercana relación de *Moraxella catarrhalis* con otras moraxellas. Algunos investigadores han observado que esos pili median la adherencia a las células epiteliales faríngeas.^{5,16}

La proteína de membrana externa UspA puede estar estrechamente asociada con los lipooligosacáridos de la membrana externa. Otra proteína expresada en la superficie, denominada CopB, se sugiere que tiene un papel en el establecimiento de un foco pulmonar de infección y también puede hacer que algunas cepas del microorganismo sean resistentes a los efectos bactericidas del suero humano normal.⁵

Como sucede con las neisserias patógenas, *Moraxella catarrhalis* también posee proteínas asociadas con la membrana que son capaces de fijar transferrina y lactoferrina, lo que les proporciona un medio para adquirir hierro para su desarrollo, rompiendo la unión entre el ion y la proteína transportadora humana.^{3,5}

2.4 Factores de inmunidad

No se ha diseñado todavía un modelo animal fiable para *Moraxella catarrhalis* que tenga un paralelismo con la infección en el ser humano. El modelo más empleado es uno de eliminación pulmonar en el ratón, que determina la tasa de eliminación de *Moraxella catarrhalis* de los pulmones después de una inoculación intratraqueal.⁹

De manera práctica se ha descubierto que la inmunización pasiva de ratones con un anticuerpo monoclonal reactivo contra la UspA y su exposición posterior a bacterias endobronquiales produce una eliminación pulmonar aumentada de la cepa de bacterias usadas en dicho ensayo. Los anticuerpos contra el antígeno CopB también incrementan la depuración pulmonar de las cepas de *Moraxella catarrhalis* utilizadas para el ensayo en el modelo de ratón.⁵

Las proteínas que posee *Moraxella catarrhalis* capaces de fijar transferrina y lactoferrina, son homologas genéticamente y con propiedades inmunogénicas lo que se puede utilizar como elementos adecuados para antígenos vacunales y aprovechar esta propiedad para estos fines.^{3,5}

2.5 Epidemiología

Moraxella catarrhalis se ha aislado de forma exclusiva a partir de seres humanos.

La prevalencia de la colonización depende en gran medida de la edad. *Moraxella catarrhalis* se puede aislar de las vías respiratorias superiores en 3 a 7% de los adultos sanos y es más común en niños sanos (50.8%) y en adultos de edad avanzada (26.5%), lo cual es indicativo de las bajas tasas de infección observadas en adultos respecto a los niños y adultos de edad avanzada.^{5, 8, 9}

Después de *Streptococcus pneumoniae* y *Haemophilus influenzae* no tipificable, *Moraxella catarrhalis* es la tercera causa más frecuente de otitis media aguda. Se ha identificado también como una causa importante en la infección broncopulmonar, causando la infección a través de la aspiración del tracto pulmonar superior. Es una causa importante en la sinusitis maxilar, bacteriemia, meningitis, conjuntivitis, irritación aguda de la bronquitis crónica purulenta, uretritis, septicemia (aunque esto es raro), artritis séptica (que también es un suceso raro), así como laringitis aguda en adultos.^{1, 2, 5, 9, 10, 18, 19, 21}

Moraxella catarrhalis es un invasor oportunista pulmonar y causa daños especialmente en pacientes que tienen sistemas inmunes comprometidos.¹⁹

Existe una tasa de colonización más elevada durante los meses invernales, lo que puede deberse a la aparición de enfermedades respiratorias víricas.^{8, 9}

En México, el estudio más reciente fue realizado por el Instituto Mexicano del Seguro Social en 1998 para determinar la prevalencia de colonización nasofaríngea por *Moraxella catarrhalis* en niños menores de seis años.²

2.6 Moraxellas de importancia médica

Las bacterias del género *Moraxella sp.* son comensales habituales de las vías respiratorias altas del ser humano, ocasionalmente, pueden encontrarse en la piel y el tracto genitourinario del hombre, pero en general no parecen ser patógenas.^{9, 17}

Del género *Moraxella sp.*, *Moraxella catarrhalis* constituye el patógeno de mayor importancia clínica en humanos y se describirá más adelante, seguida de *M. lacunata* y *M. nonliquefaciens* causantes comunes de infecciones óticas. Mientras que *M. bovis*, cobra importancia en el área ganadera, ya que es el principal agente etiológico responsable de queratoconjuntivitis infecciosa bovina (QIB), una severa enfermedad ocular que afecta a los bovinos.¹¹

3. Enfermedades por *Moraxella catarrhalis*

Moraxella catarrhalis es considerada un patógeno oportunista que produce un amplio rango de infecciones de las mucosas en niños y adultos.^{9, 16, 17}

3.1 Otitis media aguda

3.1.1 El oído y su funcionamiento

El oído humano está compuesto de tres partes principales: externo, medio e interno. El oído externo está formado por el pabellón auditivo y el conducto auditivo del oído a la membrana timpánica (tímpano). El oído medio está formado por el martillo, yunque y estribo. El oído interno, también conocido como el laberinto óseo (ver fig. 2).²⁴

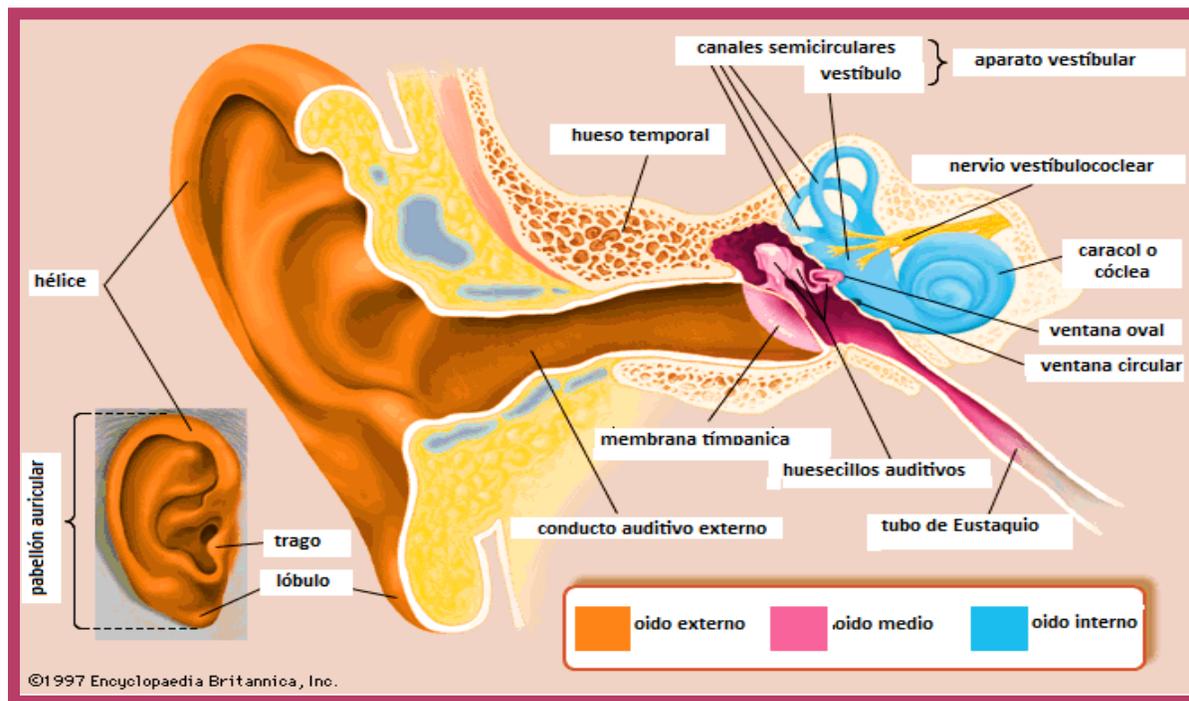


Figura 2. Estructura del oído. La imagen muestra cómo se encuentra estructurado el oído en oído externo, medio e interno.^{MODIFICADO DE 24}

El oído medio, también conocido como la cavidad timpánica, es un espacio lleno de aire que está separado desde el oído externo por la membrana timpánica y del oído interno por la rampa vestibular fenestra. La membrana mucosa del oído medio continúa a los conductos nasales y la nasofaringe a través del tubo o trompa de Eustaquio. Esta membrana permite equilibrar la presión del aire dentro de la cavidad con la del ambiente exterior. El moco contiene muchas enzimas antimicrobianas e inmunoglobulinas.²⁴

3.1.2 Definición y cuadro clínico

La otitis media aguda es una inflamación del revestimiento mucoperióstico del oído medio que afecta membrana y caja timpánicas, tubo de Eustaquio, antro y celdillas mastoideas (Ver figura 3). Los signos y síntomas de presentación son otalgia, presión ótica, disminución de la audición, a menudo fiebre, irritabilidad y dolor agudo son frecuentes y el estudio otoscópico revela protrusión de la membrana timpánica, mala movilidad y ocultamiento de los puntos de referencia anatómicos normales por la presencia de líquido purulento y eritema.^{13, 26, 52}

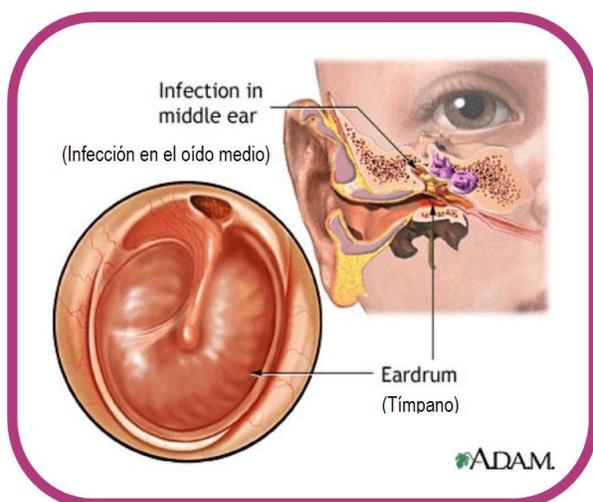


Figura 3. Oído medio. Una infección del oído medio se conoce como otitis media y es una de las infecciones más comunes en la infancia. En esta enfermedad, el oído medio resulta enrojecido, inflamado e hinchado debido a bacterias atrapadas en el tubo de Eustaquio. MODIFICADO DE 25

3.1.3 Etiología

El cultivo del líquido del oído medio es el método más fiable para determinar la etiología de la otitis media. Estudios realizados en Estados Unidos y Europa demuestran que desde la mitad del siglo pasado han permanecido de modo muy uniforme *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae* no tipificable y *Moraxella catarrhalis* como las causas bacterianas predominantes de la otitis media aguda.^{8, 9, 26}

3.1.4 Patogenia

En el caso de la otitis media, *Moraxella catarrhalis* llega al oído medio mediante la migración a través del tubo de Eustaquio y la nasofaringe.^{9, 24}

Las infecciones virales respiratorias superiores o los trastornos alérgicos pueden causar inflamación y edema del tubo de Eustaquio o su orificio. El tubo de Eustaquio es el principal portal para la entrada y salida de las bacterias en el oído medio. Estos cambios alteran sus funciones, de las que la más importante puede ser la ventilación.^{8, 13, 24, 26,}

Moraxella catarrhalis se une a las vías respiratorias con un pili de tipo IV (PTF). PTF. De allí que migra al oído medio a través del tubo de Eustaquio para iniciar la infección. La invasión está regulada por la expresión del LOS, UspA1 y probablemente otras OMPs, pero los mecanismos aún son desconocidos.^{24, 26}

3.1.5 Diagnóstico

El diagnóstico se establece con base en la exploración clínica, que se basa en la presencia de signos y síntomas de la enfermedad aguda, y la identificación de líquido mediante otoscopia neumática. En la otitis media el método diagnóstico más preciso es la timpanocentesis. La tinción de Gram y el cultivo de tales aspirados son muy confiables.^{13, 26}

3.1.6 Tratamiento

La otitis media aguda requiere tratamiento antimicrobiano y vigilancia cuidadosa de la evolución para asegurar su resolución. La selección del antimicrobiano suele ser empírica. Sin embargo, debido al origen multifactorial de la otitis media, es improbable que solo un enfoque terapéutico único pueda prevenir y curar esta enfermedad.^{13, 26}

3.2 Sinusitis maxilar aguda

3.2.1 Cavidades sinusales

Los senos etmoidal, frontal y maxilar se comunican con la cavidad nasal (ver figura 4). En individuos sanos esos senos son cavidades llenos de aire, revestidas por epitelio ciliado y estériles.¹³

En condiciones normales, la función de los cilios con el flujo de moco a través de los orificios naturales mantiene los senos libres de agentes patógenos. El moco de los senos y de la cavidad nasal contiene inmunoglobulinas IgA, IgG e IgM, y lisozimas que dificultan la adherencia bacteriana y facilitan su destrucción.²⁶

3.2.2 Definición y cuadro clínico

Se llama sinusitis a la inflamación, con infección persistente, de la mucosa de uno o más senos paranasales, con un tiempo de

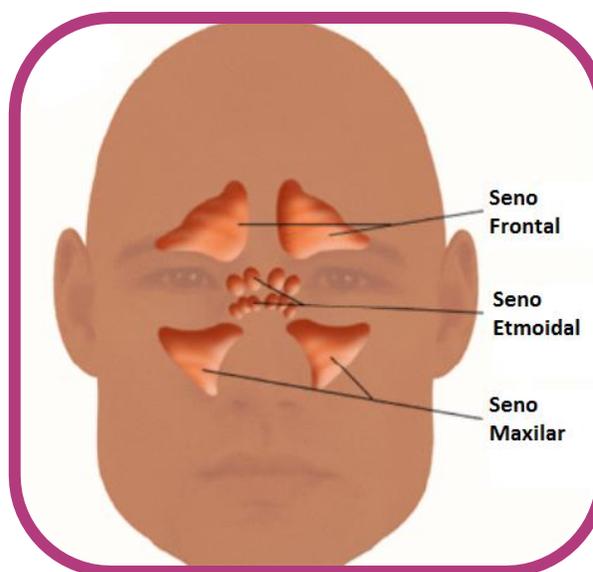


Figura 4. Senos paranasales de la cara³⁷

evolución menor a tres semanas.²⁶

En los niños pequeños los síntomas predominantes son: congestión nasal, secreción nasal y tos durante el día que puede empeorarse en la noche. En el niño, la sinusitis suele presentarse como complicación de una enfermedad de vías respiratorias altas. La secreción nasal puede ser fluida, blanquecina, espesa o purulenta, y la tos persistente, irritativa y prolongada, de más de 10 días y preferentemente nocturna; si no se conlleva otra manifestación, debe generar la sospecha de sinusitis.^{13, 26}

3.2.3 Etiología

Los estudios que han empleado la aspiración sinusal para determinar la etiología de la sinusitis han mostrado que *Moraxella catarrhalis* es la tercera causa más frecuente de sinusitis en adultos y niños, después de *Haemophilus influenzae* no tipificable y *S. pneumoniae*.⁹

3.2.4 Patogenia

En primer término, se obstruye el orificio del seno y se afecta la ventilación; se absorbe el oxígeno, con la subsecuente formación de presión negativa. Esta presión negativa dentro del seno, y la disfunción de la mucosa, permite que fluya biota nasal contaminada hacia la cavidad de los senos, que es estéril. El inóculo de bacterias en un seno obstruido y lleno de líquido es el inicio de un cuadro de sinusitis aguda.²⁶

El edema de la mucosa y la disfunción de los cilios en las infecciones virales, ocasionan oclusión de los senos paranasales por obstrucción inflamatoria del *ostium* que conduce a la cavidad nasal, con reabsorción del aire de los senos y posterior infección bacteriana de la secreción.²⁶

3.2.5 Diagnóstico

El diagnóstico de enfermedad sinusal se hace por clínica, estudio bacteriológico y estudio por imágenes. Si es necesario determinar el agente infeccioso específico debe obtenerse líquido de modo directo de los senos afectados por punción con aguja de su pared. A continuación se realizan frotis con tinción de Gram y cultivo.^{13, 26}

3.2.6 Tratamiento

En la sinusitis aguda no complicada se inicia tratamiento antimicrobiano expedito, cuya selección suele ser empírica con base en las causas bacterianas más probables y su susceptibilidad habitual. Por ejemplo, la amoxicilina es el tratamiento preferente.^{13, 26}

3.3 Infección broncopulmonar

3.3.1 Los pulmones

Los pulmones son los órganos de la respiración donde se produce la hematosis, proceso durante el cual los glóbulos rojos absorben oxígeno y se liberan del anhídrido carbónico. Protegidos por las costillas, se encuentran en la caja torácica, a ambos lados del corazón, separados por el mediastino, nombre que recibe el espacio entre cada uno de ellos.²⁷

El pulmón derecho es más grande que el izquierdo. Esto, porque está dividido en tres lóbulos -superior, medio e inferior- y el izquierdo solamente en dos - superior e inferior.²⁷

A partir de la tráquea nacen los bronquios. Estos se abren en dos ramas que penetran en cada uno de tus pulmones, junto con vasos sanguíneos y nervios; son estas ramificaciones las que reciben el nombre de árbol bronquial. Al entrar en los pulmones se producen varias bifurcaciones a medida que los bronquios se hacen más estrechos. Estas ramitas más delgadas del árbol, de solo un milímetro de anchura, se conocen como bronquiolos.²⁷

Los bronquios cumplen también una función motora. Además, también colaboran con la acción de los cilios que se encuentran en la mucosa para evitar que entren partículas extrañas a los pulmones, todo esto mediante un movimiento de las paredes.^{27, 28}

3.3.2 Definición y cuadro clínico

Se llama neumonía a la inflamación de la región distal del pulmón, es decir, de las vías respiratorias terminales, los espacios alveolares y el intersticio.²⁹

Las manifestaciones clínicas de las exacerbaciones de la EPOC causadas por *Moraxella catarrhalis* son similares a las de las causadas por otras bacterias, como *Haemophilus influenzae* no tipificable. Los pacientes experimentan un aumento de la tos y de la producción de esputo, una mayor purulencia del esputo y un incremento de la disnea en comparación con los síntomas basales.⁹

3.3.3 Etiología

Los datos obtenidos de varias fuentes han establecido que *Moraxella catarrhalis* causa exacerbaciones de la EPOC.⁹

En un estudio prospectivo se estimó que *Moraxella catarrhalis* causaba el 10% de las neumonías extrahospitalarias en los ancianos. En función de los datos obtenidos en

estudios, *Moraxella catarrhalis* es la segunda causa bacteriana más frecuente de exacerbaciones de la EPOC después de *Haemophilus influenzae* no tipificable. En un estudio se estimó que el 30% de las exacerbaciones se desvía a *Moraxella catarrhalis*.⁹

3.3.4 Patogenia

Moraxella catarrhalis puede acceder a la vía aérea inferior y espacio alveolar por dos principales mecanismos:

El más importante es la aspiración de contenido bucofaríngeo durante el sueño. El segundo mecanismo en importancia es la inhalación de aerosoles, la que se produce cuando un individuo enfermo tose o estornuda (gotas de Pflügger).³⁰

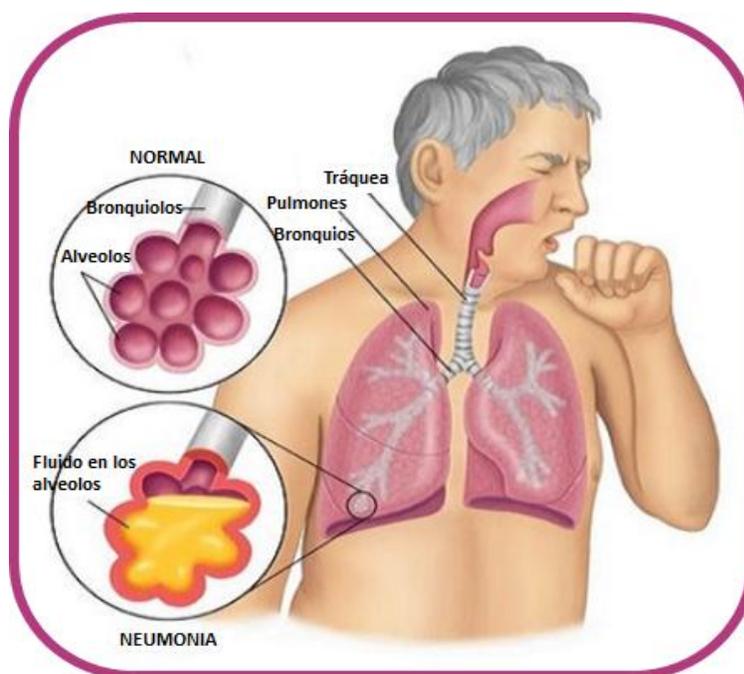


Figura 5. Patogenia de las neumonías. Estas infecciones se producen cuando llegan al territorio alveolar microorganismos patógenos en cantidad suficiente como para vencer los mecanismos de defensa del pulmón. Esto puede ocurrir por colonización con microorganismos muy patógenos, por microaspiraciones superiores a lo normal, por fallas en las defensas o por una combinación de varios de estos mecanismos.³¹

Las bacterias debido a su tamaño se depositan en los alvéolos. La primera línea de defensa contra las bacterias depositadas en los pulmones es el aparato mucociliar. Sin embargo, cualquier proceso que altere el movimiento de los cilios, que aumente la secreción de moco

respiratorio o que cambie la viscosidad de las secreciones, altera la eficacia de este sistema de transporte como sucede en los pacientes con EPOC, por ejemplo.²⁹

Las bacterias atraen a los neutrófilos, la muerte de estas depende de la disponibilidad de neutrófilos más que de la presencia de macrófagos alveolares. La depuración de microorganismos de los pulmones aumenta por la presencia de anticuerpos específicos. La inmunoglobulina que predomina en el alvéolo es la IgG y comprende de 10 a 15% de las proteínas en el líquido alveolar (Ver figura 5).²⁹

3.3.5 Diagnóstico

La anamnesis y el examen físico complementado con estudio radiológico de tórax ofrecen bases para el diagnóstico de neumonía. Los esputos pueden ser útiles en casos de infecciones respiratorias bajas. Siempre se debe realizar una tinción Gram.^{23, 26, 29}

3.3.6 Tratamiento

La selección del antimicrobiano dependerá de la gravedad de la infección y la posible presencia de otros microorganismos. El tratamiento inicial (por lo menos hasta que se dispone de los resultados del cultivo) será con ampicilina/sulbactam.⁸

3.4 Otros síndromes

La extensión local con empiema es muy infrecuente y, como se podría deducir de la escasa incidencia de bacteriemia, las complicaciones metastásicas de la neumonía por *Moraxella catarrhalis* (como la artritis séptica) son extraordinariamente infrecuentes. Los síndromes observados han sido bacteriemia sin foco aparente, neumonía, endocarditis y meningitis.⁸

4. Procedimiento de diagnóstico para *Moraxella catarrhalis*

La identificación de *Moraxella catarrhalis* como patógeno se retrasó hasta los últimos 20 años, debido a que *Moraxella catarrhalis* es indistinguible de las especies comensales de *Neisseria sp.* mediante la tinción de Gram y resulta difícil de distinguir por la morfología de la colonia.⁹

4.1 Examen microscópico

La identificación se hace mediante una tinción de Gram (Ver figura 6). Se observa un gran número de moraxelas en forma de cocos gramnegativos, a menudo alineados de dos en dos y simulando pares de riñones.^{8,9}

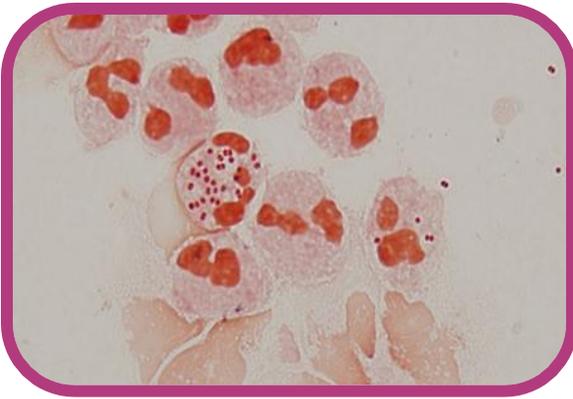


Figura 6. Como los meningococos y *Haemophilus influenzae*, *Moraxella catarrhalis* es a menudo visible en el citoplasma de los neutrófilos, al ser fagocitada por estos.³²

4.2 Cultivo

Todos los cultivos se realizan a temperatura óptima de 35-37 °C en una atmosfera de CO₂ al 5 % durante 24 horas, ya sea en medios de cultivos habituales para Gram negativos o en agar Sangre de Carnero al 5%, para observar típicas colonias convexas, no pigmentadas o grisáceas, con un diámetro aproximado de 3-5 mm, opacas, lisas, que no se adhieren al medio y no producen hemólisis (Ver figura 7).^{7, 21}

Moraxella catarrhalis es difícil de distinguir de *Neisseria sp.* por la morfología de la colonia, sobre todo después de un crecimiento nocturno en placas de agar. Dado que las muestras respiratorias suelen contener *Neisseria sp.*, las colonias sospechosas deben ser investigadas ante la posibilidad de que sean *Moraxella catarrhalis*.⁹



Figura 7. *Moraxella catarrhalis* cepa O35E crecido en una placa de agar de Todd Hewitt durante 20 horas a 37°C.³⁵

4.3 Pruebas de identificación

Las pruebas bioquímicas de mayor relevancia realizadas para la identificación de *Moraxella catarrhalis* son catalasa, oxidasa, la producción de ácidos a partir de azúcares y la detección de nucleasas (DNasa). También se debe detectar la producción de β-lactamasas (Ver figura 8).^{9, 16}

La mayor parte de las cepas reducen los nitratos y los nitritos y producen DNasa. La actividad DNasa se detecta con un medio de prueba para DNasa que contenga azul de toluidina O.⁵

Moraxella catarrhalis también puede ser diferenciada de las especies de *Neisseria sp.* por su capacidad de hidrolizar los grupos butirato con unión éster (butirato esterasa). Esta actividad enzimática se detecta mediante un sustrato denominado tributirina.⁵



Figura 8. *Moraxella catarrhalis* es un ejemplo de bacteria no sacarolítica. Esta no es capaz de fermentar glucosa, maltosa, fructosa o sacarosa; es oxidasa positiva, la prueba de GGT (gamma glutamiltransferasa) es negativa, la hidrólisis de la tributirina es positiva y la prueba de SPS (síntesis de polisacárido) es negativa para esta bacteria (NEISSERIAtest, PLIVA Lachema, CzechRepublic).³³

La mayoría de las cepas clínicamente importantes de *Moraxella catarrhalis* también producen una β -lactamasa inducible asociada a la célula. Los mejores resultados se obtienen con la prueba cromógena con cefalosporina.^{3,5}

Se dispone de varios equipos comercializados para la identificación a nivel de especie de *Moraxella catarrhalis*. En la tira API QuadFERM + se incluye una prueba acidométrica para DNasa de dos horas. Janda y Ruther evaluaron una prueba rápida de hidrólisis de tributirina denominada BCAT CONFIRM (Scott Laboratories). Esta prueba se incluye también en la BactiCard-Neisseria. El sistema RapID NH también contiene una prueba de hidrólisis de esteres de ácidos grasos para la identificación de *Moraxella catarrhalis*.^{5,9}

5. Tratamiento

En general *Moraxella catarrhalis* presenta una sensibilidad uniforme a combinaciones de betaláctamicos e inhibidores de β -lactamasa, como la combinación de penicilinas con ácido clavulánico y el medicamento de primera elección TMP-SMX (mezcla de una parte de trimetoprim y cinco partes de sulfametoxazol) además de cefalosporinas sobre todo de segunda y tercera generación. Las fluoroquinolonas también parecen ser activas aunque se tiene poca experiencia clínica.^{1, 7, 8, 9, 16, 34}

PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN

Dentro de la familia *Moraxellaceae*, la *Moraxella catarrhalis*, una bacteria Gram negativa, ha emergido como un importante patógeno humano, recientemente como la tercera causa principal de las infecciones bacterianas del oído en los niños, después de *Haemophilus influenzae* y *Streptococcus pneumoniae*. Este microorganismo, durante las últimas dos décadas ha sido también responsable de una variedad de infecciones como sinusitis, bronquitis y neumonía. Si bien la otitis media producida por este microorganismo puede observarse en cualquier grupo etario, la mayoría de los estudios se han centrado en el papel de este microorganismo en las infecciones pediátricas.^{5, 7, 19, 30, 36}

La mayoría de las infecciones del tracto respiratorio inferior causadas por *Moraxella catarrhalis* ocurren en individuos mayores de 60 años donde es considerado un patógeno primario de vías respiratorias bajas, sobre todo en los individuos con enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC). Aunado a esto, un número significativo de aislamientos de *Moraxella catarrhalis* en humanos producen β -lactamasa.^{4, 5, 30, 36}

La importancia de la identificación microbiológica de ésta bacteria es más que evidente, ya que, debido a su prevalencia como agente etiológico de una gran variedad de infecciones, resulta necesario imponer un tratamiento específico durante la sospecha clínica de un proceso infeccioso, puesto que el tratamiento puede ser fallido si se utilizan las penicilinas frente a las infecciones provocadas por *Moraxella catarrhalis*.⁷

Sin embargo, debido a su estrecha similitud morfológica y de origen con las especies de *Neisseria sp.* (ambas forman parte de la biota comensal del tracto respiratorio superior) y a la frecuencia de su aislamiento en el laboratorio clínico, los métodos de identificación de *Moraxella catarrhalis* que comprenden la etapa preanalítica, analítica y postanalítica desde la toma de muestras provenientes de pacientes con infecciones, el aislamiento e identificación de ésta bacteria, y la comprobación de la sensibilidad a penicilinas de las cepas aisladas hasta relacionar el aislamiento bacteriano con el diagnóstico clínico, es una responsabilidad que recae principalmente en el Químico, por lo que es necesario un conocimiento exhaustivo de las bases y procedimientos para un diagnóstico diferencial de calidad, motivo por el cual fue realizado este manual integral para apoyar y actualizar con los métodos y patologías más recientes que tienen como agente etiológico a *Moraxella catarrhalis*.

De la misma manera, la historia clínica con el apoyo de los resultados proporcionados por los Químicos del laboratorio clínico, conforman datos imprescindibles para lograr un

diagnóstico y establecer un tratamiento eficaz, responsabilidades que corresponden a los profesionales de la salud, dedicados a la medicina, odontología, especialidades en otorrinolaringología, pediatría, entre otras, todas ellas involucradas con los datos epidemiológicos y patológicos que tienen como agente etiológico a *Moraxella catarrhalis*. Por ello, al realizar este manual integral sobre *Moraxella catarrhalis*, importante por ser una bacteria que resurgió como patógena, se pretende reforzar y a su vez brindar información que amplíe los conocimientos aportados a los universitarios que cursan estas carreras del área de la salud para que sean capaces de relacionar lo aprendido y de cumplir con cada etapa que los lleve a buen diagnóstico respecto a *Moraxella catarrhalis*.

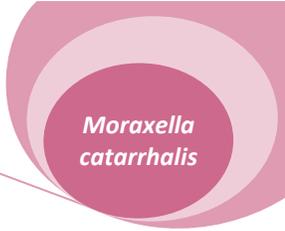
OBJETIVOS

Objetivo general

Elaborar el manual de diagnóstico microbiológico de *Moraxella catarrhalis* que apoye el aprendizaje del módulo de Microbiología Médica impartido en la Licenciatura de Química Farmacéutico Biológica.

Objetivos específicos

- ❑ Realizar una investigación y selección de información bibliográfica y electrónica sobre las características generales de *Moraxella catarrhalis* responsables de su epidemiología, manifestaciones clínicas, su diagnóstico microbiológico y tratamiento.
- ❑ Difundir a los estudiantes de la Licenciatura en Química Farmacéutico Biológica sobre los datos más recientes del resurgimiento de *Moraxella catarrhalis* como agente etiológico de procesos infecciosos importantes.
- ❑ Reforzar el aprendizaje en el módulo de Microbiología Médica mediante un manual de diagnóstico que pueda ser consultado por estudiantes del área de la salud.

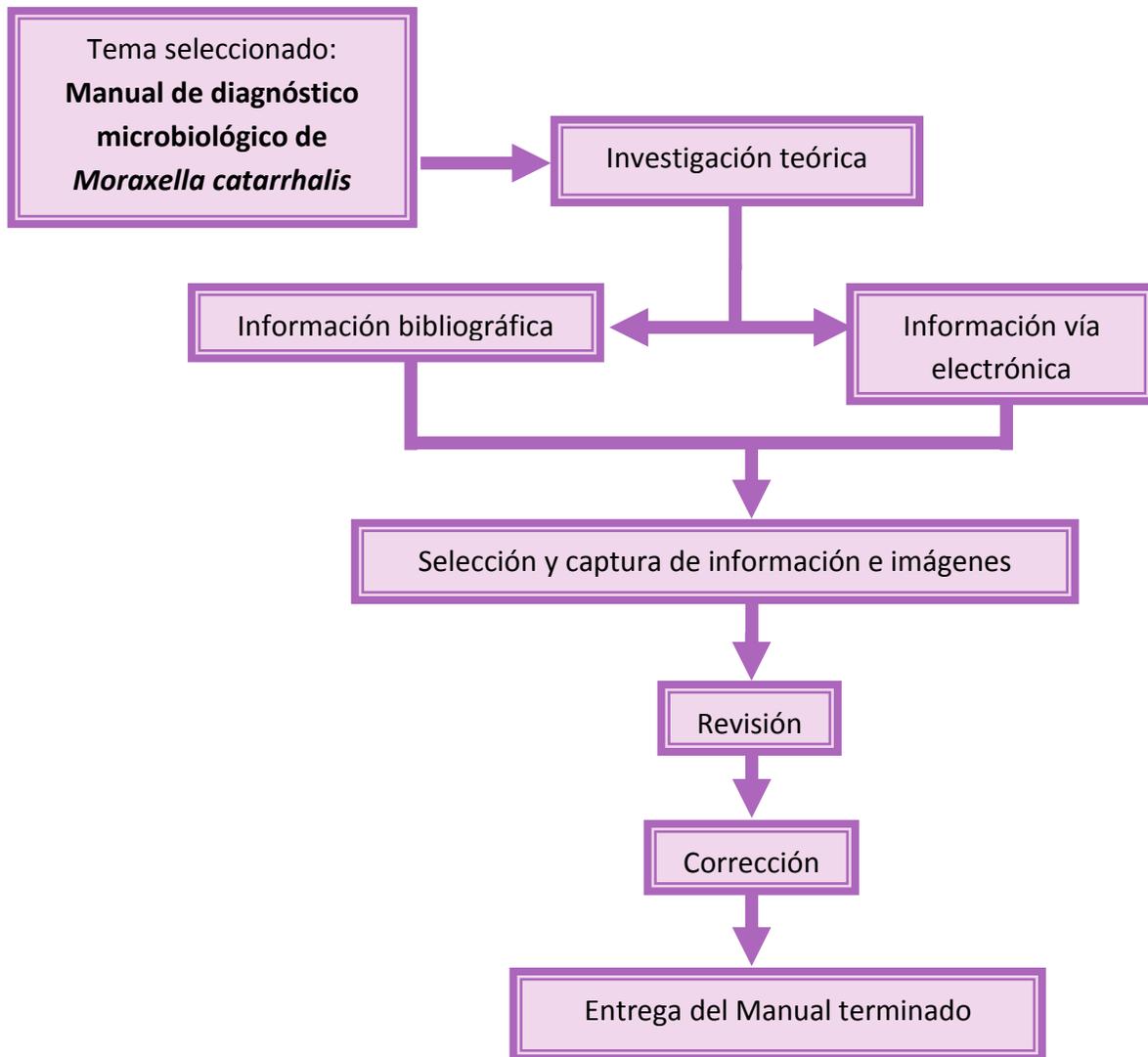


DISEÑO DE LA INVESTIGACIÓN

TIPO DE ESTUDIO:

Monográfico.

METODOLOGÍA:



RESULTADOS

Se elaboró un manual integral que contiene información necesaria para el diagnóstico de *Moraxella catarrhalis*, una bacteria que forma parte de los temas impartidos en Microbiología Médica perteneciente al área Bioquímica Clínica del plan de estudios de la carrera de Química Farmacéutico Biológica en la Facultad de Estudios Superiores Zaragoza.

El manual integral incluye una recopilación basada en información bibliográfica y electrónica, organizada e ilustrada con imágenes representativas de la información proporcionada de tal manera que los estudiantes del área de la salud logren desarrollar sus habilidades y aplicar sus conocimientos. La información se organizó en cinco capítulos:

1. Historia taxonómica
2. Características generales de *Moraxella catarrhalis*
3. Enfermedades causadas por *Moraxella catarrhalis*
4. Procedimiento de diagnóstico para *Moraxella catarrhalis*
5. Tratamiento

En el capítulo 2, se incluyen cuatro subcapítulos que abarcan los temas: factores de virulencia asociados con la patogenicidad de *Moraxella catarrhalis*, respuesta inmune, epidemiología y colonización de *Moraxella catarrhalis* y hace mención de las moraxellas de importancia médica.

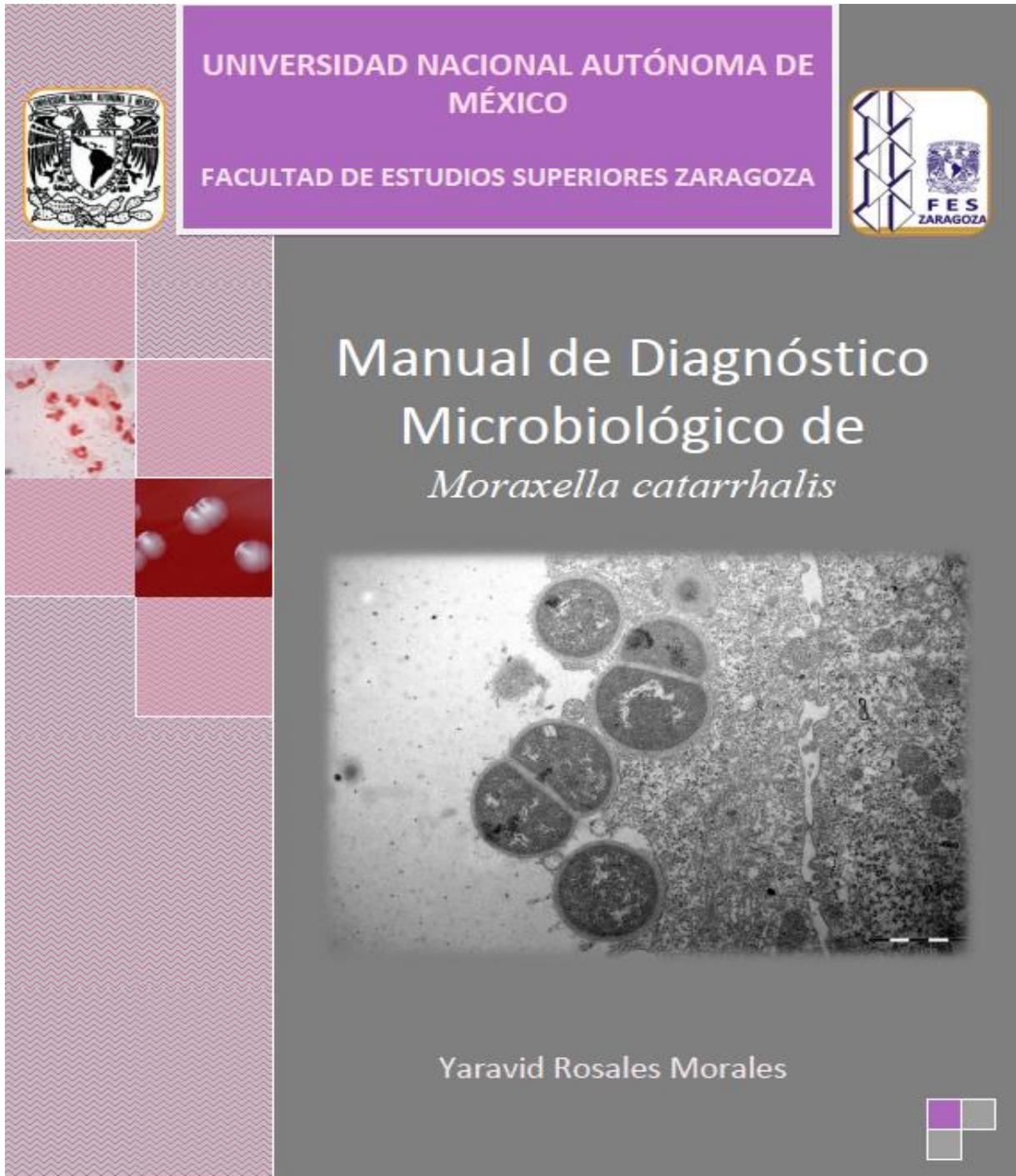
El capítulo 3, se habla de la fisiología del aparato respiratorio, las principales enfermedades causadas por *Moraxella catarrhalis*, el cuadro clínico, etiología, patogenia, diagnóstico y tratamiento.

El capítulo 4, trata el procedimiento para el diagnóstico de *Moraxella catarrhalis* desde el examen microscópico, cultivo y pruebas bioquímicas hasta los sistemas comerciales para su identificación.

El capítulo 5, menciona los principales antibióticos para el tratamiento de las infecciones causadas por *Moraxella catarrhalis*.

Además se incluyen dos anexos, el primero con las indicaciones necesarias para una toma de muestra de calidad y el segundo con los fundamentos e interpretación de las pruebas bioquímicas. A continuación se muestra el manual completo:

PORTADA



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO



FACULTAD DE ESTUDIOS
SUPERIORES ZARAGOZA



Manual de Diagnóstico Microbiológico de

Moraxella catarrhalis

Yaravid Rosales Morales

México, D.F. Noviembre 2013

ÍNDICE

Introducción	30
Capítulo 1. Historia taxonómica	32
Capítulo 2. Características generales de <i>Moraxella catarrhalis</i>	35
2.1. Morfología	36
2.2. Factores de virulencia asociados con la patogenicidad de <i>M. catarrhalis</i>	36
2.3. Patogenicidad y virulencia de <i>Moraxella catarrhalis</i>	42
2.4. Factores de inmunidad	46
2.5. Moraxellas de importancia médica	50
Capítulo 3. Enfermedades por <i>Moraxella catarrhalis</i>	52
3.1. Otitis media aguda	53
3.1.1. El oído y su funcionamiento	53
3.1.2. Definición y cuadro clínico	55
3.1.3. Etiología	56
3.1.4. Patogenia	56
3.1.5. Diagnóstico	60
3.1.6. Tratamiento	60
3.2. Sinusitis maxilar aguda	61
3.2.1. Cavidades sinusales	61
3.2.2. Definición y cuadro clínico	62
3.2.3. Etiología	63
3.2.4. Patogenia	63
3.2.5. Diagnóstico	64
3.2.6. Tratamiento	64
3.3. Infección broncopulmonar	64
3.3.1. Los pulmones	64
3.3.2. Definición y cuadro clínico	66
3.3.3. Etiología	67
3.3.4. Patogenia	69
3.3.5. Diagnóstico	71
3.3.6. Tratamiento	71
3.4. Otros síndromes	72
Capítulo 4. Procedimiento de diagnóstico para <i>Moraxella catarrhalis</i>	73
4.1. Examen microscópico	74
4.2. Cultivo	75

4.3. Pruebas de identificación	76
4.3.1. Catalasa	79
4.3.2. Oxidasa (Método de Kovac)	82
4.3.3. Prueba del butirato	82
4.3.4. Fermentación de hidratos de carbono.....	84
4.3.5. Reducción del nitrato	87
4.3.6. Hidrólisis del ADN.....	88
4.3.7. β -lactamasas y sensibilidad a los antibióticos.....	90
4.3.8. Sistemas comerciales para la identificación de <i>Moraxella catarrhalis</i>	93
Capítulo 5. Tratamiento	99
Referencias.....	101
Anexo I. Procedimientos para la toma de muestras	107
Anexo II. Principios e interpretación de pruebas bioquímicas	115

INTRODUCCIÓN

En los últimos decenios *Moraxella catarrhalis* ha recibido varios nombres científicos. *Moraxella catarrhalis* es un diplococo gramnegativo descrito por primera vez en 1896 por Ghon y Pfeiffer como *Micrococcus catarrhalis* por sus características morfológicas. En 1920, se asignó al género *Neisseria sp.*, debido a su semejanza con la morfología de este género y fue considerada como biota normal del tracto respiratorio; en 1970 se cambió al género *Branhamella sp.* y, en 1979, se propone que sea parte del género *Moraxella sp.* por sus características genéticas. Sin embargo, aún existe confusión en torno a la posición taxonómica de *Moraxella catarrhalis* que no ha sido resuelta y que actualmente todavía es objeto de discusiones y desacuerdos. En el presente manual se utiliza el término *Moraxella catarrhalis* de acuerdo a su más reciente clasificación taxonómica.^{2, 3, 4, 5}

Moraxella sp., recibe su nombre del oftalmólogo suizo Victor Morax, quien reconoció el género por primera vez, en cuanto a la especie *catarrhalis* se deriva del latín *catarrhus*, catarro (en referencia a la inflamación de las membranas mucosas de las vías respiratorias).¹

En 1905, fue aislado de niños con bronquitis y bronconeumonía, pero al identificarse también como un comensal del aparato respiratorio superior de personas sin enfermedad, se puso en duda su potencial como patógeno. No fue hasta 1970 que se le reconoció como agente causal de neumonías y se notificó por primera vez la resistencia a la penicilina en cepas aisladas, lo que en parte ha favorecido su resurgimiento como patógeno en infecciones respiratorias, ya que en la actualidad se encuentra esta característica en 95% al 100% de las cepas clínicas aisladas.^{2, 4, 5, 7}

Actualmente es considerado un patógeno oportunista y cada vez se identifica más como causa de sinusitis e infección broncopulmonar. Raras veces da lugar a enfermedades sistémicas como bacteriemia, sepsis, endocarditis, meningitis e infección urinaria. Esta bacteria ha demostrado de manera repetida ser el tercer aislado bacteriano más frecuente en el oído medio de los niños con otitis media. Además, la mayoría de las personas infectadas que presentan neumonía tienen más de 60 años y presentan antecedentes de enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC) subyacente, por lo que ha sido considerado a esta edad como un patógeno primario de vías respiratorias bajas. En hombres y mujeres la tasa de infección es equivalente y la transmisión se da por contacto directo a través de las secreciones respiratorias.^{2, 3, 4, 8}

De esta manera, en el presente manual de diagnóstico se describe la especie *Moraxella catarrhalis* haciendo referencia a las características morfológicas y bioquímicas propias de esta bacteria causantes de su patogenicidad, además se hace mención de las manifestaciones clínicas y su relación con las pruebas de laboratorio que permiten diferenciarla especialmente de las especies de *Neisseria sp.* cuya morfología es indistinguible de *Moraxella catarrhalis* y que también colonizan el tracto respiratorio originando confusión para el químico laboratorista, por lo que se realizó una investigación basada en la búsqueda de información actualizada en fuentes informativas tales como bibliográficas y consultas vía internet con ilustraciones que orientan a un diagnóstico microbiológico asertivo.

CAPÍTULO 1



HISTORIA TAXONÓMICA

Moraxella catarrhalis tiene una interesante y accidentada historia taxonómica. La bacteria fue descrita por vez primera en 1896 por Ghon y Pfeiffer quienes la llamaron *Micrococcus catarrhalis*, con posterioridad, en 1963, se cambió su nombre a *Neisseria catarrhalis*, debido a sus similitudes en fenotipo y nicho ecológico con las especies de *Neisseria sp.*^{5, 39}

Más tarde, mediante estudios de transformación genética e hibridación de ácidos nucleicos realizados por Bovre en 1963 e independientemente por Catlin en 1964, entre las falsas neisserias, la bacteria *N. catarrhalis* y el género *Moraxella sp.* se demostró que existía relación genética entre éstas, y en consecuencia se propuso en 1968 la inclusión del género *Moraxella* a la familia *Neisseriaceae*. Esta propuesta fue generalmente bien aceptada. En 1970, por una propuesta de Catlin se transfirió *N. catarrhalis* al nuevo género *Branhamella sp.*, en honor a Sara E. Branham, de acuerdo a diferencias en el contenido de ácidos grasos y de estudios de hibridación de ADN en comparación con otras *Neisseriaceae*, aceptado así en la edición de 1974 del manual Bergey de Bacteriología Sistemática.^{39, 40}

Por razones pedagógicas Bovre (1979) sugirió que el género *Moraxella sp.* fuese dividido en dos subgéneros, el subgénero *Moraxella sp.* para las especies de cocobacilos y el subgénero *Branhamella sp.* para las especies de cocos. Así, en la edición de 1984 del Manual de Bergey de Bacteriología Sistemática la familia *Neisseriaceae* incluía cuatro géneros: *Neisseria sp.*, *Moraxella sp.*, *Kingella sp.* y *Acinetobacter sp.* El género *Moraxella sp.* estaba dividido en

dos subgéneros: el subgénero *Moraxella sp.* y el subgénero *Branhamella sp.*, este último con cuatro especies: *Moraxella Branhamella catarrhalis*, *Moraxella Branhamella caviae*, *Moraxella Branhamella ovis* y *Moraxella Branhamella cuniculi*, a las tres últimas provenientes de especies animales se les denominó “falsas neisserias”. Fue entonces cuando se propuso el nombre de *Moraxella Branhamella catarrhalis*.^{5,9}

A la luz de los recientes descubrimientos los términos de los subgéneros han sido discontinuados, ya que estudios de transformación genética (Bovre y Hagen, 1981) han demostrado que todas las especies de cocos están relacionados íntimamente solo al género *Moraxella sp.*^{5, 9, 38, 39, 44}

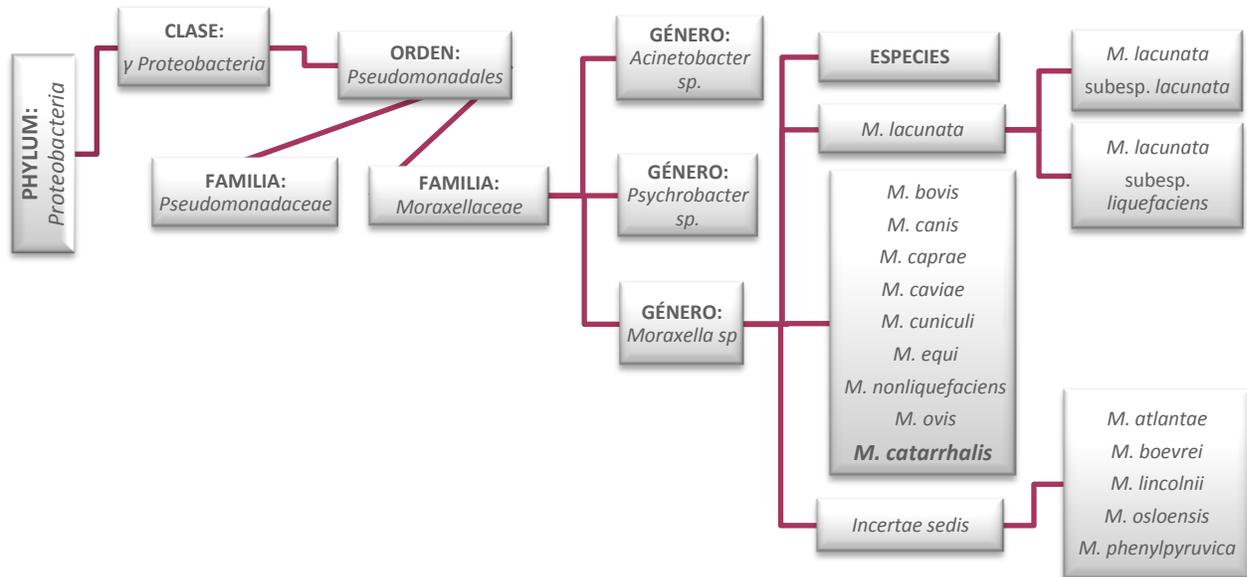
En 1988, utilizando varias técnicas de genética molecular nuevas para la taxonomía bacteriana, Stackebrandt y col. describieron la clase *Proteobacteria* y sus subclases filogenéticas de RNA (α , β , τ y δ). La aplicación de estas técnicas, que incluían estudios de hibridación de DNA-rRNA ribosómica, estudios de hibridación de DNA-DNA y análisis de secuencia de rRNA 16S, determinaron cambios sustanciales en la taxonomía de la familia *Neisseriaceae*.⁵

Rossau y col. (1991) por medio de estudios de hibridación DNA-rRNA ribosómica reconocieron dentro de la subclase γ de las *Proteobacteria* a una nueva familia, la *Moraxellaceae*. Esta familia contiene el género *Acinetobacter sp.*, *Psychrobacter sp.* y *Moraxella sp.* Este último género incluye las especies *Moraxella lacunata* (que contiene *M. lacunata* subesp. *lacunata* y *M. lacunata* subesp. *liquefaciens*), *M. bovis*, *M. canis*, *M. caprae*, *M. caviae*, *M. cuniculi*, *M. equi*, *M. nonliquefaciens*, *M. ovis* y a *Moraxella catarrhalis*, y un grupo considerado como *especies incertae sedis*: *M. atlantae*, *M. boevrei*, *M. lincolnii*, *M. osloensis* y *M. phenylpyruvica*. A pesar de sus similitudes fenotípicas y de cultivo con las especies de *Neisseria sp.* saprofitas y de la familiaridad del nombre *Branhamella catarrhalis*, la denominación *Moraxella catarrhalis* ha sido muy bien aceptada en la actualidad para la mayoría de los microbiólogos clínicos prácticos. Debido a esta última clasificación aceptada en la edición del 2005 del Manual Bergey de Bacteriología Sistemática se utilizara en el presente manual el término de *Moraxella catarrhalis* (ver esquema 1).^{5, 10, 38, 39}

Sin embargo, se han realizado más investigaciones y se han dado nuevas propuestas sobre la clasificación taxonómica de *Moraxella catarrhalis*, tal que una segunda propuesta basada en el trabajo de Catlin (1991), crea una nueva familia denominada familia *Branhamaceae*. Esta familia incluiría el género *Branhamella sp.* (no reconocido en la familia *Moraxellaceae* de Rossau y col.) y el género *Moraxella sp.* Sin embargo, estudios de comparación de secuencias 16S de DNAr de *Moraxella sp.* muestran una cercana relación con el género

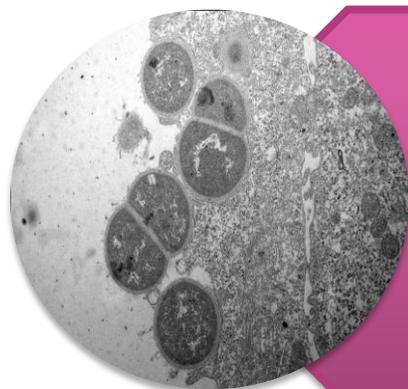
Acinetobacter sp. y con las “falsas neisserias” por lo que no existe argumento para separar a *catarrhalis* en el género *Branhamella sp.*^{5, 39}

Esquema 1. Clasificación taxonómica de *Moraxella catarrhalis*³⁹



La categoría taxonómica de *Moraxella catarrhalis*, las otras especies de *Moraxella sp.* existentes y de reciente descripción, y las “falsas neisserias” todavía son objeto de investigación y debate. Basta decir, que la clasificación de estos cocos y bacilos gramnegativos sufrirá sin lugar a dudas cambios a medida que se vaya conociendo más acerca de sus interrelaciones.^{5,9}

CAPÍTULO 2



CARACTERÍSTICAS GENERALES DE *Moraxella catarrhalis*

Contenido

2.1. Morfología	36
2.2. Antígenos de superficie	36
2.3. Patogenicidad y virulencia de <i>Moraxella catarrhalis</i>	42
2.4. Factores de inmunidad	46
2.5. Moraxellas de importancia médica	50

Taxonómicamente, *Moraxella catarrhalis* es un miembro de la clase *Proteobacteria* en la familia *Moraxellaceae*.⁴⁰

Es un microorganismo capsulado, inmóvil, positivo para oxidasa y catalasa, aerobio estricto y no muy exigente en cuanto a requerimientos nutritivos, una atmosfera húmeda acelera su crecimiento. Su morfología y su reacción positiva a la oxidasa pueden hacer que se confunda con neisserias. Se diferencia de este género por su incapacidad de producir ácido a partir de hidratos de carbono, por su capacidad de hidrolizar el ADN porque posee DNasa, por su capacidad de hidrolizar los grupos butirato con unión éster (butirato esterasa) y por el color grisáceo de sus colonias, además genéticamente por su ADN y ciertos ácidos grasos. Reduce el nitrato y el nitrito. A menudo produce β -lactamasa por lo que no suele ser susceptible a las penicilinas. A diferencia de las demás *Moraxella sp.* no adquiere

morfología de bacilos cuando se le expone a concentraciones inhibitorias de penicilina. ^{6, 7, 8, 10, 11, 13, 14, 15, 16, 40}

2.1 Morfología

Moraxella catarrhalis es un coco gramnegativo indistinguible de *Neisseria sp.* mediante la tinción de Gram, que se caracteriza por que no es totalmente esférico, si no arriñonado o en forma de granos de café, generalmente dispuesto a pares. Su tamaño es de alrededor de 0.6 a 1.0 μm de diámetro (Ver figura 1). Por lo general, es algo más pequeño que *Neisseria meningitidis*. ^{10, 11, 17, 18, 40}



Figura 1. Esputo con tinción Gram de *Moraxella catarrhalis*. Esta imagen muestra cocos gramnegativos, solos y en parejas simulando pares de riñones. ^{19, 20}

2.2 Factores de virulencia asociados con la patogenicidad de *Moraxella catarrhalis*

Durante la mayor parte del último siglo, se consideró que *Moraxella catarrhalis* era un comensal de las vías respiratorias altas. Sin embargo, desde finales de la década de 1970, los investigadores de muchos centros han acumulado datos convincentes de que *Moraxella catarrhalis* es un patógeno respiratorio significativo y habitual en los seres humanos. ⁹

El reconocimiento de *Moraxella catarrhalis* como un patógeno humano destacado ha generado un progreso considerable en la comprensión de su estructura antigénica de superficie. Este trabajo es relevante para comprender los mecanismos patogénicos, aclarar la respuesta inmunitaria humana frente a la bacteria y orientar el desarrollo de vacunas. ⁹

Sus principales antígenos de superficie son proteínas de membrana externa (OMPs, del inglés outer membrane proteins), pili, el lipooligosacárido (LOS) y la cápsula (ver figura 2). ^{16, 44}

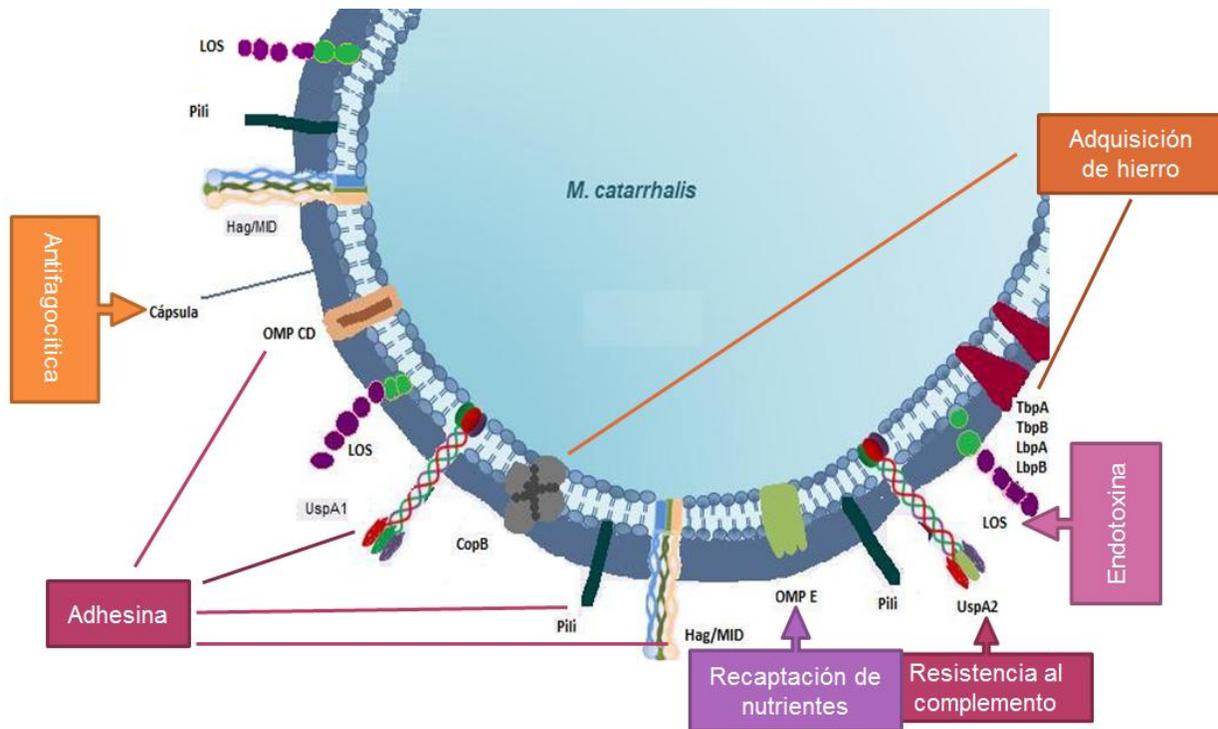


Figura 2. Estructura antigénica y factores de virulencia asociados con la patogenicidad de *Moraxella catarrhalis*. MODIFICADA DE 60

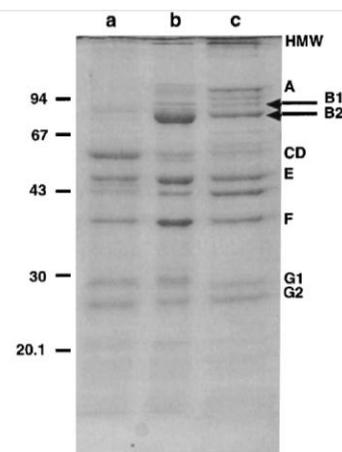
Cápsula. *Moraxella catarrhalis* como *N. gonorrhoeae* tienen una cápsula visible a través del microscopio electrónico, dando la apariencia de una cubierta fibrilar, que se proyecta a través de la membrana externa. La cápsula es un importante mecanismo de virulencia, generalmente para prevenir la fagocitosis. Se ha sugerido la presencia de una cápsula polisacárida, aunque esta no es detectable en las colonias obtenidas en placas de agar.^{40, 46}

Peptidoglucano. Estudios de Keller et al. indican que *Moraxella catarrhalis* tiene múltiples capas de peptidoglucano, el cual es el responsable de activar varias funciones de los macrófagos. Por lo que se relaciona con una especie de actividad suicida lo que explicaría la baja virulencia de esta bacteria. El peptidoglucano a su vez también le confiere la característica de ser Gram variable a *Moraxella catarrhalis*.⁴⁶

Proteínas de membrana externa (OMPs). La identificación de métodos para purificar la membrana externa de *Moraxella catarrhalis* permitió observar que los patrones de las proteínas de la membrana externa, detectados mediante la electroforesis en gel de poliacrilamida-dodecil sulfato sódico (SDS-PAGE) (ver figura 3), demostraban un alto grado de similitud entre las cepas de diversos orígenes geográficos y clínicos. Se han identificado y caracterizado varias OMPs principales, en un principio por Murphy y sus colaboradores, quienes las nombraron de la A a la H (Ver cuadro 1).⁹

Figura 3. SDS-PAGE de un gel teñido con azul de Coomassie.

Todas las columnas contienen preparaciones de membrana externa obtenidas de *Moraxella catarrhalis* 25240. Columnas: **a**, extractos de bacterias cultivadas en agar chocolate; **b**, extractos de bacterias cultivadas en un medio deficiente de hierro (muestras proporcionadas por A. Campagnari); **c**, bacterias que crecieron en caldo infusión cerebro-corazón. Las OMPs se etiquetan a la derecha. Los marcadores de masa molecular se indican en kilodaltons a la izquierda.⁴⁵

**Cuadro 1. Proteínas de la membrana externa de *Moraxella catarrhalis*.** MODIFICADO DE 9

OMP	Masa molecular (kD) [*]	Función propuesta	Otros aspectos
UspA1⁺	88 (350-700)	Adhesina	Oligómero con UspA2
UspA2⁺	67 (350-700)	Une la vitronectina	Oligómero con UspA1, puede estar involucrado en la resistencia al complemento
Hag/MID	200	Adhesina y hemoaglutinina	Presente en cepas más virulentas
CopB (OMP B2)	80	Captación de hierro	Regulado por el hierro
TbpA y TbpB (OMP B1)	105 y 74	Receptor de la transferrina	Regulado por el hierro
LpbA y LpbB	111 y 99	Receptor de la lactoferrina	Regulado por el hierro
OMP CD	45 (60)	Porina	Sumamente conservado, modificable por el calor
OMP E	47-50	Desconocida	Sumamente conservado, modificable por el calor

^{*}Masa molecular predicha por la secuencia de genes; los valores entre paréntesis indican la masa molecular evidente por SDS-PAGE.

⁺UspA1 y UspA2 se separan en SDS-PAGE como un hétero-oligómero. También denominado HMW- OMP
Abreviaturas: OMP, proteína de la membrana externa; SDS-PAGE, electroforesis en gel con sodio dodecilsulfato-poliacrilamida.

- La proteína de superficie ubicua A (UspA), llamada también HMW-OMP (high-molecular weight OMP), identificada por Helminen y cols., recientemente se ha visto que son dos proteínas diferentes UspA1 y UspA2 al tener dominios C-terminales diferentes, se encuentran en todas las cepas, aunque sus pesos moleculares pueden variar de una cepa a otra. Se han propuesto diferentes funciones a estas dos proteínas. Así, UspA1 estaría asociada con la capacidad adherente de la bacteria al unirse a la fibronectina de las células epiteliales del hospedador, mientras que a UspA2 se le ha relacionado con la resistencia de *Moraxella catarrhalis* a la actividad bactericida del suero humano, al unirse a la vitronectina, un regulador del sistema de complemento (Ver figura 4). La proteína Hag/MID (human erythrocyte agglutinin/*Moraxella* immunoglobulin D-binding protein), es una OMP que también se ha identificado que actúa como adhesina.^{5, 9, 46}

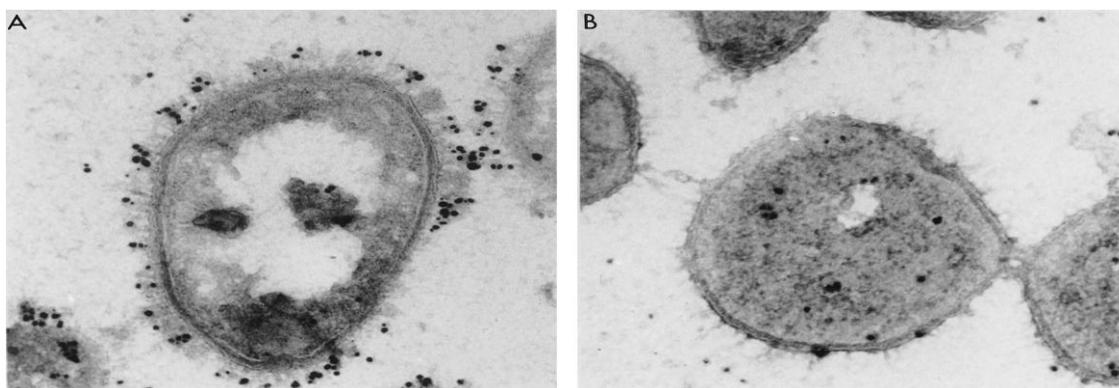


Figura 4. Imagen de microscopio electrónico de la unión de vitronectina humana a cepas de *Moraxella catarrhalis* resistentes (a la izquierda) y cepas sensibles (derecha) al complemento. Marcado con inmunoelectrónica utilizando anticuerpos específicos para vitronectina humana reveló que esta proteína se une eficazmente a las células resistentes mientras que la cepa sensible no enlaza una cantidad significativa de la proteína. Tenga en cuenta que la vitronectina parece adherirse alrededor de la célula, lo que puede correlacionarse con la orientación de la UspA2, la cual se une a la vitronectina.⁴⁶

- La OMP CD, inicialmente llamadas OMPs C y D son dos formas estables de la misma proteína, la proteína CD, una proteína porina muy conservada que se une a la mucina humana. Esta unión es específica en la mucina del oído medio y nasofaringe, pero no en la salival. Aunque la secreción de mucina generalmente se ha considerado como un mecanismo de defensa del hospedador, la unión de *Moraxella catarrhalis* a la mucina le sirve de adherencia y como modo de promover la invasión de la bacteria. La alta capacidad inmunogénica de la proteína CD y su secuencia altamente conservada entre distintas cepas, hace de ella un prometedor candidato para la investigación de vacunas.^{9, 46}

- Se cree que las hemoaglutininas producidas por *Moraxella catarrhalis* contribuyen a la adherencia. La hemoaglutinina mejor definida es una proteína que se une al glucolípido globotriaosilceramida. Esta hemoaglutinina es serológicamente variable y se conoce poco acerca de su antigenicidad o su potencial para producir anticuerpos bactericidas u opsonizantes. Las hemoaglutininas no se encuentran en todas las cepas. Los aislamientos que expresan hemoaglutinina a menudo son de pacientes infectados más que de pacientes colonizados, y existe una relación entre la expresión de la hemoaglutinina y la resistencia a la actividad bactericida del suero humano normal.⁵
- La proteína B de la membrana externa catarrhalis (CopB), llamada inicialmente OMP B2, que parece estar implicada en la adquisición de hierro para el crecimiento y metabolismo. Esta proteína es homóloga con la proteína FrpB encontrada en las neisserias. Estudios con anticuerpos monoclonales contra diferentes epítomos CopB de distintas cepas de *Moraxella catarrhalis* indican que existen al menos dos serotipos CopB. Las cepas mutantes que carecen de esta proteína no sobreviven y no inician infecciones del tracto respiratorio en ratones, lo que sugiere un papel de la proteína CopB también en el establecimiento de un foco pulmonar de infección. Esta misma proteína también puede hacer que algunas cepas del microorganismo sean resistentes a los efectos bactericidas del suero humano normal.^{5,9}
- La OMP E, aunque su función es desconocida, se piensa que está implicada en la recaptación de nutrientes para la bacteria, como el transporte de ácidos grasos. Usando un anticuerpo monoclonal anti-E específico llamado 1 B3, se han identificado al menos dos serotipos de proteína E. Las proteínas E de cepas de *Moraxella catarrhalis* que fallan al reaccionar con 1 B3 todavía tienen el 97% de homología en la secuencia con las cepas 1 B3 reactivas, lo que indica que los serotipos de la proteína E están altamente conservados. La infección con *Moraxella catarrhalis* conduce a la formación de anticuerpos anti-E, pero su actividad biológica y su funcionalidad no han sido investigadas. A pesar de ser una proteína altamente conservada, su inmunogenicidad es baja, y por el momento no se considera un buen candidato para la vacuna.⁹
- Proteínas de unión a transferrina A y B (TbpA y TbpB) y proteínas de unión a lactoferrina A y B (LbpA y LbpB). Los patógenos humanos requieren hierro para su crecimiento, por lo que un mecanismo de defensa del hospedador consiste en secuestrar este ión que se transporta unido a proteínas, como la transferrina (en sangre) y la lactoferrina (en mucosas) cuando se desarrollan en condiciones limitantes de hierro. Como sucede con las *Neisseria sp.* patógenas, *Moraxella catarrhalis* también expresa receptores de

transferrina y lactoferrina en su superficie, llamados proteínas de unión a transferrina A y B (TbpA y TbpB) y proteínas de unión a lactoferrina A y B (LbpA y LbpB), respectivamente. Estos receptores proteicos proporcionan a la bacteria la capacidad de adquirir hierro, rompiendo la unión entre el ión y la proteína transportadora humana. Sólo TbpB y LbpB son inmunogénicas, lo que las convierte en potenciales antígenos vacunales.^{3, 5, 46}

La resistencia a la acción del complemento es un factor de virulencia importante en la que se ha implicado a diferentes proteínas, entre ellas a UspA, CopB y OMP E, lo que sugiere que la resistencia al complemento en *Moraxella catarrhalis* es, probablemente, un proceso multifactorial.⁴⁶

El estudio de la OMPs de *Moraxella catarrhalis* es un área de investigación activa. Se están estudiando varias de estas OMP como posibles antígenos vacunales en un intento de desarrollar una vacuna que prevenga las infecciones causadas por *Moraxella catarrhalis*.⁹

Lipooligosacáridos (LOS). La membrana externa de *Moraxella catarrhalis* contiene una endotoxina, el lipooligosacárido (LOS). Como otras bacterias gramnegativas no entéricas, *Moraxella catarrhalis* tiene LOS que consta de oligosacáridos unidos a un núcleo de lípido A sin un polisacárido específico O, el cual se observa comúnmente en las bacterias entéricas gramnegativas. En el LOS se pueden distinguir tres tipos antigénicos principales, descritos por Vaneechoutte y cols., que suponen el 95.4% de todas las cepas. El serotipo A es el predominante, y se encuentra en el 61.3% de las cepas, mientras que los serotipo B y C se encuentran en el 28.8% y 5.3%, respectivamente. El 4.7% restante permanece sin identificar. El núcleo contiene cadenas de polisacáridos con una terminal común la α -D-Gal-(1-4)- β -D-Gal-(1-4)- α -Glc. Los distintos serotipos se basan en diferencias en los glúcidos terminales de la molécula del LOS, el α -D-GlcNAc para el serotipo A, α -D-Gal-(1-4)- β -D-Gal-(1-4)- α -D-Glc para el serotipo B y α -D-Gal-(1-4)- β -D-Gal-(1-4)- α -D-GlcNAc para el serotipo C. Los serotipos A y C comparten un residuo común N-acetil-D-glucosamina (GlcNAc) en sus cadenas de LOS por lo que induce una reacción cruzada (Ver figura 5). Como sucede en otros patógenos gramnegativos, es posible que el LOS sea un factor de virulencia de *Moraxella catarrhalis*.^{9, 41, 44}

Pili. También llamados fimbrias, son apéndices filamentosos que se extienden desde la membrana externa, probablemente participan en la adhesión y se ha identificado un receptor específico de fimbrias glucoesfingolípido en células epiteliales respiratorias; sin embargo, no en todas las cepas de *Moraxella catarrhalis* es posible observarlos. Las microfotografías electrónicas de cepas piliadas muestran fibrillas superficiales de 20 a 146 nm de longitud. Esta adherencia es el primer escalón en la patogenia de la infección y prevención de esta bacteria. Se ha observado que las bacterias que poseen fimbrias se unen

de forma más efectiva a las células epiteliales que las bacterias que carecen de ellas. Estudios de hibridación realizados por Marrs y Weir muestran que los pili de *Moraxella catarrhalis* son del tipo 4. El gen que codifica los pili de *Moraxella catarrhalis* está relacionado con el gen de los pili de *M. bovis*, lo que refuerza aún más la cercana relación genética (y por lo tanto taxonómica) de *Moraxella catarrhalis* con otras moraxellas. Los pili de clase 4 también se encuentran en *Neisseria sp*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Vibrio cholerae* patógenos.^{5, 8, 9, 16, 40, 42, 44, 45}

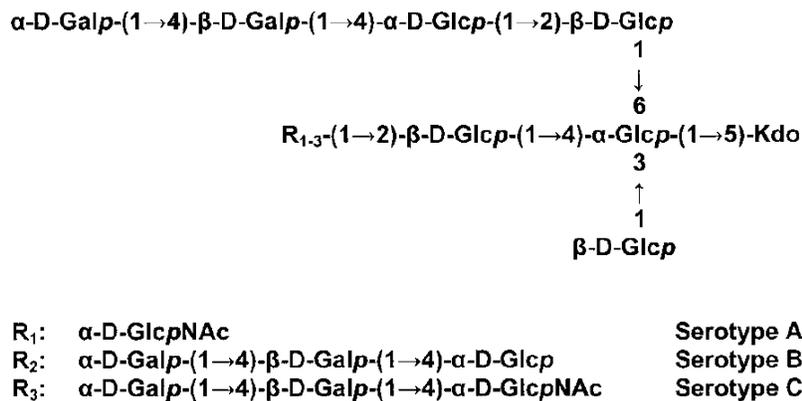


Figura 5. Esquema que muestra la estructura de los LOS que cubren la superficie de *Moraxella catarrhalis*. Tres serotipos, A, B y C pueden ser distinguidos, los cuales se diferencian en la naturaleza del grupo R. Abreviaturas: D-Galp, D-Galactosa fosfato; Kdo, 2-ceto-3-deoxioctanato; GlcpNAc, N-acetil Glucosamina.⁴⁶

2.3 Respuesta inmune

Los autores han utilizado diversos inmunoensayos para comprender la respuesta inmune a *Moraxella catarrhalis*. Para que un inmunoensayo proporcione resultados significativos con respecto a la respuesta inmune, debe detectar los anticuerpos dirigidos a epítopos expuestos en la superficie de la célula bacteriana intacta, porque éstas son las regiones de la molécula que son accesibles al anticuerpo. Existen partes conservadas de OMP que están enterradas en la membrana externa y son inaccesibles a los anticuerpos en la bacteria intacta.⁴⁵

Durante los intentos destinados a identificar antígenos potenciales para ser utilizados en la fabricación de vacunas se han detectado algunos antígenos proteicos de membrana externa asociados con la superficie y altamente conservados.⁵

Las cepas de *Moraxella catarrhalis* muestran un grado sorprendente de homogeneidad en las proteínas de la membrana externa. En el suero de los niños mayores de 4 años de edad

suelen existir anticuerpos frente a algunas de estas proteínas; no obstante, los microorganismos colonizadores que causan enfermedad pueden sobrevivir en el suero a pesar de los anticuerpos y el complemento presentes de forma natural. Los anticuerpos bactericidas se originan de manera secundaria a la infección natural y se dirigen contra una o más de las proteínas conservadas de la membrana externa, una propiedad de posible valor en la elaboración de una vacuna. El desarrollo de vacunas contra *Moraxella catarrhalis* se ha centrado principalmente en los antígenos de superficie incluyendo las proteínas de membrana externa (OMPs) y lipooligosacáridos (LOS).^{5, 9, 11}

No se ha diseñado todavía un modelo animal fiable para *Moraxella catarrhalis* que tenga un paralelismo con la infección en el ser humano. El modelo de otitis media en la chinchilla, que se emplea de forma generalizada para el estudio de otitis media causada por otras bacterias, no es útil, porque las chinchillas eliminan a *Moraxella catarrhalis* con facilidad del oído medio, aproximadamente en 5 días. La especificidad de *Moraxella catarrhalis* por el ser humano puede impedir el desarrollo de un modelo útil para estudiar la patogenia. El modelo más empleado es uno de eliminación pulmonar en el ratón, que determina la tasa de eliminación de *Moraxella catarrhalis* de los pulmones después de una inoculación intratraqueal. Aunque si bien, el ratón no desarrolla neumonía y la recuperación de la bacteria desde los pulmones es posible de 6 a 24 horas. Este modelo no es comparable a la infección humana, pero se ha empleado como guía para identificar y estudiar posibles antígenos vacunales. Si bien, modelos de infección en ratas han sido prometedores porque éstas presentan infecciones más duraderas. El cuadro 2 resume las características de tres modelos en animales para el estudio de la infección por *Moraxella catarrhalis*.^{8, 9, 41, 45}

Las proteínas UspA purificadas son inmunogénicas y con una potencial capacidad protectora, lo que las convierte en candidatas para vacunas. El suero de humanos adultos sanos contiene títulos altos de anticuerpos anti-UspA bactericidas, mientras que el de los niños de 6 a 36 meses de edad tiene títulos bajos. De manera práctica se ha descubierto que la inmunización pasiva de ratones con un anticuerpo monoclonal reactivo contra la UspA y su exposición posterior a bacterias endobronquiales produce una eliminación pulmonar aumentada de la cepa de bacterias usadas en dicho ensayo. Los anticuerpos son bactericidas para cepas de *Moraxella catarrhalis* homólogas y heterólogas. Además, el suero de la fase de convalecencia proveniente de pacientes con neumonía por *Moraxella catarrhalis* confirmada por cultivo contiene anticuerpos anti-UspA por análisis con Western blot. Los anticuerpos contra el antígeno CopB y contra el LOS también incrementan la depuración pulmonar de las cepas de *Moraxella catarrhalis* utilizadas para el ensayo en el modelo de ratón.^{5, 41, 46}

Cuadro 2. Modelos animales de infección por *Moraxella catarrhalis*⁴⁵

Modelo de infección	Animal	Inóculo (CFU)	Aspectos cuantificados	Observaciones
Eliminación pulmonar	Ratón	Dentro del pulmón, 1x10 ⁵ a 5x10 ⁵	Tasa de eliminación de bacterias de los pulmones	<i>M. catarrhalis</i> es eliminada de los pulmones por 24 h
Otitis media	Chinchilla	Intrabulbar, 3x10 ⁸	Signos de otitis media y eliminación de la bacteria del oído medio	<i>M. catarrhalis</i> es eliminada del oído medio por 5 días
Infección sistémica	Ratón SCID	Intranasal, intraperitoneal o intravenosa, 10 ² a 10 ⁷	Resultados clínicos y postmortem	<i>M. catarrhalis</i> no es recuperada de la sangre

La inmunización de ratones con proteínas CD recombinantes o purificadas engendra una respuesta fuerte de anticuerpo que deriva en la depuración de microorganismos *Moraxella catarrhalis* homólogos y heterólogos del aparato respiratorio en estudio. Los mecanismos inmunitarios involucrados en la depuración de microorganismos del aparato respiratorio no se conocen bien porque los anticuerpos anti-CD carecen de actividad bactericida dependiente de complemento y no son opsoninas. La depuración de los microorganismos puede ser el resultado de la inhibición de la unión a la mucina por la proteína CD asociada con la superficie.⁵

Trabajos antes realizados, estudiaron la respuesta inmune hacia *Moraxella catarrhalis* después de una infección con cepas de laboratorio en ratón y ensayos de inmunoblot revelaron la presencia de anticuerpos a múltiples proteínas, incluyendo UspA1, UspA2, TbpB, CopB y OMP CD. Mientras que análisis realizados con muestras de esputo en pacientes con EPOC tras una infección por *Moraxella catarrhalis*, mostraron IgG contra casi las mismas proteínas que en el estudio del ratón. Además, una pequeña proporción mostro anticuerpos contra CopB, OMP E y LOS. Por otro lado, se observó que la IgA de muestras de saliva de adultos sanos y las IgG del suero de pacientes con EPOC se dirigían a los mismos antígenos lo que sugiere la conservación de la respuesta inmune.^{8, 9, 41, 43, 46}

A continuación de la infección humana, se pueden detectar los anticuerpos contra LbpB, pero no LbpA, lo que sugiere que la LbpA no está expuesta sobre la superficie del microorganismo. TbpA recombinante o purificada produce anticuerpos bactericidas en animales, pero sólo contra cepas homólogas, mientras que no se producen a continuación de la infección natural en seres humanos. En los ratones y en los seres humanos, los

anticuerpos contra TbpB reaccionan con cepas homólogas y heterólogas, pero carecen de actividad bactericida dependiente del complemento.⁵

Chapman et al. demostró, tras un estudio en pacientes adultos con infecciones en vías respiratorias bajas por *Moraxella catarrhalis*, que el título de anticuerpos IgG aumenta en la fase de convalecencia. Además, en un estudio reciente se demostró que los anticuerpos contra *Moraxella catarrhalis* son muy bajos o inexistentes en los niños menores de 1 año, y el desarrollo de anticuerpos en los niños, especialmente de la subclase IgG3, se correlaciona con una disminución de la colonización y de la predisposición a una infección. Los anticuerpos dirigidos a OMPs de *Moraxella catarrhalis*, principalmente de la IgG3 subclase, aparecen alrededor de la edad de 4 años. Parece que todos los adultos tienen anticuerpos para *Moraxella catarrhalis*.⁴⁶

En un estudio de Chen et al. se descubrió que las cantidades de anticuerpos específicos variaron fuertemente con la edad. Títulos de anticuerpos IgG a UspA fueron bajas durante los primeros 2 años de vida y llegaron a un máximo sólo durante la edad adulta, mientras que no se pudo detectar IgA específica a UspA en las secreciones nasofaríngeas de los niños pequeños. En vista de las diferencias dependientes de la edad en la prevalencia de anticuerpos, la pregunta sobre si se debe vacunar contra *Moraxella catarrhalis* se mantiene pertinente. La inmunidad eficaz parece ser adquirida durante los primeros 10 años de vida.⁴⁶

Sólo unos pocos investigadores han estudiado el desarrollo de anticuerpos en el fluido del oído medio de los niños con otitis media. IgG e IgA parecían ser producidas en la mayoría de los pacientes.⁴⁶

La adherencia de *Moraxella catarrhalis* parece ser estimulada por defensinas de neutrófilos, péptidos con actividad antimicrobiana de amplio espectro, liberados a partir de neutrófilos activados durante la inflamación, lo que sugiere que la adhesión mediada por defensina contribuye a la persistencia de la infección, por ejemplo en pacientes con EPOC.⁴⁶

Gu y cols. prepararon una vacuna de LOS conjugado por unión de un LOS de serotipo A al toxoide del tétanos o a las OMP de elevado peso molecular de *H. influenzae no tipificable* y la probaron en ratones. En forma sorprendente, desarrollaron en los ratones anticuerpos que tenían actividad bacteriana dependiente del complemento. En teoría, las vacunas conjugadas de LOS preparadas con los tres serotipos LOS deberían provocar respuestas de anticuerpos que podrían tener eficacia en la prevención de infecciones con al menos el 90% de las cepas. Los posibles problemas con las vacunas que contienen componentes de LOS

son la necesidad de la destoxificación previa del LOS y el desarrollo de un método conjugativo que no altere la antigenicidad del LOS necesaria.⁵

Aunque varias moléculas candidatas de vacunas han sido estudiadas con respecto a la prevalencia y la conservación genética entre los diferentes aislamientos, relativamente poco se sabe acerca de las rutas óptimas para la administración de vacunas o si hay una necesidad de adyuvantes.^{5, 11}

2.4 Epidemiología y colonización de *Moraxella catarrhalis*

Moraxella catarrhalis forma parte exclusivamente de la microbiota normal de las vías respiratorias superiores de los seres humanos y ocasionalmente del tracto genital femenino. Se le considera un patógeno oportunista, ya que es capaz de colonizarlos sin causar enfermedad pero también puede causar daños especialmente en pacientes que tienen sistemas inmunodeprimidos con afecciones subyacentes (leucemia, linfoma, VIH).^{5, 10, 11, 12, 19, 45}

La prevalencia de la colonización depende en gran medida de la edad. Con cultivos repetidos y la utilización de medios selectivos, *Moraxella catarrhalis* se puede aislar de las vías respiratorias superiores en 3 a 7% de los adultos sanos y es más común en niños sanos (50.8%) y en ancianos (26.5%), estos porcentajes de colonización son indicativos de las bajas tasas de infección observadas en adultos respecto a los niños y ancianos.^{5, 8, 9}

La colonización nasofaríngea por *Moraxella catarrhalis* es frecuente a lo largo de la infancia. En un estudio realizado en Dinamarca, el 36% de los niños de 1 a 48 meses de edad tenían *Moraxella catarrhalis* como parte de la biota del aparato respiratorio y, en este mismo grupo etario, la prevalencia del microorganismo en niños con infecciones respiratorias era del 68%. Otro estudio sobre colonización nasofaríngea con *Moraxella catarrhalis* durante los primeros dos años de vida mostró que el 66% de 120 niños cultivados en forma seriada se colonizaron durante el primer año de vida y que el 77.5 % fueron colonizados cerca del segundo año de vida. En este estudio también se encontró que, en niños individuales, se adquirirían de tres a cuatro cepas diferentes de *Moraxella catarrhalis* y después se depuraban durante los primeros dos años de vida. Las mayores tasas de colonización se observaron en los niños en edad preescolar con asma (70%) en comparación con los niños sanos (33%).⁵

En México, el estudio más reciente fue realizado por el Instituto Mexicano del Seguro Social en 1998 para determinar la prevalencia de colonización nasofaríngea por *Moraxella catarrhalis* en niños menores de seis años. De los 604 niños de 2 meses a cinco años de edad que se incluyeron de las 16 delegaciones políticas del Distrito Federal; se encontró

Moraxella catarrhalis en 130 (22.9%). La mayoría de las cepas fueron productoras de β -lactamasa (75.4%). La resistencia a penicilina fue de 80% y a ampicilina y amoxicilina de 70%. No se encontró resistencia a cefotaxima, imipenem, meropenem y eritromicina (Ver cuadro 3).²

La prevalencia de colonización que se encontró en los niños del Distrito Federal fue inferior a los porcentajes notificados en niños de otros países de Europa, Asia y en Estados Unidos de América, pero se observa un predominio en los menores de tres años.²

En México no existen estudios sobre la frecuencia de colonización por *Moraxella catarrhalis* en población abierta como causante de infecciones respiratorias agudas o en infecciones de pacientes con inmunocompromiso.²

Cuadro 3. Porcentaje de colonización por *Moraxella catarrhalis* por grupo de edad. México, D.F., 1998.²

Grupo de edad (meses)	% de niños colonizados
1-12	27.7
13-24	22.1
25-36	28.5
37-48	21.1
49-60	14.6

A tenor de los resultados de los cultivos de esputo, los adultos con enfermedad pulmonar crónica analizados en Buffalo, Nueva York, tienen una tasa de 10% de colonización, superior comparado con los adultos sanos; mientras que en un estudio realizado por Klingman y cols. hallaron que cada paciente fue colonizado con una a cuatro cepas diferentes, cada una de las cuales persistió alrededor de 2 meses.^{5,8,9}

Después de *Streptococcus pneumoniae* y *Haemophilus influenzae* no tipificable, *Moraxella catarrhalis* es la tercera causa más frecuente de otitis media aguda en niños. En 1994, Ruuskanen y Heikkinen revisaron 12 estudios de diferentes autores, publicados entre 1973 y 1993, donde se demuestra que *S. pneumoniae* ha sido el agente causal de otitis media aguda cultivado con mayor frecuencia (del 18% al 35%), seguido de *H. influenzae* (del 65 al 32%) y, con menor frecuencia, *Moraxella catarrhalis* (del 0% al 16%). En 1997, Blumer señaló cifras de aislamiento de *S. pneumoniae* de 38%, *H. influenzae* 29%, *Moraxella catarrhalis* 17% (90% positivos a β -lactamasa); *Streptococcus* de los grupos A y B, 4.8%; *Staphylococcus aureus*, 1.8%; *Pseudomonas aeruginosa* y *Staphylococcus coagulasa-*

negativos, 1.0 %; sin crecimiento, 8.4%. En 1999 y 2004, de 952 niños costarricenses con otitis media aguda, los patógenos más aislados fueron: *S. pneumoniae*, 252 (49%); *H. influenzae*, 190 (37%); *Streptococcus pyogenes*, 38 (7%) y *Moraxella catarrhalis*, 36 (7%). También, *Moraxella catarrhalis* ha sido aislada junto a *Streptococcus pneumoniae* y *Haemophilus influenzae* en 6% de los pacientes. ^{1, 2, 5, 8, 9, 10, 18, 19, 21, 26}

La colonización precoz es un factor de riesgo de otitis media concurrente. Los niños propensos a padecer otitis presentan una tasa de colonización por *Moraxella catarrhalis* superior a la de los niños sanos. ^{5, 9}

Es una causa importante en la sinusitis maxilar aguda en el mismo grupo etario que la sinusitis, tal que, *Moraxella catarrhalis* puede ser aislado en los aspirados de senos maxilares recolectados con cuidado en niños con sinusitis aguda en cultivos puros o mixtos en el 2-16% de los pacientes. ⁵

Se ha identificado también como una causa importante en la infección broncopulmonar, causando la infección a través de la aspiración del tracto pulmonar superior. Los estudios resultantes en centros de Estados Unidos y Europa indican que *Moraxella catarrhalis* causa el 10% de las neumonías extrahospitalarias en los ancianos. La mayoría de estos pacientes que sufren neumonía causada por *Moraxella catarrhalis* tiene enfermedades de base, como EPOC, insuficiencia cardiaca congestiva y diabetes. En función de los datos obtenidos de estudios realizados, *Moraxella catarrhalis* es la segunda causa bacteriana más frecuente de exacerbaciones de la EPOC en personas mayores de 60 años después de *Haemophilus influenzae* no tipificable. En un estudio se estimó que el 30% de las exacerbaciones se desvía a *Moraxella catarrhalis*. ^{1, 9, 10, 18, 19, 21}

Moraxella catarrhalis también ha sido aislado en pacientes con bacteriemia, meningitis, conjuntivitis, irritación aguda de la bronquitis crónica purulenta, uretritis, septicemia (aunque esto es raro), artritis séptica (que también es un suceso raro), así como laringitis aguda en adultos. ^{1, 9, 10, 18, 19, 21}

Algunos informes presentan niños con neumonía asociada, especialmente con procesos invasivos: intubaciones, cirugías, ventilaciones mecánicas o traumas. Otros han informado neumonía por esta bacteria en niños prematuros durante los meses de invierno. ⁴⁰

Los investigadores de los hemisferios norte y sur han observado una sorprendente variación estacional en el aislamiento de este microorganismo a partir de muestras clínicas, con un máximo de incidencia a final del invierno y al inicio de la primavera, y una incidencia más baja al final del verano y el comienzo del otoño. Otros estudios publicados han demostrado

una tasa de colonización más elevada durante los meses invernales, lo que puede deberse a la aparición de enfermedades respiratorias víricas durante los meses más fríos.^{8,9}

En un estudio se demostró una tasa más elevada de colonización por *Moraxella catarrhalis* en niños que asistían a guarderías, en comparación con aquellos que no lo hacían. Varios factores, como las condiciones de vida, la higiene, los factores ambientales (p. ej. presencia de fumadores en el hogar), las características genéticas de las poblaciones y los factores del huésped, pueden influir.⁹

Se han observado algunos casos de diseminación de infección nosocomial. La transmisión se cree que es debido al contacto directo con secreciones contaminadas por gotitas (aerosoles respiratorios). El estado de portador fluctúa desde un 30-100 %, en niños hasta 1-5 % en adultos sanos. No se conocen la duración del estado de portador en los niños infectados y colonizados ni el periodo de transmisibilidad. Se desconoce el periodo de incubación. Se ha observado que la bacteria es capaz de sobrevivir en el esputo expectorado al menos 3 semanas.^{8, 18, 19, 21, 46}

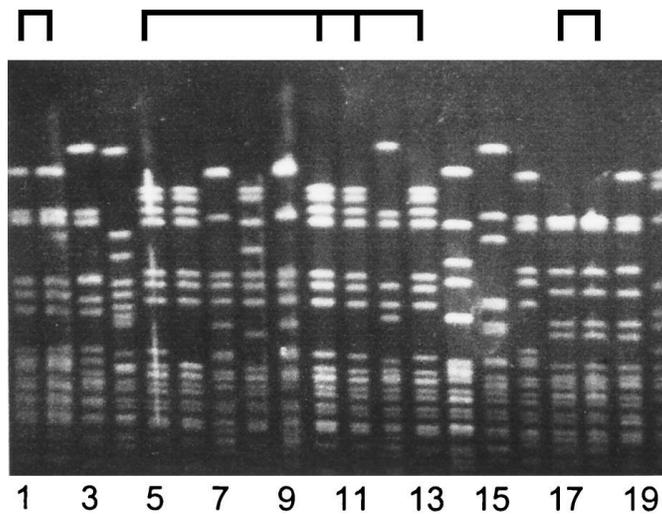


Figura 6. Electroforesis en gel de campo pulsado de ADN digerido de *Moraxella catarrhalis*. Se analizaron veinte aislamientos nosocomiales, que dio como resultado en la identificación de varios grupos de cepas. Como se indica en la parte superior, los aislamientos 1 y 2 y los aislados 17 y 18 son idénticos, que se ajusta bien con el hecho de que las cepas se aislaron de los mismos pacientes en ocasiones separadas. Cepas 5, 10, 11, y 13 fueron aisladas de diferentes pacientes hospitalizados durante intervalos de tiempo superpuestos en el mismo departamento de pediatría. Se concluyó que la transmisión de paciente a paciente se produjo en este estudio.⁴⁶

Se ha empleado varios métodos de tipificación de las cepas para estudiar la epidemiología y la dinámica de colonización por *Moraxella catarrhalis*. Los análisis de las cepas recuperadas de forma prospectiva, tanto en lactantes y adultos, han demostrado que la colonización de

las vías respiratorias humanas por *Moraxella catarrhalis* es un proceso dinámico, con eliminación y adquisición frecuentes de nuevas cepas (Ver figura 6). La comprensión de la respuesta inmunitaria que media en la eliminación de la cepa de las vías respiratorias tendrá un papel destacado en la identificación de las respuestas inmunitarias con potencial protector frente a *Moraxella catarrhalis*.^{9, 45, 46}

2.5 Moraxellas de importancia médica

Las bacterias del género *Moraxella sp.* son comensales habituales de las vías respiratorias altas del ser humano, ocasionalmente, pueden encontrarse en la piel y el tracto genitourinario del hombre, pero en general no parecen ser patógenas. Son diplococos o bacilos cortos y rechonchos gramnegativos. Las concentraciones de penicilina inhibitorias como sucede en presencia de discos de penicilina de 10 unidades, determinan que las formas cocoides de estas bacterias se elonguen y adopten la morfología de bacilos a diferencia de lo que sucede con *Moraxella catarrhalis*.^{9, 11, 17}

La taxonomía de las especies de *Moraxella sp.* es un área de investigación dinámica y, por tanto, las clasificaciones de las especies sufren modificaciones continuas a medida que aumentan los conocimientos en esta área. El análisis de las secuencias ribosómicas es de especial utilidad para aclarar las relaciones filogenéticas. En general, las especies se diferencian por criterios bioquímicos.^{9, 17}

Del género *Moraxella sp.*, *Moraxella catarrhalis* constituye el patógeno de mayor importancia clínica en humanos, seguida de *M. lacunata* y *M. nonliquefaciens* causantes comunes de infecciones óticas. Cultivos de *M. phenylpyruvica* y de *M. atlantae* se obtuvieron en localizaciones normalmente estériles.^{8, 11}

Una de sus especies, *Moraxella lacunata*, fue descrita por primera vez en 1896 por Morax y Axenfeld como el agente etiológico de una forma poco común de conjuntivitis en el hombre, la conjuntivitis subaguda o blefaroconjuntivitis angular. Los pequeños bacilos, de solo 1 μm por 2-3 μm , aparecen frecuentemente unidos por sus extremos en parejas. *Moraxella lacunata* no crece en los medios nutritivos ordinarios, si no que necesita medios más complejos. El tratamiento con soluciones de sulfato de zinc proporciona una rápida curación, ya que actúa como un agente astringente, en concentraciones de 0.25% limpia de moco la superficie ocular.^{11, 15, 17}

En una publicación relativa a todos los aislados de *Moraxella sp.* remitidos a los Centers for Disease Control and Prevention (CDC) entre 1953 y 1980 se hicieron evidentes diversas asociaciones clínicas (Ver cuadro 4).⁸

M. bovis hemolítica, por otro lado, cobra importancia en el área ganadera, ya que es el principal agente etiológico responsable de queratoconjuntivitis infecciosa bovina (QIB), una severa enfermedad ocular que afecta a los bovinos. Esta enfermedad está ampliamente distribuida en diversas regiones de distintos continentes y constituye un serio problema sanitario que afecta al sector ganadero, tanto de carne como de leche.^{17, 22, 23}

Cuadro 4. Especies de moraxellas distintas de *Moraxella catarrhalis*. MODIFICADO DE 8

Especies de <i>Moraxella</i> sp.	Numero de aislados	Sitio o asociación clínica frecuente	Número (%) en cada localización
<i>M. osloensis</i> ^α	199	Sangre	44 (22)
		LCR	18 (9)
		Orina	17 (9)
		Vías respiratorias	24 (12)
<i>M. nonliquefaciens</i>	356	Sangre	27 (8)
		LCR	6 (2)
		Vías respiratorias	196 (55)
<i>M. canis</i>	74	Herida por mordedura de perro	53 (72)
<i>M-6</i> [‡]	47	Sangre, hueso	15 (32)
<i>M. lacunata</i>	33	Conjuntivitis, queratitis	23 (70)
<i>M. urethralis</i>	28	Orina	16 (57)
		Aparato genital	3 (11)
<i>M. phenylpyruvica</i>	73	Sangre	9 (26)
		LCR	8 (11)
		Orina	12 (16)
<i>M. atlantae</i>	44	Sangre	20 (45)
		LCR	5 (11)

^αAlgunos de los aislados serían considerados una nueva especie en la actualidad *Moraxella lincolnii*.

[‡]Actualmente denominada *Neisseria elongata* subesp. *nitroreducens*.

Nota: LCR, líquido cefalorraquídeo.

Un estudio encontró especies de *Moraxella* sp., incluida *Moraxella catarrhalis*, en 35% de las heridas infectadas después de mordeduras de gato y en el 10% de las infecciones tras mordeduras de perro. Las características clínicas de las infecciones producidas por especies de *Moraxella* sp. distintas de *Moraxella catarrhalis*, así como la naturaleza de los hospedadores en las que se producen, no han sido establecidas por completo.⁸

CAPÍTULO 3



ENFERMEDADES CAUSADAS POR

Moraxella catarrhalis

Contenido

3.1. Otitis media aguda.....	53
3.1.1. El oído y su funcionamiento	53
3.1.2. Definición y cuadro clínico.....	55
3.1.3. Etiología	56
3.1.4. Patogenia	56
3.1.5. Diagnóstico	60
3.1.6. Tratamiento	60
3.2. Sinusitis maxilar aguda	61
3.2.1. Cavidades sinusales	61
3.2.2. Definición y cuadro clínico.....	62
3.2.3. Etiología	63
3.2.4. Patogenia	63
3.2.5. Diagnóstico	64
3.2.6. Tratamiento	64
3.3. Infección broncopulmonar	64
3.3.1. Los pulmones.....	64
3.3.2. Definición y cuadro clínico.....	66
3.3.3. Etiología	67
3.3.4. Patogenia	69
3.3.5. Diagnóstico	71
3.3.6. Tratamiento	71
3.4. Otros síndromes	72

Moraxella catarrhalis había sido considerada durante mucho tiempo como un habitante inocuo del tracto respiratorio superior, su carácter patogénico es cada vez más evidente, por lo que en la actualidad es considerado un patógeno oportunista que produce un amplio rango de infecciones de las mucosas en niños y adultos, que van desde infecciones agudas localizadas, tales como sinusitis, laringitis, traqueítis, otitis media y bronconeumonía, hasta infecciones sistémicas graves incluyendo sepsis, endocarditis y meningitis.^{9, 16, 17}

La patogenia de la infección parece implicar la diseminación por contigüidad de la bacteria desde su punto de colonización en las vías respiratorias para causar signos clínicos de infección.⁹

Las muestras ideales en caso de sinusitis y otitis media, son aspirados sinusales y líquido obtenido por timpanocentesis. La mayoría de las veces no se realizan estas funciones y se instaura un tratamiento empírico. En este manual se presenta el Anexo I con las indicaciones necesarias para la toma de muestras relacionadas con las patologías causadas por *Moraxella catarrhalis*.¹⁶

3.1 Otitis media aguda

3.1.1 El oído y su funcionamiento

El oído humano está compuesto de tres partes principales: externo, medio e interno. El oído externo está formado por el pabellón auditivo (la parte visible de la oreja) y el conducto auditivo del oído a la membrana timpánica (tímpano). La membrana del tímpano separa el oído externo del oído medio, espacio lleno de aire que está conectado a la nasofaringe a través del tubo de Eustaquio. El oído medio está formado por el martillo, yunque y estribo. Estos tres diminutos huesos llevan el sonido desde el tímpano al oído interno. El oído interno, también conocido como el laberinto óseo, es un compartimiento lleno de líquido que rodea el laberinto membranoso que encierra tanto la cóclea y el aparato vestibular (ver figura 7).²⁴

Cerca del canal del oído la piel desarrolla una membrana delgada de cera en el oído. La cera del oído está compuesta principalmente de células muertas de la piel y de queratina con una mezcla de cerumen, sudor y aceite. El cerumen es secretado por las glándulas cerosas situados en la tercera parte externa del canal del oído y se cree que está compuesto principalmente de colesterol, escualeno, ésteres de ceras, ceramidas y triglicéridos. El cerumen también tiene propiedades antimicrobianas que pueden ser atribuidos a su pH ligeramente ácido de 5, a la presencia de lisozima y de péptidos antimicrobianos β -defensina humana 1 y β -defensina humana 2. En circunstancias normales, la cera del oído es continuamente empujado fuera del canal auditivo por la lenta migración de la capa

superior de células de la piel de la membrana timpánica hacia el oído externo. El canal auditivo es tibio (37 °C), húmedo y con abundantes nutrientes provenientes de las células muertas de la piel. En ausencia de cerumen, el canal del oído sería un ambiente óptimo para los microorganismos.²⁴

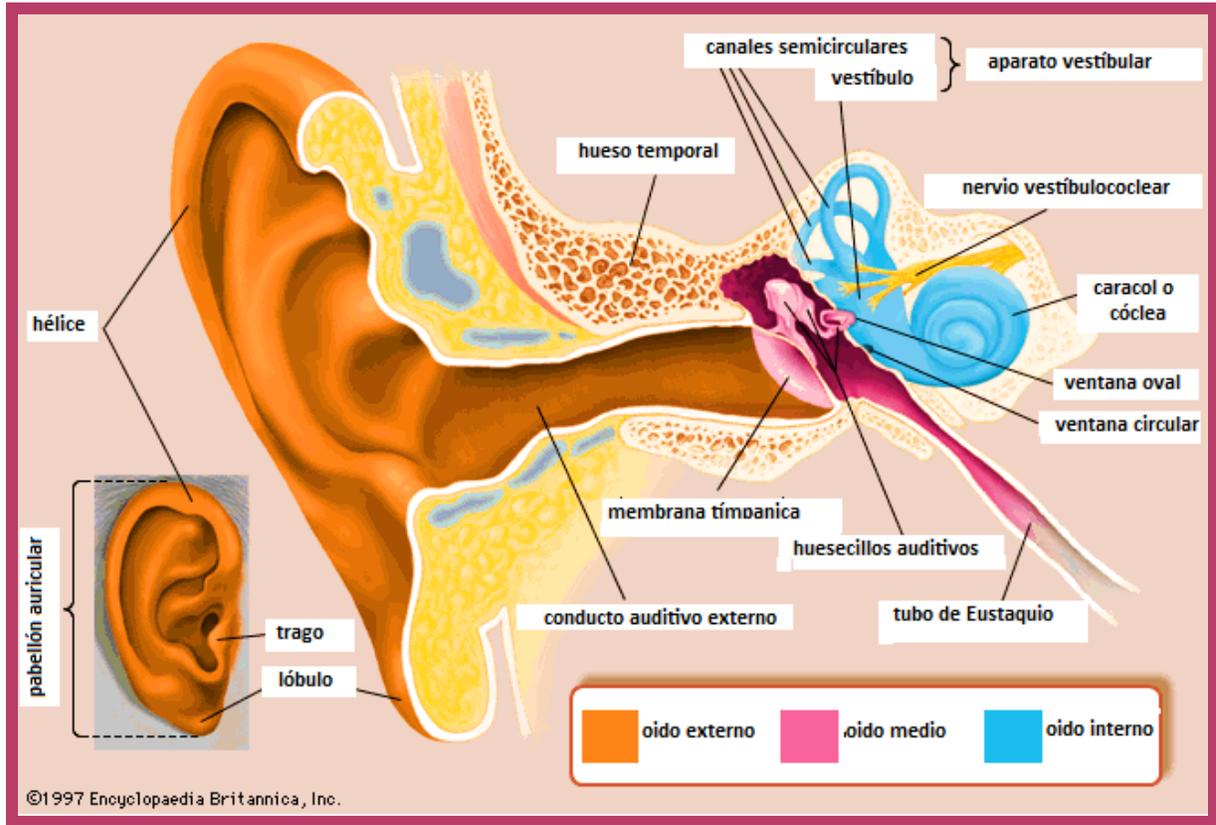


Figura 7. Estructura del oído. La imagen muestra cómo se encuentra estructurado el oído en oído externo, medio e interno. MODIFICADO DE 24

El oído medio, también conocido como la cavidad timpánica, es un espacio lleno de aire que está separado desde el oído externo por la membrana timpánica y del oído interno por la ramba vestibular fenestra. La membrana mucosa del oído medio continúa a los conductos nasales y la nasofaringe a través del tubo de Eustaquio. Esta membrana permite equilibrar la presión del aire dentro de la cavidad con la del ambiente exterior. El moco contiene muchas enzimas antimicrobianas e inmunoglobulinas. Además de estas propiedades, el moco también sirve para atrapar cualquier partícula extraña y microorganismos que se introducen en el oído medio. Mientras que la acción de los cilios de la membrana los regresa a la nasofaringe. Este mecanismo es importante para prevenir la colonización de microorganismos en la cavidad timpánica de otro modo sería un ambiente muy favorable para los microorganismos.²⁴

3.1.2 Definición y cuadro clínico

La otitis media aguda es una inflamación del revestimiento mucoperióstico del oído medio que afecta membrana y caja timpánicas, tubo de Eustaquio, antro y celdillas mastoideas.

Es de origen infeccioso, casi siempre producida por bacterias, suele ser una complicación de las enfermedades virales agudas de las vías respiratorias superiores. Los signos y síntomas de presentación son otalgia, presión ótica, disminución de la audición, a menudo fiebre, irritabilidad y dolor agudo son frecuentes, el estudio otoscópico revela protrusión de la membrana timpánica, mala movilidad y ocultamiento de los puntos de referencia anatómicos normales por la presencia de líquido purulento y eritema (Ver figura 8). En algunos casos la membrana timpánica esta inflamada de manera aguda y presenta ampollas en su superficie externa (miringitis).^{13, 26, 52}

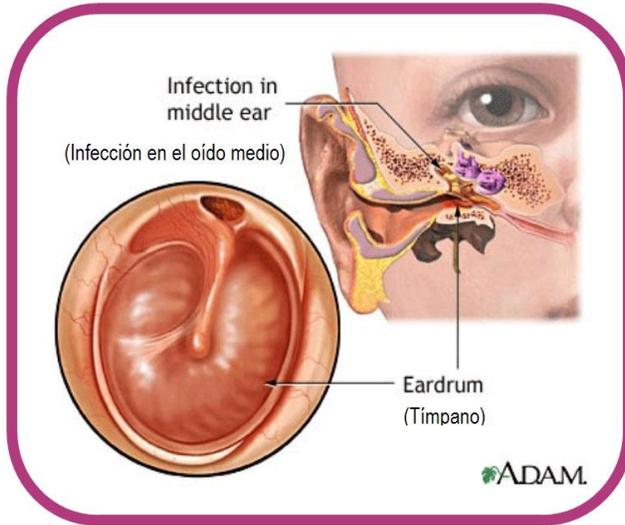


Figura 8. Oído medio. Una infección del oído medio se conoce como otitis media y es una de las infecciones más comunes en la infancia. **A:** la membrana timpánica normal es ligeramente cóncava y presenta un color gris perla o rosado pálido, siendo ligeramente transparente y permitiendo una cierta visualización de las estructuras del oído medio. **B:** En esta enfermedad, el oído medio resulta abombado y con eritema debido a bacterias atrapadas en el tubo de Eustaquio. MODIFICADO DE 25, 67



A: Otoscopia normal



B: Otitis media aguda

Si se trata de forma inadecuada, la infección puede avanzar hasta afectar estructuras adyacentes, como las células aéreas mastoideas (mastoiditis), o causar la perforación con drenaje espontáneo a través de la membrana timpánica. Las posibles secuelas supurativas agudas incluyen extensión hacia el sistema nervioso central (SNC) y septicemia. Con signos y síntomas menores de tres semanas de evolución, con o sin otorrea y en ciertas ocasiones acompañada de manifestaciones sistémicas.^{13, 26}

3.1.3 Etiología

Alrededor del 80% de los niños ha sufrido al menos un episodio de otitis media aguda a la edad de 3 años. Un subgrupo de niños padece otitis media recurrente, que se asocia con un retraso en el desarrollo del habla y del lenguaje. En estudios cuidadosos, realizados en muchos centros se ha definido la etiología de la otitis media aguda mediante el cultivo del líquido del oído medio obtenido por timpanocentesis, ya que está libre de contaminación por biota nasofaríngea. El cultivo del líquido del oído medio es el método más fiable para determinar la etiología de la otitis media. Estudios realizados en Estados Unidos y Europa demuestran que desde la mitad del siglo pasado han permanecido de modo muy uniforme *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae* no tipificable y *Moraxella catarrhalis* como las causas bacterianas predominantes de la otitis media aguda. De forma global, a tenor de los cultivos del líquido del oído medio, alrededor del 15-20% de los casos de otitis media aguda se debe a *Moraxella catarrhalis*, tanto así, que ocupa el tercer lugar por ser el agente causal de otitis media aguda.^{8, 9, 26}

3.1.4 Patogenia

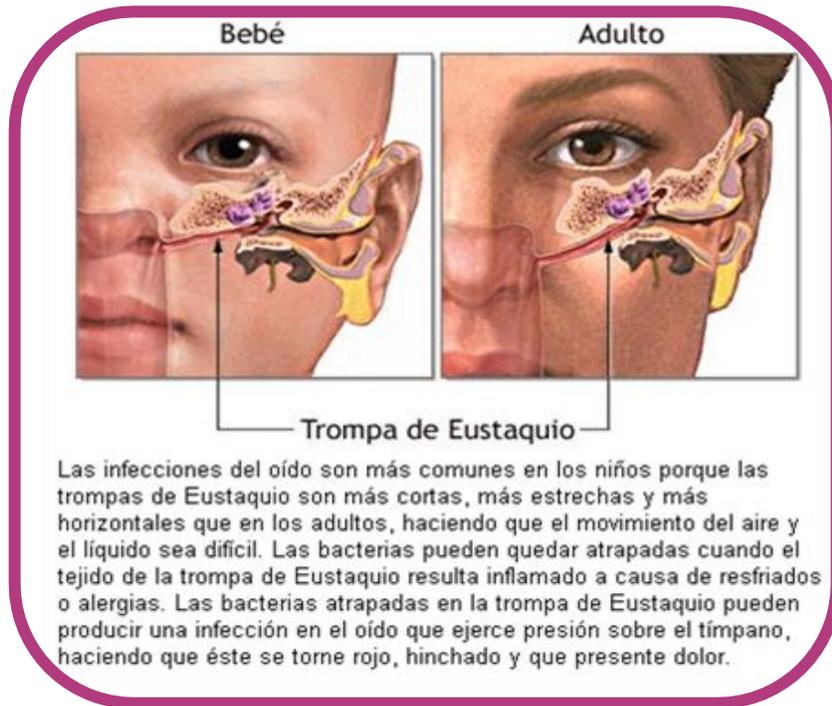
La colonización de la nasofaringe inicia casi desde el nacimiento por cepas que constituyen su biota normal (aerobios: estreptococo α -hemolítico, como anaerobios: *Peptostreptococcus sp.*), pero también comensales potencialmente patógenos (*S. pneumoniae*, *H. influenzae*, *Moraxella catarrhalis*). La biota normal protege a la nasofaringe contra la colonización por patógenos porque son capaces de producir sustancias antagónicas como bacteriocinas y peróxido de hidrógeno.²⁶

Las mucinas óticas son glucoproteínas complejas y la unión de esas moléculas a la proteína CD puede facilitar la fijación y el transporte de *Moraxella catarrhalis* hacia el interior del oído medio mediante el tubo de Eustaquio. En el caso de la otitis media, *Moraxella catarrhalis* llega al oído medio mediante la migración a través del tubo de Eustaquio y la nasofaringe. Los datos actuales sugieren que la colonización de las vías respiratorias superiores con *Moraxella catarrhalis*, es un primer paso necesario en la patogenia de la otitis media.^{5, 9, 24}

Sin embargo, la colonización por sí sola no es suficiente para causar enfermedad. Es probable que sea necesario un fenómeno desencadenante en un niño colonizado con un patógeno del oído medio para que la bacteria se desplace hasta dicha localización y cause otitis media.^{9, 45}

Las infecciones virales respiratorias superiores o los trastornos alérgicos pueden causar inflamación y edema del tubo de Eustaquio o su orificio. El tubo de Eustaquio es el principal portal para la entrada y salida de las bacterias en el oído medio. Estos cambios alteran sus funciones, de las que la más importante puede ser la ventilación. Cuando se pierde la ventilación se absorbe oxígeno del aire hacia el oído medio y se genera presión negativa. La presión a la vez permite la entrada de bacterias potencialmente patógenas de la nasofaringe, entre ellas *Moraxella catarrhalis*, hacia el oído medio y el fracaso de su eliminación normal puede ocasionar colonización e infección. Otro mecanismo de la colonización de *Moraxella catarrhalis* es que la obstrucción del tubo de Eustaquio provoque que el oído medio no drene correctamente y que el líquido se acumule, convirtiéndose en un caldo de cultivo para las bacterias. De ahí, que se ha descrito relación entre la colonización nasofaríngea de *Moraxella catarrhalis* y la aparición de cuadros de otitis.^{8, 13, 24, 26}

Es más difícil para los niños pequeños combatir a la bacteria debido a que su sistema inmunológico no está completamente desarrollado, ya que, otros factores que pueden llevar a afecciones de la función del tubo de Eustaquio son anomalías anatómicas, ya que es más corta, ancha, recta y más horizontal, además, la falta de rigidez de la pared del tubo, la cual es frecuente en la lactancia y niñez temprana, mejora con la edad y puede explicar en parte porque la otitis media aparece más a menudo en lactantes de 6 a 18 meses de edad y después disminuye de frecuencia al establecerse la permeabilidad del tubo de Eustaquio (ver figura 9). Además, los niños tienen grandes glándulas adenoides. Estas glándulas se encuentran detrás de la garganta por los tubos de Eustaquio y están involucrados en la producción de linfocitos. Durante las infecciones se hinchan y pueden bloquear los tubos de Eustaquio. Por otra parte, las glándulas adenoides se pueden infectar y esta infección puede propagarse directamente al tubo. La apertura del tubo de Eustaquio está también afectada por la posición de la cabeza. Una elevación de la cabeza de 20 grados sobre la horizontal (como puede ocurrir mientras se está acostado con una almohada) reduce el flujo de aire a dos tercios de la normal, mientras que una posición horizontal completa se reduce a un tercio. El bloqueo del tubo impide un flujo sano de moco del oído medio y, como resultado, los microorganismos presentes en el interior del oído medio quedan atrapados y proliferan.^{8, 13, 24, 26}

Figura 9. Trompa o tubo de Eustaquio.⁶⁶

Con todo lo anterior como factores predisponentes, *Moraxella catarrhalis* se une a las vías respiratorias con un pili de tipo IV (PTF). PTF también juega un papel importante en la formación de biofilm, definido como microorganismos organizados o mixtos encubiertos en una matriz polimérica unida a una superficie inerte o viva. El crecimiento de un biofilm puede empezar tan pronto como agregados bacterianos se unen a una superficie, constituyendo un medio protegido de crecimiento. Así antibióticos, anticuerpos y macrófagos son incapaces de eliminar a las bacterias contenidas en un biofilm. De allí que migra al oído medio a través del tubo de Eustaquio para iniciar la infección. El hierro juega un papel importante para ayudar a la mayoría de los microorganismos a sobrevivir. Sin embargo, la mayoría del hierro en el cuerpo humano está acoplado a proteínas de transporte tales como transferrina (suero) y lactoferrina (superficie de la mucosa). Con el fin de que pueda crecer en estas condiciones limitadas de hierro, *Moraxella catarrhalis* tiene que competir por el hierro por lo que utiliza directamente las proteínas de transporte sin ninguna producción de sideróforos. Este mecanismo es similar al de las especies de *H. influenzae* y *Neisseria sp.* que permiten que estos patógenos de la mucosa puedan crecer. Con esta característica ventajosa de poder utilizar estas proteínas transportadoras séricas, *Moraxella catarrhalis* pueden colonizar y sobrevivir en superficies mucosas, como en el oído medio (ver figura 10).^{24, 26}

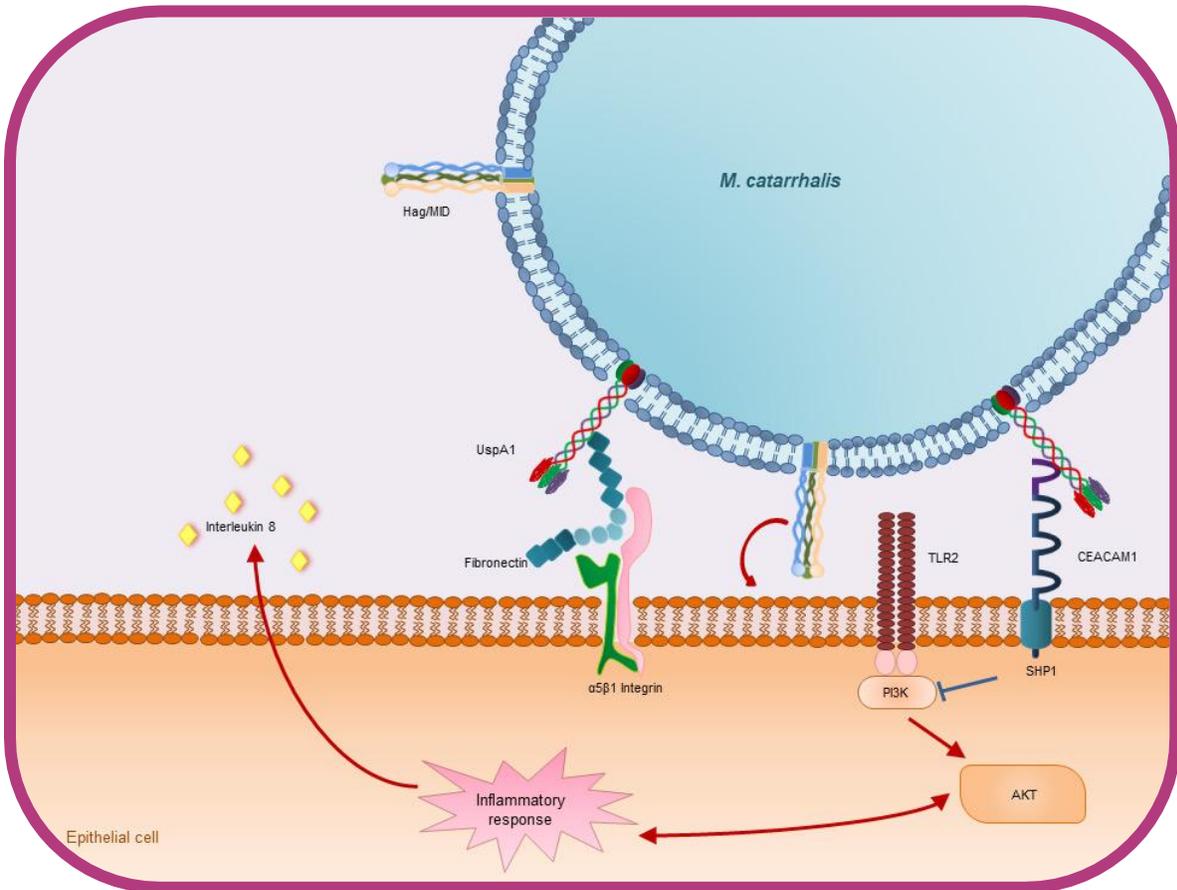


Figura 10. La adherencia a las células huésped epiteliales. UspA1 activa al antígeno carcinoembrionario relacionado con la molécula de adhesión celular 1 (CEACAM 1). La unión y activación de CEACAM 1 conduce al reclutamiento del SH2 que contiene proteína tirosina fosfatasa 1 (SHP1). SHP1 inhibe la fosforilación del fosfoinositol 3-quinasa (PI3K) que conduce a una supresión de la respuesta pro-inflamatoria mediada por AKT. Además UspA1 se une a la glicoproteína de la matriz extracelular, fibronectina, que a su vez se une a la integrina $\alpha 5 \beta 1$ en la superficie de las células epiteliales del huésped. Hag / MID se sabe están involucrados en la adherencia de *Moraxella catarrhalis* a las células huésped epiteliales. El mecanismo exacto y los receptores implicados todavía no se conocen.⁶⁰

El análisis del líquido del oído medio mediante la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) revela que una proporción considerable contienen ADN bacteriano, en especial de *Moraxella catarrhalis* y *H. influenzae*, lo que sugiere una etiología bacteriana.⁹

Se ha descrito un sinergismo bacteriano entre *Streptococcus pneumoniae* y *Haemophilus influenzae* con *Moraxella catarrhalis* en exudados óticos donde la presencia de las primeras favorece la supervivencia de esta última.¹⁶

3.1.5 Diagnóstico



Figura 11. Otoscopia neumática

El diagnóstico se establece con base en la exploración clínica, que se basa en la presencia de signos y síntomas de la enfermedad aguda, y la identificación de líquido mediante otoscopia neumática (ver figura 11). Entre las medidas complementarias se puede realizar timpanometría para detectar la presencia de líquido en el oído medio y valorar la función de la membrana timpánica.^{13, 26}

En la otitis media aguda el método diagnóstico más preciso es la timpanocentesis, que consiste en una aspiración cuidadosa con una aguja estéril a través de la membrana timpánica, después de descontaminar el conducto auditivo, la toma de muestra se puede consultar en el Anexo I. La tinción de Gram y el cultivo de tales aspirados son muy confiables; empero, dichos procedimientos se reservan para pacientes en los que las posibilidades causales son muy variadas, como en lactantes pequeños o cuando la respuesta clínica es fallida al tratamiento antimicrobiano primario y continua una ausencia de mejoría y cambio a las 72 horas por un segundo tratamiento de antibióticos. No se puede confiar en los cultivos del aparato respiratorio ni en los de la nasofaringe para emitir un diagnóstico causal.^{13, 26, 67}

3.1.6 Tratamiento

La otitis media aguda requiere tratamiento antimicrobiano a menudo combinados con analgésicos, y vigilancia cuidadosa de la evolución para asegurar su resolución. La selección del antimicrobiano suele ser empírica, ideada de forma específica para cubrir a los patógenos bacterianos más frecuentes, porque la aspiración directa para fines diagnósticos casi nunca es necesaria. Sin embargo, debido al origen multifactorial de la otitis media, es improbable que solo un enfoque terapéutico único pueda prevenir y curar esta enfermedad. La amoxicilina a altas dosis (80 mg/kg/día) es el tratamiento de primera

elección. Cefuroxima es la mejor opción si se utiliza una cefalosporina. Los macrólidos no deben utilizarse, salvo en caso de alergia anafiláctica a la penicilina. La recomendación actual está en tratar durante 10 días a estos niños.^{13, 26, 52, 67}

En la actualidad, se considera que la principal utilidad de la utilización de antibióticos está en la prevención de complicaciones a corto (mastoiditis) y largo plazo (otitis media crónica con hipoacusia de transmisión y retraso del lenguaje y del rendimiento escolar).^{13, 26, 52, 67}

3.2 Sinusitis maxilar aguda

3.2.1 Cavidades sinusales

Los senos etmoidal, frontal y maxilar se comunican con la cavidad nasal (ver figura 12). En individuos sanos esos senos son cavidades llenas de aire, revestidas por epitelio ciliado y estériles. Están mal desarrollados en etapas tempranas de la vida.¹³

Los senos maxilares comienzan a desarrollarse hacia el cuarto mes de vida intrauterina. Se inicia en la región del nicho (receso) frontal. En el meato medio de la cavidad nasal. Al nacimiento aparecen como cavidades reales de forma ovoide; en el lactante puede verse ya mediante tomografía.²⁶

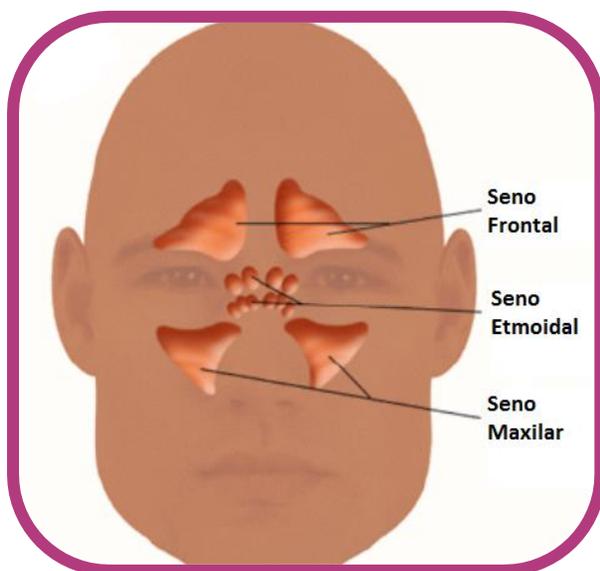


Figura 12. Senos paranasales de la cara³⁷

Los senos frontales se desarrollan entre las dos tablas del hueso frontal. Desde el punto de vista clínica, se les debe considerar a partir de los cuatro años de edad. En radiografía simple es excepcional verlos antes de los 10 años, pero pueden identificarse bien mediante tomografía antes de los 5 o 6 años.²⁶

Los senos etmoidales se originan en el cuarto mes de vida fetal. Su desarrollo rudimentario se produce antes de los dos primeros años y alcanzan cierto desarrollo después del segundo año de vida, pero son muy pequeños hasta los seis años, aunque

el desarrollo total no se logra hasta el final de la adolescencia. En la radiografía ya son visibles hacia los seis años de edad. La neumatización completa se alcanza al final de la

pubertad, pero es posible observar auténticas sinusitis esfenoideas, con complicaciones oftalmológicas, desde la edad escolar.²⁶

En condiciones normales, la función de los cilios con el flujo de moco a través de los orificios naturales mantiene los senos libres de agentes patógenos. El moco de los senos y de la cavidad nasal contiene inmunoglobulinas IgA, IgG e IgM, y lisozimas que dificultan la adherencia bacteriana y facilitan su destrucción.²⁶

3.2.2 Definición y cuadro clínico

Se llama sinusitis a la inflamación, con infección persistente, de la mucosa de uno o más senos paranasales, en un niño hiperreactivo, con un tiempo de evolución menor a tres semanas.²⁶

Hasta el segundo decenio de la vida, los senos maxilares y etmoides son los que tienen verdadera importancia clínica y los más afectados.²⁶

En la sinusitis maxilar aguda, el dolor se localiza en las mejillas. Debe tenerse presente que el dolor de cabeza de origen nasal se debe a la congestión y al edema que se desarrollan alrededor del *ostium* (orificios que comunican a las cavidades nasales) de los senos, y puede ser continuo o intermitente, predominando al medio día y por la tarde. La obstrucción nasal se relaciona con el edema reactivo de la mucosa nasal secundaria a las secreciones purulentas provenientes del seno afectado; cuando se acumulan en la cavidad nasal por la disminución de la actividad ciliar de las células de la mucosa nasal, la obstrucción nasal es más obvia aún.⁵⁸

En los niños pequeños los síntomas predominantes son: congestión nasal, secreción nasal y tos durante el día que puede empeorarse en la noche. La mayor parte de las infecciones sin complicaciones de las vías respiratorias superiores duran de 5 a 8 días, o por lo menos mejoran durante ese lapso. En el niño, la sinusitis suele presentarse como complicación de una enfermedad de vías respiratorias altas.^{13, 26}

La secreción nasal puede ser fluida, blanquecina, espesa o purulenta, y la tos persistente, irritativa y prolongada, de más de 10 días y preferentemente nocturna; si no se conlleva otra manifestación, debe generar la sospecha de sinusitis. Se sabe que la tos se debe a la irritación de la faringe por las secreciones que drenan de los senos etmoides maxilares. Puede haber también vomito por las mismas causas.²⁶

En los niños mayores y adolescentes pueden presentarse dolor facial, cefalalgias, además de goteo nasal posterior persistente, que en general se manifiesta por molestia o irritación de la garganta. Algunas veces hay fiebre, fetidez respiratoria e hipersensibilidad a la

percusión sobre el seno maxilar, todas las manifestaciones pueden aparecer en diferentes combinaciones y sugieren el diagnóstico. Las complicaciones de la sinusitis pueden incluir extensión de la infección a los tejidos blandos cercanos, como la órbita, y algunas veces la diseminación al SNC, directa o por vías vasculares.^{13, 26}

3.2.3 Etiología

La etiología de la sinusitis se determina mediante el cultivo de los aspirados sinusales, un procedimiento relativamente invasivo que no se realiza de forma habitual.⁹

De acuerdo con la bibliografía internacional, en estudios de lavado del seno maxilar, al igual que en otitis media aguda, los microorganismos predominantes en la sinusitis aguda y subaguda en adultos y niños son *S. pneumoniae* (30-40%), *H. influenzae* (20%), *Moraxella catarrhalis* (20%) y otros anaerobios. Estos últimos son los agentes causales que afectan principalmente a adolescentes.^{9, 26, 46}

3.2.4 Patogenia

Los cuatro senos paranasales se comunican con la cavidad nasal, de manera que el revestimiento mucoso de todos los senos paranasales se funde y asemeja al que reviste la cavidad nasal. El moco de los senos y de la cavidad nasal contiene inmunoglobulinas IgA, IgG e IgM, y lisozimas que dificultan la adherencia bacteriana y facilitan su destrucción.²⁶

En primer término, se obstruye el orificio del seno y se afecta la ventilación; se absorbe el oxígeno, con la subsecuente formación de presión negativa. Esta presión negativa dentro del seno, y la disfunción de la mucosa, permite que fluya biota nasal contaminada hacia la cavidad de los senos, que es estéril. El inóculo de bacterias en un seno obstruido y lleno de líquido es el inicio de un cuadro de sinusitis aguda.²⁶

El revestimiento epitelial cilíndrico tiene en su superficie cilios y una capa mucoide que sirven para aglutinar y eliminar microorganismos y cuerpos extraños, que por un movimiento ciliar son llevados al *ostium* y de ahí eliminados. El edema de la mucosa y la disfunción de los cilios en las infecciones virales, ocasionan oclusión de los senos paranasales por obstrucción inflamatoria del *ostium* que conduce a la cavidad nasal, con reabsorción del aire de los senos y posterior infección bacteriana de la secreción.²⁶

Sin embargo, existen factores coadyuvantes que permiten el desarrollo del agente causal, el más común es el enfriamiento corporal repentino, por sus efectos adversos inmediatos en la mucosa nasosinusal.²⁶

Aunado a todo esto, la transmisión de *Moraxella catarrhalis* desde su localización normal en la nasofaringe al seno maxilar, suele estar mediado por su adherencia a la mucosa mediada por el pili tipo 4 que varía de cepa a cepa y por una proteína de membrana externa UspA1.^{13, 16}

3.2.5 Diagnóstico

El diagnóstico de enfermedad sinusal se hace por clínica, estudio bacteriológico y estudio por imágenes.²⁶

Se realiza una exploración física en la que se aprecia eritema y edema de la mucosa nasal y secreción purulenta, al palpar se puede manifestar dolor a la presión digital en las mejillas. En general, es conveniente comprobar el diagnóstico con los estudios radiográficos de los senos paranasales. Si es necesario determinar el agente infeccioso específico debe obtenerse líquido de modo directo de los senos afectados por punción con aguja de su pared o cateterización del antro después de la descontaminación cuidadosa de su sitio de ingreso. A continuación se realizan frotis con tinción de Gram y cultivo.^{13, 26, 58}

3.2.6 Tratamiento

En la sinusitis aguda no complicada se inicia tratamiento antimicrobiano expedito, cuya selección suele ser empírica con base en las causas bacterianas más probables y su susceptibilidad habitual. Por ejemplo, la amoxicilina es el tratamiento preferente. La administración de amoxicilina junto con inhibidores de β -lactamasas es eficaz contra casi todas las cepas de *H. influenzae* y *Moraxella catarrhalis*. Otros tratamientos encaminados a reducir el edema y favorecer la permeabilidad de los ostia y el drenaje de las secreciones son la higiene nasal con solución salina hipertónica, los descongestionantes nasales y los corticoesteroides.^{13, 26}

3.3 Infección broncopulmonar

3.3.1 Los pulmones

Luego de pasar por las fosas nasales, el aire circula por la faringe y llega a la tráquea, que se divide en dos bronquios, cada uno de los cuales penetra en un pulmón. Los pulmones son los órganos de la respiración donde se produce la hematosis, proceso durante el cual los glóbulos rojos absorben oxígeno y se liberan del anhídrido carbónico. Protegidos por las costillas, se encuentran en la caja torácica, a ambos lados del corazón, separados por el mediastino, nombre que recibe el espacio entre cada uno de ellos.²⁷

Parecidos a un par de esponjas, forman uno de los órganos más grandes del cuerpo. Su función esencial, compartida con el sistema circulatorio, es la distribución de oxígeno y el intercambio de gases. Tienen la capacidad de aumentar de tamaño cada vez que se inspira y de volver a su tamaño normal cuando el aire es expulsado.²⁷

El pulmón derecho es más grande que el izquierdo. Esto, porque está dividido en tres lóbulos -superior, medio e inferior- y el izquierdo solamente en dos - superior e inferior. Cada uno de los lóbulos se divide en un gran número de lobulillos, en cada uno de los cuales irá a parar un bronquiolo, que a su vez se divide en unas cavidades llamadas vesículas pulmonares; estas forman otras cavidades llamadas alvéolos (Ver figura 13).²⁷

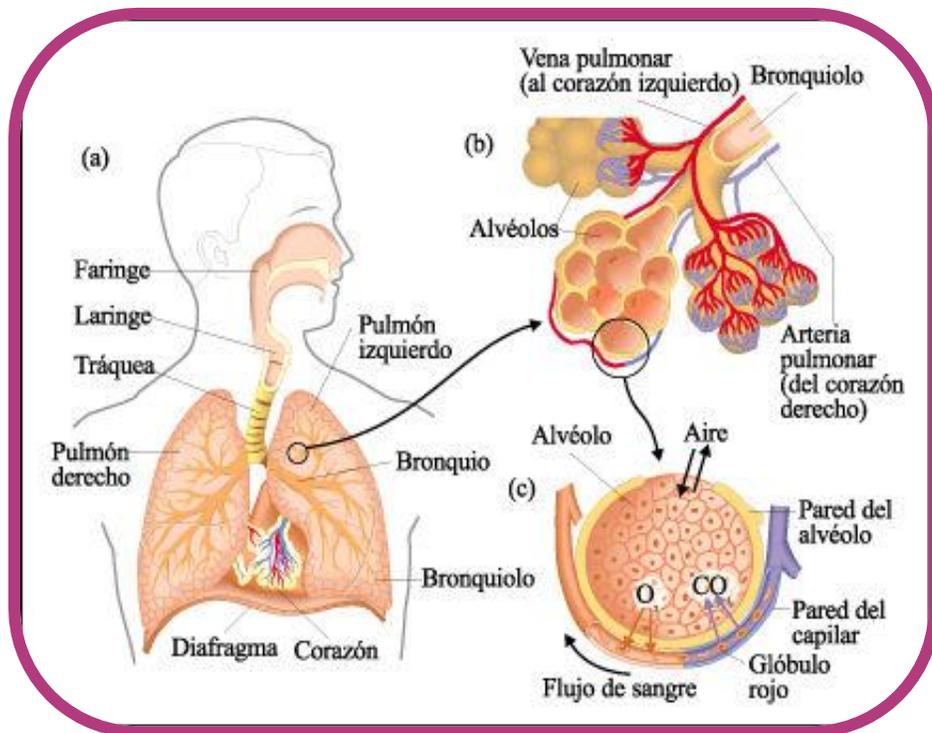


Figura 13. a) El aire entra a través de la nariz o de la boca y pasa a la faringe, entra en la laringe y sigue hacia abajo por la tráquea, bronquios y bronquiolos hasta los alvéolos de los pulmones. b) Los alvéolos, de los que hay aproximadamente 300 millones en un par de pulmones, son los sitios de intercambio gaseoso. c) El oxígeno y el dióxido de carbono difunden a través de la pared de los alvéolos y de los capilares sanguíneos.²⁸

El pulmón está recubierto por una membrana serosa que presenta dos hojas, una que se adhiere a los pulmones, llamada pleura visceral, y otra que tapiza el interior de la cavidad torácica, denominada pleura parietal. Estas dos capas se encuentran en contacto, deslizándose una sobre otra cuando los pulmones se dilatan o contraen. Entre ellas se

encuentra la cavidad pleural, que se encarga de almacenar una pequeña cantidad de líquido, cumpliendo una función lubricadora. Pero la misión principal de la membrana pleural es evitar que los pulmones rocen directamente con la pared interna de la cavidad torácica, manteniendo una presión negativa que impide el colapso de los pulmones.²⁷

A partir de la tráquea nacen los bronquios. Estos se abren en dos ramas que penetran en cada uno de tus pulmones, junto con vasos sanguíneos y nervios; son estas ramificaciones las que reciben el nombre de árbol bronquial. Al entrar en los pulmones se producen varias bifurcaciones a medida que los bronquios se hacen más estrechos. Estas ramitas más delgadas del árbol, de solo un milímetro de anchura, se conocen como bronquiolos.²⁷

Los bronquios cumplen también una función motora. Cuando se inspira, el árbol bronquial se ensancha y alarga, lo que facilita la circulación del aire hacia los alvéolos. Además, también colaboran con la acción de los cilios que se encuentran en la mucosa para evitar que entren partículas extrañas a los pulmones, todo esto mediante un movimiento de las paredes bronquiales.^{27, 28}

3.3.2 Definición y cuadro clínico

Se llama neumonía a la inflamación de la región distal del pulmón, es decir, de las vías respiratorias terminales, los espacios alveolares y el intersticio. En aras de precisión, al término “neumonía” suelen añadirse adjetivos que denotan la causa, mecanismo, sitio anatómico o evolución clínica de estos procesos. Así términos como bronconeumonía, neumonía por aspiración o neumonía bacteriana aguda, permiten identificar a pacientes con enfermedades clínicas caracterizadas por signos y síntomas de inflamación pulmonar en diversos contextos clínicos.²⁹

La enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC) es un trastorno progresivo y frecuente de los pulmones que disminuye el movimiento ciliar, hipertrofia las glándulas mucosas y altera la estructura y la función de los macrófagos alveolares.⁷⁰

Las manifestaciones clínicas de las exacerbaciones de la EPOC causadas por *Moraxella catarrhalis* son similares a las de las causadas por otras bacterias, como *Haemophilus influenzae* no tipificable. Los pacientes experimentan un aumento de la tos y de la producción de esputo, una mayor purulencia del esputo y un incremento de la disnea en comparación con los síntomas basales.⁹

También causa exacerbaciones agudas de bronquitis crónica (aumento en la producción de esputo, en el grado de purulencia del mismo o ambos), traqueobronquitis purulenta

(vinculada a fiebre y leucocitosis) y neumonía; a menudo, la causa es la adquisición de una nueva cepa bacteriana.^{8,9}

Los síntomas que presentan los pacientes con neumonía por *Moraxella catarrhalis* se han considerado de gravedad moderada. Suele haber empeoramiento de la tos y de la cantidad y el carácter purulento de esputo. La cuarta parte de los pacientes presenta escalofríos, un tercio dolor de tipo pleurítico y 40% malestar. La mayoría de los pacientes tienen temperaturas máximas mayores a 38.3°C, y los recuentos leucocíticos en sangre periférica son mayores a 10 000/μL en casi la cuarta parte de los casos. Se diferencia de la bronquitis por la presencia de infiltrados en el lóbulo inferior de los pulmones en un estudio de rayos X del pecho.^{8,46}

Se observa una mejoría clínica de los pacientes con *Moraxella catarrhalis* como presunta causa de las exacerbaciones después de la administración de antibióticos activos frente a esta bacteria.⁹

Se ha observado una repuesta inmunitaria específica después de las exacerbaciones de la EPOC asociadas con *Moraxella catarrhalis* en el esputo.⁹

Sin embargo, la infección por *Moraxella catarrhalis* da lugar a un grado menor de invasión del torrente sanguíneo; en una serie, ninguno de un grupo de 25 pacientes con neumonía por *Moraxella catarrhalis* presentó bacteriemia.^{8,9}

3.3.3 Etiología

La prevalencia global de infecciones virales en la neumonía adquirida en la comunidad (NAC) es de 14-62%, más elevada en niños menores de 2 años y su relevancia disminuye con la edad. El *Streptococcus pneumoniae* (*S. pneumoniae*) es el principal agente bacteriano de la NAC. La prevalencia comunicada de etiología neumocócica en la NAC varía según los métodos diagnósticos utilizados y alcanza el 37-44% en estudios hospitalarios que emplean múltiples técnicas específicas (serología, inmunofluorescencia, reacción en cadena de la polimerasa). Afecta a todos los grupos etarios y produce la enfermedad de mayor gravedad que los microorganismos atípicos, *Mycoplasma pneumoniae* y *Chlamydia pneumoniae*. Estos últimos se identifican en el 6-40% de los casos de NAC y son más habituales en niños entre 5 y 15 años. Aproximadamente, entre el 20-30% de las NAC son causadas por infecciones mixtas virus-bacteria y el neumococo es la bacteria más frecuentemente implicada.⁷¹

Moraxella catarrhalis causa infecciones pulmonares en tres principales entornos clínicos: (i) en los pacientes con EPOC, (ii) neumonía en ancianos, y (iii) como un patógeno del tracto respiratorio nosocomial.⁴⁶

Se han observado infecciones respiratorias bajas hospitalarias causadas por *Moraxella catarrhalis* en unidades de neumología en centros sanitarios. La presencia de una población susceptible de adultos con enfermedad cardiopulmonar de base puede ser relevante en estos brotes manifiestos. El análisis de las cepas por varios métodos de tipificación indicó que algunos de estos grupos incluían múltiples cepas de *Moraxella catarrhalis* y otros estaban causados por una única cepa, lo que indica una diseminación interpersonal del microorganismo.⁹

Los datos obtenidos de varias fuentes han establecido que *Moraxella catarrhalis* causa exacerbaciones de la EPOC. La mayoría de las personas infectadas tienen más de 60 años y presentan antecedentes de larga duración de consumo de cigarrillos y de EPOC subyacente; muchas tienen además cáncer de pulmón.^{9,46}

En función de este tipo de datos, *Moraxella catarrhalis* es la segunda causa bacteriana más frecuente de exacerbaciones de la EPOC después de *Haemophilus influenzae* no tipificable. En un estudio se estimó que el 30% de las exacerbaciones se desvía a *Moraxella catarrhalis*.⁹

Los estudios resultantes en centros de Estados Unidos y Europa indican que *Moraxella catarrhalis* causa una proporción significativa de las neumonías en los ancianos. Dado que *Moraxella catarrhalis* puede colonizar las vías respiratorias en ausencia de infección clínica, es difícil establecer la proporción exacta de neumonías causadas por *Moraxella catarrhalis* en este grupo de edad. En un estudio prospectivo se estimó que *Moraxella catarrhalis* causaba el 10% de las neumonías extrahospitalarias en los ancianos. La mayoría de estos pacientes que sufren neumonía causada por *Moraxella catarrhalis* tiene enfermedades de base, como EPOC, insuficiencia cardiaca congestiva y diabetes. Aunque *Moraxella catarrhalis* causa una enfermedad grave en los ancianos, es infrecuente la neumonía fulminante.⁹

En una extensa serie de casos, no se observó neumonía por *Moraxella catarrhalis* en personas por lo demás sanas. Estudios prospectivos recientes implican a este microorganismo en aproximadamente 10% de las exacerbaciones de bronquitis crónica.^{8,9}

3.3.4 Patogenia

Consiste en la invasión y proliferación local en las vías aéreas superiores de *Moraxella catarrhalis* que, usualmente es poco patógena. Para que *Moraxella catarrhalis* pueda mantenerse colonizando las vías aéreas, es necesario que existan receptores específicos en la mucosa, que el sitio no esté ocupado por otro microorganismo y que la bacteria sea capaz de resistir las defensas naturales (Ver figura 14). Se ha demostrado, que la adherencia de *Moraxella catarrhalis* a las células epiteliales respiratorias puede aumentar en algunas condiciones clínicas, las que habitualmente son los factores de riesgo que se han reconocido para desarrollar neumonías.³⁰

Moraxella catarrhalis puede acceder a la vía aérea inferior y espacio alveolar por dos principales mecanismos: 1) el más importante es la aspiración de contenido bucofaríngeo durante el sueño. Estudios con radioisótopos han demostrado que hasta un 70% de los individuos normales aspiran secreciones de la vía aérea superior durante el sueño, y que en pacientes con compromiso de conciencia la aspiración es de mayor volumen. Este mecanismo probablemente opera en la mayoría de las neumonías, lo que explica que éstas sean causadas principalmente por microorganismos que colonizan las vías aéreas superiores, como *Moraxella catarrhalis*; 2) el segundo mecanismo en importancia es la inhalación de aerosoles, la que se produce cuando un individuo enfermo tose o estornuda (gotas de Pflügger). Es importante notar que, por las características mencionadas, las enfermedades así causadas son contagiosas y pueden llegar a causar epidemias.³⁰

Sin embargo, la aspiración de estos microorganismos no causa enfermedad, a menos que ocurra en grandes cantidades (neumonías aspirativas) o si existen graves alteraciones de la inmunidad local o general.³⁰

Las bacterias debido a su tamaño se depositan en los alvéolos. La primera línea de defensa contra las bacterias depositadas en los pulmones es el aparato mucociliar, sistema polifacético integral formado por las células ciliadas que revisten las vías aéreas, células secretoras (células calciformes y glándulas submucosas) y secreciones. Los cilios se mueven de 10 a 20 ciclos por segundo e impulsan las secreciones hacia la boca. Sin embargo, cualquier proceso que altere el movimiento de los cilios, que aumente la secreción de moco respiratorio o que cambie la viscosidad de las secreciones, altera la eficacia de este sistema de transporte como sucede en los pacientes con EPOC, por ejemplo.²⁹

Las bacterias atraen a los neutrófilos, la muerte de estas depende de la disponibilidad de neutrófilos más que de la presencia de macrófagos alveolares. La depuración de microorganismos de los pulmones aumenta por la presencia de anticuerpos específicos. La

inmunoglobulina que predomina en el alvéolo es la IgG y comprende de 10 a 15% de las proteínas en el líquido alveolar.²⁹

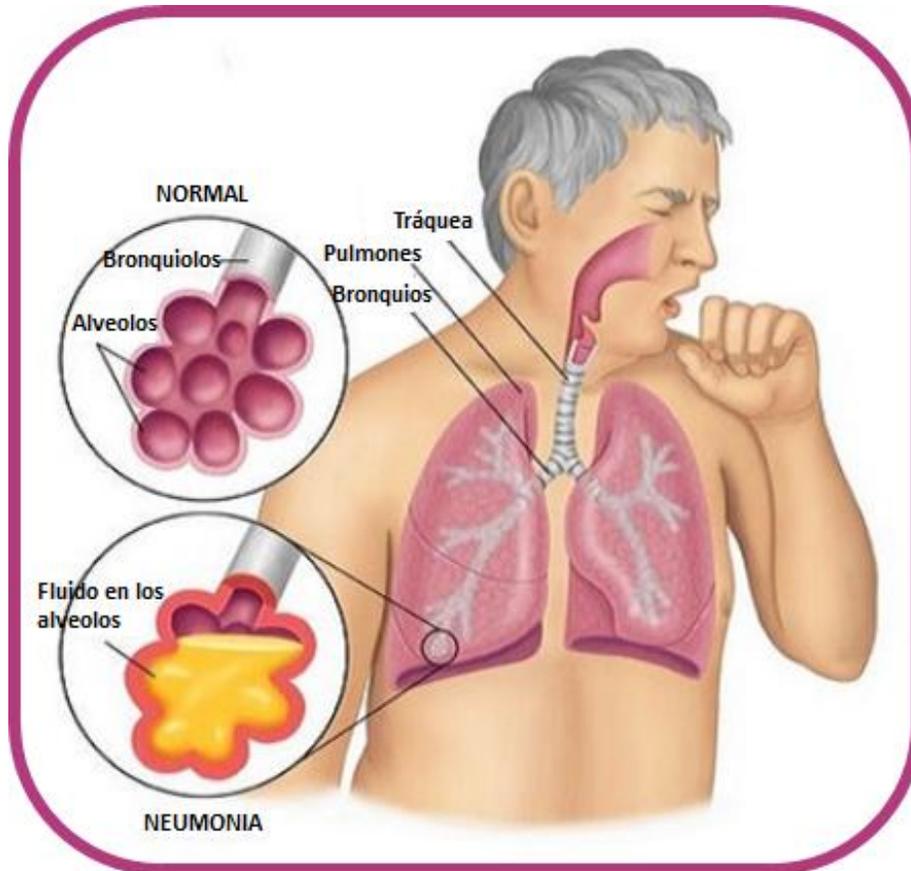


Figura 14. Patogenia de las neumonías. Estas infecciones se producen cuando llegan al territorio alveolar microorganismos patógenos en cantidad suficiente como para vencer los mecanismos de defensa del pulmón. Los alveolos se llenan completamente con líquido, eritrocitos, leucocitos polimorfonucleares y macrófagos. Esto puede ocurrir por colonización con microorganismos muy patógenos, por microaspiraciones superiores a lo normal, por fallas en las defensas o por una combinación de varios de estos mecanismos.³¹

Cuando las bacterias no son fagocitadas de inmediato, se produce una reacción inflamatoria que se caracteriza por edema alveolar e intersticial y aparición de neutrófilos. Los factores quimiotácticos que provocan esto último son productos bacterianos, C5a y factores quimiotácticos neutrofílicos, incluida la IL-8 secretada por los macrófagos alveolares y posiblemente otras células. Conforme se acumulan neutrófilos y bacterias, el ambiente se torna ácido e hipóxico y se retrasan la ingestión y la muerte de las bacterias. El edema y la inflamación en la periferia de la lesión continúan hasta que aparecen los anticuerpos

específicos (entre el quinto y séptimo día) o se inicia un tratamiento eficaz con antibióticos.²⁹

3.3.5 Diagnóstico

La anamnesis y el examen físico complementado con estudio radiológico de tórax ofrecen bases para el diagnóstico de neumonía.²⁶

Los esputos pueden ser útiles en casos de infecciones respiratorias bajas. La porción elegida debe ser purulenta y contener menos de 10 células escamosas y más de 25 leucocitos por campo de bajo aumento (ver Anexo I. Procedimientos para la toma de muestras). Siempre se debe realizar una tinción Gram, en donde se observa que debido a que *Moraxella catarrhalis* es fácilmente fagocitada por los polimorfonucleares, las tinciones de Gram de esputo en infección respiratoria va acompañada de estos lo que recuerda a las tinciones de uretritis por *Neisseria gonorrhoeae*.^{23, 29}

El estudio microscópico de una buena muestra de esputo de un subgrupo de pacientes con exacerbaciones de la EPOC con tinción de Gram suele revelar la presencia de abundantes diplococos gramnegativos intra y extra celulares como forma bacteriana exclusiva o predominante, y en los cultivos crece sobre todo *Moraxella catarrhalis*, presentando los cultivos cuantitativos aproximadamente 2×10^8 unidades formadoras de colonias/ μL . El aspecto radiológico es variable; en un estudio, 43% de los pacientes presentaron infiltrados segmentarios o lobulares, y el resto un modelo mixto de afección segmentaria, intersticial y difusa. Estos datos clínicos, analíticos y radiológicos no son diferentes de los que se observan en los casos de neumonía neumocócica o por *Haemophilus influenzae* en pacientes de edad avanzada.^{8, 9}

3.3.6 Tratamiento

En el tratamiento de la neumonía durante el periodo que transcurre entre la identificación de los cocos gramnegativos en una muestra con tinción de Gram y la identificación final del microorganismo por medio de un cultivo, la selección del antimicrobiano dependerá de la gravedad de la infección y la posible presencia de otros microorganismos. Por ejemplo, una exacerbación de la bronquitis causada por *Moraxella catarrhalis* podría tratarse con doxiciclina o con un macrólido avanzado. Sin embargo, la identificación microscópica de este microorganismo en un paciente con neumonía todavía puede llevar a una preferencia por el tratamiento inicial (por lo menos hasta que se dispone de los resultados del cultivo) con ampicilina/sulbactam, una cefalosporina de tercera generación, o una quinolona debido a la posibilidad de que también se presenten neumococos resistentes que se hayan pasado por alto con la tinción de Gram.⁸

3.4 Otros síndromes

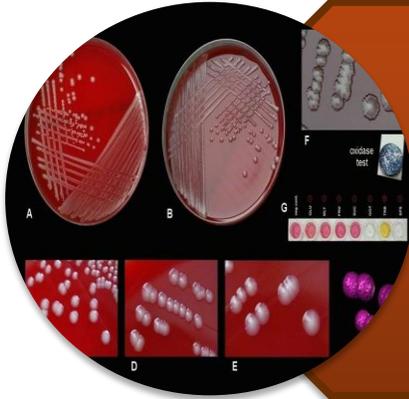
La extensión local con empiema y la endocarditis es muy infrecuente y, como se podría deducir de la escasa incidencia de bacteriemia, las complicaciones metastásicas de la neumonía por *Moraxella catarrhalis* (como la artritis séptica) son extraordinariamente infrecuentes.⁸

La gravedad de las manifestaciones clínicas oscila de leve a potencialmente mortal. Hasta 1995 se habían publicado 58 casos de infección bacteriémica por *Moraxella catarrhalis*, principalmente en niños menores de 10 años de edad o en adultos mayores de 60 años; la mayoría de estos pacientes presentaba inmunodepresión. Se han descrito casos de bacteriemia en personas de todas las edades, desde neonatos a ancianos. La mayoría de los casos pediátricos de bacteriemia por *Moraxella catarrhalis* ocurren en forma secundaria a otitis media, sinusitis o neumonía en pacientes inmunodeprimidos debido a leucemia linfoblástica aguda, leucemia mieloide aguda, linfoma, SIDA, hipogammaglobulinemia, anemia drepanocítica, prematuridad y anormalidades neurológicas congénitas. La mayor parte de los pacientes adultos con bacteriemia causada por *Moraxella catarrhalis* presenta enfermedades de base, como enfermedad cardiopulmonar, tumores malignos, inmunodeficiencia y deterioro crónico. La mayoría de los pacientes tienen signos clínicos de infección respiratoria. En una revisión de los casos de bacteriemia por *Moraxella catarrhalis* se encontró una mortalidad del 21%. La enfermedad de base es un determinante significativo del pronóstico.^{5,9}

La epiglotitis causada por *Moraxella catarrhalis* se ha informado como una complicación de la leucemia mieloide aguda en un hombre diabético de 65 años. Han ocurrido casos raros de meningitis y ventriculitis luego de procedimientos quirúrgicos que involucran la cabeza y el cuello. Las infecciones conjuntivales se han documentado tanto en el período neonatal como en la infancia tardía. La oftalmía neonatal causada por *Moraxella catarrhalis* provienen de la transmisión del microorganismo durante el nacimiento por el tracto genital colonizado de la madre o por las secreciones del aparato respiratorio de los cuidadores del niño. El aislamiento de este microorganismo en el aparato genital masculino o femenino es raro, pero en algunos casos se informó como causa de una uretritis similar a la gonorrea. La neumonía intrahospitalaria debida a *Moraxella catarrhalis* puede ocurrir en unidades respiratorias y en unidades pediátricas de cuidados intensivos.^{5,8}

En unos pocos casos, casi todos en niños, se ha descrito un exantema petequeial o purpúrico similar al observado en la sepsis meningocócica y aunado a coagulación intravascular diseminada.⁸

CAPÍTULO 4



PROCEDIMIENTO DE DIAGNÓSTICO PARA *Moraxella catarrhalis*

Contenido

4.1. Examen microscópico.....	74
4.2. Cultivo	75
4.3. Pruebas de identificación	76
4.3.1. Catalasa.....	79
4.3.2. Oxidasa (Método de Kovac).....	82
4.3.3. Prueba del butirato.....	82
4.3.4. Fermentación de hidratos de carbono	84
4.3.5. Reducción del nitrato.....	87
4.3.6. Hidrólisis del ADN	88
4.3.7. β -lactamasas y sensibilidad a los antibióticos	90
4.3.8. Sistemas comerciales para la identificación de <i>Moraxella catarrhalis</i>	93
Anexo I. Procedimientos para la toma de muestras	107
Anexo II. Principios e interpretación de pruebas bioquímicas.....	115

Moraxella catarrhalis causa infecciones de las vías respiratorias bajas en adultos, sobre todo en los casos de enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC). La identificación de *Moraxella catarrhalis* como patógeno en esta situación se retrasó hasta los últimos 20 años, debido a que *Moraxella catarrhalis* es indistinguible de las especies comensales de *Neisseria sp.* mediante la tinción de Gram y resulta difícil de distinguir por la morfología de

la colonia. Por consiguiente y a menos que los laboratorios de microbiología clínica investiguen de forma específica las colonias que parezcan *Neisseria sp.*, *Moraxella catarrhalis* pasara desapercibida como posible patógeno en el esputo.⁹

A través de los años, los siguientes criterios se han utilizado para sin ambigüedad distinguir a *Moraxella catarrhalis* de otras especies de bacterias: tinción de Gram, morfología de la colonia, la falta de pigmentación de la colonia en agar sangre, la producción de oxidasa, producción de DNasa, la falta de producción de ácido a partir de glucosa, maltosa, sacarosa, lactosa y fructosa, crecimiento a 22 °C en agar nutritivo, la incapacidad de crecer en medio de Thayer-Martin modificado y, por último, reducción de nitrato y nitrito.⁴⁶

4.1 Examen microscópico

La identificación como punto de partida se hace mediante una tinción de Gram (Ver figura 17). Se observa un gran número de moraxelas en forma de cocos gramnegativos, a menudo alineados de dos en dos con los lados adyacentes aplanados, lo que les confiere el aspecto

de granos de café (Ver figura 15). Cabe mencionar que la bacteria tiene una tendencia para resistir la decoloración debido a sus capas de peptidoglucano, por lo que puede ser Gram variable. Puede observarse de forma intracelular en los leucocitos polimorfonucleares (Ver figura 16).^{8, 9, 11, 46}

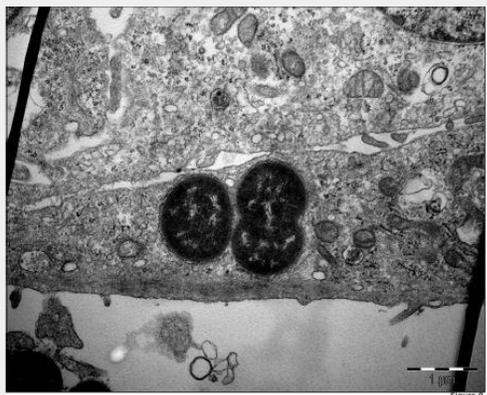
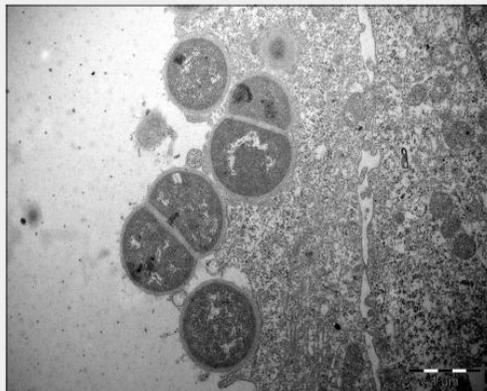


Figura 15. Micrografía electrónica de transmisión de *Moraxella catarrhalis* (cepa 287).⁶⁰

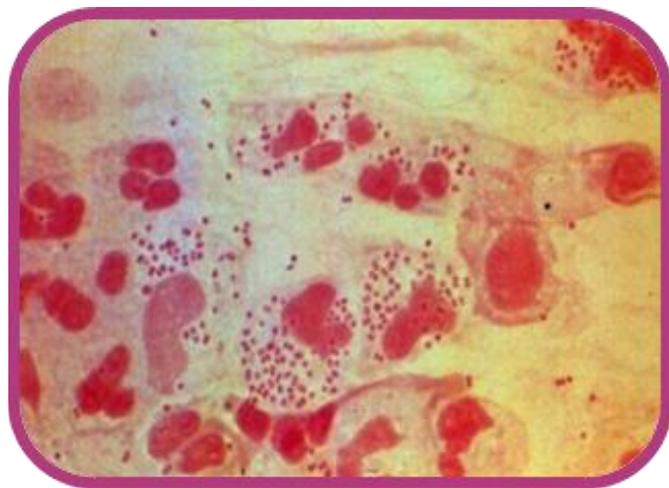
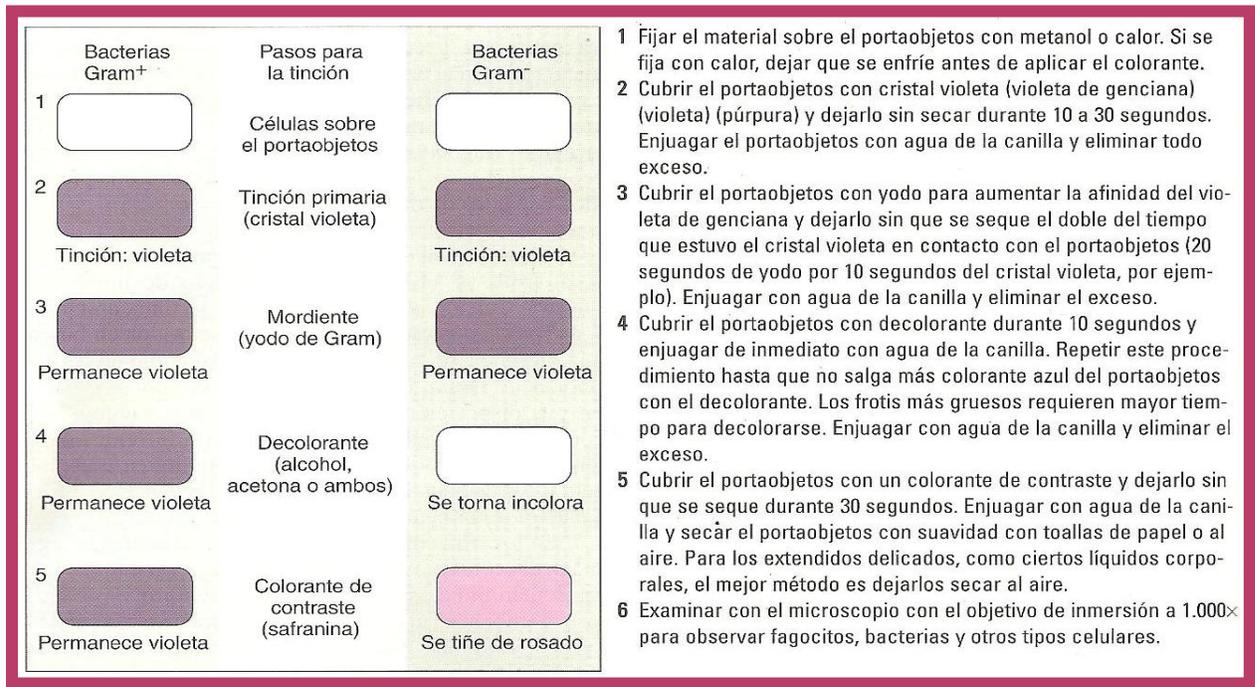


Figura 16. Como los meningococos y *Haemophilus influenzae*, *Moraxella catarrhalis* es a menudo visible en el citoplasma de los neutrófilos, al ser fagocitada por estos.³²

Figura 17. Procedimiento para la tinción de Gram ¹¹

4.2 Cultivo

Moraxella catarrhalis crece adecuadamente en los medios utilizados para neisserias, en medios enriquecidos tanto en agar chocolate como en agar sangre, en casi todos los medios líquidos y otros medios selectivos (Ver figura 18). En agar McConkey tienen poco o ningún desarrollo. Aunque la mayoría de las cepas no crecen en el medio de Thayer Martin modificado, aparecen cepas que son en ocasiones suficientemente resistentes a los antibióticos del medio (colistina, nistatina, vancomicina y trimetoprim) como para llevar a cabo su crecimiento. ^{5, 9, 10, 11, 12 14, 16, 17}



Figura 18. *Moraxella catarrhalis* cepa O35E crecido en una placa de agar de Todd Hewitt durante 20 horas a 37 °C. ³⁵

El microorganismo es no sacarolítico en las pruebas de degradación de los hidratos de carbono y en realidad puede tornar alcalinos los medios de identificación con base de peptona como agar proteosa peptona o agar cisteína proteosa peptona. Se ha descrito un medio selectivo que contiene acetazolamida como inhibidor del resto de la biota normal del tracto respiratorio superior. Los aminoácidos glicina y arginina son los principales factores de crecimiento en un medio definido para todas las cepas de *Moraxella catarrhalis*.^{5, 39}

En caso de un hisopado nasofaríngeo, la muestra se inocula directamente, si es una muestra de esputo debe ser validada por tinción de Gram, y se procede a cultivar aquellas que presentan menos de 10 células epiteliales escamosas y más de 25 leucocitos por campo (Ver Anexo I. Procedimientos para toma de muestras).⁷

Todos los cultivos se realizan a temperatura óptima de 35-37 °C en una atmosfera de CO₂ (3 al 7%) durante 24 horas en agar Sangre de Carnero al 5%, para observar típicas colonias circulares, convexas, no pigmentadas o grisáceas, con un diámetro aproximado de 3-5 mm, opacas (son más opacas en agar chocolate), lisas, friables que no se adhieren al medio y no producen hemolisis. A las 48 de crecimiento, las colonias tienden a ser mayores que las de *Neisseria sp.*, ya que se alargan y aplanan, además adquieren un color gris a rosado, como ocurre en las neisserias saprofitas, muestran el “signo del disco de hockey” al desplazarse intactas sobre la superficie del agar como si fuesen discos de hockey, debido a su consistencia gomosa friable, por lo que pueden ser tomadas enteras de la superficie del agar con una asa bacteriológica. Además, característicamente las colonias se desintegran en trozos cuando se quiebran con el asa bacteriológica.^{5, 9, 10, 11, 14, 16, 17, 40}

Moraxella catarrhalis es difícil de distinguir de *Neisseria sp.* por la morfología de la colonia, sobre todo después de un crecimiento nocturno en placas de agar. Dado que las muestras respiratorias suelen contener *Neisseria sp.*, las colonias sospechosas deben ser investigadas ante la posibilidad de que sean *Moraxella catarrhalis*. Sin embargo, *Moraxella catarrhalis* puede diferenciarse de los meningococos y de los gonococos sobre la base de su crecimiento en agar sangre a 22°C y en agar nutritivo a 35°C.^{9, 11}

Posteriormente, se realiza la tinción Gram para corroborar la morfología y realizar el aislado bajo las mismas condiciones en agar Sangre de Carnero al 5%, agar Columbia con 5% de sangre o agar Chocolate (Ver figura 19).³³

4.3 Pruebas de identificación

Las pruebas bioquímicas de mayor relevancia realizadas para la identificación de *Moraxella catarrhalis* son catalasa, oxidasa, y las pruebas que permiten su diferenciación del género *Neisseria sp.* son la producción de ácidos a partir de azúcares, la reducción de nitrato y

nitrito, la hidrólisis de la tributirina y la detección de nucleasas (DNasa). *N. cinerea*, es una bacteria muy parecida a *Moraxella catarrhalis* en su cultivo por lo que puede diferenciarse de esta con las tres últimas pruebas antes mencionadas. El Anexo II muestra los principios e interpretación de cada una de las pruebas bioquímicas realizadas para la identificación de *Moraxella catarrhalis*.⁵

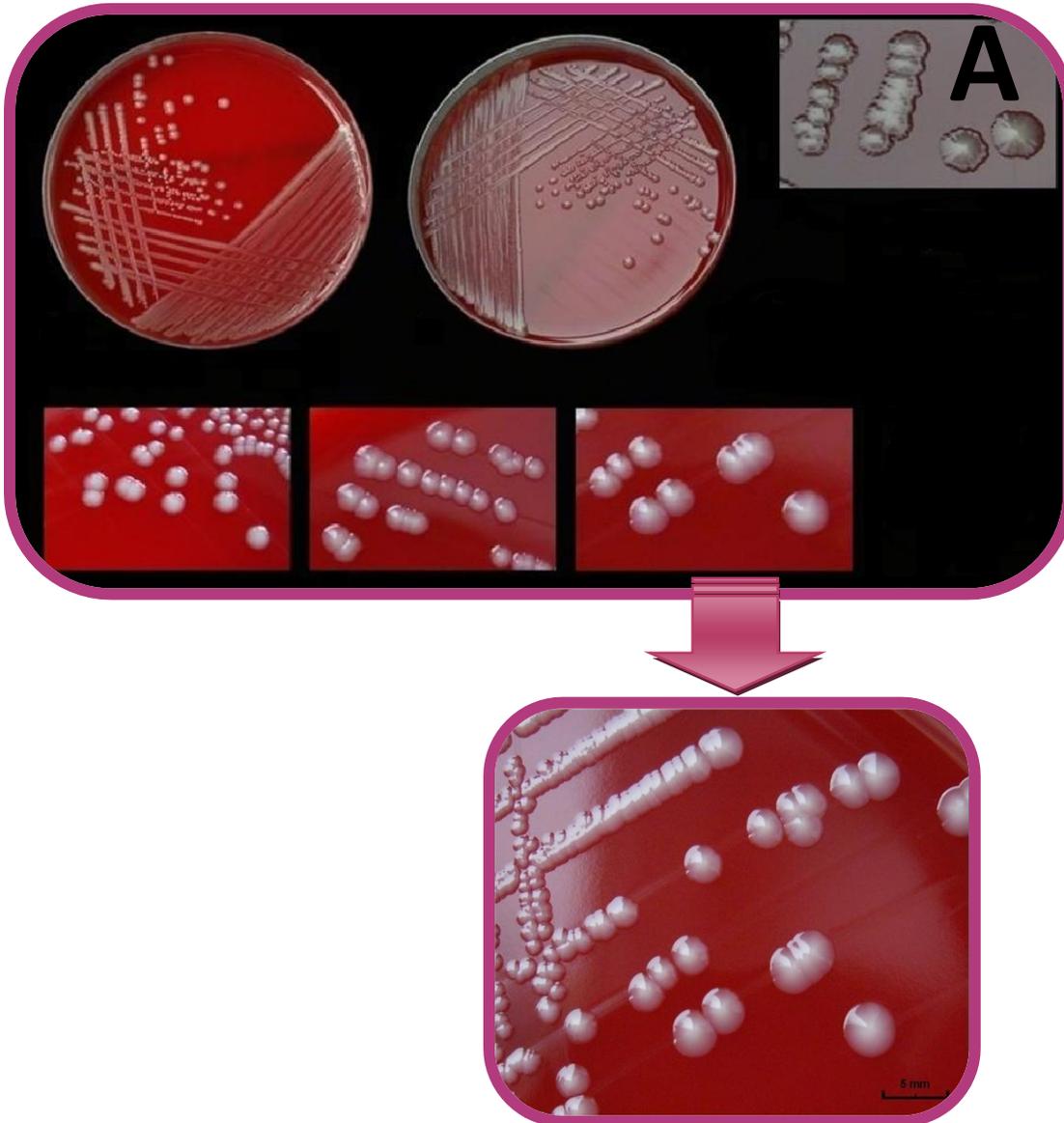


Figura 19. Colonias de *Moraxella catarrhalis* en agar Columbia con 5% de sangre. Cultivada por 24 horas a 37°C en una atmósfera aeróbica enriquecida con 5% de dióxido de carbono. *Moraxella catarrhalis* crece sin hemólisis, además, muestra el “signo del disco de hockey” al desplazar sus colonias intactas sobre la superficie del agar al intentar tomarlas con un asa como si fuesen discos de hockey, debido a su consistencia friable (ver A).^{MODIFICADO DE 33}

Por otro lado, *Moraxella catarrhalis* puede diferenciarse de las otras especies de moraxellas por la prueba de disco de penicilina. El microorganismo se cultiva en una placa de agar sangre soya triptica y se siembra para obtener un desarrollo confluyente. Luego se coloca un disco de sensibilidad de penicilina (10 unidades) sobre el inóculo. Después de una incubación de toda la noche en CO₂, se prepara una tinción de Gram a partir del desarrollo en el borde de la zona de inhibición. Las especies de *Neisseria sp.* y *Moraxella catarrhalis* retendrán su morfología de diplococos, aunque las células pueden aparecer hinchadas. Las especies de *Moraxella sp.* cocobacilares formaran filamentos largos o células en forma de huso bajo la influencia de las concentraciones inhibitorias de la penicilina. El cuadro 5 muestra la relación de pruebas bioquímicas entre *Moraxella catarrhalis*, especies de *Neisseria sp.* y las “falsas neisseria” con el fin de realizar un diagnóstico diferencial. También se debe detectar la producción de β-lactamasas (Ver figura 20).^{9,16}



Figura 20. *Moraxella catarrhalis* es un ejemplo de bacteria no sacarolítica. Esta no es capaz de fermentar glucosa, maltosa, fructosa o sacarosa; es oxidasa positiva, la prueba de GGT (γ-glutamyltransferasa) es negativa, la hidrólisis de la tributirina es positiva y la prueba de SPS (síntesis de polisacárido) es negativa para esta bacteria (NEISSERIAtest, PLIVA Lachema, CzechRepublic).³³

4.3.1 Catalasa

Moraxella catarrhalis: + (Positivo) (ver Anexo II).^{5, 59}

PRINCIPIO
La enzima catalasa interviene en la degradación del peróxido de hidrógeno (H_2O_2) en oxígeno y agua. La presencia de la enzima en un aislamiento bacteriano se pone en evidencia cuando se introduce un inóculo pequeño dentro del peróxido de hidrógeno (solución al 30%) y se produce la formación rápida de burbujas de oxígeno. La ausencia de catalasa es evidente cuando falta la producción de burbujas o es muy débil.

MÉTODO

1. Se utiliza un ansa o un palillo de madera estéril para transferir una pequeña cantidad del crecimiento de una colonia a la superficie de un portaobjetos limpio y seco.
2. Se coloca una gota de peróxido de hidrógeno (H_2O_2) al 30% sobre el inóculo.
3. Se observa para comprobar el desarrollo de las burbujas de oxígeno (véase Figura 13-8).

RESULTADOS ESPERADOS
Positivo: producción de gran cantidad de burbujas (Figura 13-8A).
Negativo: ausencia de burbujas o muy escasa cantidad (Figura 13-8B).

NOTA: algunos microorganismos (enterococos) producen una peroxidasa que cataliza lentamente la degradación del H_2O_2 y la prueba puede parecer débilmente positiva. Esta reacción no es una prueba positiva verdadera.

CONTROL DE CALIDAD
Positivo: *Staphylococcus aureus*
Negativo: *Streptococcus pyogenes*

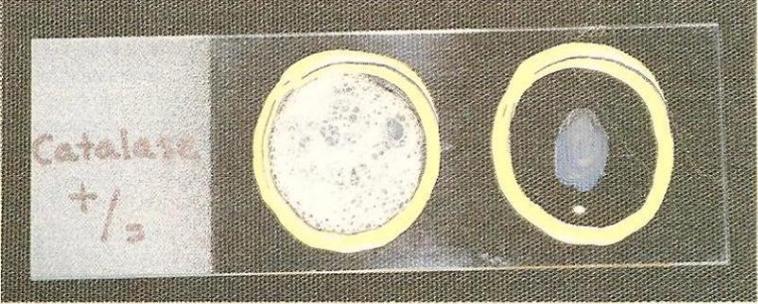


Figura 13-8 Prueba de la catalasa. A, positiva. B, negativa.

Figura 21. Prueba de la catalasa.¹¹

El reactivo Peróxido de hidrógeno al 30%:

- a) Debe conservarse en una botella oscura y refrigerarse durante todo el tiempo que no se utiliza. Evitar cualquier exposición indebida a la luz.⁵⁹

Durante el procedimiento:

- b) La prueba no puede aplicarse si la muestra proviene de una placa de agar sangre de carnero, debido a una posible contaminación con eritrocitos, ya que puede haber una producción débil de burbujas pero esto no debe interpretarse como una prueba positiva.^{5, 59}
- c) No invertir el orden del procedimiento ya que pueden ocurrir resultados falsos positivos.⁵⁹
- d) No mezclar con la asa de inoculación. No es necesario mezclar el peróxido y el cultivo.⁵⁹
- e) Se debe observar la producción inmediata de burbujas.⁵⁹
- f) Al finalizar el procedimiento, descartar el portaobjeto en un desinfectante.⁵⁹

Cuadro 5. Características para la identificación de especies de *Neisseria* sp., *Moraxella catarrhalis* y las "falsas neisserias". MODIFICADO DE 5

ESPECIES	OXIDASA	CATALASA	CRECIMIENTO EN:		PRODUCCIÓN DE ÁCIDO DE:				GLUCOSA	FRUCTUOSA	LACTOSA	POLISACÁRIDO DE SACAROSA	REDUCCIÓN DE NO ₃ NO ₂ ⁻	DNASA	HIDROLISIS DE TRIBUTIRINA	HÁBITATS
			Medio selectivo, 35°C	Agar nutritivo, 35°C	Agar chocolate, 22°C	Maltosa	Sacarosa	Sacarosa								
<i>N. gonorrhoeae</i>	+	+	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	SH
<i>N. meningitidis</i>	+	+	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-	V	-	-	SH
<i>N. lactamica</i>	+	+	+	-	-	-	+	-	-	+	-	-	V	-	-	SH
<i>N. cinerea</i>	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	V	-	-	SH
<i>N. polysaccharea</i>	+	+	V	-	+	+	+	-	-	-	-	+	V	-	-	SH
<i>N. sicca</i>	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	-	-	SH
<i>N. subflava</i>																
<i>bv. subflava</i>	+	+	-	+	+	+	+	-	-	-	-	-	+	-	-	SH
<i>bv. flava</i>	+	+	-	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	-	-	SH
<i>bv. pefflava</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	-	SH
<i>N. mucosa</i>	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	-	SH
<i>N. flavescens</i>	+	+	-	-	+	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-	SH
<i>N. elongata</i>																
<i>subsp. elongata</i>	+	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	SH
<i>subsp. glycolytica</i>	+	+	-	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	-	-	SH
<i>subsp. nitroreducens</i>	+	-	-	+	+	+	+	-	-	-	-	-	+	-	-	SH

Continuación...

ESPECIES	CRECIMIENTO EN:		PRODUCCIÓN DE ÁCIDO DE:				OXIDASA	CATALASA	REDUCCIÓN DE NO ₃	REDUCCIÓN DE NO ₂ *	POLISACÁRIDO DE SACAROSA	Lactosa Sacarosa	Fructuosa Sacarosa	Glucosa Maltosa	Lactosa Sacarosa	DNASA	HIDROLISIS DE TRIBUTIRINA	HÁBITATS
	Medio selectivo 35°C	Agar nutritivo 35°C	Agar chocolate 22°C	Fructuosa	Sacarosa	Lactosa												
<i>N. weaveri</i>	+	+	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	PERROS
<i>M. canis</i>	+	ND	ND	-	-	-	-	+	-	ND	-	-	-	-	-	ND	-	PERROS
<i>N. denitrificans</i>	+	-	ND	+	+	+	+	-	+	ND	-	-	-	-	-	ND	-	COBAYOS
<i>N. macacae</i>	+	-	ND	+	+	+	+	-	+	ND	-	-	-	ND	ND	ND	ND	PRIMATES
<i>M. caviae</i>	+	ND	ND	-	-	-	-	+	+	ND	-	-	-	-	ND	ND	+	COBAYOS
<i>M. ovis</i>	+	ND	ND	-	-	-	-	+	-	ND	-	-	-	-	ND	ND	+	OVEJAS/ VACAS
<i>M. cuniculi</i>	+	ND	ND	-	-	-	-	-	-	NA	-	-	-	-	NA	+	+	CONEJOS
<i>M. catarrhalis</i>	+	V	+	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-	+	+	+	SH

+, Reacción positiva; -, reacción negativa; V, reacción variable; +^d, reacción positiva débil; ND, datos no disponibles; SH, seres humanos.

* Las reacciones mostradas están en medios con 0,1% nitrito, *N. gonorrhoeae* reducirá 0,01% de nitrito.

[†] Algunas cepas recuperadas en medios selectivos.

[‡] Algunas cepas desarrolladas en medios selectivos.

4.3.2 Oxidasa (Método de Kovac)

Moraxella catarrhalis: + (Positivo) (ver Anexo II).^{5, 59}

PRINCIPIO

Esta prueba se utiliza para determinar la presencia de citocromooxidasa bacteriana mediante el empleo de la oxidación del sustrato dihidroclorhidrato de tetrametil-*p*-fenilendiamina a indofenol, un producto final de color violeta oscuro. El desarrollo del color mencionado indica una prueba positiva (presencia de oxidasa). La falta del desarrollo de ese color indica una prueba negativa y ausencia de la enzima.

MÉTODO

1. Se humedece un papel de filtro con el sustrato (dihidroclorhidrato de tetrametil-*p*-fenilendiamina al 1%) o se se-

lecciona un disco de papel disponible en el comercio impregnado con el sustrato.

2. Se utiliza un alambre de platino o un palillo de madera para obtener una porción pequeña de una colonia bacteriana (de preferencia de no más de 24 horas) de la superficie del agar y se frota la muestra sobre el papel de filtro o discos comerciales. **NOTA:** los alambres de níquel que contienen cromo y hierro (cromoníquel) utilizados para frotar la colonia sobre el papel de filtro pueden dar resultados falsos positivos.
3. Se observa en el área inoculada del papel o el disco en busca de un cambio de

color a azul o violeta oscuro (Figura 13-33) dentro de los 10 segundos (el tiempo es fundamental).

RESULTADOS ESPERADOS

Positivo: desarrollo de color violeta oscuro dentro de los 10 segundos (Figura 13-33A).

Negativo: ausencia de color (Figura 13-33B).

CONTROL DE CALIDAD

Positivo: *Neisseria gonorrhoeae*

Negativo: *Escherichia coli*

Figura 13-33 Prueba de la oxidasa. **A**, positiva. **B**, negativa.

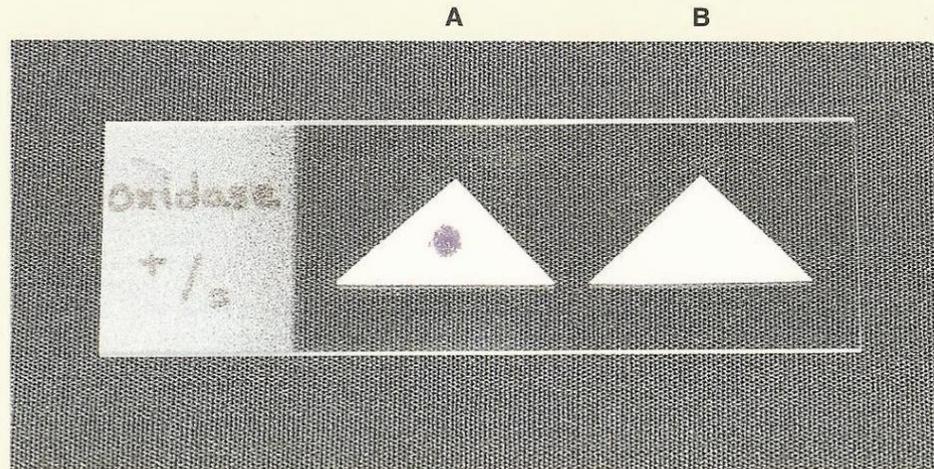


Figura 22. Prueba de la oxidasa (método de Kovac).¹¹

4.3.3 Prueba del butirato

Moraxella catarrhalis también puede ser diferenciada de las especies de *Neisseria sp.* por su capacidad de hidrolizar los grupos butirato con unión éster (butirato esterasa).⁵

Moraxella catarrhalis: + (Positivo) (ver Anexo II).^{5, 59}

Tiras de butirato de indoxilo (hidrólisis de la tributirina)

Butylase Lab M. Co., Bury, Inglaterra. Sugiere guardar en bolsa de plástico cerrada a 4°C con desecante; fecha de vencimiento a los 4 meses.⁵⁹

Inóculos: Medio de desarrollo: agar chocolate, agar nutritivo o placa de agar sangre. Cultivo puro. Incubación: 35°C, 14-18 horas, 5% CO₂.⁵⁹

Procedimiento: Untar suficiente cultivo puro sobre la tira de papel de filtro como para que sea visible. Humedecer la tira con 10 µL de agua a temperatura ambiente (22-25°C). Los estudios no mostraron ninguna diferencia entre mojar con agua de la llave, agua destilada estéril, buffer Tris (pH 7.5) o solución fisiológica al 0.9%. Dejar a temperatura ambiente.⁵⁹

Control de calidad: Positivo: *Moraxella catarrhalis*. Negativo: *Neisseria lactamica* (ver figura 23).⁵⁹

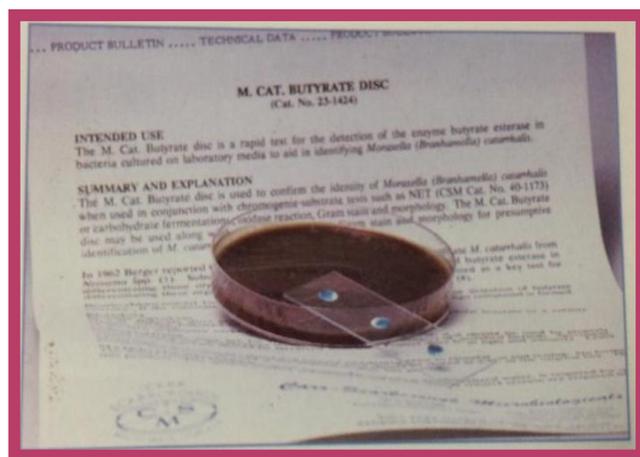
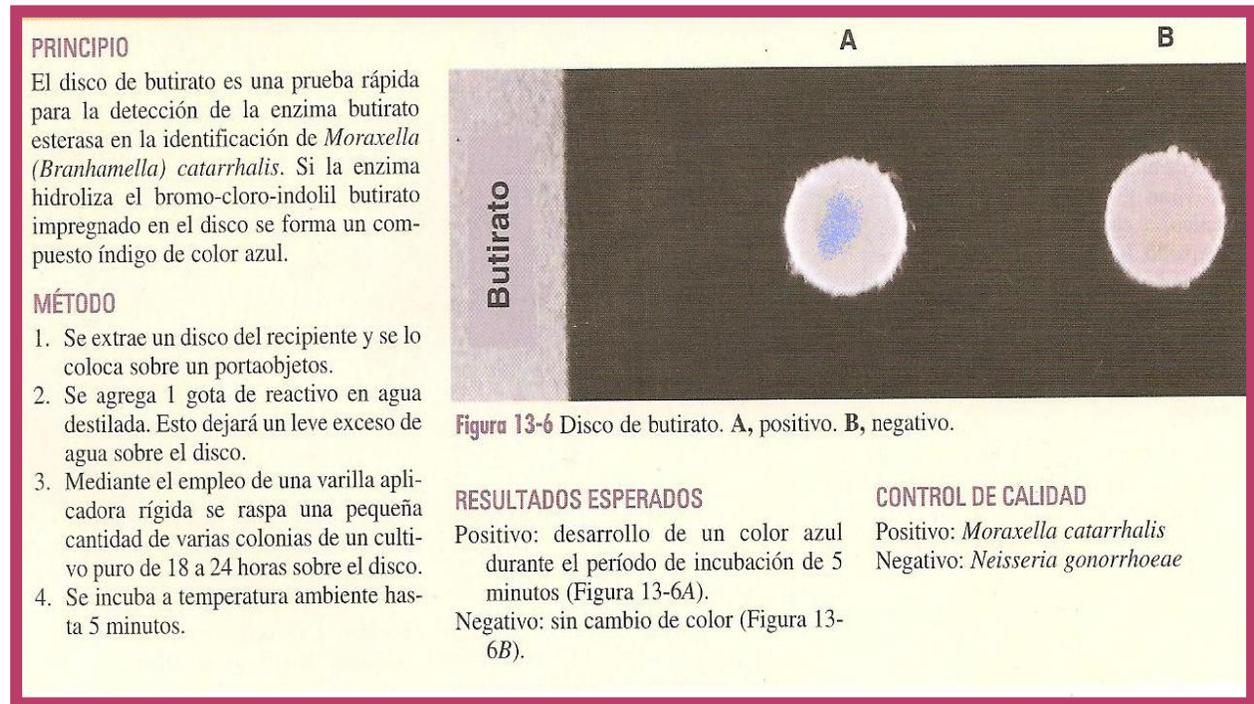


Figura 23. La prueba en disco *M. cat* butirato (Carr-Scarborough Microbiologicals, Decatur, GA). Las cepas de *Moraxella catarrhalis* producen una enzima butirato esterasa capaz de hidrolizar indoxil butirato. Un disco de papel de filtro impregnado con indoxil butirato se humedece con agua y se frota con el desarrollo de una colonia sobre el disco. La enzima butirato esterasa hidroliza el compuesto y aparece un color azul verdoso en el disco dentro de los 2 minutos. Esta figura muestra tres discos de *M. cat* butirato positivos sobre un portaobjetos de vidrio.⁵

Esta actividad enzimática también se puede detectar mediante un sustrato denominado bromo-cloro-indolil butirato (ver figura 24).

Figura 24. Prueba del butirato. ¹¹

4.3.4 Prueba de utilización rápida de hidratos de carbono

***Moraxella catarrhalis*:** - (Negativo, no hay producción de ácido a partir de glucosa, maltosa, sacarosa, lactosa y fructosa) (ver Anexo II). ^{5, 59}

Medio CTA/hidrato de carbono (utilizado para *Neisseria* sp.):

La técnica convencional usa un medio semisólido de agar base cistina-tripticosa (CTA). ⁵⁹

Ingredientes, pH 7.3

Cistina (un aminoácido)	0.5 g
Trypticosa (tríptico) peptona (o digerido pancreático de la caseína)	20 g
Cloruro de sodio, NaCl	5 g
Sulfito de sodio, Na ₂ SO ₃	0.5 g
Rojo fenol	0.017 g
Agar	2.5-3.5 g

Agua destilada

1 L

Indicador: rojo de fenol. Ácido, color amarillo, pH 6.8. Alcalino, color rosado rojo, pH 8.4. Medio sin inocular, color naranja rojizo, pH 7.3.⁵⁹

Soluciones de hidratos de carbono al 1%: glucosa, maltosa, sacarosa y lactosa, más un control CTA sin hidratos de carbono.⁵⁹

Inóculo: Una asada de un crecimiento puro confluyente identificado de manera presuntiva, cultivado en una placa de agar chocolate proveniente de un medio de aislamiento; incubado a 35°C durante 18-24 horas en CO₂ al 6%.⁵⁹

Inoculación: El inóculo se separa en 0,5 mL de solución fisiológica y se divide entre los tubos o cada tubo se inocula en forma individual con una asada del microorganismo puncionando varias veces en el tubo 1/3 superior del medio.^{5,59}

Incubación: 35°C, CO₂ al 5-10%, examinar todos los días para evaluar el crecimiento (turbidez) y la producción de ácido (color amarillo) durante 1-4 días (ver figura 25).^{5,59}



Figura 25. Agar semisólido digerido de cistina y tripticasa (CTA) convencional para la identificación de especies de *Neisseria sp.* Esta fotografía muestra la batería típica de medios con hidratos de carbono usados para la identificación. Se incluyen (de izquierda a derecha) CTA-glucosa, CTA-maltosa, CTA-sacarosa y CTA-lactosa. El medio basal CTA contiene un indicador rojo de fenol y un cambio en el color del medio de rojo a amarillo indica la producción de ácido a partir de hidrato de carbono correspondiente. En esta fotografía, el ácido se ha producido sólo de la glucosa e identifica el microorganismo como *N. gonorrhoeae*.⁵

Prueba modificada del procedimiento detallado en *Cumitech 4*, de la American Society for Microbiology:

Medio sintético que no es de crecimiento; solución de sales exentas de nitrógeno. En una prueba rápida de utilización de hidratos de carbono.⁵

Solución amortiguadora (buffer) de fosfatos equilibrada (BBS); solución madre 10x, ingredientes, pH 7:

Fosfato de potasio monobásico, KH_2PO_4	0.1 g
Fosfato dipotásico, K_2HPO_4	0.4 g
Cloruro de potasio, KCl	8 g
Agua destilada	100 mL

Esterilizar por filtración y almacenar entre 4 y 8°C. ⁵

Solución de trabajo: Agregar 10 mL de BBS 10x a 90 mL de agua destilada. Después de esto se agrega 0.5 a 0.8 mL de una solución acuosa al 1% de rojo fenol a la solución, de modo que el producto final tenga un color rojo cereza. Esta solución de trabajo se esteriliza luego por filtración. Para asegurar que el agua tiene el pH adecuado, se recomienda el uso de agua destilada de grado farmacéutico. ⁵

Soluciones madre de hidratos de carbono: Pesar 10 g de glucosa, maltosa, sacarosa y lactosa (y, si se desea, fructuosa) por separado. Disolver cada una de ellas en 50 mL de agua destilada (20% p/v de solución acuosa). Las soluciones se esterilizan por filtración, se fraccionan en frascos ampolla estériles y se congelan a -20°C. Es importante utilizar hidratos de carbono de grado analítico, debido a que la maltosa proviene de ciertos proveedores de medios para bacteriología puede estar contaminada con glucosa. Los hidratos de carbono pueden obtenerse de Sigma Chemical Company (St. Louis, MO), Fisher Scientific Company (Fairlawn, NJ) o de Mallinckrodt Chemical Works (St. Louis, MO). ⁵

Control de calidad: Glucosa positivo, *N. gonorrhoeae*; maltosa positivo, *N. meningitidis*; lactosa positivo, *N. lactamica*; sacarosa y fructosa positivo, *N. mucosa*. ⁵

Indicador: rojo fenol. Ácido, color amarillo, pH 6.8. Alcalino, color rosado rojo, pH 8.4. Medio sin inocular, color naranja rojizo, pH 7.3. ⁵

Procedimiento: Se marca una serie de tubos estériles de 12x75 mm con el nombre del azúcar por probar. Por lo general, se utiliza glucosa, maltosa, sacarosa y lactosa. Algunos laboratorios también incluyen fructosa en la serie de pruebas. Se incluye un tubo adicional, marcado con el número de aislamiento de la muestra, para la preparación del inóculo. ⁵

Se agrega a cada uno de los tubos para hidratos de carbono 0.1 mL de BBS de trabajo. En el tubo del inóculo se colocan 0.3 a 0.4 mL de BBS. ⁵

Se agrega una sola gota del hidrato de carbono correspondiente a cada uno de los tubos marcados, con una pipeta de Pasteur. Con un asa bacteriológica estéril se prepara una suspensión densa del microorganismo por probar en el tubo inóculo. El cual se prepara de

un cultivo puro de 18 a 24 horas en agar chocolate del microorganismo. La suspensión se agita con cuidado con un agitador mecánico para obtener una suspensión densa y uniforme. Se agrega una gota de inóculo a cada uno de los tubos que contienen hidratos de carbono. Los tubos se agitan brevemente para asegurar una mezcla completa y se colocan en baño María o estufa a 35°C durante 4 horas.⁵

Este método es muy económico, los reactivos son fáciles de preparar e inocular, y los resultados son bien definidos (ver figura 26).⁵



Figura 26. Prueba de utilización rápida de hidratos de carbono para la identificación. Esta fotografía muestra una serie de hidratos de carbono-BSS compuestos de (izquierda a derecha) BSS sola (para la suspensión del microorganismo), los tubos BSS-glucosa, BSS-maltosa, BSS-fructuosa, BSS-sacarosa y BSS-lactosa. Porque se ha producido ácido en los tubos BSS-glucosa y BSS-maltosa (cambio de color de rojo a amarillo), el microorganismo se identifica como *N. meningitidis*.⁵

4.3.5 Reducción del nitrato

Moraxella catarrhalis: NO₃, NO₂, NG (Reduce NO₃ y NO₂ sin producción de gas) (ver Anexo II).⁵⁹

Por medio de esta prueba puede realizarse el diagnóstico diferencial con *N. cinerea*, la cual es negativa para esta prueba.⁵



PRINCIPIO

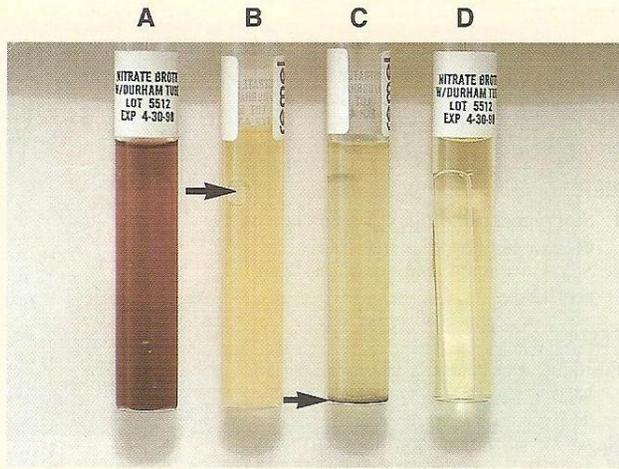
Esta prueba se utiliza para determinar la capacidad de un microorganismo de reducir el nitrato. La reducción del nitrato a nitrito se determina por el agregado de ácido sulfanílico y alfanafitilamina. El ácido sulfanílico y el nitrito reaccionan para formar una sal de diazonio. A continuación la sal de diazonio se une con la alfanafitilamina para producir un colorante azoico rojo hidrosoluble.

MÉTODO

1. Se siembra el caldo nitrato (Figura 13-29D) con 1 a 2 gotas de un cultivo joven en caldo del microorganismo de prueba.
2. Se incuba durante 48 horas a 35°C en aerobiosis (algunos microorganismos pueden requerir más tiempo de incubación para lograr el crecimiento adecuado). La prueba se realiza sobre estos cultivos 24 horas después de la detección de un crecimiento evidente o después de un máximo de 7 días.
3. Después de un período de incubación conveniente se examina el cultivo en caldo nitrato en busca de gas, reducción del nitrato y reducción del nitrito según los pasos siguientes:
 - a. Se observa el tubo de Durham invertido en busca de gas, indicado por burbujas dentro del tubo.
 - b. Se agregan 5 gotas de cada solución del reactivo para nitratos A (ácido sulfanílico) y B (alfanafitilamina). Se observa durante al menos 3 minutos para ver si aparece un color rojo.
 - c. Si no aparece el color se realiza una prueba adicional mediante el agregado de polvo de cinc. Se sumerge un palillo de madera en el polvo de cinc y se transfiere sólo la cantidad que se adhiere al palillo al cultivo en caldo nitrato al que se le habían agregado las soluciones A y B. Se observa durante al menos 3 minutos para ver si aparece el color rojo. Dejar el palillo quebrado dentro del tubo tras el agregado del cinc es útil para marcar la etapa en la que se encuentra la prueba.

Figura 13-29

Reducción del nitrato
A, positivo, ausencia de gas.
B, positivo, gas (flecha).
C, positivo, falta de color después del agregado de cinc (flecha).
D, tubo sin sembrar.



RESULTADOS ESPERADOS

La prueba de reducción del nitrato se lee para determinar la presencia o la ausencia de tres productos metabólicos: gas, nitrato (NO_3) y nitrito (NO_2). Los resultados esperados pueden resumirse como sigue:

CONTROL DE CALIDAD

NO_3^+ , sin producción de gas: *Escherichia coli*
 NO_3^+ , gas: *Pseudomonas aeruginosa*
 Negativo: especies de *Acinetobacter*

Reacción	Gas	Color después del agregado de las soluciones A y B	Color después del agregado de cinc	Interpretación
$\text{NO}_3 \rightarrow \text{NO}_2$ (Figura 13-29A)	No	Rojo	—	NO_3^+ , sin producción de gas
$\text{NO}_3 \rightarrow \text{NO}_2$ parcial, productos finales no gaseosos	No	Rojo	—	NO_3^+ , sin producción de gas
$\text{NO}_3 \rightarrow \text{NO}_2$, productos finales gaseosos (Figura 13-29B)	Sí	Rojo	—	NO_3^+ , gas ⁺
$\text{NO}_3 \rightarrow$ productos finales gaseosos (Figura 13-29C)	Sí	No	No	NO_3^+ , NO_2^+ , gas ⁺
$\text{NO}_3 \rightarrow$ productos finales no gaseosos	No	No	No	NO_3^+ , NO_2^+ , sin producción de gas
$\text{NO}_3 \rightarrow$ sin reacción	No	No	Rojo	Negativo

Figura 27. Prueba de reducción del nitrato. ¹¹

4.3.6 Hidrólisis del DNA

Moraxella catarrhalis: + (Positivo dentro de los 15 minutos, el colorante alrededor de la colonia forma un halo magenta) (ver Anexo II). ⁵⁹

Prueba de DNasa en agar

Procedimiento de Soto-Hernández, Nunley, Holtsclaw-Berk y Berk:

Medio selectivo y diferencial utilizado para el aislamiento primario rápido de *Moraxella catarrhalis* (+) de las especies de *Neisseria sp.* (-) en cultivos mixtos; suprime el crecimiento de otra biota del tracto respiratorio superior. Utilizado en el cultivo de esputo sistemático cuando el extendido con la tinción de Gram demuestra la presencia de células inflamatorias y diplococos gramnegativos.⁵⁹

Medio agar de prueba para DNasa: 42 g/L, pH 7.26 ± 0.2, al cual se agrega:

Ácido desoxirribonucleico (DNA) 0.2 %	2 g
Digerido pancreático de caseína, USP	15 g
Digerido pálmico de harina de soya, USP	5 g
Cloruro de sodio, NaCl	5 g
Vancomicina	10 µg/mL
Trimetoprim	8 µg/mL
Anfotericina B	2 µg/mL
Agar, 1.5%	15 g
Agua desionizada	1 L

Inoculación: inóculo denso; en forma de manchas, diámetro de 0.3 a 0.6 cm hasta 8 inóculos/placa.⁵⁹

Incubación: 35°C, CO₂ al 5%, 48 horas.⁵⁹



Tinción final: Colonias anegadas (cubiertas) con una gota de solución azul de toluidina O (TBO) tamponada al 0.04% durante 15 minutos (ver figura 28 y 29).⁵⁹

Figura 28. Prueba de DNasa en agar con azul de toluidina O. *Serratia marcescens*: positivo (halo rosa); *Klebsiella pneumoniae* subespecie *pneumoniae*: negativo.⁵⁹



Figura 29. Agar DNasa con *Moraxella catarrhalis*. La producción de DNasa es una prueba confirmatoria de identificación de *Moraxella catarrhalis*. El aislamiento a probar se siembra en forma de mancha densa en una zona del agar DNasa con azul de toluidina O. La hidrólisis del ADN presente en el medio, por parte de la DNasa bacteriana, produce un cambio de color en el medio, de azul a rosa, por debajo y alrededor del inóculo.⁵

4.3.7 β -lactamasas y sensibilidad a los antibióticos

La mayoría de las cepas clínicamente importantes de *Moraxella catarrhalis* también producen una β -lactamasa inducible asociada a la célula.¹¹

A finales de la década de 1970 tuvo lugar de forma simultánea en Estados Unidos y en Europa un rápido aumento de la proporción de cepas productoras de β -lactamasa. Esta es uno de los ejemplos más espectaculares de incremento rápido de la resistencia antimicrobiana en una especie bacteriana. La elaboración de estas enzimas contribuye a la virulencia del microorganismo dado que los aislamientos recuperados de enfermedades clínicas producen más de estas enzimas y tienen valores de concentración inhibitoria mínima más altos para la ampicilina que las cepas comensales.^{5,9}

En la actualidad, alrededor del 95% al 100% de los aislamientos clínicamente importantes producen β -lactamasas. Se han descrito dos tipos de β -lactamasas en las cepas de *Moraxella catarrhalis*, las cuales se diferencian por sus cargas isoeléctricas; sus orígenes son desconocidos y fenotípicamente similares. BRO-1 (o tipo Ravasio) es la β -lactamasa de mayor frecuencia, encontrándose en 90% de las cepas productoras de esta enzima, es cromosómica, constitutiva, estrechamente asociada a la célula y es inhibida por los inhibidores de las β -lactamasas como el clavulanato y el sulbactam. BRO-2 (o tipo 1908) le corresponde el 10% restante. Se produce en cantidades entre 10 y 100 veces menores que el tipo Ravasio. La estructura y la actividad de ambas enzimas es similar.^{3,5,8,9}

Una tercera enzima β -lactamasa, BRO-3 fue descrita, pero ahora se sabe que es un precursor unido a la membrana de las otras enzimas BRO. El nombre "BRO" es una contracción de "BRanhamella y mOraxella", debido a que se han encontrado β -lactamasas similares en moraxellas baciliformes: *M. lacunata* y *M. nonliquefaciens*. Se ha demostrado la transferencia por conjugación de BRO entre cepas de *Moraxella catarrhalis*, y entre ésta y *M. nonliquefaciens*.⁵

No hay razón para realizar en forma habitual otra prueba que no sea la de β -lactamasa en *Moraxella catarrhalis*, debido a que la sensibilidad del microorganismo a otros antibióticos es predecible. Además la prueba rápida de β -lactamasa puede dar resultados clínicamente pertinentes mucho antes que la prueba de sensibilidad a los antibióticos para aislados de *Moraxella catarrhalis*. Sin embargo, el Instituto de Estándares Clínicos y de Laboratorio (CLSI), mediante el documento de Métodos de dilución y pruebas en discos de sensibilidad a los antibióticos de aislados infrecuentes o bacterias fastidiosas (M45-A2), proporciona orientación a los laboratorios de microbiología clínica sobre estas pruebas de sensibilidad. Para *Moraxella catarrhalis* se recomienda la microdilución en caldo para la determinación de la concentración inhibitoria mínima (CIM) usando caldo Mueller-Hinton suplementado con cationes, inoculado directamente con las colonias aisladas hasta lograr una suspensión equivalente a 0.5 de la escala de McFarland, posteriormente incubadas a 35°C de 20 a 24 horas (ver cuadro 6). Aún no están disponibles los estándares y los puntos de corte mediante el método de difusión en disco.^{3, 5, 8, 9, 49, 51}

Los criterios mencionados en el cuadro 6 fueron adaptados de los criterios utilizados para *Haemophilus spp.*, los cuales están publicados en la edición actual del documento CLSI M100.⁴⁹

Cabe recalcar que las pruebas de dilución en caldo para ampicilina son dependientes del inóculo. Con inóculos más pequeños (10^4 UFC/mL), las cepas se muestran sensibles a la ampicilina y a otros β -lactámicos. Con inóculos mayores (10^7 UFC/mL), tienen CIM más elevadas y son resistentes. El efecto inóculo se observó para ampicilina, penicilina G, cefalotina, cefamandol, cefuroxima y cefaclor.⁵

Debido a su naturaleza inducible, las pruebas para β -lactamasa acidométricas rápidas (es decir, las que se basan en la conversión, por hidrólisis de la penicilina en ácido peniciloico) pueden dar resultados falso-negativos. La prueba cromogénica para cefalosporinas que emplea Nitrocefina (Cefinase, Becton Dickinson Microbiology Systems, Cockeysville MD) es la más sensible y específica, por lo que debe ocuparse para *Moraxella catarrhalis*.^{3, 5, 47, 48, 51}

Cuadro 6. Criterios para la prueba de sensibilidad a los antibióticos por microdilución en caldo de *Moraxella catarrhalis*⁴⁹

Tipo de Antibiótico	Antibiótico	MIC (µg/mL)		
		Interpretación del criterio		
		S	I	R
Penicilina/Inhibidor de β-lactamasa				
	Amoxicilina-Ácido clavulánico	≤ 4/2	-	≥ 8/4
Cefalosporinas				
	Cefaclor	≤ 8	16	32
	Cefuroxima	≤ 4	8	≥ 16
	Cefotaxima	≤ 2	-	-
	Ceftazidima	≤ 2	-	-
	Ceftriaxona	≤ 2	-	-
Macrólidos				
	Azitromicina	≤ 2	4	≥ 8
	Claritromicina	≤ 2	4	≥ 8
	Eritromicina	≤ 0.5	1-4	≥ 8
Quinolonas				
	Ciprofloxacino	≤ 1	-	-
	Levofloxacino	≤ 2	-	-
Tetraciclinas				
	Tetraciclina	≤ 2	4	≥ 8
Lincosamida				
	Clindamicina	≤ 0.5	1-2	≥ 4
Inhibidores de la vía folato				
	Trimetoprim-Sulfametoxazol	≤ 0.5/9.5	1/19-2/38	≥ 4/76
Fenicoles				
	Cloranfenicol	≤ 2	4	≥ 8
Ansamicinas				
	Rifampicina*	≤ 1	2	≥ 4

* La rifampicina no debe ser utilizado solo para la quimioterapia.

- La resistencia no fue detectada

Los discos de papel de filtro impregnados con Nitrocefin están disponibles en el comercio (ver Anexo II). Se coloca una asada tomada de una colonia sobre el disco y éste en una placa de Petri cerrada, para evitar la desecación rápida. Los microorganismos que contienen β-lactamasas cambian el color del disco del amarillo al rojo. La reacción tiene lugar por lo general antes de los 30 segundos, pero la lectura final de las pruebas se realiza a los 15 minutos. En cualquier caso la prueba de Nitrocefin ha sido la más sensible y específica para medir β-lactamasas (ver figura 30).^{3, 5, 47, 48, 59}

Un resultado positivo de la prueba de β-lactamasa indica resistencia a penicilina, ampicilina y amoxicilina de *Moraxella catarrhalis*.^{47, 48}

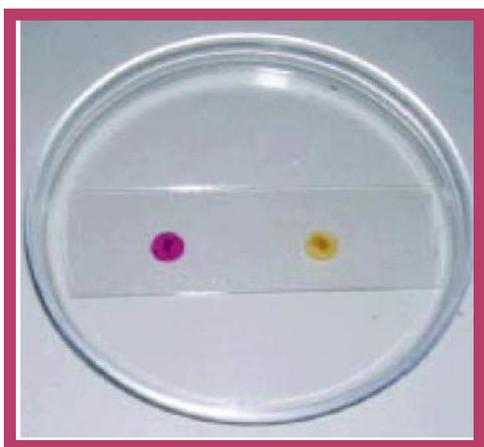


Figura 30. Método de nitrocefín. Coloración roja: prueba positiva (presencia de β -lactamasa) y coloración amarilla: prueba negativa (ausencia de β -lactamasa).⁶¹

4.3.8 Sistemas comerciales para la identificación de *Moraxella catarrhalis*

Se dispone de varios equipos comercializados para la identificación a nivel de especie de *Moraxella catarrhalis* (Ver cuadro 7).⁹

Cuadro 7. Ejemplos de sistemas comerciales de identificación para *Moraxella catarrhalis*.¹¹

Sistema	Fabricante	Tiempo de incubación	Ver figura	
Manual	API NH	bioMérieux, Inc.	2 h	31
	RapID NH	Remel Inc.	4 h	33
	NHI	bioMérieux, Inc.	4 h	
	Crystal Neisseria/Haemophilus	Becton Dickinson Diagnostic Systems	4 h	
	API QuadFERM +	bioMérieux-Vitek, Inc.	2 h	34
	BactiCard <i>Neisseria</i>	Remel Laboratories, Lenexa KA	2 min	36
Automatizado	HNID	Dade MicroScan, Inc.	4 h	32

Todos estos sistemas usan pruebas convencionales modificadas (producción de ácidos a partir de hidratos de carbono, ureasa, indol, ornitina descarboxilasa) y sustratos cromogénicos para proporcionar identificaciones de 2 a 4 horas. En la tarjeta NHI de bioMérieux, las cepas de *Moraxella catarrhalis* no pueden diferenciarse de otras especies de *Moraxella sp.* con las pruebas actuales de la tarjeta. El panel MicroScan HNID no incluye *N. cinerea* en su base de datos y estos microorganismos se identifican mal como *Moraxella catarrhalis* (ver figura 32). El RapID NH contiene pruebas (reducción de nitrito y un sustrato de esterasa) que se presume permitirán la identificación confiable tanto de *N. cinerea* como de *Moraxella catarrhalis* (ver figura 33).⁵



A



B

Figura 31. Panel API NH (bioMérieux, Durham, NC). El API NH es un sistema de identificación en formato de tira para la identificación en 2 horas de las especies de *Haemophilus sp.* y *Neisseria sp.* La tira incluye siete cúpulas de sustrato único y tres cúpulas bifuncionales. Las pruebas de sustrato único incluyen (de izquierda a derecha), una β -lactamasa (PEN), producción de ácido de glucosa (GLU), fructuosa (FRU), maltosa (MAL), sacarosa (SUC), ornitina descarboxilasa (ODC) y ureasa (URE). Las cúpulas bifuncionales incluyen butirato esterasa más prolil aminopeptidasa (LIP/PRO A), fosfatasa alcalina más γ -glutamil aminopeptidasa (PAL/GGT) y β -galactosidasa más indol (β -GAL/IND). Primero se lee la tira entera, incluidas las pruebas LIP, PAL y β -GAL, y luego se agrega un reactivo que desarrolla color a los pocillos PRO y GGT, y el reactivo de indol se agrega al pocillo IND. Estas tres últimas cúpulas luego se releen para producir el cuarto número de un bicódigo de cuatro dígitos. Las cúpulas de los hidratos de carbono, LIP, PRO A, GGT y β -GAL se destinan a la identificación de especies de *Neisseria sp.* y *Moraxella catarrhalis*, mientras que las cúpulas de los hidratos de carbono ODC, URE, PAL, β -GAL e IND se usan para la identificación y biotipificación de especies de *Haemophilus sp.* En la fotografía **A**, la única prueba positiva es la cúpula LIP (azul es una reacción positiva). El bicódigo API para estas reacciones es 0010, que lo identifica como *Moraxella catarrhalis*. La cúpula PEN no se usa para determinar el código API, si no solo para detectar la producción de β -lactamasa. El color azul en la cúpula PEN indica que esta cepa es β -lactamasa negativa. En esta fotografía **B**, las pruebas GLU y PRO A son positivas, lo que provee un bicódigo de 1001. La consulta con la base de datos NH proporciona una identificación de *N. gonorrhoeae*. El pocillo PEN es una cúpula de detección de β -lactamasa acidométrica que no se usa con propósitos

de identificación. Aquí la prueba PEN es positiva, lo que indica que el aislamiento es β -lactamasa positivo.⁵

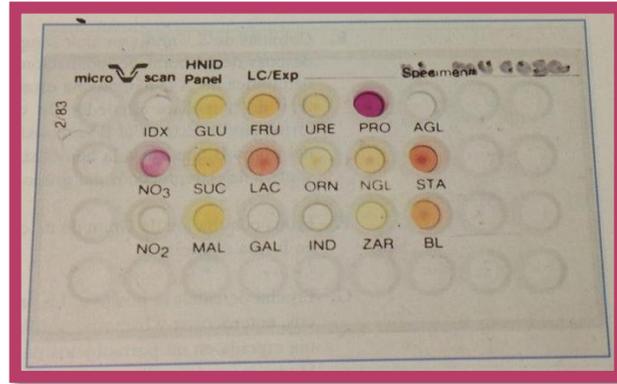


Figura 32. Panel MicroScan HNID (Dade MicroScan, West Sacramento, CA). MicroScan HNID es un panel de pruebas de 4 horas para la identificación de especies de *Haemophilus sp.* y *Neisseria sp.* Las pruebas positivas en el panel observadas en la fotografía incluyen las pruebas de reducción de nitrato (NO_3), reducción de nitrito (NO_2), producción de ácido a partir de glucosa (GLU), sacarosa (SUC), maltosa (MAL), fructosa (FRU) y prolil aminopeptidasa (PRO). Estas características identifican este aislamiento como *N. mucosa*.⁵

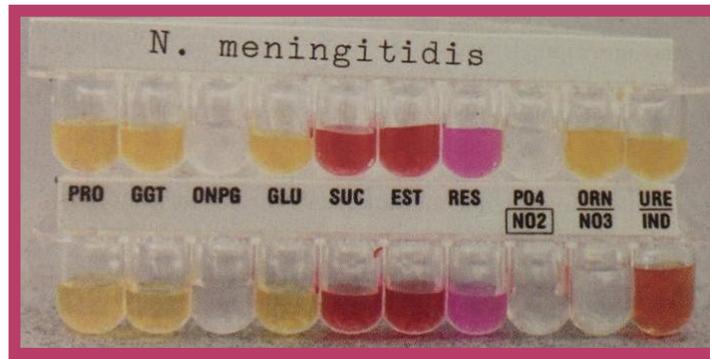


Figura 33. Sistema Rapid NH (Remel). Rapid NH es un sistema comercial de 4 horas para la identificación de especies de *Neisseria sp.*, especies de *Haemophilus sp.* y varias otras especies de bacterias gramnegativas con requerimientos nutricionales especiales. La fotografía muestra dos paneles duplicados inoculados con *N. meningitidis*. El panel superior es el sistema antes del agregado de los reactivos, mientras que el panel inferior es el sistema después de la adición de los reactivos a los últimos tres pocillos bifuncionales de prueba. Las reacciones que identifican el aislamiento como *N. meningitidis* son las reacciones prolil aminopeptidasa (PRO) y γ -glutamil aminopeptidasa (GGT) positivas, la reacción glucosa (GLU) positiva y la prueba NO_2 (reducción de nitrito positiva).⁵

En la tira API QuadFERM + se incluye una prueba acidométrica para DNasa de dos horas. En una evaluación de este sistema todas las cepas *Moraxella catarrhalis* probadas fueron DNasa-positivas después de dos horas de incubación. También incluye la prueba de producción de ácido a partir de glucosa, maltosa, lactosa, sucrosa y fructuosa y la detección de β -lactamasas (ver figura 34).^{5,40}

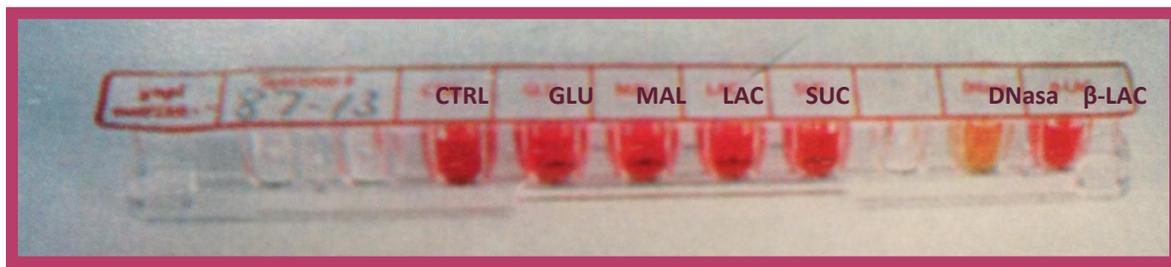


Figura 34. Sistema API QuadFERM + (bioMérieux-Vitek, Inc.) para la identificación de especies de *Neisseria sp.* y de *Moraxella catarrhalis*. Esta adaptación comercial de la prueba rápida de utilización de hidratos de carbono incluye una serie de cubetas que contienen (de izquierda a derecha) un reactivo libre de hidratos de carbono (CTRL), y reactivos para glucosa (GLU), maltosa (MAL), lactosa (LAC) y sacarosa (SUC). En la tira también se incluyen cubetas para la detección acidométrica de desoxirribonucleasa (DNasa) para la confirmación de *Moraxella catarrhalis* y para la detección de β -lactamasas (beta-lac). La fotografía muestra una tira QuadFERM + sembrada con una cepa de *Moraxella catarrhalis* β -lactamasa negativa. Las cubetas CTRL, GLU, MAL, LAC, SUC y β -lactamasa son negativas (rojo), en tanto que la prueba de DNasa es positiva (amarillo).⁵

Janda y Ruther evaluaron una prueba rápida de hidrólisis de tributirina denominada BCAT CONFIRM (Scott Laboratories). Esta prueba utiliza una microcúpula que contiene un disco impregnado con tributirina. Se agregan ocho gotas de una solución balanceada de sales con rojo de fenol y luego se emulsionan varias colonias de aislamiento dentro de la cúpula. Un cambio de color del indicador de rojo al amarillo indica la hidrólisis de una tributirina y un resultado positivo. En este estudio las cepas de *Moraxella catarrhalis* fueron positivas en el término de 30 minutos. También se han descrito una prueba en marcha muy rápida (2.5 minutos) y confiable de hidrólisis del butirato de indoxilo que está disponible comercialmente (Remel Laboratories: Carr-Scarborough, Stone Mountain GA) (ver figura 35). Esta prueba se incluye también en la BactiCard-Neisseria junto con los otros tres sustratos cromógenos para la identificación de *Neisseria sp.* (β -galactosidasa, γ -glutamyl aminopeptidasa y proлил-hidroxiprolil aminopeptidasa) (ver figura 36).⁵



Figura 35. Prueba rápida para tributirina (REMEL).⁵⁹

Moraxella catarrhalis *Neisseria gonorrhoeae* *Neisseria meningitidis* *Neisseria lactamica*

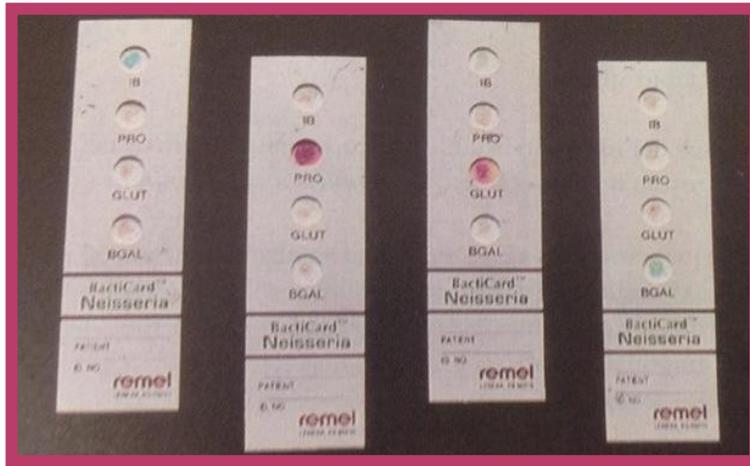


Figura 36. BactiCard *Neisseria* (Remel Laboratories, Lenexa KA). Esta tira de identificación contiene cuatro pruebas cromogénicas de enzima-sustrato para la identificación de especies patógenas de *Neisseria sp.* y *Moraxella catarrhalis*. Después de hidratar cada uno de los cuatro círculos de prueba con una gota de buffer, se aplica el cultivo desarrollado en un medio selectivo en cada una de las cuatro zonas de prueba. Si se observa un color azul verdoso en la zona de prueba IB (butirato esterasa) dentro de los 2 minutos (tira de la izquierda), el microorganismo se identifica como *Moraxella catarrhalis*. Si no hay desarrollo de color en esta zona, la tira se incuba durante trece minutos más. Si aparece color azul verdoso en la zona de prueba BGAL (β -galactosidasa) (tira del extremo derecho) durante este lapso, el microorganismo se identifica como *N. lactamica*. Si no hay desarrollo de color en esta zona durante el periodo de incubación, se agrega una gota de revelador de color a las áreas de prueba PRO y GLUT. La aparición de color rojo en PRO (propil aminopeptidasa) identifica el aislamiento como de *N. gonorrhoeae* (segunda tira desde la izquierda), en tanto que el desarrollo de color rojo en GLUT (γ -glutamil aminopeptidasa) identifica el aislamiento como de *N. meningitidis* (tercera tira desde la izquierda).⁵

Debido al reconocimiento de *Moraxella catarrhalis* como patógeno primario en ciertos ambientes clínicos y a la sospecha de que realmente puede haber infecciones nosocomiales producidas por este microorganismo, se han investigado métodos para la tipificación de cepas. Estos métodos comprenden la biotipificación enzimática, la electroforesis en gel de poliacrilamida de las proteínas celulares totales; la inmunotransferencia y el análisis con endonucleasas de restricción. Estos métodos han sido aplicados a la investigación de brotes de enfermedades del tracto respiratorio en unidades de terapia intensiva de los Estados Unidos y el extranjero.⁵

CAPÍTULO 5



TRATAMIENTO

Moraxella catarrhalis es muy susceptible a la mayor parte de los antibióticos utilizados para tratar las infecciones de la parte baja de las vías respiratorias.⁵

La mayoría de las cepas de *Moraxella catarrhalis* producen una de dos β -lactamasas (BRO-1, o menos comúnmente, BRO-2), haciéndolas resistentes a penicilina y ampicilina. La resistencia adquirida de *Moraxella catarrhalis* a las tetraciclinas y trimetoprim-sulfametoxazol (TMP-SMX) se ha reportado en algunos aislamientos, la resistencia a los macrólidos es muy rara.⁴⁸

En un artículo publicado por Bell et al., se analizaron 318 cepas de *Moraxella catarrhalis* obtenidas de clínicas de 8 ciudades en la región Asia- Pacífico, se encontró que en general *Moraxella catarrhalis* es casi siempre sensible a combinaciones de betaláctamicos e inhibidores de β -lactamasa, como la combinación de penicilinas con ácido clavulánico y el medicamento TMP-SMX (sensibilidad del 90% de las cepas), los cuales se consideran los medicamentos de primera elección, además también muestra sensibilidad a las cefalosporinas sobre todo de segunda y tercera generación (cefuroxima, ceftriaxona y a los antibióticos orales cefaclor y cefixima), macrólidos (azitromicina, claritromicina, eritromicina), cloranfenicol, rifampicina, gentamicina y tetraciclinas. De entre las cefalosporinas orales, cefixima es de las que muestra mayor actividad. Mientras que la mayoría de las cepas son sensibles a las fluoroquinolonas (ciprofloxacino, levofloxacina, moxifloxacino) también parecen ser activas aunque se tiene poca experiencia clínica.^{1, 7, 8, 9, 16, 34, 49, 52}

Muchas infecciones causadas por *Moraxella catarrhalis* se pueden tratar con antibióticos orales. El tratamiento de la sinusitis u otitis media es empírico, puesto que solo se consiguen muestras adecuadas en los estudios de investigación.^{8,9}

REFERENCIAS

1. Murray PR, Rosenthal KS, Pfaller MA. Microbiología Médica. 6 ed. Madrid: Elsevier; 2009.
2. Leañes MB, Miranda NMG, Solórzano SF, Ortiz OL, Guiscafré GH. Prevalencia de colonización por *Moraxella catarrhalis* en portadores asintomáticos menores de seis años. Salud Pública Méx 2001; 43:27-31.
3. Cisternas O, Herrera C. Casos clínicos: Sepsis por *Moraxella catarrhalis*. Revista del Hospital del Niño Panamá 2005; 21:194-198.
4. Mora MM. *Moraxella catarrhalis* en tracto respiratorio inferior. Revista Costarricense de Ciencias Médicas 1998 Diciembre; 19(3-4): 181-187. Disponible en: http://www.scielo.sa.cr/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S025329481998000300007&lng=es.
5. Koneman EW, Allen SD, Janda WM, Schreckenberger PC, Winn WC. Diagnóstico microbiológico y atlas a color. 5 ed. Madrid: Médica Panamericana; 2001.
6. Spicer WJ. Microbiología clínica y enfermedades infecciosas texto y atlas en color. 2 ed. Barcelona: Elsevier; 2009.
7. Rodríguez AC, Martínez PJL. Implicación clínica del aislamiento de *Branhamella catarrhalis* en muestras respiratorias. Revista Cubana de Medicina 2002 Sep- Oct; 41(5): 261-264.
8. Fauci AS, Braunwald E, Kasper DL, Hauser SL, Longo DL, Jameson JL, et al. Harrison Principios de Medicina Interna. 17 ed. Vol. 1. México: McGraw-Hill; 2009.
9. Mandell GL, Bennett JE, Dolin R. Enfermedades infecciosas principios y práctica. 6 ed. Vol. 2. Madrid: Elsevier; 2006.
10. Negroni M. Microbiología estomatológica fundamentos y guía práctica. 2 ed. Buenos Aires: Médica Panamericana; 2009.
11. Forbes BA, Sahm DF, Weissfeld AS. Bailey and Scott Diagnóstico microbiológico. 12 ed. Buenos Aires: Médica Panamericana; 2009.
12. Case Studies in Microscopy *Moraxella* (Sitio en Internet). Cornell University. Disponible en <http://instruct1.cit.cornell.edu/courses/biomi290/microscopycases/sars/document/BacLIB.htm#morax>. Acceso el 7 de octubre de 2012.
13. Kemeth JR, Sherris CGR. Microbiología medica una introducción a las enfermedades infecciosas. 4 ed. México: McGraw-Hill Interamericana; 2005.
14. Taylor ML, Haro I de, Giano S, Lopez VY. Guía de bacteriología médica. México: McGraw-Hill Interamericana; 2007.

15. Mocerrea M. Queratitis *Moraxella* (Sitio en Internet). IntraMed. Disponible en <http://www.intramed.net>. Acceso el 18 de septiembre de 2012.
16. Picazo JJ, García RJA. Microbiología médica general. Madrid: Harcourt Brace de España; 1998.
17. Freeman BA. Microbiología de Burrows. 22 ed. México: Nueva Editorial Interamericana; 1989.
18. Levinson W. Microbiología e inmunología médicas. 8 ed. España; McGraw-Hill Interamericana; 2006.
19. Constantinescu M. *Moraxella catarrhalis* infección (Sitio en Internet). Medscape. Disponible en <http://emedicine.medscape.com/article/222320-overview#showall>. Acceso el 7 de octubre de 2012.
20. Buxton R. Sputum Gram-Negative Diplococci and Coccobacilli (Sitio en Internet). Microbe Library. Disponible en <http://202.195.144.50/ASM/026-4-MicrobeLibrary%20-%20Sputum%E2%80%93Gram-Negative%20Diplococci%20and%20Coccobacilli-Introduce.htm>. Acceso el 7 de octubre de 2012.
21. *Moraxella catarrhalis* (Sitio en Internet). Disponible en <http://www.gefor.4t.com/bacteriologia/moraxellacatarrhalis.html>. Acceso el 4 de octubre de 2012.
22. Audisio SN, Audisio SA, Francés O, Halac JM, Merlassino JL. Tratamiento de patologías del complejo ocular bovino. Aplicación subconjuntival bulbar de arginina-inosina. Nuestra cabaña 2003; (326): 50-53. Disponible en <http://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=650477>.
23. Zielinsky G. Ganadería: Control de la Queratoconjuntivitis (Queratoconjuntivitis Infecciosa Bovina) [sitio en internet]. Agrobot. Com. Disponible en [http://www.agrobot.com/Documentos/E_7_Enfermed%5C532_ga000012en\[1\].htm](http://www.agrobot.com/Documentos/E_7_Enfermed%5C532_ga000012en[1].htm). Acceso el 23 de septiembre de 2012.
24. Chan H, Dinh R, Selvaraj A, Hagiufi L, Paulos B, Hagiismail N. Ear (Sitio en Internet). MicrobeWiki. Disponible en <http://microbewiki.kenyon.edu/index.php/Ear>. Acceso el 7 de octubre de 2012.
25. Infección del oído medio (Sitio en Internet). University of Mariland. Medical center. Disponible en http://www.umm.edu/esp_imagepages/19620.htm. Acceso el 14 de octubre de 2012.
26. González SN, Torales TAN, Gómez BD. Infectología Clínica Pediátrica. 8 ed. México: McGraw Hill Interamericana; 2011.
27. Donato AO. Los pulmones (Sitio en Internet). Salud y Sociedad. Disponible en <http://www.salud.bioetica.org/pulmones.htm>. Acceso el 13 de octubre de 2012.

28. Respiración (Sitio en Internet). Disponible en <http://www.ecociencia.cl/articulos/respiracion.htm>. Acceso el 13 de octubre de 2012.
29. Bennett JC, Plum F. Cecil Tratado de Medicina Interna. 20 ed. Vol. 1. México: McGraw-Hill Interamericana; 1997.
30. Aspectos Generales de las neumonías (Sitio en Internet). Escuela de medicina. Disponible en <http://escuela.med.puc.cl/publ/AparatoRespiratorio/29NeumoniasGeneral.html>. Acceso el 13 de octubre de 2012.
31. Neumonía, síntomas y complicaciones (Sitio en Internet). Mujer ok. Disponible en <http://www.mujerok.com/neumonia-sintomas-y-complicaciones.html>. Acceso el 26 de septiembre de 2012.
32. Map images (Sitio en Internet). Nokia. Disponible en <http://flickrriver.com/photos/fraserg/2509958674/>. Acceso el 9 de octubre de 2012.
33. Microbiology in pictures 2011 (Sitio en Internet). Disponible en <http://www.microbiologyinpictures.com/moraxella%20catarrhalis.html>. Acceso el 7 de octubre de 2012.
34. Brooks GF, Carroll KC, Butel JS, Morse SA. Microbiología medica de Jawetz, Melnick y Adelberg. 19 ed. México: El Manual Moderno; 2008.
35. Balder R, Lafontaine ER. Laboratory Maintenance of *Moraxella catarrhalis*. (Sitio en Internet). Current Protocols in Microbiology: Wiley. Disponible en <http://www.currentprotocols.com/WileyCDA/CPUnit/refId-mc06b01.html>. Acceso el 14 de octubre de 2012.
36. *Moraxella catarrhalis*. Infectología (Sitio en Internet). Ya salud. Disponible en <http://yasalud.com/moraxella-catarrhalis/>. Acceso el 7 de octubre de 2012.
37. Soluciones caseras para combatir la sinusitis (sitio en Internet). Blogy Salud. Disponible en <http://www.blogysalud.com/salud/11179/sinusitis/remedios/caseros>. Acceso el 14 de octubre de 2012.
38. Brenner DJ, Krieg NR, Staley JT. Bergey's Manual of Determinative Bacteriology. Vol. 2. 9 ed. USA: Williams & Wilkins; 1984.
39. Holt. JG, Krieg NR, Sneath PHA, Staley JT, Williams ST. Bergey's Manual of Determinative Bacteriology. Vol. 2. 9 ed. USA: Lippincott Williams & Wilkins; 2005.
40. Vélez AH, Rojas MW, Borrero RJ, Restrepo MJ. Fundamentos de medicina enfermedades infecciosas. 6 ed. Colombia: Corporación para Investigaciones Biológicas; 2003.
41. Ruckdeschel EA, Kirkham C, Lesse AJ, Hu Z, Murphy TF. Mining the *Moraxella catarrhalis* Genome: Identification of Potential Vaccine Antigens Expressed during Human Infection. Infection and immunity 2008 April; 76 (4): 1599–1607.

42. Hoopman TC, Liu W, Joslin SN, Pybus C, Sedillo JL, Labandeira-Rey M, Laurence CA, Wang W, Richardson JA, Bakaletz LO, Hansen EJ. Use of the Chinchilla Model for Nasopharyngeal Colonization to Study Gene Expression by *Moraxella catarrhalis*. *Infection and Immunity* 2012; 80(3):982-995.
43. Bottone EJ. The encyclopedia of visual medicine series: An atlas the clinical microbiology of infectious diseases. Vol. 2. India: Infoma healthcare; 2008.
44. Murphy TF, Brauer AL, Aebi C, Sethi S. Identification of Surface Antigens of *Moraxella catarrhalis* as Targets of Human Serum Antibody Responses in Chronic Obstructive Pulmonary Disease. *Infection and Immunity* 2005 June; 73 (6):3471–3478.
45. Enright MC, McKenzie H. *Moraxella (Branhamella) catarrhalis* - clinical and molecular aspects of a rediscovered pathogen. *J. Med. Microbiol.* 1997; 46: 360-371.
46. Murphy TF. *Branhamella catarrhalis*: Epidemiology, Surface Antigenic Structure, and Immune Response. *Microbiological reviews* 1996 June; 60 (2): 267–279.
47. Verduin CM, Hol C, Fleer A, van Dijk H, van Belkum A. *Moraxella catarrhalis*: from Emerging to Established Pathogen. *Clinical Microbiology Reviews* 2002, 15: 125–144.
48. Instituto de Estándares Clínicos y de Laboratorio. Normas para realizar las pruebas de sensibilidad a los antimicrobianos con discos. Norma aprobada 10 ed. Documento CLSI M02-A10. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2009.
49. Clinical and Laboratory Standards Institute. Methods for Antimicrobial Dilution and Disk Susceptibility Testing of Infrequently Isolated or Fastidious Bacteria; Approved Guideline. Document M45-A2. Wayne PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2006.
50. Bell JM, Turnidge JD, Jones RN. Development of a Disk Diffusion Method for Testing *Moraxella catarrhalis* Susceptibility Using Clinical and Laboratory Standards Institute Methods: a SENTRY Antimicrobial Surveillance. *Journal of clinical microbiology* 2009 July, 47 (7): 2187–2193.
51. Clinical and Laboratory Standards Institute. Methods for Antimicrobial Dilution and Disk Susceptibility Testing of Infrequently Isolated Fastidious Bacteria; Approved Guideline 2 ed. CLSI document M45-A2. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2010.
52. Rabow MW, Papadakis MA, McPhee S. Diagnóstico clínico y tratamiento. México: McGraw-Hill Interamericana; 2011.
53. Moran VL. Obtención de muestras sanguíneas de calidad analítica. Mejoría continúa de la etapa preanalítica. México: Editorial Médica Panamericana; 2001.
54. Espejo ME. Manual de toma de muestra. Laboratorio clínico. Complejo Asistencial Dr. Víctor Ríos Ruíz Los Ángeles; 2011.

55. Arias J, Aller MA, Arias JI, Aldamendi I. Enfermería Médico-Quirúrgica II. Madrid: Editorial Tébar; 2000.
56. Sih T, Sakano E, Hayashi EL, Morelló CG. Otorrinolaringología pediátrica. Barcelona: Springer; 1999.
57. Hospital Base Valdivia. Manual de toma de muestras. Chile: Subdepartamento Laboratorio Clínico; 2012.
58. Escajadillo JR. Oídos, nariz, garganta y cirugía de cabeza y cuello. 3 ed. México: Editorial El Manual Moderno; 2009.
59. Mc Faddin JF. Pruebas bioquímicas para la identificación de bacterias de importancia clínica. Argentina: Médica Panamericana; 2003.
60. Bernhard S, Spaniol V, Aebi C. Molecular pathogenesis of infections caused by *Moraxella catarrhalis* in children. *Swiss Medical Weekly* 2012; 142: w13694.
61. Lopardo H, Blanco A. Métodos para detectar enterococos productores de β -lactamasa. *Rev. argent. microbiol.* [online]. 2007, 39 (2): 105-105. ISSN 1851-7617.
62. Timpanocentesis con tubo. (Sitio en Internet). Marsh Field Clinic. Disponible en <http://marshfieldclinic.kramesonline.com/Spanish/106,S,W1797>. Acceso el 25 de septiembre de 2013.
63. Cirugía de los senos paranasales (Sitio en internet). Maxilofacial San Vicente. Disponible en <http://maxilofacialsanvicente.obolog.com/historia-cirugia-bucal-maxilofacial-parte-iv-341008>. Acceso el 25 de septiembre de 2013.
64. Examen nasal (Sitio en Internet. Disponible en <http://escuela.med.puc.cl/paginas/publicaciones/apuntesotorrino/exfisiconasal.html>. Acceso el 25 de septiembre de 2013.
65. Cirugía de la sinusitis crónica (Sitio en Internet). Dr. Leandro Loíacono. Disponible en <http://www.alfinal.com/orl/cirugiasinusitis.php>. Acceso el 25 de septiembre de 2013.
66. Primeros auxilios (Sitio en Internet). Saber primeros auxilios. Disponible en <http://saberprimerosauxilios.blogspot.mx/2011/07/organos-de-los-5-sentidos.html>. Acceso el 25 de septiembre de 2013.
67. Flor i Bru J. Infecciones de vías respiratorias altas-2: otitis media: etiología, clínica, diagnóstico, complicaciones y tratamiento; otitis media recurrente y otitis media crónica; otitis externa. *Pediatría Integral* 2013; XVII (4): 262-280.
68. Stanley NF. Otorrinolaringología. México: El Manual Moderno; 1978.
69. Sinuscopía. (Sitio en Internet). Lawton Medizintechnik. Disponible en http://www.lrinstruments.com.au/assets/suppliers/lawton/Lawton_SinusSurgery.pdf. Acceso el 25 de septiembre de 2013.
70. Angus J, Turley A. Aparato respiratorio. Madrid: Harcourt; 2000.

71. Martín AA, Moreno PD, Alfayate MS, Couceiro GJA, García GML, Korta MJ, Martínez LMI, Muñoz AC, Obando SI, Pérez PG. Etiología y diagnóstico de la neumonía adquirida en la comunidad y sus formas complicadas. *Anales de Pediatría* 2012; 76(3): 1-18.

ANEXO I. PROCEDIMIENTOS PARA TOMA DE MUESTRAS

Tracto respiratorio

A) Muestras de esputo

La calidad de las muestras de esputo depende del entrenamiento de los profesionales de atención de la salud y de la comprensión del paciente a lo largo de todas las fases del proceso de recolección.⁵

1. No deben ingerirse alimentos de 1 a 2 horas antes de expectorar.⁵
2. Cepillarse los dientes o enjuagarse la boca con solución fisiológica o agua inmediatamente antes de expectorar.⁵
3. Se les debe explicar a los pacientes que es necesario la muestra se obtenga después de una tos profunda y que deben obtener el material dentro de un recipiente estéril con tapa de rosca y con cuidado para mantener la contaminación con saliva en un nivel mínimo.⁵

Las muestras deben ser transportadas de inmediato al laboratorio porque incluso un período breve a temperatura ambiente puede generar la pérdida de algunos agentes infecciosos (*Haemophilus sp.*).^{5,57}

El examen del esputo bajo el microscopio con tinción de Gram revela la calidad de la muestra. Una muestra apropiada presenta menos de 10 células epiteliales planas por campo de bajo aumento (100x). Por otro lado, la presencia de 25 leucocitos polimorfonucleares por campo de 100x o más, junto con escasas células epiteliales planas, constituye una muestra excelente; puesto que la mayoría de los pacientes con infección por *Moraxella catarrhalis* padecen también una neumopatía crónica, por lo general no es difícil obtener una buena muestra.⁵

Los pacientes que no pueden producir esputo deben recibir ayuda, como alternativa es factible obtener un muestra inducida con aerosol. Para obtener muestras inducidas con aerosol se le indica al paciente que inhale gotitas aerosolizadas de una solución que contiene 15% de cloruro de sodio y 10% de glicerina durante alrededor de 10 minutos o hasta que se produzca un reflejo tusígeno intenso. Las secreciones respiratorias bajas

obtenidas de esta manera tienen un aspecto acuoso parecido al de la saliva aunque a menudo contienen material que proviene directamente de los espacios alveolares. Estas muestras suelen ser adecuadas para el cultivo y deben aceptarse en el laboratorio sin controles previos.⁵

B) Muestras obtenidas por aspiración transtraqueal (ATT)

Para obtener muestras por ATT percutánea se introduce un catéter de plástico pequeño en la tráquea a través de una aguja introducida con anterioridad a través de la piel y la membrana crocotiroidea. Este procedimiento invasivo es algo molesto para los pacientes y en algunos casos no se puede emplear (p. ej., pacientes que no colaboran, pacientes con diátesis hemorrágica o pacientes con oxigenación deficiente) pero reduce la probabilidad de que la muestra se contamine con la biota del tracto respiratorio superior y se diluya con los líquidos agregados, siempre y cuando se tenga la precaución de evitar que el catéter se desplace hacia la faringe durante un acceso de tos. Esta técnica se utiliza rara vez en la actualidad.⁵

Oído

A) Timpanocentesis

Figura 37. Se denomina timpanocentesis a la punción del tímpano a través de una aguja, para la recogida de material purulento presente en el iodo medio para aliviar la presión, previniendo la contaminación por la biota saprofita de la piel que reviste el canal auditivo externo.⁵⁶



1. Se utiliza una guja con bisel corto, de calibre grueso como la utilizada para la punción raquídea que se adapta a una jeringa de 3 mL o a un aspirador especial de Alden-Senturia (Storz Instrument Company) o a aspiradores desechables.⁵⁶
2. Se recomienda la limpieza previa de las facies externas del tímpano y del canal auditivo con alcohol yodado, yodoformo u otro antiséptico de uso consagrado. En la mayoría de los casos es suficiente la anestesia tópica a través de la aplicación suave de un algodón impregnado con fenol, líquido de Bonein o incluso xilocaína al 10%, durante por lo menos 5 minutos.⁵⁶
3. Se procede entonces a la irrigación con suero fisiológico para evitar la penetración de líquido antiséptico junto con la aguja de punción.⁵⁶



Figura 38. Timpanocentesis con tubos. Se colocan tubos en la incisión para mantenerla abierta y permitir el drenaje permanente desde el oído interno.⁶²

Se debe realizar por un especialista otorrinolaringólogo, ya que debe tenerse especial cuidado para no pinchar el área de la articulación incudostapedio (apófisis larga del yunque y del estribo), evitando por tanto el cuadrante posterior y superior del tímpano. Es importante localizar también el martillo para no lesionarlo. El empleo del otoscopio quirúrgico de lente móvil para la ejecución de la timpanocentesis es un requisito indispensable, ya que con la luz adecuada y magnificación proporciona seguridad al médico con menor experiencia y mayor posibilidad de éxito.⁵⁶

Nariz

A) Punción del seno maxilar

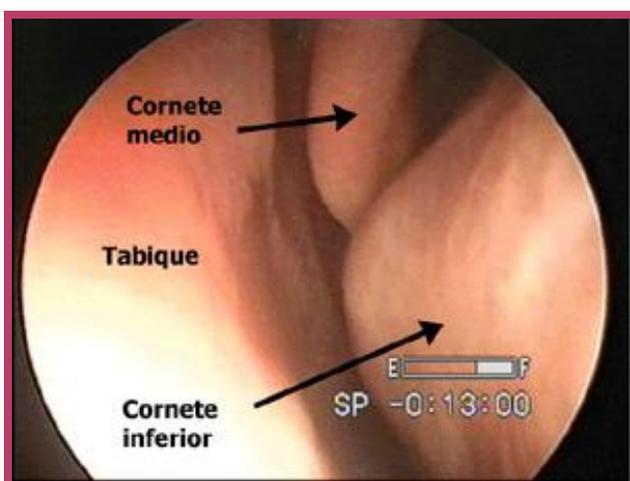


Figura 39. Es un examen de especialidad para los casos en que aislar el germen causante de una sinusitis sea fundamental. Con la ayuda de un trócar que atraviesa la pared medial de la nariz, a nivel del meato inferior, se puede acceder a la cavidad del seno maxilar, de modo de tomar muestras para cultivos bacterianos y fúngicos y también realizar lavados.⁶⁴

De preferencia se opera pacientes con anestesia general, pero también se puede operar con anestesia local y sedación.⁶⁵

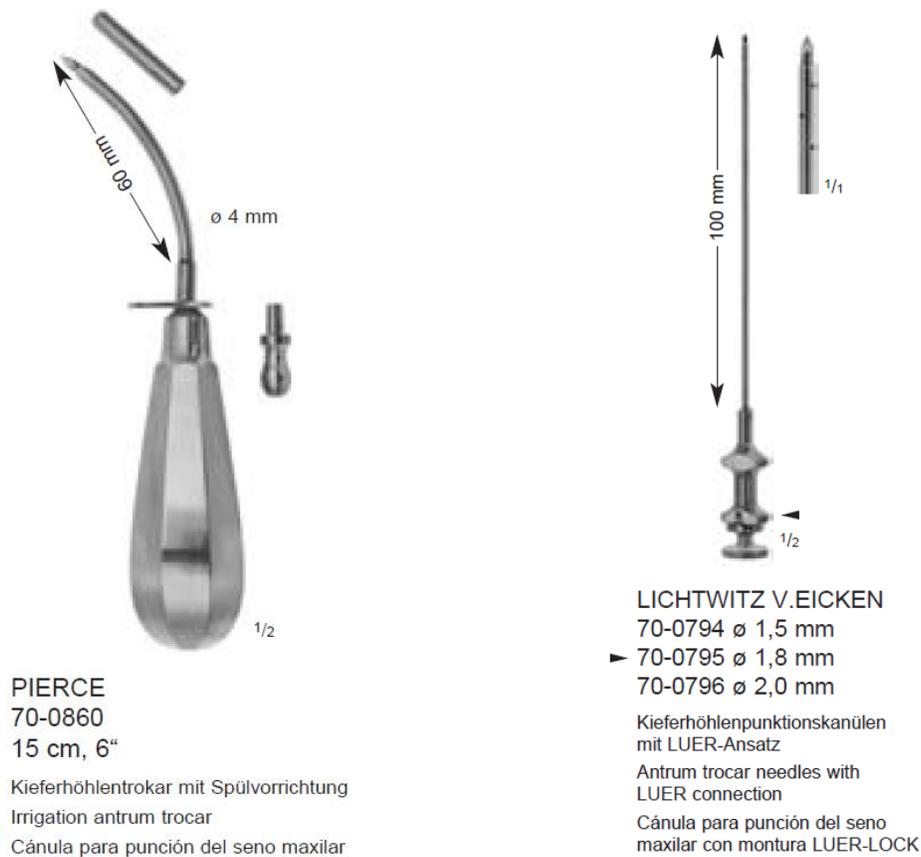
El cirujano introduce una óptica de 4-5 mm de diámetro que le permite ver el interior de la fosa nasal en una pantalla, brindándole una excelente visión ampliada de la misma.⁶⁵

A través de la narina, también introduce el instrumental que le permite tomar, cortar partes blandas y hueso papiráceo (etmoides, esfenoides).⁶⁵

El primer paso es reconocer las estructuras, lo cual puede variar entre un paciente y otro y fundamentalmente si se trata de pacientes ya operados, en los cuales la anatomía está distorsionada. El paciente con sinusitis aguda debe estar sin fiebre, y haber recibido antibióticos al menos durante 3-4 días antes de efectuarse la irrigación.^{65, 68}

Se efectúa puncionando la pared medial del seno (pared lateral de la cavidad nasal) por abajo del cornete inferior. Puede utilizarse un trocar recto o curvo (ver figura 40).⁶⁸

Figura 40. Trocares para punción del seno maxilar.⁶⁹



La técnica consiste en lo siguiente:

1. Nebulícese la mucosa nasal con un vasoconstrictor local. Nunca debe pulverizarse solución de cocaína.⁶⁸
2. Aplíquese solución concentrada (5-10%) sobre una torunda de algodón en la pared lateral de la nariz por abajo del cornete inferior. Si se dispone de “pasta” de cocaína (capas de cocaína disueltas en varias gotas de adrenalina), se utiliza sobre un alambre aplicador con la punta cubierta de algodón. Se usara tetracaína a 2% si no se dispone de cocaína.⁶⁸
3. Introdúzcase el trocar por abajo del cornete inferior aproximadamente 2.5 cm por atrás de su vértice anterior. Puesto que la pared ósea que se va a penetrar se torna más delgada por arriba, debe pasarse el trocar lo más alto posible (por abajo del cornete inferior). La dirección de la punta del trocar debe ser hacia el cuanto externo del ojo.⁶⁸
4. La solución de irrigación, por lo general solución salina ligeramente calentada, es introducida en el seno a través del trocar, utilizando una botella de irrigación a presión o en forma manual, con una jeringa de 20 ml. El líquido sale a través de la apertura natural del seno. Si el paciente se queja de dolor importante a medida que comienza la irrigación, y no sale liquido rápidamente del seno, debe recurrirse al método manual de modo que el grado de fuerza aplicada pueda ser mejor apreciado que cuando se utiliza el aparato a presión. En pacientes raros, una pretura con obstrucción completa no permite la salida del líquido. Se pasa un segundo trocar al seno para que actué como una vía de salida.⁶⁸
5. Inclínese hacia adelante la cabeza del paciente con el cuello flexionado durante la irrigación, de modo que pueda obtenerse líquido en una palangana sostenida por el paciente o un asistente. Puede obtenerse material purulento de la palangana para el estudio de cultivo y sensibilidad.⁶⁸
6. Al terminar la irrigación, soplese un poco de aire a través del trocar para desplazar cualquier líquido residual en el seno.⁶⁸

Es una cirugía reservada para cirujanos con mucha experiencia debido a su extrema peligrosidad y a las complicaciones severas que en manos inexpertas puede ocasionar, incluida la muerte.⁶⁵

Muestra de líquido cefalorraquídeo

La obtención de líquido cefalorraquídeo se obtiene por la técnica de punción lumbar. La punción lumbar es el método habitual para obtener líquido cefalorraquídeo, con el fin de realizar el estudio celular, bioquímico y bacteriológico correspondiente. Se utiliza, asimismo, la punción lumbar para la administración de contrastes o de medicación. ⁵⁵

1. Se coloca al enfermo en un borde de la cama, en decúbito lateral, con la espalda hacia a fuera, se le pide flexionar muslos y piernas, así como la cabeza hasta donde pueda. ⁵⁵
2. Se marca el nivel de la punción, habitualmente entre L3 y S1. Se aplica un antiséptico sobre la piel de la región lumbar en la zona marcada. Se coloca un campo estéril con paños. Debe hacerse con la máxima asepsia, se deben usar guantes estériles. ⁵⁵
3. Una vez colocado el campo puede infiltrarse o no con anestesia local, si se usa se aconseja poner a 30-40°C para disminuir el efecto doloroso del anestésico. La aguja que se utiliza es del no. 18, 19 o 20. ⁵⁵
4. Una vez alcanzado el espacio subaracnoideo, al retirar el fiador, debe fluir líquido, que se recoge en tubos estériles y se envía al laboratorio para hacer bioquímica y conteo de células de forma urgente y otra muestra debe enviarse a microbiología para cultivo. Con la posición de decúbito lateral puede medirse la presión del líquido. ⁵⁵

Muestra de sangre venosa

1. Verificar que las etiquetas coincidan con la solicitud de pruebas. ⁵³
2. Si se solicita una muestra en ayunas, debe comprobarse que el paciente no ingerido alimentos de 8 a 12 horas. Hay que dirigirse al paciente e informarle sobre el procedimiento. ⁵³
3. Se debe colocar adecuadamente al paciente, según se encuentre sentado o en decúbito prono, para tener acceso fácil a la fosa antecubital. ⁵³

4. Se debe prepara todo el material, incluidos los tubos, la ligadura, los objetos para limpiar la piel, las jeringas; cuando sea necesario, la aguja estéril y el dispositivo para fijarla.⁵³
5. Observe siempre las extremidades superiores (brazos), para elegir el mejor sitio de punción.⁵⁴
6. Se limpia la zona de la punción con una torunda humedecida con alcohol isopropílico al 70%, o yodopovidona al 1%. Se comienza en el punto de la punción y se prosigue la limpieza hacia afuera siguiendo un movimiento espiral.⁵³
7. Coloque el torniquete con suficiente tensión. No se exceda (un torniquete muy apretado produce hemólisis, colapso venoso, dolor, etc.). Se solicita al paciente que cierre el puño para que las venas sean más palpables. Si la vena no es muy visible ni palpable, realice un suave masaje en el antebrazo (si es el caso) con movimientos desde la muñeca hacia el codo. El torniquete no debe mantenerse por más de un minuto.^{53, 54}
8. Se fija la vena tanto, por encima como por debajo del lugar de punción, con ayuda de los dedos pulgar y medio o índice y pulgar.⁵³
9. Se realiza la venopunción: a) se penetra la piel con la aguja formando un ángulo de 15° con el brazo y con el bisel hacia arriba se sigue la dirección de la vena; b) se introduce la aguja con suavidad pero con rapidez para reducir las molestias. No hay que enterrar la aguja; c) si se utiliza una jeringa, se tira hacia atrás del embolo, con tensión lenta y uniforme a medida que la sangre va fluyendo en su interior, d) si se utiliza un tubo al vacío, en cuanto el agua haya penetrado en la vena se dirigirá el tubo todo lo posible hacia adelante apoyándose en el dispositivo de sujeción (de la misma forma en que se introduce el embolo de una jeringa). Al mismo tiempo mantenga firmemente la aguja en su lugar. Una vez que se haya llenado el tubo, se retira cogiéndolo por su extremo y tirando suavemente de él. Se mezcla la sangre con el anticoagulante por inversión suave. Si la muestra ha sido extraída con jeringa se transferirá la sangre a los tubos correspondientes después de retirar la aguja.⁵³
10. Cuando la sangre comienza a fluir se libera el torniquete. Una vez obtenida la muestra, hay que indicar al paciente que relaje el puño y que no bombee con la mano.⁵³

11. Al finalizar el procedimiento, coloque suavemente una torunda de algodón estéril sobre el punto de punción. Se extrae la aguja (con un movimiento rápido) y a continuación se ejerce presión sobre la zona. No aplique masaje. Indique al usuario que debe hacer presión en el sitio punzado por lo menos durante cinco minutos sin doblar el codo. Coloque finalmente una banda adhesiva sobre el sitio de punción. ^{53, 54}

12. Si el sangrado no se detiene, aplique presión constante sobre el sitio de punción durante 10 minutos más. ⁵⁴

13. Compruebe le estado del paciente, verificando si se ha mareado y si la hemorragia está controlada. ⁵³

ANEXO II. PRINCIPIOS E INTERPRETACIÓN DE PRUEBAS BIOQUÍMICAS

Catalasa

Fundamento

Determinar la presencia de la enzima catalasa capaz de eliminar el peróxido de hidrógeno (H₂O₂), un intermediario tóxico de la reducción del oxígeno dentro del metabolismo del microorganismo.⁵⁹



Interpretación

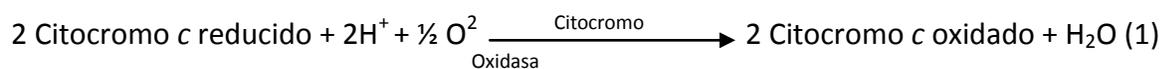
Positivo (+): burbujeo inmediato, observado con facilidad; formación de O₂.⁵⁹

Negativo (-): ausencia de burbujas; ausencia de O₂.⁵⁹

Oxidasa

Fundamento

Determinar la presencia de la enzima citocromo oxidasa intracelular. Esta reacción de oxidasa se debe a un sistema de citocromo oxidasa que activa la oxidación del citocromo reducido por el oxígeno molecular, el que a su vez actúa como un aceptor de electrones en la fase terminal del sistema de transferencia de electrones.⁵⁹



El sistema citocromo, por lo común presente sólo en los microorganismos aerobios, permite a éstos utilizar el oxígeno como aceptor final de hidrógeno para reducir el oxígeno molecular a peróxido de hidrógeno, el último eslabón en una cadena de respiración aerobia.⁵⁹

Química de la acción del reactivo: los colorantes de *p*-fenilendiamina son aminas aromáticas primarias, derivados diamino del benceno. La citocromo oxidasa no reacciona directamente con el reactivo *p*-fenilendiamina pero oxida el citocromo *c*, el que a su vez oxida el reactivo.⁵⁹

El compuesto básico de los reactivos, la fenilendiamina, es metilado. Cuando más grupos metilados se introducen en el radical amino (NH_2), el color es más azul; y si se introducen tres grupos fenilos (C_6H_5) en lugar del metilo, el color es aún más oscuro.⁵⁹

El reactivo de Kovacs, una solución acuosa incolora al 1% de diclorhidrato de tetrametil-*p*-fenilendiamina, le confiere a las colonias oxidasa positivas un color lavanda, que oscurece de manera gradual a un color púrpura negruzco, pero también puede impartir color la medio circundante. Es un compuesto relativamente inestable. No interfiere con la reacción de la tinción de Gram.⁵⁹

Interpretación

Con el reactivo de Kovacs:

Positivo (+): se manifiesta por un color negro purpúreo que se desarrolla dentro de los 10 segundos; una reacción positiva en 10-60 segundos se considera un resultado tardío.⁵⁹

Negativo (-): desarrollo de color después de 60 segundos.⁵⁹

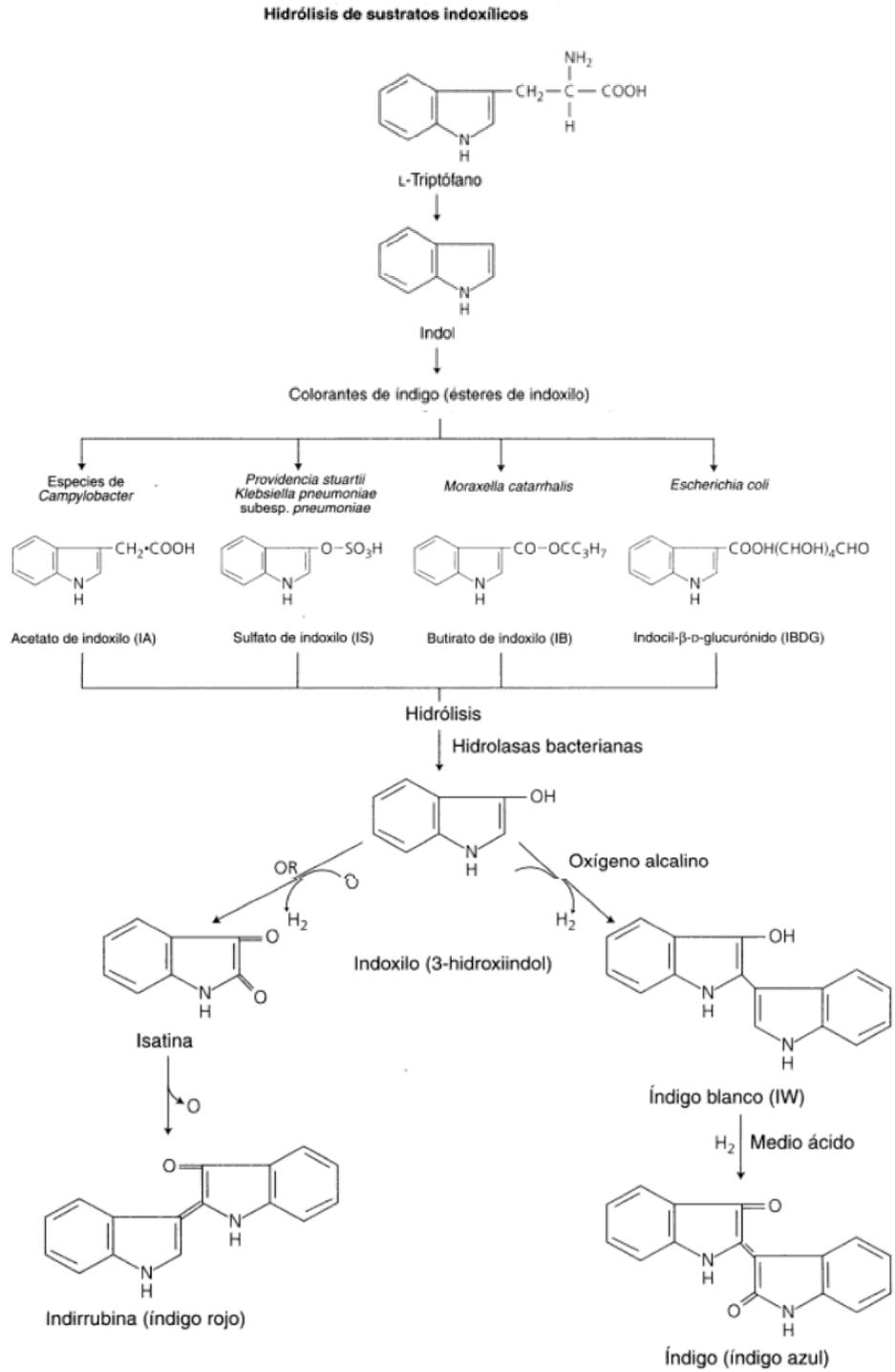
Prueba del butirato

Fundamento

Determinar la capacidad de esterasas bacterianas específicas para hidrolizar sustratos indoxílicos específicos a un colorante índigo, con el resultante color azul oscuro.⁵⁹

El indoxilo es un producto de la descomposición putrefactiva del triptófano en el intestino humano por acción bacteriana. Es un compuesto heterocíclico con un anillo de 5 componentes unido a un anillo benceno.⁵⁹

Las hidrolasas bacterianas liberan indoxilo a partir de acetato, sulfato, butirato β y D-glucorónido. En presencia de aire (O_2) y álcali, el indoxilo se hidroliza espontáneamente para formar el índigo blanco, y en un medio ácido, índigo. El índigo blanco y el índigo (azul) producen un color azul oscuro que indica que el compuesto indoxílico fue metabolizado.⁵⁹



El cromóforo exacto es dudoso; las cetonas (=O) en un anillo cerrado a menudo se encuentran en los colorantes. El índigo se considera con propiedades cromóforas. El pH óptimo es 5.1 para las enzimas. ⁵⁹

Las esterasa rompen las uniones éster entre los grupos del sustrato y las moléculas portadoras. La pérdida de una parte el sustrato libera indoxilo, que reacciona espontáneamente para producir índigo azul e indirrubina. Los compuestos coloreados índigo blanco, índigo e indirrubina (índigo rojo) son visibles a concentraciones muy bajas, lo cual hace que las pruebas sean sensibles y rápidas.⁵⁹

Interpretación

Método del Bromo-cloro-indolil butirato

Positivo (+): desarrollo de un color azul durante el período de incubación de 5 minutos.¹¹

Negativo (-): Sin cambio de color.¹¹

Método de Hidrólisis del butirato de indoxilo (IB) (hidrólisis de la tributirina)

Positivo (+): color azul verdoso en el sitio del inóculo dentro de los 2.5 minutos.⁵⁹

Negativo (-): sin cambio de color.⁵⁹

Reducción de nitratos y nitritos

Fundamento

Determinar la capacidad de un microorganismo de reducir los nitratos a nitritos o gas nitrógeno libre.⁵⁹

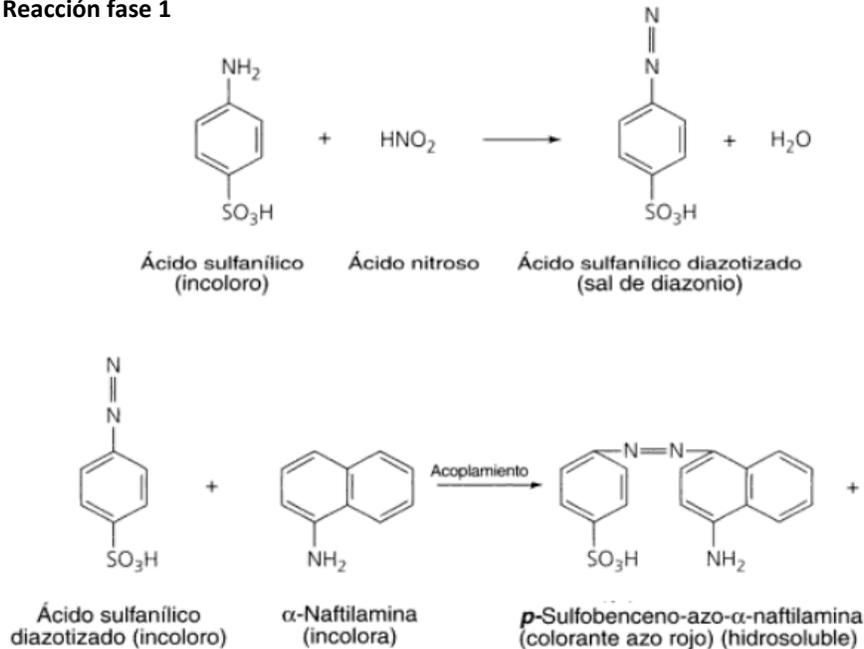
La mayoría de las bacterias aerobias son anaerobias facultativas y sólo pueden reducir los nitratos en ausencia de oxígeno. Esta respiración anaerobia es un proceso de oxidación en el que las sustancias inorgánicas (sobre todo nitrato y sulfato, rara vez carbonato) producen oxígeno para actuar como un aceptor de electrones a fin de proporcionar energía. El nitrato actúa como el último oxidante en los sistemas de citocromos.⁵⁹

Las posibilidades del producto final en la reducción del nitrato son muchas: nitrito (NO_2), amoníaco (NH_3), óxido nítrico (NO) o hidroxilamina (R-NH-OH), cuando el producto final es nitrógeno molecular (N_2) y óxido nitroso (N_2O) se le denomina desnitrificación. Estos productos finales pueden ocuparse para la síntesis de nuevos compuestos. Por consiguiente, en la prueba de reducción de nitratos, la reducción se evidencia por la presencia de un producto final catabólico o por la ausencia de nitrato en el medio.⁵⁹

Química de las acciones de los reactivos: la reducción de nitrato a nitrito se denota por el desarrollo de color cuando el nitrito reacciona con los dos reactivos: ácido sulfanílico y

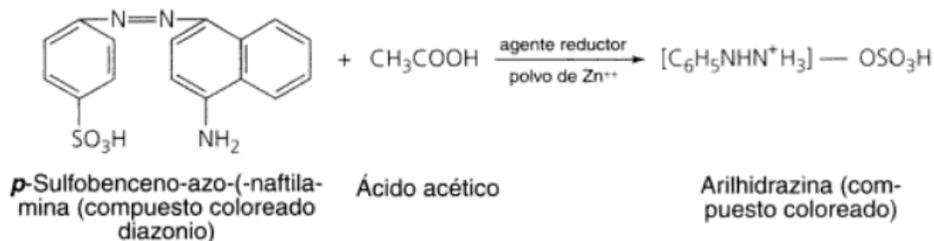
dimetil- α -naftilamina (o α -naftilamina). La reacción de color se debe a la formación de un compuesto diazonio, *p*-sulfobenceno-azo- α -naftilamina.⁵⁹

Reacción fase 1



La unión del grupo -N=N- azo brinda un compuesto coloreado por medio de una reacción nitrosa. Los compuestos coloreados diazonio se forman por el acoplamiento a través de una unión azo de una amina aromática con un compuesto de tipo fenólico por lo común en la posición para de un grupo hidroxilo (OH) o amino (NH₂).⁵⁹

Reacción fase 2



La reducción de la sal diazonio por el agente reductor polvo de cinc en presencia de ácido acético produce un compuesto coloreado, arilhidrazina.⁵⁹

Interpretación

Producción de gas

Positivo (G): burbujas de gas en el tubo Durham, en la superficie o en todo el medio semisólido. Una única burbuja es significativa.⁵⁹

Negativo (NG): ausencia de gas; continuar con la fase 1.⁵⁹

Fase 1

Positivo (+): Color rosa a rojo oscuro en 1-2 minutos. Nitrato (NO_3^-) reducido a nitrito (NO_2^-) por el microorganismo. Prueba terminada.⁵⁹

Negativo (-): Falta de desarrollo de color. El nitrito (NO_2^-) no está presente. Continuar con la fase 2 para probar la presencia de nitrato no reducido (NO_3^-).⁵⁹

Fase 2: Prueba de reducción del cinc

Positivo: ausencia del desarrollo del color. Ausencia de nitrito en el medio. El microorganismo redujo nitrato y con posterioridad redujo el nitrato a productos no gaseosos; desnitrificación (N_2).⁵⁹

Negativo: color rosa a rojo oscuro en 5-10 minutos. Confirma resultado de fase 1. Nitrato presente; no reducido por el microorganismo. El cinc redujo nitrato a nitrito.⁵⁹

Fermentación de carbohidratos

Fundamento

Determinar la capacidad de un microorganismo de fermentar (degradar) un hidrato de carbono específico incorporado en un medio basal, con la producción de ácido.⁵⁹

En ausencia de cualquier hidrato de carbono utilizable por la especie de *Moraxella catarrhalis*, con la incubación prolongada (72 horas o más), la peptona en el medio CTA/hidrato de carbono es desaminada para transformarse en una fuente de nitrógeno, lo que produce una reacción alcalina y por esto un resultado negativo de la prueba de hidrato de carbono.⁵⁹

El procedimiento descrito en este Manual de diagnóstico es una modificación del detallado en *Cumitech 4* de la American Society for Microbiology.⁵

La prueba de utilización rápida de hidratos de carbono emplea una solución equilibrada de buffer de fosfatos que contiene rojo de fenol como indicador. Se fraccionan alícuotas pequeñas (de 0.10 mL) de buffer en una serie de tubos estériles, uno para cada hidrato de carbono por probar. Se agrega una gota de cada hidrato de carbono (al 20% p/v) a cada tubo. Se prepara una suspensión densa del microorganismo en buffer sin hidratos de carbono y se agrega una gota de esta suspensión a cada tubo con hidratos de carbono. Después de 4 horas de incubación, se leen las reacciones. La producción de ácido de los hidratos de carbono se observa por un cambio de color del indicador rojo de fenol, del rojo al amarillo.⁵

Medio sintético que no es de crecimiento; solución de sales exentas de nitrógeno. En una prueba rápida de utilización de hidratos de carbono.⁵

Interpretación

Positivo (A, +): color amarillo; producción de ácido. El microorganismo utilizó el hidrato de carbono.⁵⁹

Negativo (-): color anaranjado (neutro) a rojo (alcalino) debido a la utilización de las peptonas.^{5, 59}

Hidrólisis del ADN

Fundamento

Determinar la capacidad de un microorganismo de producir la enzima desoxirribonucleasa (DNasa) capaz de despolimerizar el ácido desoxirribonucleico (DNA).⁵⁹

En la hidrólisis, alrededor de la cuarta parte de los puentes fosfodiéster e hidrógeno de los nucleótidos internos que mantienen secuencias complementarias de nucleótidos de DNA son fragmentados, lo que produce una mezcla de oligonucleótidos. La despolimerización desnaturaliza el DNA, lo que conlleva cambios en las propiedades físicas; éstas incluyen disminución de la viscosidad en la solución de ADN y aumento de la absorción de la luz ultravioleta a 260 m μ .⁵⁹

La mayoría de las DNasas bacterianas requieren cationes divalentes para su actividad, los cuales por lo general son proporcionados por las peptonas en el medio de crecimiento.⁵⁹

Química de la acción del azul de toluidina O (TBO): es un colorante que exhibe metacromasia, una propiedad en la que el colorante no tiñe con su color verdadero debido a complejos formados con algunas sustancias que cambian el espectro de absorción del

colorante original. La coloración verdadera u ortocromática del TBO es el azul real; la coloración metacromática es el rosa-rojo-violeta. Cuando el TBO forma un complejo con el DNA no hidrolizado, se produce un color azul real; sin embargo, cuando el DNA es hidrolizado y el TBO se combina con oligonucleótidos o mononucleótidos que cambian la estructura del colorante, el espectro de absorción cambia de longitud de onda de luz, que da un color rosa brillante.⁵⁹

Interpretación

Resultado dentro de los 15 minutos:

Positivo (+): el colorante alrededor de la colonia forma un halo magenta, estable durante 2-4 horas. Indica interacción del colorante tanto con el agar como con el DNA hidrolizado.⁵⁹

Negativo (-): una gota en el medio proporciona un color azul real oscuro de contraste.⁵⁹

β -lactamasas

Fundamento

Establecer la sensibilidad de microorganismos específicos a penicilinas sensibles a la penicilinas, determinada por su capacidad de elaborar una enzima β -lactamasa que hidroliza el anillo β -lactámico para producir ácido peniciliico.⁵⁹

Todos los β -lactámicos tienen mecanismos de acción similares, pero no idénticos: impiden o interrumpen la maduración del peptidoglucano al inhibir las uniones cruzadas lo que provoca la lisis osmótica de la pared celular.⁵⁹

Química de la acción de la nitrocefina: en presencia de β -lactamasa y de apertura del anillo β -lactámico, aumenta la conjugación del grupo dinitroestirilo en la posición 3 con el anillo dihidrotiazina, con un cambio de color de amarillo a rojo. Desplazamiento de electrones en una cefalosporina cromógena.

Interpretación

Positivo (+): color rojo que se oscurece a un borgoña intenso en 10-30 min. La reacción débil tiene un color anaranjado oscuro.⁵⁹

Negativo (-): el color permanece amarillo.⁵⁹

Comprobar los resultados negativos después de la inducción con meticilina; una asada de un desarrollo de 18 a 24 horas alrededor de disco de meticilina (o cefoxitina).⁵⁹

DISCUSIÓN

La realización del presente manual integral implicó la búsqueda de información actualizada, pero en bacterias como *Moraxella catarrhalis* que han tenido una historia taxonómica tan cambiante, también fue importante la revisión de documentos pasados, tal que, tras la revisión de varios artículos científicos y libros que abarcan las áreas de medicina, infectología, química y microbiología, se puede constatar que la información es consistente y transcrita a partir de las primeras deducciones realizadas por los primeros científicos que se interesaron en la identificación de esta bacteria. Recientes estudios, no demostraron cambios significativos en cuanto a la epidemiología, patogenia y pruebas de identificación para *Moraxella catarrhalis*. Además, la información sobre el diagnóstico microbiológico muestra un verdadero antagonismo, ya que los autores no concuerdan con algunas características de identificación para *Moraxella catarrhalis*, sin embargo, con el fin de cumplir con los objetivos por el cual se realizó el presente manual, se basó la información en fuentes bibliográficas internacionales y confiables, tal como, el Manual Bergey de Bacteriología Sistemática y del Instituto de Estándares Clínicos y de Laboratorio, así se seleccionó y se profundizó en la búsqueda de información.

En la realización del Manual de diagnóstico de *Moraxella catarrhalis* se organizó información e ilustraciones alusivas a cada etapa del proceso de diagnóstico de *Moraxella catarrhalis*, que lleva de la mano al estudiante de Químico Farmacéutico Biológica, además se incluyeron temas como la historia de *Moraxella catarrhalis*, su epidemiología, factores de virulencia, patologías más importantes y su tratamiento, con lo cual se logra un conocimiento más profundo sobre el diagnóstico y se valora la importancia que ha adquirido este microorganismo como patógeno de reciente resurgimiento. Como reforzamiento del aprendizaje se incluyeron dos anexos, el primero de procedimientos para toma de muestras y el segundo sobre los principios e interpretación de las pruebas bioquímicas. Dentro de la búsqueda de información no se encontró un manual parecido al realizado.

De esta manera, el presente manual integral disponible para los alumnos que cursan Microbiología Médica de la carrera de Químico Farmacéutico Biológica, permite la comprensión y reforzamiento de los conocimientos proporcionados dentro del salón de clases, a su vez, también contribuye en la actualización y difusión de la importancia de *Moraxella catarrhalis* en el área clínica, un microorganismo, que aún no es identificado en los laboratorios de microbiología, por lo que colaborando con los conocimientos que se

adquieren durante la carrera, al ser profesionales de la salud, el desempeño del químico, médico, pediatra u otros, se verá realizado con mayor eficacia.

Respecto a la investigación teórica, se sabe que *Moraxella catarrhalis* ha emergido como un importante patógeno humano y está demostrada la necesidad de su aislamiento e identificación para tratamiento específico, pero se dificulta su diagnóstico debido a su morfología indistinguible con especies de *Neisseria sp.* que colonizan el tracto respiratorio, ya que estas no son habitualmente identificadas por los laboratorios de Microbiología Clínica, por lo que es necesario definir y caracterizar a *Moraxella catarrhalis*.

En el desarrollo del manual se describieron los principales parámetros para la identificación de *Moraxella catarrhalis*: la presencia de una morfología bacteriana definida en una muestra de calidad comprobada por frotis con tinción de Gram, el cultivo en medios adecuados para diferenciar sus características culturales y la realización de las pruebas fisiológicas necesarias para diferenciarlas de otros microorganismos pertenecientes a las neisserias comensales. Además, su relevancia como patógeno origen que en los últimos años, aparte de las técnicas convencionales de identificación se hayan desarrollado técnicas adicionales, incluyendo la detección de la desoxirribonucleasa (DNasa) de esta bacteria, la cual permite diferenciarla de todas las especies de *Neisseria sp.* aisladas en el hombre y la hidrólisis de tributirina.

En un diagnóstico diferencial se sabe que *Moraxella catarrhalis* como las neisserias comensales del tracto respiratorio son cocos gramnegativos dispuestos a pares, su morfología colonial se caracteriza por colonias no pigmentadas o grises, convexas, opacas y lisas de bordes enteros con las mismas condiciones de crecimiento, son catalasa y oxidasa positivos, pero a diferencia de las neisserias comensales que producen ácido a partir de la oxidación de los carbohidratos, *Moraxella catarrhalis* es no sacarolítica, ya que no es capaz de producir ácido a partir de glucosa, maltosa, fructosa o sacarosa, además, para diferenciarla sobre todo de la especie *N. cinerea*, se realizan las pruebas de reducción de nitrato, hidrólisis de la tributirina y la prueba de la DNasa, todas positivas para *Moraxella catarrhalis*.

Por consiguiente y a menos que los laboratorios de microbiología clínica investiguen de forma específica las colonias que parezcan *Neisseria sp.*, *Moraxella catarrhalis* pasara desapercibida como posible patógeno en el esputo.

El interés por *Moraxella catarrhalis* ha surgido por que se ha identificado principalmente asociado a tres condiciones clínicas: como el tercer agente etiológico más frecuente de otitis media en niños y en el adulto se reporta principalmente como productor de neumonías agudas, particularmente en aquellos que padecen bronquitis crónica o una

afección pulmonar obstructiva, además, se considera también en el adulto como un microorganismo principal en la etiología de la sinusitis maxilar.

Se ha comprobado que algunos factores propios del hospedero, como la presencia de una enfermedad concomitante, son importantes para desarrollar una infección por *Moraxella catarrhalis*, así se determinó que la enfermedad obstructiva crónica (EPOC) aumenta el riesgo a la infección por este agente. Además, la transmisión se da por contacto directo a través de las secreciones respiratorias.

Aunado a todo esto, un número significativo de aislamientos de *Moraxella catarrhalis* en humanos producen β -lactamasa, lo que en parte ha favorecido su resurgimiento como patógeno en infecciones respiratorias. Los dos tipos de β -lactamasas producidos por *Moraxella catarrhalis* puede llevar a un fracaso terapéutico si no se emplean adecuadamente los antibióticos por lo que a su vez se recomienda el esquema de tratamiento a otros antibióticos no inactivados por esta enzima como lo son combinaciones de betaláctamicos e inhibidores de β -lactamasa, cefalosporinas de segunda y tercera generación, macrólidos, tetraciclinas y fluoroquinolonas. Cabe mencionar, que no hay razón para realizar en forma habitual otra prueba que no sea la de β -lactamasa en *Moraxella catarrhalis*, debido a que la sensibilidad del microorganismo a otros antibióticos es predecible, además, el Instituto de Estándares Clínicos y de Laboratorio (CLSI), no proporciona los estándares y los puntos de corte sobre la sensibilidad de difusión en disco solo propone las concentraciones inhibitorias mínimas (CIM) de microdilución en caldo.

CONCLUSIÓN

Se puede concluir que *Moraxella catarrhalis* no es un agente primario de las infecciones del tracto respiratorio inferior, sino un agente oportunista que se aprovecha de las condiciones predisponentes del hospedero para causar enfermedad y formar parte de los patógenos humanos emergentes. Por tanto su presencia en una muestra adecuada unido a los factores epidemiológicos demostrados anteriormente, debe ser tomada en consideración para el tratamiento de las infecciones causadas por esta.

De esta manera, el trabajo final, consiste en el Manual de Diagnóstico Microbiológico de *Moraxella catarrhalis*, que cumpliendo con su objetivo, permitirá al Químico relacionar cada etapa del proceso de diagnóstico para *Moraxella catarrhalis*, que consta de información estructurada e ilustraciones y un anexo para la toma de muestras y otro con los principios e interpretación de pruebas bioquímicas que favorecerán el aprendizaje y desarrollo práctico del alumno en la asignatura de Microbiología clínica.

La realización del Manual de Diagnóstico Microbiológico de *Moraxella catarrhalis*, colabora de manera general, con la actualización y adquisición de conocimientos sobre el diagnóstico de nuevos agentes etiológicos en las enfermedades respiratorias del plan de estudios de la carrera de Químico Farmacéutico Biológico en el módulo de Microbiología Médica impartido en la Facultad de Estudios Superiores Zaragoza.

Además, el tema y la información contenida en dicho manual integral, permite ampliar su utilidad a carreras relacionadas con el área de la salud en el proceso del diagnóstico como medicina, pediatría, otorrinolaringología, entre otras.

PERSPECTIVAS

- 1) Promover la existencia del Manual de diagnóstico microbiológico de *Moraxella catarrhalis*, y otros existentes, entre los alumnos que cursan Microbiología Médica de la carrera de Químico Farmacéutico Biológica para su consulta.
- 2) Revisar referencias bibliográficas de ediciones actualizadas del Manual Bergey de Bacteriología Sistemática e información reciente de artículos científicos debido al constante cambio sobre las características y taxonomía de *Moraxella catarrhalis*.
- 3) Incentivar a los laboratorios de microbiología clínica para que realicen la búsqueda e identificación de *Moraxella catarrhalis* en muestras del aparato respiratorio debido a su frecuencia creciente como agente etiológico de importantes manifestaciones clínicas.
- 4) Realizar estudios epidemiológicos sobre la prevalencia de *Moraxella catarrhalis* como el agente etiológico de sus principales patologías (otitis media aguda, sinusitis maxilar aguda e infecciones del tracto respiratorio) en México.

REFERENCIAS

1. Murray PR, Rosenthal KS, Pfaller MA. Microbiología Médica. 6 ed. Madrid: Elsevier; 2009.
2. Leaños MB, Miranda NMG, Solórzano SF, Ortiz OL, Guiscafré GH. Prevalencia de colonización por *Moraxella catarrhalis* en portadores asintomáticos menores de seis años. Salud Pública Méx 2001; 43:27-31.
3. Cisternas O, Herrera C. Casos clínicos: Sepsis por *Moraxella catarrhalis*. Revista del Hospital del Niño Panamá 2005; 21:194-198.
4. Mora MM. *Moraxella catarrhalis* en tracto respiratorio inferior. Revista Costarricense de Ciencias Médicas 1998 Diciembre; 19(3-4): 181-187. Disponible en http://www.scielo.sa.cr/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S025329481998000300007&lng=es.
5. Koneman EW, Allen SD, Janda WM, Schreckenberger PC, Winn WC. Diagnóstico microbiológico y atlas a color. 5 ed. Madrid: Médica Panamericana; 2001.
6. Spicer WJ. Microbiología clínica y enfermedades infecciosas texto y atlas en color. 2 ed. Barcelona: Elsevier; 2009.
7. Rodríguez AC, Martínez PJL. Implicación clínica del aislamiento de *Branhamella catarrhalis* en muestras respiratorias. Revista Cubana de Medicina 2002 Sep- Oct; 41(5): 261-264.
8. Fauci AS, Braunwald E, Kasper DL, Hauser SL, Longo DL, Jameson JL, et al. Harrison Principios de Medicina Interna. 17 ed. Vol. 1. México: McGraw-Hill; 2009.
9. Mandell GL, Bennett JE, Dolin R. Enfermedades infecciosas principios y práctica. 6 ed. Vol. 2. Madrid: Elsevier; 2006.
10. Negroni M. Microbiología estomatológica fundamentos y guía práctica. 2 ed. Buenos Aires: Médica Panamericana; 2009.
11. Forbes BA, Sahm DF, Weissfeld AS. Bailey and Scott Diagnóstico microbiológico. 12 ed. Buenos Aires: Médica Panamericana; 2009.
12. Case Studies in Microscopy *Moraxella* (Sitio en Internet). Cornell University. Disponible en <http://instruct1.cit.cornell.edu/courses/biomi290/microscopycases/sars/document/BacLIB.htm#morax>. Acceso el 7 de octubre de 2012.
13. Kemeth JR, Sherris CGR. Microbiología medica una introducción a las enfermedades infecciosas. 4 ed. México: McGraw-Hill Interamericana; 2005.
14. Taylor ML, Haro I de, Giano S, Lopez VY. Guía de bacteriología médica. México: McGraw-Hill Interamericana; 2007.

15. Mocerrea M. Queratitis *Moraxella* (Sitio en Internet). IntraMed. Disponible en <http://www.intramed.net>. Acceso el 18 de septiembre de 2012.
16. Picazo JJ, García RJA. Microbiología médica general. Madrid: Harcourt Brace de España; 1998.
17. Freeman BA. Microbiología de Burrows. 22 ed. México: Nueva Editorial Interamericana; 1989.
18. Levinson W. Microbiología e inmunología médicas. 8 ed. España; McGraw-Hill Interamericana; 2006.
19. Constantinescu M. *Moraxella catarrhalis* infección (Sitio en Internet). Medscape. Disponible en <http://emedicine.medscape.com/article/222320-overview#showall>. Acceso el 7 de octubre de 2012.
20. Buxton R. Sputum Gram-Negative Diplococci and Coccobacilli (Sitio en Internet). Microbe Library. Disponible en <http://202.195.144.50/ASM/026-4-MicrobeLibrary%20-%20Sputum%E2%80%93Gram-Negative%20Diplococci%20and%20Coccobacilli-Introduce.htm>. Acceso el 7 de octubre de 2012.
21. *Moraxella catarrhalis* (Sitio en Internet). Disponible en <http://www.gefor.4t.com/bacteriologia/moraxellacatarrhalis.html>. Acceso el 4 de octubre de 2012.
22. Audisio SN, Audisio SA, Francés O, Halac JM, Merlassino JL. Tratamiento de patologías del complejo ocular bovino. Aplicación subconjuntival bulbar de arginina-inosina. Nuestra cabaña 2003; (326): 50-53. Disponible en <http://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=650477>
23. Zielinsky G. Ganadería: Control de la Queratoconjuntivitis (Queratoconjuntivitis Infecciosa Bovina) [sitio en internet]. Agrobot. Com. Disponible en [http://www.agrobot.com/Documentos/E_7_Enfermed%5C532_ga000012en\[1\].htm](http://www.agrobot.com/Documentos/E_7_Enfermed%5C532_ga000012en[1].htm). Acceso el 23 de septiembre de 2012.
24. Chan H, Dinh R, Selvaraj A, Hagiufi L, Paulos B, Hagiismail N. Ear (Sitio en Internet). MicrobeWiki. Disponible en <http://microbewiki.kenyon.edu/index.php/Ear>. Acceso el 7 de octubre de 2012.
25. Infección del oído medio (Sitio en Internet). University of Mariland. Medical center. Disponible en http://www.umm.edu/esp_imagepages/19620.htm. Acceso el 14 de octubre de 2012.
26. González SN, Torales TAN, Gómez BD. Infectología Clínica Pediátrica. 8 ed. México: McGraw Hill Interamericana; 2011.
27. Donato AO. Los pulmones (Sitio en Internet). Salud y Sociedad. Disponible en <http://www.salud.bioetica.org/pulmones.htm>. Acceso el 13 de octubre de 2012.

28. Respiración (Sitio en Internet). Disponible en <http://www.ecociencia.cl/articulos/respiracion.htm>. Acceso el 13 de octubre de 2012.
29. Bennett JC, Plum F. Cecil Tratado de Medicina Interna. 20 ed. Vol. 1. México: McGraw-Hill Interamericana; 1997.
30. Aspectos Generales de las neumonías (Sitio en Internet). Escuela de medicina. Disponible en <http://escuela.med.puc.cl/publ/AparatoRespiratorio/29NeumoniasGeneral.html>. Acceso el 13 de octubre de 2012.
31. Neumonía, síntomas y complicaciones (Sitio en Internet). Mujer ok. Disponible en <http://www.mujerok.com/neumonia-sintomas-y-complicaciones.html>. Acceso el 26 de septiembre de 2012.
32. Map images (Sitio en Internet). Nokia. Disponible en <http://flickrriver.com/photos/fraser/2509958674/>. Acceso el 9 de octubre de 2012.
33. Microbiology in pictures 2011 (Sitio en Internet). Disponible en <http://www.microbiologyinpictures.com/moraxella%20catarrhalis.html>. Acceso el 7 de octubre de 2012.
34. Brooks GF, Carroll KC, Butel JS, Morse SA. Microbiología medica de Jawetz, Melnick y Adelberg. 19 ed. México: El Manual Moderno; 2008.
35. Balder R, Lafontaine ER. Laboratory Maintenance of Moraxella catarrhalis. (Sitio en Internet). CurrentProtocols in Microbiology: Wiley. Disponible en <http://www.currentprotocols.com/WileyCDA/CPUnit/refId-mc06b01.html>. Acceso el 14 de octubre de 2012.
36. *Moraxella catarrhalis*. Infectología (Sitio en Internet). Ya salud. Disponible en <http://yasalud.com/moraxella-catarrhalis/>. Acceso el 7 de octubre de 2012.
37. Soluciones caseras para combatir la sinusitis (sitio en Internet). Blogy Salud. Disponible en <http://www.blogysalud.com/salud/11179/sinusitis/remedios/caseros>. Acceso el 14 de octubre de 2012.