



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE SAN LUIS POTOSÍ

FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS

LABORATORIO DE MICROBIOLOGÍA

“CASO CLÍNICO DE *Proteus mirabilis* “

ALUMNA: LOYOLA CÁRDENAS JULIETA

PROFESORAS:

-JUANA TOVAR OVIEDO

- GLORIA ALEJANDRA MARTINEZ TOVAR

GRUPO: 10:00-11:00

Objetivo

Mediante el uso de nuestros conocimientos adquiridos en el Laboratorio de Microbiología en relación a un caso clínico, identificar al microorganismo *Proteus mirabilis*, además de aprender características propias de la bacteria, mediante la diferente metodología: la tinción de gram, prueba oxidasa, y pruebas bioquímicas, técnica de Kirby-Bauer y verificar el mejor antibiótico para combatir a nuestra bacteria.



Introducción

- Bacilo Gram Negativo
- Anaerobio facultativo
- Medio de cultivo:
Agar sangre, agar nutritivo, agar BHI,
etc.

Taxonomía *Proteus mirabilis*

Dominio	Bacteria
Filo	Proteobacteria
Clase	Gammaproteobacteria
Orden	Enterobacteriales
Familia	Enterobacteriaceae
Género	Proteus
Especie	mirabilis



Caso Clínico

- Mujer de 59 años de edad.
- Antecedentes de colitis ulcerosa
- Fue sometida a colectomía
- Al 6° día postoperatorio inicia un cuadro de fiebre alta y deterioro del estado general
- En los 2 hemocultivos crece bacilo gram negativo, fermentador, identificado como *Proteus mirabilis*.
- Resistente a ampicilina, amoxicilina/ácido clavulánico, cefotaxima, ceftazidima y aminoglucosidos, pero sensible a cefoxitina, fluoroquinolonas y carbapenemas.
- En la -tomografía axial computarizada- se detecta masa tisular abdominal de baja densidad y con una cápsula bien definida.
- Tratamiento: meropenem y ciprofloxacino. Se realiza drenaje percutáneo bajo control de imagen del absceso.
- Los hemocultivos se negativizaron a los dos días y la paciente evolucionó favorablemente hacia la curación.

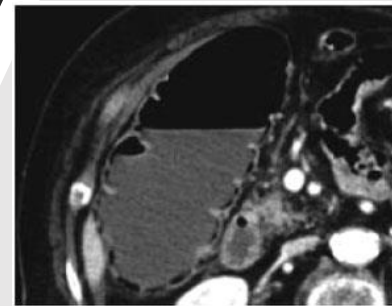
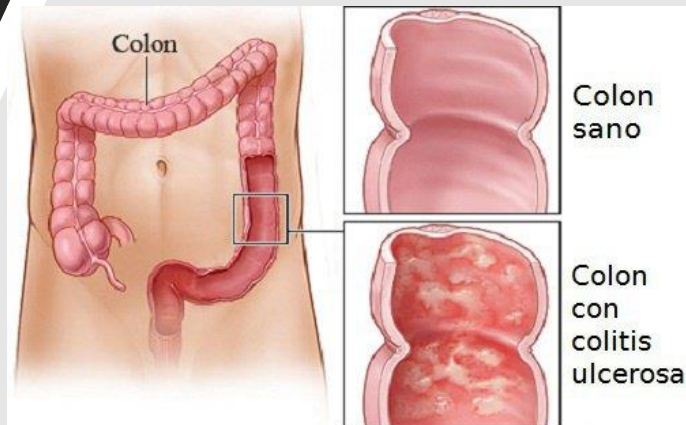


Figura 4. Halo graso. Capa media con atenuación de tejido adiposo.



Cultivo y aislamiento

PRUEBAS BIOQUÍMICAS

1. Tinción de Gram
2. Sembrar en Citrato de Simmons, medios líquidos, medios semisólidos (por picadura) y medios sólidos por pico de flauta.
3. Incubar a 37°C por 24 hrs.
4. Colocar reactivos reveladores e interpretar resultados

TÉCNICA DE KIRBY-BAUER

1. Rotular caja de Petri.
2. Suspender al microorganismo en solución salina de 3ml, con el estándar de Mc Farland
3. Impregnar isótopo en la solución, quitar el exceso e inocular en la caja del agar Mueller Hinton, por técnica invasiva.
4. Esterillizar pinzas metálicas
5. Tomar los sensidiscos con la pinza y colocar en la superficie del agar presionando.
6. Invertir la caja e incubar a 37 °C por 24 hrs.

Metodología

PRUEBAS BIOQUÍMICAS

- UTILIZACIÓN DE CITRATO: observar posible desarrollo
- PRUEBA DE ROJO DE METILO: Añadir 5 gotas de indicador “rojo de metilo”
- PRUEBA DE VOGES-PROSKAUER: Añadir 0.6ml de alfa-naftol y 0.2 ml de hidróxido de potasio. Agitar los tubos. Exponer a oxígeno. Dejar reposar.
- PRUEBA DE LA UREASA: Observar cambios.
- PRUEBA DE INDOL: 5 gotas del reactivo de Kovacs

TÉCNICA DE KIRBY-BAUER

1. Medir los halos de inhibición (con vernier o regla)
2. Comparar resultados con tablas de de la CLSI.
3. Reportar sensible, intermedio o resistente.

Resultados

Tipo de sensidisco	Medición	Clasificación
AM-10 Ampicilina-10	20 mm	Susceptible
NA-30 Ac. Nalidixico-30	25 mm	Susceptible
LZD-30 Linezolid-30	14 mm	Resistente
AmcC-30 Ac. Clavulanico	12 mm	Resistente
CC-2 Clindamicina-2	0 mm	Resistente

Prueba Bioquímica	Resultado
Indol	- (sin cambio –amarillo-)
Rojo de Metilo	+ (roja)
Voges Proskauer	- (ausencia de rojo)
Citrato de Simmons	+ (azul en el pico)
Urea	+ (rojo-rosado)
Movilidad	+
Gelatina (22°C)	+
Lisina descarboxilasa	- (pico violeta, fondo amarillo)
Fenilalanina desaminasa	+ (pico verde)
Oxidasa	- (enterobacteriae)

Tabla 1. Patrones de resistencia natural en diferentes especies de enterobacterias (modificada del CASFM⁵)

Especies	AMP	AMC	TIC	C1G	FOX	CXM	GEN	TET	COL	NIT
<i>Klebsiella</i>	R		R							
<i>Citrobacter koseri</i>	R		R							
<i>Citrobacter amalonaticus</i>	R		R							
<i>Citrobacter freundii</i>	R	R		R	R	r				
<i>Enterobacter cloacae</i>	R	R		R	R	r				
<i>Enterobacter aerogenes</i>	R	R		R	R	r				
<i>Hafnia alvei</i>	R	R		R	R					
<i>Serratia marcescens</i>	R	R		R	r	R				
<i>Proteus mirabilis</i>							R	R	R	
<i>Proteus vulgaris</i>	R			R		R			R	R
<i>Morganella morganii</i>	R	R		R	r	R			R	R
<i>Providencia</i> spp.	R	R		R	r		R		R	R
<i>Yersinia enterocolitica</i>	R	R	R	R	R	R				

AMC: amoxicilina-ác. clavulánico; AMP: ampicilina; COL: colistina; CXM: cefuroxima; C1G: cefalosporinas de primera generación; FOX: cefoxitina; GEN: gentamicina; TET: tetraciclina; TIC: ticarcilina; NIT: nitrofurantoína; R: resistente; r: halos reducidos o CIM elevadas, pero dentro del rango de sensibilidad.

Tabla 2. Principales patrones de resistencia a betalactámicos en función de la betalactamasa implicada de mayor interés clínico

Fenotipo	AMP	AMC	TIC	PIP	C1G	FOX	CXM	C3G	C4G	CARB
Grupo 1										
<i>E. coli</i> , <i>Shigella</i> , <i>P. mirabilis</i> , <i>Salmonella</i>										
Natural	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
Natural ↑	R	R	R	R	R	R	R	r/R	S	S
Penicilinasa ↑	R	r	R	R	R	S	S	S	S	S
BLEE	R	V	R	R	R	S	R	S/R	S/R	S
IRT	R	R	R	R	S	S	S	S	S	S
AmpC adquirida	R	R	R	R	R	R	R	r/R	S	S
Carbapenemasa	R	R	R	R	R	R	R	r	r	r

Discusión

- El hecho de saber con cual microorganismo estuvimos trabajando, nos hizo cuidar detalles y verificar cuales pruebas saldrían negativas y positivas. Sin embargo, en la vida práctica no sabremos con cual microorganismo estamos trabajando, por lo cuál siempre debemos ser cuidadosos y cuidar detalles, así como observar atentamente todos los cambios que observemos y cuidar pequeños detalles.

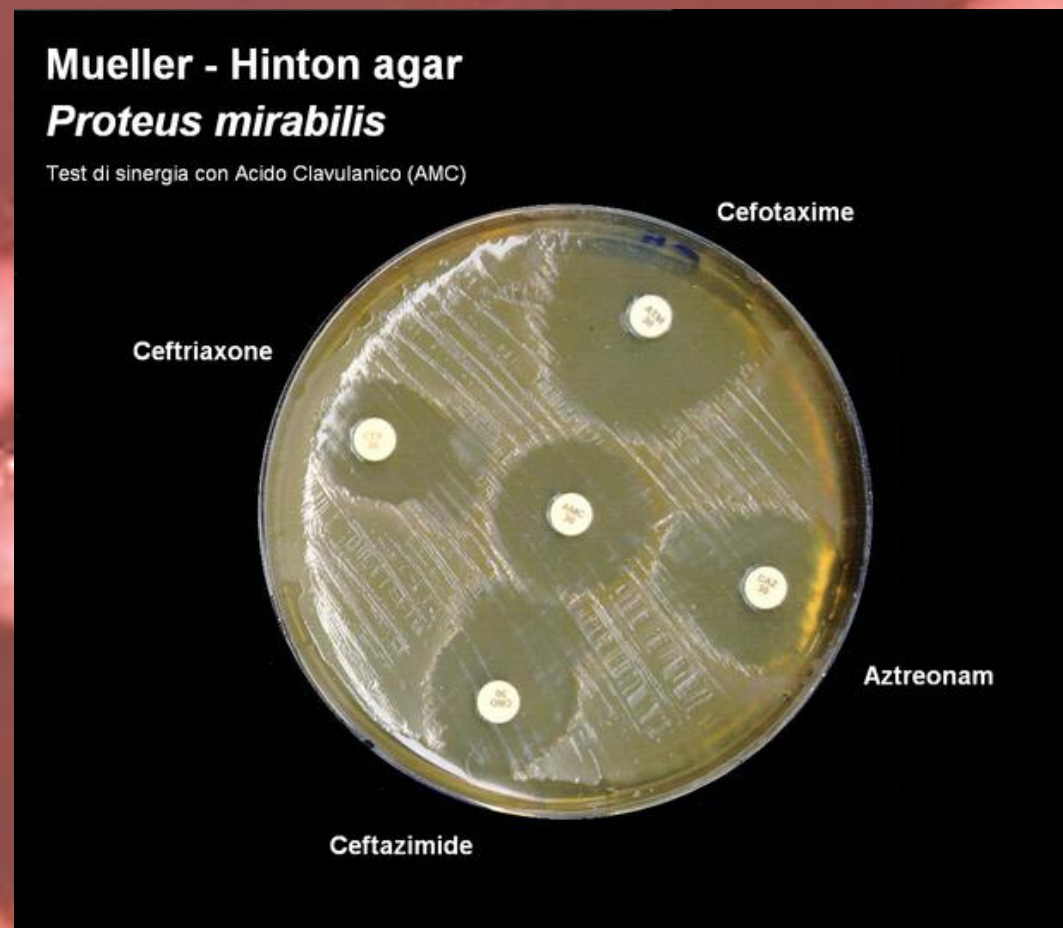
- La CLSI indica que los antibióticos resistentes no generan aros de inhibición; en cambio los antibióticos sensibles forman aros de inhibición debido a que el m.o. es sensible. Sucede que el punto medio entre ambos es conocido como “intermedio”, debido a que no es muy marcado el aro de inhibición

Conclusión

- Proteus mirabilis es una bacteria denominada “reina de las infecciones”, debido a lo molesto y resistente que puede llegar a ser en el organismo. Sin embargo, convive de manera natural en nuestro organismo, formando parte de la flora digestiva
- Esta bacteria es conocida porque ha provocado el abuso de medicamentos que las personas llevan en su vida diaria.
- Sin embargo; es una de aquellas enfermedades que si tomamos medidas preventivas, podemos evitarla
- Mediante las condiciones dictadas por la CLSI, nos dimos cuenta que nuestro agar para la técnica de Kirby Bauer fue efectuado correctamente; lo cual indicó que trabajamos con un estándar de calidad.

Bibliografía

- 1 Bou G, Oliver A, Ojeda M, et al. Molecular characterization of FOX-4, a new AmpC-type plasmid-mediated betalactamase from an E. coli strain isolated in Spain. Antimicrob Agents Chemother 2000; 44: 2549-53.
- 2 Navarro F, Pérez-Trallero E, Marimón JM, et al. CMY-2-producing Salmonella enterica, Klebsiella pneumoniae, Klebsiella oxytoca, Proteus mirabilis and Escherichia coli strains isolated in Spain. J Antimicrob Chemother 2001; 48: 383-9.
- 3 <http://www.elsevier.es/es-revista-enfermedades-infecciosas-microbiologia-clinica-28-articulo-lectura-interpretada-del-antibiograma-enterobacterias-S0213005X10002193>
Visualizado el 15/03/2017
“Enfermedades infecciosas y microbiología clínica”
- 4 http://www.f-soria.es/admfSORIA/casos/img/caso_455.pdf
Visualizado el 09/03/2017
“Casos de Microbiología clínica”
- 5 <http://clsi.org/about-clsi/>
Visualizado el 20/03/2017
“CLSI”





UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE SAN LUIS POTOSÍ

FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS

MICROBIOLOGY LABORATORY

- CLINICAL CASE OF PROTEUS MIRABILIS -

STUDENT: LOYOLA CÁRDENAS JULIETA

GROUP: 10:00-11:00

TEACHERS:

-JUANA TOVAR OVIEDO

- GLORIA ALEJANDRA MARTINEZ TOVAR

Objective

By using our knowledge acquired in the Laboratory of Microbiology in relation to a clinical case, to identify the microorganism *Proteus mirabilis*, in addition to learning characteristics of the bacteria, through the different methodology: gram stain, oxidase test, and biochemical tests, Kirby-Bauer technique and verify the best antibiotic to fight our bacteria.

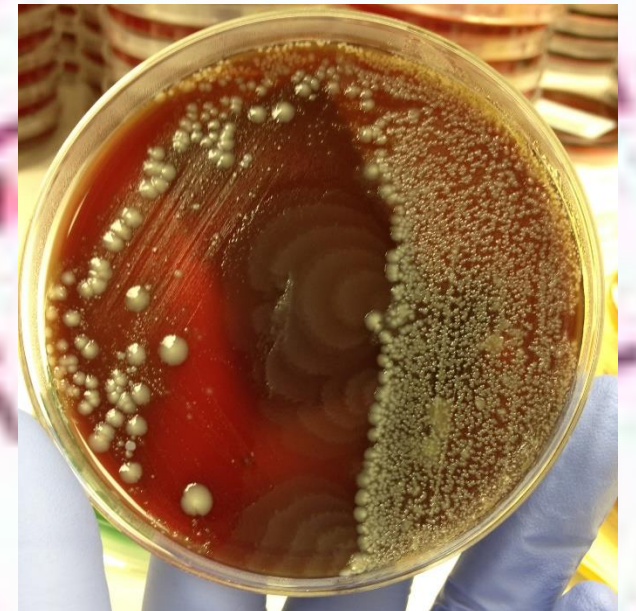


Introduction

- Gram Negative Bacillus
- Optional Anaerobic
- Culture medium: Blood agar, nutritive agar, BHI agar, etc.

Taxonomy *Proteus mirabilis*

Domain	Bacteria
Phylum	Proteobacteria
Kind	Gammaproteobacteria
Orden	Enterobacteriales
Family	Enterobacteriaceae
Gender	Proteus
Species	mirabilis



Clinical Case

- Woman of 59 years old.
- History of ulcerative colitis
- She underwent colectomy
- At the 6th postoperative day, the onset of a high fever and deterioration of the general condition
- In the 2 blood cultures grows gram-negative bacillus, fermentor, identified as *Proteus mirabilis*.
- Resistant to ampicillin, amoxicillin / clavulanic acid, cefotaxime, ceftazidime and aminoglycosides, but sensitive to cefoxitin, fluoroquinolones and carbapenems.
- In the computerized axial tomography, abdominal tissue mass of low density and with a well-defined capsule is detected.
- Treatment: meropenem and ciprofloxacin. Percutaneous drainage is performed under image control of the abscess.
- Blood cultures were negativized at two days and the patient progressed favorably towards healing.

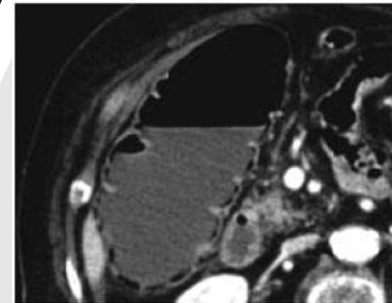
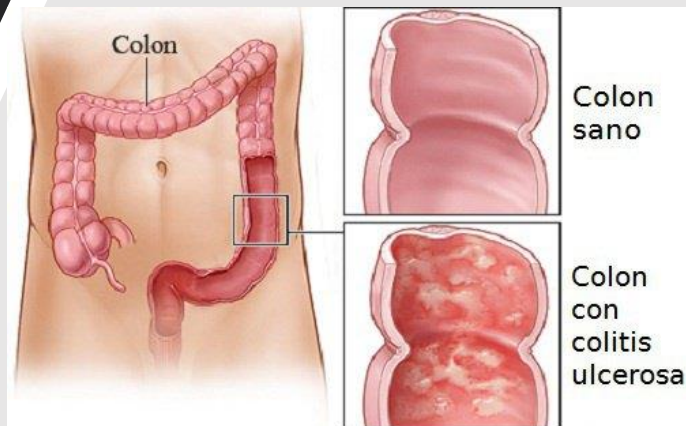
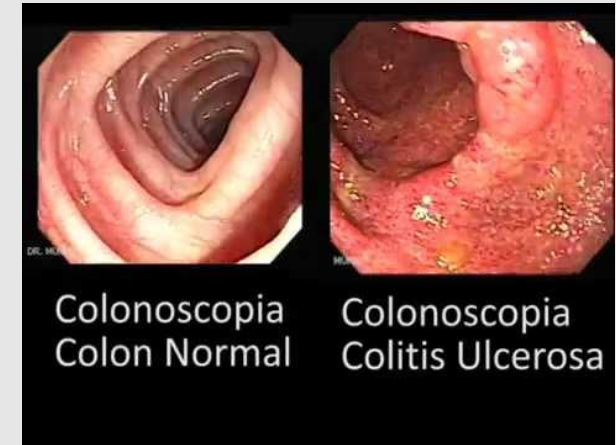


Figura 4. Halo graso. Capa media con atenuación de tejido adiposo.



Cultivation and isolation

• BIOCHEMICAL TESTS

1. Gram staining
2. Seed in Simmons Citrate, liquid media, semisolid media (by stinging) and solid media per flute peak.
3. Incubate at 37 ° C for 24 hrs.
4. Put revealing reagents and interpret results

KIRBY-BAUER TECHNIQUE

1. Label the Petri dish.
2. Suspend the microorganism in 3ml saline solution, with the Mc Farland standard
3. Impregnate isotope in the solution, remove the excess and inoculate in the Mueller Hinton agar box, by invasive technique.
4. Sterilize metal tongs
5. Take the sensidiscos with the clamp and place on the surface of the agar by pressing.
6. Invert the box and incubate at 37 ° C for 24 hrs.

Methodology

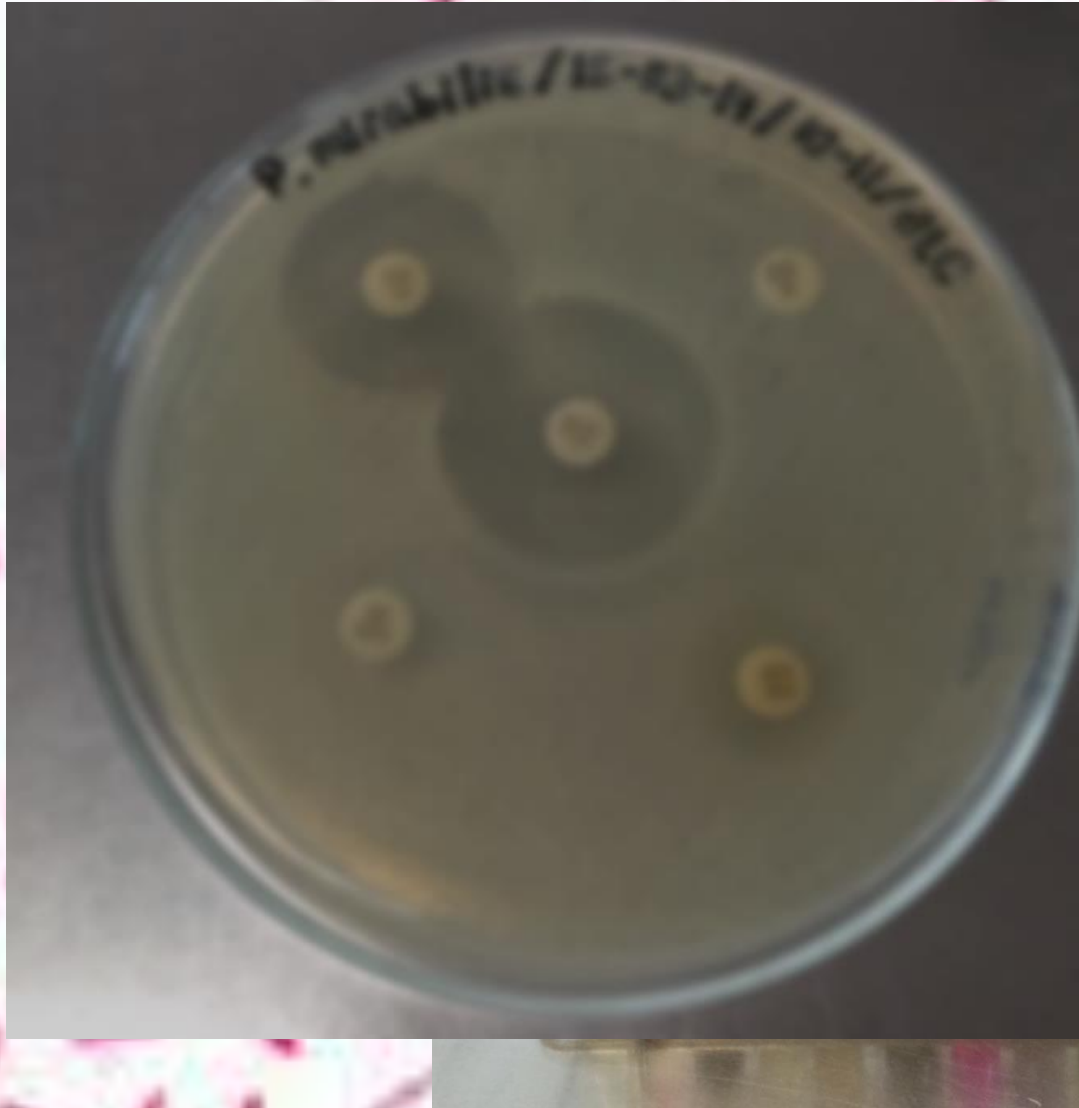
BIOCHEMICAL TESTS

- USE OF CITRATE: observe possible development
- METILO RED TEST: Add 5 drops of "methyl red"
- VOGES-PROSKAUER TEST: Add 0.6 ml of alpha-naphthol and 0.2 ml of potassium hydroxide. Shake the tubes. Expose to oxygen. Let rest.
- UREASA TEST: Observe changes.
- INDOL TEST: Add 5 drops of Kovacs reagent

KIRBY-BAUER TECHNIQUE

- Measure inhibition halos (with vernier or rule)
- Compare results with the CLSI reference tables.
- Report sensitive, intermediate or resistant.

Result



Sensidisco type	Measurement	Result
AM-10 Ampicilin-10	20 mm	Susceptible
NA-30 Nalidixic Acid-30	25 mm	Susceptible
LZD-30 Linezolid-30	14 mm	Resistant
AmcC-30 Clavulanic Acid	12 mm	Intermedia te
CC-2 Clindamicin-2	0 mm	Resistant

Tabla 1. Patrones de resistencia natural en diferentes especies de enterobacterias (modificada del CASFM⁵)

Especies	AMP	AMC	TIC	C1G	FOX	CXM	GEN	TET	COL	NIT
<i>Klebsiella</i>	R		R							
<i>Citrobacter koseri</i>	R		R							
<i>Citrobacter amalonaticus</i>	R		R							
<i>Citrobacter freundii</i>	R	R		R	R	r				
<i>Enterobacter cloacae</i>	R	R		R	R	r				
<i>Enterobacter aerogenes</i>	R	R		R	R	r				
<i>Hafnia alvei</i>	R	R		R	R					
<i>Serratia marcescens</i>	R	R		R	r	R				
<i>Proteus mirabilis</i>							R	R	R	
<i>Proteus vulgaris</i>	R			R		R			R	R
<i>Morganella morganii</i>	R	R		R	r	R			R	R
<i>Providencia</i> spp.	R	R		R	r		R		R	R
<i>Yersinia enterocolitica</i>	R	R	R	R	R	R				

AMC: amoxicilina-ác. clavulánico; AMP: ampicilina; COL: colistina; CXM: cefuroxima; C1G: cefalosporinas de primera generación; FOX: cefoxitina; GEN: gentamicina; TET: tetraciclina; TIC: ticarcilina; NIT: nitrofurantoína; R: resistente; r: halos reducidos o CIM elevadas, pero dentro del rango de sensibilidad.

Tabla 2. Principales patrones de resistencia a betalactámicos en función de la betalactamasa implicada de mayor interés clínico

Fenotipo	AMP	AMC	TIC	PIP	C1G	FOX	CXM	C3G	C4G	CARB
Grupo 1										
<i>E. coli</i> , <i>Shigella</i> , <i>P. mirabilis</i> , <i>Salmonella</i>										
Natural	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
Natural ↑	R	R	R	R	R	R	R	r/R	S	S
Penicilinasa ↑	R	r	R	R	R	S	S	S	S	S
BLEE	R	V	R	R	R	S	R	S/R	S/R	S
IRT	R	R	R	R	S	S	S	S	S	S
AmpC adquirida	R	R	R	R	R	R	R	r/R	S	S
Carbapenemasa	R	R	R	R	R	R	R	r	r	r

Discussion

- The fact of knowing which microorganism we were working with, made us take care of details and verify which tests would come out negative and positive. However, in the practical life we will not know with which microorganism we are working, so we must always be careful and take care of details, as well as carefully observe all the changes we observe and take care of small details.

- CLSI indicates that resistant antibiotics do not generate inhibition rings; Whereas sensitive antibiotics form rings of inhibition because the m.o. is sensible. It happens that the midpoint between the two is known as "intermediate", because the ring of inhibition is not very marked

Conclusión

- Proteus mirabilis is a bacterium called "queen of infections", due to how annoying and resistant it can become in the body. However, it coexists naturally in our organism, forming part of the digestive flora.
- This bacterium is known because it has caused the abuse of drugs that people carry in their daily lives.
- Nevertheless; Is one of those diseases that if we take preventive measures, we can avoid it
- By the conditions dictated by the CLSI, we realized that our agar for the Kirby Bauer technique was performed correctly; Which indicated that we work with a quality standard.

Bibliography

- 1 Bou G, Oliver A, Ojeda M, et al. Molecular characterization of FOX-4, a new AmpC-type plasmid-mediated betalactamase from an E. coli strain isolated in Spain. Antimicrob Agents Chemother 2000; 44: 2549-53.
- 2 Navarro F, Pérez-Trallero E, Marimón JM, et al. CMY-2-producing Salmonella enterica, Klebsiella pneumoniae, Klebsiella oxytoca, Proteus mirabilis and Escherichia coli strains isolated in Spain. J Antimicrob Chemother 2001; 48: 383-9.
- 3 <http://www.elsevier.es/es-revista-enfermedades-infecciosas-microbiologia-clinica-28-articulo-lectura-interpretada-del-antibiograma-enterobacterias-S0213005X10002193>
Visualized 15/03/2017
"Infectious diseases and clinical microbiology"
- 4 http://www.f-soria.es/admfSORIA/casos/img/caso_455.pdf
Visualized 09/03/2017
"Cases of Clinical Microbiology"
- 5 <http://clsi.org/about-clsi/>
Visualized 20/03/2017
"CLSI"

