

Bacillus anthracis. Pruebas de identificación. Nélda Leardini

En la rutina normal del laboratorio si hubiera razón para sospechar que un aislamiento puede ser *B. anthracis*, no se justifica ir más allá de lo absolutamente esencial pero **todo lo que deba procesarse se tratará de hacerlo en cabina de seguridad.**

Tomando precauciones pueden realizarse pruebas básicas para caracterizar un aislamiento mediante tinciones de Gram y de esporas, producción de lecitinasa, hemólisis en agar sangre, movilidad y sensibilidad a penicilina.

La sensibilidad a penicilina y la falta de hemólisis son pruebas diagnósticas muy útiles y sencillas. Se han notificado algunas cepas resistentes a penicilina, pero son inusuales. También se encuentran ocasionalmente cepas sensibles de *B. cereus*.

Obviamente, tanto los cultivos en placas como los caldos no deben mantenerse más del tiempo necesario y serán autoclavados lo más pronto posible. **No deben ser almacenados en mesadas abiertas.**

La incubación y el almacenamiento **se harán en contenedores autoclavables y correctamente rotulados.**

Los procesos de tinción deben realizarse sobre **recipientes con desinfectantes fenólicos y los colorantes volcados en ellos .**

Todos los materiales empleados se eliminarán según los códigos de seguridad recomendados para el laboratorio.

En general, si los antecedentes médicos o veterinarios son sugestivos de ántrax, deben remitirse muestras al laboratorio para su diagnóstico.

La presencia de bacilos Gram-positivos, los cuales una vez teñidos con azul de metileno se observan capsulados, es considerado presuntivo de ántrax. La formación de la cápsula polipeptídica no siempre ocurre cuando se siembra en medios comunes, pero es inducible in vitro si se cultiva en medios agarificados, con bicarbonato (concentración final 0,7%) y suero, e incubados en presencia de dióxido de carbono (método de la vela). La capsulación en estos medios especiales, se traduce en la apariencia mucóide de las colonias, y la observación microscópica.

Aquellos aislamientos de otros orígenes que presenten colonias típicas de *B. cereus*, pero que sean sensibles a penicilina, no hemolíticos e inmóviles, deben ser tratados con precaución y enviados en envoltorios adecuados con advertencias claras, al laboratorio de referencia más próximo para su confirmación.

GENERO BACILLUS

Aerobiosis	+
Catalasa	+
Esporas	+
Movilidad	Variable

CARACTERES MINIMOS PARA DIFERENCIAR *B. anthracis* de *B. cereus*

	<i>Bacillus anthracis</i>	<i>Bacillus cereus</i>
Lecitinasa	+	+
Colonias rugosas	+	+
Morfología	bacilar; extremos rectangulares	bacilar; extremos redondeados
Movilidad	-	+ / d
Cápsula	+	-
Hemólisis	- / + difuso	+++
Colonias lisas (capsulación en agar bicarbonato de sodio 0.7%) Incubación en CO ₂	+	-
Sensibilidad a Penicilina	S	R
REACCIONES COMPLEMENTARIAS		
Desarrollo a 45°C	-	+
Azul de metileno reducción	- / +	+++
Salicina fermentación	-	+

ASPECTOS DE LAS COLONIAS

Hay muy pocas diferencias para distinguir a primera vista *B. anthracis* y *B. cereus* por el aspecto de las colonias. Sin embargo, las colonias típicas de *B. anthracis* son de consistencia muy viscosa y adherentes, como goma seca. Esa característica se atribuye a que el microorganismo desarrolla en largas hileras de células, como se observa por microscopía. Esa forma de desarrollo es responsable del aspecto de cola alargada en el sentido de la línea de siembra, lo cual está asociado con virulencia, dado que las cepas avirulentas tienden a dar colonias circulares y pierden ese sobredesarrollo. Estos caracteres son sospechosos pero no son diagnósticos.

La apariencia de cabeza de medusa en *B. anthracis*, se refiere a un desarrollo muy enredado a partir de los bordes de la colonia. Ese es un rasgo común en las especies del grupo *B. cereus*, y puede ser observado en la especie tipo y también en *B. thurigiensis*, *B. anthracis*, *B. cereus* var. *mycoides*. Además en algunas cepas de *B. megaterium*.

HEMOLISIS

Generalmente las colonias de *B. anthracis* no son hemolíticas, o como máximo lo son débilmente en agar-sangre de equino u ovino. En *B. cereus* lo más frecuente es observar hemólisis intensa, aunque no son raras cepas muy débilmente hemolíticas. Nuevamente en este caso, una prueba aislada es sólo orientativa y no es diagnóstico absoluto.

Dra. Nelida Leardini – ANLIS/INEI, Servicio de Bacteriología Especial