



Pontificia Universidad  
**JAVERIANA**  
Bogotá



Grupo de investigación  
enfermedades infecciosas



**IMPLEMENTACIÓN DE LA TECNOLOGÍA MALDI TOF MS PARA LA  
IDENTIFICACIÓN DE AGENTES INFECCIOSOS A PARTIR DE  
HEMOCULTIVOS POSITIVOS EN PACIENTES HOSPITALIZADOS EN UNA  
INSTITUCIÓN DE TERCER NIVEL DE BOGOTÁ.**

**NATALIA ARISTIZÁBAL ALVAREZ**  
Estudiante Bacteriología.

**GLEIDY TRUJILLO CARREÑO**  
Estudiante Bacteriología

Trabajo de grado para optar el título de Bacterióloga.

Directora

**CLAUDIA MARCELA PARRA GIRALDO**

MSc PhD.

**PONTIFICIA UNIVERSIDAD JAVERIANA  
FACULTAD DE CIENCIAS  
CARRERA DE BACTERIOLOGÍA  
BOGOTÁ D.C**

2014

## DEDICATORIA

Dedicamos este trabajo a nuestros padres Ana Isabel Alvarez, Jaime Aristizabal y Gloria Carreño, quienes han sido nuestra mayor fortaleza y nos han brindado el más grande apoyo para culminar con éxito este proyecto, a Dios por darnos sabiduría para culminar esta etapa y tomar las mejores decisiones. Para finalizar, gracias a las personas que han hecho parte de nuestra formación, quienes nos han inculcado la disciplina, dedicación y confianza para alcanzar nuestras metas , a la Universidad por ser nuestro segundo hogar y además de formarnos como grandes profesionales ,ser personas con sentido de pertenencia, humildad y entrega por brindar lo mejor de nosotras por los demás.

## **AGRADECIMIENTOS**

Queremos agradecer a nuestros padres quienes nos han dado la oportunidad de recibir la mejor educación y han permanecido presentes en este largo y provechoso camino lleno de aprendizajes y éxitos, a nuestras familias que desde la distancia nos han apoyado en nuestras decisiones, a nuestras compañeras y futuras Bacteriólogas gracias por su apoyo y dedicación.

## **NOTA DE ADVERTENCIA**

“La Universidad no se hace responsable por los conceptos emitidos  
Por los alumnos en sus trabajos de tesis. Solo velara para que no se  
Publique nada contrario al dogma y a la moral católica y porque la  
Tesis no contenga ataques personales contra persona alguna, antes  
Bien se en ellas el anhelo de buscar la verdad y la justicia”

**ARTICULO 23 RESOLUCION NÚMERO 13 DE JULIO DE 1946**

## CONTENIDO

1.	RESUMEN .....	8
2.	PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA JUSTIFICACION .....	11
3.	ESTADO DEL ARTE .....	13
3.1	BACTEREMIAS Y FUNGEMIAS.....	13
3.1.1	Bacteriemia .....	13
3.1.2	Fungemia.....	15
3.2	DIAGNOSTICO CONVENCIONAL POR EL LABOTATORIO DE LAS SEPSIS.....	16
3.2.1	Hemocultivo .....	16
3.2.2	Pruebas fenotípicas para la identificación de microorganismos.....	17
3.3	HISTORIA DE LA TECNOLOGIA MALDI-TOF-MS.....	17
3.4	TECNOLOGIA MALDI-TOF-MS EN LA TRANSICION A LA MICROBIOLOGIA MODERNA.....	18
3.4.1	Fundamento de la técnica .....	19
3.5	EL IMPACTO DEL TIEMPO DE IDENTIFICACION DE MICROORGANISMOS EN LA GESTION ANTIMICROBIANA HOSPITALARIA .....	22
4	OBJETIVOS .....	23
4.1	Objetivo General.....	23
4.2	Objetivos Especificos .....	23
5	MATERIALES Y MÉTODOS.....	24
5.1	Muestra clínica .....	24
5.1.1	Identificación por el laboratorio del HUSI .....	25
5.2	Método de procesamiento para el MALDI-TOF MS.....	25
5.2.1	Extracción en tubo .....	26
5.2.2	Lavado de placa para MALDI-TOF MS.....	27
5.2.3	Espectrometría de masas (MALDI-TOF MS) .....	28
5.2.4	Análisis de MALDI-TOF .....	28
5.3	Diseño experimental.....	29
6	RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	31
6.1	Espectros obtenidos en la identificación por MALDI-TOF MS. ....	34
6.1.2	Enterococcus aerogenes .....	35
6.1.3	Enterococcus faecium.....	35
6.1.4	Enterococcus faecalis .....	36
6.1.5	Haemophilus influenzae .....	36
6.1.6	Klebsiella oxytoca .....	37

6.1.7	<i>Klebsiella pneumoniae</i> .....	37
6.1.8	<i>Staphylococcus aureus</i> .....	38
6.1.9	<i>Staphylococcus lentus</i> .....	38
6.1.10	<i>Streptococcus epidermidis</i> .....	39
7	CONCLUSIONES .....	40
8	RETOS Y PERSPECTIVAS .....	41
9	BIBLIOGRAFIA .....	42
ANEXOS .....		46
	<i>Anexo 1</i> .....	47
	<i>Procedimiento de extracción ácido fórmico</i> .....	47
	<i>Anexo 2</i> .....	48
	<i>InsertoBacT/ALERT® FA (bioMérieux, Marcy l’Etoile, France)</i> .....	48
	<i>Anexo 3</i> .....	49
	<i>Preparación De Soluciones Para El MALDI-TOF Biotyper</i> .....	49
	<i>Anexo 4</i> .....	50
	<i>Guía De Referencia RAPIDA HCCA (Matrix)</i> .....	50
	<i>Anexo 5</i> .....	51
	<i>Mapa de La Placa De Acero Para El MALDI-TOF MS</i> .....	51
	<i>Anexo 6</i> .....	52
	<i>Formato De Resultados</i> .....	52
	<i>Anexo 7</i> .....	54
	<i>Test bacteriano estándar (BTS) guía de referencia rápida</i> .....	54
	<i>Anexo 8</i> .....	55
	<i>Librería MALDI-TOF MS</i> .....	55

# 1. RESUMEN

---

**Introducción:** Las bacteriemias y fungemias son infecciones del torrente sanguíneo de alta prevalencia, comunes en pacientes hospitalizados los cuales tienen mayor susceptibilidad y predisposición para adquirir complicaciones graves. En nuestro país redes locales como GREBO (Grupo de Resistencia Bacteriana de Bogotá) y Secretaria de Salud Pública muestran un comportamiento de aproximadamente 12,7% de casos de infección del torrente sanguíneo como infección intrahospitalaria, lo cual la ubica en el tercer puesto seguido de infección de sitio operatorio e infección urinaria sintomática (Sistema de Vigilancia Epidemiológica de Secretaria de Salud Bogotá 2010).

El Gold estándar para el diagnóstico de microorganismos en sangre a nivel del laboratorio es el hemocultivo. Un crecimiento positivo es un resultado crítico y requiere de una identificación eficiente y exacta del agente patógeno (Ferroni et al., 2010) Tradicionalmente la identificación de microorganismos a partir de hemocultivos se realiza por medio de pruebas fenotípicas como características tintoriales, pruebas bioquímicas y cultivos convencionales, sin embargo estas metodologías no permiten que resultados positivos sean resueltos en tiempos idóneos para un manejo temprano y efectivo del paciente (Legarraga et al., 2013). En las últimas décadas los métodos moleculares como PCR en tiempo real, PCR múltiple, hibridación in situ fluorescente (FISH) y péptido de ácido nucleico-FISH (ANP-FISH), entre otros han logrado reducir el tiempo en la identificación de microorganismos patógenos alrededor de 6 horas, pero requieren de personal entrenado e infraestructura adecuada aumentando así los costos en la identificación (Kok, Thomas, Olma, Chen, & Iredell, 2011).

En los últimos tiempos el gran avance tecnológico ha promovido la creación de estrategias de identificación con las cuales se han abarcado problemas de función biológica desde perspectivas amplias como la Proteómica. Los estudios proteómicos se basan en técnicas de separación, identificación y caracterización de proteínas mediante espectrometría de masas (Aebersold & Mann, 2003). La espectrometría de masas es una técnica analítica con la cual se obtiene la masa molecular de la muestra problema, esta se basa principalmente en la formación de iones del analito en fase gaseosa, los cuales son separados e identificados según su relación masa/carga ( $m/z$ ) originando un espectro de masas específico de los iones analizados (Theel, 2013)

La tecnología *MALDI-TOF MS* (Matrix- assisted laser desorption-time of flight mass spectrometry) en español: desorción laser asistida por la matriz con detección de masas por tiempo de vuelo. Esta tecnología ha permitido la utilización de la espectrometría de masas en la identificación microbiológica de rutina mediante el análisis de proteínas principalmente ribosomales directamente de la muestra clínica a través de la creación de un espectro de masas específico para cada especie, ha generado mayor expectativa en la identificación de agentes ya que representa la revolución y el método de

elección demostrando la confiabilidad, rapidez y alta sensibilidad para la obtención del resultado en menor tiempo. El objetivo del presente estudio fue la identificación de agentes infecciosos por medio de la tecnología MALDI-TOF frente a los de métodos convencionales y determinar las discrepancias en género y especie de los agentes identificados (Legarraga et al., 2013).

**Metodología y principales hallazgos:** Este trabajo se realizó de forma prospectiva en un periodo de 5 semanas en las cuales se obtuvieron 43 botellas positivas para crecimiento de los microorganismos por medio del sistema BacT/ALERT en pacientes hospitalizados en el Hospital Universitario San Ignacio HUSI. Alícuotas de todas las botellas fueron usadas para la identificación de los agentes infecciosos por medio de la tecnología MALDI-TOF. La metodología con la cual se obtuvieron mejores resultados fue con Extracción en tubo. Los principales microorganismos identificados fueron: *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Enterococcus faecalis*, *Enterococcus faecium*, *klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus epidermidis* y *Haemophylus parainfluenzae*. De las 43 botellas de hemocultivo positivas incluidas en el estudio, 39 fueron identificadas por el MALDI-TOF MS obteniendo una identificación a nivel de género y especie del 74.35 % (29/39), de las cuales un 28,2 % (11/39) fueron identificadas a nivel de especie y el 48,72% (19/39) a nivel de género. El 23,08% (9/39) de las muestras identificadas por MALDI-TOF MS se identificaron pero no de manera ideal (score >1.69), los resultados de este estudio demuestran que la tecnología MALDI TOF MS permite una rápida identificación de microorganismos en muestras de hemocultivo positivas en <90 minutos y alta confiabilidad a pesar de que el nivel de identificación no fue el ideal ya que predominaron resultados con bajos scores de identificación.

**Conclusiones:** La tecnología MALDI-TOF es rápida, eficaz, sencilla y confiable convirtiéndola en la técnica de elección no solo de identificación de microorganismos clínicamente relevantes sino también de diagnóstico de infecciones del torrente sanguíneo.



# INTRODUCCIÓN

---

Las bacteriemias y fungemias son infecciones del torrente sanguíneo de alta prevalencia en pacientes hospitalizados. Estas infecciones han aumentado significativamente por lo cual se ha avanzado en el diagnóstico oportuno y tratamiento de infecciones del torrente sanguíneo. El gold estándar para la detección de infecciones del torrente sanguíneo es el hemocultivo donde la identificación de microorganismos a partir de hemocultivos se realiza por medio de pruebas tradicionales como pruebas bioquímicas tintoriales, sin embargo estas metodologías presentan varios inconvenientes como: su lentitud (Ferreira et al., 2013). En la última década los métodos moleculares como PCR en tiempo real, PCR múltiple, hibridación in situ fluorescente (FISH) y péptido de ácido nucleico-FISH, han reducido el tiempo en la identificación de microorganismos clínicamente relevantes en <6 horas, pero requieren de personal entrenado e infraestructura adecuada aumentando los costos en la identificación. Actualmente los estudios proteómicos han permitido el avance en técnicas de separación, caracterización e identificación de proteínas mediante espectrometría de masas. La implementación de la tecnología MALDI TOF MS en la identificación de perfiles proteicos de proteínas ribosomales convertidos en huellas digitales de microorganismos ha ganado importancia gracias a la identificación rápida, sencillez ya que solo necesita un par de días para la capacitación del personal (Ferreira, Sanchez-Juanes, Munoz-Bellido, & Gonzalez-Buitrago, 2011) y confiabilidad en la identificación de microorganismos relevantes en muestras clínicas.

## 2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA JUSTIFICACION

---

La identificación de agentes patógenos causantes de bacteriemia y fungemia no puede quedar estática con metodologías convencionales que impiden los avances en las ciencias biomédicas y el desarrollo de investigaciones en la medicina actual. Recientemente, el desarrollo de la aplicación de la tecnología MALDI-TOF MS permite la identificación de microorganismos mediante el análisis de proteínas, principalmente ribosomales, a partir de colonias o directamente de muestras a través de la creación de un espectro de masas específico para cada especie (Legarraga et al., 2013). Esta tecnología ha ganado paulatinamente importancia gracias a su rapidez, especificidad y fiabilidad en la identificación de bacterias, hongos y micobacterias clínicamente relevantes convirtiéndola en una revolución en las técnicas de detección.

La detección de microorganismos mediante tecnología MALDI-TOF MS, es un paso adelante para lograr que la identificación esté exenta de pasos intermedios, lo cual implica una reducción en el tiempo bastante significativo, en el caso concreto la identificación de microorganismos a partir de muestras biológicas como sangre y orina. La detección de bacteriemias y/o fungemias en pacientes se basa en el hemocultivo y la aplicación de pruebas fenotípicas que actualmente necesitan de largos periodos de incubación y tiempo por parte de microbiólogos para la entrega de resultados oportunos y confiables. (Legarraga et al., 2013)

El presente trabajo tiene como objetivo implementar la tecnología MALDI-TOF MS para el diagnóstico de bacteriemias y/o fungemias a partir de hemocultivos positivos en pacientes hospitalizados en una Institución de Tercer Nivel de Bogotá y comparar los resultados en la detección de los microorganismos con los métodos convencionales utilizados en el laboratorio, donde se evaluó la eficiencia y validez en nuestro medio (Kok et al., 2011). Es necesario promover el uso de MALDI-TOF MS en el diagnóstico de infecciones del torrente sanguíneo y lograr prescribir rápidamente una gestión antimicrobiana eficiente, disminuyendo las tasas de mortalidad de estos pacientes. Puesto que las técnicas de cultivo e identificaciones convencionales para bacterias tardan por lo menos 72 horas, en hongos el crecimiento en cultivo es de aproximadamente de 1 mes y aunque la tinción de Gram puede realizarse en varios minutos, el resultado de esta técnica de tinción por sí sola no proporciona información suficiente (Loonen, Jansz, Stalpers, Wolffs, & van den Brule, 2012). Este hallazgo lograría un impacto en la disminución de tiempos de entrega del resultado y por lo tanto, en el tiempo de prescripción médica y estancia hospitalaria.

Finalmente podemos resumir que la identificación de microorganismos por medio de espectrometría de masas es una técnica sensible y rápida por lo tanto deben realizarse numerosos estudios donde se compruebe su validez para ser implementada en los laboratorios clínicos ayudando a mejorar la calidad en los resultados, el diagnóstico oportuno y confiable.

## 3. ESTADO DEL ARTE

---

Actualmente el incremento de pacientes hospitalizados con síntomas y signos compatibles con bacteriemia y fungemia se ha convertido en una alarma importante, por lo cual se ha avanzado en el diagnóstico oportuno y tratamiento de las infecciones del torrente sanguíneo. (Walsh et al., 2013)

La bacteriemia y la fungemia son las causas principales de producción de sepsis en pacientes inmunosuprimidos. El tratamiento de estos estados clínicos son considerados agresivos, por lo general, la terapia con fármacos de amplio espectro se inicia de acuerdo a síntomas basados en la clínica, datos demográficos del paciente, y las guías clínicas o programas de administración de antimicrobianos. Sin embargo, a pesar de las mejores intenciones, la terapia empírica no es universalmente eficaz y produce un retraso en la prescripción el tratamiento adecuado lo cual se asocia con el aumento de la mortalidad, en particular para los pacientes con shock séptico (Walsh et al., 2013) .

### 3.1 BACTEREMIAS Y FUNGEMIAS

#### 3.1.1 Bacteriemia

Las bacteriemias son infecciones nosocomiales frecuentes, en pacientes críticos, representan una grave complicación que puede afectar de manera negativa el pronóstico del paciente. La fisiopatología de las diferentes infecciones nosocomiales difieren de las infecciones adquiridas en la comunidad. La infección nosocomial es una infección que se desarrolla 48 horas después de su ingreso, o dentro de las 48 horas después de ser dado de alta. El desarrollo de la infección nosocomial depende de factores fisiopatológicos como: disminución de las defensas del hospedero y la colonización por bacterias patógenas, además las enfermedades de base los convierten en pacientes con mayor susceptibilidad para adquirirla, los pacientes ingresados en la UCI con frecuencia requieren dispositivos médicos invasivos como catéteres urinarios, catéteres venosos centrales y arteriales y tubos endotraqueales que comprometen barreras normales de la piel y de las mucosas, lo que los predispone a adquirir infecciones (Custovic et al., 2014). Las bacteriemias pueden ser primarias o secundarias. Las bacteriemias primarias se presentan en ausencia de otra infección concomitante con el paciente, las bacteriemias secundarias se dan en presencia de una infección severa concomitante, en estos casos el agente etiológico más frecuentemente implicado es la *Escherichia coli* (*E. coli*), la cual es la primera causa en bacteriemia adquirida en la comunidad, y la tercera más común en bacteriemia nosocomial. Sin embargo, se ha visto un incremento a nivel mundial de las bacteriemias causadas por otras Enterobacteriaceae, como *Klebsiella* spp (Adrianzen, Arbizu, Ortiz, & Samalvides, 2013) .

Los principales microorganismos causantes de bacteriemias son:

### ***Escherichia coli***

Un pequeño porcentaje es capaz de causar infecciones extraintestinales, definida como *Escherichia coli* patogénica extra intestinal la cual es considerada uno de los principales agentes etiológicos causantes de bacteriemia (Koga et al., 2014). *E.coli* puede ser productora de BLEE (betalactamasas de espectro extendido) las cuales son enzimas que le confieren resistencia. En Latinoamérica se han reportado frecuencias entre 14 y 45 % de cepas BLEE en las bacteriemias causadas por este microorganismo ello podría deberse al uso irracional de cefalosporinas y tratamientos empíricos inadecuados (Adrianzen et al., 2013).

### ***Klebsiella pneumoniae***

*Klebsiella pneumoniae* es una bacteria Gram negativa productora de una escala de enfermedades clínicas como neumonía, tromboflebitis, infección del tracto urinario (ITU), bacteriemia y septicemia. El uso de antibióticos indiscriminado es un factor importante que a menudo da lugar a cepas resistentes a múltiples fármacos. La producción de amplio espectro ( $\beta$ -lactamasas TEM-1, TEM-2, SHV-1, OXA-1) resulta en la resistencia a la ampicilina, piperacilina y cefalosporinas, entre otros (Sugumar, Kumar, Manoharan, Anbarasu, & Ramaiah, 2014).

### ***Enterococcus faecalis***

En los últimos años *E. faecalis* se ha convertido en un importante patógeno oportunista en clínica. Los enterococos se encuentran entre las principales causas de las infecciones nosocomiales en todo el mundo y son causantes de bacteriemias. El tratamiento antibiótico es difícil, ya que los enterococos, favorecidos por una alta tasa de conjugación han adquirido los mecanismos de resistencia frente a los antibióticos más comúnmente utilizados (Solheim et al., 2014).

### ***Enterococcus faecium***

Es patógeno emergente en los hospitales y se tiene gran dificultad para ser tratado por glicopeptidos y aminoglicosidos por lo cual es un agente causante de infecciones nosocomiales, produciendo bacteriemias. El riesgo de adquisición nosocomial de enterococos resistentes se incrementa a medida del tiempo de hospitalización (Jahangiri, Talebi, Eslami, & Pourshafie, 2010).

### ***Staphylococcus aureus***

Es reconocido como el patógeno humano más importante entre los Estafilococos. Puede ocasionar infecciones oportunistas a personas inmunosuprimidas o inmunocomprometidas a pesar de que es un microorganismo de la flora normal. *S.aureus* causa procesos infecciosos como: infecciones cutáneas (fórnulos, ántrax) enfermedades sistémicas como

**bacteriemias**, endocarditis, meningitis, pericarditis, osteomielitis, entre otras que pueden llegar a ser potencialmente mortales. *S.aureus* en su variedad resistente a meticilina (SAMR) se encuentra entre los principales patógenos productores de infecciones nosocomiales (Castellano González, Perozo Mena, Parra, Ginestre Pérez, & Rincón Villalobos, 2012).

### ***Staphylococcus epidermidis.***

Este microorganismo es aislado con mayor frecuencia en infecciones pediátricas, cutáneas, oculares, asociadas a catéteres, entre otros, causa infecciones adquiridas en hospitales y es considerado el agente causal de diferentes entidades clínicas como Infecciones urinarias intrahospitalarias, osteomielitis, endocarditis de válvula nativa, bacteriemia en pacientes inmunosuprimidos, endoftalmitis después de cirugía ocular, infecciones de dispositivos médicos o cuerpos extraños (catéteres endovenosos, fístulas para hemodiálisis, catéteres de diálisis peritoneal, marcapasos, articulaciones protésicas, injertos vasculares, válvulas cardíacas protésicas (Legarraga et al., 2013).

### ***Streptococcus pneumoniae***

Es reconocido como agente etiológico líder en neumonía, meningitis, sinusitis y otitis media; con menos frecuencia es el agente causal de la endocarditis, la artritis séptica, la peritonitis, y de manera infrecuente, bacteriemia, entre otras enfermedades infecciosas. La resistencia a macrólidos, y a otras clases de antimicrobianos, se incrementa en asociación con la resistencia a penicilina. (Noda Albelo, Vidal Tallet, Vidal Tallet, & Hernández Álvarez, 2011).

### ***Haemophilus parainfluenzae***

Reportado como causante de infecciones asociadas a marcapasos causando bacteriemia. Los pacientes inician con síntomas clínicos subagudos, fiebre leve, síntomas respiratorios y escalofríos. Los factores de riesgo para endocarditis son la presencia de lesiones bucales, válvulas cardíacas dañadas, presencia válvulas protésicas, entre otras (Pai, Pergam, Kedia, Cadman, & Osborn, 2004).

### ***3.1.2 Fungemia***

Las levaduras del género *Candida* constituyen los patógenos fúngicos predominantes de las infecciones hospitalarias , ocupando el cuarto lugar dentro de los microorganismos recuperados en los hemocultivos .

La incidencia y la distribución de las especies varían según la región, otros géneros fúngicos diferentes a *Candida* adquieren relevancia en aquellas instituciones con atención a pacientes inmunosuprimidos, especialmente con infección por VIH. La evolución de los pacientes con fungemias está ligada a la

instauración de un tratamiento adecuado y precoz. El mismo dependerá del tiempo en el que se positivizan los hemocultivos y la rapidez del laboratorio en comunicar la identificación del género y la especie del microorganismo recuperado. (Theel, 2013)

### ***Candidemia***

Definimos candidemia como el aislamiento en hemocultivo de especies de *Candida*. Aunque hay pacientes en los que la candidemia puede resolverse de forma espontánea, no existe ninguna variable que prediga esta evolución y, por consiguiente, la recomendación es que todo paciente con aislamiento de *Candida* en sangre, independientemente de si la muestra ha sido obtenida a través del catéter o por punción venosa, debe recibir tratamiento antifúngico eficaz. La incidencia de candidemia en pacientes hospitalizados ha experimentado un incremento progresivo en los últimos años. Este hecho es debido a un incremento de pacientes en riesgo de sufrir esta complicación (pacientes ingresados en UCI, posquirúrgicos, neutropénicos, inmunodeprimidos en general). Desde el punto de vista clínico la candidemia se manifestará como sepsis, sepsis grave o shock séptico de origen nosocomial. (Ferroni et al., 2010).

Las infecciones por *Candida* representan 70 a 90% de las micosis invasivas en UCI y recientemente se ha observado un cambio en la prevalencia de sus especies: *C. albicans* causa las dos terceras partes de los casos, y los restantes se producen por especies no *albicans*; la frecuencia con la cual se identifican es: *C. albicans* 57%; *C. glabrata* 16,7%; *C. parapsilosis* 7,5%; *C. krusei* 5.2% y *C. tropicalis* 4,9%. Quienes presentan candidemia tienen una mortalidad de hasta 60% (Ferroni et al., 2010).

## **3.2 DIAGNOSTICO CONVENCIONAL POR EL LABORATORIO DE LAS SEPSIS**

### **3.2.1 Hemocultivo**

Los hemocultivos son una técnica diagnóstica estándar en el cuidado de pacientes con sospecha de bacteriemia y fungemia pero tiene como limitante que carecen de utilidad diagnóstica inmediata. La extracción para los hemocultivos se obtiene por la técnica estándar de venopunción percutánea, por cada extracción se inoculan tres sets de botellas correspondientes al medio aerobio, anaerobios y hongos (Cisneros-Herreros et al., 2005), Además el hecho de emplear tres botellas incrementa el grado de sensibilidad de la prueba, estudios realizados demuestran que la utilización de tres sets incrementan la sensibilidad, con el primer set la sensibilidad es de 73.2%, con el segundo set 93.9% y con el tercero 96.9% esto conlleva a un rango de detección mayor del 99% para la detección de una septicemia (Weinstein MP, Reller LB, Mirrett S, & Lee A, 2007).

Los medios utilizados en los hemocultivos son polivalentes y enriquecidos nutricionalmente. Suelen emplearse hidrolizado de soja o tripticasa soja, peptona suplementada, infusión de cerebro y corazón, agar columna CNA y los caldos *Brucella*.(Ferreira et al., 2010). La mayoría de los medios de hemocultivo que se venden contiene polianetolsulfonado (SPS) como anticoagulante en concentraciones que varían entre 0,025% y 0.05%, la anticoagulación es necesaria porque ciertas bacterias no crecen bien dentro de un coagulo donde la fagocitosis de los neutrófilos y de los macrófagos permanece activa adicionalmente el SPS inactiva a los neutrófilos y ciertos antibióticos como estreptomina, kanamicina, gentamicina y polimixina y precipita al fibrinógeno,  $\beta$ -lipoproteínas,  $\beta$ 1-C globulinas y otros componentes del complemento sérico. Muchos frascos de hemocultivo tienen resinas sintéticas que eliminan antibióticos y también mejora el aislamiento de los patógenos (Cisneros-Herreros et al., 2005).

La mayoría de estudios demuestran que el sistema de hemocultivo automatizado de elección por muchos laboratorios es Bact/ALERT® (bioMérieux, Marcy l'Étoile, France) sin embargo existen pocos estudios en los cuales utilizan botellas BACTEC (Becton Dickinson, NJ, USA) (Loonen et al., 2012).

### *3.2.2 Pruebas fenotípicas para la identificación de microorganismos*

La prueba de partida para la identificación de microorganismos en la botella de hemocultivo con resultado positivo es la tinción de Gram, y basado en el resultado de esta se realiza los respectivos cultivos, pruebas bioquímicas y pruebas de susceptibilidad microbiana.

## *3.3 HISTORIA DE LA TECNOLOGIA MALDI-TOF-MS*

La tecnología fue desarrollada en 1980 (Karas, Bachmann, & Hillenkamp, 1988) si bien había sido utilizada en el campo de la microbiología básica, no se había adaptado para su uso en el laboratorio clínico de microbiología (Legarraga et al., 2013) hasta el año 2008 en el cual dos publicaciones reportan su uso para la identificación de bacilos gram negativos aislados de pacientes (Karas et al., 1988; Tanaka et al., 1988) y en el año 2009 se reportó por primera vez la identificación eficiente de bacterias directamente de botellas de hemocultivo en < 2 horas después de la detección de la botella como positiva (Fournier et al., 2013). Existen varias publicaciones en las cuales se han descrito diferentes protocolos diseñados para el uso del MALDI-TOF MS, tales protocolos han sido puestos a punto en la rápida identificación de microorganismos causantes de bacteremias y fungemias. Estos protocolos han usado generalmente lavados, centrifugaciones, extracción de proteínas y análisis de resultados usando bases de datos como Biotyper (Ferreira et al., 2011; La Scola & Raoult, 2009; Seng et al., 2009).



En el 2010 Ferroni realizó una publicación de la tecnología MALDI TOF MS para la identificación de hongos en hemocultivos y en muestras de uñas (Ferroni et al., 2010) pero aun no adquirido gran impacto en la identificación de hongos en gran parte por escasa librería de hongos encontrada en los diferentes espectrómetros de masas (Ferreira, 2013). En el 2013 se utilizó la tecnología MALDI-TOF MS para la identificación de bacterias anaerobias de importancia clínica en un laboratorio tomando como principales variables de estudio los costos y el tiempo necesarios para la identificación en comparación con los métodos convencionales en el laboratorio de microbiología, teniendo como resultado una identificación del 86.4% de los anaerobios estrictos por el MALDI-TOF MS en relación al 75% obtenido con sistemas automatizados como el Phoenix® (Becton Dickinson) y Vitek-2® (bioMérieux) y al comparar los costos cada identificación por el MALDI-TOF MS cuesta ocho veces menos que los métodos convencionales (Legarraga et al., 2013). En este mismo año se reportó la utilización del MALDI TOF MS en la detección fenotípica rápida de resistencia antibiótica especialmente de la actividad  $\beta$ -Lactamasa, un ejemplo de ello mostro que es posible la detección de la actividad carbapenemasa en Enterobacterias detectando componentes carbapenemicos y productos de degradación en cuatro horas, avances con respecto a ello originaron un gran impacto en el campo de la proteómica analizando "nuevos determinantes de resistencia antibiótica" (Fournier et al., 2013).

Todos los autores de los diferentes estudios han llegado a conclusiones "MALDI TOF-MS es un método confiable, de fácil uso y de menor costo que los utilizados hasta el momento en el laboratorio y su rapidez permite la disminución en el tiempo de respuesta de los resultados lo que tendrá un mayor impacto en el cuidado oportuno del paciente" (Legarraga et al., 2013; Vlek, Bonten, & Boel, 2012).

### *3.4 TECNOLOGIA MALDI-TOF-MS EN LA TRANSICION A LA MICROBIOLOGIA MODERNA*

En la microbiología moderna las técnicas de proteómica han tenido numerosos avances en el campo de las ciencias biomédicas lo cual ha promovido el desarrollo de prácticas y estrategias que conllevan a analizar y profundizar sobre problemas biológicos a nivel funcional de proteínas poco investigadas y que realizan funciones desconocidas, los estudios proteómicos se fundamentan en dos tipos de técnicas: técnicas de separación y técnicas de identificación y caracterización de proteínas mediante espectrometría de masas (Aebersold & Mann, 2003).

La Espectrometría de Masas basada en proteómica disciplina con la cual se ha logrado avances conceptuales y técnicos en diferentes áreas biológicas contribuyendo en las bases de datos de secuenciación de genes y genoma además el mayor reconocimiento se basó en el descubrimiento y desarrollo de métodos de ionización de proteínas lo cual conllevó al premio nobel en Química en el 2002 a los Doctores John Bennett Fenn, Kōichi Tanaka , Kurt Wüthrich, por el "desarrollo de métodos de identificación y de análisis estructural de macromoléculas biológicas" (Aebersold & Mann, 2003).

Los espectrómetros de masas están compuestos por una fuente de ionización, analizador de masas y detector, la fuente de ionización puede clasificarse en dos tipos de acuerdo a la transformación de biomoléculas sin carga y grandes en la producción de iones en fase gaseosa (Theel, 2013) ; el ESI (*Electro Spray Ionization*) y MALDI (*Matrix-Assisted Laser-Desorption Ionization*).

- **ESI:** En este tipo se usa un campo eléctrico sobre la muestra líquida, la cual transcurre por un fino capilar, formando un spray de gotas mínimas reduciendo su tamaño, hasta el límite de formación de iones.(Kaleta et al., 2011)
- **MALDI:** Se usa una matriz de ácido orgánico con la cual se polimeriza la muestra, posteriormente es irradiada por un láser pulsátil, la energía del láser expulsa los iones y biomoléculas cargadas de la matriz formando una capa gaseosa compuesta por estos iones (Theel, 2013).

El desarrollo de la tecnología MALDI-TOF MS ha permitido el uso de la espectrometría de masas en el diagnóstico microbiológico, ya que logra la identificación de microorganismos mediante el análisis de proteínas principalmente ribosomales, proteínas complejas de multisubunidades con diversas actividades biológicas, las cuales son específicas de cada especie microbiana (Legarraga et al., 2013).

La técnica de MALDI es una técnica de ionización que permite el análisis de biomoléculas. El método se utiliza para la detección y caracterización de moléculas con masas moleculares entre 400 y 350.000 Da.(Vlek et al., 2012). Por medio de esta tecnología la viabilidad en la identificación de MALDI-TOF MS de las colonias bacterianas de los medios sólidos se ha evaluado sobre una amplia gama de cepas bacterianas clínicamente relevantes, así como aislamientos de levaduras. Se obtiene correcta identificación a nivel de especie en el 80-95% de las cepas bacterianas, y en 66 a 87% cuando se aplica directamente en caldos de cultivo de sangre positivo (Vlek et al., 2012).

### *3.4.1 Fundamento de la técnica*

La tecnología MALDI-TOF (Matrix- assisted laser desorption ionization time of flight mass spectrometry) en español: desorción láser asistida por la matriz con detección de masas por tiempo de vuelo, es una balanza analítica utilizada para la determinación del compuesto principal de una muestra.

La muestra de composición desconocida es aplicada sobre la placa de acero del MALDI, posteriormente es agregada una matriz química que debe secarse completamente antes de su análisis. La matriz es esencial para el proceso de "ionización suave" y se elige tanto para su desorción eficiente en fase gaseosa y por su capacidad para absorber con eficacia la mayoría de la energía de ionización, protegiendo las biomoléculas de la muestra de ser destruidas y facilitando así la ionización y vaporización (Theel, 2013).

Su fundamento principal consiste en ionizar los analitos originando moléculas cargadas, los iones provenientes de las moléculas son separados de acuerdo a

su relación carga/masa ( $m/z$ ) después de ser acelerados en un campo eléctrico; gracias a la fuente de ionización en este caso el MALDI, la cual se asocia a un analizador de tiempo de vuelo (TOF, Time-Of-Flight) el cual es un tubo presurizado que permite a los iones viajar a través de él, hasta colisionar con el detector. La velocidad con la cual cada ion puede viajar depende de su carga y masa, el detector mide el tiempo transcurrido del impacto y la carga (figura 1), además amplifica la señal de cada ion, originando un pico de un espectro de masas denominado **“huella peptídica”**, la cual se compara con la librería del equipo de espectrometría que se esté usando para la identificación de microorganismos (He, Li, Lu, Stratton, & Tang, 2010).

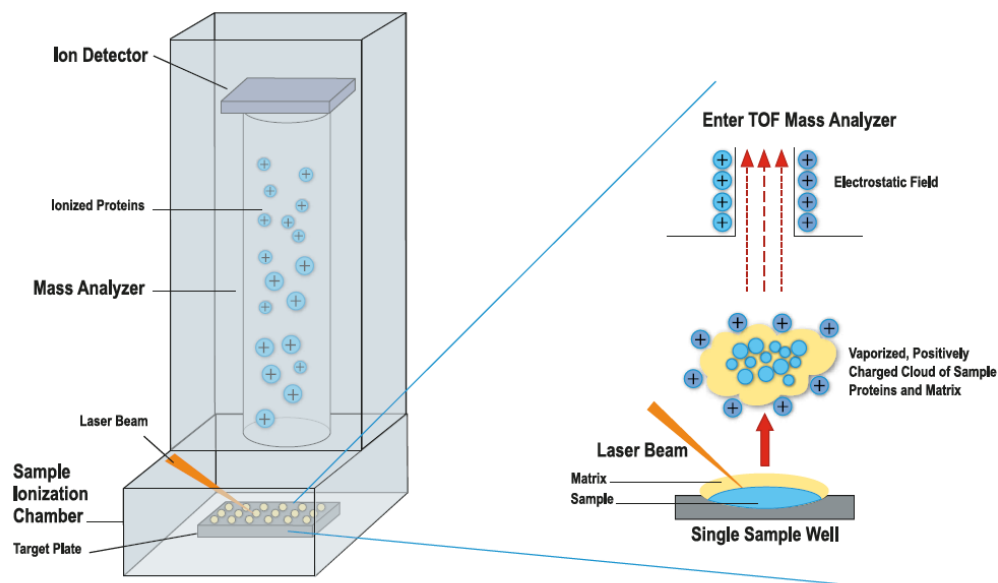


Figure 2. Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization – Time of Flight Process

**Figura 1** . Proceso Tecnología MALDI TOF MS (BrukerBiotyper ).

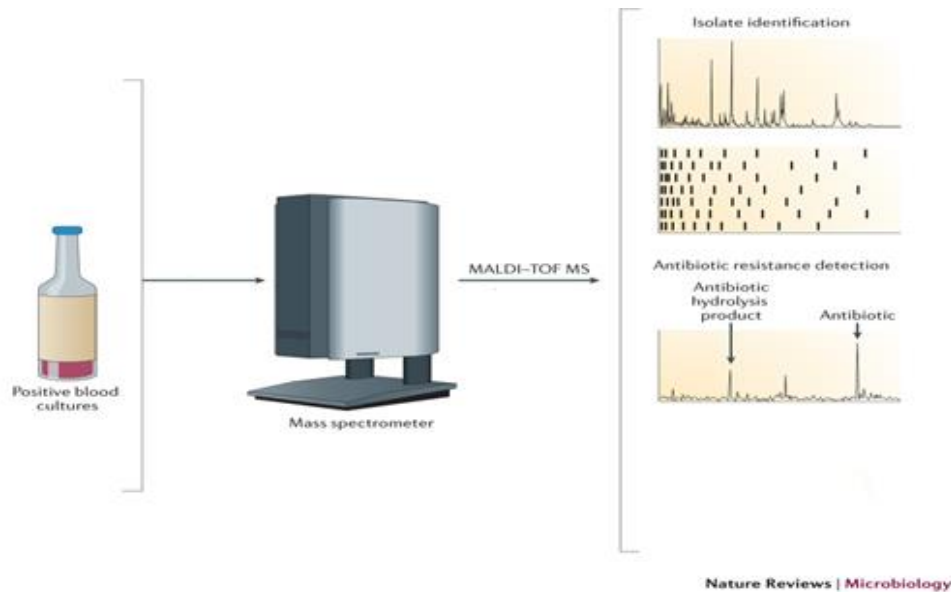
Tomado de: Matrix Assisted Laser Desorption Ionization –time of Flight Mass Spectrometry for the Identification of Bacterial and Yeast Isolates.(Theel, 2013)

### ***Huella peptídica (PMF, PeptideMassFingerprinting) o análisis de masas de péptidos:***

La digestión de una proteína origina un conjunto de péptidos de diferentes tamaños determinados por su secuencia de aminoácidos, que es específico de cada uno y puede representarse como su huella característica. Los espectros originados por las masas de los péptidos las cuales son comparadas con las masas de las digestiones de las proteínas de las bases de datos o librerías del equipo de espectrometría (en el caso de nuestro estudio MBL (MALDI Biotyper Library). Al existir mayor similitud de péptidos en la muestra problema con los péptidos almacenados de forma teórica en la librería, se identificarán o correlacionarán con mayor exactitud, así se logra una interpretación directa de los espectros generados.

## ***Librerías o Prototecas del Equipo MALDI TOF MS:***

Los espectros de masas obtenidos con relación a la identificación que se quiera lograr de colonias aisladas, microorganismos en muestras clínicas o la rápida detección fenotípica de resistencia antibiótica (figura 2) (Fournier et al., 2013), son comparados con la base de datos o MBL (MALDI Biotyper Library) en tiempo real correlacionados con el programa Biotyper. Esta librería es la recopilación de los espectros generados de **previas identificaciones de bacterias y hongos** (Theel, 2013).



**Figura 2.** Aplicaciones actuales de la tecnología MALDI- TOF MS .

Modificado de : *Modern clinical microbiology: new challenges and solutions.* (Fournier et al., 2013).

Aunque estas bibliotecas están actualizadas en cuanto a las bacterias con mayor impacto a nivel hospitalario y clínico es importante aportar hallazgos en la construcción y la validez estadística de las bibliotecas de hongos que en general requieren un mayor trabajo, debido a la complejidad biológica de estos microorganismos (Ferreira et al., 2013).

## ***Métodos utilizados para la identificación de microorganismo por MALDI- TO MS.***

Los protocolos para la utilización del MALDI-TOF tienen variaciones, sin embargo, los métodos directos y de extracción de proteínas son los más utilizados para la lectura de la muestra en la placa.

Existen dos métodos de análisis de las proteínas en estudio:

**Método de célula intacta (ICM):** Método más utilizado para la determinación de proteínas por espectrometría de masas y en la mayoría de los estudios es utilizado como un control. Este método se basa en la aplicación directa de parte de la muestra a analizar sobre una placa del MALDI, después de realizar una primera centrifugación para remover los glóbulos rojos de la muestra estudiada

y una segunda en la cual se recolecta el microorganismo de interés (Ferreira et al., 2011) . Según lo reportado en estudios, el método es efectivo en un 97% ,por ello se recomienda la utilización de ICM sin la necesidad de extracción de proteínas antes de agregar la muestra en la placa del MALDI-TOF ya que se logra una identificación de microorganismos confiable a nivel de género y especie en aproximadamente 10 min/muestra ahorrando tiempo y con menor manipulación de la muestra (Ferreira et al., 2010).

**Método de extracción de proteínas (PEM) o extracción en tubo** :Este método incrementa la lisis de la pared celular, extrayendo las proteínas con el uso de disolventes como el Ácido Fórmico, etanol, acetonitrilo y/o ácido trifluoroacético para así poder identificar proteínas ribosomas en las muestras del paciente (*Anexo 1*). En cuanto al método de extracción de proteínas (PEM) es aconsejable la utilización de este, al no obtener una identificación confiable con el método de ICM (Ferreira et al., 2011), para nuestro estudio se utilizó este método de extracción ya que es el más recomendado para obtener muestras sin interferencias para su lectura.

### **3.5 EL IMPACTO DEL TIEMPO DE IDENTIFICACION DE MICROORGANISMOS EN LA GESTION ANTIMICROBIANA HOSPITALARIA**

La identificación de microorganismos en laboratorios clínicos se realiza por medio de métodos convencionales (caracterizaciones morfológicas, pruebas bioquímicas ,características tintoriales y características de crecimiento) los cuales pueden requerir de varias horas de incubación (Legarraga et al., 2013) además pueden tardar en realizarse entre minutos, horas y en algunos casos días para identificación microorganismos fastidiosos (Seng et al., 2009). Los sistemas automatizados de identificación microbiana se han convertido en herramientas claves para el diagnóstico rápido y efectivo. Un ejemplo de esta revolucionaria tecnología es el MALDI – TOF MS, la cual es menos costosa que los métodos tradicionales. Ya que el costo por cada muestra es inferior al costo de otros métodos diagnósticos, además de la entrega rápida del resultado logrando identificar microorganismos en < 1 hora o en cuestión de minutos.

En estudios recientes (Theel, 2013) se describe la tecnología MALDI –TOF MS como el método de elección rápido y poco costoso con el cual se logra la identificación de microorganismos acelerando la entrega oportuna del resultados. Además esta rápida identificación de microorganismos causantes de bacteriemia y fungemia permite prescribir el tratamiento indicado dependiendo del género y especie identificada, reduciendo el desarrollo potencial de resistencia y efectos secundarios. La aplicación directa de MALDI-TOF MS en muestras de hemocultivo después de la identificación de crecimiento por los métodos automatizados como el sistema BACTEC 9240 (Becton-Dickinson, Sparks, EE.UU.) o BacT / Alert FA (bioMérieux, Marcy'l'Etoile, Francia) podría permitir la confirmación de la rápida detección y sensibilidad que tiene la tecnología (Vlek et al., 2012).

# 4 OBJETIVOS

---

## *4.1 Objetivo General*

- Implementar la tecnología MALDI-TOF MS para la identificación de agentes infecciosos a partir de hemocultivos positivos en pacientes hospitalizados en una Institución de Tercer Nivel de Bogotá.

## *4.2 Objetivos Específicos*

- Evaluar el tiempo requerido para la identificación de microorganismos directamente de hemocultivos positivos.
- Analizar la concordancia en la identificación de microorganismos por métodos convencionales y por la tecnología MALDI-TOF MS.

# 5 MATERIALES Y MÉTODOS

---

El estudio titulado; "Implementación de la tecnología MALDI- TOF para la identificación de agentes infecciosos a partir de hemocultivos en pacientes hospitalizados en una institución de tercer nivel de Bogotá" se realizó en conjunto con la Unidad de Investigación en Proteómica y Miosis Humana de la Pontificia Universidad Javeriana – Área de microbiología del Hospital Universitario San Ignacio en Bogotá.

La metodología fue prospectiva experimental desarrollada de la siguiente manera:

## 5.1 Muestra clínica

Se utilizó hemocultivos positivos previamente obtenidos por venopunción e inoculados en tres botellas Bact/ ALERT FAN dos para aerobios y una para anaerobios (*Anexo 2*) sin carbón y manejados de acuerdo a las instrucciones del fabricante. Se recogieron un total de 43 hemocultivos positivos. Proporcionados por el Hospital Universitario San Ignacio en un periodo de 5 semanas.

### **Sistema de hemocultivo Bact/ALERT® (bioMérieux, Marcy l'Etoile, France)**

Cada frasco tiene una capacidad de 10 mL de sangre. Dado que los microorganismos crecen en una mezcla de sangre y caldo de cultivo, se libera CO<sup>2</sup>. Un sensor químico sensible al CO<sup>2</sup>, separado de la mezcla de sangre-caldo de cultivo por medio de una membrana unidireccional permeable al CO<sup>2</sup>, está unido al fondo de cada frasco. En presencia de CO<sup>2</sup> el color del sensor vira del azul-verdoso a amarillo lo cual es percibido por el detector sensible a la luz que se encuentra dentro del instrumento, en intervalos de 10 minutos. Los diodos (uno para cada pocillo) emiten un haz de luz que se proyecta a través de un filtro de excitación y se refleja en el sensor sensible al CO<sup>2</sup> en el fondo e cada frasco. (*Anexo 2*) La luz reflejada se dirige a través de un filtro de emisión hacia un detector fotosensible que, a su vez está conectado a un compilador del ordenador. Tan pronto como se acumula suficiente CO<sup>2</sup> en el frasco como para alterar el sensor, se genera un "alerta" visible o audible y el ordenador marca de inmediato la posición del frasco positivo (Loonen et al., 2012).

Cada unidad de procesamiento es una cabina del tamaño de un pequeño refrigerador que cumple en sí misma la función de incubador, agitador y dispositivo de detección, con una capacidad de 240 o 120 frascos, según el modelo. Se pueden conectar hasta cinco módulos bajo el control de un mismo ordenador, lo que da como resultado un total de 1440 frascos que pueden controlarse en forma conjunta. Los pocillos están organizados en dos filas dentro de un estante, cada estante contiene 20 frascos, una unidad para 240 frascos contiene 12 estantes. Cada frasco está identificado por un código de

barras grabado en su etiqueta el cual lo examina el ordenador y realiza la correlación con los datos de identificación del paciente. (Loonen et al., 2012)

### 5.1.1 Identificación por el laboratorio del HUSI

Los hemocultivos detectados positivos por el sistema BacT / AlertFA (bioMérieux, Marcy l'Etoile, Francia) en el laboratorio del HUSI se les realizó la tinción de Gram y basándose en el resultado, se realizaron subcultivos adicionales y pruebas bioquímicas (figura 3). Si se observaba bacilos Gram-negativos en la tinción de Gram, se cultivaban en medios para subcultivos (agar Sangre y agar Mac Conkey), pero si observaban cocos Gram positivos en la tinción de Gram los cultivaban en agar sangre. Para continuar con la identificación del microorganismo se realizaron pruebas bioquímicas y de sensibilidad por medio del sistema de identificación automatizado Micro Scan Walk Away plus System. En algunos casos si la tinción de Gram revela la presencia de levaduras estas deben ser sembradas en Agar Saboraud, en este estudio no se detectó ninguna levadura.

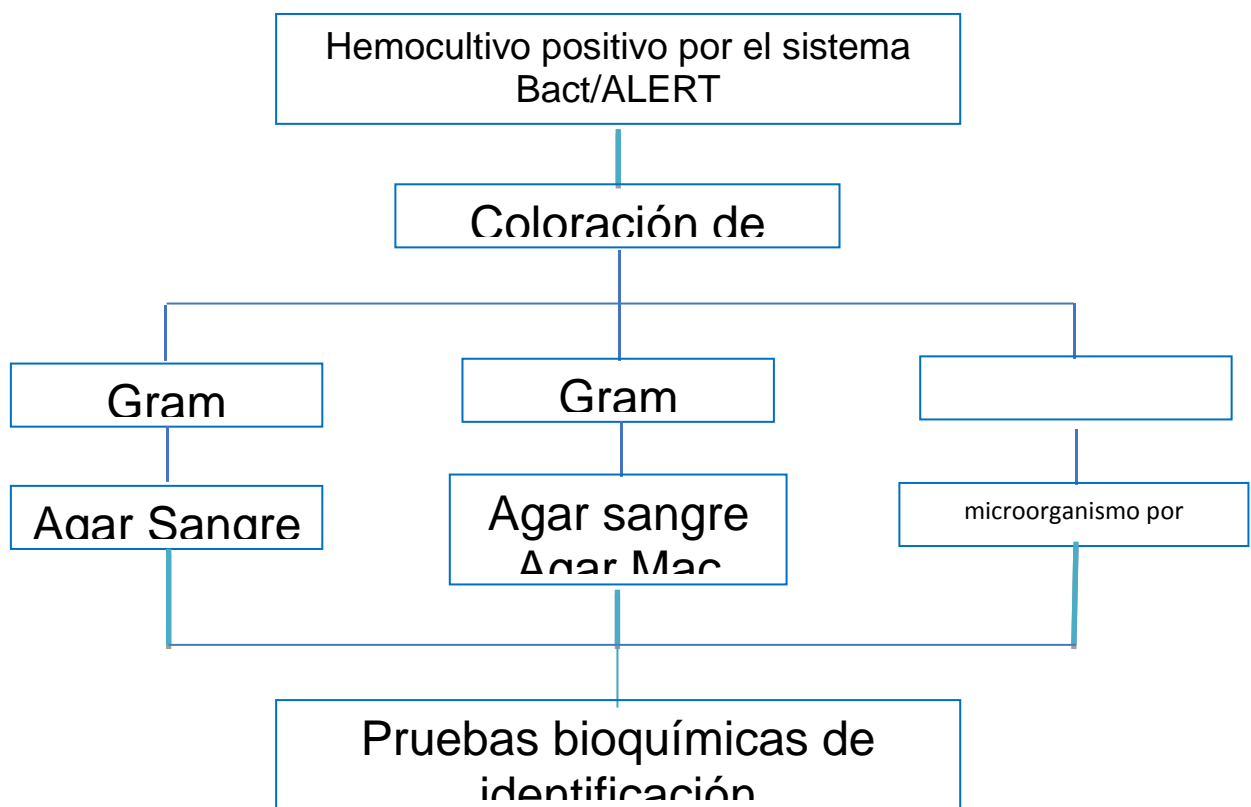


FIGURA 3. Representación esquemática de la identificación de microorganismos por el laboratorio del HUSI

### 5.2 Método de procesamiento para el MALDI-TOF MS

La identificación de microorganismos se realizó en la Unidad de Investigación en Proteómica y Micosis Humana de la Pontificia Universidad Javeriana por medio de la Tecnología MALDI-TOF MS Biotyper (Bruker Daltonics) utilizando



el método de extracción en tubo, ya que este procedimiento es clave para obtener una muestra adecuada del hemocultivo, ya que este puede tener varias proteínas que pueden interferir en la lectura por el MALDI-TOF MS.

### 5.2.1 Extracción en tubo

Este método incrementa la lisis celular obteniendo las proteínas libres (PEM), (figura 4). El método de extracción en tubo fue desarrollado y descrito por Ferreira (Ferreira et al., 2010) en nuestro estudio se hicieron algunos ajustes a los protocolos descritos (Ferreira et al., 2010; Loonen et al., 2012) para obtener una muestra más purificada. Todos los métodos investigados resultan en un pellet obtenido por centrifugación de la muestra a partir del hemocultivo, al cual se le realizaron cuatro lavados, tres con agua desionizada y el cuarto con agua ultrapura, para cada lavado se centrifugo a 12000 rpm durante 5 minutos posteriormente se disolvió el pellet en 300 µl de agua ultrapura y 900 µl de etanol 100%. La mezcla se centrifugo a 12000 rpm durante 5 minutos y el sobrenadante fue descartado. 50 µl de ácido fórmico al 70% (Anexo 3) fue adicionado al pellet, pasados 5 minutos se adiciono 5 µl de acetonitrilo, la mezcla se centrifugo a 12000 rpm durante 5 min, antes de todas las centrifugaciones se utilizó el vortex en cada muestra. Un microlitro del sobrenadante fue puesto en el pozo de la placa de acero y se esperó que se secase a temperatura ambiente.

El sobrenadante obtenido de la extracción de proteínas fue recubierto por un microlitro de la matrix HCCA (Bruker Daltonics GmbH, Bremen, Germany). Solución saturada de ácido  $\alpha$ -ciano-4-hidroxicinámico en 50% acetonitrilo y 2.5% ácido trifluoroacético) (Anexo 4). El secado se realizó a temperatura ambiente.

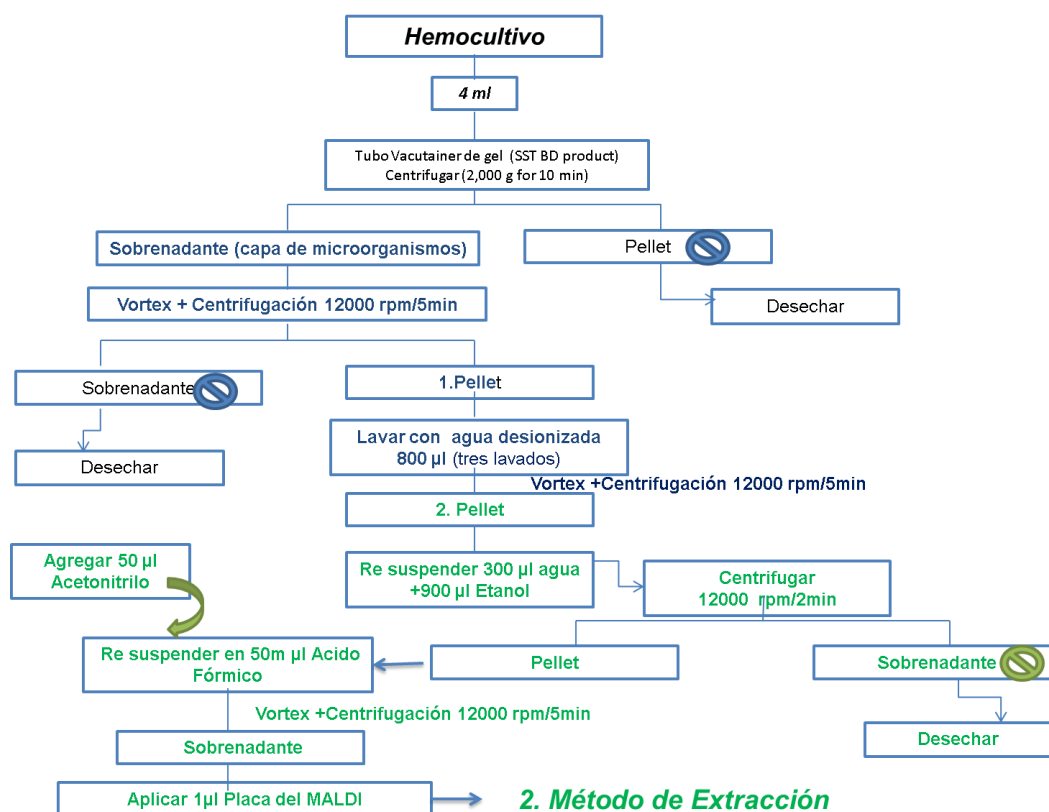
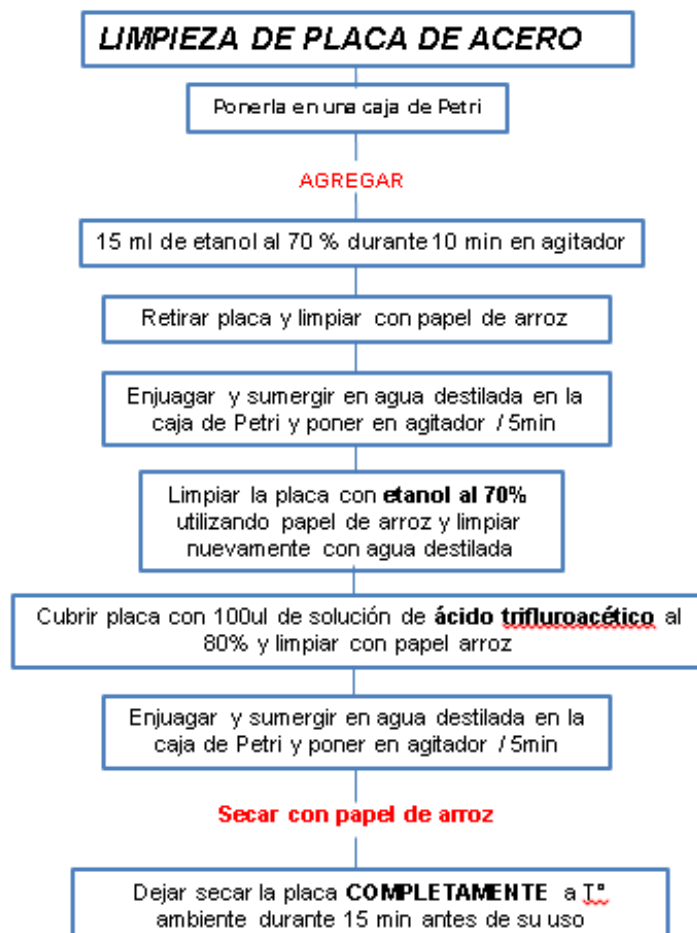


FIGURA 4. Procedimiento para obtención de muestra por el método de extracción en tubo

### 5.2.2 Lavado de placa para MALDI-TOF MS

Para aumentar la sensibilidad y especificidad de la técnica realizo un lavado de placa estricto para eliminar residuos de proteínas y matriz (figura 5). Esta se puede limpiar una vez que todos los pozos se hayan utilizado, no es necesario limpiar diariamente la placa si no está utilizada completamente. El control sobre las muestras que se inoculan en la placa del acero del MALDI TOF se llevó en un mapa que facilito tener la ubicación exacta de los pozos (Anexo 5) para controlar posibles errores en los resultados de la lectura de la placa ya que en ella se pueden agregar muestras de diferentes días y el grado de confusión sobre las muestras agregadas es alto lo cual permite.

Todas las muestras recibidas de HUSI fueron reportadas con su respectiva identificación en el formato de resultados (Anexo 6) así mismo la identificación obtenida por la tecnología MALDI TOF en la Unidad de Investigación en Proteómica y Miosis Humana de la Pontificia Universidad Javeriana, de esta manera se observara la concordancia entre los resultados obtenidos por el método convencional utilizado en el Hospital Universitario San Ignacio para identificación de microorganismos y la tecnología MALDI-TOF MS utilizada en el estudio.

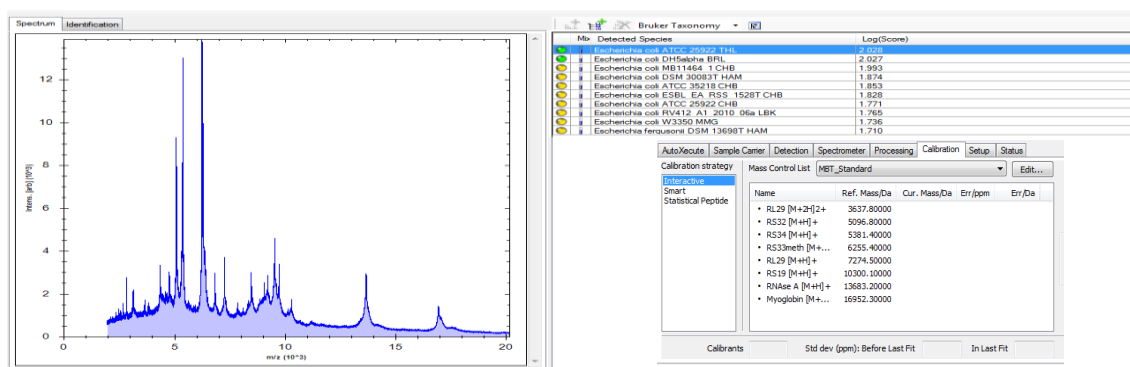


**FIGURA 5.** Limpieza de la placa para MALDI-TOF para eliminar residuos de proteínas y matrix

### 5.2.3 Espectrometría de masas (MALDI-TOF MS)

La lectura de la placa de acero fue realizada en un Microflex LT MALDI-TOF MS (BrukerDaltonics, Leipzig, Germany). Equipado con un láser de 200 Hz. Los espectros se registran en el modo positivo lineal con una frecuencia de láser de 200 Hz dentro de un rango de masas de 400 a 40.000 Da. La tensión de IS1 era 20 kV, la tensión de IS2 se mantuvo a 18,6 kV, la tensión de la lente fue de 6 kV, y el tiempo de retardo de extracción fue de 40 ns.

Para cada espectro, se recogen 240 disparos de láser en diferentes posiciones de la placa del MALDI. El espectro fue calibrado externamente con el uso de un estándar bacteriano BTS (*Anexo 7*); prueba estándar en la cual se puede observar el perfil proteico bacteriano de una cepa de *Escherichia coli* DH5 alfa que posee proteínas adicionales (Legarraga et al., 2013) como son RNasa A y mioglobina, BrukerDaltonics). Las Masas de calibración son las siguientes: RL34, 5381,4 Da; RS33, 6255,4 Da, RS32, 5096,8 Da; RL29, 7274,5 Da; RL29, 3637,8 Da; RS19, 10300,1 Da; RNasa, 13683,2 Da; mioglobina, 16.952,3 Da. (*Figura 6*)



**FIGURA 6:** Espectro del calibrador con su respectivo score y las masas de calibración.

### 5.2.4 Análisis de MALDI-TOF

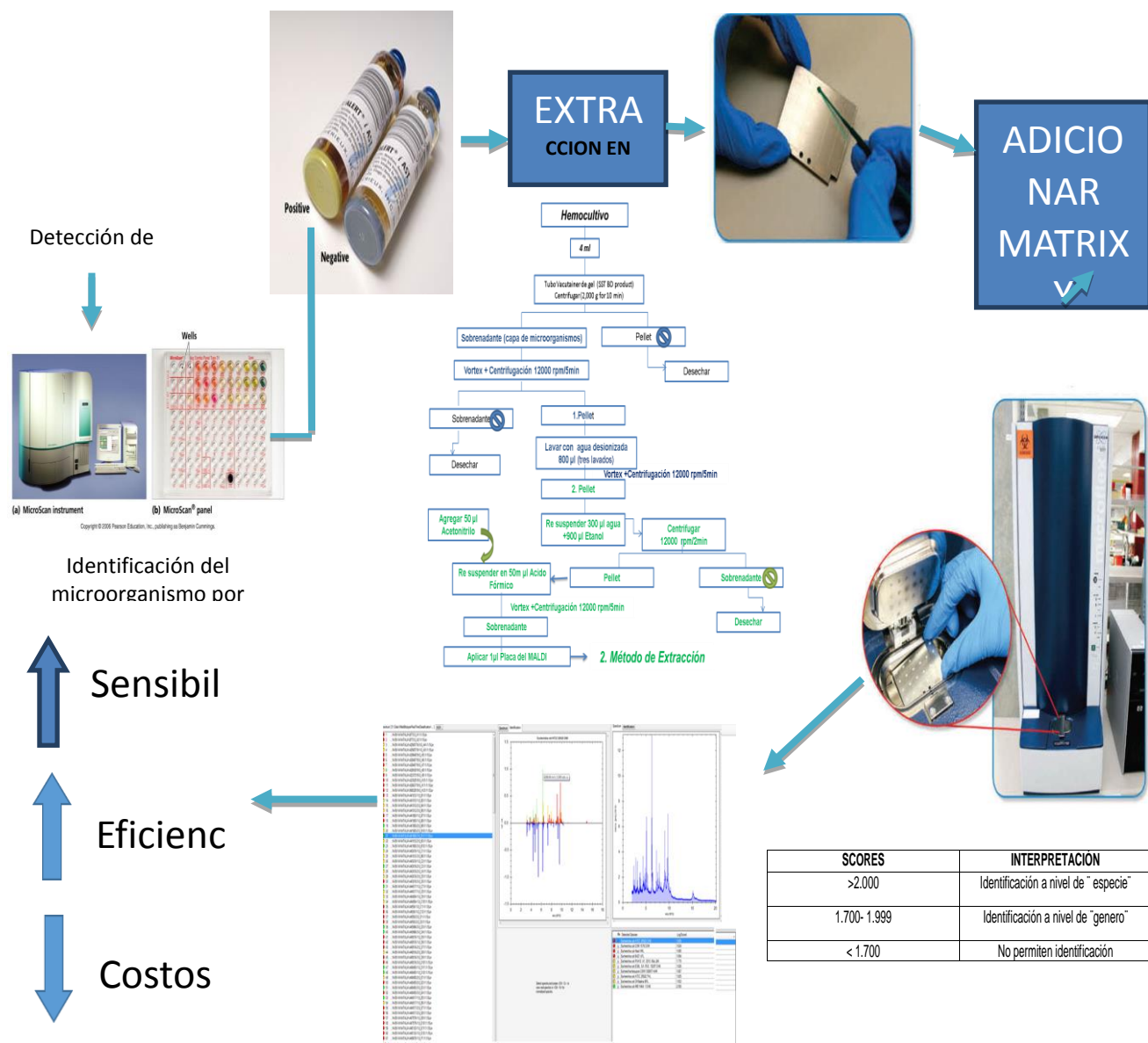
En nuestro estudio se realizaron las mediciones por medio del sistema MALDI-TOF MS BrukerBiotyper el cual incluye el instrumento Microflex LT/SH MS equipado con un laser y 2 programas: FC Control Flex con el cual se adquiere el espectro de la proteína y RTC (Biotyper real-time classification) para realizar el análisis del espectro (Theel, 2013). Los espectros de masas obtenidos son comparados con la base de datos o MBL (MALDI Biotyper Library) en tiempo real correlacionados con el programa RTC Biotyper, esta librería tiene 5627 (*Anexo 8*) microorganismos identificados los cuales son una recopilación de los espectros generados de previas identificaciones de bacterias y hongos, por medio de propiedades algoritmos de reconocimiento de patrones usando las posiciones de los picos, las distribuciones de intensidad de los picos y las frecuencias del pico. El nivel de semejanza entre el espectro desconocido y los que se encuentran en la MBL es comparado permitiendo la asignación de un puntaje específico. Los puntajes reportados se encuentran en un rango 0.0

(identificado con el color rojo) indicando no semejanza y 3.0 (identificado con el color verde) que corresponde exactamente al espectro de la MBL (Tabla1) (Theel, 2013).

SCORES	INTERPRETACIÓN
>2.000	Identificación a nivel de "especie"
1.700- 1.999	Identificación a nivel de "genero"
< 1.700	No permiten identificación

Tabla 1. Criterios de identificación ajustados por BrukerDaltonics a la tecnología MALDI –TOF MS.

### 5.3 Diseño experimental





## 6 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

---

Se procesaron un total de cuarenta y tres hemocultivos positivos por el sistema BacT/ALERT 3D por los métodos convencionales y por el MALDI-TOF MS. La identificación por los dos métodos tuvo una concordancia del 60% (Tabla 2). Doce muestras mostraron la presencia de Gram positivos, veinte y cuatro mostraron presencia de Gram negativos. En seis muestras se reportó la presencia de múltiples bacterias por medio de diagnósticos convencionales y en cuatro muestras no hubo identificación por MALDI-TOF MS pero si por métodos convencionales donde las muestras correspondían a *S. epidermidis*, *E. coli* y *K. pneumoniae*. Se identificó que la causa por la cual hubo baja identificación ocurrió por una falla en la fuente de voltaje del magneto que tiene como función estabilizar los iones para que estos inicien el vuelo en el mismo momento, este fue el motivo por el cual se alteró la lectura en el calibrador y en las muestras.

El método utilizado en este estudio fue la extracción en tubo ya que es el indicado para obtener una muestra con mayor grado de pureza (Ferreira 2010), en el laboratorio la extracción de la muestra tomo un tiempo aproximado de 45 a 60 minutos. Se realizó una serie de adaptaciones al protocolo para aumentar la sensibilidad de la prueba como fue la centrifugación de las muestras de hemocultivos en tubos vacutainer de 12500 rpm/5min para una mejor separación de los globulos rojos, otra de estas modificaciones fue el número en los lavados de la muestra que por lo general era uno, nosotras realizamos cuatro para eliminar con mayor seguridad proteínas que pudieran interferir en la lectura como albumina , proteínas del plasma ,entre otras y crear interferencias en el momento de la identificación.

Por los métodos convencionales los microorganismos con mayor prevalencia entre las bacterias Gram positivas fueron: *E. faecium*-*S. epidermidis* y entre las bacterias Gram negativas *E.coli*. Por MALDI-TOF la bacteria Gram positiva identificada con mayor frecuencia fue *E. faecium* y de las Gram negativas *E.coli* lo cual indica que los dos métodos coincidieron en los resultados solo que el MALDI-TOF no posee la capacidad en detectar la presencia de varios microorganismos en la muestra (tabla2).

			MUESTRAS PROCESADAS POR EL METODO PEM	
ORGANISMO	IDENTIFICACIÓN POR METODOS CONVENCIONALES	IDENTIFICACIÓN POR MALDI-TOF MS	No DE MUESTRAS IDENTIFICADAS POR MALDI-TOF	No DE MUESTRAS NO IDENTIFICADAS POR MALDI-TOF MS
<b>GRAM POSITIVOS</b>				
<b>Staphylococcal spp</b>				
	<i>S. aureus</i>	<i>S. aureus</i>	2 (4,6%)	0
	<i>S. epidermidis</i>	<i>S. epidermidis</i>	3 (7%)	2 (4,6%)
		<i>S. lentus</i>	1 (2,3%)	0
<b>Enterococcal spp</b>				
	<i>E. faecalis</i>	<i>E. faecalis</i>	2 (4,6%)	0
	<i>E. aerogenes</i>	<i>E. aerogenes</i>	1 (2,3%)	0
<b>Mixta</b>				
	<i>E. faecium-S. epidermidis</i>	<i>E. faecium</i>	6 (14,1%)	0
<b>GRAM NEGATIVOS</b>				
	<i>E. coli</i>	<i>E. coli</i>	14 (32,5%)	1 (2,3%)
	<i>K. pneumoniae</i>	<i>K. pneumoniae</i>	6 (14,1%)	1 (2,3%)
	<i>K. pneumoniae</i>	<i>K. oxytoca</i>	1 (2,3%)	0
	<i>H. parainfluenzae</i>	<i>H. influenzae</i>	3 (7%)	0
		TOTAL (N = 43)	39 (90,7%)	4 (9,3%)

	NO CONCORDANCIA	4	40%
	CONCORDANCIA	6	60%
	TOTAL	10	100%

**TABLA2:** Microorganismos identificados por métodos convencionales y por MALDI-TOF.

Por el método convencional no se identificó una muestra y por el MALDI-TOF MS se identificó *S. lentus*. Los métodos convencionales son los más utilizados actualmente en los laboratorios clínicos pero son un grupo de técnicas que no proporcionan el 100 % en la identificación ya que su identificación se basa en las pruebas bioquímicas y estas no tienen el poder de detectar cambios en las proteínas, lo cual es una desventaja frente a las nuevas tecnologías que se deseen implementar en el laboratorio clínico. En este estudio se demostró que la tecnología MALDI-TOF MS es eficaz y confiable aunque también tiene sus restricciones. Entre ellas se encuentra la deficiencia del equipo en cuanto a la identificación de varios microorganismos en la muestra, además se logró identificar una desventaja sobresaliente. Aunque la implementación no se ha logrado por causas del equipo poner a punto esta clase de tecnología en nuestro país es complicado por la falta de asistencia técnica y demora en la importación de los reactivos.

En el presente estudio se detectó en el laboratorio una muestra con dos microorganismos *E. faecium-S. epidermidis* y MALDI-TOF MS solo identifico *E. faecium*. Este es un limitante importante del equipo ya que las infecciones mixtas son altamente frecuentes en pacientes inmunosuprimidos y hematológicos los cuales son la población que más frecuente el Hospital Universitario San Ignacio (HUSI) por lo cual es aconsejable hacer un cultivo cuando se sospecha de una infección por más de un microorganismo.

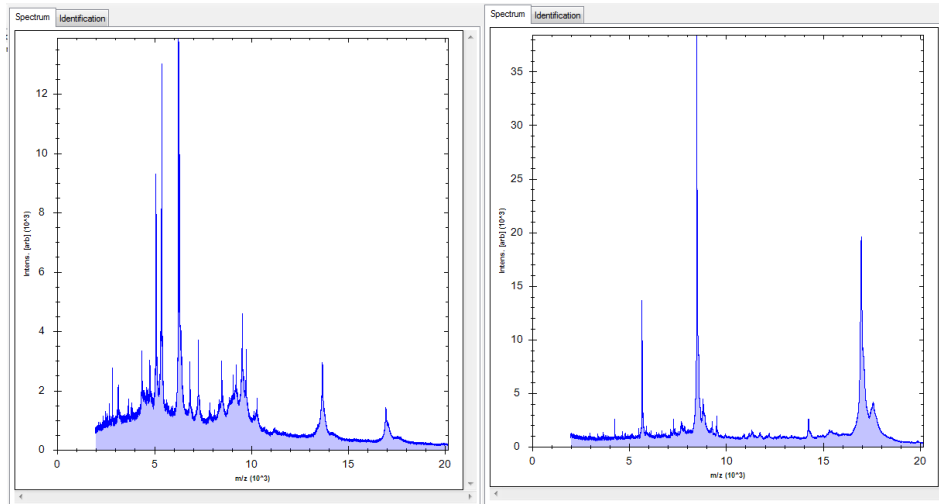
El MALDI-TOF MS tuvo un porcentaje de identificación del 90,7% y de no identificación del 9,3%(Tabla 2) esto puede ser por la deficiencia en el generador del voltaje el cual no emite el voltaje necesario para acelerar los analitos. De las 43 muestras obtenidas a partir de hemocultivos, 39 fueron identificadas por el MALDI-TOF MS. De las 39 muestras identificadas por MALDI-TOF, 76,92 % (30/39) fueron a nivel de especie y género (Tabla 3). El 28,2 % (11/39) fueron identificadas a nivel de especie y el 48,72% (19/39) fue identificada a nivel de género. El 23,08% (9/39) de las muestras identificadas por MALDI-TOF MS se identificaron pero no de manera ideal (puntaje <1.69), estos resultados demuestran que el nivel de identificación en el estudio no fue el adecuado ya que predominan resultados con bajos puntajes de identificación. Este resultado se debió a la deficiencia en el equipo el cual no ha podido ser calibrado, se cree que es la fuente de voltaje de salida de los analitos, por lo tanto los puntajes obtenidos no tienen validez. El BTS tuvo un puntaje de 1.048 es decir no calibro. En esta prueba debe observarse el perfil proteico de la cepa *E.coli* DH5 alfa con ocho picos que corresponden a las siguientes proteínas RL34 con peso molecular de 5381,4 Da; RS33; 6255,4 Da, RS32; 5096,8 Da; RL29; 7274,5 Da; RL29; 3637,8 Da; RS19; 10300,1 Da; RNasa; 13683,2 Da; Mioglobina; 16.952,3 Da, esto demuestra la importancia de la calibración para la medición de los picos correctos en la identificación. (Figura 7).

MICROORGANISMO MALDI-TOF	ESPECIE	GENERO	MALA IDENTIFICACIÓN
	SCORE >2	SCORE 1,99 -1,70	SCORE <1,69
<i>E. aerogenes</i>	1 (100%)	0	0
<i>E. coli</i>	4 (28,6%)	9 (64,3%)	1 (7,1%)
<i>E. faecalis</i>	2 (100%)	0	0
<i>E. faecium</i>	3 (50%)	1 (16,7%)	2 (33,3%)
<i>K. pneumoniae</i>	1 (16,7%)	5 (83,3%)	0
<i>k. oxytoca</i>	0	1 (100%)	0
<i>H. influenzae</i>	0	2 (66,7%)	1 (33,3%)
<i>S. aureus</i>	0	1 (50%)	1 (50%)
<i>S. epidermidis</i>	0	0	3 (100%)
<i>S. lentus</i>	0	0	1 (100%)
TOTAL	11/39 (28,2%)	19/39 (48,72%)	9/39 (23,08%)

SCORES	INTERPRETACIÓN
>2.000	Identificación a nivel de "especie"
1.700- 1.999	Identificación a nivel de "genero"
< 1.700	No permiten identificación

**TABLA 3:** Microorganismos identificados por MALDI-TOF con sus respectivos scores y relación con identificación a nivel de especie y género



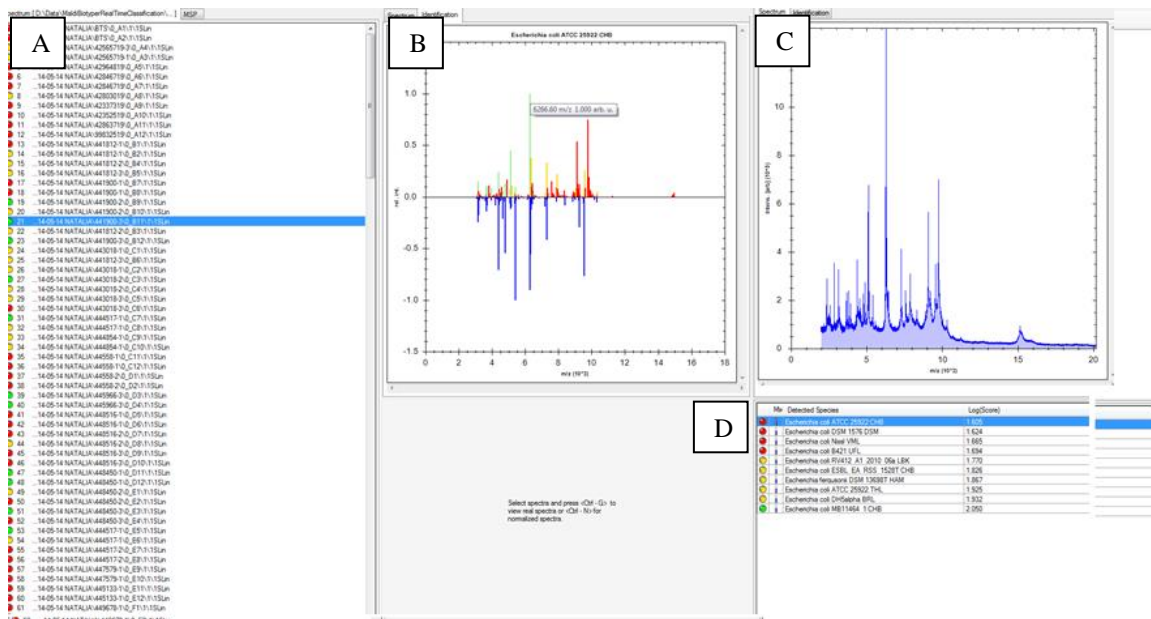


**FIGURA 7:** Comparación de espectro del BTS (estándar bacteriano). Izquierda espectro BTS ideal. Derecha espectro BTS del estudio

## 6.1 Espectros obtenidos en la identificación por MALDI-TOF MS.

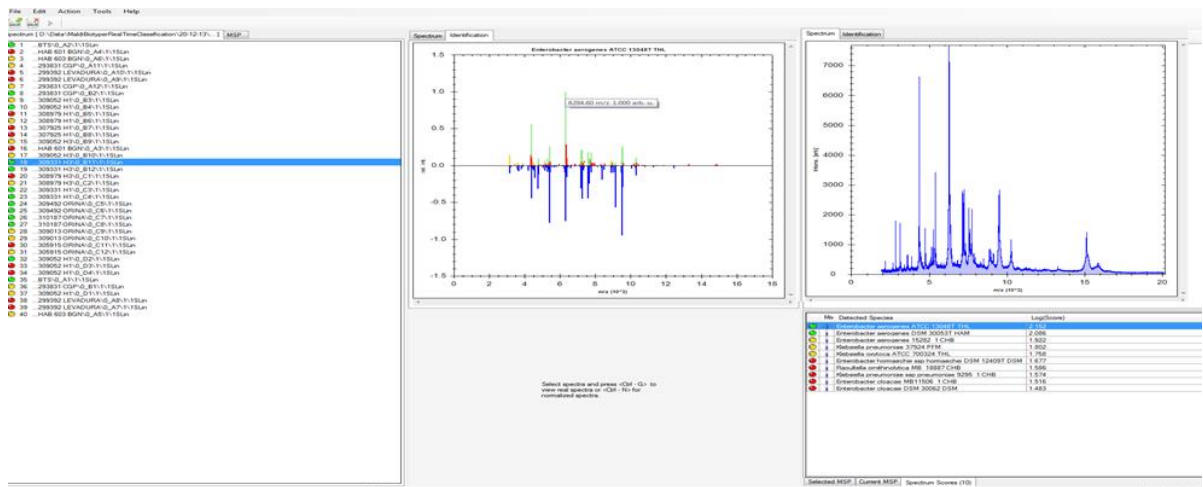
Los espectros con el score más relevante de cada microorganismo se analizaron para identificar la similitud entre los picos obtenidos en el estudio y los picos de la librería del MALDI-TOF MS. Estos espectros fueron obtenidos por dos programas : FC (Control Flex) con el cual se adquiere el espectro de la proteína y RTC (Biotyper real- time classification) para realizar el análisis del espectro, después son comparados con la base de datos obteniendo la identificación de los agentes patógenos.

### 6.1.1. *Escherichia coli*

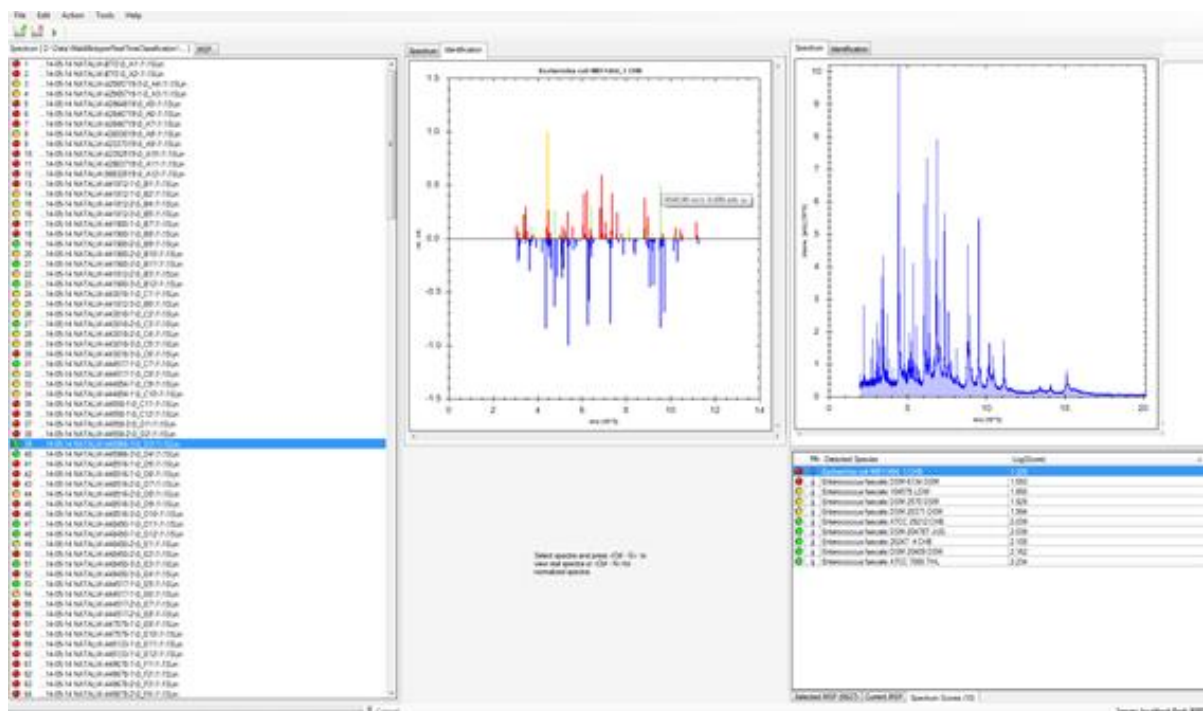


**A:** Lectura de la placa con su respectivo número de muestra **B:** arriba, picos del microorganismo identificado. Abajo, picos de la librería del MALDI-TOF MS. **C:** espectro del microorganismo **D:** identificación y puntajes del microorganismo

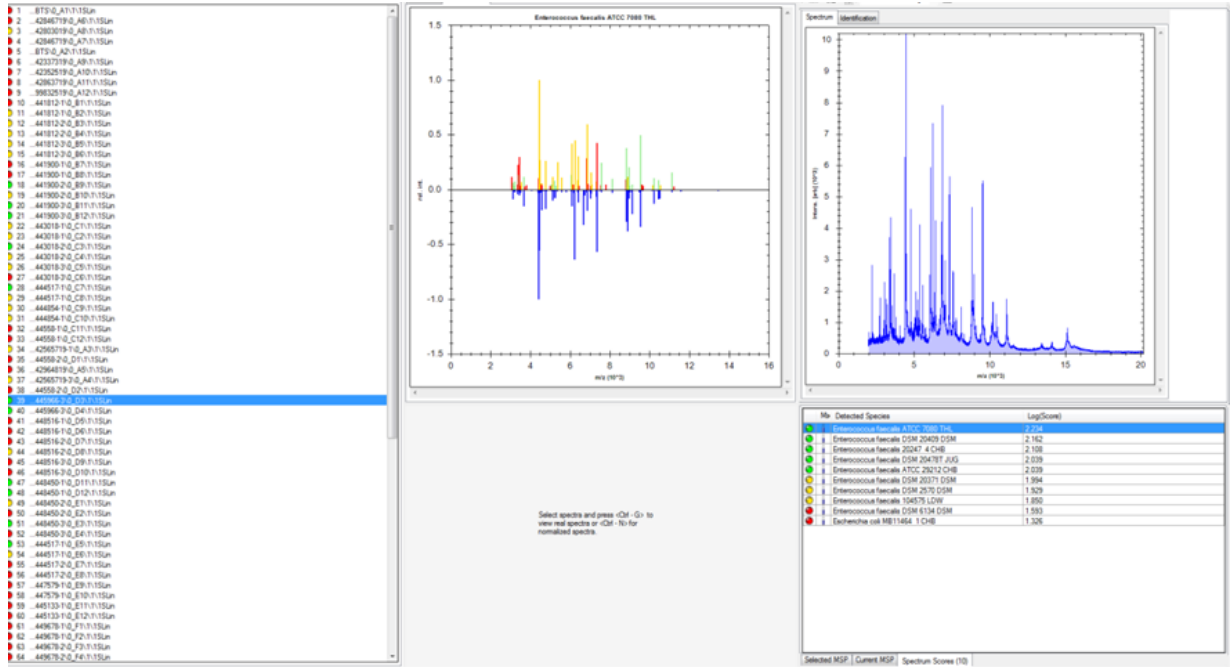
## 6.1.2 Enterococcus aerogenes



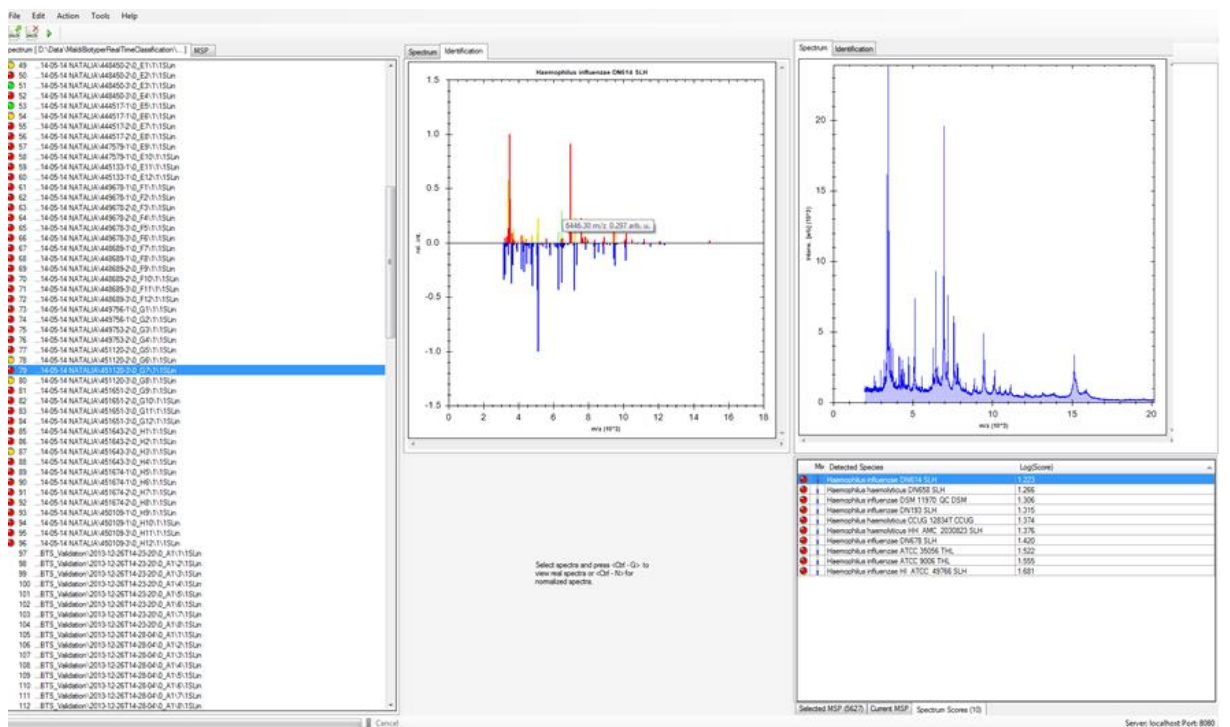
## 6.1.3 Enterococcus faecium



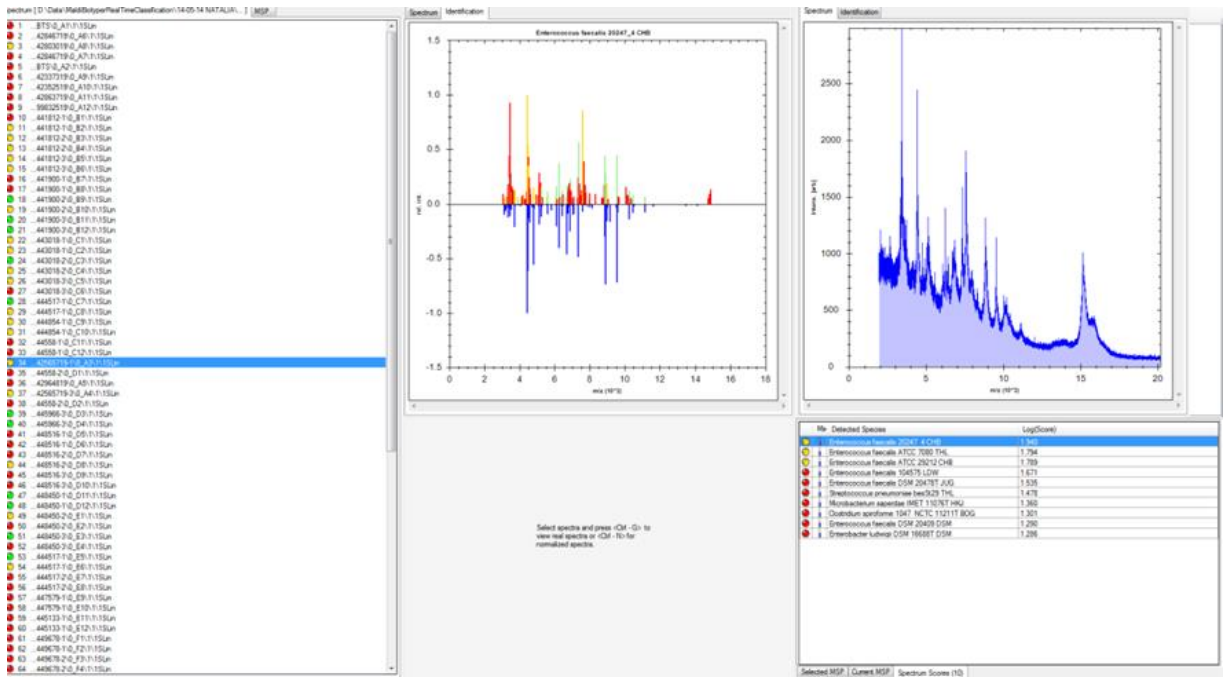
## 6.1.4 Enterococcus faecalis



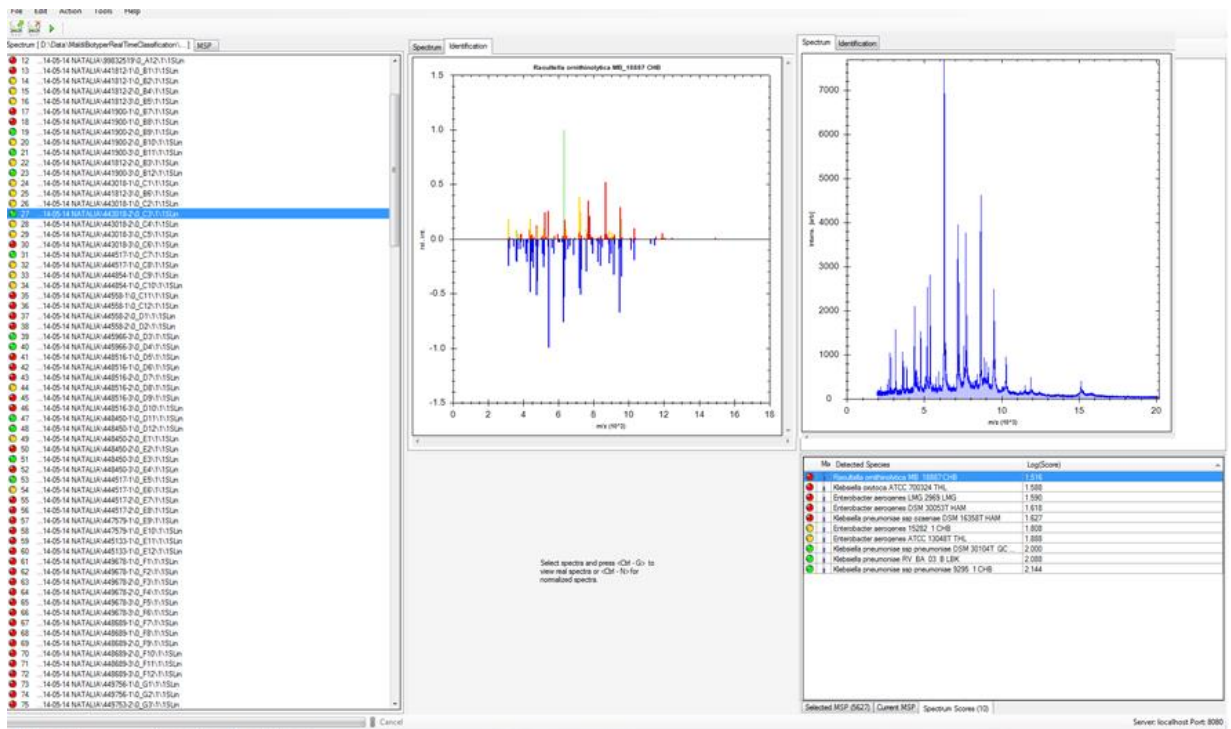
## 6.1.5 Haemophilus influenzae



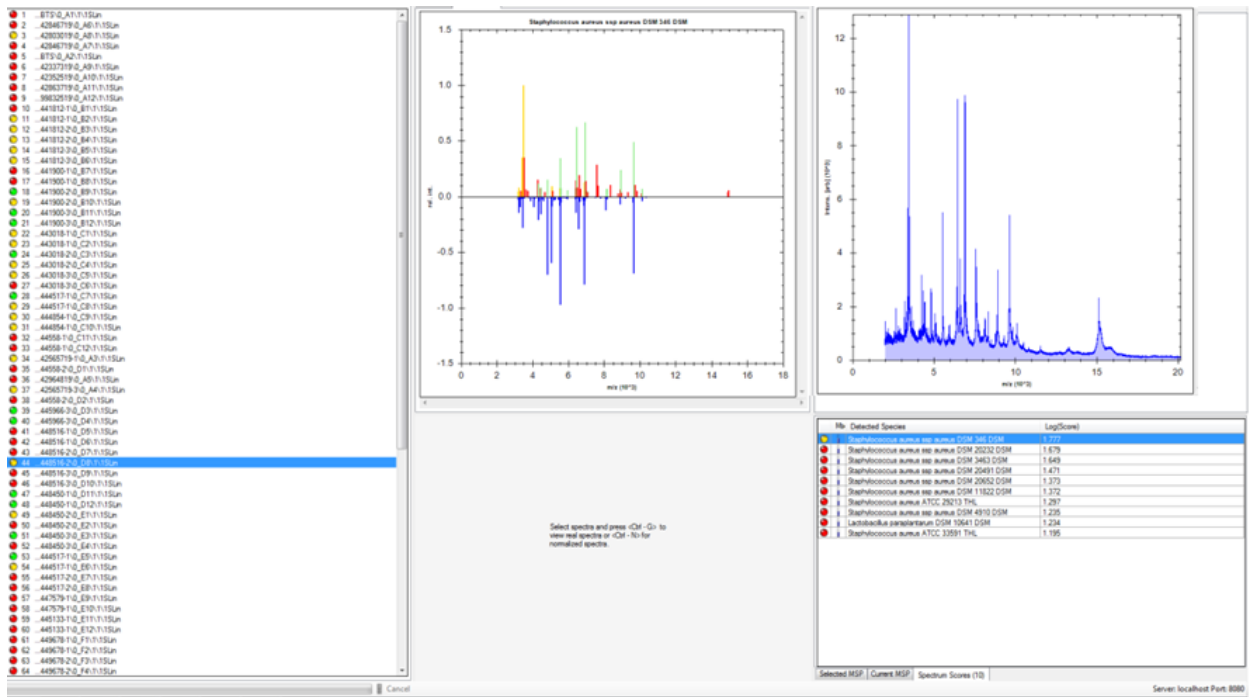
## 6.1.6 *Klebsiella oxytoca*



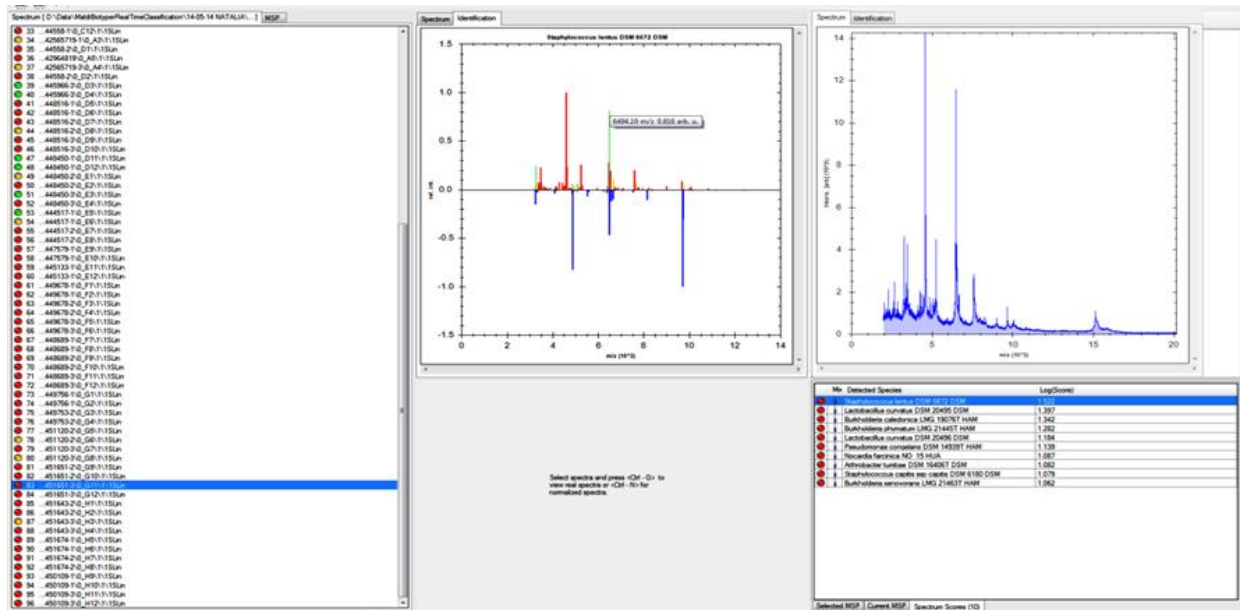
## 6.1.7 *Klebsiella pneumoniae*



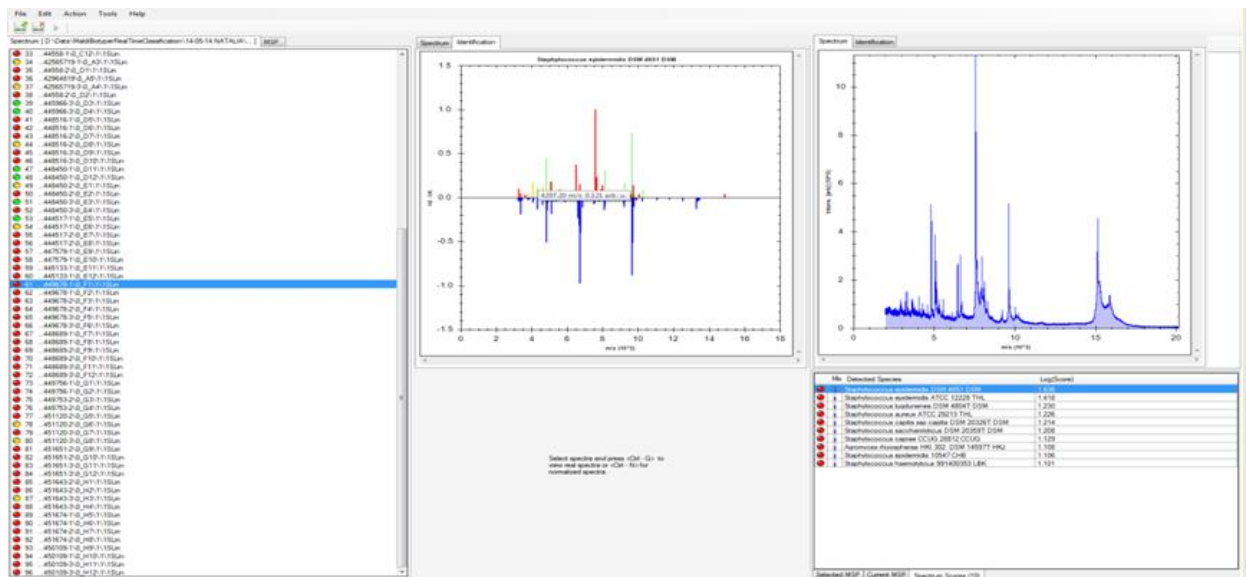
## 6.1.8 Staphylococcus aureus



## 6.1.9 Staphylococcus lentus



## 6.1.10 Streptococcus epidermidis



Una posible causa por el cual no se logró la identificación de algunos de los microorganismos en el MALDI-TOF MS pudo ser debido a los diferentes niveles de biomasa microbiana en las botellas de hemocultivo ya que según lo reportado en la literatura, para la generación de excelentes espectros por medio de la tecnología es necesario que la mínima densidad bacteriana sea de  $10^6$  UFC/ ml y como ya se ha discutido antes por la deficiencia en la emisión del voltaje por el generador (Stevenson, Drake, & Murray, 2010).

No se identificaron hongos en los hemocultivos que nos proporcionaron del Hospital Universitario San Ignacio ya que ninguno de estos poseía una infección del torrente por estos microorganismos como se demuestra en los datos de los pacientes Hospitalizados de la HUSI que se le realizaron hemocultivos.

## 7 CONCLUSIONES

---

En nuestro estudio la tecnología MALDI-TOF MS tuvo un mayor impacto de tiempo en comparación con los métodos convencionales y moleculares, tomando tan solo un tiempo de identificación de 90 minutos, dividido en dos etapas: procesamiento de la muestra (extracción en tubo) 60 minutos y la lectura de la placa 30 minutos.

Se determinó la baja capacidad de identificación de varios microorganismos en una misma muestra ya que el equipo se limita al espectro de referencia de la base de datos, es decir solo los espectros que tenga la librería serán los correlacionados.

A pesar de tener problemas en el generador de voltaje, el MALDI-TOF tuvo un 60% de concordancia comparado con la identificación por medio de métodos convencionales, es decir, si el equipo está calibrado y en condiciones ideales tendrá una gran capacidad de identificación con alta sensibilidad.

El personal requerido no necesita de una capacitación prolongada ni a profundidad ya que el uso de esta tecnología es sencillo al proporcionar los resultados de identificación, a diferencia de la interpretación de los espectros y alimentación de la librería donde si es necesaria la participación de personal con alto grado de experticia para esta lectura y el conocimiento de los microorganismo identificados por el equipo que pueden estar ocasionando la infección en el paciente.

Es importante resaltar que el equipo es innovador en Colombia por lo tanto aún no tiene representantes en el país para que realicen los respectivos mantenimientos en el momento adecuado y la facilidad de obtener los reactivos es restringida es decir mientras la tecnología toma fuerza en nuestro país la practicidad está limitada.

## 8 RETOS Y PERSPECTIVAS

---

La exactitud en la identificación de microorganismos por medio de la tecnología MALDI-TOF es muy alta pero requiere de cuidado en los procedimientos de extracción de la muestra y estandarización de los pasos intermedios de la metodología para garantizar una muestra ideal. Es necesario inculcar en el personal que trabaja con el MALDI-TOF el seguimiento de la metodología utilizada para lograr resultados adecuados y exitosos, ya que de acuerdo a nuestra experiencia el método de extracción y sus pasos deben seguirse de forma estricta con los reactivos y las concentraciones indicadas para evitar errores o dificultades en la lectura de la placa .

Los hemocultivos deben ser procesados de forma rápida después de conocer la positividad de la muestra ya que cultivos viejos o con tiempos prolongados puede llegar a afectar la identificación de microorganismos (Theel, 2013) por medio de la tecnología ya que el proteoma es cambiante y dinámico de acuerdo a cambios en la temperatura, condiciones de estrés ,entre otros , por ello es muy importante resaltar estos factores a tener en cuenta por personal que trabaja con el equipo.

El reto es demostrar los alcances de la tecnología en el campo de la microbiología clínica para que sea implementada y ayude a agilizar la entrega de resultados y un pronto diagnostico en pacientes crítico así mismo identificar el microorganismo correcto para no aplicar tratamiento errado y aumentar la resistencia en los microorganismos.



## 9 BIBLIOGRAFIA

---

- Adrianzen, D., Arbizu, A., Ortiz, J., & Samalvides, F. (2013). Mortality caused by bacteremia *Escherichia coli* and *klebsiella* spp. extended-spectrum beta-lactamase- producers: A retrospective cohort from a hospital in lima, peru. [Mortalidad por bacteriemia causada por *Escherichiacoli* y *Klebsiella*spp. productoras de beta lactamasas de espectro extendido: cohorte retrospectiva en un hospital de Lima, Peru] Revista Peruana De Medicina Experimental y Salud Publica, 30(1), 18-25. doi:S1726-46342013000100004 [pii]
- Aebersold, R., & Mann, M. (2003). Mass spectrometry-based proteomics. Nature, 422(6928), 198-207. doi:10.1038/nature01511 [doi]
- Christner, M., Rohde, H., Wolters, M., Sobottka, I., Wegscheider, K., & Aepfelbacher, M. (2010). Rapid identification of bacteria from positive blood culture bottles by use of matrix-assisted laser desorption-ionization time of flight mass spectrometry fingerprinting. Journal of ClinicalMicrobiology, 48(5), 1584-1591. doi:10.1128/JCM.01831-09 [doi]
- Cisneros-Herreros, J. M., Sanchez-Gonzalez, M., Prados-Blanco, M. T., Llanos-Rodriguez, C., Vigil-Martin, E., Soto-Espinosa de los Monteros, B., & Pachon-Diaza, J. (2005). Blood cultures in the emergency department. [Hemocultivos en el servicio de urgencias] Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica, 23(3), 135-139. doi:13072162
- Custovic, A., Smajlovic, J., Hadzic, S., Ahmetagic, S., Tihic, N., & Hadzagic, H. (2014). Epidemiological surveillance of bacterial nosocomial infections in the surgical intensive care unit. Materia Socio-Medica, 26(1), 7-11. doi:10.5455/msm.2014.26.7-11 [doi]
- Erhard, M., Hipler, U. C., Burmester, A., Brakhage, A. A., & Wostemeyer, J. (2008). Identification of dermatophyte species causing onychomycosis and tinea pedis by MALDI-TOF mass spectrometry. Experimental Dermatology, 17(4), 356-361. doi:EXD649 [pii]
- Ferreira, L., Sanchez-Juanes, F., Munoz-Bellido, J. L., & Gonzalez-Buitrago, J. M. (2011). Rapid method for direct identification of bacteria in urine and blood culture samples by matrix-assisted laser desorption ionization time-of-flight mass spectrometry: Intact cell vs. extraction method. Clinical Microbiology and Infection : The Official Publication of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases, 17(7), 1007-1012. doi:10.1111/j.1469-0691.2010.03339.x; 10.1111/j.1469-0691.2010.03339.x
- Ferreira, L., Sanchez-Juanes, F., Vega, M., Gonzalez, M., Garcia, M. I., Rodriguez, S., . . . Munoz-Bellido, J. L. (2013). Identification of fungal clinical isolates by matrix-assisted laser desorption ionization-time-of-flight mass spectrometry. Revista Espanola De Quimioterapia : Publicación Oficial De La Sociedad Espanola De Quimioterapia, 26(3), 193-197.
- Ferreira, L., Vega Castano, S., Sanchez-Juanes, F., Gonzalez-Cabrero, S., Menegotto, F., Orduna-Domingo, A., . . . Munoz-Bellido, J. L. (2010).

Identification of brucella by MALDI-TOF mass spectrometry. fast and reliable identification from agar plates and blood cultures. *PloS One*, 5(12), e14235. doi:10.1371/journal.pone.0014235; 10.1371/journal.pone.0014235

- Ferroni, A., Suarez, S., Beretti, J. L., Dauphin, B., Bille, E., Meyer, J., . . . Nassif, X. (2010). Real-time identification of bacteria and candida species in positive blood culture broths by matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry. *Journal of Clinical Microbiology*, 48(5), 1542-1548. doi:10.1128/JCM.02485-09 [doi]
- Fournier, P. E., Drancourt, M., Colson, P., Rolain, J. M., La Scola, B., & Raoult, D. (2013). Modern clinical microbiology: New challenges and solutions. *Nature Reviews.Microbiology*, 11(8), 574-585.
- He, Y., Li, H., Lu, X., Stratton, C. W., & Tang, Y. W. (2010). Mass spectrometry biotyper system identifies enteric bacterial pathogens directly from colonies grown on selective stool culture media. *Journal of Clinical Microbiology*, 48(11), 3888-3892. doi:10.1128/JCM.01290-10; 10.1128/JCM.01290-10
- Jahangiri, S., Talebi, M., Eslami, G., & Pourshafie, M. R. (2010). Prevalence of virulence factors and antibiotic resistance in vancomycin-resistant enterococcus faecium isolated from sewage and clinical samples in iran. *Indian Journal of Medical Microbiology*, 28(4), 337-341. doi:10.4103/0255-0857.71828 [doi]
- Kaleta, E. J., Clark, A. E., Cherkaoui, A., Wysocki, V. H., Ingram, E. L., Schrenzel, J., & Wolk, D. M. (2011). Comparative analysis of PCR-electrospray ionization/mass spectrometry (MS) and MALDI-TOF/MS for the identification of bacteria and yeast from positive blood culture bottles. *Clinical Chemistry*, 57(7), 1057-1067. doi:10.1373/clinchem.2011.161968; 10.1373/clinchem.2011.161968
- Karas, M. M., Bachmann, D., & Hillenkamp, F. (1988). Influence of the wavelength in high-irradiance ultraviolet laser desorption mass spectrometry of organic molecules. *October 1988*, 14, 2935-2939. doi:10.1021/ac00171a028
- Koga, V. L., Tomazetto, G., Cyoia, P. S., Neves, M. S., Vidotto, M. C., Nakazato, G., & Kobayashi, R. K. (2014). Molecular screening of virulence genes in extraintestinal pathogenic escherichia coli isolated from human blood culture in brazil. *BioMed Research International*, 2014, 465054. doi:10.1155/2014/465054 [doi]
- Kok, J., Thomas, L. C., Olma, T., Chen, S. C., & Iredell, J. R. (2011). Identification of bacteria in blood culture broths using matrix-assisted laser desorption-ionization sepsityper and time of flight mass spectrometry. *PloS One*, 6(8), e23285. doi:10.1371/journal.pone.0023285; 10.1371/journal.pone.0023285
- La Scola, B., & Raoult, D. (2009). Direct identification of bacteria in positive blood culture bottles by matrix-assisted laser desorption ionisation time-of-flight mass spectrometry. *PloS One*, 4(11), e8041. doi:10.1371/journal.pone.0008041; 10.1371/journal.pone.0008041

- Lagace-Wiens, P. R., Adam, H. J., Karlowsky, J. A., Nichol, K. A., Pang, P. F., Guenther, J., . . . Alfa, M. J. (2012). Identification of blood culture isolates directly from positive blood cultures by use of matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry and a commercial extraction system: Analysis of performance, cost, and turnaround time. *Journal of Clinical Microbiology*, 50(10), 3324-3328. doi:10.1128/JCM.01479-12; 10.1128/JCM.01479-12
- Legarraga, P., Moraga, M., Lam, M., Geoffroy, E., Zumaran, C., & Garcia, P. (2013). Impact of mass spectrometry by MALDI-TOF MS for the rapid identification of aerobic and anaerobic bacteria of clinical importance. [Impacto de la espectrometria de masas por MALDI-TOF MS en la identificación rápida de bacterias aerobias y anaerobias de importancia clínica] *Revista Chilena De Infectología : Organó Oficial De La Sociedad Chilena De Infectología*, 30(2), 140-146. doi:10.4067/S0716-10182013000200004; 10.4067/S0716-10182013000200004
- Loonen, A. J., Jansz, A. R., Stalpers, J., Wolffs, P. F., & van den Brule, A. J. (2012). An evaluation of three processing methods and the effect of reduced culture times for faster direct identification of pathogens from BacT/ALERT blood cultures by MALDI-TOF MS. *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases : Official Publication of the European Society of Clinical Microbiology*, 31(7), 1575-1583. doi:10.1007/s10096-011-1480-y; 10.1007/s10096-011-1480-y
- Mellmann, A., Cloud, J., Maier, T., Keckevoet, U., Ramminger, I., Iwen, P., . . . Harmsen, D. (2008). Evaluation of matrix-assisted laser desorption ionization-time-of-flight mass spectrometry in comparison to 16S rRNA gene sequencing for species identification of nonfermenting bacteria. *Journal of Clinical Microbiology*, 46(6), 1946-1954. doi:10.1128/JCM.00157-08; 10.1128/JCM.00157-08
- Noda-Albelo, A., Vidal Tallet, L. A., Vidal Tallet, J. I., & Hernández Álvarez, L. (2011). *Streptococcus pneumoniae*, mecanismos de resistencia antimicrobiana. (spanish). *Revista Cubana De Pediatría*, 83(3), 288-295.
- Pai, R. K., Pergam, S. A., Kedia, A., Cadman, C. S., & Osborn, L. A. (2004). Pacemaker lead infection secondary to *Haemophilus parainfluenzae*. *Pacing and Clinical Electrophysiology : PACE*, 27(7), 1008-1010. doi:10.1111/j.1540-8159.2004.00575.x [doi]
- Schubert, S., Weinert, K., Wagner, C., Gunzl, B., Wieser, A., Maier, T., & Kostrzewa, M. (2011). Novel, improved sample preparation for rapid, direct identification from positive blood cultures using matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight (MALDI-TOF) mass spectrometry. *The Journal of Molecular Diagnostics : JMD*, 13(6), 701-706. doi:10.1016/j.jmoldx.2011.07.004; 10.1016/j.jmoldx.2011.07.004
- Seng, P., Drancourt, M., Gouriet, F., La Scola, B., Fournier, P. E., Rolain, J. M., & Raoult, D. (2009). Ongoing revolution in bacteriology: Routine identification of bacteria by matrix-assisted laser desorption ionization time-of-flight mass spectrometry. *Clinical Infectious Diseases : An Official Publication of the*

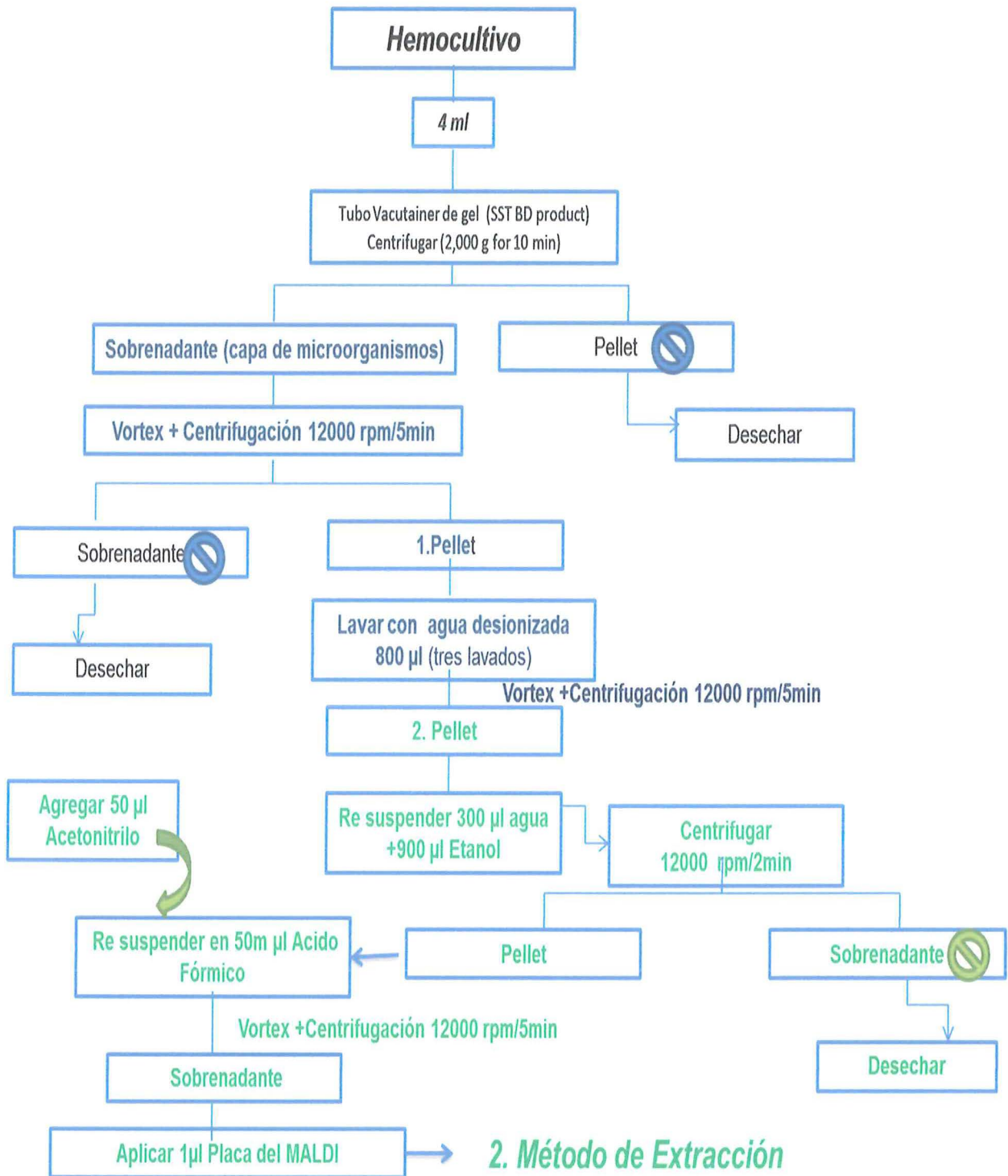
Infectious Diseases Society of America, 49(4), 543-551. doi:10.1086/600885 [doi]

- Solheim, M., La Rosa, S. L., Mathisen, T., Snipen, L. G., Nes, I. F., & Brede, D. A. (2014). Transcriptomic and functional analysis of NaCl-induced stress in enterococcus faecalis. PloS One, 9(4), e94571. doi:10.1371/journal.pone.0094571 [doi]
- Stevenson, L. G., Drake, S. K., & Murray, P. R. (2010). Rapid identification of bacteria in positive blood culture broths by matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry. Journal of Clinical Microbiology, 48(2), 444-447. doi:10.1128/JCM.01541-09 [doi]
- Sugumar, M., Kumar, K. M., Manoharan, A., Anbarasu, A., & Ramaiah, S. (2014). Detection of OXA-1 beta-lactamase gene of klebsiellapneumoniae from blood stream infections (BSI) by conventional PCR and in-silico analysis to understand the mechanism of OXA mediated resistance. PloS One, 9(3), e91800. doi:10.1371/journal.pone.0091800 [doi]
- Tanaka, K., Waki, H., Ido, Y., Akita, S., Yoshida, Y., Yoshida, T., & Matsuo, T. (1988). Protein and polymer analyses up to m/z 100 000 by laser ionization time-of-flight mass spectrometry. Rapid Communications in Mass Spectrometry, 2(8), 151-153. doi:10.1002/rcm.1290020802
- Theel, E. S. (2013). Matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry for the identification of bacterial and fungal isolates. Clinical Microbiology Newsletter, 35(19), 155-161. doi:http://dx.doi.org/10.1016/j.clinmicnews.2013.09.001
- Vlek, A. L., Bonten, M. J., & Boel, C. H. (2012). Direct matrix-assisted laser desorption ionization time-of-flight mass spectrometry improves appropriateness of antibiotic treatment of bacteremia. PloS One, 7(3), e32589. doi:10.1371/journal.pone.0032589; 10.1371/journal.pone.0032589
- Walsh, J. D., Hyman, J. M., Borzhemskaya, L., Bowen, A., McKellar, C., Ullery, M., . . . Dunne, W. M., Jr. (2013). Rapid intrinsic fluorescence method for direct identification of pathogens in blood cultures. Mbio, 4(6), e00865-13. doi:10.1128/mBio.00865-13; 10.1128/mBio.00865-13
- Weinstein MP, Reller LB, Mirrett S, & Lee A. (2007). Detection of bloodstream infections in adults: How many blood cultures are needed. J ClinMicrobiol, 45(11)

# ANEXOS

# *Anexo 1*

*Procedimiento de extracción ácido fórmico*



# *Anexo 2*

*InsertoBacT/ALERT® FA (bioMérieux, Marcy  
l'Etoile, France)*



**BacT/ALERT® FA****INDICA SECCIÓN MODIFICADA**

Ver al final de la ficha técnica el glosario de símbolos.

**USO PREVISTO**

Los frascos de cultivo BacT/ALERT® FA se utilizan con el sistema de detección microbiana BacT/ALERT®, en procedimientos cualitativos para la recuperación y detección mejoradas de microorganismos aerobios y anaerobios facultativos (bacterias y hongos), en la sangre y en otros líquidos corporales normalmente estériles.

**RESUMEN Y EXPLICACIÓN**

El sistema de detección microbiana BacT/ALERT se utiliza para determinar si hay microorganismos en la sangre o en otros líquidos corporales normalmente estériles, obtenidos de un paciente que se sospecha que presenta una bacteriemia o fungemia. El sistema y los frascos de cultivo BacT/ALERT proporcionan un sistema de detección microbiana y un medio de cultivo con condiciones nutricionales y ambientales, adecuadas para microorganismos presentes habitualmente en las infecciones de la sangre y de otros líquidos corporales normalmente estériles. Se coloca el frasco inoculado en el instrumento, donde es incubado y controlado continuamente para detectar la posible presencia de microorganismos que crecerán en los frascos BacT/ALERT FA.

**PRINCIPIO DE LA PRUEBA**

El sistema de detección microbiana BacT/ALERT utiliza un sensor colorimétrico y la luz reflejada para controlar la presencia y la producción de dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>), disuelto en el medio de cultivo. Si hay microorganismos en la muestra de la prueba, se producirá CO<sub>2</sub> a medida que éstos metabolizan los sustratos presentes en el medio de cultivo. Cuando el crecimiento de los microorganismos produce CO<sub>2</sub>, el color del sensor permeable al gas instalado en el fondo de cada frasco de cultivo cambia de color azul-verdoso a amarillo<sup>1</sup>. Este color más claro provoca un aumento de las unidades de reflectancia controladas por el sistema. El instrumento monitoriza y registra la reflectancia del frasco cada 10 minutos.

**REACTIVOS**

Solo para uso en diagnóstico *in vitro*.

**PRECAUCIÓN:** Manipule las muestras y los frascos de cultivo inoculados como si fueran capaces de transmitir agentes infecciosos. Todos los frascos de cultivo inoculados, las agujas para toma de muestras y los dispositivos de extracción de sangre deben ser descontaminados de acuerdo con los procedimientos del centro<sup>2</sup>.

**BacT/ALERT® FA** (color verde claro) – Los frascos de cultivo desechables BacT/ALERT FA contienen 22 ml de medio complejo y 8 ml de una suspensión de carbón con una densidad media de 1,0155 g/ml. El componente del medio está compuesto de digerido caseínico de soja

(2,0% p/v), sólidos de infusión de cerebro-corazón (0,1% p/v), polianetol sulfonato de sodio (SPS) (0,05% p/v), clorhidrato de piridoxina (0,001% p/v), menadiona (0,0000725% p/v), hemina (0,000725% p/v), L-cisteína (0,03% p/v), y otros sustratos de carbohidratos y aminoácidos complejos en agua purificada. Los frascos contienen una atmósfera de CO<sub>2</sub> en oxígeno, bajo vacío. Es posible ajustar la composición del medio para que cumpla requisitos de prestaciones específicas.

**PRECAUCIÓN:** Los frascos de cultivo BacT/ALERT contienen policarbonato. No todos los desinfectantes están indicados para usarse con superficies de policarbonato, y pueden causar el deterioro del frasco. Compruebe la compatibilidad del desinfectante con el policarbonato antes de usarlo en las superficies de los frascos de cultivo BacT/ALERT.

**PRECAUCIÓN:** Es posible que determinados microorganismos exigentes raros no crezcan o crezcan lentamente en el medio de crecimiento del frasco de cultivo BacT/ALERT FA. Si se sospecha la presencia de organismos exigentes raros que requieren medios y condiciones de cultivo especiales, debe considerarse la posibilidad de utilizar métodos alternativos o tiempos de incubación ampliados para su recuperación.

**PRECAUCIÓN:** Los frascos de cultivo BacT/ALERT FA utilizados para cultivar muestras distintas a sangre (líquidos corporales normalmente estériles) pueden requerir la adición de sangre u otros suplementos, como sangre equina desfibrinada estéril (5% v/v), para favorecer el crecimiento, especialmente para la recuperación de organismos exigentes tales como *Haemophilus influenzae*, *Streptococcus pneumoniae* y *Neisseria gonorrhoeae*.<sup>3</sup>

**PRECAUCIÓN:** En raras ocasiones pueden encontrarse microorganismos que crezcan en los medios de crecimiento de los frascos de cultivo BacT/ALERT FA, pero sin que produzcan suficiente CO<sub>2</sub> para dar un resultado positivo. Un factor que puede dar lugar a esta situación es la presencia de antibióticos activos en una muestra.

**Materiales adicionales requeridos**

Sistemas de detección microbiana BacT/ALERT®  
Sistema para la extracción de sangre  
Agujas estériles de toracocentesis/unidades para subcultivo

Guantes desechables

Recipientes apropiados para desechos de riesgo biológico de materiales potencialmente contaminados con agentes infecciosos

**Materiales disponibles en bioMérieux**

Capuchón protector para recogida de sangre  
BacT/ALERT®

Sistemas de detección microbiana BacT/ALERT®  
Agujas estériles de toracocentesis/unidades para subcultivo

### Instrucciones de conservación

Los frascos de cultivo BacT/ALERT FA se presentan listos al empleo. Conserve a temperatura ambiente (15-30 °C) protegidos de la luz directa del sol. En la etiqueta de cada frasco viene impresa la fecha de caducidad. No utilice los frascos de cultivo después de la fecha de caducidad indicada. La exposición de los frascos a una temperatura menor de 15 °C puede causar la formación de precipitados, que desaparecerán cuando se calienten los frascos a temperatura ambiente. Los frascos deben estar a temperatura ambiente antes de su uso.

### Indicadores físicos o químicos de inestabilidad

Antes de su uso, deben examinarse los frascos de cultivo BacT/ALERT FA en busca de signos de daños o deterioro (cambio de coloración). Los frascos que muestren signos de daños, fuga o deterioro deben desecharse. El medio en los frascos sin utilizar debe estar transparente, aunque podría haber una leve opalescencia o rastros de precipitado debido a la evidencia de SPS anticoagulante. No confunda la opalescencia con turbidez. No utilice frascos en los que el medio de cultivo esté turbio, el sensor esté de color amarillo o la presión de gas sea excesiva, ya que todos ellos son signos de posible contaminación.

### INSTRUMENTOS

Consulte el manual del usuario del sistema de detección microbiana BacT/ALERT correspondiente antes de utilizarlo.

### RECOGIDA Y PREPARACIÓN DE MUESTRAS

**NOTA:** Los frascos de cultivo BacT/ALERT FA deben ser utilizados por personal de laboratorio con la experiencia adecuada. Al obtener muestras de sangre para cultivo es muy importante recoger la muestra de manera correcta. Consulte en Cumitech 1C<sup>5</sup> el procedimiento correcto para la recogida de muestras.

**NOTA:** Debe procurarse evitar la contaminación durante la preparación del frasco y la inoculación de la muestra del paciente. Es esencial desinfectar adecuadamente la piel para reducir la incidencia de contaminación.

**NOTA:** Aunque bioMérieux no lo recomienda, puede extraerse la sangre directamente en tubos de recogida que contengan SPS. Nunca deben usarse para hemocultivo tubos que contengan otros anticoagulantes.<sup>4</sup>

**NOTA:** bioMérieux recomienda colocar los frascos de cultivo inoculados en el sistema de detección microbiana BacT/ALERT lo antes posible después de su recogida. Los frascos de cultivo inoculados cuya introducción se difiera deben mantenerse a temperatura ambiente hasta que puedan colocarse en el instrumento.

### Preparación de los frascos

1. Etiquete el frasco de cultivo con la información del paciente. Los iconos en la etiqueta del frasco (⊕, #, ⊖) pueden ser definidos por el usuario.
2. Retire la tapa plástica abatible del frasco de cultivo. Antes de la inoculación, desinfecte el frasco de cultivo con una gasa impregnada en alcohol o su equivalente. Deje secar al aire.
3. Limpie el lugar seleccionado de la venipunción según las recomendaciones del procedimiento aprobado de su centro.

### Procedimiento de inoculación directa

**NOTA:** Si se inocula más de un tipo de frasco de hemocultivo BacT/ALERT utilizando un equipo de mariposa para recogida de sangre y un capuchón protector de extracción directa, inocule primero el frasco de cultivo para aerobios y después el frasco de cultivo para anaerobios para que el oxígeno que pueda haber atrapado en el tubo del adaptador no sea transferido al frasco para anaerobios.

**NOTA:** Monitorice el proceso de extracción directa detenidamente en todo momento durante la recogida para asegurarse de obtener un flujo apropiado y para evitar que el contenido del frasco fluya al interior del tubo del adaptador. Debido a la presencia de aditivos químicos en el frasco de cultivo, es importante seguir todos los pasos que aparecen a continuación para evitar un posible retroceso y las reacciones adversas subsiguientes.

- a. Sujete el frasco de cultivo en una posición por debajo del brazo del paciente, con el frasco en posición vertical (el tapón hacia arriba).
- b. Recoja la sangre utilizando un equipo de mariposa para recogida de sangre y el capuchón protector para recogida de sangre BacT/ALERT según lo recomienda el procedimiento aprobado por su institución e inocule directamente en el frasco de cultivo BacT/ALERT MB a la cabecera del paciente. Aunque pueden utilizarse volúmenes de muestra menores, la recuperación puede mejorarse utilizando un volumen de muestra próximo al valor recomendado de 10 ml. Para evitar una inoculación excesiva, vigile el volumen de sangre que entra en el frasco de cultivo utilizando las marcas incrementales de 5ml de la etiqueta del frasco.
- c. Suelte el depresor apenas comienza a fluir la sangre en el frasco de cultivo, o dentro de los 2 minutos de aplicación.
- d. No permita que el contenido del frasco de cultivo toque el tapón ni el extremo de la aguja durante el procedimiento de recogida.

Un frasco de cultivo contaminado podría contener presión positiva, y si se utiliza para extracción directa, puede causar un reflujo al interior de la vena del paciente. La contaminación del frasco de cultivo tal vez no sea fácil de observar. Monitorice detenidamente el proceso de extracción directa para evitar el reflujo. No utilice frascos en los que el medio de cultivo esté turbio, el sensor esté de color amarillo o la presión de gas sea excesiva, ya que todos ellos son signos de posible contaminación.

### Procedimiento de inoculación por extracción de la jeringa

**NOTA:** Si se inocula más de un tipo de frasco de hemocultivo BacT/ALERT mediante extracción en una jeringa, inocule primero el frasco de cultivo para anaerobios y después el frasco de cultivo para aerobios para que el oxígeno que pueda haber atrapado en la jeringa no sea transferido al frasco para anaerobios. Deben utilizarse las marcas de la etiqueta del frasco para calcular el volumen de la muestra.

- a. Realice la venipunción y la transferencia de sangre al frasco de cultivo BacT/ALERT de acuerdo con los procedimientos establecidos del centro.

**PRECAUCIÓN:** Para evitar salpicaduras de la muestra, nunca fuerce el émbolo de la jeringa hacia abajo durante la inoculación. Quite la jeringa cuando se alcance la cantidad de llenado, ya que el vacío extraerá por sí solo una cantidad superior al máximo recomendado. Perfore el tapón del frasco verticalmente, para evitar la pérdida de vacío; no inocule un frasco que no esté al vacío.

4. Transfiera rápidamente el frasco de cultivo inoculado al laboratorio de análisis.

#### PROCEDIMIENTO DE ANÁLISIS DE LOS FRASCOS DE CULTIVO BacT/ALERT FA

##### Precauciones y comentarios preliminares

1. Utilice guantes desechables y manipule los frascos inoculados con precaución como si fueran capaces de transmitir agentes infecciosos. Consulte inmediatamente a un médico en caso de ingestión de materiales contaminados o si éstos entrasen en contacto con laceraciones abiertas, lesiones u otras heridas cutáneas.
2. Limpie inmediatamente cualquier salpicadura de material contaminado utilizando una dilución 1:10 de hipoclorito sódico al 5%. Deseche los materiales de limpieza utilizando un método aceptable.
3. Todos los frascos de cultivo inoculados, las agujas para toma de muestras y los dispositivos de extracción de sangre deben ser descontaminados de acuerdo con los procedimientos del centro.<sup>2</sup>
4. Estos frascos deben ser utilizados por personal de laboratorio con la formación adecuada.

##### Notas relativas al procedimiento y precauciones

1. Debe tenerse mucho cuidado de evitar la contaminación de la muestra del paciente durante la venopunción y la inoculación en el frasco de cultivo, ya que la contaminación podría provocar resultados positivos en muestras que en realidad no contienen cepas clínicamente relevantes.
2. Obtenga las muestras de sangre antes de iniciar el tratamiento con antibióticos. Si esto no es posible, extraiga la sangre justo antes de administrar la siguiente dosis de antibiótico.
3. Si los frascos de cultivo inoculados han sufrido algún retraso en su llegada al laboratorio o han sido incubados antes de su introducción en el instrumento BacT/ALERT, deben inspeccionarse visualmente en busca de signos de crecimiento microbiano. Si es evidente el crecimiento microbiano, trate los frascos como positivos y absténgase de introducirlos en el sistema de detección microbiana BacT/ALERT para su control.

##### Procedimiento de laboratorio

**PRECAUCIÓN:** Deben tomarse precauciones generales al subcultivar los frascos de cultivo positivos, ya que podrían haberse llenado excesivamente o contener organismos productores de cantidades grandes de gas. El contenido de los frascos de cultivo positivos podría encontrarse a una presión interna mayor. Es preciso ventilar momentáneamente los frascos de cultivo positivos antes de taponarlos o desecharlos a fin de liberar el gas que pueda haberse generado durante el metabolismo microbiano.

1. Inspeccione visualmente los frascos antes del análisis. No utilice frascos que presenten signos de daños, fuga o deterioro. Los frascos que presenten hemólisis, turbidez, presión excesiva de gas, sensores amarillos o signos de crecimiento deben considerarse positivos. Realice un frotis y subcultivos. No incube los frascos a menos que el frotis sea negativo.
2. bioMérieux recomienda enérgicamente escanear todos los frascos antes de cargarlos en el instrumento BacT/ALERT. Escanear el código de barras del frasco garantiza el uso del algoritmo correcto para cada frasco.
3. Una vez cargados, los frascos de cultivo deben incubarse en el instrumento entre cinco y siete días o hasta que se los designe como positivos.
4. Realice un frotis y subcultivos de todos los frascos positivos. Si el frotis es negativo, podría indicar un resultado falsamente positivo, y debe volver a colocarse el frasco en el instrumento hasta que sea redesignado como positivo o hasta que se detecte crecimiento del subcultivo. Los frascos que inicialmente produjeron resultados falsamente positivos y que sean redesignados como positivos deben someterse a frotis y subcultivos.
5. Los frascos negativos se pueden comprobar mediante un frotis y/o subcultivo antes de desecharlos como negativos.
6. En el manual del usuario se especifican los procedimientos para cargar y extraer los frascos de cultivo en el instrumento BacT/ALERT.
7. **No reutilice los frascos de cultivo BacT/ALERT.** Deseche los frascos de cultivo BacT/ALERT inoculados conforme al protocolo del laboratorio. Los frascos BacT/ALERT inoculados pueden procesarse en autoclave o incinerarse.<sup>2</sup>
8. La utilización de dispositivos perforadores (es decir, agujas con punta roma) para perforar el septo puede resultar en fugas del frasco.

#### CONTROL DE CALIDAD

Con cada lote de frascos de cultivo se proporciona un certificado de conformidad. Si se desea, cada laboratorio puede realizar análisis de control de calidad de los frascos de cultivo BacT/ALERT FA. Consulte el manual del usuario de BacT/ALERT y el documento M22-A3 de CLSI@.<sup>6</sup>

#### Instrumento

Con cada instrumento se proporciona un kit de estándares de reflectancia BacT/ALERT para los procedimientos de calibración y control de calidad. Todos los controles de calidad deben formar parte del mantenimiento normal del sistema. Consulte el manual de usuario de BacT/ALERT para obtener más información.

#### RESULTADOS

El software de toma de decisiones instalado en los sistemas de detección microbiana BacT/ALERT clasifica los frascos de cultivo como positivos o negativos. No se requiere tomar ninguna medida hasta que el instrumento BacT/ALERT señale un frasco de cultivo como positivo o negativo.

**LIMITACIONES DE LA PRUEBA**

Existen muchas variables implicadas en el análisis de hemocultivos que no pueden controlarse en la práctica para proporcionar una confianza total de que los resultados obtenidos se deban exclusivamente a un rendimiento apropiado o inapropiado de un sistema de detección o de un medio de cultivo concretos.

1. Se recomienda un volumen de muestra de 10 ml. Los volúmenes mayores de 10 ml no mantienen la relación óptima sangre:medio de cultivo.
2. Las muestras de paciente que BacT/ALERT señale como positivas pueden contener microorganismos que produzcan resultados positivos mediante frotis pero que no crezcan en los medios de subcultivo sistemáticos. Si se sospecha esta situación, deben subcultivarse las muestras en medios de cultivo especiales. Además, las muestras clasificadas como positivas por BacT/ALERT pueden contener microorganismos que no se detecten con los métodos habituales de frotis y puede que requieran tanto métodos de frotis como medios de subcultivo especializados para su detección y recuperación.
3. La presencia de carbón activado aparece como un precipitado negro en el frotis, lo que inicialmente podría ser difícil de interpretar. La facilidad de interpretación mejora con la experiencia.
4. Determinadas cepas de *Haemophilus influenzae*, *Neisseria meningitidis*, *Neisseria gonorrhoeae* y *Peptostreptococcus anaerobius* pueden ser sensibles al anticoagulante SPS, lo cual puede causar la ausencia de crecimiento o una baja producción de CO<sub>2</sub> por estas cepas si se inocula una cantidad insuficiente de muestra de sangre en los frascos de cultivo.
5. En raras ocasiones, si existe un número muy alto de leucocitos en la muestra el instrumento BacT/ALERT puede señalar un frasco de cultivo como positivo. En este caso, los resultados del frotis y del subcultivo pueden ser negativos.
6. Los microorganismos a menudo están presentes en un número escaso y pueden aparecer intermitentemente en el torrente sanguíneo; por consiguiente, deben extraerse muestras de sangre consecutivas de cada paciente.
7. Extraiga sin demora los frascos de cultivo positivos cuando así sean clasificados por el instrumento BacT/ALERT para evitar la posibilidad de cultivos no viables debido a autólisis u otras razones. Ciertas cepas de *Streptococcus pneumoniae* pueden ser especialmente propensas a la autólisis si no se las extrae poco tiempo después de que hayan sido señaladas como positivas.
8. En ocasiones, un frotis teñido con Gram de un frasco negativo puede contener un pequeño número de microorganismos no viables que proceden de componentes del medio de cultivo, reactivos de tinción, aceite de inmersión o portaobjetos; por consiguiente, se trata de resultados falsamente positivos.
9. Los frascos que se cargan de forma anónima se analizan con un algoritmo predeterminado. En algunos casos, según el tipo de frasco, dicho algoritmo predeterminado no es el correcto para ese frasco concreto. El uso de un algoritmo incorrecto podría dar lugar a un resultado falso positivo. Por consiguiente, es importante escanear todos los frascos con el código de barras correcto.

**CARACTERÍSTICAS DE LAS PRESTACIONES DE LA PRUEBA**

Se realizaron estudios internos de siembra utilizando los siguientes microorganismos a niveles  $\leq 10$  UFC/frasco y  $\leq 100$  UFC/frasco en sangre humana de una población adulta sana.

Microorganismo	Inóculo (UFC/frasco)	Tiempo de detección (horas) <sup>a</sup> BacT/ALERT FA (Plástico)
<b>Grampositivos</b>		
( <i>M. luteus</i> , <i>S. aureus</i> , <i>S. epidermidis</i> , <i>S. agalactiae</i> , <i>E. faecalis</i> , <i>S. pneumoniae</i> , <i>S. pyogenes</i> , <i>streptococcus</i> del grupo C, <i>L. monocytogenes</i> , <i>S. sanguis</i> )	$\leq 100$	13,3–35,1
	$\leq 10$	14,4–61,2
<b>Gramnegativos</b>		
( <i>E. coli</i> , <i>H. influenzae</i> , <i>N. meningitidis</i> , <i>P. aeruginosa</i> , <i>S. maltophilia</i> , <i>S. marcescens</i> , <i>A. baumannii</i> , <i>E. cloacae</i> , <i>A. faecalis</i> , <i>K. pneumoniae</i> )	$\leq 100$	10,8–35,2
	$\leq 10$	12,0–43,9
<b>Levaduras</b>		
( <i>C. albicans</i> , <i>T. glabrata</i> , <i>C. tropicalis</i> )	$\leq 100$	17,3–74,4
	$\leq 10$	20,9–82,8

<sup>a</sup> Se analizó cada microorganismo por triplicado y se obtuvieron las medias. Los valores mostrados son un intervalo de estas medias.

**NOTA:** Puede solicitarse a bioMérieux una lista de organismos raros y exigentes recuperados con los frascos de cultivo BacT/ALERT.<sup>7</sup>

**BIBLIOGRAFÍA**

1. Thorpe TC, Wilson ML, Turner JE, et al: BacT/ALERT: an Automated Colorimetric Microbial Detection System. *J Clin Micro* 1990;28(7),1608-1612.
2. Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories (BMBL) 5th Edition. U.S. Department of Health and Human Services Centers for Disease Control and Prevention and National Institutes of Health. Fifth Edition. US Government Printing Office. Washington: Feb 2007.
3. Koneman, E. et al., Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology, 6th ed. 2006, pgs. 446,590.
4. CLSI. *Principles and Procedures for Blood Cultures; Approved Guideline*. CLSI document M47-A. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2007.
5. Baron, E. J., M. P. Weinstein, W. M. Dunne, Jr., P. Yagupsky, D. F. Welch, and D. M. Wilson. 2005. Cumitech 1C, Blood Cultures IV. Coordinating ed. E. J. Baron. ASM Press, Washington, D. C.
6. CLSI/NCCLS. *Quality Control for Commercially Prepared Microbiological Culture Media; Approved Standard—Third Edition*. CLSI/NCCLS document M22-A3. Wayne, PA: NCCLS; 2004.
7. Rare Organism Club, bioMérieux, Inc.








**DISPONIBILIDAD****bioMérieux****BacT/ALERT® FA**

100/caja

**REF** 259791

Para obtener asistencia técnica en EE. UU., póngase en contacto con el Servicio técnico de bioMérieux llamando al 1-800-682-2666. Fuera de EE. UU., póngase en contacto con el representante local de bioMérieux.

**ÍNDICE DE SÍMBOLOS**

Símbolo	Significado
<b>REF</b>	Número de catálogo
	Fabricante
	Límite de temperatura
	Fecha de caducidad
<b>LOT</b>	Código de lote
	Consultar las instrucciones de uso
	Contenido suficiente para <n> pruebas
<b>ECREP</b>	Representante autorizado en la Comunidad Europea
	No reutilizar
	Sin látex
<b>IVD</b>	Dispositivo sanitario para diagnóstico in vitro

La ficha técnica se suministra en la caja o puede descargarse desde [www.biomerieux.com/techlib](http://www.biomerieux.com/techlib).

bioMérieux, el logotipo azul y BacT/ALERT son marcas comerciales utilizadas, depositadas y/o registradas de bioMérieux, una de sus filiales o una de sus empresas.

CLSI es una marca comercial registrada de Clinical Laboratory and Standards Institute.

©BIOMÉRIEUX 2000, 2002, 2003, 2007, 2008, 2010, 2012



**bioMérieux, Inc.**  
100 Rodolphe Street  
Durham, North Carolina 27712 USA  
[www.biomerieux.com](http://www.biomerieux.com)



bioMérieux SA  
Chemin de l'Orme  
69280 Marcy-l'Etoile - France  
RCS LYON 673 620 399  
Tel. 33 (0)4 78 87 20 00  
Fax 33 (0)4 78 87 20 90

# *Anexo 3*

*Preparación De Soluciones Para El MALDI-TOF  
Biotyper*



Ayudando a las  
personas a vivir  
saludablemente

## PREPARACION DE SOLUCIONES PARA EL MALDI BIOTYPER

Introducción: El Bruker MALDI Biotyper utiliza diversas soluciones de ácidos orgánicos para los siguientes procedimientos:

- 1) Preparar el Estándar bacteriano (BTS) y HCCA (matrix)
- 2) Completar el proceso de extracción con ácido fórmico y
- 3) Para limpiar la placa de acero pulido.

Este documento ha sido creado para ayudar con la preparación de estas soluciones stock iniciales y no sustituye los insertos originales.

Por favor revise este documento hasta cuando se realicen los procesos anteriores de manera estandarizada. Los volúmenes preparados a continuación son solamente ejemplos y usted puede ajustar el volumen de la solución de trabajo según sea necesario.

Materiales:

1. Cabina de Bioseguridad Biológica
2. Etanol al 100% (HPLC / MS Grado)
3. Ácido fórmico al 100% (HPLC / MS Grado)
4. Acetonitrilo al 100%(HPLC / MS Grado)
5. Ácido trifluoroacético al 100%(HPLC / MS Grado)
6. Agua ultrapura (HPLC / MS Grado)
7. Guantes de seguridad química
8. Pipetas y puntas Eppendorf
9. Tubos Eppendorf de 1,5 ml
10. (4) Tubos de centrifuga de 50 mL de alta calidad de plástico (o botellas de vidrio)
11. (2) Botellas de plástico Squeeze (para etanol al 70% y agua)
12. Abrebotellas para destapar los productos químicos

**NOTA: El ácido trifluoroacético es muy corrosivo; el acetonitrilo es altamente inflamable**

### Preparación Solvente Orgánico

Debe prepararse en la cabina de bioseguridad y utilizar guantes de seguridad química y se utiliza para reconstituir el Standard Bacteriano (BTS) y HCCA (matrix); muy importante que este solvente sea preparado con mucho cuidado y con una medida exacta;!!!!

Almacenar a temperatura ambiente; DEBE mantenerse con la tapa bien asegurada ya que el disolvente orgánico como el acetonitrilo es altamente volátil y la evaporación afecta negativamente la concentración del solvente; siempre añadir agua Al tubo primero y luego añadir el Ácido trifluoroacético y el acetonitrilo.



Ayudando a las  
personas a vivir  
saludablemente

Para preparar una solución de 1 ml en un tubo Eppendorf de 1.5 ml:  
475 ul agua grado HPLC + 25 ul de ácido trifluoroacético (TFA) al 100% + 500 ul de Acetonitrilo (AN) al 100% = 1 ml Solvente orgánico

### **Solución de ácido fórmico de extracción**

El proceso de extracción de ácido fórmico se utiliza para romper las paredes celulares gruesas para que las proteínas puedan ser liberadas, proceso necesario para la generación de espectros. Por favor, consultar el procedimiento de "Extracción con Acido fórmico" para obtener información más detallada.

Cuatro diferentes soluciones /disolventes deben prepararse:

1) Ácido fórmico al 70%: preparar en cabina de seguridad y utilizar guantes de seguridad química, consultar las condiciones de almacenamiento del fabricante, agregar primero el agua al contenedor y a continuación, el ácido fórmico.

300 ul agua grado HPLC + 700 ul de ácido fórmico al 100% = 1 ml ácido fórmico al 70%

2) El acetonitrilo al 100%: preparar en cabina de seguridad y utilizar guantes de seguridad química, colocar aproximadamente 5 ml de acetonitrilo al 100% en un contenedor seguro, consultar las condiciones para su almacenamiento según el fabricante y mantener la tapa bien ajustada para evitar la evaporación, en ningún caso utilice el envase primario (botella original) para preparar las muestras.

3) Etanol al 100%: colocar aproximadamente 50 ml de etanol al 100% en un vial de plástico de alta calidad o botella de vidrio; almacenar a temperatura ambiente y en ningún caso utilizar el envase original para preparar las muestras.

4) Agua ultrapura Grado HPLC: Colocar aproximadamente 50 ml de agua grado HPLC en un vial de plástico de alta calidad o botella de vidrio, almacenar a temperatura ambiente, debe reemplazarse de inmediato si tiene apariencia turbia.

### **Limpieza placa de acero**

Una vez la placa de acero este completa, se necesita limpiarse con etanol al 70% y Ácido trifluoroacético 80%. Por favor, consulte la sección "Limpieza de la placa de acero pulido" para obtener información más detallada.

Para preparar 100 ml de la solución de etanol al 70%: Utilizar una botella de plástico y almacenar a temperatura ambiente.

30 ml agua filtrada/purificada + 70 ml de etanol al 100% = 100 ml de etanol al 70%





Ayudando a las  
personas a vivir  
saludablemente

Para preparar 1 ml de ácido trifluoroacético al 80%; preparar en cabina de seguridad biológica utilizando guantes de protección química y tubos Eppendorf de 1.5 ml.

Un volumen más grande puede ser preparado, sin embargo debe ser almacenado en una botella de vidrio de color marrón.

200 ul de agua filtrada/ purificada grado HPLC / MS + 800 ul de ácido trifluoroacético al 100%= 1 ml de TFA al 80%.

# Anexo 4

Guía De Referencia RAPIDA HCCA (Matrix)



## GUÍA DE REFERENCIA RÁPIDA HCCA (Matrix)

Nota: Este documento fue creado como una guía de ayuda rápida.

**Número del producto 255344: 10 tubos por caja; Aprox. 250 tests por tubo**

Al momento de recibir el producto almacenar a 0 °C o menos.

**Reconstitución y almacenamiento (para una placa Maldi Biotyper MSP 96 posiciones o una placa de acero pulido):**

1. Añadir 250 ul del solvente orgánico
2. Llevar a vortex por 1 minuto
3. Marque con la fecha de preparación
4. Una vez reconstituido, conservar en la oscuridad a temperatura ambiente hasta por tres semanas.
5. Llevar a vortex antes de cada uso, compruebe si hay formación de cristales en el fondo del tubo.
6. Si se forman cristales, añadir 30 ul de acetonitrilo y mezclar para disolverlos pero si permanecen preparar un nuevo tubo matrix.
7. Otra opción es colocar el HCCA por 2 minutos a 13000 rpm y usar el sobrenadante.

**Preparación de la muestra:**

1. Utilice un frotis directo de la muestra o el producto de la extracción con ácido fórmico para inocular una posición en la placa.
2. Dejar secar a temperatura ambiente
3. Agregar encima de la muestra 1ul de HCCA
4. Dejar secar a temperatura ambiente
5. Realizar las mediciones en el MALDI-TOF Biotyper.

Nota: .

Debe trabajarse rápidamente con este reactivo debido a la evaporación.

# *Anexo 5*

*Mapa de La Placa De Acero Para El MALDI-TOF MS.*



Name:

Target No.:

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A												
B												
C												
D												
E												
F												
G												
H												

Spectra Check:

MSP:

# *Anexo 6*

*Formato De Resultados*



# *Anexo 7*

*Test bacteriano estándar (BTS) guía de referencia rápida*





## TEST BACTERIANO STANDARD (BTS) GUÍA DE REFERENCIA RÁPIDA

Nota: Este documento fue creado como una guía de referencia rápida.

**Número de producto 255343: 5 tubos por caja; 40 tests por tubo**

Tan pronto se reciba el producto almacenar a  $-18^{\circ}\text{C}$  o menos.

### Reconstitución y almacenamiento:

1. Añadir 50  $\mu\text{L}$  de Solvente orgánico
2. Disolver suavemente pipeteando hacia arriba y hacia abajo 20 veces, evitando la formación de burbujas.
3. Dejar reposar a temperatura ambiente durante 5 minutos
4. Repetir el pipeteo, 20 veces.
5. Centrifugar por 2 minutos a 13000 rpm.
6. Alicuotar 5 $\mu\text{L}$  en tubos de microcentrifuga Eppendorf y almacenar a  $-18^{\circ}\text{C}$  por 5 a 6 meses; no volver a congelar una vez descongelado y marcar con la fecha de preparación y las iniciales del Bacteriólogo.

### Preparación de la muestra:

1. Colocar 1 $\mu\text{L}$  de BTS en las dos primeras posiciones de la placa Maldi Biotyper
2. Dejar secar a temperatura ambiente.
3. Inmediatamente, superponer 1 $\mu\text{L}$  de HCCA.
4. Dejar secar a temperature ambiente.
5. Realizar las mediciones en el MALDI Biotyper.



Ayudando a las  
personas a vivir  
saludablemente

**Notas:**

1. El vial debe usarse rapidamente cuando se destape, debido a la evaporación.!!!
2. SI LA CALIBRACIÓN esta fuera de rango, descongele una alicuota nueva y repita el proceso.
3. SI LA CALIBRACIÓN continua fuera de rango, reconstituya un nuevo BTS y repita el proceso.
4. SI LA CALIBRACIÓN continua fuera de rango, prepare un nuevo solvente orgánico y un BTS fresco.

# *Anexo 8*

*Librería MALDI-TOF MS*

## Librería MALDI-TOF MS

The accompanied setup "MaldiBiotyperDBRestore\_Standard.exe" restores the MALDI Biotyper database to the initial state containing the standard MSPs listed below.

Attention: This setup should be applied immediately after the default MALDI Biotyper server installation. The default set of 50 MSPs is replaced by the standard set. All other data in the database (projects, results, methods) are reset to the initial state after the first installation.

In order to update a running system, the appropriate update setups are required instead of this restore setup.

List of the 3995 standard MSPs contained in DE version 3.1.2:

Abiotrophia defectiva 42\_A241 MHM  
 Abiotrophia defectiva DSM 9849T DSM  
 Abiotrophia defectiva SR001 IBS  
 Acetobacter acetii B212 UFL  
 Acetobacter acetii B213 UFL  
 Acetobacter pasteurianus B208 UFL  
 Acetobacter pasteurianus B219 UFL  
 Acetobacter pasteurianus B220 UFL  
 Acetobacter pasteurianus B546 UFL  
 Acetobacter pasteurianus ssp pasteurianus B210 UFL  
 Acetobacter pasteurianus ssp pasteurianus B214 UFL  
 Achroplestia leidiawii FLR  
 Achromobacter denitrificans DSM 11850 DSM  
 Achromobacter denitrificans DSM 30026T DSM  
 Achromobacter denitrificans DSM 4612 DSM  
 Achromobacter insolitus LMG 6002T HAM  
 Achromobacter piechaudii DSM 10342T DSM  
 Achromobacter piechaudii DSM 11386 DSM  
 Achromobacter rufilandii DSM 653T DSM  
 Achromobacter sp DSM 30128 DSM  
 Achromobacter sp[3] AL908830\_BK14941 UKH  
 Achromobacter spanius 071\_W08 NFI  
 Achromobacter spanius LMG 5911T HAM  
 Achromobacter xylosoxidans 40 PIM  
 Achromobacter xylosoxidans MLL15202\_1 CHB  
 Achromobacter xylosoxidans ssp xylosoxidans DSM 11851 DSM  
 Achromobacter xylosoxidans ssp xylosoxidans DSM 2402T DSM  
 Achromobacter xylosoxidans ssp xylosoxidans DSM 6386 DSM  
 Acidaminococcus fermentans DSM 20731T DSM  
 Acidaminococcus intestinalis 07\_136 N5 IBS  
 Acidaminococcus intestinalis DSM 21505T DSM  
 Acidiphilium acidophilum B349 UFL  
 Acidovorax avenae ssp avenae DSM 7227T HAM  
 Acidovorax avenae ssp citrullii LMG 5376T HAM  
 Acidovorax deluvii DSM 12644T HAM  
 Acidovorax delafieldii DSM 64T HAM  
 Acidovorax facilis B530 UFL  
 Acidovorax facilis DSM 649T HAM  
 Acidovorax konjaci DSM 7481T HAM  
 Acidovorax temperans 3\_2 TUE  
 Acidovorax temperans DSM 7270T HAM  
 Acinetobacter baumannii 13101\_1 CHB  
 Acinetobacter baumannii B385 UFL  
 Acinetobacter baumannii CS 62\_1 BRB  
 Acinetobacter baumannii DSM 30007T HAM  
 Acinetobacter baumannii DSM 30008 DSM  
 Acinetobacter baumannii DSM 30011 DSM  
 Acinetobacter baumannii LMG 994 HAM  
 Acinetobacter baylyi DSM 14958 DSM  
 Acinetobacter baylyi DSM 14961T DSM  
 Acinetobacter baylyi DSM 14963 DSM  
 Acinetobacter bouvetii DSM 14964T DSM  
 Acinetobacter calcoaceticus 26 PIM  
 Acinetobacter calcoaceticus B388 UFL  
 Acinetobacter calcoaceticus CCM 4503 CCM  
 Acinetobacter calcoaceticus CCM 4665 CCM  
 Acinetobacter calcoaceticus DSM 1139 DSM  
 Acinetobacter calcoaceticus DSM 30006T HAM  
 Acinetobacter genomospecies\_11 DSM 590 DSM  
 Acinetobacter genomospecies\_3 Serovar 1 DSM 9337 DSM  
 Acinetobacter genomospecies\_3 Serovar 13 DSM 9312 DSM  
 Acinetobacter genomospecies\_3 Serovar 14 DSM 9313 DSM  
 Acinetobacter genomospecies\_3 Serovar 15 DSM 9314 DSM  
 Acinetobacter genomospecies\_3 Serovar 16 DSM 9341 DSM  
 Acinetobacter genomospecies\_3 Serovar 2 DSM 9306 DSM  
 Acinetobacter genomospecies\_3 Serovar 20 DSM 9317 DSM  
 Acinetobacter genomospecies\_3 Serovar 21 DSM 9342 DSM  
 Acinetobacter genomospecies\_3 Serovar 22 DSM 9318 DSM

Acinetobacter genomospecies\_3 Serovar 23 DSM 9319 DSM  
 Acinetobacter genomospecies\_3 Serovar 24 DSM 9320 DSM  
 Acinetobacter genomospecies\_3 Serovar 25 DSM 9343 DSM  
 Acinetobacter genomospecies\_3 Serovar 26 DSM 9321 DSM  
 Acinetobacter genomospecies\_3 Serovar 3 DSM 9307 DSM  
 Acinetobacter genomospecies\_3 Serovar 4 DSM 9338 DSM  
 Acinetobacter genomospecies\_3 Serovar 6 DSM 9340 DSM  
 Acinetobacter genomospecies\_3 Serovar 7 DSM 9308 DSM  
 Acinetobacter genomospecies\_3 Serovar 8 DSM 9309 DSM  
 Acinetobacter gerneri DSM 14967T HAM  
 Acinetobacter haemolyticus DSM 6962T DSM  
 Acinetobacter haemolyticus LMG 1033 HAM  
 Acinetobacter johnsonii 10036669\_102 USH  
 Acinetobacter johnsonii 2\_1 TUE  
 Acinetobacter johnsonii 31 PIM  
 Acinetobacter johnsonii DSM 6963T DSM  
 Acinetobacter johnsonii DSM 6963T HAM  
 Acinetobacter junii DSM 14968 HAM  
 Acinetobacter junii DSM 1532 DSM  
 Acinetobacter junii DSM 6964T HAM  
 Acinetobacter lwoffii 13 PIM  
 Acinetobacter lwoffii 2\_Ring240 MHM  
 Acinetobacter lwoffii 54 PIM  
 Acinetobacter lwoffii B101 UFL  
 Acinetobacter lwoffii B138 UFL  
 Acinetobacter lwoffii DSM 2403T DSM  
 Acinetobacter lwoffii LE\_101249\_05 ERL  
 Acinetobacter parvus DSM 16617T HAM  
 Acinetobacter radioresistens B381 UFL  
 Acinetobacter radioresistens DSM 6976T HAM  
 Acinetobacter radioresistens LMG 10614 HAM  
 Acinetobacter schindleri DSM 16038T DSM  
 Acinetobacter sp DSM 11042 DSM  
 Acinetobacter sp DSM 11652 DSM  
 Acinetobacter sp DSM 30009 DSM  
 Acinetobacter sp DSM 46612 DSM  
 Acinetobacter tanoaii DSM 14970T HAM  
 Acinetobacter tjernbergiae DSM 14966 DSM  
 Acinetobacter tjernbergiae DSM 14971T HAM  
 Acinetobacter towneri DSM 14962T HAM  
 Acinetobacter towneri DSM 14969 DSM  
 Acinetobacter ursingii DSM 16037T HAM  
 Actinobacillus delphiniicola DSM 11374T DSM  
 Actinobacillus equuli ssp equuli DSM 19655T DSM  
 Actinobacillus ligniteresii DSM 19770 DSM  
 Actinobacillus pleuropneumoniae 251 LAL  
 Actinobacillus pleuropneumoniae DSM 13472T DSM  
 Actinobacillus rossii DSM 17479T DSM  
 Actinobacillus suis DSM 19774 DSM  
 Actinobacillus ureae DSM 5568T DSM  
 Actinobaculum schaalii DSM 15541T DSM  
 Actinobaculum schaalii RV\_BAL\_03201\_C E LBN  
 Actinobaculum suis DSM 20639T DSM  
 Actinobaculum urinale DSM 15805T DSM  
 Actinocorallia libanotica B246 UFL  
 Actinomyces bovis DSM 43014T DSM  
 Actinomyces bowdenii DSM 15435T DSM  
 Actinomyces canis DSM 15536T DSM  
 Actinomyces cardiffensis DSM 15803T DSM  
 Actinomyces catuli DSM 15415T DSM  
 Actinomyces coleocanis DSM 15436T DSM  
 Actinomyces dentalis DSM 19115T DSM  
 Actinomyces denticolens DSM 20671T DSM  
 Actinomyces europaeus DSM 11076 DSM  
 Actinomyces europaeus DSM 11077 DSM  
 Actinomyces europaeus DSM 11078 DSM  
 Actinomyces funkei DSM 15537T DSM  
 Actinomyces gerencseriae DSM 6844T DSM  
 Actinomyces graevenitzii DSM 15540T DSM  
 Actinomyces hordeovulneris DSM 20732T DSM  
 Actinomyces hyovaginalis DSM 10695T DSM  
 Actinomyces israelii DSM 43011 DSM  
 Actinomyces israelii DSM 43320T DSM  
 Actinomyces israelii DSM 43325 DSM  
 Actinomyces marinum DSM 15363T DSM  
 Actinomyces meyeri DSM 20733T DSM  
 Actinomyces meyeri IBS\_MS\_5 IBS  
 Actinomyces naeslundii DSM 17233 DSM  
 Actinomyces naeslundii DSM 43013T DSM  
 Actinomyces nasicola DSM 19116T DSM  
 Actinomyces neuii 30\_90 IBS  
 Actinomyces neuii B17945\_03 IBS  
 Actinomyces neuii ssp anitratu 121 RLT  
 Actinomyces neuii ssp anitratu DSM 8577T DSM

Actinomyces neuii ssp neuii DSM 8376 DSM  
 Actinomyces odontolyticus 87 FIM  
 Actinomyces odontolyticus DSM 19120T DSM  
 Actinomyces odontolyticus DSM 43331 DSM  
 Actinomyces radicidentis DSM 15433T DSM  
 Actinomyces radingae DSM 9169T DSM  
 Actinomyces sp 64892 IBS  
 Actinomyces sp VA\_01434\_2\_00 ERL  
 Actinomyces suimastitidis DSM 15538T DSM  
 Actinomyces turicensis 23346\_1a HDI  
 Actinomyces turicensis DSM 9168T DSM  
 Actinomyces urogenitalis DSM 15434T DSM  
 Actinomyces vaccimaxillae DSM 15804T DSM  
 Actinomyces viscosus DSM 43327T DSM  
 Adlercreutzia equolifaciens DSM 19450T DSM  
 Aerococcus christenseni DSM 15819T DSM  
 Aerococcus sanguinicola 995100567 LBK  
 Aerococcus sanguinicola DSM 15633T DSM  
 Aerococcus sanguinicola UR\_01084b\_09 ERL  
 Aerococcus urinae 0424\_0481\_FEB IBS  
 Aerococcus urinae 3\_Typ528 MHH  
 Aerococcus urinae 81 PIM  
 Aerococcus urinae 992000245 LBK  
 Aerococcus urinae DSM 7446T DSM  
 Aerococcus urinae IBS\_MS\_14 IBS  
 Aerococcus urinahominis DSM 15634T DSM  
 Aerococcus viridans CCM 1911 CCM  
 Aerococcus viridans CCM 1914T CCM  
 Aerococcus viridans CCM 1915 CCM  
 Aerococcus viridans CCM 2439 CCM  
 Aerococcus viridans DSM 20311 DSM  
 Aerococcus viridans DSM 20340T DSM  
 Aeromonas bestiarum CECT 4227T DSM  
 Aeromonas bestiarum DSM 13956T HAM  
 Aeromonas caviae 60 FIM  
 Aeromonas caviae CECT 838T DSM  
 Aeromonas caviae DSM 7323T HAM  
 Aeromonas encheleia CECT 4342T DSM  
 Aeromonas encheleia DSM 11577T HAM  
 Aeromonas enteropelogenes DSM 6394T DSM  
 Aeromonas enteropelogenes DSM 7312 DSM  
 Aeromonas enteropelogenes DSM 9381 DSM  
 Aeromonas eucrenophila CECT 4224T DSM  
 Aeromonas eucrenophila DSM 17534T HAM  
 Aeromonas hydrophila CECT 839T DSM  
 Aeromonas hydrophila ssp anaerogenes DSM 30188T HAM  
 Aeromonas hydrophila ssp hydrophila DSM 30187T DSM  
 Aeromonas hydrophila ssp ranae LMG 19707T HAM  
 Aeromonas ichthiosmia DSM 6393T HAM  
 Aeromonas jandaei CECT 4228T DSM  
 Aeromonas jandaei DSM 7311T HAM  
 Aeromonas media CECT 4232T DSM  
 Aeromonas media DSM 4881T HAM  
 Aeromonas media ST\_00655\_09 ERL  
 Aeromonas media ST\_02485\_08 ERL  
 Aeromonas molluscorum 848T DSM  
 Aeromonas molluscorum DSM 17090T HAM  
 Aeromonas popoffii LMG 17541T HAM  
 Aeromonas punctata ssp caviae LMG 3773 HAM  
 Aeromonas salmonicida ssp masoucida LMG 3782T HAM  
 Aeromonas salmonicida ssp peccinolytica DSM 12609T HAM  
 Aeromonas salmonicida ssp salmonicida CCM 1307 CCM  
 Aeromonas salmonicida ssp salmonicida CECT 894T DSM  
 Aeromonas salmonicida ssp salmonicida LMG 3780T HAM  
 Aeromonas schubertii CECT 4240T DSM  
 Aeromonas schubertii DSM 4882T HAM  
 Aeromonas simiae DSM 16559T HAM  
 Aeromonas sobria CECT 4245T DSM  
 Aeromonas sobria LMG 3783T HAM  
 Aeromonas sp[2] VA\_12051\_09 ERL  
 Aeromonas veronii 0807N090436 IBS  
 Aeromonas veronii CECT 4199T DSM  
 Aeromonas veronii CECT 4257T DSM  
 Aeromonas veronii CECT 5761T DSM  
 Aeromonas veronii DSM 11576T HAM  
 Aeromonas veronii DSM 17676 HAM  
 Aeromonas veronii DSM 7386T HAM  
 Aggregatibacter actinomycetemcomitans CCM 4688T CCM  
 Aggregatibacter actinomycetemcomitans CCM 6053 CCM  
 Aggregatibacter actinomycetemcomitans DSM 11122 DSM  
 Aggregatibacter actinomycetemcomitans DSM 11123 DSM  
 Aggregatibacter actinomycetemcomitans DSM 8324T DSM  
 Aggregatibacter aphrophilus 100409\_01 KCU  
 Aggregatibacter aphrophilus 100409\_02 KCU  
 Agrobacterium tumefaciens 8177 UFL  
 Agrobacterium tumefaciens 8178 UFL  
 Agrobacterium tumefaciens 8396 UFL  
 Agrobacterium tumefaciens DSM 30147T HAM  
 Agroccoccus jehensis DSM 9580T DSM  
 Agroccoccus jehensis DSM 9996 DSM  
 Agromyces brachium HKI 303 DSM 14596T HKI  
 Agromyces cerinus ssp cerinus HKI 11525\_DSM 8595T HKI  
 Agromyces cerinus ssp nitratius HKI 11532\_DSM 8596T HKI  
 Agromyces fucosus HKI 11529\_DSM 8597T HKI  
 Agromyces hippuratus HKI 11533\_DSM 8598T HKI  
 Agromyces humatus HKI 327 HKI  
 Agromyces italicus HKI 325\_DSM 16368T HKI  
 Agromyces lapidis HKI 324 HKI  
 Agromyces mediolanus DSM 20152T DSM  
 Agromyces mediolanus HKI 108\_DSM 20152T HKI  
 Agromyces mediolanus HKI 308 HKI  
 Agromyces neolithicus HKI 321 HKI  
 Agromyces rhizosphaerae HKI 302\_DSM 14597T HKI  
 Agromyces salentinus HKI 320\_DSM 16198T HKI  
 Agromyces subbeticus HKI 340\_DSM 16689T HKI  
 Alcaligenes faecalis DSM 13644 DSM  
 Alcaligenes faecalis ssp faecalis 052\_NF24 NFI  
 Alcaligenes faecalis ssp faecalis DSM 2576 DSM  
 Alcaligenes faecalis ssp faecalis DSM 30030T DSM  
 Alcaligenes faecalis ssp faecalis DSM 30030T HAM  
 Alcaligenes faecalis ssp faecalis DSM 30033 DSM  
 Alcaligenes faecalis ssp faecalis DSM 6174 DSM  
 Alcaligenes faecalis ssp parafaecalis DSM 13975T DSM  
 Alcaligenes faecalis ssp parafaecalis DSM 13975T HAM  
 Alcaligenes faecalis ssp phenolicus DSM 16503T DSM  
 Alcaligenes sp 091029\_c SLT  
 Allivibrio fischeri DSM 2168 DSM  
 Allivibrio fischeri DSM 507T DSM  
 Allivibrio fischeri DSM 7151 DSM  
 Alishewanella fecalis DSM 16032T HAM  
 Alistipes finagoldii DSM 17242T DSM  
 Alistipes onderdonkii 18 RLT  
 Alistipes onderdonkii DSM 19147T DSM  
 Alistipes shahii DSM 19121T DSM  
 Alkalibacillus haloalkaliphilus DSM 5271T DSM  
 Alloicoccus otitis DSM 7252T DSM  
 Alloscardovia omnicolens DSM 21503T DSM  
 Alternaria alternata RV07\_02 22 VML  
 Amycolatopsis kentuckyensis DSM 44652T DSM  
 Amycolatopsis Lexingtonensis DSM 44653T DSM  
 Amycolatopsis lurida DSM 43134T DSM  
 Amycolatopsis pretoriensis DSM 44654T DSM  
 Anaerococcus hydrogenalis DSM 7454T DSM  
 Anaerococcus lactolyticus DSM 7456T DSM  
 Anaerococcus murdochii DSM 21462T DSM  
 Anaerococcus octavius DSM 10024 DSM  
 Anaerococcus octavius DSM 11663T DSM  
 Anaerococcus prevotii DSM 20473 DSM  
 Anaerococcus prevotii DSM 20548T DSM  
 Anaerococcus sp 58 RLT  
 Anaerococcus sp HU40261 PNU  
 Anaerococcus sp HU42546\_1 PNU  
 Anaerococcus tetradium 123 RLT  
 Anaerococcus tetradium DSM 2951T DSM  
 Anaerococcus vaginalis DSM 7457T DSM  
 Aneurinibacillus aneurinolyticus DSM 5562T DSM  
 Aneurinibacillus mguianus DSM 2895T DSM  
 Aquincola tertiarycarbonis CIP PAH  
 Aquincola tertiarycarbonis L106 PAH  
 Aquincola tertiarycarbonis L107 PAH  
 Arcanobacterium bernardiae DSM 9151 DSM  
 Arcanobacterium bernardiae DSM 9152T DSM  
 Arcanobacterium bernardiae DSM 9153 DSM  
 Arcanobacterium bialowiezense DSM 17162T DSM  
 Arcanobacterium bonast DSM 17163T DSM  
 Arcanobacterium haemolyticum 117\_x\_8116\_68 IBS  
 Arcanobacterium haemolyticum 119\_x\_G10739\_70 IBS  
 Arcanobacterium haemolyticum DSM 20595T DSM  
 Arcanobacterium hippocoleae DSM 15339T DSM  
 Arcanobacterium phocae DSM 10002T DSM  
 Arcanobacterium phocae DSM 10003 DSM  
 Arcanobacterium phocae DSM 10004 DSM  
 Arcanobacterium pluranimalium DSM 13463T DSM  
 Arcanobacterium pyogenes DSM 20594 DSM  
 Arcanobacterium pyogenes DSM 20630T DSM  
 Arcobacter butzleri 347\_98 NVU  
 Arcobacter butzleri 460\_98 NVU  
 Arcobacter butzleri DSM 7301 DSM

Arcobacter butzleri DSM 8739T DSM  
 Arcobacter cibarius DSM 17680T DSM  
 Arcobacter cryaerophilus CCG 17801T MVU  
 Arcobacter cryaerophilus DSM 7289T DSM  
 Arcobacter cryaerophilus T277 CPE  
 Arcobacter cryaerophilus V441 CPE  
 Arcobacter halophilus DSM 18005T DSM  
 Arcobacter nitrofigilis DSM 7299T DSM  
 Arcobacter skirronii CCG 10374T MVU  
 Arcobacter skirronii DSM 7302T DSM  
 Aromatoleum alkani HME MPE  
 Aromatoleum anaerobicum LuFRes1 MPE  
 Aromatoleum aromaticum EBH MPE  
 Aromatoleum brementis PBNL MPE  
 Aromatoleum buckelii U120 MPE  
 Aromatoleum diolicum K2Lin MPE  
 Aromatoleum evansii K6740 MPE  
 Aromatoleum pretroleum T0H1 MPE  
 Aromatoleum terpenicum DCV1 MPE  
 Aromatoleum toluyliticum T04 MPE  
 Aromatoleum toluolicum T MPE  
 Aromatoleum toluovorans Td21 MPE  
 Arsenophonus nasoniae DSM 15247T HAM  
 Arthrobacter ardayensis DSM 17432T DSM  
 Arthrobacter arilaitensis DSM 16368T DSM  
 Arthrobacter aurescens DSM 20116T DSM  
 Arthrobacter aurescens HK1 11247 HKJ  
 Arthrobacter bergerei DSM 16367T DSM  
 Arthrobacter castelli DSM 16402T DSM  
 Arthrobacter chlorophenicus DSM 22629T DSM  
 Arthrobacter citreus DSM 20133T DSM  
 Arthrobacter citreus IMET 10680T HKJ  
 Arthrobacter creatinolyticus DSM 15881T DSM  
 Arthrobacter creatinolyticus DSM 15881T DSM  
 Arthrobacter creatinolyticus DSM 15881T DSM  
 Arthrobacter crystallopoietes DSM 20117T DSM  
 Arthrobacter cumminsi 106 PJK  
 Arthrobacter cumminsi 7252060 SLT  
 Arthrobacter cumminsi C2 MVO  
 Arthrobacter cumminsi DSM 104931 DSM  
 Arthrobacter cumminsi DSM 10494 DSM  
 Arthrobacter gandavensis DSM 15046T DSM  
 Arthrobacter gangotriensis DSM 15796T DSM  
 Arthrobacter globiformis DSM 20124T DSM  
 Arthrobacter histidinolovorans DSM 20115T DSM  
 Arthrobacter ilicis DSM 20138T DSM  
 Arthrobacter kergeleensis DSM 15797T DSM  
 Arthrobacter koreensis DSM 16760T DSM  
 Arthrobacter luteolus DSM 13067T DSM  
 Arthrobacter noronhaii DSM 16405T DSM  
 Arthrobacter tyrosens DSM 12795T DSM  
 Arthrobacter nassiphocae DSM 13955T DSM  
 Arthrobacter nicotianae IMET 10353T HKJ  
 Arthrobacter nicotinovorans DSM 420T DSM  
 Arthrobacter oxydans DSM 20119T DSM  
 Arthrobacter oxydans IMET 10684T HKJ  
 Arthrobacter parietis DSM 16404T DSM  
 Arthrobacter pascens DSM 20545T DSM  
 Arthrobacter pigmenti DSM 16403T DSM  
 Arthrobacter polychromogenes B253 UFL  
 Arthrobacter polychromogenes DSM 20136T DSM  
 Arthrobacter polychromogenes IMET 11071T HKJ  
 Arthrobacter protophormiae DSM 20168T DSM  
 Arthrobacter psychrolactophilus DSM 15612T DSM  
 Arthrobacter psychrophenicus DSM 15454T DSM  
 Arthrobacter pyridinolis B384 UFL  
 Arthrobacter ramosus IMET 10685T HKJ  
 Arthrobacter roseus DSM 14508T DSM  
 Arthrobacter ruscicus DSM 14555T DSM  
 Arthrobacter scleromae DSM 17756T DSM  
 Arthrobacter sp AP\_125\_09 ERL  
 Arthrobacter sp PL B386 UFL  
 Arthrobacter stactebriandii DSM 16005T DSM  
 Arthrobacter sulfonivorans DSM 14002T DSM  
 Arthrobacter sulfuricus B571 UFL  
 Arthrobacter sulfuricus DSM 20167T DSM  
 Arthrobacter tecti DSM 16407T DSM  
 Arthrobacter tumbae DSM 16406T DSM  
 Arthrobacter uratoxydans DSM 20547T DSM  
 Arthrobacter uratoxydans DSM 20646 DSM  
 Arthrobacter uratoxydans HKJ 11492 HKJ  
 Arthrobacter ureafaciens DSM 20126T DSM  
 Arthrobacter woluwensis DSM 10495T DSM  
 Arthroderma benhamiae 24 VML  
 Arxiozyma telluris group VML  
 Arthrobacter tumbae DSM 16406T DSM  
 Arthrobacter uratoxydans DSM 20647T DSM  
 Arthrobacter uratoxydans DSM 20646 DSM  
 Arthrobacter uratoxydans HKJ 11492 HKJ  
 Arthrobacter ureafaciens DSM 20126T DSM  
 Arthrobacter woluwensis DSM 10495T DSM  
 Arthroderma benhamiae 24 VML  
 Arxiozyma telluris group VML  
 Aspergillus brassiliensis ATCC 16404 K7444 HED  
 Aspergillus flavus 1081 PFM  
 Aspergillus flavus 128 Rv4 06 VML  
 Aspergillus fumigatus 1011 PFM  
 Aspergillus fumigatus 43\_2 VML  
 Aspergillus fumigatus 45\_2 VML  
 Aspergillus fumigatus 47\_6 VML  
 Aspergillus fumigatus 47\_6\_Rev VML  
 Aspergillus fumigatus w10 VML  
 Aspergillus niger 1065 PFM  
 Aspergillus niger 21 VML  
 Aspergillus niger ATCC 15475 K7443 HED  
 Aspergillus niger ATCC 6275 K7440 HED  
 Aspergillus niger ATCC 6275 v-EMP\_CH\_02 HED  
 Aspergillus niger Isolat R1 HED  
 Aspergillus terreus 1080 PFM  
 Aspergillus terreus 84 VML  
 Aspergillus versicolor RVO\_01 19 VML  
 Aspergillus thermomutatus[ana] (Neosartorya\_pseudofischeri[teleo])# RV\_04 VML  
 Atopobium minutum 12 RLT  
 Atopobium minutum DSM 20586T DSM  
 Atopobium parvulum DSM 20469T DSM  
 Atopobium rimae BE\_3025\_23 MLD  
 Atopobium vaginale VA\_14183\_00 15 UKE  
 Aureobasidium pullulans B125042\_b SLT  
 Aureobasidium pullulans MY\_RV5\_2005 ERL  
 Aureobasidium pullulans RV\_05 VML  
 Avibacterium avium DSM 18557T DSM  
 Avibacterium endocarditidis DSM 16224T DSM  
 Avibacterium gallinarum DSM 17481T DSM  
 Avibacterium volentium DSM 18578T DSM  
 Azoarcus communis Swab3 MPE  
 Azoarcus indigenus V632 MPE  
 Azoarcus sp BHT2 MPE  
 Azohydromonas lata DSM 1122T DSM  
 Bacillus acidicola DSM 14745T DSM  
 Bacillus agaradhaerens DSM 6721T DSM  
 Bacillus arthra CIP 109018T CIP  
 Bacillus alcalophilus B446 UFL  
 Bacillus alcalophilus DSM 485T DSM  
 Bacillus alpicola CIP 107850T CIP  
 Bacillus alveolusensis CIP 108764T CIP  
 Bacillus amylohydrafaciens CIP 103265T CIP  
 Bacillus aquimaris DSM 16205T DSM  
 Bacillus arsenicus 4\_2 TUB  
 Bacillus arsenicus DSM 15622T DSM  
 Bacillus asahii CIP 108638T CIP  
 Bacillus atrophaeus DSM 227T DSM  
 Bacillus atrophaeus DSM 5551 DSM  
 Bacillus atrophaeus DSM 675 DSM  
 Bacillus atrophaeus DSM 7264T DSM  
 Bacillus azotoformans DSM 1046T DSM  
 Bacillus badius DSM 23T DSM  
 Bacillus barbaricus DSM 14730T DSM  
 Bacillus bataviensis DSM 15601T DSM  
 Bacillus benzoovorans DSM 5991T DSM  
 Bacillus carboniphilus DSM 17613T DSM  
 Bacillus cellulositrophicus DSM 2522T DSM  
 Bacillus cereus 4080 LBN  
 Bacillus cereus 994000165 LBN  
 Bacillus cereus DSM 31T DSM  
 Bacillus chaganonensis CIP 109712T CIP  
 Bacillus ciferri DSM 16189T DSM  
 Bacillus circulans CS 220\_18 BRB  
 Bacillus circulans DSM 31T DSM  
 Bacillus clarkii DSM 6720T DSM  
 Bacillus clausii DSM 6716T DSM  
 Bacillus coagulans B521 UFL  
 Bacillus coagulans DSM 1T DSM  
 Bacillus cohnii DSM 6307T DSM  
 Bacillus decolorationis DSM 14890T DSM  
 Bacillus drentensis DSM 15600T DSM  
 Bacillus endophyticus DSM 13796T DSM  
 Bacillus farraginis DSM 16013T DSM  
 Bacillus fastidiosus DSM 91T DSM

*Bacillus anthracis* DSM 121 DSM  
*Bacillus flexus* DSM 1320T DSM  
*Bacillus fordii* DSM 16014T DSM  
*Bacillus fortis* DSM 16012T DSM  
*Bacillus funiculus* DSM 15441T DSM  
*Bacillus galactosidilyticus* DSM 15595T DSM  
*Bacillus gibsonii* CS 231\_11b BRB  
*Bacillus gibsonii* DSM 8722T DSM  
*Bacillus halmapalus* DSM 8723T DSM  
*Bacillus halocourans* DSM 497T DSM  
*Bacillus hemicellulosilyticus* DSM 16731T DSM  
*Bacillus horikoshii* DSM 8719T DSM  
*Bacillus horti* DSM 12751T DSM  
*Bacillus humi* DSM 16318T DSM  
*Bacillus hwasinpoensis* DSM 16206T DSM  
*Bacillus idriensis* CIP 109484T CIP  
*Bacillus indicus* DSM 15820T DSM  
*Bacillus infantis* CIP 109493T CIP  
*Bacillus insolitus* DSM 5T DSM  
*Bacillus jectiphilus* DSM 16226T DSM  
*Bacillus koreensis* DSM 16467T DSM  
*Bacillus kruwicheiae* DSM 16225T DSM  
*Bacillus lentus* DSM 9T DSM  
*Bacillus licheniformis* 992000432 LBK  
*Bacillus licheniformis* CS 54\_1 BRB  
*Bacillus licheniformis* DSM 13T DSM  
*Bacillus litoralis* DSM 16303T DSM  
*Bacillus luciferensis* DSM 18845T DSM  
*Bacillus macauensis* DSM 17262T DSM  
*Bacillus mannantilyticus* DSM 16130T DSM  
*Bacillus marisflavi* DSM 16204T DSM  
*Bacillus megaterium* DSM 32T DSM  
*Bacillus mojavenis* DSM 9205T DSM  
*Bacillus muralis* DSM 16288T DSM  
*Bacillus mycoides* DSM 2048T DSM  
*Bacillus nealsonii* DSM 15077T DSM  
*Bacillus niacinii* DSM 2923T DSM  
*Bacillus novalis* DSM 15603T DSM  
*Bacillus odyseeyi* DSM 18869T DSM  
*Bacillus okhensis* CIP 109247T CIP  
*Bacillus okuhidensis* DSM 13666T DSM  
*Bacillus oleronius* DSM 9356T DSM  
*Bacillus oshimensis* CIP 108751T CIP  
*Bacillus patagoniensis* DSM 16117T DSM  
*Bacillus pseudocaliphilus* DSM 8725T DSM  
*Bacillus pseudofirmus* CS 123\_1a1 BRB  
*Bacillus pseudofirmus* DSM 2516 DSM  
*Bacillus pseudofirmus* DSM 5715T DSM  
*Bacillus pseudofirmus* DSM 9718 DSM  
*Bacillus pseudofirmus* DSM 9746 DSM  
*Bacillus pseudomycoides* DSM 12442T DSM  
*Bacillus psychodurans* DSM 11713T DSM  
*Bacillus psychrosaccharolyticus* DSM 6T DSM  
*Bacillus psychrotolerans* DSM 11706T DSM  
*Bacillus pumilus* DSM 13835 DSM  
*Bacillus pumilus* DSM 1794 DSM  
*Bacillus pumilus* DSM 27T DSM  
*Bacillus pumilus* DSM 354 DSM  
*Bacillus pumilus* DSM 15603T DSM  
*Bacillus pumilus* IAK 12050 PAH  
*Bacillus pumilus* IAK 12469 PAH  
*Bacillus puris* DSM 17057T DSM  
*Bacillus safensis* CIP 109412 CIP  
*Bacillus salarius* DSM 16461T DSM  
*Bacillus schlegeleitii* CIP 106933T CIP  
*Bacillus seohaeensis* DSM 16464T DSM  
*Bacillus shackletonii* DSM 18868T DSM  
*Bacillus simplex* CS 206\_1a2 BRB  
*Bacillus simplex* DSM 1521T DSM  
*Bacillus siralis* DSM 13140T DSM  
*Bacillus smithii* CIP 103790T CIP  
*Bacillus smithii* DSM 4216T DSM  
*Bacillus soli* DSM 15604T DSM  
*Bacillus sonorensis* DSM 13779T DSM  
*Bacillus* sp LE\_101250b\_09 ERL  
*Bacillus sporothermodurans* DSM 10599T DSM  
*Bacillus subterraneus* DSM 13966T DSM  
*Bacillus subtilis* 107\_w\_7\_Q54 IBS  
*Bacillus subtilis* DSM 5552 DSM  
*Bacillus subtilis* DSM 5611 DSM  
*Bacillus subtilis* ssp *spizizenii* DSM 15029T DSM  
*Bacillus subtilis* ssp *subtilis* DSM 10T DSM  
*Bacillus subtilis* ssp *subtilis* DSM 5660 DSM  
*Bacillus thioparans* CIP 109765T CIP  
*Bacillus thuringiensis* DSM 2046T DSM  
*Bacillus* *veridunensis* DSM 119521 DSM  
*Bacillus vedderi* DSM 9766T DSM  
*Bacillus vietnamensis* DSM 18898T DSM  
*Bacillus vireti* DSM 15602T DSM  
*Bacillus wakoensis* DSM 2521T DSM  
*Bacillus weihenstephanensis* DSM 11621T DSM  
*Bacteroides caccae* 103 P2M  
*Bacteroides caccae* DSM 19024T DSM  
*Bacteroides coagulans* DSM 20705T DSM  
*Bacteroides eggertii* DSM 20697T DSM  
*Bacteroides finegoldii* DSM 17565T DSM  
*Bacteroides fragilis* CCM 4508 CCM  
*Bacteroides fragilis* CCM 4509 CCM  
*Bacteroides fragilis* DSM 2151T DSM  
*Bacteroides fragilis* DSM 9669 DSM  
*Bacteroides fragilis* HU26938\_2 PNU  
*Bacteroides fragilis* ME\_3068\_05 THL  
*Bacteroides fragilis* ME\_9009\_05 THL  
*Bacteroides fragilis* PNU EF\_6712 PNU  
*Bacteroides fragilis* PNU RL9811 PNU  
*Bacteroides gallinarum* DSM 18171T DSM  
*Bacteroides intestinalis* DSM 17393T DSM  
*Bacteroides intestinalis* sw20 PNU  
*Bacteroides intestinalis* DSM 17679T DSM  
*Bacteroides nordii* 49151\_2 PNU  
*Bacteroides nordii* DSM 18764T DSM  
*Bacteroides ovatus* 11483\_2 PNU  
*Bacteroides ovatus* 32456\_1 PNU  
*Bacteroides ovatus* 53152 PNU  
*Bacteroides ovatus* DSM 1896T DSM  
*Bacteroides ovatus* HU36896\_1 PNU  
*Bacteroides ovatus* IBS\_MS\_21 IBS  
*Bacteroides salyerstiae* DSM 18765T DSM  
*Bacteroides salyerstiae* IBS\_MS\_2T IBS  
*Bacteroides* sp[2] 995000355 LBK  
*Bacteroides stercoris* DSM 19555T DSM  
*Bacteroides suis* DSM 20612T DSM  
*Bacteroides tectus* DSM 19673T DSM  
*Bacteroides thetaotaomicron* 53154 PNU  
*Bacteroides thetaotaomicron* 71250\_2 PNU  
*Bacteroides thetaotaomicron* ATCC 29742 PNU  
*Bacteroides thetaotaomicron* CCM 4713 CCM  
*Bacteroides thetaotaomicron* CCM 6027 CCM  
*Bacteroides thetaotaomicron* CCM 6028 CCM  
*Bacteroides thetaotaomicron* DSM 2079T DSM  
*Bacteroides thetaotaomicron* DSM 2255 DSM  
*Bacteroides thetaotaomicron* HU68218\_5 PNU  
*Bacteroides uniformis* ATCC 8492T THL  
*Bacteroides uniformis* DSM 6597T DSM  
*Bacteroides uniformis* HU33120\_3\_13 PNU  
*Bacteroides ureolyticus* DSM 20703T DSM  
*Bacteroides ureolyticus* HU33416 PNU  
*Bacteroides vulgatus* DSM 1447T DSM  
*Bacteroides vulgatus* DSM 3289 DSM  
*Bacteroides vulgatus* HU40347\_2 PNU  
*Bacteroides vulgatus* PNU 1536\_5 PNU  
*Bacteroides vulgatus* PNU 71836 PNU  
*Balnearia alpica* CIP 102589T HAM  
*Beauveria bassiana* VML  
*Bergeyella zoohelium* LMG 8351T HAM  
*Bifidobacterium adolescentis* DSM 20082T DSM  
*Bifidobacterium adolescentis* DSM 20086 DSM  
*Bifidobacterium adolescentis* DSM 20087 DSM  
*Bifidobacterium angulatum* DSM 20098T DSM  
*Bifidobacterium angulatum* DSM 20225 DSM  
*Bifidobacterium animalis* DSM 20105 DSM  
*Bifidobacterium animalis* ssp *animalis* DSM 20104T DSM  
*Bifidobacterium animalis* ssp *lactis* DSM 10140 DSM  
*Bifidobacterium asteroides* DSM 20089T DSM  
*Bifidobacterium asteroides* DSM 20431 DSM  
*Bifidobacterium bifidum* 17\_283 IBS  
*Bifidobacterium bifidum* 46 P2M  
*Bifidobacterium bifidum* DSM 20082 DSM  
*Bifidobacterium bifidum* DSM 20215 DSM  
*Bifidobacterium bifidum* DSM 20229 DSM  
*Bifidobacterium bifidum* DSM 20456T DSM  
*Bifidobacterium bour* DSM 20432T DSM  
*Bifidobacterium breve* DSM 20091 DSM  
*Bifidobacterium breve* DSM 20213T DSM  
*Bifidobacterium catenulatum* DSM 16992T DSM  
*Bifidobacterium catenulatum* DSM 20224 DSM  
*Bifidobacterium choerium* DSM 20434T DSM  
*Bifidobacterium coryneforme* DSM 20216T DSM  
*Bifidobacterium dentium* DSM 20084 DSM

*Bifidobacterium dentium* DSM 20221 DSM  
*Bifidobacterium dentium* DSM 20436T DSM  
*Bifidobacterium gallinarum* DSM 20092T DSM  
*Bifidobacterium gallinarum* DSM 20670T DSM  
*Bifidobacterium longum* BIFID08 IBS  
*Bifidobacterium longum* ssp *infantis* DSM 20088T DSM  
*Bifidobacterium longum* ssp *longum* DSM 20090 DSM  
*Bifidobacterium longum* ssp *longum* DSM 20095T DSM  
*Bifidobacterium longum* ssp *longum* DSM 20218 DSM  
*Bifidobacterium longum* ssp *subt* DSM 20211T DSM  
*Bifidobacterium magnus* DSM 20220 DSM  
*Bifidobacterium magnus* DSM 20222T DSM  
*Bifidobacterium merycicum* DSM 6492T DSM  
*Bifidobacterium merycicum* DSM 6493 DSM  
*Bifidobacterium merycicum* DSM 6494 DSM  
*Bifidobacterium minimum* DSM 20102T DSM  
*Bifidobacterium pseudocatenulatum* DSM 20439 DSM  
*Bifidobacterium pseudolongum* ssp *pseudolongum* DSM 20094 DSM  
*Bifidobacterium pseudolongum* ssp *pseudolongum* DSM 20099T DSM  
*Bifidobacterium pullorum* DSM 20438T DSM  
*Bifidobacterium ruminantium* DSM 6489T DSM  
*Bifidobacterium ruminantium* DSM 6491 DSM  
*Bifidobacterium saeculare* DSM 6532 DSM  
*Bifidobacterium saeculare* DSM 6533 DSM  
*Bifidobacterium thermacidophilum* ssp *porcinum* DSM 17755T DSM  
*Bifidobacterium thermacidophilum* ssp *thermacidophilum* DSM 15837T DSM  
*Bifidobacterium thermophilum* DSM 20209 DSM  
*Bifidobacterium thermophilum* DSM 20210T DSM  
*Bifidobacterium thermophilum* DSM 20212 DSM  
*Bifidobacterium* sp C52 MVO  
*Blasomonas natatoria* DSM 3183T HAM  
*Blasomonas ursincola* DSM 9006T HAM  
*Blautia coccooides* 1031\_NCTC 11035T BOG  
*Bordetella avium* DSM 11332T DSM  
*Bordetella bronchiseptica* A220 FLR  
*Bordetella bronchiseptica* BORD\_760 UZE  
*Bordetella bronchiseptica* BORD\_781 UZE  
*Bordetella bronchiseptica* DIV\_3526 UZE  
*Bordetella bronchiseptica* DSM 10303 DSM  
*Bordetella bronchiseptica* DSM 13414T DSM  
*Bordetella bronchiseptica* INE\_047 UZE  
*Bordetella bronchiseptica* REF\_022 UZE  
*Bordetella bronchiseptica* REF\_023 UZE  
*Bordetella hinzii* DSM 11333T DSM  
*Bordetella hinzii* REF\_021 LMG\_14052 UZE  
*Bordetella hinzii* REF\_024 LMG\_15672 UZE  
*Bordetella hinzii* REF\_025 LMG\_1672 UZE  
*Bordetella holmesii* DSM 13416T DSM  
*Bordetella holmesii* REF\_026 LMG\_15946 UZE  
*Bordetella holmesii* REF\_027 LMG\_15945T UZE  
*Bordetella parapertussis* BORD\_565 UZE  
*Bordetella parapertussis* BORD\_611 UZE  
*Bordetella parapertussis* BORD\_676 UZE  
*Bordetella parapertussis* BORD\_699 UZE  
*Bordetella parapertussis* BORD\_722 UZE  
*Bordetella parapertussis* BORD\_724 UZE  
*Bordetella parapertussis* BORD\_750 UZE  
*Bordetella parapertussis* DSM 13415T DSM  
*Bordetella parapertussis* DSM 4922 DSM  
*Bordetella parapertussis* REF\_028 ATCC\_15237 UZE  
*Bordetella parapertussis* REF\_507 UZE  
*Bordetella pertussis* BORD\_246 UZE  
*Bordetella pertussis* BORD\_467 UZE  
*Bordetella pertussis* BORD\_631 UZE  
*Bordetella pertussis* BORD\_653 UZE  
*Bordetella pertussis* DSM 4923 DSM  
*Bordetella pertussis* DSM 4925 DSM  
*Bordetella pertussis* DSM 4926 DSM  
*Bordetella pertussis* DSM 4927 DSM  
*Bordetella pertussis* DSM 5571T DSM  
*Bordetella pertussis* REF\_029 ATCC\_9340 UZE  
*Bordetella petrii* 09\_0665 UZE  
*Bordetella petrii* DSM 12804T DSM  
*Bordetella petrii* REF\_504 UZE  
*Bordetella petrii* REF\_505 UZE  
*Bordetella* sp REF\_502 UZE  
*Bordetella trematum* DSM 11334T DSM  
*Bordetella trematum* REF\_197 LMG\_13506 UZE  
*Bordetella trematum* REF\_198 LMG\_14446 UZE  
*Borrelia burgdorferi* OE TWF  
*Borrelia garinii* AE TWF  
*Borrelia spielmanii* IE TWF  
*Brachybacterium faecium* IMET 11352T HKJ  
*Brachybacterium muris* 7 RL2

*Brachyspira murdochii* DSM 12563T DSM  
*Brenneria alni* DSM 11831T HAM  
*Brenneria nigrifluens* DSM 30175T HAM  
*Brenneria quercina* CFBP 3617T MMG  
*Brenneria quercina* DSM 4561T HAM  
*Brenneria rubrifaciens* CFBP 3619T MMG  
*Brenneria rubrifaciens* DSM 4483T HAM  
*Brenneria salicis* DSM 30166T HAM  
*Brevibacillus agri* DSM 6348T DSM  
*Brevibacillus borstelensis* 5.5 TUB  
*Brevibacillus borstelensis* DSM 6347T DSM  
*Brevibacillus brevis* B324 UFL  
*Brevibacillus brevis* DSM 30T DSM  
*Brevibacillus centrosporus* DSM 8445T DSM  
*Brevibacillus choshinensis* DSM 8552T DSM  
*Brevibacillus formosus* DSM 9885T DSM  
*Brevibacillus laterosporus* DSM 25T DSM  
*Brevibacillus laterosporus* DSM 876T DSM  
*Brevibacillus parabrevis* 090915\_03 LBK  
*Brevibacillus parabrevis* DSM 8376T DSM  
*Brevibacillus reuszeri* DSM 9887T DSM  
*Brevibacterium aurantiacum* DSM 20426T DSM  
*Brevibacterium casei* 0808402034001 IBS  
*Brevibacterium casei* 090915\_01 LBK  
*Brevibacterium casei* IMET 10997T HKJ  
*Brevibacterium celere* DSM 15453T DSM  
*Brevibacterium iodinum* DSM 20626T DSM  
*Brevibacterium iodinum* IMET 10995T HKJ  
*Brevibacterium linens* IMET 11075T HKJ  
*Brevibacterium marinum* DSM 18964T DSM  
*Brevibacterium paucivorans* 4 RL2  
*Brevibacterium paucivorans* DSM 13657T DSM  
*Brevibacterium picturae* DSM 16132T DSM  
*Brevibacterium ravenspurgense* 2 RL2  
*Brevibacterium ravenspurgense* 3 RL2  
*Brevibacterium ravenspurgense* DSM 21256T DSM  
*Brevibacterium sanguinis* 5 RL2  
*Brevibacterium sanguinis* DSM 15677T DSM  
*Brevundimonas aurantiaca* DSM 4731T HAM  
*Brevundimonas diminuta* 021\_W20 NFI  
*Brevundimonas diminuta* 900200R44 LBK  
*Brevundimonas diminuta* DSM 7224T HAM  
*Brevundimonas diminuta* DSM 4732T HAM  
*Brevundimonas intermedia* DSM 4732T HAM  
*Brevundimonas nasdae* DSM 14572T HAM  
*Brevundimonas* sp 097\_NF18 NFI  
*Brevundimonas subvibrioides* DSM 4735T HAM  
*Brevundimonas vesicularis* DSM 7226T HAM  
*Budricia aquatica* DSM 5075T HAM  
*Burkholderia ambifaria* DSM 16087T DSM  
*Burkholderia ambifaria* LMG 11351 HAM  
*Burkholderia andropogonis* DSM 9511T HAM  
*Burkholderia anthina* DSM 16086T DSM  
*Burkholderia anthina* LMG 16670 HAM  
*Burkholderia caledonica* LMG 19076T HAM  
*Burkholderia caribensis* DSM 13236T HAM  
*Burkholderia cenocepacia* LMG 12614 HAM  
*Burkholderia cepacia* ATCC 25416T THL  
*Burkholderia cepacia* DSM 11737 DSM  
*Burkholderia cepacia* DSM 50180 DSM  
*Burkholderia cepacia* DSM 50181 DSM  
*Burkholderia cepacia* DSM 7288T HAM  
*Burkholderia cepacia* DSM 9241 DSM  
*Burkholderia cepacia* LMG 2161 HAM  
*Burkholderia cepacia* MB\_7544\_05 THL  
*Burkholderia cepacia\_group* 18875\_1 CHE  
*Burkholderia cepacia\_group* 59 RL2  
*Burkholderia dolosa* DSM 16088T HAM  
*Burkholderia fungorum* LMG 20227T HAM  
*Burkholderia gladioli* DSM 4285T HAM  
*Burkholderia gladioli* Wv22575 CHE  
*Burkholderia gladioli* DSM 50014T HAM  
*Burkholderia glumae* DSM 9512T HAM  
*Burkholderia multivorans* DSM 13243T DSM  
*Burkholderia multivorans* LMG 14293 HAM  
*Burkholderia multivorans* VA40721a\_08 ERL  
*Burkholderia multivorans* VA40721b\_06 ERL  
*Burkholderia phenazinium* DSM 10684T HAM  
*Burkholderia phymatum* LMG 21445T HAM  
*Burkholderia plantarii* DSM 9509T HAM  
*Burkholderia pyrrocinia* DSM 10685T DSM  
*Burkholderia pyrrocinia* LMG 14191T HAM  
*Burkholderia sacchari* LMG 19450T HAM  
*Burkholderia stabilis* DSM 16586T DSM  
*Burkholderia stabilis* LMG 14294T HAM



Butyrificimonas virosa 144 RLT  
Campylobacter avium CCUG 56252T NVU  
Campylobacter canadensis CCUG 54429T NVU  
Campylobacter coli 10090\_03 NVU  
Campylobacter coli 11167\_03 NVU  
Campylobacter coli CCUG 11283T NVU  
Campylobacter coli ssp coli DSM 4689T FLI  
Campylobacter curvus BRUG 642 CPB  
Campylobacter curvus BRUG 646 CPB  
Campylobacter fetus ssp fetus CCUG 6823T NVU  
Campylobacter fetus ssp fetus DSM 5361T DSM  
Campylobacter fetus ssp fetus DSM 5361T FLI  
Campylobacter fetus ssp fetus RV412\_AI\_2010\_02 LBK  
Campylobacter fetus ssp venerealis CCUG 24260 NVU  
Campylobacter fetus ssp venerealis CCUG 538T NVU  
Campylobacter fetus ssp venerealis DSM 18626T DSM  
Campylobacter fetus ssp venerealis NCTC 10354 FLI  
Campylobacter gracilis CCUG 27720T NVU  
Campylobacter gracilis DSM 19528T DSM  
Campylobacter helveticus 370\_01 NVU  
Campylobacter helveticus 8174\_01 NVU  
Campylobacter helveticus bluc 7956\_06 NVU  
Campylobacter helveticus CCUG 30682T NVU  
Campylobacter hominis CCUG 45161T NVU  
Campylobacter hyointestinalis CCUG 14169T NVU  
Campylobacter hyointestinalis F223 CPB  
Campylobacter hyointestinalis ZC27 NVU  
Campylobacter jejuni ATCC 28426 THL  
Campylobacter jejuni Bkt 4391\_08 NVU  
Campylobacter jejuni ME\_4736\_05 THL  
Campylobacter jejuni ME\_6111\_05 THL  
Campylobacter jejuni ME\_7240\_05 THL  
Campylobacter jejuni ssp doylei A698 CPB  
Campylobacter jejuni ssp doylei BRUG 374 CPB  
Campylobacter jejuni ssp doylei C410 CPB  
Campylobacter jejuni ssp doylei CCUG 24567T NVU  
Campylobacter jejuni ssp doylei NCTC 11951\_L FLI  
Campylobacter jejuni ssp jejuni DSM 4688T DSM  
Campylobacter lanienae CCUG 44467T NVU  
Campylobacter lari 165\_98 NVU  
Campylobacter lari 227\_99 NVU  
Campylobacter lari Ch 193\_87 NVU  
Campylobacter lari ssp lari CCUG 23947T NVU  
Campylobacter lari ssp lari DSM 11373T DSM  
Campylobacter peloricus BRUG 251 CPB  
Campylobacter rectus DSM 3260T DSM  
Campylobacter showae CCUG 30254T NVU  
Campylobacter sputorum DSM 5364 FLI  
Campylobacter sputorum NCTC 11415 FLI  
Campylobacter sputorum ssp bubulis DSM 5363 FLI  
Campylobacter upsaliensis 412\_01 NVU  
Campylobacter upsaliensis 451\_01 NVU  
Campylobacter upsaliensis Bkt 7522\_06 NVU  
Campylobacter upsaliensis CCUG 14913T NVU  
Campylobacter upsaliensis DSM 5365T FLI  
Campylobacter ureolyticus 0807M22053902 bacil - ZBS  
Candida africana WML  
Candida albicans ATCC 10231 THL  
Candida albicans ATCC 10231 WML  
Candida albicans ATCC 90026 WML  
Candida albicans DSM 11943 DSM  
Candida albicans DSM 11945 DSM  
Candida albicans DSM 11949 DSM  
Candida albicans DSM 1577 DSM  
Candida albicans DSM 1665 DSM  
Candida albicans DSM 3454 DSM  
Candida albicans DSM 5817 DSM  
Candida albicans DSM 6569 DSM  
Candida albicans DSM 6659 DSM  
Candida albicans RV\_D WML  
Candida albicans VA\_1724E\_07\_04 UKE  
Candida allociferii WML  
Candida boidinii DSM 70024 DSM  
Candida boidinii DSM 70026T DSM  
Candida boidinii DSM 70033 DSM  
Candida boidinii DSM 70034 DSM  
Candida boidinii WML  
Candida catenulata 138 WML  
Candida catenulata 96 WML  
Candida catenulata DSM 70040 DSM  
Candida catenulata DSM 70136 DSM  
Candida cylindracea DSM 2031T DSM  
Candida dubliniensis 20 UKE

Candida dubliniensis RV\_2\_2006 WML  
Candida ernobii DSM 70858T DSM  
Candida freyschussii DSM 70647 DSM  
Candida friedrichii DSM 70050T DSM  
Candida glabrata 10025463\_101 USH  
Candida glabrata 31 PSE  
Candida glabrata ATCC 2001T THL  
Candida glabrata ATCC 90030 WML  
Candida glabrata DSM 11950 DSM  
Candida glabrata DSM 6425 DSM  
Candida glabrata DSM 70815 DSM  
Candida haemulonii DSM 70624T DSM  
Candida haemulonii WML  
Candida inconspicua DSM 70631 DSM  
Candida intermedia DSM 70753 DSM  
Candida lactiscondensii DSM 70635T DSM  
Candida magnoliae DSM 70638T DSM  
Candida magnoliae DSM 70639 DSM  
Candida maltosa DSM 15531 DSM  
Candida membranifaciens DSM 70109 DSM  
Candida mesenterica DSM 70015 DSM  
Candida mesenterica DSM 70759 DSM  
Candida metapsilosis P3120\_8\_37 HAC  
Candida metapsilosis P3121\_8\_37 HAC  
Candida multigenensis DSM 70862T DSM  
Candida nemodendra DSM 70647T DSM  
Candida nitratophila DSM 70649T DSM  
Candida nivariensis 10\_MYY\_1021 MHM  
Candida nivariensis RV490\_Feb06\_04 P56  
Candida norvegica DSM 70863 DSM  
Candida orthopsilosis P3116\_8\_37 HAC  
Candida orthopsilosis P3119\_8\_37 HAC  
Candida orthopsilosis WML  
Candida palmioleophila 69 PIM  
Candida parapsilosis 26 PSE  
Candida parapsilosis ATCC 22019 THL  
Candida parapsilosis ATCC 22019 WML  
Candida parapsilosis DSM 11224 DSM  
Candida parapsilosis DSM 4237 DSM  
Candida parapsilosis DSM 5784T DSM  
Candida parapsilosis DSM 70125 DSM  
Candida parapsilosis DSM 70126 DSM  
Candida parapsilosis P3124\_8\_37 HAC  
Candida parapsilosis P3125\_8\_37 HAC  
Candida parapsilosis WML  
Candida pararugosa 33 PIM  
Candida pararugosa MY\_00389\_09 ERL  
Candida pararugosa WML  
Candida pellicata DSM 70579T DSM  
Candida pini DSM 70653T DSM  
Candida rugosa 89 PSE  
Candida sake DSM 70763 DSM  
Candida solani DSM 3315 DSM  
Candida spandoverensis DSM 70866T DSM  
Candida succiphila DSM 2149T DSM  
Candida tropicalis ATCC 13638 THL  
Candida tropicalis DSM 1346 DSM  
Candida tropicalis DSM 4338 DSM  
Candida tropicalis DSM 5991 DSM  
Candida tropicalis DSM 70151 DSM  
Candida tropicalis DSM 7524 DSM  
Candida tropicalis DSM 9419 DSM  
Candida tropicalis RV\_03 WML  
Candida tropicalis WML  
Candida versatilis DSM 6956T DSM  
Candida vini DSM 70184 DSM  
Candida zeylanoides DSM 70185 DSM  
Candida zeylanoides WML  
Candida\_cacaoi[ana]# (Pichia\_farinosa[teleo])# DSM 2226T DSM  
Candida\_cacaoi[ana]# (Pichia\_farinosa[teleo]) WML  
Candida\_ciferrii[ana] (Stephanosascus\_ciferrii[teleo])# DSM 70749 DSM  
Candida\_ciferrii[ana] (Stephanosascus\_ciferrii[teleo])# RV07\_02 17 WML  
Candida\_colliculosa[ana] (Torulaspora\_delbrueckii[teleo])# 901400020 LBK  
Candida\_colliculosa[ana] (Torulaspora\_delbrueckii[teleo])# 901400023 LBK  
Candida\_colliculosa[ana]# (Torulaspora\_delbrueckii[teleo]) WML  
Candida\_guilliermondii[ana] (Pichia\_guilliermondii[teleo])# CBS 566 CBS  
Candida\_guilliermondii[ana] (Pichia\_guilliermondii[teleo])# DSM 11947 DSM  
Candida\_guilliermondii[ana]# (Pichia\_guilliermondii[teleo])# RV490\_Feb06\_02 P56  
Candida\_guilliermondii[ana]# (Pichia\_guilliermondii[teleo]) WML  
Candida\_guilliermondii\_var\_membranaefaciens[ana] (Pichia\_ohmeri[teleo])# DSM 70813 DSM  
Candida\_guilliermondii\_var\_membranaefaciens[ana] (Pichia\_ohmeri[teleo])# DSM 70815 DSM  
Candida\_kefyr[ana] (Kluyveromyces\_marxianus[teleo])# DSM 70073 DSM  
Candida\_kefyr[ana] (Kluyveromyces\_marxianus[teleo])# DSM 70106 DSM

*Candida kefyr* [ana]# (*Kluyveromyces marxianus* [teleo])# VWL  
*Candida krusei* [ana]# (*Zissatchenkia orientalis* [teleo])# DSM 11956 DSM  
*Candida krusei* [ana]# (*Zissatchenkia orientalis* [teleo])# DSM 6128 DSM  
*Candida krusei* [ana]# (*Zissatchenkia orientalis* [teleo])# DSM 70075 DSM  
*Candida krusei* [ana]# (*Zissatchenkia orientalis* [teleo])# DSM 70079 DSM  
*Candida krusei* [ana]# (*Zissatchenkia orientalis* [teleo])# 36 PSE  
*Candida krusei* [ana]# (*Zissatchenkia orientalis* [teleo])# ATCC 14243 THL  
*Candida krusei* [ana]# (*Zissatchenkia orientalis* [teleo])# ATCC 6258 THL  
*Candida krusei* [ana]# (*Zissatchenkia orientalis* [teleo])# ATCC 6258 VWL  
*Candida krusei* [ana]# (*Zissatchenkia orientalis* [teleo])# RV491\_Sep09\_G LBK  
*Candida lambica* [ana]# (*Pichia fermentans* [teleo])# DSM 70090 DSM  
*Candida lambica* [ana]# (*Pichia fermentans* [teleo])# DSM 70095 DSM  
*Candida lambica* [ana]# (*Pichia fermentans\_ssp\_fermentans* [teleo])# CBS 603 CBS  
*Candida lambica* [ana]# (*Pichia fermentans* [teleo])# RV490\_Oct09\_02 LBK  
*Candida lipolytica* [ana]# (*Yarrowia lipolytica* [teleo])# DSM 1345 DSM  
*Candida lipolytica* [ana]# (*Yarrowia lipolytica* [teleo])# DSM 3286 DSM  
*Candida lipolytica* [ana]# (*Yarrowia lipolytica* [teleo])# DSM 70561 DSM  
*Candida lipolytica* [ana]# (*Yarrowia lipolytica* [teleo])# DSM 70562 DSM  
*Candida lipolytica* [ana]# (*Yarrowia lipolytica* [teleo])# DSM 8218 DSM  
*Candida lipolytica* [ana]# (*Yarrowia lipolytica* [teleo])# VWL  
*Candida lusitanae* [ana]# (*Clavispora lusitanae* [teleo])# 45 PSE  
*Candida lusitanae* [ana]# (*Clavispora lusitanae* [teleo])# 51 PIM  
*Candida lusitanae* [ana]# (*Clavispora lusitanae* [teleo])# CBS 44137 CBS  
*Candida lusitanae* [ana]# (*Clavispora lusitanae* [teleo])# DSM 70102 DSM  
*Candida lusitanae* [ana]# (*Clavispora lusitanae* [teleo])# VWL  
*Candida norvegensis* [ana]# (*Pichia norvegensis* [teleo])# 87 PSE  
*Candida norvegensis* [ana]# (*Pichia norvegensis* [teleo])# 98 PSE  
*Candida norvegensis* [ana]# (*Pichia norvegensis* [teleo])# 993800276 LBK  
*Candida norvegensis* [ana]# (*Pichia norvegensis* [teleo])# DSM 70760 DSM  
*Candida norvegensis* [ana]# (*Pichia norvegensis* [teleo])# RV\_3\_2006 VWL  
*Candida pelliculosa* [ana]# (*Pichia anomala* [teleo])# DSM 70130 DSM  
*Candida pelliculosa* [ana]# (*Pichia anomala* [teleo])# DSM 70260 DSM  
*Candida pelliculosa* [ana]# (*Pichia anomala* [teleo])# MY\_00164\_04 ERL  
*Candida pulcherrima* [ana]# (*Metschnikowia pulcherrima* [teleo])# CBS 2244 PAH  
*Candida pulcherrima* [ana]# (*Metschnikowia pulcherrima* [teleo])# DSM 70336 DSM  
*Candida pulcherrima* [ana]# (*Metschnikowia pulcherrima* [teleo])# VWL  
*Candida reukauffii* [ana]# (*Metschnikowia reukauffii* [teleo])# DSM 70880 VWL  
*Candida robusta* [ana]# (*Saccharomyces cerevisiae* [teleo])# 991400574 LBK  
*Candida robusta* [ana]# (*Saccharomyces cerevisiae* [teleo])# 632168 BRL  
*Candida robusta* [ana]# (*Saccharomyces cerevisiae* [teleo])# DTY3 BRL  
*Candida robusta* [ana]# (*Saccharomyces cerevisiae* [teleo])# INVS1 BRL  
*Candida robusta* [ana]# (*Saccharomyces cerevisiae* [teleo])# Isolat LG. Muenchen  
*Candida robusta* [ana]# (*Saccharomyces cerevisiae* [teleo])# kontrolstamm Humanmedizin VWL  
*Candida robusta* [ana]# (*Saccharomyces cerevisiae* [teleo])# MS LLH  
*Candida slooffiae* [ana]# (*Kazachstania slooffiae* [teleo])# 01 VWL  
*Candida sorbosa* [ana]# (*Zissatchenkia occidentalis* [teleo])# CBS 1916 CBS  
*Candida sphaerica* [ana]# (*Kluyveromyces lactis* [teleo])# 70 PIM  
*Candida sphaerica* [ana]# (*Kluyveromyces lactis* [teleo])# 906400310 LBK  
*Candida thermophila* [ana]# (*Oocataea thermophila* [teleo])# VWL  
*Candida utilis* [ana]# (*Pichia jandini* [teleo])# DSM 2361 DSM  
*Candida utilis* [ana]# (*Pichia jandini* [teleo])# DSM 70163 DSM  
*Candida utilis* [ana]# (*Pichia jandini* [teleo])# DSM 70167 DSM  
*Candida valida* [ana]# (*Pichia membranifaciens* [teleo])# 10 LBK  
*Candida valida* [ana]# (*Pichia membranifaciens* [teleo])# 901400022 LBK  
*Candida valida* [ana]# (*Pichia membranifaciens* [teleo])# DSM 70169 DSM  
*Candida valida* [ana]# (*Pichia membranifaciens* [teleo])# DSM 70178 DSM  
*Candida valida* [ana]# (*Pichia membranifaciens* [teleo])# DSM 70179 DSM  
*Candidatus Reyranella nassliensis* 123\_21 RLT  
*Candidatus Reyranella nassliensis* 181\_20 RLT  
*Candidatus Reyranella nassliensis* 3826\_22 RLT  
*Capnocytophaga canimorsus* DSM 19204T DSM  
*Capnocytophaga cynodegmi* DSM 19736T DSM  
*Capnocytophaga gingivalis* DSM 3290T DSM  
*Capnocytophaga granulosa* DSM 11449T DSM  
*Capnocytophaga haemolytica* DSM 11385T DSM  
*Capnocytophaga ochracea* DSM 7271T DSM  
*Capnocytophaga ochracea* DSM 7272 DSM  
*Capnocytophaga sp* G18141 IBS  
*Capnocytophaga sputigena* DSM 7273T DSM  
*Capnocytophaga sputigena* RV412\_A2\_09\_05 LBK  
*Cardiobacterium hominis* DSM 8339T DSM  
*Cardiobacterium valvarum* DSM 17211T DSM  
*Carrobacterium maltaromaticum* DSM 20342T DSM  
*Castellaniella defragrans* DSM 12141T DSM  
*Castellaniella defragrans* DSM 12141T HAM  
*Castellaniella defragrans* DSM 12142 DSM  
*Castellaniella defragrans* DSM 12143 DSM  
*Castellaniella defragrans* DSM 12144 DSM  
*Caulobacter vibrioides* LB\_101494\_09 ERL  
*Cedecea davisae* DSM 4368T HAM  
*Cedecea lapagei* DSM 4387T HAM  
*Cedecea neteri* DSM 13693T HAM  
*Cellulomonas fimi* DSM 20114 DSM  
*Cellulomonas flavigena* B194 UFL  
*Caulobacter vibrioides* LB\_101494\_09 ERL  
*Cedecea davisae* DSM 4368T HAM  
*Cedecea lapagei* DSM 4387T HAM  
*Cedecea neteri* DSM 13693T HAM  
*Cellulomonas fimi* DSM 20114 DSM  
*Cellulomonas flavigena* B194 UFL  
*Chaetomium globosum* RVD\_081 VWL  
*Chromobacterium subtsugae* DSM 17043T DSM  
*Chromobacterium violaceum* C49 MVO  
*Chromobacterium violaceum* DSM 30191T DSM  
*Chromohalobacter salexigens* B370 UFL  
*Chryseobacterium indologenes* O96\_NE83T NF1  
*Chryseobacterium indologenes* CCM 4451T CCM  
*Chryseobacterium joostei* LMG 18212T HAM  
*Chryseobacterium oraninense* B01900074 LBK  
*Chryseobacterium scopthalmum* LMG 13026T HAM  
*Chryseobacterium sp* 107 PIM  
*Citrobacter amalonaticus* CCM 4706 CCM  
*Citrobacter amalonaticus* DSM 4593T HAM  
*Citrobacter braakii* 20663\_2 CHB  
*Citrobacter braakii* 9314\_2 CHB  
*Citrobacter farmeri* DSM 17655T HAM  
*Citrobacter freundii* 13158\_2 CHB  
*Citrobacter freundii* 22054\_1 CHE  
*Citrobacter freundii* DSM 15979 DSM  
*Citrobacter freundii* DSM 30039T HAM  
*Citrobacter gillettii* DSM 13694T HAM  
*Citrobacter koseri* 9553\_1 CHB  
*Citrobacter koseri* DSM 4570 DSM  
*Citrobacter koseri* DSM 4593T HAM  
*Citrobacter koseri* DSM 4596 DSM  
*Citrobacter koseri* ME\_8260\_05 THL  
*Citrobacter koseri* Mu25167\_1 CHE  
*Citrobacter murlimae* DSM 13695T HAM  
*Citrobacter rodentium* DSM 16636T HAM  
*Citrobacter sedlakii* DSM 17674T HAM  
*Citrobacter sedlakii* IBS\_MS\_10 IBS  
*Citrobacter youngae* DSM 17578T HAM  
*Clavibacter michiganensis ssp cesselarii* DSM 20741T DSM  
*Clostridium acetobutylicum* DSM 792T VWL  
*Clostridium aldenense* DSM 19262T DSM  
*Clostridium baratii* 1018\_NCTC 10986 BOG  
*Clostridium baratii* 1084\_ATCC 25782 BOG  
*Clostridium beijerinckii* 1011\_DSM 552 BOG  
*Clostridium beijerinckii* 1072\_ATCC 25752T BOG  
*Clostridium bifermens* 1027\_NCTC 1341 BOG  
*Clostridium bifermens* 2273\_CCG 3529T BOG  
*Clostridium bifermens* 2274\_CCG 35556 A BOG  
*Clostridium bifermens* DSM 630 DSM  
*Clostridium butyricum* 900200369 LBK  
*Clostridium butyricum* DSM 10702T DSM  
*Clostridium butyricum* DSM 2476 DSM  
*Clostridium cadaveris* 1074\_ATCC 25783T BOG  
*Clostridium cadaveris* DSM 1284T DSM  
*Clostridium carnis* DSM 1293T DSM  
*Clostridium celerecrescens* 52 PIM  
*Clostridium celerecrescens* DSM 5628T DSM  
*Clostridium chauvoei* 1023\_NCTC 8070 BOG  
*Clostridium chauvoei* 1024\_NCTC 8596 BOG  
*Clostridium chauvoei* 1076\_ATCC 10092T BOG  
*Clostridium citroniae* DSM 19261T DSM  
*Clostridium clostridioforme* 1021\_NCTC 11224T BOG  
*Clostridium clostridioforme* DSM 933T DSM  
*Clostridium cochlearium* 1050\_NCTC 2909 BOG  
*Clostridium cochlearium* 1077\_ATCC 17787T BOG  
*Clostridium cochlearium* 1080\_ATCC 17794T BOG  
*Clostridium cochlearium* DSM 1285T VWL  
*Clostridium cochlearium* DSM 2153 VWL  
*Clostridium cochlearium* DSM 666 VWL  
*Clostridium collicans* DSM 13634T VWL  
*Clostridium colinum* DSM 6011T DSM  
*Clostridium difficile* 0422\_0288\_D9 IBS  
*Clostridium difficile* 1020\_NCTC 11206 BOG  
*Clostridium difficile* DSM 12057 DSM  
*Clostridium difficile* DSM 1296T DSM  
*Clostridium difficile* ME\_1562\_05 THL  
*Clostridium difficile* ME\_2558\_05 THL  
*Clostridium difficile* ME\_294\_05 THL  
*Clostridium difficile* ME\_4498\_05 THL  
*Clostridium difficile* ME\_7476\_05 THL

*Clostridium difficile* ME\_7476\_05 THL  
*Clostridium difficile* ME\_7869\_05 THL  
*Clostridium disporicum* DSM 5521T DSM  
*Clostridium fallax* DSM 2631T DSM  
*Clostridium ghomii* DSM 15049T DSM  
*Clostridium glycolicum* DSM 13561 DSM  
*Clostridium haemolyticum* 1069\_ATCC 9650T BOG  
*Clostridium hathewayi* DSM 13479T DSM  
*Clostridium hathewayi* DSM 13480 DSM  
*Clostridium hathewayi* HU52042 PNU  
*Clostridium histolyticum* 1036\_NCTC 503T BOG  
*Clostridium histolyticum* DSM 1126 DSM  
*Clostridium histolyticum* DSM 2158T DSM  
*Clostridium indolis* DSM 755T DSM  
*Clostridium innocuum* 1079\_ATCC 14501T BOG  
*Clostridium innocuum* 25\_389 IBS  
*Clostridium innocuum* DSM 1286T DSM  
*Clostridium innocuum* HU46588 PNU  
*Clostridium innocuum* HU56446 PNU  
*Clostridium intestinale* DSM 16614 DSM  
*Clostridium intestinale* DSM 6191T DSM  
*Clostridium irregulare* DSM 2635T VML  
*Clostridium isatidis* DSM 15098T\_1 VML  
*Clostridium limosum* DSM 1400T DSM  
*Clostridium lundense* DSM 17049T VML  
*Clostridium malenominatum* DSM 1127T DSM  
*Clostridium novyi* 1062\_ATCC 17861T BOG  
*Clostridium novyi* A 1025\_NCTC 536 BOG  
*Clostridium orbiscindens* DSM 6740T DSM  
*Clostridium paraputrificum* 1082\_ATCC 17796 BOG  
*Clostridium paraputrificum* DSM 2630T DSM  
*Clostridium paraputrificum* DSM 46280 DSM  
*Clostridium perfringens* DSM 11778\_3d VML  
*Clostridium perfringens* DSM 11781 VML  
*Clostridium perfringens* DSM 11784 VML  
*Clostridium perfringens* DSM 628 VML  
*Clostridium perfringens* DSM 756T VML  
*Clostridium perfringens* DSM 798 VML  
*Clostridium perfringens* HU51221 PNU  
*Clostridium perfringens* HU65616 PNU  
*Clostridium perfringens* RV\_BA\_03\_D LBK  
*Clostridium ramosum* 02\_491 IBS  
*Clostridium ramosum* 02\_491 N2 IBS  
*Clostridium ramosum* 15\_758 IBS  
*Clostridium ramosum* 48 RLT  
*Clostridium ramosum* 94 PIN  
*Clostridium ramosum* DSM 1402T VML  
*Clostridium ramosum* IBS\_M5\_15 IBS  
*Clostridium sardiniense* 1001\_NCTC 10984T BOG  
*Clostridium sardiniense* DSM 600 DSM  
*Clostridium schirmacherense* DSM 17394T VML  
*Clostridium scindens* 15 RLT  
*Clostridium scindens* DSM 5676T DSM  
*Clostridium septicum* 1026\_NCTC 547T BOG  
*Clostridium septicum* DSM 7534T\_1 VML  
*Clostridium sordeilii* 1070\_ATCC 9714T BOG  
*Clostridium sordeilii* DSM 2141T VML  
*Clostridium* sp 15\_759 IBS  
*Clostridium* sp DSM 1975 VML  
*Clostridium* sp[2] 0807M290672 IBS  
*Clostridium sphenoides* 1046\_NCTC 507T BOG  
*Clostridium sphenoides* DSM 1225 VML  
*Clostridium sphenoides* DSM 614 VML  
*Clostridium sphenoides* DSM 632T VML  
*Clostridium spiroforme* 1047\_NCTC 11211T BOG  
*Clostridium sporogenes* 992800235 LBK  
*Clostridium sporogenes* DSM 1734 VML  
*Clostridium sporogenes* DSM 46278 VML  
*Clostridium sporogenes* DSM 46279 VML  
*Clostridium sporogenes* DSM 633 VML  
*Clostridium sporogenes* DSM 795T VML  
*Clostridium sporosphaeroides* DSM 1294T VML  
*Clostridium subterminale* DSM 2636 VML  
*Clostridium subterminale* DSM 6970T DSM  
*Clostridium subterminale* DSM 758 VML  
*Clostridium symbiosum* DSM 934T DSM  
*Clostridium tertium* 1048\_NCTC 541 BOG  
*Clostridium tertium* 900500287 LBK  
*Clostridium tertium* DSM 2485T VML  
*Clostridium tertium* DSM 662 VML  
*Clostridium tertium* HU46926 PNU  
*Clostridium tetani* 1089\_ATCC 10779 BOG

*Clostridium tetani* DSM 11744 VML  
*Clostridium tetani* DSM 11745 VML  
*Clostridium tetani* type 1 1049\_NCTC 279T BOG  
*Collinella hongkongensis* DSM 17642T DSM  
*Colletotrichum gloeosporioides* CBS 100471 CBS  
*Collinsella aerofaciens* DSM 13712 DSM  
*Collinsella aerofaciens* DSM 3979T DSM  
*Comamonas aquatica* IMG 2370T HAM  
*Comamonas kerstersii* DSM 16026T HAM  
*Comamonas nitrativorans* DSM 13191T HAM  
*Comamonas terrigena* DSM 7099T HAM  
*Comamonas testosteroni* B337 UFL  
*Comamonas testosteroni* DSM 50244T HAM  
*Corynebacterium accolens* 8 RLT  
*Corynebacterium accolens* 87\_D5\_coll ISB  
*Corynebacterium accolens* 88\_D5\_coll ISB  
*Corynebacterium accolens* DSM 44278T DSM  
*Corynebacterium accolens* x\_x\_28779\_H IBS  
*Corynebacterium afermentans* ssp *afermentans* 72\_D4\_coll ISB  
*Corynebacterium afermentans* ssp *afermentans* 73\_D4\_coll ISB  
*Corynebacterium afermentans* ssp *afermentans* 74\_D4\_coll ISB  
*Corynebacterium afermentans* ssp *afermentans* 78\_D4\_coll ISB  
*Corynebacterium afermentans* ssp *afermentans* DSM 44280T DSM  
*Corynebacterium afermentans* ssp *hippophilum* DSM 44282T DSM  
*Corynebacterium ammoniagenes* DSM 20306T DSM  
*Corynebacterium ammoniagenes* IMET 11243T HKJ  
*Corynebacterium amycolatum* 100\_28\_877962\_42 IBS  
*Corynebacterium amycolatum* 126\_x\_A5608\_63 IBS  
*Corynebacterium amycolatum* DSM 6922T DSM  
*Corynebacterium amycolatum* IBS\_M5\_16 IBS  
*Corynebacterium amycolatum* IBS\_M5\_3 IBS  
*Corynebacterium amycolatum* PX\_25086111 MLD  
*Corynebacterium appendicis* DSM 44531T DSM  
*Corynebacterium aquilae* DSM 44791T DSM  
*Corynebacterium argentoratense* 111\_19\_B2155\_53 IBS  
*Corynebacterium argentoratense* DSM 44202T DSM  
*Corynebacterium aurimucosum* 25 PIN  
*Corynebacterium aurimucosum* 991800383 LBK  
*Corynebacterium aurimucosum* 993900021 LBK  
*Corynebacterium aurimucosum* DSM 44532T DSM  
*Corynebacterium aurimucosum* DSM 44527 DSM  
*Corynebacterium auris* DSM 44122T DSM  
*Corynebacterium auriscanis* DSM 44609T DSM  
*Corynebacterium bovis* DSM 20582T DSM  
*Corynebacterium callunae* DSM 20147T DSM  
*Corynebacterium camporealensis* DSM 44610T DSM  
*Corynebacterium capitovis* DSM 44611T DSM  
*Corynebacterium casei* DSM 44701T DSM  
*Corynebacterium ciconiae* DSM 44920T DSM  
*Corynebacterium confusum* DSM 44384T DSM  
*Corynebacterium coyleae* 153 RLT  
*Corynebacterium coyleae* DSM 44184T DSM  
*Corynebacterium cystitidis* DSM 20524T DSM  
*Corynebacterium diphtheriae* DSM 44123T DSM  
*Corynebacterium diphtheriae* ssp *belifanti* 44\_R9 ISB  
*Corynebacterium diphtheriae* ssp *gravis* 50\_R5 ISB  
*Corynebacterium diphtheriae* ssp *mitis* R1\_36\_29 ISB  
*Corynebacterium durum* C16 MVO  
*Corynebacterium durum* DSM 44351 DSM  
*Corynebacterium efficiens* DSM 44549T DSM  
*Corynebacterium falsenii* DSM 44353T DSM  
*Corynebacterium felinum* DSM 44508T DSM  
*Corynebacterium flavescens* DSM 20296T DSM  
*Corynebacterium flavescens* HKI 11080T HKJ  
*Corynebacterium flavescens* IMET 11080T HKJ  
*Corynebacterium freneyi* DSM 44506T DSM  
*Corynebacterium glaucum* DSM 44530T DSM  
*Corynebacterium glucuronolyticum* 1\_B12915 ISB  
*Corynebacterium glucuronolyticum* 4\_B2825 ISB  
*Corynebacterium glucuronolyticum* DSM 44120T DSM  
*Corynebacterium glucuronolyticum* DSM 44288 DSM  
*Corynebacterium glutamicum* DSM 20137 DSM  
*Corynebacterium glutamicum* DSM 20300T DSM  
*Corynebacterium glutamicum* DSM 20301 DSM  
*Corynebacterium glutamicum* IMET 10482T HKJ  
*Corynebacterium halotolerans* DSM 44683T DSM  
*Corynebacterium hanseni* DSM 45109T DSM  
*Corynebacterium imitans* DSM 44264T DSM  
*Corynebacterium jeikeium* 118 RLT  
*Corynebacterium jeikeium* 27\_B30049 ISB  
*Corynebacterium jeikeium* 30\_CIP 103337T ISB  
*Corynebacterium jeikeium* 32\_T98977 ISB  
*Corynebacterium jeikeium* B73970 ISB  
*Corynebacterium jeikeium* DSM 7171T DSM

Clostridium tetani DSM 11744 VML  
Clostridium tetani DSM 11745 VML  
Clostridium tetani type 1 1048\_NCTC 2797 BGG  
Cohnella hongkongensis DSM 17642T DSM  
Colletotrichum gloeosporioides CBS 100471 CBS  
Collinsella aerofaciens DSM 12712 DSM  
Collinsella aerofaciens DSM 3579T DSM  
Comamonas aquatica LMG 23701 HAM  
Comamonas kerstersii DSM 16026T HAM  
Comamonas nitrativorans DSM 12191T HAM  
Comamonas terrigena DSM 7099T HAM  
Comamonas testosteroni 6337 UFL  
Comamonas testosteroni DSM 50244T HAM  
Corynebacterium accolens 8 RLT  
Corynebacterium accolens 87\_D5\_col1 ISB  
Corynebacterium accolens 88\_D5\_col1 ISB  
Corynebacterium accolens DSM 44278T DSM  
Corynebacterium accolens X\_X\_28779\_H ISB  
Corynebacterium afermentans ssp afermentans 72\_D4\_col1 ISB  
Corynebacterium afermentans ssp afermentans 73\_D4\_col1 ISB  
Corynebacterium afermentans ssp afermentans 74\_D4\_col1 ISB  
Corynebacterium afermentans ssp afermentans 78\_D4\_col1 ISB  
Corynebacterium afermentans ssp afermentans DSM 44280T DSM  
Corynebacterium afermentans ssp lipophilum DSM 44282T DSM  
Corynebacterium ammoniagenes DSM 20306T DSM  
Corynebacterium ammoniagenes IMET 11243T HKJ  
Corynebacterium anycolatum 100\_28\_877962\_42 ISB  
Corynebacterium anycolatum 128\_X\_A5608\_63 ISB  
Corynebacterium anycolatum DSM 6922T DSM  
Corynebacterium anycolatum IBS\_M5\_16 ISB  
Corynebacterium anycolatum IBS\_M5\_3 ISB  
Corynebacterium anycolatum PK\_25086111 HLD  
Corynebacterium appendicis DSM 44531T DSM  
Corynebacterium aquilae DSM 44791T DSM  
Corynebacterium argenteorotense 111\_19\_62153\_53 ISB  
Corynebacterium argenteorotense DSM 44202T DSM  
Corynebacterium aurimucosum 25 P3H  
Corynebacterium aurimucosum 991800363 LBK  
Corynebacterium aurimucosum 993900021 LBK  
Corynebacterium aurimucosum DSM 44532T DSM  
Corynebacterium aurimucosum DSM 44627 DSM  
Corynebacterium auris DSM 44122T DSM  
Corynebacterium auriscanis DSM 44609T DSM  
Corynebacterium bovis DSM 20582T DSM  
Corynebacterium callunae DSM 20147T DSM  
Corynebacterium camporealensis DSM 44610T DSM  
Corynebacterium capitovis DSM 44611T DSM  
Corynebacterium casei DSM 44701T DSM  
Corynebacterium ciconiae DSM 44300T DSM  
Corynebacterium confusum DSM 44284T DSM  
Corynebacterium coyleeae 133 RLT  
Corynebacterium coyleeae DSM 44184T DSM  
Corynebacterium cystitidis DSM 20524T DSM  
Corynebacterium diptheriae DSM 44123T DSM  
Corynebacterium diptheriae ssp belfanti 44\_R6 ISB  
Corynebacterium diptheriae ssp gravis 50\_P3 ISB  
Corynebacterium diptheriae ssp hirtis RL\_36\_29 ISB  
Corynebacterium durum C16 MVD  
Corynebacterium durum DSM 44351 DSM  
Corynebacterium efficiens DSM 44549T DSM  
Corynebacterium falsensei DSM 44353T DSM  
Corynebacterium felinum DSM 44508T DSM  
Corynebacterium flavescens DSM 20296T DSM  
Corynebacterium flavescens HKC 11080T HKC  
Corynebacterium flavescens IMET 11080T HKJ  
Corynebacterium frenseii DSM 44506T DSM  
Corynebacterium glaucum DSM 44530T DSM  
Corynebacterium glucuronolyticum 1\_812915 ISB  
Corynebacterium glucuronolyticum 4\_82825 ISB  
Corynebacterium glucuronolyticum DSM 44120T DSM  
Corynebacterium glucuronolyticum DSM 44288 DSM  
Corynebacterium glutamicum DSM 2013T DSM  
Corynebacterium glutamicum DSM 20300T DSM  
Corynebacterium glutamicum DSM 20301 DSM  
Corynebacterium glutamicum IMET 10452T HKJ  
Corynebacterium halotolerans DSM 44633T DSM  
Corynebacterium hanseni DSM 45109T DSM  
Corynebacterium imitans DSM 44264T DSM  
Corynebacterium jeikeium 118 RLT  
Corynebacterium jeikeium 27\_B30049 ISB  
Corynebacterium jeikeium 30\_C3P 103937 ISB  
Corynebacterium jeikeium 32\_T98977 ISB  
Corynebacterium jeikeium B73970 ISB  
Corynebacterium jeikeium DSM 7171T DSM  
Cronobacter sakazakii CCM 3479 CCM  
Cronobacter sakazakii DSM 4483T DSM  
Cryptococcus flavus DSM 70227T DSM  
Cryptococcus laurentii VML  
Cryptococcus materans DSM 70822T DSM  
Cryptococcus albidus[ana]# Filobasidium\_floriforme[teleo] DSM 70197 PAH  
Cryptococcus bacillisporus[ana]# (Filobasidiella\_bacillispora[teleo]) RV490\_Oct09\_02 LBK  
Cryptococcus bacillisporus[ana]# (Filobasidiella\_bacillispora[teleo]) RV490\_Sep09\_1 SLT  
Cryptococcus neoformans[ana]# (Filobasidiella\_neoformans[teleo]) 29 P5E  
Cryptococcus neoformans[ana]# (Filobasidiella\_neoformans[teleo]) ATCC 14116 THL  
Cryptococcus neoformans[ana]# (Filobasidiella\_neoformans[teleo]) CCM 8212 CCM  
Cryptococcus neoformans[ana]# (Filobasidiella\_neoformans[teleo]) RVD7\_02 1E VML  
Cryptococcus neoformans[ana]# (Filobasidiella\_neoformans[teleo]) K VML  
Cryptococcus uniguttulatus[ana]# (Filobasidium\_uniguttulatum[teleo])# DSM 4652 DSM  
Cryptococcus uniguttulatus[ana]# (Filobasidium\_uniguttulatum[teleo])# DSM 70225 DSM  
Cupriavidus gilardii DSM 17292T DSM  
Cupriavidus metallidurans DSM 2639T DSM  
Cupriavidus necator 6238 UFL  
Cupriavidus necator 6394 UFL  
Cupriavidus necator 6479 UFL  
Cupriavidus necator 6480 UFL  
Cupriavidus necator 6619 UFL  
Cupriavidus necator DSM 426 DSM  
Cupriavidus necator DSM 531 HAM  
Cupriavidus oxalaticus DSM 1105T DSM  
Cupriavidus pauculus DSM 17313T DSM  
Cupriavidus pauculus RV 432\_0209\_1 LBK  
Cupriavidus pauculus RV\_00001\_09 ERL  
Cupriavidus pauculus UR01767\_08 ERL  
Cupriavidus pauculus VA\_31954\_09 ERL  
Cupriavidus respiraculi DSM 17358T DSM  
Curtobacterium albidum HKC 11500 HKJ  
Curtobacterium flaccumfaciensovar poinsettiae DSM 20149 DSM  
Curtobacterium luteum HKC 10360 HKJ  
Curtobacterium luteum P\_3183\_1 IMK  
Curtobacterium sp 68 P3H  
Debaryomyces etchellsii CBS 2611T VML  
Debaryomyces etchellsii CBS 5603 VML  
Debaryomyces hanseni 991300257 LBK  
Debaryomyces hanseni DSM 70590 DSM  
Deletia acidovorans 034\_M33  
Deletia acidovorans CCM 4210 CCM  
Deletia acidovorans CCM 263 CCM  
Deletia acidovorans DSM 39T HAM  
Deletia acidovorans DSM 7230T DSM  
Deletia acidovorans DSM 7230T DSM  
Dermabacter hominis 122\_X\_T28453\_64 ISB  
Dermabacter hominis 126\_X\_B25504\_60 ISB  
Dermabacter hominis DSM 7063T DSM  
Dermacoccus nishinomiyaensis DSM 20448T DSM  
Dermatophilus chelonae DSM 44178T DSM  
Dermatophilus congolensis DSM 4303T DSM  
Dermatophilus congolensis DSM 44172 DSM  
Dermatophilus congolensis DSM 44173 DSM  
Dermatophilus congolensis DSM 44174 DSM  
Dermatophilus congolensis DSM 44180T DSM  
Devosia riboflavinis CIF 55\_10T CIF  
Devosia riboflavinis DSM 7230T DSM  
Dialister microaerophilus 06\_001\_H3 ISB  
Dichelobacter nodosus DSM 20708 DSM  
Dickeya chrysanthemi DSM 4610T HAM  
Dickeya dadantii DSM 18020T HAM  
Dickeya dianthicola DSM 18054T HAM  
Dickeya dieffenbachiae DSM 18013T HAM  
Dickeya paradisiaca DSM 18069T HAM  
Dickeya zeae DSM 18068T HAM  
Dietzia cinnamza 117 RLT  
Dietzia maris B491 UFL  
Dietzia maris DSM 43672T DSM  
Dietzia natronolimnaea 091216\_01 LSM  
Dietzia natronolimnaea 091216\_02 LSM  
Dietzia natronolimnaea DSM 44198 DSM  
Dysgonomonas gadei f\_5814\_1 IMK  
Edwardsiella hostinae DSM 13771T HAM  
Edwardsiella ictaluri CECT 885T EGS  
Edwardsiella ictaluri DSM 13697T HAM  
Edwardsiella tarda ATCC 35\_1 EGS  
Edwardsiella tarda ATCC 36\_1 EGS  
Edwardsiella tarda CECT 849T EGS  
Edwardsiella tarda DSM 30052T HAM  
Edwardsiella tarda HL22\_1 EGS  
Edwardsiella tarda HJMB EGS  
Eggerthella lenta O807425073601 ISB  
Eggerthella lenta 17 RLT  
Eggerthella lenta 9 RLT  
Eggerthella lenta DSM 15644 DSM

*Cronobacter sakazakii* CCM 3478 CCM  
*Cronobacter sakazakii* DSM 4485T DSM  
*Cryptococcus flavus* DSM 7022T DSM  
*Cryptococcus laurentii* VML  
*Cryptococcus naccarans* DSM 7082T DSM  
*Cryptococcus albidus*[ana]# *Filobasidium floriforme*[teleo] DSM 7019T PAH  
*Cryptococcus bacillisporus*[ana]# *(Filobasidiella bacillispora)*[teleo] RV490\_Oct09\_01 LBN  
*Cryptococcus bacillisporus*[ana]# *(Filobasidiella bacillispora)*[teleo] RV490\_Sep09\_1 SLT  
*Cryptococcus neoformans*[ana]# *(Filobasidiella neoformans)*[teleo] 28 PSE  
*Cryptococcus neoformans*[ana]# *(Filobasidiella neoformans)*[teleo] ATCC 14116 THL  
*Cryptococcus neoformans*[ana]# *(Filobasidiella neoformans)*[teleo] CCM 6312 CCM  
*Cryptococcus neoformans*[ana]# *(Filobasidiella neoformans)*[teleo] RV01\_02 18 VML  
*Cryptococcus neoformans*[ana]# *(Filobasidiella neoformans)*[teleo] v. VML  
*Cryptococcus uniguttulatus*[ana]# *(Filobasidium uniguttulatum)*[teleo] DSM 4652 DSM  
*Cryptococcus uniguttulatus*[ana]# *(Filobasidium uniguttulatum)*[teleo] DSM 70225 DSM  
*Cupriavidus gilardi* DSM 1729T DSM  
*Cupriavidus metallidurans* DSM 2839T DSM  
*Cupriavidus necator* B238 UFL  
*Cupriavidus necator* B394 UFL  
*Cupriavidus necator* B479 UFL  
*Cupriavidus necator* B480 UFL  
*Cupriavidus necator* B615 UFL  
*Cupriavidus necator* DSM 428 DSM  
*Cupriavidus necator* DSM 531 HAM  
*Cupriavidus oxalaticus* DSM 1105T DSM  
*Cupriavidus pauculus* DSM 1731T DSM  
*Cupriavidus pauculus* RV 412\_0209\_1 LBN  
*Cupriavidus pauculus* RV\_00001\_09 ERL  
*Cupriavidus pauculus* UR01767\_08 ERL  
*Cupriavidus pauculus* VA\_31958\_09 ERL  
*Cupriavidus respiraculi* DSM 17356T DSM  
*Curtobacterium albidum* HKC 11506 HKC  
*Curtobacterium flaccumfaciens*ovar *poinsettiae* DSM 20149 DSM  
*Curtobacterium luteum* HKC 10360 HKC  
*Curtobacterium luteum* P\_3183\_1 IMK  
*Curtobacterium* sp. 68 PSE  
*Debaryomyces echelisi* CBS 2011T VML  
*Debaryomyces echelisi* CBS 5609 VML  
*Debaryomyces hanseii* 99130925 LBN  
*Debaryomyces hanseii* DSM 70590 DSM  
*Defftia acidovorans* D34\_H13 NFE  
*Defftia acidovorans* CCM 2410 CCM  
*Defftia acidovorans* CCM 283 CCM  
*Defftia acidovorans* DSM 39T HAM  
*Dermabacter hominis* 126\_X\_T29453\_64 IBS  
*Dermabacter hominis* 126\_X\_B25504\_60 IBS  
*Dermabacter hominis* DSM 7083T DSM  
*Dermacoccus nishinomiyaensis* DSM 20448T DSM  
*Dermatophilus cheilonae* DSM 44178T DSM  
*Dermatophilus congolensis* DSM 4303T DSM  
*Dermatophilus congolensis* DSM 44175T DSM  
*Dermatophilus congolensis* DSM 44177T DSM  
*Dermatophilus congolensis* DSM 44174T DSM  
*Dermatophilus congolensis* DSM 44180T DSM  
*Devosia riboflavina* CCM 56\_10T CCF  
*Devosia riboflavina* DSM 7230T DSM  
*Dialister micraeorophilus* 06\_001 NC IBS  
*Dichelobacter nodosus* DSM 2670E DSM  
*Dickeya chrysanthemi* DSM 4610T HAM  
*Dickeya gedgani* DSM 18020T HAM  
*Dickeya dianthicola* DSM 18034T HAM  
*Dickeya dieffenbachiae* DSM 18037T HAM  
*Dickeya paradisiaca* DSM 18069T HAM  
*Dickeya zeae* DSM 18068T HAM  
*Dietzia cinnamiae* 117 RL T  
*Dietzia maris* B491 UFL  
*Dietzia maris* DSM 43672T DSM  
*Dietzia natronolimnaea* 091216\_01 LSM  
*Dietzia natronolimnaea* 091216\_02 LSM  
*Dietzia natronolimnaea* DSM 44198 DSM  
*Dysgonomonas oadei* F\_8614\_1 IMK  
*Edwardsiella hoshinae* DSM 13771T HAM  
*Edwardsiella ictaluri* CECT 885T EGS  
*Edwardsiella ictaluri* DSM 13697T HAM  
*Edwardsiella tarda* ATCC 35\_1 EGS  
*Edwardsiella tarda* ATCC 36\_1 EGS  
*Edwardsiella tarda* CECT 849T EGS  
*Edwardsiella tarda* DSM 30052T HAM  
*Edwardsiella tarda* HL23\_1 EGS  
*Edwardsiella tarda* NCIMB EGS  
*Eggerthella lenta* 0807W25073601 IBS  
*Eggerthella lenta* 17 RL T  
*Eggerthella lenta* 9 RL T  
*Eggerthella lenta* DSM 15644 DSM  
*Enterococcus malodoratus* VA\_20206\_09 ERL  
*Enterococcus moraviensis* DSM 15819T JUG  
*Enterococcus mundtii* DSM 4638T DSM  
*Enterococcus mundtii* DSM 4639 DSM  
*Enterococcus mundtii* DSM 4840 DSM  
*Enterococcus pallens* DSM 15690T JUG  
*Enterococcus phoenicivivax* DSM 14726T JUG  
*Enterococcus pseudoavium* DSM 5632T DSM  
*Enterococcus raffinosus* DSM 5633T DSM  
*Enterococcus ratti* DSM 15687T JUG  
*Enterococcus saccharolyticus* DSM 20726T JUG  
*Enterococcus silvestris* DSM 22601T JUG  
*Enterococcus sulfureus* DSM 6905T JUG  
*Enterococcus terrillii* DSM 22807T JUG  
*Enterococcus thailandicus* DSM 21767T JUG  
*Enterococcus villorum* DSM 15688T JUG  
*Epidermophyton floccosum* 27 VML  
*Erwinia amylovora* L79 MMG  
*Erwinia amylovora* 273 MMG  
*Erwinia amylovora* CFBF 1232T MMG  
*Erwinia amylovora* CFBF 1232T PAH  
*Erwinia amylovora* HR3 MMG  
*Erwinia billingiae* 660 MMG  
*Erwinia billingiae* 661 MMG  
*Erwinia billingiae* DSM 17872T HAM  
*Erwinia billingiae* ER 661 PAH  
*Erwinia mallotivora* CFBF 2503T MMG  
*Erwinia mallotivora* DSM 4565T HAM  
*Erwinia papayae* DSM 16540T HAM  
*Erwinia persicina* CFBF 3622T PAH  
*Erwinia persicina* LMG 11254T HAM  
*Erwinia persicina* MMG  
*Erwinia psidii* CFBF 3627T MMG  
*Erwinia psidii* DSM 17597T HAM  
*Erwinia pyrifoliae* L6\_96 MMG  
*Erwinia pyrifoliae* L\_96 MMS  
*Erwinia pyrifoliae* DSM 12163T HAM  
*Erwinia pyrifoliae* Ejp557 MMG  
*Erwinia pyrifoliae* Ep 16\_96 PAH  
*Erwinia pyrifoliae* Ep 1\_96 PAH  
*Erwinia rhamnoides* CFBF 3618T PAH  
*Erwinia rhamnoides* DSM 4484T HAM  
*Erwinia rhamnoides* MMG  
*Erwinia tasmaniensis* 1\_99 MMG  
*Erwinia tasmaniensis* 2\_99 MMG  
*Erwinia tasmaniensis* 4\_99 MMG  
*Erwinia tasmaniensis* Et 1\_99 PAH  
*Erwinia tasmaniensis* Et 2\_99 PAH  
*Erwinia tracheiphila* DSM 21139T DSM  
*Erysipelothrix inopinata* DSM 15311T DSM  
*Erysipelothrix rhusopathiae* B9788 IBS  
*Erysipelothrix rhusopathiae* DSM 5055T DSM  
*Erysipelothrix rhusopathiae* DSM 5056 DSM  
*Erysipelothrix rhusopathiae* DSM 5057 DSM  
*Erysipelothrix rhusopathiae* DSM 5058 DSM  
*Erysipelothrix rhusopathiae* DSM 5059 DSM  
*Erysipelothrix rhusopathiae* EDQM serotyp1 FLR  
*Erysipelothrix rhusopathiae* EDQM serotyp2 FLR  
*Erysipelothrix rhusopathiae* ERY604 IBS  
*Erysipelothrix rhusopathiae* ERY019478 IBS  
*Erysipelothrix rhusopathiae* FF XI serotypN FLR  
*Erysipelothrix tonsillarum* DSM 14972T DSM  
*Escherichia albertii* DSM 17582T HAM  
*Escherichia coli* ATCC 25922 CHE  
*Escherichia coli* ATCC 25922 THL  
*Escherichia coli* ATCC 35218 CHE  
*Escherichia coli* B421 UFL  
*Escherichia coli* DW3alpa BRL  
*Escherichia coli* DSM 30083T HAM  
*Escherichia coli* ES01\_EA\_R55\_1528T CHE  
*Escherichia coli* MB11464\_1 CHE  
*Escherichia coli* Nissl VML  
*Escherichia coli* RV412\_A1\_2010\_06a LBN  
*Escherichia coli* W3350 MMG  
*Escherichia fergusonii* DSM 13698 HAM  
*Escherichia vulneris* DSM 4564T DSM  
*Eubacterium brachy* DSM 3990T DSM  
*Eubacterium callanderi* IBS\_M5\_40 IBS  
*Eubacterium limosum* 11 RL T  
*Eubacterium limosum* DSM 2051T DSM  
*Eubacterium limosum* DSM 20543T DSM  
*Eubacterium limosum* DSM 2598 DSM  
*Eubacterium limosum* DSM 2594 DSM  
*Eubacterium sp*[z] 09\_28\_02 Bp1us IBS  
*Eubacterium yurii* 10 RL T

*Helicococcus kunzii* DSM 10548T DSM  
*Helicobacter canadensis* NCTC 13242 CBB  
*Helicobacter canis* CIP 104793T CBB  
*Helicobacter canis* ZC80F NVU  
*Helicobacter cholecystus* CIP 105596T CBB  
*Helicobacter cinaedi* CCUG 18618T NVU  
*Helicobacter cinaedi* DSM 5958T DSM  
*Helicobacter ferreliae* DSM 7491T DSM  
*Helicobacter mustelae* CIP 103759T CBB  
*Helicobacter pullorum* CCUG 33637T NVU  
*Helicobacter pullorum* CCUG 33639 CBB  
*Helicobacter pullorum* CCUG 33840 CBB  
*Helicobacter pullorum* CB 561\_07 NVU  
*Helicobacter pullorum* CB 600\_07 NVU  
*Helicobacter pullorum* CB 601\_07 NVU  
*Helicobacter pullorum* NCTC 13154 CBB  
*Helicobacter pullorum* NCTC 13156 CBB  
*Helicobacter pullorum* NCTC 13157 CBB  
*Helicobacter pylori* 151 RL1  
*Helicobacter pylori* 26691\_c6 PCM  
*Helicobacter pylori* DSM 10242 DSM  
*Helicobacter pylori* DSM 21031T DSM  
*Helicobacter pylori* DSM 7492 DSM  
*Helicobacter pylori* DSM 9691 DSM  
*Helicobacter pylori* 399 PCM  
*Herbaspirillum muttiense* DSM 10281T HAM  
*Histophilus somni* 512 LAL  
*Hydrogenophaga flava* B339 UFL  
*Hydrogenophaga pseudoflava* B336 UFL  
*Hypomicrobium* sp MB61 UFL  
*Hypomicrobium* sp MB62 UFL  
*Hypomicrobium* sp MB64 UFL  
*Isosabella dechloracans* CCUG 30977T PAH  
*Inquilinus limosus* 2L\_Typ506 HAM  
*Inquilinus limosus* DSM 16000T HAM  
*Iodobacter fluxuatus* DSM 2764T DSM  
*Janthinobacterium lividum* B379 UFL  
*Janthinobacterium lividum* CIP 106720T HAM  
*Jonesia denitrificans* DSM 20603T DSM  
*Kingella denitrificans* CIP 109473T IBS  
*Kingella denitrificans* DSM 10202T DSM  
*Kingella kingae* CCM 5679T CCM  
*Kingella kingae* CCM 6195 CCM  
*Kingella kingae* DSM 7536T DSM  
*Kingella kingae* RV\_4 LBI  
*Kingella oralis* CIP 102803T IBS  
*Kingella oralis* DSM 18271T DSM  
*Kingella potus* DSM 18304T DSM  
*Kirastatospora phosalactinea* HKJ 222 HKJ  
*Klebsiella oxytoca* 35130 PFM  
*Klebsiella oxytoca* ATCC 700224 THL  
*Klebsiella oxytoca* DSM 5175T HAM  
*Klebsiella oxytoca* ESBL 30236 PFM  
*Klebsiella pneumoniae* 37585 PFM  
*Klebsiella pneumoniae* 37595 PFM  
*Klebsiella pneumoniae* 37924 PFM  
*Klebsiella pneumoniae* RV\_BK\_Q1\_8 LBI  
*Klebsiella pneumoniae* ssp *ozaenae* CCM 5792T CCM  
*Klebsiella pneumoniae* ssp *ozaenae* DSM 16356T HAM  
*Klebsiella pneumoniae* ssp *pneumoniae* S295\_1 CHE  
*Klebsiella pneumoniae* ssp *pneumoniae* DSM 30104T HAM  
*Klebsiella pneumoniae* ssp *rhinocleromatidis* CCM 5791T CCM  
*Klebsiella pneumoniae* ssp *rhinocleromatidis* DSM 16231T HAM  
*Klebsiella variicola* DSM 15968T HAM  
*Kloeckera apiculata*[ana] (Hanseniaspora\_uvarum[teleo]#) DSM 2766 DSM  
*Kloeckera apiculata*[ana] (Hanseniaspora\_uvarum[teleo]#) DSM 70788 DSM  
*Kluyvera ascorbata* DSM 4611T HAM  
*Kluyvera cryocrescens* DSM 4568T HAM  
*Kluyvera georgiana* DSM 9409T HAM  
*Kluyvera intermedia* DSM 4561T DSM  
*Kluyvera intermedia* DSM 4561T HAM  
*Kocuria aegyptia* DSM 17006T DSM  
*Kocuria carniphila* DSM 16004T DSM  
*Kocuria himachalensis* DSM 44905T DSM  
*Kocuria kristinae* DSM 20052T DSM  
*Kocuria kristinae* DSM 20321 DSM  
*Kocuria kristinae* IBS  
*Kocuria kristinae* N235M19\_Q5A IBS  
*Kocuria marina* DSM 16420T DSM  
*Kocuria palustris* DSM 11925T DSM  
*Kocuria polaris* DSM 14362T DSM  
*Kocuria rhizophila* DSM 11926T DSM  
*Kocuria rhizophila* DSM 348 DSM  
*Kocuria rhizophila* DSM 46222 DSM  
*Kocuria kristinae* DSM 20321 DSM  
*Kocuria kristinae* IBS  
*Kocuria kristinae* N235M19\_Q5A IBS  
*Kocuria marina* DSM 16420T DSM  
*Kocuria palustris* DSM 11925T DSM  
*Kocuria polaris* DSM 14362T DSM  
*Kocuria rhizophila* DSM 11926T DSM  
*Kocuria rhizophila* DSM 348 DSM  
*Kocuria rhizophila* DSM 46222 DSM  
*Kocuria kristinae* DSM 20321 DSM  
*Kocuria kristinae* IBS  
*Kocuria kristinae* N235M19\_Q5A IBS  
*Kocuria marina* DSM 16420T DSM  
*Kocuria palustris* DSM 11925T DSM  
*Kocuria polaris* DSM 14362T DSM  
*Kocuria rhizophila* DSM 11926T DSM  
*Kocuria rhizophila* DSM 348 DSM  
*Kocuria rhizophila* DSM 46222 DSM  
*Kyococcus sedentarius* IMET 11362T HKJ  
*Lactobacillus acidifarinae* 108702 CIP  
*Lactobacillus acidipiscis* DSM 15353 DSM  
*Lactobacillus acidipiscis* DSM 15836T DSM  
*Lactobacillus acidophilus* DSM 20079T DSM  
*Lactobacillus acidophilus* DSM 20242 DSM  
*Lactobacillus agilis* DSM 20506 DSM  
*Lactobacillus agilis* DSM 20509T DSM  
*Lactobacillus agilis* DSM 20516 DSM  
*Lactobacillus alpidus* DSM 15626T DSM  
*Lactobacillus alimentarius* DSM 20181 DSM  
*Lactobacillus alimentarius* DSM 26249T DSM  
*Lactobacillus amyolyticus* DSM 11664T DSM  
*Lactobacillus amylophilus* DSM 20533T DSM  
*Lactobacillus amyotrophicus* DSM 20534T DSM  
*Lactobacillus amyovorius* DSM 16696 DSM  
*Lactobacillus amyovorius* DSM 20531T DSM  
*Lactobacillus amyovorius* DSM 20532 DSM  
*Lactobacillus amyovorius* DSM 20532 DSM  
*Lactobacillus antri* DSM 16041T DSM  
*Lactobacillus antri* DSM 16042 DSM  
*Lactobacillus apodemi* CIP 108913T CIP  
*Lactobacillus aviarius* ssp *araffinosis* CIP 103145T CIP  
*Lactobacillus aviarius* ssp *aviarius* DSM 20654 DSM  
*Lactobacillus bifermans* DSM 20003T DSM  
*Lactobacillus brevis* DSM 1267 DSM  
*Lactobacillus brevis* DSM 1268 DSM  
*Lactobacillus brevis* DSM 20054T DSM  
*Lactobacillus brevis* DSM 20556 DSM  
*Lactobacillus brevis* DSM 2647 DSM  
*Lactobacillus buchneri* DSM 20057T DSM  
*Lactobacillus casei* DSM 20011T DSM  
*Lactobacillus catenaformis* 07\_065 ANA IBS  
*Lactobacillus catenaformis* CIP 104817T B CIP  
*Lactobacillus catenaformis* IBS\_MS\_39 IBS  
*Lactobacillus colemominis* CIP 106620T CIP  
*Lactobacillus collinoides* DSM 20486 DSM  
*Lactobacillus collinoides* DSM 20515T DSM  
*Lactobacillus concavus* DSM 17758T DSM  
*Lactobacillus coryniformis* ssp *coryniformis* DSM 20001T DSM  
*Lactobacillus coryniformis* ssp *coryniformis* DSM 20007 DSM  
*Lactobacillus coryniformis* ssp *torquens* DSM 20004T DSM  
*Lactobacillus coryniformis* ssp *torquens* DSM 20005 DSM  
*Lactobacillus crispatus* DSM 20256 DSM  
*Lactobacillus crispatus* DSM 20584T DSM  
*Lactobacillus curvatus* DSM 20016 DSM  
*Lactobacillus curvatus* DSM 20019T DSM  
*Lactobacillus curvatus* DSM 20495 DSM  
*Lactobacillus curvatus* DSM 20496 DSM  
*Lactobacillus curvatus* DSM 20499 DSM  
*Lactobacillus delbrueckii* ssp *bulgaricus* DSM 20081T DSM  
*Lactobacillus delbrueckii* ssp *delbrueckii* DSM 20674T DSM  
*Lactobacillus delbrueckii* ssp *indicus* DSM 15996T DSM  
*Lactobacillus delbrueckii* ssp *lactis* DSM 20072T DSM  
*Lactobacillus delbrueckii* ssp *lactis* DSM 20073 DSM  
*Lactobacillus delbrueckii* ssp *lactis* DSM 20076 DSM  
*Lactobacillus delbrueckii* ssp *lactis* DSM 20353 DSM  
*Lactobacillus diolivorans* DSM 14421T DSM  
*Lactobacillus equi* DSM 15832T DSM  
*Lactobacillus farctimiris* CIP 103136T CIP  
*Lactobacillus fermentum* DSM 20049 DSM  
*Lactobacillus fermentum* DSM 20055 DSM  
*Lactobacillus fermentum* DSM 20391 DSM  
*Lactobacillus fructivorans* DSM 20203T DSM  
*Lactobacillus fructivorans* DSM 20350 DSM  
*Lactobacillus fructivorans* DSM 20353 DSM  
*Lactobacillus frumenti* CIP 106922T CIP

Lactobacillus fermentum DSM 20055 DSM  
 Lactobacillus fermentum DSM 20391 DSM  
 Lactobacillus fructivorans DSM 20263T DSM  
 Lactobacillus fructivorans DSM 20350 DSM  
 Lactobacillus fructivorans DSM 20353 DSM  
 Lactobacillus frumenti CIP 106922T CIP  
 Lactobacillus fuchuensis DSM 14340T DSM  
 Lactobacillus fuchuensis DSM 14341 DSM  
 Lactobacillus fuchuensis DSM 14342 DSM  
 Lactobacillus gallinarum CIP 103611T CIP  
 Lactobacillus gasserii 47 RL  
 Lactobacillus gasserii DSM 20077 DSM  
 Lactobacillus gasserii DSM 20243T DSM  
 Lactobacillus gasserii DSM 20604 DSM  
 Lactobacillus gastricus DSM 16045T DSM  
 Lactobacillus gastricus DSM 16046 DSM  
 Lactobacillus graminis DSM 20719T DSM  
 Lactobacillus hammesii DSM 16381T DSM  
 Lactobacillus hammesii DSM 16382 DSM  
 Lactobacillus hansteri DSM 5661T DSM  
 Lactobacillus harbinensis DSM 16991T DSM  
 Lactobacillus helveticus DSM 20075T DSM  
 Lactobacillus hilgardii DSM 20051 DSM  
 Lactobacillus hilgardii DSM 20176T DSM  
 Lactobacillus homohiochii DSM 20354 DSM  
 Lactobacillus homohiochii DSM 20571T DSM  
 Lactobacillus iners CIP 105823T CIP  
 Lactobacillus ingluviei DSM 14792 DSM  
 Lactobacillus ingluviei DSM 15946T DSM  
 Lactobacillus intestinalis DSM 6629T DSM  
 Lactobacillus jensenii 154 RL  
 Lactobacillus jensenii DSM 20557T DSM  
 Lactobacillus johnsonii DSM 20552 DSM  
 Lactobacillus kalixensis DSM 16043T DSM  
 Lactobacillus kalixensis DSM 16044 DSM  
 Lactobacillus kefiranoformans ssp kefirgranum DSM 10550T DSM  
 Lactobacillus kefirii DSM 20485 DSM  
 Lactobacillus kefirii DSM 20567T DSM  
 Lactobacillus kefirii DSM 20588 DSM  
 Lactobacillus kitchii DSM 13961T DSM  
 Lactobacillus kitasatonis DSM 16761T DSM  
 Lactobacillus kunkeei DSM 12361T DSM  
 Lactobacillus lindneri DSM 20690T DSM  
 Lactobacillus lindneri DSM 20692 DSM  
 Lactobacillus malefermentans DSM 20177 DSM  
 Lactobacillus malefermentans DSM 20570 DSM  
 Lactobacillus malefermentans DSM 5705T DSM  
 Lactobacillus mali DSM 20444T DSM  
 Lactobacillus mali DSM 20483 DSM  
 Lactobacillus manihotivorans CIP 105851T CIP  
 Lactobacillus mindensis DSM 14500T DSM  
 Lactobacillus mucosae DSM 13345T DSM  
 Lactobacillus marinus DSM 20452T DSM  
 Lactobacillus martinus DSM 20453 DSM  
 Lactobacillus nagellii DSM 13675T DSM  
 Lactobacillus nartensis DSM 16982T DSM  
 Lactobacillus oligofermentans DSM 15704 DSM  
 Lactobacillus oligofermentans DSM 15705 DSM  
 Lactobacillus oligofermentans DSM 15706 DSM  
 Lactobacillus oligofermentans DSM 15708 DSM  
 Lactobacillus oris DSM 4861 DSM  
 Lactobacillus oris DSM 4866 DSM  
 Lactobacillus panis DSM 6035T DSM  
 Lactobacillus paritheris DSM 15945T DSM  
 Lactobacillus parabuchneri DSM 5967 DSM  
 Lactobacillus parabuchneri DSM 15352 DSM  
 Lactobacillus parabuchneri DSM 5706 DSM  
 Lactobacillus parabuchneri DSM 5707T DSM  
 Lactobacillus parabuchneri DSM 5708 DSM  
 Lactobacillus paracasei ssp paracasei DSM 20006 DSM  
 Lactobacillus paracasei ssp paracasei DSM 20008 DSM  
 Lactobacillus paracasei ssp paracasei DSM 20020 DSM  
 Lactobacillus paracasei ssp paracasei DSM 20207 DSM  
 Lactobacillus paracasei ssp paracasei DSM 20244 DSM  
 Lactobacillus paracasei ssp paracasei DSM 20312 DSM  
 Lactobacillus paracasei ssp paracasei DSM 2649 DSM  
 Lactobacillus paracasei ssp paracasei DSM 46331 DSM  
 Lactobacillus paracasei ssp paracasei DSM 5457 DSM  
 Lactobacillus paracasei ssp paracasei DSM 5622T DSM  
 Lactobacillus paracasei ssp paracasei DSM 8741 DSM  
 Lactobacillus paracasei ssp paracasei DSM 8742 DSM  
 Lactobacillus paracasei ssp tolerans DSM 20012 DSM  
 Lactobacillus paracasei ssp tolerans DSM 20258T DSM  
 Lactobacillus paracollinoideus DSM 15502T DSM  
 Lactobacillus parapantarum DSM 10667T DSM  
 Lactobacillus pentosus DSM 16366 DSM  
 Lactobacillus pentosus DSM 20199 DSM  
 Lactobacillus pentosus DSM 20314T DSM  
 Lactobacillus perolens DSM 12744T DSM  
 Lactobacillus perolens DSM 12745 DSM  
 Lactobacillus plantarum DSM 1055 DSM  
 Lactobacillus plantarum DSM 12028 DSM  
 Lactobacillus plantarum DSM 13273 DSM  
 Lactobacillus plantarum DSM 20205 DSM  
 Lactobacillus plantarum DSM 20246 DSM  
 Lactobacillus plantarum DSM 2601 DSM  
 Lactobacillus plantarum DSM 2648 DSM  
 Lactobacillus plantarum ssp argentoratensis DSM 16365T DSM  
 Lactobacillus plantarum ssp plantarum DSM 20174T DSM  
 Lactobacillus pontis DSM 8475T DSM  
 Lactobacillus psittaci CIP 10649T CIP  
 Lactobacillus rennini DSM 20253T DSM  
 Lactobacillus rennini DSM 20254 DSM  
 Lactobacillus reuteri DSM 20015 DSM  
 Lactobacillus reuteri DSM 20016T DSM  
 Lactobacillus reuteri DSM 20052 DSM  
 Lactobacillus reuteri DSM 20056 DSM  
 Lactobacillus reuteri DSM 8534 DSM  
 Lactobacillus rhamnosus CIP A157T CIP  
 Lactobacillus rhamnosus DSM 20021T DSM  
 Lactobacillus rossiae DSM 15814T DSM  
 Lactobacillus ruminis DSM 20403T DSM  
 Lactobacillus ruminis DSM 20404 DSM  
 Lactobacillus ruminis DSM 20511 DSM  
 Lactobacillus saerimneri DSM 16027 DSM  
 Lactobacillus saerimneri DSM 16049T DSM  
 Lactobacillus sakei DSM 20100 DSM  
 Lactobacillus sakei DSM 20101 DSM  
 Lactobacillus sakei DSM 20494 DSM  
 Lactobacillus sakei DSM 20497 DSM  
 Lactobacillus sakei DSM 6333 DSM  
 Lactobacillus sakei ssp carnosus DSM 15740 DSM  
 Lactobacillus sakei ssp carnosus DSM 15821T DSM  
 Lactobacillus sakei ssp sakei DSM 20017T DSM  
 Lactobacillus salivarius DSM 20492 DSM  
 Lactobacillus salivarius DSM 20554 DSM  
 Lactobacillus salivarius DSM 20555T DSM  
 Lactobacillus sanfranciscensis DSM 20451T DSM  
 Lactobacillus sanfranciscensis DSM 20663 DSM  
 Lactobacillus saccharensis DSM 16230T DSM  
 Lactobacillus sharpeae DSM 20504 DSM  
 Lactobacillus sharpeae DSM 20505T DSM  
 Lactobacillus sharpeae DSM 20506 DSM  
 Lactobacillus sharpeae DSM 20507 DSM  
 Lactobacillus sp 101810 CIP  
 Lactobacillus sp 101909 CIP  
 Lactobacillus sp 102006 CIP  
 Lactobacillus sp CIP 100850 CIP  
 Lactobacillus sp CIP 101430 CIP  
 Lactobacillus sp CIP 102025 CIP  
 Lactobacillus sp CIP 102166 CIP  
 Lactobacillus sp CIP 102309 CIP  
 Lactobacillus sp CIP 102623 CIP  
 Lactobacillus sp CIP 103701 CIP  
 Lactobacillus sp CIP 105932T CIP  
 Lactobacillus sp DSM 10125 DSM  
 Lactobacillus sp N23 101341 CIP  
 Lactobacillus spicheri DSM 15429T DSM  
 Lactobacillus suebicus DSM 5007T DSM  
 Lactobacillus suebicus DSM 5006 DSM  
 Lactobacillus ulunensis DSM 16047T DSM  
 Lactobacillus ulunensis DSM 16048 DSM  
 Lactobacillus vaccinoferens DSM 15802T DSM  
 Lactobacillus vaccinoferens DSM 20634T DSM  
 Lactobacillus versmoldensis DSM 14857T DSM  
 Lactobacillus vini DSM 20605T DSM  
 Lactobacillus vitulinus DSM 20405T DSM  
 Lactobacillus zeae DSM 20278T DSM  
 Lactobacillus zymae 108703 CIP  
 Lactococcus garvieae DSM 20684T DSM  
 Lactococcus garvieae DSM 6763 DSM  
 Lactococcus lactis IBS\_MS\_6 IBS  
 Lactococcus lactis ssp cremoris DSM 20069T DSM  
 Lactococcus lactis ssp cremoris DSM 20386 DSM  
 Lactococcus lactis ssp lactis 3C1\_Q5A IBS  
 Lactococcus lactis ssp lactis DSM 20175 DSM  
 Lactococcus lactis ssp lactis DSM 20384 DSM  
 Lactococcus lactis ssp lactis DSM 20481T DSM

*Lactobacillus* sp CIP 102309 CIP  
*Lactobacillus* sp CIP 102623 CIP  
*Lactobacillus* sp CIP 103701 CIP  
*Lactobacillus* sp CIP 105630T CIP  
*Lactobacillus* sp DSM 10125 DSM  
*Lactobacillus* sp H23 10134T CIP  
*Lactobacillus* spicheri DSM 15429T DSM  
*Lactobacillus* suebicus DSM 5067T DSM  
*Lactobacillus* suebicus DSM 5068T DSM  
*Lactobacillus* ulunensis DSM 16047T DSM  
*Lactobacillus* ulunensis DSM 16048 DSM  
*Lactobacillus* vaccinostercus DSM 15802T DSM  
*Lactobacillus* vaccinostercus DSM 20634T DSM  
*Lactobacillus* versmloensis DSM 14637T DSM  
*Lactobacillus* vimi DSM 20605T DSM  
*Lactobacillus* vitulinus DSM 20405T DSM  
*Lactobacillus* zeae DSM 20178T DSM  
*Lactobacillus* zymae 10670S CIP  
*Lactococcus* garvieae DSM 20664T DSM  
*Lactococcus* garvieae DSM 6782 DSM  
*Lactococcus* lactis IBS\_MS\_6 IBS  
*Lactococcus* lactis ssp crenoris DSM 20069T DSM  
*Lactococcus* lactis ssp crenoris DSM 20388 DSM  
*Lactococcus* lactis ssp lactis 3C1\_Q54 IBS  
*Lactococcus* lactis ssp lactis DSM 20175 DSM  
*Lactococcus* lactis ssp lactis DSM 20384 DSM  
*Lactococcus* lactis ssp lactis DSM 20481T DSM  
*Lactococcus* lactis ssp lactis DSM 20661 DSM  
*Lactococcus* plantarum DSM 20686T DSM  
*Lactococcus* raffinolactis DSM 20443T DSM  
*Lechevalieria* flava IMET 0748T HKJ  
*Leclercia* adecarboxylata DSM 4443 DSM  
*Leclercia* adecarboxylata DSM 30777 HAM  
*Lecythophora* hoffmannii 118 VML  
*Legionella* anisa ATCC 35290 TV VUN  
*Legionella* anisa ATCC 35291 TV VUN  
*Legionella* anisa ATCC 35292T TV VUN  
*Legionella* anisa DSM 17627T DSM  
*Legionella* anisa LE\_10541\_09 ERL  
*Legionella* anisa LP0076 TV VUN  
*Legionella* anisa LP0086 TV VUN  
*Legionella* anisa LP0109 TV VUN  
*Legionella* belliardensis CCUG 45921T TV VUN  
*Legionella* birninghamensis ATCC 43702T TV VUN  
*Legionella* birninghamensis ATCC 700709 TV VUN  
*Legionella* birninghamensis DSM 19232T DSM  
*Legionella* bozewantii ATCC 33217T TV VUN  
*Legionella* bozewantii ATCC 35545 TV VUN  
*Legionella* bozewantii CCUG 31569 TV VUN  
*Legionella* bozewantii CCUG 46826 TV VUN  
*Legionella* brunensis BCRC 17046T TV VUN  
*Legionella* brunensis DSM 19236T DSM  
*Legionella* cherrii BCRC 17044T TV VUN  
*Legionella* cherrii DSM 19213T DSM  
*Legionella* cincinnatiensis DSM 19233T DSM  
*Legionella* cincinnatiensis TV VUN  
*Legionella* dumoffii 25 RLT  
*Legionella* dumoffii 26 RLT  
*Legionella* dumoffii ATCC 33279T TV VUN  
*Legionella* dumoffii CCUG 47789 TV VUN  
*Legionella* dumoffii LGHPNH\_2003013 TV VUN  
*Legionella* dumoffii LGHPNH\_2004005 TV VUN  
*Legionella* erythra CCUG 29667T TV VUN  
*Legionella* feeleti ATCC 35072T TV VUN  
*Legionella* feeleti ATCC 35849 TV VUN  
*Legionella* feeleti ATCC 700513 TV VUN  
*Legionella* feeleti ATCC 700514 TV VUN  
*Legionella* feeleti DSM 17645T DSM  
*Legionella* feeleti LP0050 TV VUN  
*Legionella* gormanii ATCC 33297T TV VUN  
*Legionella* gormanii ATCC 43769 TV VUN  
*Legionella* hackeliae DSM 19214T DSM  
*Legionella* impietisoli DSM 18493T DSM  
*Legionella* israelensis CCUG 31115T TV VUN  
*Legionella* jamestowniensis DSM 19215T DSM  
*Legionella* jordani ATCC 33623T TV VUN  
*Legionella* jordani ATCC 700762 TV VUN  
*Legionella* lansingensis ATCC 49751T TV VUN  
*Legionella* longbeachae ATCC 33462T TV VUN  
*Legionella* longbeachae ATCC 33484 TV VUN  
*Legionella* longbeachae CCUG 28612 TV VUN  
*Legionella* longbeachae DSM 10572T DSM  
*Legionella* micdadei ATCC 33218T TV VUN  
*Legionella* moravica DSM 19234T DSM  
*Leuconostoc* mesenteroides ssp crenoris DSM 20346T DSM  
*Leuconostoc* mesenteroides ssp dextranicum DSM 20187 DSM  
*Leuconostoc* mesenteroides ssp mesenteroides DSM 20240 DSM  
*Leuconostoc* mesenteroides ssp mesenteroides DSM 20241 DSM  
*Leuconostoc* mesenteroides ssp mesenteroides DSM 20343T DSM  
*Leuconostoc* pseudomesenteroides DSM 20193T DSM  
*Leuconostoc* pseudomesenteroides DSM 5624 DSM  
*Listeria* grayi DSM 20596 DSM  
*Listeria* grayi DSM 20601T DSM  
*Listeria* innocua DSM 20649T DSM  
*Listeria* ivanovii ssp ivanovii DSM 20750T DSM  
*Listeria* ivanovii ssp londoniensis DSM 12491T DSM  
*Listeria* monocytogenes DSM 20600T DSM  
*Listeria* monocytogenes ME\_1601\_05 THL  
*Listeria* monocytogenes M019346\_1 CH6  
*Listeria* monocytogenes RV412\_41\_201C\_03 LBK  
*Listeria* monocytogenes ser4E ATCC 19115 THL  
*Listeria* seeligeri DSM 20751T DSM  
*Listeria* welshimeri DSM 20650T DSM  
*Listonella* anguillarum 02 EGS  
*Listonella* anguillarum 03 EGS  
*Listonella* anguillarum DSM 11323 DSM  
*Listonella* anguillarum DSM 21597T DSM  
*Listonella* anguillarum LMG 4437T HAM  
*Listonella* anguillarum serotype 02 EGS  
*Listonella* anguillarum serotype 03 EGS  
*Listonella* pelagia DSM 21203T DSM  
*Lodderomyces* elongisporus CBS 2605T CBS  
*Lysinibacillus* fusiformis DSM 2898T DSM  
*Lysinibacillus* sphaericus B323 UFL  
*Lysinibacillus* sphaericus DSM 28T DSM  
*Macrocococcus* caseolyticus 562\_Q54 IBS  
*Macrocococcus* caseolyticus 503\_Q54 IBS  
*Macrocococcus* caseolyticus DSM 20597T DSM  
*Magnusiomyces* capitatus 258 PSE  
*Magnusiomyces* capitatus 281 PSE  
*Magnusiomyces* capitatus 32 P3F  
*Magnusiomyces* capitatus RV\_2\_2005 AUR  
*Malassezia* furfur DSM 6170 DSM  
*Malassezia* pachydermatis VML  
*Malikia* spinosa DSM 15801T HAM  
*Mannheimia* glucosida DSM 19638T DSM  
*Mannheimia* granulomatis DSM 19156T DSM  
*Mannheimia* haemolytica 525 LAL  
*Mannheimia* haemolytica DSM 10531T DSM  
*Mannheimia* haemolytica DSM 3283 DSM  
*Mannheimia* varigena DSM 19166T DSM  
*Martinibacillus* marinus DSM 1297T DSM  
*Massilia* sp 992100341\_2 LBN  
*Massilia* timonae B6 P3F  
*Massilia* timonae 992500081 LBN  
*Massilia* timonae V4\_23089\_03 17 UKE  
*Meganomas* sp[2] 07\_136 H2 IBS  
*Mesorhizobium* loti DSM 2626T DSM  
*Methanomonas* methylovora HB69 UFL  
*Methanomonas* methylovora ssp thiaminophila MB66 UFL  
*Methylobaculum* marina B512 UFL  
*Methylobaculum* terricola B511 UFL  
*Methylobaculum* glycyogenes MB123 UFL  
*Methylobacillus* sp (glycyogenes) MB50 UFL  
*Methylobacillus* sp (glycyogenes) MB52 UFL  
*Methylobacillus* sp MB118 UFL  
*Methylobacterium* extorquens MB129 UFL  
*Methylobacterium* extorquens MB125 UFL  
*Methylobacterium* extorquens MB65 UFL  
*Methylobacterium* extorquens MB66 UFL  
*Methylobacterium* extorquens MB72 UFL  
*Methylobacterium* extorquens MB91 UFL  
*Methylobacterium* fujisawaense B235 UFL  
*Methylobacterium* mesophilicum MB162 UFL  
*Methylobacterium* organophilum MB67 UFL  
*Methylobacterium* radiotolerans B226 UFL  
*Methylobacterium* rhodesianum B237 UFL  
*Methylobacterium* rhodesianum MB90 UFL  
*Methylobacterium* rhodesianum MB92 UFL  
*Methylobacterium* rhodesianum MB93 UFL  
*Methylobacterium* rhodesianum MB94 UFL  
*Methylobacterium* rhodesianum MB96 UFL  
*Methylobacterium* rhodesianum MB99 UFL  
*Methylobacterium* rhodinum MB161 UFL  
*Methylobacterium* sp DSM 185T DSM  
*Methylobacterium* sp Isolat\_CAR MED  
*Methylobacterium* zatmani B234 UFL  
*Microbacterium* aerolatum DSM 14217T DSM



*Microbacterium flavum* 131 RL  
*Microbacterium foliorum* DSM 12966T DSM  
*Microbacterium halotolerans* DSM 15855T DSM  
*Microbacterium hominis* DSM 12509T DSM  
*Microbacterium hydrocarbonoxydans* DSM 16089T DSM  
*Microbacterium imperiale* DSM 20530T DSM  
*Microbacterium keratanylucicum* DSM 8606T DSM  
*Microbacterium ketoreducens* DSM 12510T DSM  
*Microbacterium koreense* DSM 16332T DSM  
*Microbacterium lacticum* DSM 20172 DSM  
*Microbacterium lacticum* DSM 20427T DSM  
*Microbacterium lacticum* IMET 10712T HKJ  
*Microbacterium laeviformans* DSM 20140T DSM  
*Microbacterium liquefaciens* DSM 20637 DSM  
*Microbacterium liquefaciens* DSM 20638T DSM  
*Microbacterium liquefaciens* HKC 11374 HKJ  
*Microbacterium luteolum* DSM 20143T DSM  
*Microbacterium maritimum* DSM 12512T DSM  
*Microbacterium natorense* DSM 17277T DSM  
*Microbacterium olearum* DSM 16091T DSM  
*Microbacterium oxydans* DSM 20578T DSM  
*Microbacterium paludicola* DSM 16915T DSM  
*Microbacterium phyllosphaerae* DSM 13468T DSM  
*Microbacterium resistens* DSM 11986T DSM  
*Microbacterium saperdae* B245 UFL  
*Microbacterium saperdae* IMET 11076T HKJ  
*Microbacterium schleiferi* DSM 20606 DSM  
*Microbacterium* sp DSM 15461 DSM  
*Microbacterium* sp DSM 20619 DSM  
*Microbacterium* sp DSM 20620 DSM  
*Microbacterium* sp DSM 20621 DSM  
*Microbacterium terrae* DSM 8610T DSM  
*Microbacterium terregens* DSM 20449T DSM  
*Microbacterium testaceum* DSM 20166T DSM  
*Microbacterium testaceum* DSM 20526 DSM  
*Microbacterium testaceum* IMET 10361T HKJ  
*Microbacterium thalassium* DSM 12511T DSM  
*Microbacterium thalassium* DSM 12079T DSM  
*Microbacterium trichothecenylicum* DSM 8608T DSM  
*Microbacterium uimi* DSM 16931T DSM  
*Micrococcus luteus* 58 PFM  
*Micrococcus luteus* BK\_01140\_08 ERL  
*Micrococcus luteus* IMET 11249 HKJ  
*Micrococcus luteus* H203 CPE  
*Micromonospora* sp B260 UFL  
*Microsporium canis* 30 VML  
*Microsporium\_gypseum*[ana]# (Archmoderna\_gypseum[teleo]) 26 VML  
*Microsporium\_gypseum*[ana]# (Archmoderna\_gypseum[teleo]) RV491\_Sep05\_E LBK  
*Microsporium\_gypseum*[ana]# (Archmoderna\_gypseum[teleo]) VML  
*Mobiluncus curtisii* DSM 2711 DSM  
*Moesliella wisconsinensis* DSM 5070T HAM  
*Moesziomyces bullatus* 993900693 LBK  
*Moraxella\_sg\_branhamella catarrhalis* 09016322 HLD  
*Moraxella\_sg\_branhamella catarrhalis* 14 PFM  
*Moraxella\_sg\_branhamella catarrhalis* 15 PFM  
*Moraxella\_sg\_branhamella catarrhalis* ATCC RVA2\_98 CHB  
*Moraxella\_sg\_branhamella catarrhalis* DSM 11994 DSM  
*Moraxella\_sg\_branhamella catarrhalis* DSM 9143T DSM  
*Moraxella\_sg\_branhamella catarrhalis* ME\_6374\_05 THL  
*Moraxella\_sg\_branhamella ovis* DSM 18073T DSM  
*Moraxella\_sg\_Moraxella atlantica* DSM 6999T DSM  
*Moraxella\_sg\_Moraxella bovis* DSM 14165T DSM  
*Moraxella\_sg\_Moraxella bovis* DSM 6328T DSM  
*Moraxella\_sg\_Moraxella bovis* DSM 6329 DSM  
*Moraxella\_sg\_Moraxella canis* 10096670\_101 USH  
*Moraxella\_sg\_Moraxella canis* DSM 18277T DSM  
*Moraxella\_sg\_Moraxella caprae* DSM 19149T DSM  
*Moraxella\_sg\_Moraxella equi* DSM 18027T DSM  
*Moraxella\_sg\_Moraxella lacunata* DSM 18052T DSM  
*Moraxella\_sg\_Moraxella lincolni* DSM 19150T DSM  
*Moraxella\_sg\_Moraxella nonliquefaciens* 16 PFM  
*Moraxella\_sg\_Moraxella nonliquefaciens* DSM 6327T DSM  
*Moraxella\_sg\_Moraxella nonliquefaciens* DSM 6360 DSM  
*Moraxella\_sg\_Moraxella oblonga* DSM 17235T DSM  
*Moraxella\_sg\_Moraxella osloensis* 09\_7117605 FHB  
*Moraxella\_sg\_Moraxella osloensis* 76 PFM  
*Moraxella\_sg\_Moraxella osloensis* 992100145\_1 LBK  
*Moraxella\_sg\_Moraxella osloensis* CS 246\_4b BR6  
*Moraxella\_sg\_Moraxella osloensis* DSM 6339 DSM  
*Moraxella\_sg\_Moraxella osloensis* DSM 6995T DSM  
*Moraxella\_sg\_Moraxella osloensis* VA\_13686\_02 19 UKE  
*Morganella morganii* (E) 21086317\_HLD  
*Morganella morganii* (PX) 22086121\_HLD  
*Morganella morganii* 9544\_1 CHB  
*Mycobacterium kansasii* VAR  
*Mycobacterium kumamotoense* DSM 45093T DSM  
*Mycobacterium lacus* DSM 44577T DSM  
*Mycobacterium mageritense* DSM 44476T DSM  
*Mycobacterium malmoense* G205 BSI  
*Mycobacterium malmoense* 1023 BSI  
*Mycobacterium malmoense* 12722 BSI  
*Mycobacterium manitobense* DSM 44615 DSM  
*Mycobacterium marinum* E\_07\_2007 BSI  
*Mycobacterium mageritense* DSM 44602T DSM  
*Mycobacterium mucogenicum* E\_06\_2007 BSI  
*Mycobacterium palustre* DSM 44572T DSM  
*Mycobacterium peregrinum* 15 PGM  
*Mycobacterium peregrinum* DSM 43271T DSM  
*Mycobacterium phlei* DSM 43239T DSM  
*Mycobacterium pseudoshottsii* DSM 45108T DSM  
*Mycobacterium pulveris* DSM 44222T DSM  
*Mycobacterium rhodesiae* DSM 44223T DSM  
*Mycobacterium seoulense* DSM 44988T DSM  
*Mycobacterium shottsii* DSM 45125T DSM  
*Mycobacterium simiae* O1 TWf  
*Mycobacterium simiae* 423\_E\_I\_2007 BSI  
*Mycobacterium smegmatis* 19 PGM  
*Mycobacterium smegmatis* 19\_HI PGM  
*Mycobacterium smegmatis* 3483 BSI  
*Mycobacterium smegmatis* VAR  
*Mycobacterium szulgai* DSM 44166T DSM  
*Mycobacterium thermoresistibile* DSM 44167T DSM  
*Mycobacterium tokaiense* DSM 44635T DSM  
*Mycobacterium tuberculosis* 001\_R\_807\_HI PGM  
*Mycobacterium tuberculosis* A136\_R\_899 PGM  
*Mycobacterium tuberculosis* A160\_R\_424 PGM  
*Mycobacterium tuberculosis* W148\_R\_653\_HI PGM  
*Mycobacterium tuberculosis* W148\_R\_722\_HI PGM  
*Mycobacterium tuberculosis* W206\_R\_445 PGM  
*Mycobacterium tuberculosis* W336\_R\_580 PGM  
*Mycobacterium ulcerans* xx VAR  
*Mycobacterium xenopi* O1 TWf  
*Mycobacterium xenopi* 0690 BSI  
*Mycobacterium xenopi* 0932 BSI  
*Mycobacterium xenopi* 22 PGM  
*Mycoplasma hyorhinis* FLR  
*Myroides odoratimimus* 090623 LBK  
*Myroides odoratimimus* LMG 4029T HAM  
*Myroides odoratimimus* UR\_01389\_09 ERL  
*Myroides odoratus* CCM 3296T CCM  
*Myroides odoratus* CCM 3297 CCM  
*Myroides odoratus* DSM 2801T HAM  
*Neisseria bacilliformis* 30 PFM  
*Neisseria canis* DSM 18000T DSM  
*Neisseria cinerea* DSM 4630T DSM  
*Neisseria elongata* ssp elongata DSM 17112T DSM  
*Neisseria elongata* ssp nitroreducens DSM 17632T DSM  
*Neisseria flavescens* 533 PGM  
*Neisseria flavescens* C1\_2 PGM  
*Neisseria flavescens* DSM 17633T DSM  
*Neisseria gonorrhoeae* ATCC 49226 THL  
*Neisseria gonorrhoeae* a04 PGM  
*Neisseria gonorrhoeae* CH011 PGM  
*Neisseria gonorrhoeae* 16005 Ce PGM  
*Neisseria gonorrhoeae* p5601 PGM  
*Neisseria gonorrhoeae* sp021 Ce PGM  
*Neisseria gonorrhoeae* sp034 PGM  
*Neisseria lactamica* 78 PGM  
*Neisseria lactamica* DSM 4691T DSM  
*Neisseria macacae* DSM 19175T DSM  
*Neisseria meningitidis* 070309 PGM  
*Neisseria meningitidis* 1522 PGM  
*Neisseria meningitidis* 1541 PGM  
*Neisseria meningitidis* 24086406 HLD  
*Neisseria meningitidis* 639 PGM  
*Neisseria meningitidis* C1\_2 PGM  
*Neisseria meningitidis* ME\_6295\_05 THL  
*Neisseria meningitidis* Serogroup\_A BRL  
*Neisseria meningitidis* Serogroup\_w135 BRL  
*Neisseria meningitidis* Serogroup\_X BRL  
*Neisseria meningitidis* Serogroup\_Y BRL  
*Neisseria mucosa* 1591 PGM  
*Neisseria mucosa* DSM 17611T DSM  
*Neisseria perflava* 1621 PGM  
*Neisseria perflava* DSM 18009T DSM  
*Neisseria polysacchara* 547 PGM  
*Neisseria sicca* 110 PGM  
*Neisseria sicca* 70 PGM