



INFORME BREVE

Frecuencia de aislamiento y resistencia a los antimicrobianos de *Acinetobacter* spp. recuperadas de pacientes atendidos en un hospital universitario de la Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina

Carlos Hernán Rodríguez*, Marcela Nastro, Laura Dabos, Carlos Vay y Angela Famiglietti

Laboratorio de Bacteriología, Departamento de Bioquímica Clínica, Hospital de Clínicas José de San Martín, Facultad de Farmacia y Bioquímica. Universidad de Buenos Aires, Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina

Recibido el 8 de julio de 2014; aceptado el 23 de octubre de 2014

PALABRAS CLAVE

Acinetobacter spp.;
Resistencia a los
antimicrobianos;
MALDI-TOF

Resumen

Se analizaron 200 aislamientos de *Acinetobacter* correspondientes a igual cantidad de pacientes atendidos en el Hospital de Clínicas José de San Martín entre marzo de 2013 y junio de 2014. La identificación se realizó mediante espectrometría de masa y se confirmó con métodos moleculares. La sensibilidad a los antimicrobianos se determinó mediante el sistema Vitek-2. La correlación entre la identificación obtenida con la espectrometría de masa y las técnicas moleculares fue del 94 %. *Acinetobacter baumannii* multirresistente fue la genespecie predominante (92,6 %) en la infección intrahospitalaria, y la frecuencia de aislamiento de *Acinetobacter pittii* y de *Acinetobacter nosocomialis* fue de 3,5 % y 0,5 %, respectivamente. En la infección extrahospitalaria se observó una mayor presencia de otras genespecies. *Acinetobacter johnsonii* y *A. baumannii* fueron las más frecuentes y juntas representaron el 45,9 % de los hallazgos. La resistencia a carbapenems y a minociclina solo se observó en *A. baumannii*. La espectrometría de masa resultó ser una herramienta útil en la identificación de las diferentes genespecies.

© 2014 Asociación Argentina de Microbiología. Publicado por Elsevier España, S.L. Todos los derechos reservados.

* Autor para correspondencia.

Correo electrónico: carlos_hernanrodriguez@hotmail.com (C. Hernán Rodríguez).

KEYWORDS

Acinetobacter spp.;
Antimicrobial
resistance;
MALDI-TOF

Frequency and antimicrobial resistance of *Acinetobacter* species in a university hospital of Buenos Aires City

Abstract

Two-hundred *Acinetobacter* isolates belonging to 200 patients admitted to Hospital de Clínicas José de San Martín during the period March 2013-June 2014 were analyzed. The identification was performed by mass spectrometry and was confirmed by molecular methods. Susceptibility to antimicrobials was studied by the Vitek-2 system. A 94% correlation of both identification methods was found. Multidrug resistant *Acinetobacter baumannii* was the predominant genomic species (92.6%) in hospital-acquired infections, whereas *Acinetobacter pittii* and *Acinetobacter nosocomialis* accounted for 3.5% and 0.5% of the isolates recovered, respectively. In community-acquired infections a major predominance of the different genomic species was observed. *Acinetobacter johnsonii* and *A. baumannii* are the most frequent species, accounting for 45.9% of the isolates recovered. Resistance to carbapenems and minocycline was only observed in *A. baumannii*. Mass spectrophotometry was an effective tool for the identification of the different genomic species.

© 2014 Asociación Argentina de Microbiología. Published by Elsevier España, S.L. All rights reserved.

El género *Acinetobacter* spp. está constituido por 33 genoespecies. La imposibilidad de distinguirlas mediante pruebas bioquímicas ha dificultado el estudio de la epidemiología del género¹⁰.

La utilización de técnicas moleculares capaces de identificar las genoespecies de *Acinetobacter* ha permitido evidenciar grandes diferencias en la incidencia de estas, así como en sus perfiles de resistencia a los antimicrobianos^{1,4,12}. Asimismo, la mayor disponibilidad de equipos de espectrometría de masa posibilitaría a los laboratorios de microbiología clínica de mediana complejidad identificar dichas genoespecies.

Si bien *Acinetobacter baumannii* es la genoespecie aislada con mayor frecuencia, asociada en forma predominante a infecciones hospitalarias, recientemente se han publicado varios trabajos en diferentes países en los cuales *Acinetobacter nosocomialis* y *Acinetobacter pittii* están presentes en altos porcentajes, desplazando incluso a *A. baumannii*^{3,5,7,13}.

La multirresistencia es característica de *A. baumannii*, en este microorganismo son las carbapenemasas de clase D, fundamentalmente OXA-23, las responsables de la resistencia a carbapenems en las cepas endémicas¹⁰. Sin embargo, en genoespecies diferentes a *A. baumannii* se han descrito otras carbapenemasas de manera esporádica en nuestro país y frecuentemente en otras regiones^{11,13}.

El objetivo de este trabajo fue estudiar en forma prospectiva la frecuencia de aislamiento de *Acinetobacter* spp., las características clínicas de los afectados y la resistencia a los antimicrobianos de los aislamientos recuperados de pacientes atendidos en un hospital universitario de la ciudad de Buenos Aires, incluyendo internados y ambulatorios. También se quiso evaluar la capacidad de la espectrometría de masa comparada con las técnicas de biología molecular para identificar genoespecies de *Acinetobacter* spp.

Se estudiaron en forma prospectiva todos los aislamientos de *Acinetobacter* spp. recuperados de pacientes internados o atendidos por consultorio externo en el Hospital de

Clínicas "José de San Martín", Universidad de Buenos Aires, entre marzo de 2013 y junio de 2014.

Los aislamientos fueron identificados por características culturales y mediante la espectrometría de masa con un equipo MALDI-TOF, Bruker, Daltonics. Los resultados fueron analizados utilizando la base de datos de Biotyper (versión 3.1, BD, Bruker Daltonik, Bremen, Alemania). Se seleccionó un 50 % representativo de las diferentes genoespecies para corroborar la identificación de la espectrometría de masa con métodos moleculares^{6,14}. La técnica de *rpoB* fue utilizada en 27 casos, *A. baumannii* 5/159, *A. johnsonii* 3/9, *A. pittii* 5/7, *Acinetobacter lwoffii* 3/7, *Acinetobacter junii* 2/5, *Acinetobacter ursingii* 2/4, *Acinetobacter guillouiae* 2/3, *Acinetobacter baylyi* 1/2 y 1/1 en *Acinetobacter haemolyticus*, *Acinetobacter* 15TU, *A. nosocomialis* y *Acinetobacter gyllenbergii*. La presencia de *bla*_{OXA-51}-like fue investigada en 98 aislamientos, 80/159 de *A. baumannii* y en 18 aislamientos de otras genoespecies. La técnica de *rpoB* siempre se consideró definitiva, y la detección de *bla*_{OXA-51}-like se consideró definitiva cuando fue posterior a la identificación de la genoespecie *A. baumannii* por MALDI-TOF. La sensibilidad a los antimicrobianos fue determinada mediante el equipo VITEK-2 y la actividad de minociclina fue determinada mediante dilución en agar. Se utilizaron las recomendaciones del *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI) en la interpretación de los resultados².

La presencia de *bla*_{OXA-51}, *bla*_{OXA-23}, *bla*_{OXA-58} y *bla*_{OXA-24/40} se investigó mediante cebadores específicos de acuerdo con lo publicado por Woodford *et al.*¹⁴.

Para cada paciente se elaboró una ficha clínica en donde se incluyeron los siguientes datos: espécimen clínico, tratamiento previo con carbapenems, fecha y servicio de internación (si correspondiera); enfermedad de base o diagnóstico.

El porcentaje de identificaciones correctas, de acuerdo con las consideraciones antes explicitadas, fue del 94 %. Solo se detectó *bla*_{OXA-51} en *A. baumannii*. Se observó falta de correlación entre los resultados obtenidos por espectrometría de masa y por detección de *rpoB* o *bla*_{OXA-51}-like genes

(o ambos) en 4 aislamientos de *A. baumannii*, 1 de *A. gyllenbergii* y 1 de *Acinetobacter* 15TU, los cuales fueron identificados por MALDI-TOF como *A. nosocomialis*, *Acinetobacter calcoaceticus* y *A. baumannii*, respectivamente.

La frecuencia de aislamiento de *A. baumannii* fue de 79,5 %, mientras que la de *A. pittii* y de *A. nosocomialis* fue de 3,5 % y 0,5 %, respectivamente. El 81,5 % de los aislamientos correspondieron a infecciones intrahospitalarias (IH), entre estos, el 92,6 % se identificó como *A. baumannii*.

La distribución de las diferentes genoespecies entre los especímenes clínicos, el perfil de resistencia a los antimicrobianos y la presencia de carbapenemasas se detallan en las tablas 1 y 2. En las infecciones IH, la infección respiratoria baja fue el principal diagnóstico (45,4 %), seguido de la infección de herida quirúrgica (12,3 %). La infección urinaria predominó entre los pacientes no internados. El 92 % de las infecciones respiratorias bajas fueron producidas por *A. baumannii*. No se observó ninguna otra asociación entre genoespecie y especímenes clínicos, aunque el bajo número de aislamientos impidió el tratamiento estadístico de los datos. Se hallaron aislamientos con resistencia a carbapenems y a minociclina solamente en *A. baumannii*.

El género *Acinetobacter* ha sido objeto de varios trabajos en nuestro país, sin embargo, estos estuvieron centrados en *A. baumannii*^{9,11}. La utilidad de la espectrometría de masa en la identificación de las diferentes genoespecies de *Acinetobacter* ha sido relativamente poco estudiada^{1,4,8}. Los mayores problemas comunicados se vinculan con la composición de la base de datos y con la falta de especificidad de los picos en el espectro de masa obtenido, principalmente en el complejo *Acinetobacter baumannii calcoaceticus*^{1,4}. En las genoespecies menos frecuentes, el bajo número de aislamientos analizados hace más difícil establecer las causas de los errores⁹. La principal dificultad encontrada en nuestro trabajo fue la identificación errónea de 4 aislamientos de *A. baumannii* como *A. nosocomialis*. El porcentaje de los resultados de correlatividad entre los métodos (94 %) fue similar a lo publicado previamente^{1,4,9}.

La gran dispersión en cuanto a la incidencia de las diferentes genoespecies del género *Acinetobacter* al comparar los distintos estudios es llamativa. En el caso de *A. baumannii*, el rango comunicado es de 8,8 a 97,8 %, en el de *A. nosocomialis*, de 0 a 47 %, en *A. pittii*, de 1,7 a 19,5 %. Una situación similar se observa con las genoespecies relativamente infrecuentes^{3,5,7,13}. Sin causas aparentes que justifiquen tal amplitud de datos, se podría correlacionar un mayor porcentaje de *A. baumannii* con tasas más altas de infecciones IH. Nuestros datos son comparables con lo publicado por Fernández-Cuenca *et al.*, en un estudio multicéntrico realizado en España⁵.

La fuerte asociación de *A. baumannii* con la infección respiratoria baja IH en pacientes con tratamiento previo con carbapenems ya ha sido extensamente descrita¹⁰. Estos aislamientos se recuperaron en forma continua en todo el período estudiado (dato no mostrado), lo que evidencia la endemia de las infecciones IH por *A. baumannii* en nuestro hospital, principalmente en la unidad de cuidados intensivos, donde esta genoespecie representó el 96,9 % de los aislamientos de *Acinetobacter* spp. En cambio, los aislamientos pertenecientes a las otras genoespecies fueron siempre esporádicos.

Tabla 1 Características microbiológicas y resistencia a los antimicrobianos de las genoespecies de *Acinetobacter* recuperadas de infecciones intrahospitalarias

Genoespecie ^a (n)	UCI ^b	Tto. carb ^c	Especímen clínico						N.º de aislamientos resistentes/ N.º de aislamientos totales						Grupo bla _{OXA}					
			TRI ^d	orina	PPB ^e	sangre	catéter	abdomen	LCR ^f	CRO	IMI	AMI	MIN	CIP	51	72/72	72/72	23	58	24/40
<i>A. baumannii</i> (151)	64	60	70	21	19	15	16	7	3	151/151	146/151	6/151	69/151	151/151	72/72	72/72	72/72	0/72	0/72	0/72
<i>A. baylyi</i> (2)		1				1			1	0/2	0/2	0/2	0/2	0/2	0/1	0/1	0/1	0/1	0/1	0/1
<i>A. guillouiae</i> (2)		1	1		1					0/2	0/2	0/2	0/2	0/2	0/1	0/1	0/1	0/1	0/1	0/1
<i>A. junii</i> (2)		1	1			1				0/2	0/2	0/2	0/2	0/2	NR	NR	NR	NR	NR	NR
<i>A. lwoffii</i> (2)			1		1					0/2	0/2	0/2	0/2	1/2	NR	NR	NR	NR	NR	NR
<i>A. pittii</i> (2)					1		1			0/2	0/2	0/2	0/2	0/2	0/1	0/1	0/1	0/1	0/1	0/1
<i>A. ursingii</i> (2)			1			1				1/2	0/2	0/2	0/2	0/2	NR	NR	NR	NR	NR	NR

^a Resultados confirmados por *rhoB* en *A. baumannii* (5), *A. baylyi* (1), *A. guillouiae* (1), *A. junii* (1), *A. lwoffii* (1), *A. pittii* (1), *A. ursingii* (1).

^b UCI: unidad de cuidados intensivos; ^c tratamiento previo con carbapenems; ^d TRI: tracto respiratorio inferior; ^e PPB: piel y partes blandas; ^f LCR: líquido cefalorraquídeo. CRO: ceftriaxona; IMI: imipenem; AMI: ampicilina; MIN: minociclina; CIP: ciprofloxacina. NR: no realizado.

Tabla 2 Características microbiológicas y resistencia a los antimicrobianos de las genoespecies de *Acinetobacter* recuperadas de infecciones extrahospitalarias

Genoespecie ^a (n)	Especimen clínico						N.° de aislamientos resistentes/N.° de aislamientos totales					grupo <i>bla</i> _{OXA}			
	orina	PPB ^b	sangre	TRI ^c	catéter	abdomen	CRO	IMI	AMI	MIN	CIP	51	23	58	24/40
<i>A. johnsonii</i> (9)	3	1	1	2	1	1	1/9	0/9	0/9	0/9	0/9	0/4	0/4	1/4	0/4
<i>A. baumannii</i> (8)	6	1		1			3/8	0/8	0/8	0/8	0/8	8/8	0/8	0/8	0/8
<i>A. lwoffii</i> (5)	2	2	1				1/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/3	NR	NR	NR
<i>A. pittii</i> (5)	1	2	2				1/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/2	NR	NR	NR
<i>A. junii</i> (3)	3						0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/4	NR	NR	NR
<i>A. ursingii</i> (2)	1	1					1/2	0/2	0/2	0/2	0/2		NR	NR	NR
<i>A. haemolyticus</i> (1)		1					0/1	0/1	0/1	0/1	0/1	0/1	NR	NR	NR
<i>Acinetobacter</i> 15 TU (1)			1				0/1	0/1	0/1	0/1	1/1	0/1	NR	NR	NR
<i>A. nosocomialis</i> (1)	1						0/1	0/1	0/1	0/1	0/1	0/1	NR	NR	NR
<i>A. guillouiae</i> (1)					1		1/1	0/1	0/1	0/1	0/1	0/1	NR	NR	NR
<i>A. gyllenbergii</i> (1)	1						0/1	0/1	0/1	0/1	0/1	0/1	NR	NR	NR

^a Resultados confirmados por *rpoB*: *A. johnsonii* (3), *A. lwoffii* (2), *A. pittii* (4), *A. junii* (1), *A. ursingii* (1), *A. haemolyticus* (1), *Acinetobacter* 15 TU (1), *A. nosocomialis* (1), *A. guillouiae* (1), *A. gyllenbergii* (1); ^b PPB: piel y partes blandas; ^c TRI: tracto respiratorio inferior. NR: no realizado.

La resistencia a carbapenems en *A. baumannii* estuvo relacionada con la presencia de *bla*_{OXA-23} en el 100 % de los casos, lo que supera el dato comunicado por este mismo grupo hace 6 años. Este incremento en la presencia de OXA-23 ya fue descrito por otros autores en diferentes países^{10,11}. La amicacina fue el único antimicrobiano respecto del cual se verificó un aumento en el porcentaje de aislamientos sensibles con respecto a un estudio previo: 96 % en la presente investigación versus 25 % de sensibilidad en la publicada en 2009¹¹. Dicha variación en la actividad reflejaría un cambio en los clones circulantes en el hospital.

En las infecciones extrahospitalarias (EH) se observa claramente una mayor frecuencia de aislamiento de otras genoespecies, las que resultaron ampliamente sensibles a los antimicrobianos ensayados. *A. johnsonii* y *A. baumannii* fueron las más frecuentes y juntas representaron el 45,9 % de los hallazgos. La infección más frecuente fue la urinaria (48,6 %) y estuvo asociada, en la mayoría de los casos, a la presencia de sonda urinaria.

Solo *A. ursingii* fue siempre resistente a las cefalosporinas, lo cual es coincidente con lo comunicado por otros autores¹². A diferencia de lo que se informa en otros trabajos, no encontramos resistencia a los carbapenems en genoespecies diferentes de *A. baumannii*¹², salvo en un aislamiento de *A. johnsonii* con sensibilidad disminuida a carbapenems (CIM = 2 µg/ml), en el cual se detectó la presencia de *bla*_{OXA-58}-like.

En conclusión, la espectrometría de masa resultó ser una herramienta útil en el estudio de las diferentes genoespe-

cies de *Acinetobacter*, pero algunos resultados deben ser analizados con precaución, principalmente en el complejo *Acinetobacter baumannii calcoaceticus*. En nuestro estudio se ratifica la presencia endémica de *A. baumannii* en la infección IH, y no se observa por el momento una creciente relevancia de *A. nosocomialis* y *A. pittii*. En las infecciones EH se describe una mayor dispersión de genoespecies con la característica común de la amplia sensibilidad a los antimicrobianos.

Responsabilidades éticas

Protección de personas y animales. Los autores declaran que para esta investigación no se han realizado experimentos en seres humanos ni en animales.

Confidencialidad de los datos. Los autores declaran que en este artículo no aparecen datos de pacientes.

Derecho a la privacidad y consentimiento informado. Los autores declaran que en este artículo no aparecen datos de pacientes.

Financiación

Este trabajo fue subsidiado mediante el Proyecto UBACYT 01/W296 de la Universidad de Buenos Aires.

Conflicto de intereses

Los autores declaran no tener ningún conflicto de intereses.

Bibliografía

1. Alvarez-Buylla A, Culebras E, Picazo JJ. Identification of *Acinetobacter* species: is Bruker biotyper MALDI-TOF mass spectrometry a good alternative to molecular techniques? *Infect Genet Evol.* 2012;12:345-9.
2. Clinical Laboratory Standards Institute. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; 23rd Informational Supplement, 2013; M100-S23. Wayne, PA, EE.UU.
3. Chuang YC, Sheng WH, Li SY, Lin YC, Wang JT, Chen YC, Chang SC. Influence of genospecies of *Acinetobacter baumannii* complex on clinical outcomes of patients with *Acinetobacter* bacteremia. *Clin Infect Dis.* 2011;52:352-60.
4. Espinal P, Seifert H, Dijkshoorn L, Vila J, Roca I. Rapid and accurate identification of genomic species from the *Acinetobacter baumannii* (Ab) group by MALDI-TOF MS. *Clin Microbiol Infect.* 2012;18:1097-103.
5. Fernández-Cuenca F, Tomás-Carmona M, Caballero-Moyano F, Bou G, Martínez-Martínez L, Vila J, Pachon J, Cisneros JM, Rodríguez-Baño J, Pascual A; grupo del proyecto GEIH-REIPI-Ab 2010. Actividad de 18 agentes antimicrobianos frente a aislados clínicos de *Acinetobacter baumannii*: segundo estudio nacional multicéntrico (proyecto GEIH-REIPI-Ab 2010). *Enferm Infecc Microbiol Clin.* 2013;31:4-9.
6. Gundi VA, Dijkshoorn L, Burignat S, Raoult D, La Scola B. Validation of partial *rpoB* gene sequence analysis for the identification of clinically important and emerging *Acinetobacter* species. *Microbiology.* 2009;155(Pt 7):2333-41.
7. Karah N, Haldorsen B, Hegstad K, Simonsen GS, Sundsfjord A, Samuelsen Ø; Norwegian Study Group of *Acinetobacter*. Species identification and molecular characterization of *Acinetobacter* spp. blood culture isolates from Norway. *J Antimicrob Chemother.* 2011;66:738-44.
8. Kishii K, Kikuchi K, Matsuda N, Yoshida A, Okuzumi K, Uetera Y, Yasuhara H, Moriya K. Evaluation of matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry for species identification of *Acinetobacter* strains isolated from blood cultures. *Clin Microbiol Infect.* 2014;20:424-30.
9. Merquier AK, Catalano M, Ramírez MS, Quiroga C, Orman B, Ratier L, Famiglietti A, Vay C, Di Martino A, Kaufmann S, Centron D. Polyclonal spread of bla(OXA-23) and bla(OXA-58) in *Acinetobacter baumannii* isolates from Argentina. *J Infect Dev Ctries.* 2008;2:235-40.
10. Peleg AY, Seifert H, Paterson DL. *Acinetobacter baumannii*: emergence of a successful pathogen. *Clin Microbiol Rev.* 2008;21:538-82.
11. Rodríguez CH, Bombicino K, Granados G, Vay C, Famiglietti A. Evaluación microbiológica y epidemiológica de los clones de *Acinetobacter baumannii* aislados en la unidad de cuidados intensivos de un hospital universitario de la ciudad de Buenos Aires. *Rev Argent Microbiol.* 2009;41:151-5.
12. Turton JF, Shah J, Ozongwu C, Pike R. Incidence of *Acinetobacter* species other than *A. baumannii* among clinical isolates of *Acinetobacter*: evidence for emerging species. *J Clin Microbiol.* 2010;48:1445-9.
13. Wisplinghoff H, Paulus T, Lugenheim M, Stefanik D, Higgins PG, Edmond MB, Wnezel RP, Seifert H. Nosocomial bloodstream infections due to *Acinetobacter baumannii*, *Acinetobacter pittii* and *Acinetobacter nosocomialis* in the United States. *J Infect.* 2012;64:282-90.
14. Woodford N, Ellington MJ, Coelho JM, Turton JF, Ward ME, Brown S, Amyes SG, Livermore DM. Multiplex PCR for genes encoding prevalent OXA carbapenemases in *Acinetobacter* spp. *Int J Antimicrob Agents.* 2006;27:351-3.