

LABORATORIO CLINICO

Aislamiento de Acinetobacter spp. desde muestras clínicas en el Hospital Clínico Regional "Guillermo Grant Benavente", Concepción

MARIANA DOMINGUEZ Y., BQ¹, MARCELA SEPULVEDA A., BQ, HELIA BELLO T., BQ¹, GERARDO GONZALEZ R., LB (1), SERGIO MELLA M (1) y RAUL ZEMELMAN Z, QF.(2)

ISOLATION OF *Acinetobacter* spp. FROM CLINICAL SPECIMENS AT THE HOSPITAL CLINICO REGIONAL "GUILLERMO GRANT BENAVENTE", CONCEPCION

Since Acinetobacter has become an important nosocomial pathogen, the aim of this study was to investigate the different species of this genus involved in infections in the main hospital of the city of Concepción between August 1998 and December 1999. One hundred-thirteen Acinetobacter strains were isolated mainly from respiratory tract and wound secretions. The majority of isolates came from intensive care unit patients, followed by patients hospitalized in trauma and surgery services. Strains were identified at species level and Acinetobacter baumannii isolates were biotyped using phenotypic tests. A. baumannii was the most frequent species found, and biotypes 9, 6 and 8 predominated in this nosocomial center.

Key words: *Acinetobacter; Phenotypic typing; Hospital infections.*

INTRODUCCION

Acinetobacter ha surgido como un importante microorganismo a nivel intrahospitalario involucrado en la colonización e infección de pacientes, principalmente, con inmunidad disminuida.¹⁻³ Uno de los mayores problemas de las infecciones producidas por esta bacteria es su tratamiento, por su amplia multiresistencia

son pocas las alternativas terapéuticas disponibles en la actualidad.^{4,5}

La taxonomía de este género bacteriano ha sufrido grandes cambios, es así que hasta el año 1986 sólo se reconocía la especie *Acinetobacter calcoaceticus* con las variedades *anitratus* y *lwoffii*.⁶ Posteriormente, los avances logrados en los estudios genéticos han permitido establecer la existencia de al menos 19 genoespecies de

Laboratorio de Antibióticos, Departamento de Microbiología, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción.

¹ Magister en Microbiología

² Diplomado Bacteriology. MSc. Public Health.

Trabajo financiado por Proyecto FONDECYT 1970848

Acinetobacter,⁷⁻⁹ la mayoría de las cuales pueden ser diferenciadas mediante pruebas fenotípicas.^{7, 9, 10} La especie más frecuentemente asociada, tanto a casos esporádicos como a brotes epidémicos, es *Acinetobacter baumannii*.² Dentro de esta especie también se ha encontrado una gran diversidad, es así que se describen 19 biotipos los cuales se diferencian a través de su capacidad de utilizar cinco compuestos como única fuente de carbono.¹¹

Puesto que en Chile ha aumentado la frecuencia de aislamiento de *Acinetobacter spp.* en centros hospitalarios,^{12, 13} se efectuó este estudio con el objetivo de conocer las diferentes especies de *Acinetobacter* y los biotipos de *A. baumannii* aisladas de muestras clínicas de pacientes internados en el Hospital Clínico Regional de Concepción.

MATERIAL Y METODO

Cepas bacterianas. El estudio se realizó con 113 cepas de *Acinetobacter spp.* aisladas en el Laboratorio de Microbiología del Hospital "Guillermo Grant Benavente" de Concepción entre agosto de 1998 y diciembre de 1999. Las cepas fueron mantenidas a -70 °C en una mezcla de caldo tripticasa/glicerol (2:1) para su posterior ensayo en el Laboratorio de Antibióticos del Departamento de Microbiología de la Universidad de Concepción.

Identificación y biotipificación de las cepas. La identificación de especies y la biotipificación de las cepas de *A. baumannii* se realizó mediante pruebas fenotípicas, de acuerdo al esquema propuesto por Bouvet y Grimont.¹¹ Se estudió la capacidad de crecimiento a 37, 41 y 44 °C (en caldo infusión cerebro corazón (GIBCO)), oxidación de glucosa, hidrólisis de gelatina y utilización de compuestos como única fuente de carbono. Las pruebas se realizaron a 30°C incubando 48 horas, excepto la utilización de fuentes de carbono para la cual se empleó incubación hasta 6 días. Se incluyó como controles las cepas de *A. baumannii* ATCC 19606, *Acinetobacter haemolyticus* ATCC 17906 y *Acinetobacter lwoffii* NCTC 5866.

RESULTADOS

En el período incluido en el estudio se aisló *Acinetobacter spp.* a partir de muestras clínicas provenientes de 12 servicios del Hospital Clínico Regional (Tabla 1). La mayor frecuencia de aislamiento (31,8%) se obtuvo en la unidad de cuidados intensivos (UCI), seguido de las secciones de cirugía y traumatología (14,1%). Las fuentes de origen de las cepas fueron diversas y el mayor número de ellas se recuperó desde muestras provenientes de secreciones de heridas y de tracto respiratorio, con frecuencias de 42,5 y 41,5%, respectivamente (Tabla 2).

De las 113 cepas aisladas, se encontró que 108 cepas correspondieron a *A. baumannii* (95,5%), 3 cepas a *Acinetobacter* genoespecie 3 (2,7%) y una cepa a *A. haemolyticus* (0,9%). Sólo una cepa no pudo ser identificada como especie mediante el esquema empleado.

Los biotipos de *A. baumannii* y su distribución en las diferentes secciones del Hospital Clínico Regional se muestran en la Tabla 3. Se detectó 8 de los 19 biotipos descritos, con predominio del biotipo 9 (44,4%), seguido de los biotipos 6 (26,0%), 8 (13,0%) y 16 (9,3%). Los biotipos restantes se aislaron con frecuencias

Tabla 1. Distribución de cepas de *Acinetobacter spp.* aisladas de diferentes servicios del Hospital Clínico Regional, Concepción

Servicio	n	%
UCI adultos	36	31,8
Traumatología	16	14,1
Cirugía	16	14,1
Medicina	9	8,0
Quemados	6	5,3
Neonatología	6	5,3
Otorrinolaringología	3	2,7
UCI Pediátrica	2	1,8
UTI	2	1,8
Urología	2	1,8
Endocrinología	1	0,9
No registrado	13	11,5
Total	113	100,0

UCI: unidad de cuidados intensivos. UTI: unidad de tratamientos intermedios.

Tabla 2. Fuente de origen de las cepas de *Acinetobacter spp.* aisladas entre agosto de 1998 y diciembre de 1999 en el Hospital Clínico Regional, Concepción

Fuente de aislamiento	n	Frecuencia de aislamiento (%)
Herida	48	42,5
Tracto respiratorio	47	41,5
Sangre	3	2,6
Catéter	2	1,8
Líquido peritoneal	2	1,8
Drenaje	2	1,8
Secreción ótica	1	0,9
Desconocido	8	7,1
Total	113	100,0

Tabla 3. Distribución de biotipos de *Acinetobacter baumannii* en los diferentes servicios del Hospital Clínico Regional, Concepción

Servicio	Biotipos n (%) de cepas								Total
	1	2	5	6	8	9	12	16	
UCI adultos	2	0	1	8	2	17	0	5	35
Traumatología	1	0	0	8	6	0	0	0	15
Cirugía	1	0	0	5	2	4	1	3	16
Medicina	0	0	0	1	1	5	0	0	7
Quemados	0	0	0	0	1	4	0	1	6
Neonatología	0	0	0	0	1	4	0	1	6
ORL	0	0	0	2	0	1	0	0	3
UCI Pediátrica	0	0	0	0	0	2	0	0	2
UTI	0	1	0	0	1	0	0	0	2
Urología	0	0	1	0	0	0	0	0	1
Endocrinología	0	0	0	0	0	1	0	0	1
Pensionado	0	0	0	1	0	0	0	0	1
No registrado	0	0	0	3	0	10	0	0	13
Total	4 (3,7)	1 (0,9)	2 (1,8)	28 (26,0)	14 (13,0)	48 (44,4)	1 (0,9)	10 (9,3)	108 (100)

UCI: unidad de cuidados intensivos. UTI: unidad de tratamientos intermedios. ORL: otorrinolaringología.

inferiores a 4%. *A. baumannii* biotipo 9 fue prevalente en UCI (17/48), en cambio el biotipo 8 fue más frecuente en la sección de traumatología (6/14). Las cepas pertenecientes al biotipo 6 se distribuyeron igualmente en estas dos secciones (8/28).

DISCUSION

Los estudios de hibridación ADN-ADN desarrollados en las últimas décadas han permitido evidenciar una gran diversidad de genoespecies dentro del género *Acinetobac-*

ter.^{7,9} Junto a estas técnicas genéticas se han diseñados esquemas de identificación sobre la base de propiedades fenotípicas que han permitido diferenciar la mayoría de estas especies.⁷

¹¹ Uno de los problemas se presenta con la diferenciación de las especies 1, 2, 3 (BG)⁷ y 13 de Tjernberg y Ursing (14 BG),^{8,9} lo que ha llevado a proponer la denominación complejo *A. calcoaceticus* - *A. baumannii* para referirse a ellas.¹⁰ Una de las pruebas importantes es el crecimiento a 44°C, considerado, en un comienzo, indicativo de *A. baumannii*; se ha demostrado que es dependiente del medio de cultivo, logrando una mejor discriminación de las especies al emplear caldo infusión cerebro corazón en lugar de caldo tripticasa,¹⁰ como fue propuesto por Bouvet y Grimont.⁷ En nuestro estudio la caracterización de las cepas mediante propiedades fenotípicas, y utilizando caldo infusión cerebro corazón, permitió identificar casi la totalidad de las cepas aisladas; no logrando hacerlo en tan sólo una de ellas.

La especie prevalente fue *A. baumannii*, lo que concuerda con lo encontrado en el extranjero³ y en estudios previos realizados en Chile.^{14,15} Claramente el mayor número de aislamientos se originó de pacientes internados en UCI, principalmente desde muestras de secreción de tracto respiratorio. Son precisamente estos pacientes los que tienen mayor predisposición a ser colonizados o infectados por este patógeno oportunista debido a los diferentes procedimientos médicos a que están sometidos.^{1,2} Por otra parte, en los pacientes hospitalizados en los servicios de traumatología y cirugía, el principal problema por *Acinetobacter* fue la infección de heridas.

Entre las cepas de *A. baumannii* se encontró un claro predominio del biotipo 9. Hallazgos similares se han informado previamente en Chile, en centros hospitalarios de Santiago, Talca y Concepción.^{15,16} Sin embargo, la frecuencia de aislamiento de este biotipo disminuyó del orden de 60 a 44,4%. Además, se pudo apreciar un incremento de las cepas del biotipo 6, las cuales anteriormente no sobrepasaban el 5 a 10% de los aislamientos,^{15,16} excepto en hospitales de Valparaíso y Temuco,¹⁵ Este hecho podría estar sugiriendo la presencia de un brote por cepas de este biotipo, en el Hospital Regional de Concepción, ya que se aislaron mayormente

desde los servicios de UCI y traumatología.

Los principales biotipos que circulan en los hospitales chilenos difieren de lo que se ha encontrado en algunos centros nosocomiales de Europa.^{11,17} En Latinoamérica es poca la información disponible a este respecto, en Argentina se comunica como prevalente el biotipo 2,¹⁸ el cual se encuentra raramente en Chile.

Es de importancia poder conocer la distribución de *A. baumannii* en centros hospitalarios y realizar estudios conducentes a clarificar su reservorio y vías de transmisión dentro del ambiente hospitalario. La biotipificación es uno de los métodos que ofrece una ayuda en este sentido. El conocer mejor la epidemiología de las infecciones intrahospitalarias producidas por este microorganismo permitiría un mejor control de ellas y, de esta manera, se podría disminuir el gran problema que se presenta con su tratamiento. Actualmente *A. baumannii* muestra uno de los patrones de resistencia más amplios e incluso, recientemente, se ha demostrado que las cepas chilenas han aumentado considerablemente su resistencia a la combinación ampicilina-sulbactam en los últimos años,¹⁹ quedando pocas alternativas terapéuticas para combatir este microorganismo.

RESUMEN

Debido a que *Acinetobacter* se ha transformado en un importante patógeno intrahospitalario el objetivo de este estudio fue investigar las especies de este género que se encontraban involucradas en procesos infecciosos en el principal centro hospitalario de la ciudad de Concepción, en el periodo comprendido entre agosto de 1998 y diciembre de 1999. Se recolectaron 113 cepas de *Acinetobacter*, aisladas principalmente de secreciones del tracto respiratorio y heridas. El mayor número de aislamientos tuvo su origen en pacientes internados en la unidad de cuidado intensivo, seguido de pacientes que se encontraban en los servicios de traumatología y cirugía. La identificación de especie y la biotipificación de *Acinetobacter baumannii* se realizó mediante pruebas fenotípicas. *A. baumannii* fue la especie predominante, siendo los biotipos 9, 6 y 8 los prevalentes en este centro hospitalario.

BIBLIOGRAFIA

- 1.- BERGOGNE-BEREZIN E, JOLY-GUILLOU M L. Hospital infection with *Acinetobacter* spp.: An increasing problem. J Hosp Infect 1991; 18 (suppl A): 250-5.
- 2.- BERGOGNE-BÉRÉZIN, E TOWNER K J. *Acinetobacter* spp. as nosocomial pathogens: microbiological, clinical, and epidemiological features. Clin Microbiol Rev 1996; 9: 148-65.
- 3.- TOWNER KJ. Clinical importance and antibiotic resistance of *Acinetobacter* spp. J Med Microbiol 1997; 46: 721-46.
- 4.- BELLO H, GONZALEZ G, DOMINGUEZ M, ZEMELMAN R, GARCIA A, MELLA S. Activity of selected β -lactams, ciprofloxacin, and amikacin against different *Acinetobacter baumannii* biotypes from Chilean hospitals. Diag Microbiol Infect Dis 1997, 28: 183-6.
- 5.- AUBERT G, GUICHARD D, VEDEL G. In-vitro activity of cephalosporins alone and combined with sulbactam against various strains of *Acinetobacter baumannii* with different antibiotic resistance profiles. J Antimicrob Chemother 1996; 37: 155-60.
- 6.- JUNI E. Genus III. *Acinetobacter*. Brisou and Prévot (1954). En Kreig NR, Holt JG. Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, volume 1, Baltimore, Williams & Wilkins, 1984, pp: 303-7.
- 7.- BOUVET PJM, GRIMONT PAD. Taxonomy of the genus *Acinetobacter* with the recognition of *Acinetobacter baumannii* sp. nov, *Acinetobacter haemolyticus* sp. nov, *Acinetobacter johnsonii* sp. nov, and *Acinetobacter junii* sp. nov, and emmended descriptions of *Acinetobacter calcoaceticus* and *Acinetobacter lwoffii*. Int J Syst Bacteriol 1986; 36: 228-40.
- 8.- BOUVET PJM, JEANJEAN S. Delineation of new proteolytic genomic species in the genus *Acinetobacter*. Res Microbiol 1989; 140: 291-9.
- 9.- TJERNBERG I, URSING J. Clinical strains of *Acinetobacter* classified by DNA-DNA hybridization. APMIS 1989; 97: 595-605.
- 10.- GERNER-SMIDT P, TJERNBERG I, URSING J. Reliability of phenotypic tests for identification of *Acinetobacter* species. J Clin Microbiol 1991; 29: 277-82.
- 11.- BOUVET PJM, GRIMONT PAD. Identification and biotyping of clinical isolates of *Acinetobacter*. Ann Inst. Pasteur/ Microbiol 1987; 138: 569-78.
- 12.- OTAIZA F, BRENNER P. Informe de la vigilancia epidemiológica y actividades de control de las infecciones intrahospitalarias en Chile. Departamento de Programación del Ministerio de Salud. 1989.
- 13.- ZEMELMAN R, BELLO H, DOMINGUEZ M, GONZALEZ G, MELLA S, GARCIA A. Activity of imipenem, third-generation cephalosporins, aztreonam and ciprofloxacin against multi-resistant Gram-negative bacilli isolated from Chilean hospitals. J Antimicrob Chemother 1993; 32: 413-9.
- 14.- MARTINEZ M A, PINTO M E, GIGLIO M S, POMMIER J, MUÑOZ L M. Identificación y sensibilidad de *Acinetobacter* sp. aislados en muestras clínicas y ambiente hospitalario. Rev Méd Chile 1992; 120: 1267-72.
- 15.- DOMINGUEZ M, GONZALEZ G, BELLO H et al. Identification and biotyping of *Acinetobacter* spp. isolated in Chilean hospitals. J Hosp Infect 1995; 30: 267-71.
- 16.- GARCIA S, MARTINEZ M A, PINTO M E. Biotipificación de cepas de *Acinetobacter baumannii* aisladas de infecciones intrahospitalarias. Rev Chil Infectol 1991; 8: 83-6.
- 17.- BOUVET P J M , JEANJEAN S, VIEU J-F, DIJKSHOORN L. Species, biotype, and bacteriophage type determinations compared with cell envelope protein profiles for typing *Acinetobacter* strains. J Clin Microbiol 1990; 28: 170-6.
- 18.- DE PAULIS AN, SANTOIANNI J E, GUTIERREZ M A, CARPMAN M L, DI LIZIO L G, PEDRARI S C. Identificación bioquímica y biotipificación de especies de *Acinetobacter*. Resumen C22. Libro de resúmenes del III Congreso Internacional de SADEBAC. Buenos Aires, Argentina, 1993.
- 19.- BELLO H, DOMINGUEZ M, GONZALEZ G et al. In vitro activities of ampicillin, sulbactam and a combination of ampicillin and sulbactam against isolates of *Acinetobacter calcoaceticus*-*Acinetobacter baumannii* complex isolated in Chile between 1990 and 1998. J Antimicrob Chemother 2000; 45: 712-3.

Correspondencia a:
Mariana Domínguez Y.
Departamento de Microbiología
Facultad de Ciencias Biológicas,
Universidad de Concepción
Casilla: 160-C. Concepción
Tel: 41-203237; Fax: 41-245975
e-mail: mdomingu@udec.cl