



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE QUIMICA

PAPEL PATOGENO DE Acinetobacter calcoaceticus.

TRABAJO ESCRITO

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:
QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO
P R E S E N T A :
ALBA GEORGINA PAEZ AGUIRRE

1989

TESIS CON
FALLA DE FRENTE



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

INDICE

Introducción	1
Objetivos	3
1. Taxonomía	4
2. Morfología	8
3. Requerimientos nutricionales y condiciones de cultivo	10
4. Composición química y antigénica	11
5. Papel patógeno	13
6. Diagnóstico de laboratorio	17
7. Tratamiento	22
8. Conclusiones	23
9. Bibliografía	24

INTRODUCCION

Las bacterias Gram-negativas no fermentadoras abarcan más de 30 especies en 7 géneros principales. A lo largo de los años ha resultado difícil su identificación y caracterización, de aquí que no están taxonómicamente bien definidas. El género Acinetobacter pertenece a la familia --- Neisseriaceae y se agrupa dentro de los bacilos Gram-negativos no fermentadores. Está ampliamente distribuido en la naturaleza (en aguas y suelos) y es flora habitual en piel, tracto gastrointestinal, tracto genital y tracto respiratorio de más del 25 % de individuos sanos.

Acinetobacter calcoaceticus es un bacilo corto, agrupado en pares, Gram-negativo, no fermentador, no móvil, y en la fase estacionaria de crecimiento aparece como diplococos que se pueden confundir fácilmente con el género Neisseria en tinciones directas de secreciones. Son aerobios obligados y oxidasa negativos.

Es la única especie, pero se encuentran dos cepas variantes: Acinetobacter anitratus, llamado anteriormente Herellea vaginicola y Achromobacter anitratum; y Acinetobacter Iwoffii, previamente llamado Mima polymorpha y Achromobacter Iwoffii.

La virulencia de estos microorganismos es baja, sin embargo, en años recientes se han reportado como patógenos oportunistas que ocasionalmente producen severas enfermedades en pacientes inmunocomprometidos hospitalizados. Fuera del hospital, las infecciones por este microorganismo son raras y solo se han reportado unos pocos casos.

Su importancia, desde el punto de vista clínico, radica en que después de Pseudomonas aeruginosa, es el segundo microorganismo Gram-negativo no fermentador reportado en la literatura, aislado en laboratorios clínicos como

agente etiológico de alguna enfermedad y puede ocasionar serios daños a la salud e incluso en algunos casos se ha reportado como causa de muerte en algunos pacientes hospitalizados.

OBJETIVOS

Reconocer, tanto características como papel patógeno de Acinetobacter calcoaceticus.

Determinar qué tan frecuente es este microorganismo en el ambiente hospitalario.

Llamar la atención de médicos y microbiólogos sobre su posible patogenicidad en pacientes inmunocomprometidos.

Mencionar los métodos más adecuados para su diagnóstico en el laboratorio.

1. TAXONOMIA

Acinetobacter. Brisou y Prévot, 1954.

A.ci.ne.to.bac.tor. Akinetos incapaz de moverse, bacter, la forma masculina del género neutro, n. bactrum. Cal.co.a.ce.ti.cus. calx tiza, yeso; acetum- ácido acético. Bacilo no móvil capaz de crecer en acetato de calcio (1,2).

Para la clasificación de las bacterias los microbiólogos se basan en características tales como las siguientes:

- Características visibles como forma, tamaño, tinción, presencia o ausencia de flagelos, cápsula y morfología colonial;
- Características de producción de energía y formación de metabolitos;
- Características de nutrición, presencia de macromoléculas superficiales y relaciones ecológicas, entre éstas se incluye la capacidad para parasitar a otros organismos y causar enfermedad.
- Actualmente se utiliza el estudio químico del ADN que permite establecer de manera más clara el parentesco entre distintos microorganismos. En las bacterias, el % de guanina-citosina oscila entre 30 y 70 moles %. La semejanza en la composición de las bases es, sin embargo, un elemento que permite establecer solo relativamente el parentesco genético, ya que microorganismos de composición muy semejante pueden tener secuencias muy distintas. La homología del ADN puede medirse en forma cuantitativa determinando la capacidad de las cepas de ADN de 2 orígenes distintos, para formar híbridos moleculares in vitro.

Por tanto, se pueden encontrar una gran variedad de cepas con propiedades intermedias que no corresponden total-

mente a las cepas tipo, que se agrupan en un conjunto de biotipos con características semejantes pero que pueden tener variaciones con respecto a la cepa estándar (4).

Acinetobacter calcoaceticus ha sufrido muchos cambios en su nombre así como muchas reclasificaciones desde que fue descubierto alrededor de 1800, en que se llamó bacilo de Morax-Axenfeld. En 1908 Beijerinck estudió este género llamándolo Micrococcus calcoaceticus por su capacidad para crecer en un medio que contenía acetato de calcio como fuente de carbono (2.9).

En la primera edición del manual Bergey's se introdujo como género Achromobacter (sin color) e incluyó saprófitos Gram negativos (1).

En 1942, de Bord lo clasificó dentro de la tribu Mimae, considerando a los productores de ácido como Bacterium anitratum o Herellea vaginicola y a los que no acidificaban el medio como Moraxella lwoffii o Mima polymorpha. Sin embargo esta nomenclatura quedó fuera de uso en 1971.

Schaub y Hauber en 1948, propusieron el nombre de Bacterium anitratum porque el término Bacterium se usó en aquella época para referirse a bacterias a las que no se les había asignado un género conocido. El nombre anitratum se adoptó porque estos microorganismos son incapaces de reducir nitratos a nitritos.

Brisou y Prévot lo designaron en 1954 como género Acinetobacter.

Baumann y colaboradores en 1968, propusieron se usara el término calcoaceticus por la capacidad ya citada anteriormente para crecer en acetato de calcio. Dividieron además al género en varios grupos nutricionales basados en la capacidad para usar una serie de fuentes de carbono.

El uso de marcadores nutricionales en ensayos de transformación genética ha demostrado que todas las cepas

de Acinetobacter están íntimamente relacionadas. El estudio de la composición del ADN ha mostrado que el % de G·C es de 38-47 moles%(1,2).

Johnson en 1970 encontró una correlación entre grupos homólogos de ADN y los grupos fenotípicos de Baumann.

Pagel y Seyfried en 1976 se basaron en propiedades fisiológicas, morfológicas, nutricionales y bioquímicas para dividir 291 cepas en dos grupos fenotípicos que corresponden a los dos grupos fenotípicos establecidos por Baumann.

La capacidad para formar ácidos de azúcares o la incapacidad para hacerlo, se ha usado ampliamente para diferenciar en dos grupos a Acinetobacter. Aunque Henriksen en 1973 no consideró éste un buen procedimiento, pues se tomó en cuenta sólo una característica para hacer una clasificación; propuso que Acinetobacter se agrupara en una sola especie.

El género incluyó originalmente cepas oxidasa positivas y oxidasa negativas, pero el Subcomité de Taxonomía de Moraxella y bacterias afines propuso en 1971 que el género Acinetobacter agrupe tan solo a las cepas oxidasa negativas.

Sinónimos para cepas formadoras de ácidos (1).

Herellea vaginicola. De Bord (1942).

Bacterium anitratum. Schaub y Hauber (1948).

Neisseria winogradski. Lemoigne, Gerard y Jacobelli (1952).

Achromobacter anitratum. (Schaub y Hauber), Brisou (1953).

Acinetobacter anitratum. (Schaub y Hauber), Brisou y Prévot (1954).

Moraxella glucidolytica. Plechaud y Second (1956).

Micrococcus cerificans. Finnerty, Hautrey y Stenzel (1972).

Achromobacter conjunctivae. Mannheim y Stenzel (1962).

Achromobacter haemolyticus var. glucidolytica. Mannheim y Stenzel (1962).

Lingelsheimia anitrata. (Shaub y Hauber), Seeliger, Schubert y Schlieber (1966).

Sinónimos para cepas no formadoras de ácidos (1).

Alcaligenes haemolysans. Henriksen (1937).

Moraxella lwoffii. Audureau (1940)

Mima polymorpha. De Bord (1937).

Acinetobacter lwoffii. (Audureau), Brisou y Prévot (1954).

Achromobacter haemolyticus var. alcaligenes. Mannheim y Stenzel (1962).

Antiguamente se designaron cepas de estas especies informalmente "B5W" (Stuart y otros, 1949) y Vibrio O1 (Fawson) (1967) (1,2).

En la actualidad se clasifica de la siguiente manera (2,10):

Familia: Neisseriaceae.

Género: Acinetobacter.

Especie: Acinetobacter calcoaceticus.

Subespecies: Acinetobacter anitratum.

Acinetobacter lwoffii.

2. MORFOLOGIA

Células pleomórficas, Gram negativas: formas cocobacilares cortas y gruesas, de 0.9 a 1.6 μm de diámetro y de 1.5 a 2.5 μm de largo en la fase logarítmica; las formas esféricas, de diámetro más pequeño que los bacilos (0.7-1.0 μm), se favorecen con la fase estacionaria de crecimiento.

Se observan en pares o en cadenas cortas, pero pueden encontrarse células irregulares grandes y filamentos en pequeño número. No forman esporas, no tienen flagelos, muchas cepas son encapsuladas (1,2,5,8).

Son no móviles, pero algunas cepas muestran, en condiciones especiales, movilidad contráctil en superficies sólidas, presumiblemente por la presencia de fimbria polar. El medio usual para observar esta característica contiene 0.5 % de triptona, 0.5 % de acetato y 0.5 % de extracto de levadura (1).

No se observan inclusiones intracelulares de poli- β -hidroxibutirato.

Cuando las tinciones de Gram se hacen de materiales clínicos, aparecen como diplococos, mientras que cuando se preparan de agar o caldo nutritivo, las células se observan más grandes y parecidas a cocobacilos.

Las colonias que crecen en agar sangre no son pigmentadas, se pueden observar de color blanco grisáceo, de translúcidas a opacas, de 0.5 a 2 mm de diámetro, convexas y enteras después de 24 horas de incubación.

En agar MacConkey crecen bien y pueden presentar un ligero tinte azul. En agar EMB se puede observar un color azul intenso. (8).

Algunas cepas producen un olor desagradable parecido a amoníaco (1,2,5,8,16).

Las colonias de Acinetobacter lwoffii tienden a ser

más pequeñas que las de Acinetobacter anitratum (en promedio, 0.5 mm en 24 horas).

Las colonias encapsuladas presentan aspecto mucoso y adherente al sustrato y se propagan por la superficie del medio de cultivo (8).

3. REQUERIMIENTOS NUTRICIONALES Y CONDICIONES DE CULTIVO

El género Acinetobacter no es exigente en cuanto a requerimientos nutricionales y condiciones de cultivo. Crece bien en medios de cultivo complejos comunes como agar-sangre, agar chocolate, caldo tripticasa-soya y caldo tioglicolato (1,2,8,9).

En agar MacConkey hay buen crecimiento con excepción de algunas cepas de la variante Acinetobacter lwoffii. Muchas cepas pueden crecer en un medio mineral simple que contenga una sola fuente de carbono y de energía que puede ser acetato, etanol, lactato, piruvato, malato o α -cetoglutarato; las sales de amonio, nitratos y nitritos sirven como fuente de nitrógeno.

Son aerobios estrictos y requieren forzosamente de oxígeno como aceptor terminal de electrones. Crecen en un rango de temperatura de 25° a 40° C con una óptima de 33° a 35° C.

La D-glucosa es la única hexosa que utiliza como fuente de carbono, también emplea pentosas como D-ribosa, D-xilosa y L-arabinosa.

Las cepas que contienen una aldosa deshidrogenasa son las que tienen la capacidad de acidificar el medio de glucosa, (se forma ácido glucurónico), así como medios que contienen otros azúcares. Esta característica les proporciona un metabolismo oxidativo o no sacarolítico.

No hidrolizan almidón ni poli- β -hidroxibutirato pero algunas cepas hidrolizan gelatina.

El pH óptimo para su crecimiento es de 7 en condiciones de adecuada aereación y temperatura (1,2,8,9,10,16).

4. COMPOSICION QUIMICA Y ANTIGENICA

Igual que otros de la familia Neisseriaceae, el género Acinetobacter se caracteriza por la ausencia de ácidos grasos ramificados, la distribución de ácidos grasos incluye hidroxiácidos. Esteres sencillos de alcoholes y ácidos grasos también se encuentran presentes con frecuencia (2).

La pared celular es típica de microorganismos Gram-negativos. El péptidoglicano contiene ácido murámico, glucosamina, ácido D-glutámico, alanina y ácido mesodiaminopimélico. Los estudios realizados en una cepa, mostraron la existencia en la pared celular de un polisacárido con D-glucosa, glucosamina, galactosamina, lípido A, etanolamina, ácidos grasos, fosfatos y proteínas (2).

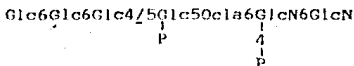
En un estudio de Kazuyoshi Kawahara y colaboradores, se identificó y caracterizó parcialmente el ácido 2-octulosónico (Ocla) que hasta entonces no se conocía como componente de la pared celular y reemplaza en Acinetobacter calcoaceticus al ácido 3-desoxi-D-mano-2-octulosónico (Docla) que media en enterobacterias los enlaces entre lípido A y polisacárido.

El ácido 2-octulosónico difiere del ácido 3-desoxi-D-mano-2-octulosónico por la presencia de un grupo hidroxilo adicional en el carbono 3 que parece importante en la estabilidad ácida del enlace cetónico, lo mismo que el grupo carbonilo en el carbono 1, porque la reducción carboxílica regula el enlace cetocídico susceptible a hidrólisis ácida.

En este estudio se determinaron algunos aspectos estructurales del lípido A de Acinetobacter calcoaceticus. El pilar hidrofílico se identificó como un disacárido 4-fosforilado unido a 2-amino-2-desoxi-D-glucosa (GlcN) con uniones β 1-6 en la posición 6 del componente polisacárido. Parece ser que tiene una estructura comparable al lípido A de las

enterobacterias y otras especies biológicamente semejantes.

La región hidrofílica se caracterizó como un heptasacárido fosforilado compuesto de la siguiente manera (7):



Otras investigaciones han mostrado que los polisacáridos capsulares interactúan con el suero preparado contra los estreptococos del grupo B y del grupo G, así como con el suero antineumococo tipo XX. Un antígeno extraído de Acinetobacter fija complemento cuando reacciona con suero que contiene anticuerpos contra clamidia (2).

Cuando las células crecen en sustratos hidrocarbonados insolubles en agua, deben incorporar estos sustratos por contacto directo o por pseudosolubilización. La emulsificación de los hidrocarburos incrementa estos procesos. Los microorganismos presentan emulsificadores extracelulares que pueden ser: moléculas anfipáticas o de bajo peso molecular tales como ácidos grasos, fosfolípidos y lipopéptidos; y bioemulsificadores poliméricos como mezclas de proteínas y complejos polisacárido-lípido.

En Acinetobacter se han estudiado emulsificantes extracelulares entre los cuales han encontrado un heptasacárido que contiene D-galactosamina, ácido aminourónico, un aminoazúcar no identificado y un bioemulsificador polianiónico que contiene N-acetil-hexosamina y ácido urónico (6).

También se ha estudiado el papel que juega una esterasa exocelular en la liberación del emulsificante de la superficie celular, sugiriendo que el proceso de liberación involucra la unión de un éster en asociación con el emulsificante en la superficie celular (14).

5. PAPEL. PATOGENO

Acinetobacter spp. es una bacteria pleomórfica que se encuentra ampliamente distribuida en la naturaleza, en suelo, agua y aguas residuales. Se conoce una sola especie, Acinetobacter calcoaceticus y se divide en dos subespecies: Acinetobacter calcoaceticus subespecie anitratus y Acinetobacter calcoaceticus subespecie lwoffii. Ambas subespecies pueden colonizar extensas zonas de la piel, sobre todo los sitios húmedos como ingle y axilas, también son comensales en orofaringe y vagina, donde se pueden confundir fácilmente con Neisseria gonorrhoeae en tinciones de Gram (9,12,15).

Aunque se considera no patógeno, es un microorganismo oportunista que puede causar infecciones intrahospitalarias en pacientes inmunocomprometidos. Las enfermedades se presentan en personas adultas de edad madura (11,16).

Pickett reporta que de 48 cepas de bacilos no fermentadores aislados en los laboratorios clínicos de UCLA, la frecuencia de Acinetobacter anitratus fue de 7 % y la frecuencia de Acinetobacter lwoffii del 2 % (8).

En otro estudio se dice que de 12.000 cepas aisladas, 1.000 fueron no fermentadores y, de éstos, el 75 % fue de Pseudomonas aeruginosa y el 20 % de Acinetobacter anitratus (8).

La frecuencia con que se aísla Acinetobacter lwoffii es menor que la de Acinetobacter anitratus, lo cual podría indicar menor patogenicidad de este biotipo para el hombre.

Aproximadamente del 70 % al 90 % de infecciones ocurren en pacientes que han tenido terapia con antibióticos, instrumentación traqueal, intravascular o vesical, cirugía o tratamiento en unidad de cuidados intensivos (15).

Entre las enfermedades más comunes se encuentran las siguientes:

NEUMONIAS.

Las neumonías pueden adquirirse por aspiración endógena de flora orofaríngea, por aerosolización de partículas bacterianas de nebulizadores contaminados (aspiración exógena), o por diseminación bacterémica al pulmón de una fuente extrapulmonar.

Un estado consciente alterado facilita la aspiración de partículas grandes dentro de los bronquiolos terminales, como es el caso de estupor alcohólico, dosis excesiva de drogas, ataques, anestesia general, accidente cerebro vascular, coma hepático, encefalitis, adicción a la heroína, choque cardiogénico, inhalación de humo y contracción esofageal (11).

Se ha visto que en enfermos crónicos o agudos, la colonización de orofaringe se incrementa, lo mismo sucede en pacientes diabéticos, alcohólicos y con terapia antimicrobiana.

La infección se favorece cuando se aspira el inóculo con materiales que causan heridas al tracto respiratorio; también se presenta neumonía en pacientes con enfermedad obstructiva crónica del pulmón y en fumadores. Así mismo, debido a factores que deprimen los macrófagos pulmonares (por ejemplo, hidrocortisona, heridas por quemaduras, acidosis, infección primaria viral y drogas inmunosupresoras) (11).

Las neumonías nosocomiales se asocian generalmente a traqueotomía o al uso de tubos endotraqueales y respirómetros, debido a que Acinetobacter es un microorganismo hidrófilo que se multiplica en agua y contamina instrumental lavado con fuentes contaminadas (12).

Las neumonías adquiridas en la comunidad resultan de aspiración endógena y afectan principalmente a personas ancianas con enfermedad crónica, especialmente alcoholismo.

Se manifiesta dolor respiratorio, hipoxemia, leucopo-

nia, choque e infiltrados difusos en lóbulo pulmonar. Puede ocurrir empiema y la mortalidad es alta, La septicemia no es característica de esta enfermedad (3,11).

ENDOCARDITIS EN PROTESIS VALVULAR.

No es frecuente, son pocos los casos reportados; intervienen Acinetobacter anitratus y Acinetobacter lwoffii, ocurre en pacientes mayores que han sufrido reemplazo de válvula. El microorganismo no tiene preferencia por un tipo específico de válvula o localización. El intervalo entre el reemplazo de la válvula y la infección es variable.

El pronóstico de esta enfermedad es bueno comparado con la infección y los altos índices de mortalidad causados por otros microorganismos, posiblemente debido a la baja patogenicidad y virulencia de éstos.

Las fuentes de infección reportadas como responsables son catéteres intravenosos, equipo respiratorio usado conjuntamente con tubos endotraqueales o traqueotomías y cuartos con aire humidificado (16).

INFECCIONES EN PACIENTES CON CANCER.

En los últimos años se ha incrementado el número de infecciones por Acinetobacter en pacientes cancerosos que presentan neutropenia, los microorganismos se recuperan de los cultivos de sangre de estos enfermos (13).

REACCIONES PIROGENICAS DESPUES DE INFUSION INADVERTIDA DE ENDOTOXINA DURANTE CATETERIZACION CARDIACA.

Otra complicación subsecuente a cateterización cardiaca con material contaminado durante el lavado, es la reacción pirogénica que causa además de las fiebres, escalofríos y algunas veces hipotensión, debido a las endotoxinas proyectadas intravenosamente dentro de los catéteres.

El uso de catéteres desechables puede ser el método más seguro para evitar estas complicaciones (12).

Otras enfermedades reportadas son traqueobronquitis,

septicemias, infecciones en tracto urinario, infecciones en piel, sobre todo en pacientes quemados y en heridas, meningitis, peritonitis, en pacientes que recibieron diálisis peritoneal y casos esporádicos de osteomielitis, conjuntivitis y sinovitis (1,2,8,9).

En todos los casos las medidas profilácticas incluyen la esterilización cuidadosa del instrumental hospitalario y el aseo escrupuloso de las manos del personal en contacto con los enfermos.

6. DIAGNOSTICO DE LABORATORIO

Los microorganismos Gram negativos no fermentadores no se aíslan e identifican comúnmente en los laboratorios clínicos, entre otras causas porque no son bacterias que se encuentren frecuentemente y por esta razón el personal del laboratorio no está familiarizado con ellos. Sin embargo, Acinetobacter es un cocobacilo que se puede aislar fácilmente ya que no es un microorganismo exigente.

El aislamiento se puede hacer en medios complejos ordinarios como agar infusión cerebro corazón, agar triptícase soya, agar sangre y agar chocolate entre otros. El uso de agar MacConkey o agar eosina azul de metileno es útil para discriminar a otros microorganismos que no tienen la capacidad de crecer en ellos (2,8,9).

El esquema de Pickett diseñado para la detección de no fermentadores es útil para Acinetobacter. El orden general es el siguiente:

1.- Subcultivo preliminar de la colonia bacteriana desconocida, recuperada en un medio de aislamiento primario y transferida a un medio enriquecido donde pueda tener lugar un desarrollo profuso.

2.- Uso de un inóculo abundante de este desarrollo preliminar para todas las pruebas secundarias en las que se investigan las características nutricionales y bioquímicas.

3.- Investigación preliminar de un mínimo de características, a fin de identificar rápidamente las especies no fermentadoras comúnmente halladas.

4.- Utilización de medios amortiguados de sustrato simple (BSS) para la determinación del grueso de todas las características secundarias. Cada medio contiene un único sustrato (hidrato de carbono, alcohol, amina, etc.) que reacciona específicamente con los productos preformados de los

microorganismos predesarrollados contenidos en el inóculo abundante.

El proceso paso a paso es como sigue:

Temprano se toma una colonia bien aislada de la especie desconocida de un medio de aislamiento primario y se inocula en la superficie del pico de un medio de agar hierro de Kligler, en un área aproximada de un cm de diámetro. Se sugiere este medio porque tiene gran cantidad de hidratos de carbono y desarrollan la mayoría de los no fermentadores. Se pueden usar agar sangre o agar chocolate pero tienen la desventaja de tener menos hidratos de carbono y pueden alterar los sistemas enzimáticos dando falsas reacciones negativas en medios diferenciales.

Se sugiere el uso de tubos con tapón de rosca de 20 por 150 mm que puedan contener 14 o 15 ml de medio para que el área de crecimiento sea lo más grande posible, se incuba a 35° C.

Al mismo tiempo se siembra en un medio movilidad-nitrato compuesto de 1.0 g de tripteína, 0.8 g de agar infusión y 0.1 g de KNO₃ por cada 100 ml. Se usan tubos de 13 mm con tapón de rosca conteniendo 4 ml del medio ya citado, se vuelca horizontalmente el tubo y se inocula por punción en la parte superior, ya que los no fermentadores son aerobios y no desarrollan en las partes internas del medio. Se incuba a 25° C.

Por la tarde se hace tinción de Gram del tubo de agar hierro de Kligler y prueba de citocromo oxidasa.

Los tubos de movilidad nitrato se leen a las 6-8 horas de incubación, los bacilos no fermentadores producen menos opacidad que los fermentadores, si no hay movilidad, incubar a 25° C.

Si el microorganismo es móvil y oxidasa positivo, se puede sospechar del género Pseudomonas, si es no móvil

y oxidasa positivo puede ser Moraxella spp.

Usando el crecimiento en el medio agar hierro de Kligler inclinado, sembrar un inóculo denso en medio fluoresceína-nitrato e incubar a 25° C durante 24 horas.

Al día siguiente determinar si el aislamiento es de Pseudomonas aeruginosa o de Acinetobacter anitratus mediante la observación de las siguientes características (8):

CARACTERISTICAS	<u>PSEUDOMONAS</u> <u>AERUGINOSA</u>	<u>ACINETOBACTER</u> <u>CALCOACETICUS</u> (<u>ANITRATUS</u>)
Desarrollo pigmentado	90 % +	90 % -
Oxidasa	+	-
Medio movilidad-nitrato:		
Movilidad	+	-
Gas	+	-
Medio fluoresceína-nitrato:		
Fluorescencia	+	-
Acidificación del pico	-	+
Formación de gas (desnitrificación)	+	-
Desarrollo a 42° C	+	-
Sensible a penicilina	-	-

De acuerdo al esquema original de Pickett, Acinetobacter se encuentra dentro del grupo oxidasa negativo que comprende Acinetobacter anitratus, Acinetobacter lwoffi, - Pseudomonas cepacia, Pseudomonas maltophilia, CDC biogrupo II K y CDC biogrupo Ve. Para la identificación de los miembros de este grupo se puede hacer uso de la siguiente tabla:

ESTA TESIS NO DEBE
SALIR DE LA BIBLIOTECA

Grupo oxidasa negativo (esquema de Pickett)
Especies e Grupos

Características diferenciales	<u>Acinetobacter</u> <u>anitratus</u>	<u>Acinetobacter</u> <u>lwoffi</u>	<u>Pseudomonas</u> <u>cepacia</u>	<u>Pseudomonas</u> <u>maltophilia</u>	<u>11k(CDC)</u> <u>Ve</u> <u>(CDC)</u>	<u>(CDC)</u>
Caracteres primarios:						
Diámetro de colonias, mm	1-2	0.5-1	0.1-0.5	0.2-1	0.1-0.5	0.5-2
Desarrollo en MacConkey	+	+	(-)	+	(-)	+
Desarrollo pigmentado	-	-	(-)	(-)	(+)	+
Medio fluorescencia-lactosa- denitrificación (FIN)						
Pico ácido	+	-	(+)	-	(+)	-
Medio movilidad-nitrato						
Movilidad	-	-	+	+	(-)	+
Nitrito	-	-	(+)	(+)	(-)	(+)
Caracteres secundarios:						
Arabinosa	+	+	+	-	+	+
Glucosa	+	(+)	+	+	+	+
Lactosa	+	-	+	+	+	(-)
Acetamida	-	-	(+)	-	-	-
Gluconato	-	-	+	-	-	(+)
Lisina descarboxilasa (IDC)	-	-	+	+	-	-
Urea	(-)	-	-	-	(-)	-
Caracteres adicionales						
Fructosa	(+)	(+)	+	+	+	+
Manitol	-	-	-	-	-	+
Ramnosa	+	-	-	-	(-)	(-)
Sacarosa	-	-	(+)	+	+	(-)
Pico de Loeffler, licuado	-	-	-	+	-	-

+, 90% o más de cepas positivas; (+), 51-89% de cepas positivas; (-), 10-50% de cepas positivas; -, menos de 10% de cepas positivas.

Gilardi ideó otro esquema para identificar bacilos Gram negativos no fermentadores, que emplea pruebas bioquímicas y nutricionales accesibles a los laboratorios. Aunque presenta limitaciones para microorganismos exigentes, es útil para la identificación de Acinetobacter; este autor divide en tres grupos a los no fermentadores:

- 1) Grupo de los bacilos móviles oxidasa positivos, Pseudomonas spp. y Alcaligenes spp.
- 2) Grupo de los diplococos inmóviles oxidasa negativos, Acinetobacter spp. y de los diplobacilos oxidasa positivos Moraxella spp.
- 3) Grupo de los bacilos inmóviles, oxidasa positivos, con pigmento amarillo (Flavobacterium spp.)

Para discriminar entre Acinetobacter anitratus y Acinetobacter lwoffii son de utilidad las características que se citan a continuación (8):

	<u>ACINETOBACTER</u> <u>ANITRATUS</u>	<u>ACINETOBACTER</u> <u>LWOPFI</u>
Gelatinasa	-	-
β-hemólisis	-	-
Crecimiento en SS	-	-
OF glucosa	+	-
10 % lactosa	+	-

+90 % o más de copas positivas; -- menos de 10 % de copas positivas.

7. TRATAMIENTO

Acinetobacter calcoaceticus se caracteriza por su resistencia a la penicilina. El crecimiento de muchas cepas no se inhibe con 1 U/ml de penicilina G y la mayoría de las cepas son resistentes a 100 U/ml (2).

También se ha comprobado resistencia a ampicilina, cefalotina y cloramfenicol. La susceptibilidad a trimetoprim sulfametaxol es variable (2, 15).

Las cepas de Acinetobacter anitratus aisladas de pacientes hospitalizados, son más resistentes a los antibióticos que las aisladas de la comunidad. Por lo que respecta a Acinetobacter lwoffii, no hay diferencia en la resistencia entre cepas de hospital y las de la comunidad (5).

El tratamiento contra estos microorganismos se ha hecho a base de antibióticos tales como cloramfenicol, kanamicina, meticilina, colistina, cefotaxima, gentamicina, tobramicina, carbenicilina, trimetoprim-sulfametaxol, minociclina y doxicilina (5, 11, 12, 13, 15, 16).

Una mezcla de gentamicina y cefotaxima ha dado buenos resultados; sin embargo, se reportan cepas resistentes hasta en un 29 % para gentamicina, 13 % para tobramicina y 7 % para amikacina (15).

Mezclas de un aminoglucósido y ticarcilina, piperacilina o carbenicilina son sinérgicas y producen buenos resultados en el tratamiento de enfermedades severas (11).

Pruebas in vitro de nuevos antibióticos y de los ya existentes, indican que imipenem y ceftazimida son los más activos, inhibiendo todas las especies en niveles clínicos, mientras que la piperacilina y la amikacina son más activas que aztreonam, aunque algunas cepas son resistentes (13).

8. CONCLUSIONES

- Acinetobacter calcoaceticus ha sufrido cambios en su nomenclatura y reclasificaciones a medida que se han incluido en su estudio características cada vez más específicas como propiedades fisiológicas, nutricionales y bioquímicas, que han permitido definir mejor su taxonomía y seguramente en los próximos años proporcionarán una información más completa y adecuada sobre este microorganismo.

- Es pleomórfico, Gram negativo, no fermentador, con metabolismo oxidativo o no sacarolítico, oxidasa negativo y forma colonias pequeñas, redondas y convexas.

- No es exigente, crece fácilmente en los medios comúnmente usados en los laboratorios, por lo que su aislamiento es relativamente sencillo.

- Se reporta como el segundo bacilo Gram negativo no fermentador, más frecuentemente encontrado como agente causal de alguna enfermedad en pacientes inmunocomprometidos.

- El tratamiento con antibióticos de uso común es efectivo en la mayoría de los casos, excepción hecha de algunas cepas resistentes en que se pueden administrar otros antibióticos alternativos.

. Por lo anteriormente expuesto, se considera interesante una investigación de campo para observar su frecuencia en México.

9. BIBLIOGRAFIA

- 1.- Bergey's. MANUAL OF DETERMINATIVE BACTERIOLOGY.
8ª edición.
The Williams and Wilkins company.
Baltimore, (1975).
- 2.- Bergey's. MANUAL OF SISTEMATIC BACTERIOLOGY.
Vol. I, 9ª edición.
The Williams and Wilkins company.
United States of America, (1984).
- 3.- Cunha, Burke A.; Klimek, Joseph J.; Gracewski, John; McLaughlin, James C. y Quintiliani, Richard. A common source outbreak of Acinetobacter pulmonary infections traced to Wright respirometers. Postgrad. Med. J. 56:653. - (1980).
- 4.- Davis, Bernard D.; Dulbecco, Renato; Einsen Hermann N.; Ginsberg, Harold S, y Wood, Barry.
TRATADO DE MICROBIOLOGIA.
1ª edición. 5ª reimpresión.
Editorial Salvat.
España, (1976).
- 5.- Gerner-Smidt, P. The epidemiology of Acinetobacter calcoaceticus: Biotype and resistance-pattern of 328 strains consecutively isolated from clinical specimens. Acta. Path. Scand. Sect. B. 95:5, (1987).
- 6.- Kaplan, Nachum; Zosim, Zinaida y Rosemberg, Eugeno. Reconstitution of emulsifying activity of Acinetobacter calcoaceticus BD4 emulsan by using pure polysaccharide and protein. Appl. Environ. Microbiol. 53:2, (1987).
- 7.- Kawahara, Kazuyoshi; Brade, Helmut; Rietschel, Ernst Th. y Zahringer, Ulrich. Studies on the chemical structure of the core-lipid A region of the lipopolysaccharide of Acinetobacter calcoaceticus NCTC 10305. Eur. J.

- Biochem. 163, (1987).
- 8.- Koneman, Elmer W.; Allen, Stephen D.; Dowell, V. R. Jr.; Jander, William M.; Sommers, Herbert M y Winn, Washington Jr.
 COLOR ATLAS AND TEXTBOOK OF DIAGNOSTIC MICROBIOLOGY.
 J. B. Lippincott company.
 Philadelphia, (1988).
- 9.- Lennette, Edwin H.; Balows, Albert; Hausler, William Jr. y Shadomy, H. Jean.
 MANUAL OF CLINICAL MICROBIOLOGY.
 American Society for Microbiology.
 Washington D. C., (1985).
- 10.- Mac Faddin, Jean F.
 PRUEBAS BIOQUIMICAS PARA LA IDENTIFICACION DE BACTERIAS DE IMPORTANCIA CLINICA.
 Editorial Médica Panamericana.
 México, (1984).
- 11.- Reyes, Milagros P. The aerobic Gram-negative bacillary pneumonias. Med. Clin. of North America. 64:3, (1980).
- 12.- Reyes, M. P.; Ganguly, S.; Fowler, M.; Brown, W. J.; Gatmaitan, B. G.; Friedman, C. y Lerner, A. M. Pirogenic reactions after inadvertent infusion of endotoxin during cardiac catheterizations. Ann. Int. Med. 93:1, (1980).
- 13.- Rolston, Kenneth V. I. y Bodey, Gerald P. In vitro - susceptibility of Acinetobacter species to various antimicrobial agents. Antimicrob. Agents. Chemoter. 30:5, (1986).
- 14.- Shabtai, Yossef y Gutnick, David. Exocellular esterase and emulsan release from the cell surface of Acinetobacter calcoaceticus. J. Bacteriol., 161:3, (1985).
- 15.- Stiver, H. Grant; Bartlett, Karen H y Chow, Anthony W.

Comparison of susceptibility of gentamicin-resistant and susceptible "Acinetobacter anitatus" to 15 alternative antibiotics. Antimicrob. Agents. Chemoter. 30:4, (1986).

- 16.- Weinberger, Itzhak; Davidson, Ehud; Rotenberg, Zvi; - Fuchs, Jacob y Agmon, Jacob. Prosthetic valve endocarditis caused by Acinetobacter calcoaceticus subsp. woffii J. Clin. Microbiol. 25:5, (1987).