



asociación
argentina de
microbiología

SADEBAC

Sociedad Argentina de
Bacteriología, Micología y
Parasitología Clínicas

Taller de CONSENSO Bacilos Gram Negativos No fermentadores
“Actualización de los criterios de ensayo, interpretación e informe de
las Pruebas de sensibilidad a los antimicrobianos en Bacilos Gram-
Negativos No Fermentadores (BGNNF)”

***Acinetobacter spp. Taxonomía. Resistencias
naturales y adquiridas: Detección de
mecanismos de resistencias***

Dr. Carlos Hernán Rodríguez

**DEPARTAMENTO DE BIOQUÍMICA CLÍNICA
HOSPITAL DE CLÍNICAS. FFYB - UBA**


Características generales

- El género *Acinetobacter* se define como cocobacilos gram-negativos con un contenido de G+C entre 39 a 47 mol %, estrictamente aerobios, inmóviles, catalasa positivos, oxidasa negativos, reducen nitratos solo raramente.
- Actualmente (2019) esta integrado por 59 genomoespecies

Acinetobacter calcoaceticus- Acinetobacter baumannii complex

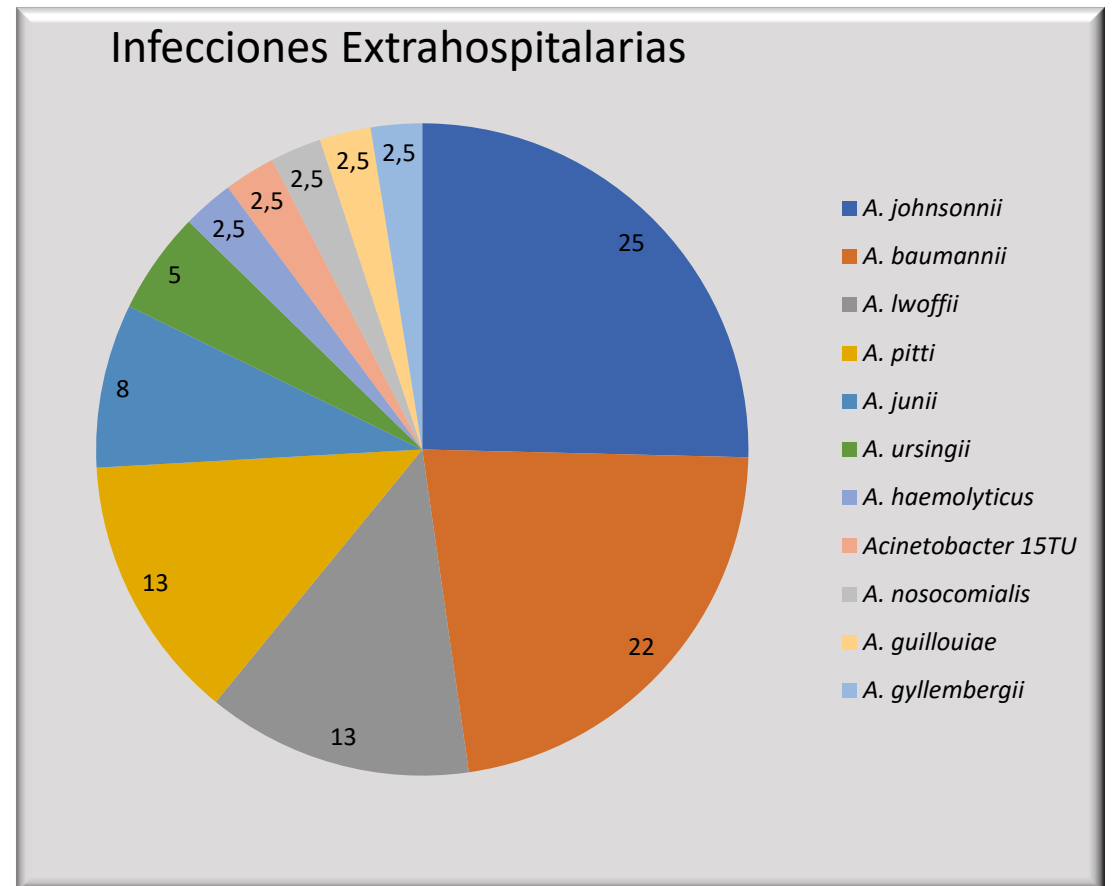
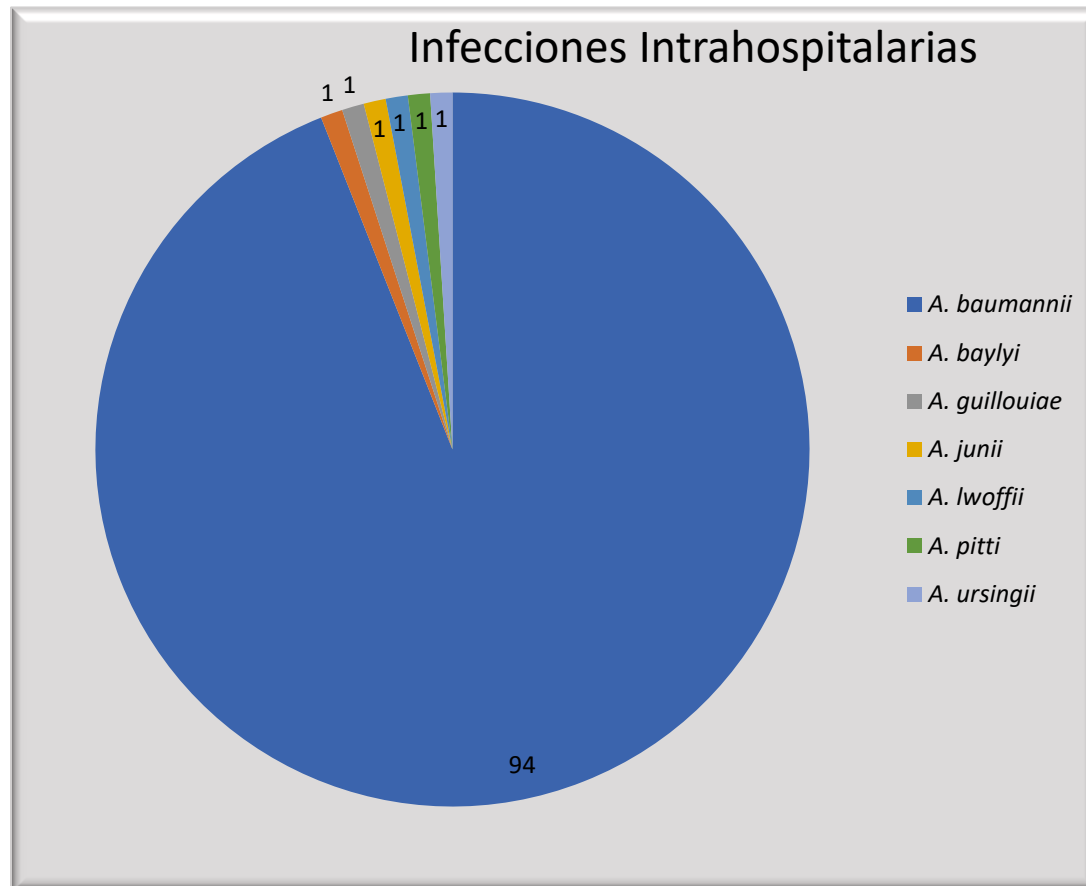
- *Acinetobacter calcoaceticus*
- *Acinetobacter baumannii*
- *Acinetobacter pittii*
- *Acinetobacter nosocomialis*
- *Acinetobacter seifertii*
- *Acinetobacter dijkschoorniae*

Acinetobacter spp.

- Ubicuos en la naturaleza
- Reservorios en animales , plantas y humanos
- Diversidad de infecciones
- Infecciones EH-IH
- *A. baumannii*  IH
- Menor número de brotes nosocomiales descritos (*A. nosocomialis*-*A. ursingii*- *A. junii*)

Epidemiología Hospital de Clínicas-UBA

2012-2014



Frecuencia de aislamiento y resistencia a los antimicrobianos en *Acinetobacter* spp. en un hospital universitario de la ciudad de Buenos Aires. Carlos Hernán Rodríguez, Marcela Nastro, Laura Dabos, Carlos Vay, Angela Famiglietti. Rev. Argent de Microbiol. 2014; 46(4):320-4.

Acinetobacter spp

❖ **Métodos Automatizados**

Complejo *A. calcoaceticus*- *A. baumannii*

❖ **MALDI-TOF / Métodos Moleculares**

Identifica las diferentes genomoespecies

Utilidad MALDI-TOF en la identificación *Acinetobacter* spp Hospital de Clínicas-UBA. 2012-2014

IDENTIFICACION# Técnicas moleculares	N	<i>bla</i> _{OXA-51} -like (+)	IDENTIFICACION MALDI-TOF
<i>A. baumannii</i>	45	45	<i>A. baumannii</i> (40); <i>A. nosocomialis</i> (5)
<i>A. pittii</i>	8	1	<i>A. pittii</i> (8)
<i>A. nosocomialis</i>	1	0	<i>A. nosocomialis</i> (1)
<i>A. gyllenbergii</i>	1	0	<i>A. calcoaceticus</i> (1)
<i>A. johnsonii</i>	3	0	<i>A. johnsonii</i>
<i>A. lwoffii</i>	3	0	<i>A. lwoffii</i>
<i>A. junii</i>	2	0	<i>A. junii</i>
<i>Acinetobacter</i> 15 TU	1	0	<i>Acinetobacter</i> 15 TU
<i>A. ursingii</i>	2	0	<i>A. ursingii</i>
<i>A. guillouiae</i>	2	0	<i>A. guillouiae</i>
<i>A. haemolyticus</i>	1	0	<i>A. haemolyticus</i>

rpoB

Identificaciones correctas: 94 %

Utilidad MALDI-TOF en la identificación de *Acinetobacter calcoaceticus*-*Acinetobacter baumannii* complex

JOURNAL
OF MEDICAL
MICROBIOLOGY

SHORT COMMUNICATION

Cerezales et al., *Journal of Medical Microbiology* 2018;67:834–837
DOI 10.1099/jmm.0.000751



Identification of *Acinetobacter seifertii* isolated from Bolivian hospitals

Mónica Cerezales,^{1,*} Kyriaki Xanthopoulou,^{2,3} Julia Ertel,^{2,3} Alexandr Nemeč,⁴ Zulema Bustamante,⁵ Harald Seifert,¹ Lucia Gallego¹ and Paul G. Higgins^{2,3}

Table 1. Results of species identification using different molecular methods

Strain Sequence type (Oxford/Pasteur)	VITEK2	MALDI-TOF MS	gyrB PCR	SpeciesFinder	KmerFinder (score, total template coverage)	rpoB	MISA (similarity)	ANIb	dddH
M130-324* 1530/994	<i>A. baumannii</i> complex	<i>A. baumannii</i> (score 2.28–2.31) <i>A. pittii</i> (score 2.02–2.08)	<i>A. baumannii</i> <i>A. pittii</i>	Failed	<i>A. baumannii</i> (2123, 26.14 %)	<i>A. seifertii</i>	<i>A. seifertii</i> (98.82–99.56 %)	<i>A. seifertii</i>	<i>A. seifertii</i>
M1421-133* 1530/994	<i>A. baumannii</i> complex	<i>A. baumannii</i> (score 2.33–2.34) <i>A. pittii</i> (score 2.05)	<i>A. baumannii</i> <i>A. pittii</i>	Failed	<i>A. baumannii</i> (2122, 26.13 %)	<i>A. seifertii</i>	<i>A. seifertii</i> (98.82–99.56 %)	<i>A. seifertii</i>	<i>A. seifertii</i>
V1371 1559/1064	<i>A. baumannii</i> complex	<i>A. baumannii</i> (score 2.02–2.09) <i>A. pittii</i> (score 1.89)	<i>A. baumannii</i> <i>A. pittii</i>	Failed	<i>A. baumannii</i> (2090, 24.19 %)	<i>A. seifertii</i>	<i>A. seifertii</i> (98.86–99.60 %)	<i>A. seifertii</i>	<i>A. seifertii</i>

*These two isolates belong to the same strain as determined by ANIb and ddddH.



Short communication

Pathogenic *Acinetobacter* species including the novel *Acinetobacter dijkshoorniae* recovered from market meat in Peru

Marta Mari-Almirall^{a,1}, Clara Cosgaya^{a,1}, Maria J. Pons^{a,b}, Alexandr Nemeč^{c,d}, Theresa J. Ochoa^e, Joaquim Ruiz^a, Ignasi Roca^{a,*}, Jordi Vila^a

3. Results and discussion

3.1. Identification of *Acinetobacter* species and clonal relatedness of all isolates

Twelve isolates of the genus *Acinetobacter* were recovered on MacConkey agar plates from the meat samples of five different calves obtained in two independent markets in Lima, Peru.

Species identification of the 12 isolates was initially performed by MALDI-TOF MS by comparing the spectra profiles against the updated Bruker taxonomy database (V.8.0.0.0) which included custom reference spectra for *Acinetobacter dijkshoorniae* and *Acinetobacter seifertii*, the novel members of the ACB complex (Mari-Almirall et al., 2017).

Three isolates were identified as *A. baumannii*, *Acinetobacter bereziniae* and *A. dijkshoorniae*, respectively, and the remaining nine isolates were identified as *Acinetobacter pittii*. Of note, the log score values for the identification of five out of the nine *A. pittii* isolates ranged between 1.9 and 2.01, which constituted a poor probable species identification, according to the manufacturer's specifications.

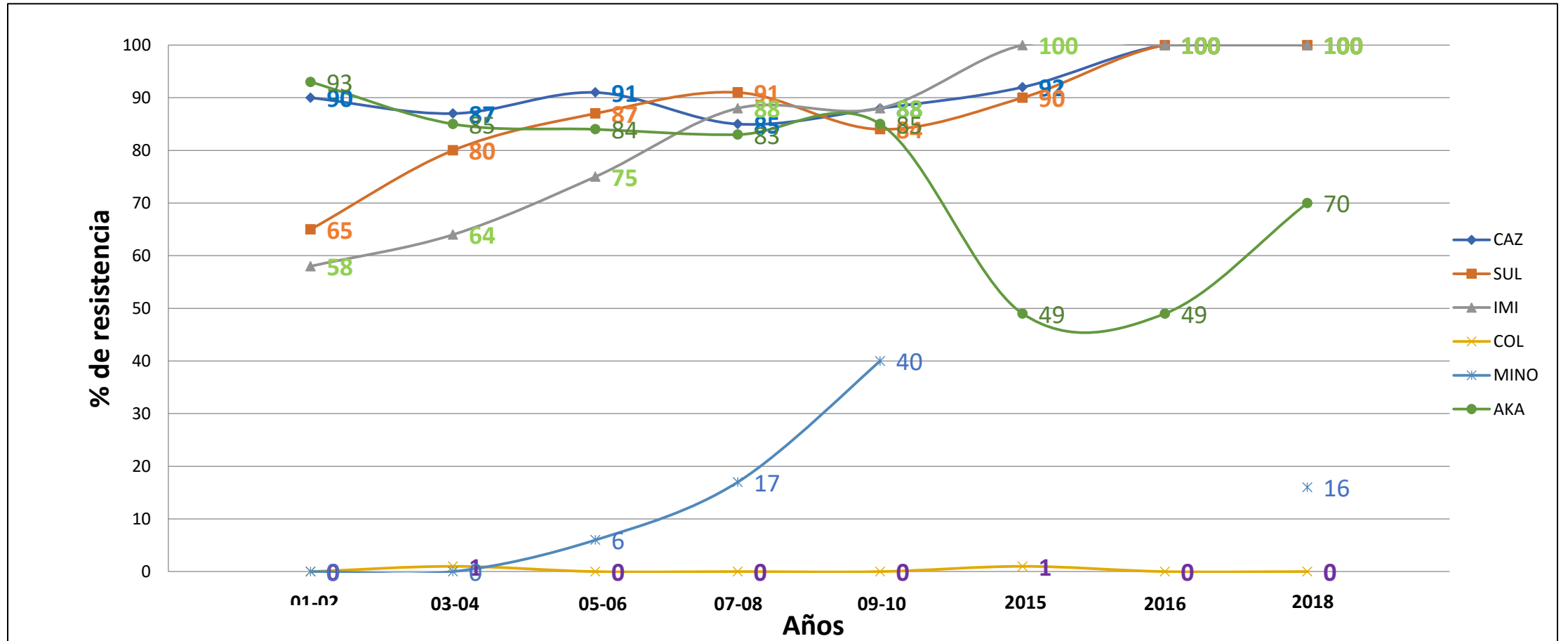
Acinetobacter spp. Resistencias naturales.

- **Ampicilina**
- **Ampicilina/clavulánico**
- **Aztreonam**
- **Ertapenem**
- **Trimetroprima**
- **Fosfomicina**

Acinetobacter spp
CLSI/EUCAST
2019

	CLSI2019		EUCAST 2019	
	Sensible	Resistente	Sensible	Resistente
	mg/l		mg/l	
	≤	≥	≤	>
ampicilina/sulbactam	8/4	32/16	IE	IE
ceftazidima	8	32		
cefepima	8	32		
imipenem	2	8	2	4
meropenem	2	8	2	8
amicacina	16	64	8	16
gentamicina	4	16	4	4
colistin	2	4	2	2
tetraciclina	4	16		
doxiciclina	4	16		
minociclina	4	16	IE	IE
tigeciclina			IE	IE
ciprofloxacina	1	4	0.06	1
levofloxacina	2	8	0.5	1
TMS	2/38	4/76	2	4

Evolución de la resistencia antimicrobiana *Acinetobacter baumannii* Hospital de Clínicas UBA 2001-2018



MBL

- Clasificación B Ambler
- Cationes divalentes sitio activo (Zn^{2+})
- Afecta a ATB β -lactámicos (-AZT)
- Inhibidores: sulbactam, tazobactam, a. clavulánico : no activos
- Codificación cromosómica y / o genes transferibles

- **IMP, VIM, GIM, SPM, SIM, NDM**
- A. latina: IMP, SPM, NDM
- Detección fenotípica:
 - quelantes (EDTA-a. dipicolínico)
 - falsos resultados
 - desestabilización membrana externa-OXA-23



INFORME BREVE

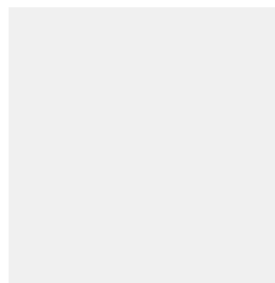
Epidemiología molecular de aislados de *Acinetobacter baumannii* resistentes a carbapenems en Argentina



Carlos H. Rodríguez^{a,*}, Marcela Nastro^a, Silvia A. Flores^b, Mónica Rodríguez^c, Mariela Spinozzi^d, Geni Bruni^e, Ana L. López^f, Viviana David^g, María S. Aiassa^h, Isabel A. Marquésⁱ, Osvaldo R. Navarro^j, Laura Paniccia^k, Angela Famiglietti^a y Grupo colaborativo *Acinetobacter* Argentina[◇]

Journal of Medical Microbiology (2016), 65, 1088–1091

DOI 10.1099/jmm.0.000328



Molecular epidemiology of carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* in South America

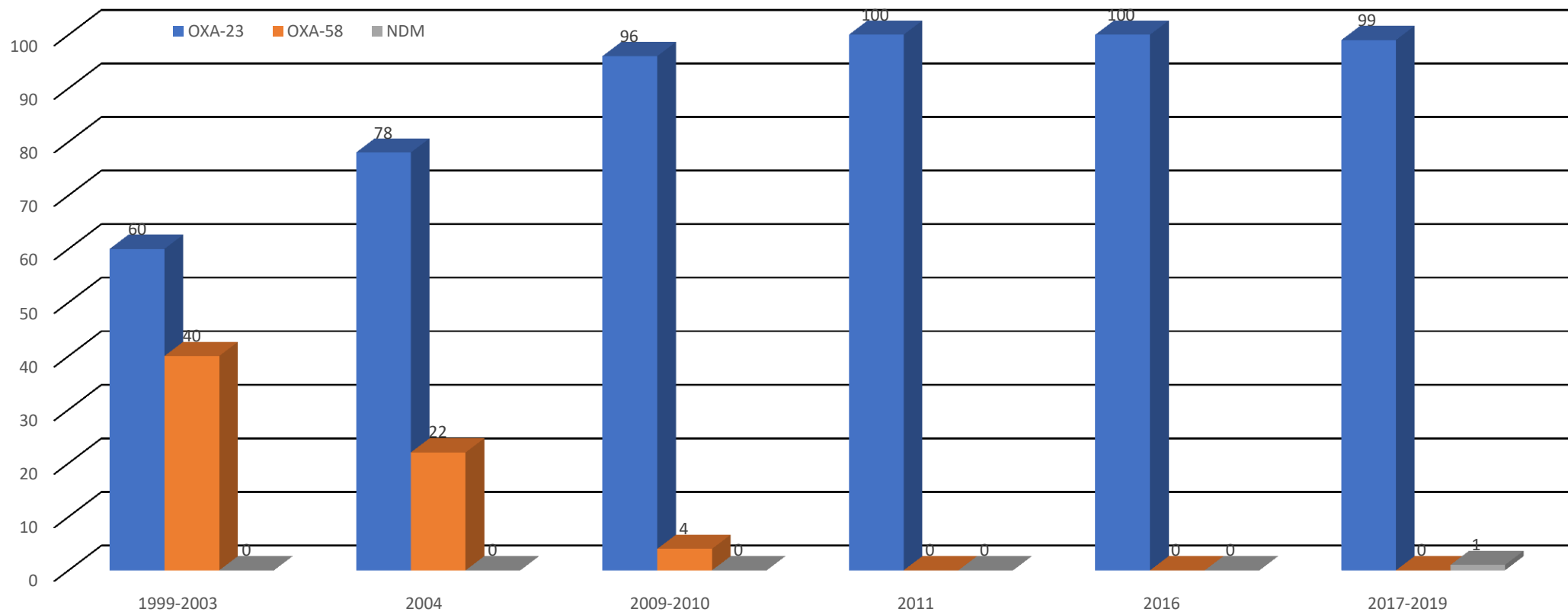
Carlos Hernán Rodríguez,^{1†} Norah Balderrama Yarhui,^{1†} Marcela Nastro,¹ Tamara Nuñez Quezada,² Glenda Castro Cañarte,³ Raquel Magne Ventura,⁴ Tayita Ugarte Cuba,⁵ Natalia Valenzuela,⁶ Freddy Roach,⁶ María Inés Mota,⁷ Noelia Burger,⁷ Gladys Velázquez Aguayo,⁸ Juana Ortellado-Canese,⁸ Geni Bruni,⁹ Cecilia Pandolfo,⁹ Nadya Bastyas⁹ and Angela Famiglietti¹

ISSN: 1120-009X (Print) 1973-9478 (Online) Journal homepage: <http://www.tandfonline.com/loi/yjoc20>

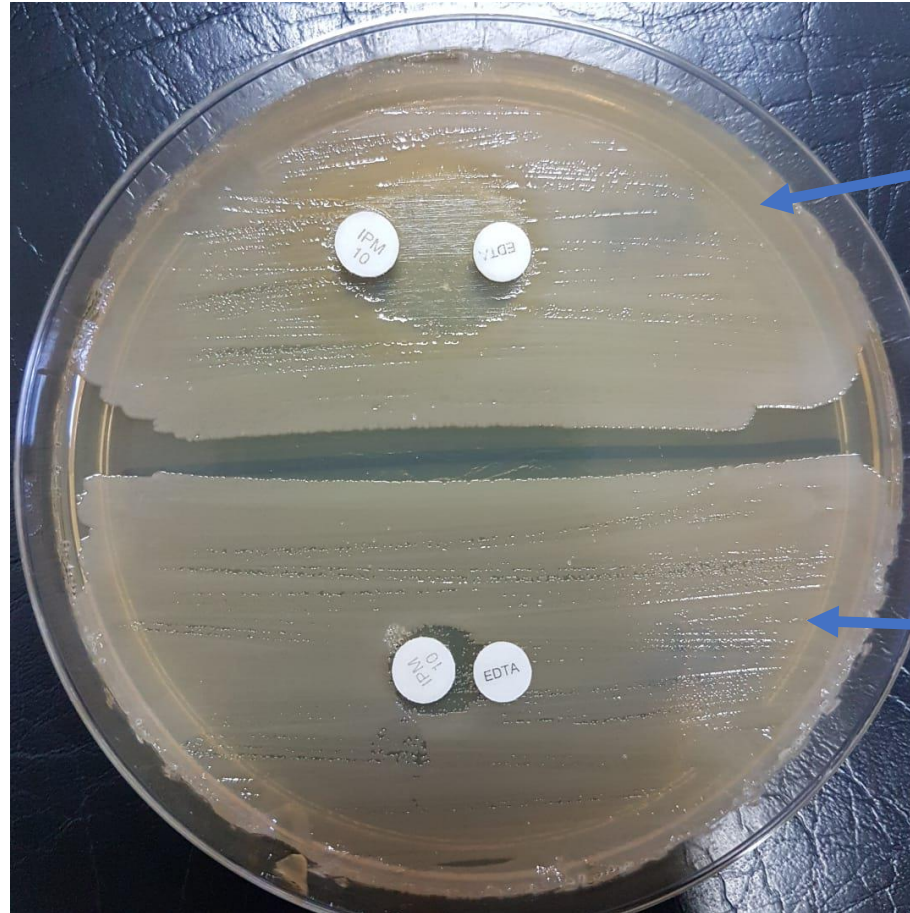
Outbreak of bla_{OXA-72}-producing *Acinetobacter baumannii* in South America

Tamara Nuñez Quezada, Carlos Hernan Rodríguez, Glenda Castro Cañarte, Marcela Nastro, Nora Balderrama Yarhui, Laura Dabos, Yessenia Acosta Mosquera, Natasha Plaza Moreira & Angela Famiglietti

Acinetobacter spp. Carbapenemasas Hospital de Clínicas UBA 1999-2019



Acinetobacter spp. Carbapenemasas

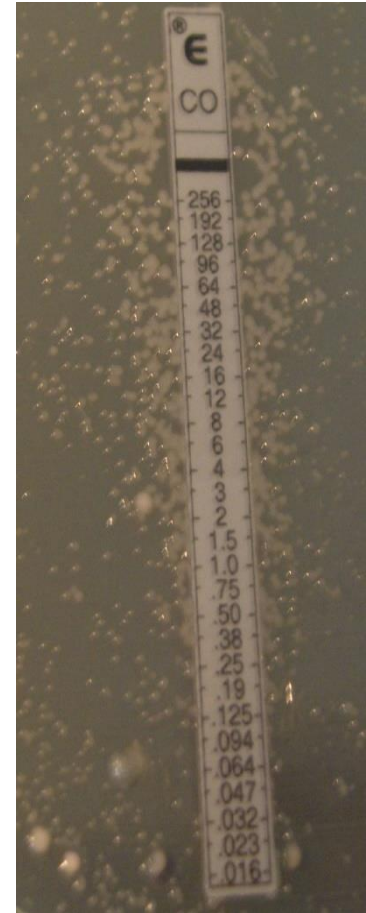


A. baumannii NDM

A. baumannii
NDM+OXA-23

Resistencia a COL *A. baumannii*

- La resistencia está mediada por la adición de fosfoetanolamina al lípido A de lipopolisacárido (LPS) (*pmrAB*)
- Por pérdida completa de la expresión de LPS (*lpxA*, *lpxC* y *lpxD*).
- Eflujo
- La heterorresistencia a col (HR) y la dependencia de col (CD) son fenómenos descritos en aislamientos clínicos de *A. baumannii*.



En el año 2016 en un documento conjunto el CLSI y el EUCAST recomiendan solamente la metodología de dilución en caldo para realizar la prueba de sensibilidad a colistina

Table 2
Epidemiological, genomic and susceptibility data for *A. baumannii* colistin-resistant isolates.

Isolate	City	Year	MIC ($\mu\text{g/mL}$)					Chromosomal mutations					
			BMD	AD	Pho	Pho24	RAC	HR	LpxA	LpxC	LpxD	PmrB	
87	BA	2004	64	64	4	4	P	2×10^1			X		
65027	BA	2005	4	1	≤ 1	≤ 1	N	1×10^{-2}			X		
214	BA	2013	4	1	≤ 1	≤ 1	N	3×10^{-2}			X		
220	BA	2013	4	2	≤ 1	≤ 1	N	2×10^{-2}			X		
259	BA	2014	16	16	4	4	P	2×10^1	ND	ND	ND	ND	
406	BA	2015	64	64	4	4	P	2×10^1	ND	ND	ND	ND	
86800	BA	2015	16	16	4	4	P	2×10^1	ND	ND	ND	ND	
4840	Mendoza	2016	32	32	2	4	P	4×10^1	X			X	
3662	Mendoza	2016	16	16	2	4	P	2×10^1				X	
2858	Mendoza	2016	32	32	4	4	P	1×10^1	X		X		
4888	Mendoza	2016	16	16	4	4	P	2×10^1		X	X		
8058	Mendoza	2016	32	32	2	4	P	3×10^1				X	
1993	Mendoza	2016	32	32	4	4	P	1×10^1	X				
2320	Mendoza	2016	32	32	4	4	P	2×10^1	X				
2315	Mendoza	2016	32	32	4	4	P	1×10^1	ND	ND	ND	ND	
4395	Mendoza	2016	32	32	2	4	P	1×10^1	ND	ND	ND	ND	
6218	Mendoza	2016	32	32	4	4	P	2×10^1		X	X		
2521	Mendoza	2016	32	32	2	4	P	3×10^1	X	X	X	X	
5287	San Juan	2016	8	2	≤ 1	≤ 1	P	2×10^{-2}		X			
5387	San Juan	2016	4	2	≤ 1	≤ 1	P	5×10^{-4}	ND	ND	ND	ND	
85	Chaco	2016	8	0.5	≤ 1	≤ 1	P	5×10^{-2}				X	
98726	BA	2017	4	2	≤ 1	≤ 1	P	4×10^{-4}			X		
269	BA	2017	4	1	≤ 1	≤ 1	N	8×10^{-4}		X			
47	BA	2018	64	32	4	4	P	1×10^1	ND	ND	ND	ND	
270	BA	2018	64	32	4	4	P	2×10^1	ND	ND	ND	ND	

AD, agar dilution; Pho, Phoenix NMIC-406; Pho24, Phoenix NMIC-406 manual reading at 24 h of incubation; RCA, rapid colistin *Acinetobacter* resistant subpopulations; BA, Buenos Aires city; P, positive; N, negative; ND, not determined

Bold type, very major errors



Discrepancies in susceptibility testing to colistin in *Acinetobacter baumannii*: The influence of slow growth and heteroresistance

Carlos Hernán Rodríguez ^{a,*}, German Traglia ^a, Nadya Bastias ^b, Cecilia Pandolfo ^b, Geni Bruni ^b, Marcela Nastro ^a, Ruben Barrios ^c, Eleonora M. Bavastro ^d, Mariana Carol Rey ^e, Isabel A. Marques ^e, Facundo Heger ^a, Carlos Vay ^a, Jennifer S. Fernandez ^f, María Soledad Ramirez ^f, Angela Famiglietti ^g

- Multicéntrico
- 165 aislamientos
- 25 resistentes

- CIM >16 µg/ml
- Rápido crecimiento sub-poblaciones R
- Alto % sub-poblaciones R

- CIM >16 µg/ml
- ~~Rápido crecimiento sub-poblaciones R~~
- Alto % sub-poblaciones R

- ~~CIM >16 µg/ml~~
- ~~Rápido crecimiento sub-poblaciones R~~
- ~~Alto % sub-poblaciones R~~

12 correctamente categorizadas

AUTOMATIZADO

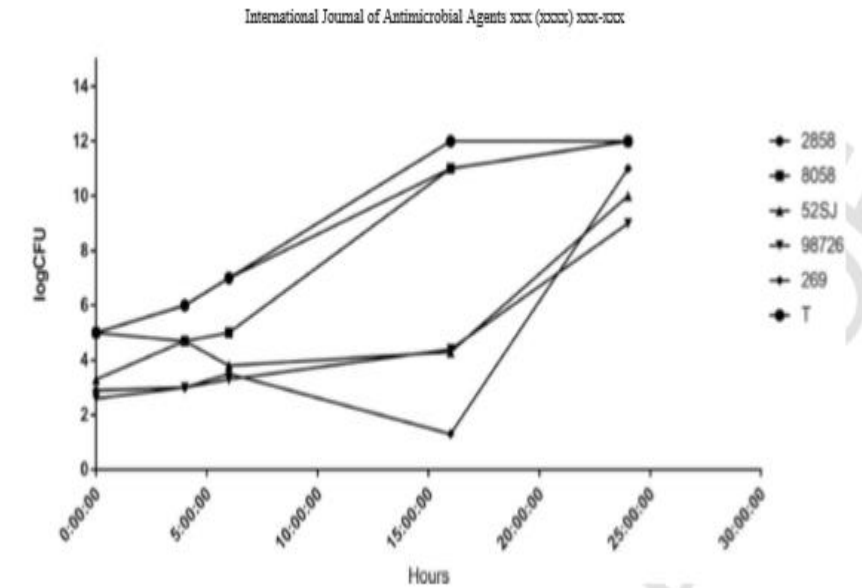
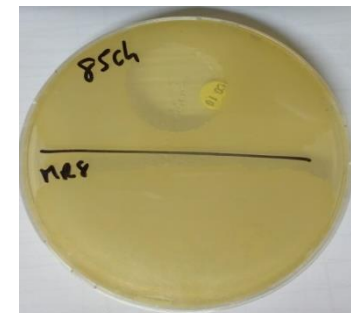
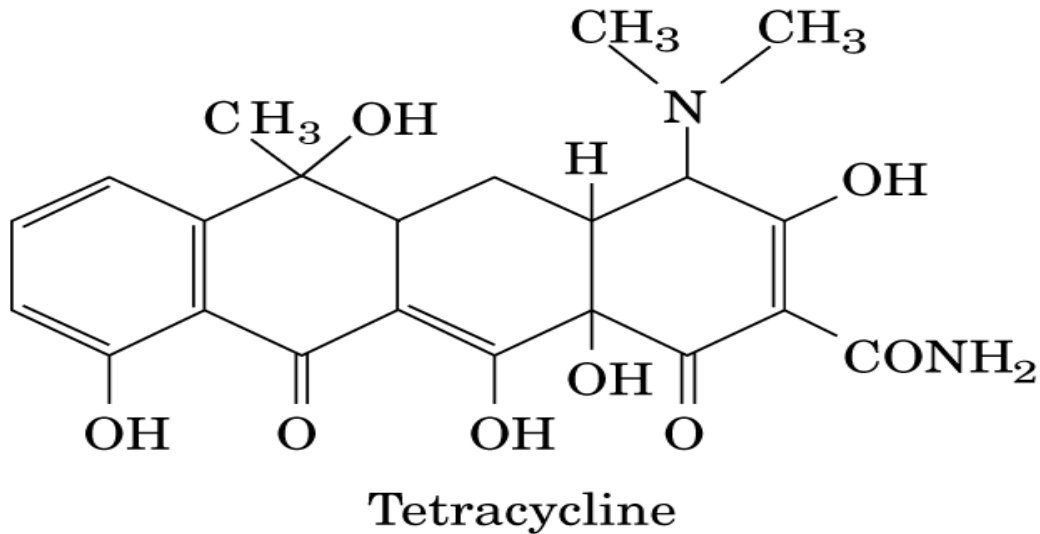


Fig. 1. Time-kill studies performed on five colistin-resistant *Acinetobacter baumannii* isolates.

AUTOMATIZADO



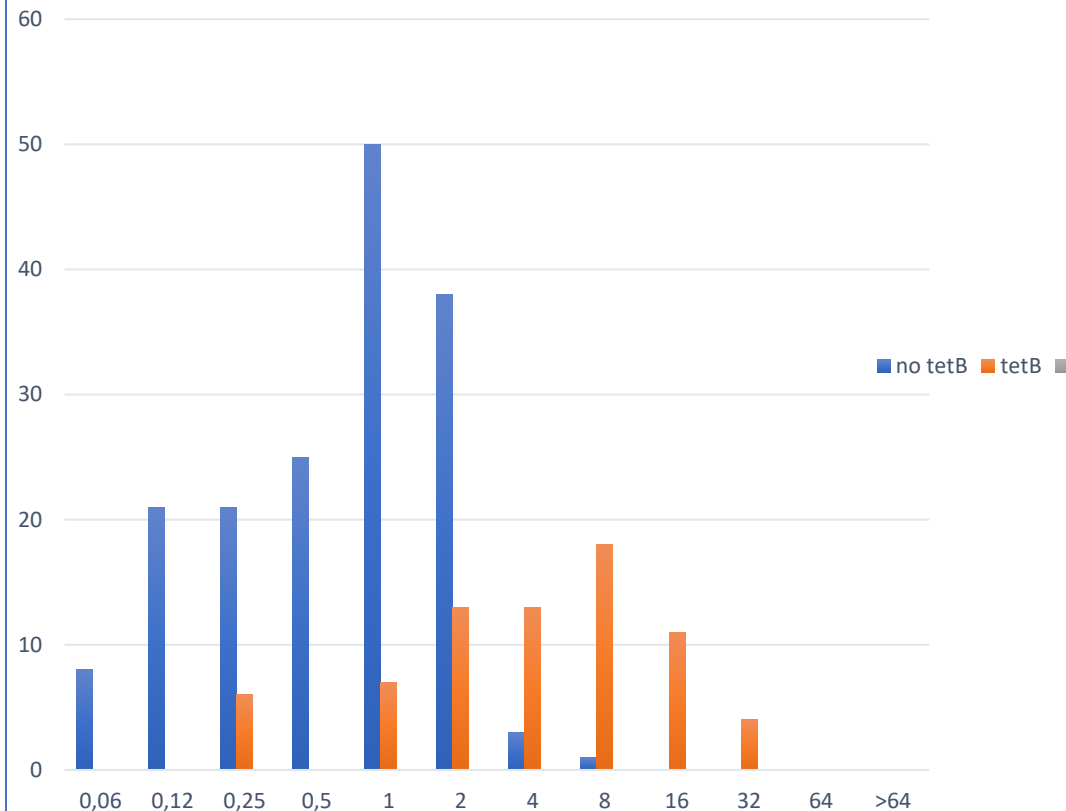
MINOCICLINA



- VO- EV
- Amplio espectro acción
- Tto. combinado *Acinetobacter* spp
- Mec. de resistencia: *tetB*
- CLSI: S: $\leq 4\mu\text{g/ml}$; R: $\geq 16\mu\text{g/ml}$
- EUCAST 2019 sin PC
- Tsakris (JAC-2019): PK/PD ↓ PC

MINOCICLINA

CIM minociclina *A. baumannii*



n: 241; 2004-2019; H. de Clínicas
CIM dilución agar; PCR

Conclusiones

- *tetB* (+) ($\leq 4 \mu\text{g/ml}$) : 41 %
- CLSI ($\leq 4 \mu\text{g/ml}$) : 14 % R
- PK/PD ($\leq 1 \mu\text{g/ml}$): 42 % R

MINOCICLINA

tetB+ con CIM bajas

- In vitro sinergia?
- Impacto clínico??

Journal of Medical Microbiology (2015), 64, 1196–1200

DOI 10.1099/jmm.0.000147

In vitro activity of minocycline alone or in combination in multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* isolates

Carlos Hernan Rodríguez, Marcela Nastro, Carlos Vay and Angela Famiglietti

Table 1. Epidemiological and microbiological characteristics of five clinical *A. baumannii* isolates

Isolate	Patient [age (years), sex]	Source	Type of infection	PFGE type	Carbapenem-hydrolysing class D oxacillinase	<i>bla_{NDM}</i>	Susceptibility to COL	MIC ($\mu\text{g ml}^{-1}$)			
								IMI	MIN	RIF	COL
3AAb	46, male	Bronchoalveolar lavage	Ventilator-associated pneumonia	A	51/23	Yes	Susceptible	32	0.25	8	0.5
1416Ab	71, female	Blood	Ventilator-associated pneumonia	E	51/23	Yes	Susceptible	32	32	8	0.5
46Ab	80, male	Blood	Ventilator-associated pneumonia	B	51/23	No	Susceptible	32	0.06	4	0.5
543Ab	51, male	Bronchoalveolar lavage	Ventilator-associated pneumonia	C	51/23	No	Resistant	16	2	128	32
971Ab	83, female	Bronchoalveolar lavage	Ventilator-associated pneumonia	D	51/23	No	Heteroresistant	32	0.2	8	0.5

TIGECICLINA

PUNTOS DE CORTE

- CLSI –EUCAST 2019 NO RECOMIENDAN (*Acinetobacter* spp.)
- FDA (enterobacterias) S: $\leq 2 \mu\text{g/ml}$ I: $4 \mu\text{g/ml}$ R: $\geq 8 \mu\text{g/ml}$
- EUCAST (*E. coli*-2018) S: $\leq 1 \mu\text{g/ml}$ R: $\geq 4 \mu\text{g/ml}$
- Pasteran (J Infect dev Ctries-2012) Difusión S $\geq 21 \text{ mm}$

TIGECICLINA

n: 241; 2004-2019; H. de Clínicas
CIM dilución agar.

Conclusiones

FDA: 21 % R

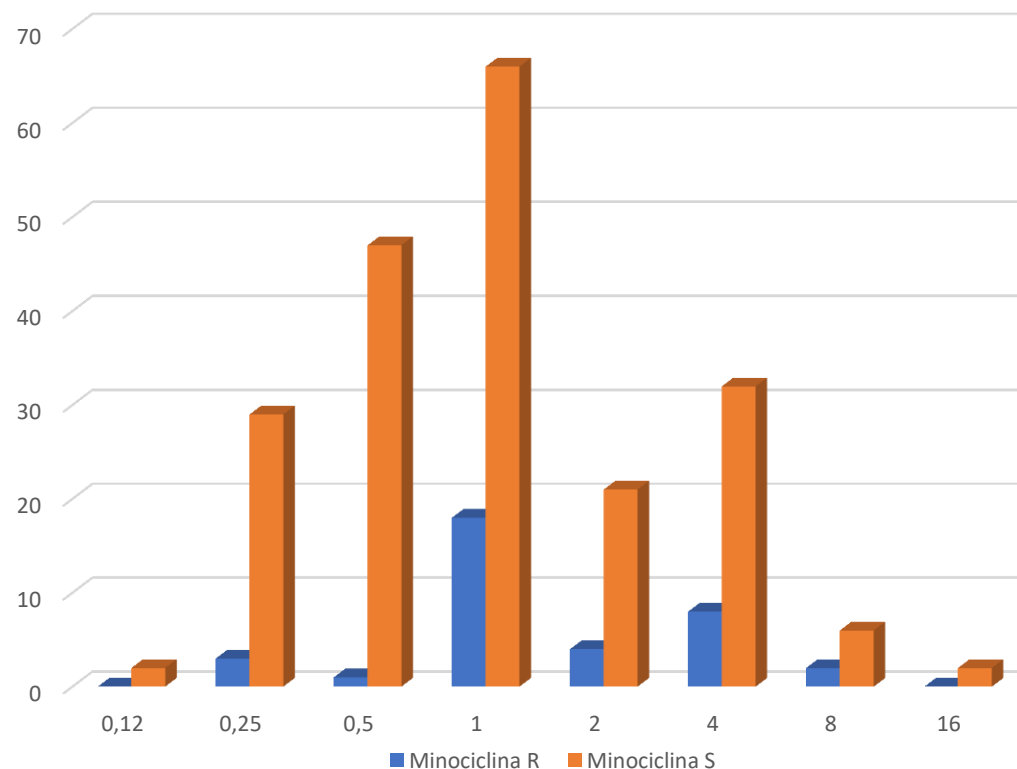
EUCAST: 31 % R

Disociación

MIN R/TIG S: 20/241

MIN S/TIG R: 61/241

Distribución CIM tigeclina



Acinetobacter spp

Antibiótico	Ensayar e Informar
Ampicilina/sulbactam	X
Piperacilina/tazobactam	X
Ceftazidima	X
Cefepima	X
Imipenem	X
Meropenem	X
Amikacina	X
Gentamicina	X
Ciprofloxacina *	X
Minociclina	X
Cotrimoxazol	X
Tigeciclina	X
Colistin	X

Incubación: 35°C / 16-18 hs. / aire ambiente

*La sensibilidad a ciprofloxacina es extrapolable al resto de las fluorquinolonas.

Gracias por su atención