



Acinetobacter baumannii: Nuevo agente enterotoxigénico, aislado de niños con diarrea aguda.

Nina Polanco¹.

Kirenia Méndez².

Iván Flores³.

Pául Coronel⁴.

¹Laboratorio de Patogenicidad Bacteriana, Escuela de Bioanálisis, Facultad de Medicina, Universidad Central de Venezuela, Caracas,Venezuela.
n5polanc@hotmail.com

²Laboratorio de Patogenicidad Bacteriana, Escuela de Bioanálisis, Facultad de Medicina, Universidad Central de Venezuela, Caracas,Venezuela.

³Instituto de Cirugía Experimental. Universidad Central de Venezuela, Caracas, Venezuela.

⁴Instituto de Cirugía Experimental. Universidad Central de Venezuela, Caracas, Venezuela.

Correspondencia: Instituto de Medicina Tropical - Facultad de Medicina - Universidad Central de Venezuela.

Consignado el 11 de Mayo del 2012 a la Revista Vitae Academia Biomédica Digital.

RESUMEN

Las enfermedades diarreicas son causa frecuente de mortalidad y morbilidad en niños. La etiología infecciosa no siempre se logra identificar. Recientemente, se ha reportado el aislamiento de *A. baumannii* en niños con diarrea aguda, las cuales fueron toxigénicas en la lí-

nea celular HT-29. Para determinar la actividad enterotoxigénica de *Acinetobacter* spp, las cepas fueron cultivadas en caldo infusión cerebro-corazón durante 24 h, a 35°C. Los sobrenadantes fueron obtenidos por centrifugación y filtración y su actividad fue probada en asa ileal de conejo New Zealand. Se evidenció que *A. baumannii* indujo mayor estimulación de secreción intestinal y de la respuesta inflamatoria que la cepa enterotoxigénica *E. coli* H10407. La actividad enterotoxigénica fue anulada al calentar los sobrenadantes a 70°C durante 15 minutos. *A. calcoaceticus* no produjo ningún efecto. Conclusión: *A. baumannii* presentó actividad enterotoxigénica a través de una exotoxina termolábil. Estos resultados sugieren un posible papel etiológico de *A. baumannii* en la diarrea aguda en niños.

PALABRAS CLAVE: *Acinetobacter baumannii*, enterotoxigénico, enterotoxina, exotoxina, diarrea aguda.

ACINETOBACTER BAUMANNII: NEW ENTEROTOXIGENIC AGENT, ISOLATED FROM CHILDREN WITH ACUTE DIARRHOEA.

SUMMARY

Diarrhoeal diseases are a common cause of mortality and morbidity in children but the infectious etiology is not always identified. Recently, it has been reported the isolation of *Acinetobacter baumannii*, in children with acute diarrhoea, which presented a toxicogenic effect in the cell line HT-29. To determine the enterotoxigenic activity of *Acinetobacter* spp, the strains were cultured in brain-heart infusion for 24 h, at 35°C. The supernatants were obtained by centrifugation and filtration and their activity tested on New Zealand rabbit ileal loop assay. This test showed that *A. baumannii* induced a greater stimulation of intestinal secretion and inflammatory response, than enterotoxigenic strains *E. coli* H10407. Enterotoxigenic activity was eliminated when the supernatants were heated at 70°C during 15 minutes. *A. calcoaceticus* did not produce any effect. Conclusion: *A. baumannii* presented enterotoxigenic activity through a thermolabile exotoxin. These results suggest a possible etiologic role of *A. baumannii* in acute diarrhoea in children.

KEY WORDS: *Acinetobacter baumannii*, enterotoxigenic, enterotoxin, exotoxin, acute diarrhoea.

ACINETOBACTER BAUMANNII: NUEVO AGENTE ENTEROTOXIGÉNICO, AISLADO DE NIÑOS CON DIARREA AGUDA.

INTRODUCCIÓN.

La diarrea de origen infeccioso es una entidad clínica que, pese a los esfuerzos dedicados en el mundo para combatirla, constituye una de las tres primeras causas de enfermedad y muerte en niños menores de cinco años^(1,2). De acuerdo a las estadísticas suministradas por el Ministerio de Salud y Desarrollo Social (MSDS, 2.005), en el período de 2.002 al 2.004 en Venezuela se presentaron un total de 320.711 casos de diarrea en niños entre uno y cuatro años, con una tasa de morbilidad de 14.274,6/100.000 habitantes⁽³⁾. La información más reciente refiere que para el año 2.010 se registraron de 684.225 casos de diarreas en niños

menores de 4 años⁽⁴⁾, para el 2011 se registraron 636.114 casos en niños menores de cinco años⁽⁵⁾ y hasta el mes de marzo del presente año van 127.379 casos⁽⁶⁾. Estas cifras son indicativas de la persistencia del problema que representan las diarreas en la salud pública en nuestro país.

Los microorganismos más frecuentemente asociados con diarrea aguda en niños son los rotavirus los cuales representan del 30 al 40% de los casos. Las bacterias, el 20% causados principalmente por *Escherichia coli* enterotoxigénica (ECET), *Salmonella sp*, *Shigella sp* y *Campylobacter jejuni*. Los parásitos son responsables de este síndrome gastrointestinal, en un 10% a 12% representados en su mayoría por *Crystosporidium*, *Entamoeba histolytica*, *Giardia lamblia* y *Ascaris lumbricoides*. Estas cifras muestran que entre el 40% y 50 % de las diarreas quedan sin definición etiológica^(7,8), aunque no contemplan en estos estudios, la participación de *Bacteroides fragilis* enterotoxigénico, a pesar que, desde aproximadamente dos décadas, forma parte de los microorganismos bacterianos de importancia en el síndrome gastrointestinal en humanos, sobre todo en niños menores de 5 años^(9,10,11,12). La falta de estudios epidemiológicos en nuestro país sobre esta bacteria en la etiología de las diarreas, quizás es debido a: *i.-* Por su carácter de anaerobio no se investiga en los coprocultivos de rutina. *ii.-* Porque la demostración de la actividad enterotoxigénica es laboriosa^(13,14,15). Sin embargo, el alto porcentaje de diarreas sin definición etiológica sugiere que pudieran existir otros patógenos distintos a *B. fragilis* enterotoxigénico.

Acinetobacter baumannii forma parte del género *Acinetobacter*, el cual está constituido por un grupo de cocobacilos Gram-negativos de naturaleza ubicua ya que tiene la habilidad de sobrevivir y persistir sobre múltiples superficies abioticas. Puede formar parte de la flora normal de la piel de adultos sanos, especialmente en las manos, de donde puede colonizar otros sitios del cuerpo y/o ubicarse en diferentes instrumentos hospitalarios como aparatos de ventilación mecánica, catéteres, líquido de diálisis peritoneal, etc. En estos sitios se convierten en reservorios responsables de los brotes nosocomiales⁽¹⁶⁾, sobretodo en pacientes inmunosuprimidos y en aquellos recluidos en unidades de cuidados intensivos^(17,18).

Hasta el presente, la información sobre los factores de virulencia y fisiología ambiental de *A. baumannii* son limitados. Uno de los mecanismos por los cuales estos bacilos se adhieren a superficies clínicamente relevantes, es porque son capaces de formar biocapas en materiales de polipropilén, polistireno y titanio, a través de una proteína asociada a la biocapa (Pab), esta proteína también está envuelta en la adherencia a las células epiteliales bronquiales en humanos y en los queratinositos en neonatos, pero no participa en la internalización de la bacteria en estas dos líneas celulares⁽¹⁹⁾.

Recientemente han sido reportados algunos factores de virulencia y su papel en la patogénesis de las infecciones por este cocobacilo. Entre estos factores de virulencia se encuentra la producción de enzimas extracelulares con actividades lipolíticas y citolíticas, la proteína de la membrana externa (AbOmpA) con efecto apoptóticos sobre células epiteliales⁽²⁰⁾, las moléculas de adhesión (fimbria and AbOmpA) que funcionan durante la unión a células epiteliales^(21,22), la estructura capsular tipo K1 (23), pili tipo-1 (24), la formación de sideróforos (acinetobactin), o hemina que median en los mecanismos de adquisición de

hierro⁽²⁵⁾, el sistema "quorum sensing" que funciona mediante la interacción de N-acyl homoserina como molécula inductora de la señal del sistema, junto con componentes celulares, facilitan la adaptación de las especies de *Acinetobacter* a vivir en condiciones ambientales inapropiadas tales como sequedad extrema, bajas temperaturas y restricción en elementos nutricionales necesarios para su supervivencia⁽²⁶⁾.

Acinetobacter baumannii es uno de los patógenos más frecuentes en el ambiente hospitalario. En los últimos años se ha reportado un incremento significativo favorecido por el aumento de la resistencia que presenta a los antimicrobianos⁽²⁷⁾, por tal razón, son frecuentemente aislados en pacientes con enfermedades serias tales como sepsis^(28,29), neumonía⁽³⁰⁾, meningitis⁽³¹⁾, infecciones del tracto urinario⁽³²⁾ e infecciones de heridas⁽³³⁾.

La línea celular HT-29 ha sido usada para detectar efecto enterotoxigénico en otras bacterias. Son un clon de células epiteliales de intestino humano, derivado de cáncer de colon y han sido usadas con éxito para detectar efecto enterotoxigénico en *B. fragilis*. Representan un 89% de sensibilidad y 100% de especificidad en relación con los ensayos de asa ligada de intestino delgado en animales de experimentación⁽¹³⁾.

Recientemente se ha reportado que sobrenadantes de cultivo de algunas cepas de *Acinetobacter baumannii* aisladas de pacientes con diarrea, indujeron marcadas alteraciones en la monocapa y células HT-29. Estas alteraciones superaron en algunos casos, a las producidas por los controles positivos *Shigella dysenteriae* Tipo 1⁽⁸⁾. No obstante la actividad demostrada por *A. baumannii* sobre las células HT-29, se planteó determinar, el efecto enterotoxigénico de las cepas de *Acinetobacter* spp aisladas en niños con diarrea aguda, en asas ligadas de intestino delgado de conejo New Zealand.