

Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica

www.elsevier.es/eimc



Original breve

Auritidibacter ignavus en muestras óticas de pacientes pediátricos. Presentación de 2 casos y revisión de la literatura



Pablo González-Moreno^a, Martina Araujo-Sánchez^a, Jonathan Fernández-Suárez^{a,b}, Javier Fernández-Dominguez^{a,b}, Jose Luis Llorente^c y María Soledad Zapico-González^{a,*}

^a Servicio de Microbiología, Hospital Universitario Central de Asturias, Oviedo, Asturias, España

^b Instituto de Investigación Sanitaria del Principado de Asturias (ISPA), Oviedo, Asturias, España

^c Servicio de Otorrinolaringología, Hospital Universitario Central de Asturias, Oviedo, Asturias, España

INFORMACIÓN DEL ARTÍCULO

R E S U M E N

Historia del artículo:

Recibido el 18 de julio de 2023

Aceptado el 30 de octubre de 2023

On-line el 24 de noviembre de 2023

Palabras clave:

Auritidibacter ignavus

Otitis

MALDI-TOF MS

Introducción: El desarrollo e investigación de nuevas tecnologías para la identificación de microorganismos, ha permitido la identificación de microorganismos hasta ahora desconocidos. *Auritidibacter ignavus* es un bacilo grampositivo recientemente descrito, posiblemente asociado con la otitis, aunque su papel como patógeno ótico actualmente es controvertido.

Métodos: Presentamos 2 casos de otitis recurrente en pacientes pediátricos en los que se aisló *A. ignavus*, y revisamos los casos previos descritos en la literatura.

Resultados: Todos los aislamientos fueron identificados como *A. ignavus* por métodos proteómicos y genómicos. En ambos pacientes se resolvieron los síntomas clínicos.

Conclusión: *A. ignavus* se recuperó de las secreciones del oído de los pacientes pediátricos con problemas crónicos del oído. Todos los casos descritos previamente en la literatura eran adultos. Es necesaria más evidencia para asociar *A. ignavus* con la enfermedad ótica, ya que los datos sobre esta especie aún son escasos.

© 2023 Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica. Publicado por Elsevier España, S.L.U. Todos los derechos reservados.

***Auritidibacter ignavus* in ear discharge of paediatric patients: Two cases reports and literature review**

A B S T R A C T

Keywords:

Auritidibacter ignavus

Otitis

MALDI-TOF MS

Introduction: The development and research of new technologies for identifying microorganisms, has allowed the identification of hitherto unknown bacteria. *Auritidibacter ignavus* is a newly described Gram-positive rod possibly associated with otitis, although its role as an etiologic agent in otitis is currently controversial.

Methods: We report two cases of recurrent otitis in paediatric patients in which *A. ignavus* was isolated and review the previous cases reported in the literature.

Results: All the isolates were identified as *A. ignavus* by proteomic and genomic methods. Both patients recovered from their symptoms.

Conclusion: *A. ignavus* was recovered from ear discharges of paediatric patients with chronic ear problems. All the cases previously reported in the literature were adults. More evidence is needed for the association between *A. ignavus* and otitis, since data regarding this species are still scarce.

© 2023 Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica. Published by Elsevier España, S.L.U. All rights reserved.

* Autor para correspondencia.

Correo electrónico: marisolzapico@hotmail.com (M.S. Zapico-González).

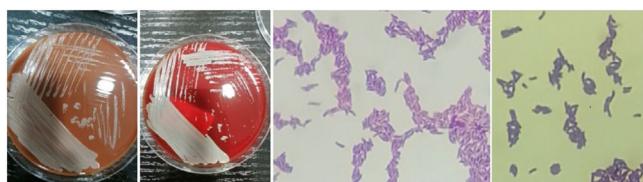


Figura 1. Izquierda: aspecto de las colonias a las 48 h de incubación en agar chocolate y en agar sangre. Derecha: bacilos grampositivos en la tinción de Gram.

Introducción

Auritidibacter ignavus se describió por primera vez en el año 2011¹, a propósito de un caso de otitis externa fulminante en un varón de 28 años en el que se aisló un bacilo grampositivo anaerobio facultativo, en el exudado ótico. Se creó un nuevo género con una sola especie dentro de la familia *Micrococcaceae*, orden *Micrococcales*, clase *Actinomycetes*.

Presentamos 2 casos de otitis de repetición en niños en los que se aísle *A. ignavus* y se revisa la literatura disponible referida a este microorganismo (consultada el 07/04/2022).

Caso 1

Paciente varón de 7 años, natural de Marruecos, que desde su llegada a España 10 meses antes había presentado al menos 4 episodios de otorrea en ambos oídos.

Acudió al servicio de urgencias por otorrea purulenta. Es valorado por los servicios de pediatría y otorrinolaringología siendo diagnosticado de otitis media aguda (OMA) con conducto auditivo edematoso y otorrea que se aspira, y el paciente se da de alta con tratamiento empírico, amoxicilina oral 450 mg/cada 8 h y ciprofloxacino ótico 1 mg/cada 12 h/durante 7 días. No se realiza toma de muestras para cultivo, por lo que la etiología de este episodio es desconocida. En la revisión por otorrinolaringología, se objetiva una hipoacusia neurosensorial bilateral asimétrica leve/moderada sin ningún otro síntoma clínico sugestivo de infección ótica.

Un mes después, acude de nuevo al servicio de urgencias por un episodio de otorragia y otalgia con una perforación del cuadrante anterosuperior de la membrana timpánica. Con el diagnóstico final de OMA perforada, se da alta con tratamiento empírico con amoxicilina/clavulánico oral 350 mg/43,75 mg/cada 8 h/durante 10 días, sin ninguna otra recomendación y/o tratamiento. En este episodio sí se recogió muestra de exudado ótico para cultivo. En la revisión por otorrinolaringología, el paciente presentaba normoacusia bilateral y estaba asintomático, con cierre de la perforación timpánica.

El cultivo de este exudado ótico se realizó en placas de agar chocolate y agar biplaca CHROMID® CPS®/Columbia CNA con el 5% sangre de cordero (bioMérieux, Marcy l'Etoile, Francia). Las placas se incubaron durante 48 h a 37 °C en atmósfera con el 5% de CO₂. En la tinción de Gram de la muestra se observó microbiota mixta con claro predominio de bacilos grampositivos. En el cultivo se apreciaban mayoritariamente unas colonias pequeñas, lisas, de aspecto cremoso que crecían en ambas placas junto con escasa microbiota comensal de la piel.

En la tinción de Gram de la colonia se visualizaban bacilos grampositivos en empalizada (fig. 1). La identificación se llevó a cabo mediante espectrofotometría de masas MALDI-Biotyper® (Bruker Daltonik, Billerica, EE. UU.), obteniendo como resultado la especie *A. ignavus*, con un score de 2,140 (versión MSP library BADAL11, que contiene solo 2 entradas de *A. ignavus*). Posteriormente, se confirmó la identificación mediante la amplificación y secuenciación del gen codificador de la subunidad pequeña ribosomal 16S según el protocolo publicado por Xu et al.⁴ con análisis de la secuencia mediante

BLAST, obteniéndose una similitud del 99%. Las secuencias obtenidas no se enviaron a GenBank.

El estudio de sensibilidad antibiótica del microorganismo se realizó por el método de microdilución en caldo utilizando el panel MSTRP + 3 (MicroScan®, Beckman Coulter, Brea, EE. UU.). Los resultados de CMI (mg/l) obtenidos fueron: ampicilina/amoxicilina (0,25), amoxicilina-clavulánico (<0,25/0,12), penicilina (0,25), cefaclor (<1), cefuroxima (≤0,25), cefotaxima (0,5), cefepima (2), meropenem (1), ciprofloxacino (0,5), trimetoprim/sulfametoazol (<0,25/4,7), rifampicina (≤0,5), tetraciclina (≤1), cloranfenicol (≤1), eritromicina (≤0,25), azitromicina (≤0,25), clindamicina (≤0,25) y vancomicina (≤0,5). Realizando la interpretación de estos valores según los puntos de corte del EUCAST de 2022 para *Corynebacterium* spp.⁵, se informó el aislado como sensible a ciprofloxacino, rifampicina, clindamicina y vancomicina y resistente a penicilina y tetraciclinas.

Caso 2

Paciente mujer de 10 años con otitis de repetición (al menos 5 episodios en el último año), en seguimiento por el servicio de otorrinolaringología desde 2016 por hipoacusia y otitis de repetición.

En el servicio de microbiología, recibimos una muestra de exudado de oído, desde atención primaria, por un cuadro de OMA tras consulta por otalgia y signo del trago positivo.

El procesamiento de la muestra se realizó como se describe en el caso anterior. Se observaron bacilos grampositivos en la tinción de Gram y se aislaron el mismo tipo de colonias, que se identificaron (MALDI-Biotyper®) como *A. ignavus*, con un score de 1,980. Asimismo, se confirmó la identificación mediante PCR y secuenciación del gen 16S ARNr. Junto a esta especie se aisló también microbiota comensal de la piel.

El estudio de sensibilidad se realizó como en el caso anterior, obteniéndose los siguientes resultados: ampicilina/amoxicilina (0,25), amoxicilina-clavulánico (0,5/0,25), penicilina (0,5), cefaclor (2), cefuroxima (0,5), cefotaxima (0,5), cefepima (>2), meropenem (1), ciprofloxacino (>2), trimetoprim/sulfametoazol (2/38), rifampicina (≤0,5), tetraciclina (≤1), cloranfenicol (2), eritromicina (2), azitromicina (2), clindamicina (0,5) y vancomicina (≤0,5). Se informó el aislado como resistente a penicilina y ciprofloxacino, y sensible a rifampicina, clindamicina, vancomicina y tetraciclinas.

Se le pautó empíricamente ciprofloxacino ótico 0,6 mg/cada 8 h/durante 10 días, sin ninguna otra recomendación y/o tratamiento. La paciente completó dicho tratamiento, los síntomas de infección se resolvieron clínicamente y la otoscopia fue normal. A los 10 días se recibe una segunda muestra (solicitada por el servicio de microbiología para confirmación etiológica) en la que se sigue aislando *A. ignavus*, junto a microbiota de la piel.

Discusión

La especie *A. ignavus* ha sido recientemente descrita y solo hay unos pocos casos publicados, asociados hasta el momento con infecciones del oído¹⁻³.

Yassin et al.¹ describieron en el año 2011 el primer aislado, a la vez que proponían el nuevo género y la nueva especie. Bernard et al.² en el año 2020 añadieron la descripción de otros cuatro casos y revisaron las características de la especie. Las características demográficas y clínicas de estos casos y los 2 aquí presentados se pueden ver en la tabla 1.

El aislado publicado por Yassin et al.¹ era sensible a todos los antibióticos testados mediante disco/difusión, (μ g por disco): penicilina (10), ampicilina (10), cefazolina (30), oxacilina (5), vancomicina (30) y clindamicina (2). Los aislados descritos por Bernard et al.², se testaron mediante microdilución en caldo y fueron

Tabla 1Características clínicas de los pacientes en los que se aisló *A. ignavus*

Ref	Cepa	Aislamiento (año)	Edad (años)	Sexo	Clínica	Muestra	Origen
1	NML 130574	2013	30	M	Otitis media crónica, y timpanocentesis frecuentes	Exudado ótico	Suiza
2	IMMIB L-1656	2009	28	M	Otitis externa fulminante	Exudado ótico	Alemania
2	NML 100628	2010	57	M	No información	Exudado ótico	Canadá
2	NML 120636	2012	51	F	No información	Biopsia mastoidea	Canadá
2	NML 120779	2012	76	M	Otitis media crónica y otorrea	Exudado ótico	Canadá
Este estudio	Caso 1	2022	7	M	Otitis de repetición	Exudado ótico	España
Este estudio	Caso 2	2022	10	F	Otitis de repetición, hipoacusia	Exudado ótico	España

M: masculino; F: femenino.

sensibles a penicilina, cefepima (una cepa resistente), cefotaxima, ceftriaxona, meropenem, vancomicina, daptomicina, gentamicina (2 cepas resistentes), eritromicina (3 cepas resistentes), tetraciclina, trimetoprim-sulfametoazol, rifampicina y linezolid y todas eran resistentes a ciprofloxacino y clindamicina aplicando los puntos de corte del CLSI⁶ para *Corynebacterium* spp. y géneros relacionados.

Comparando la sensibilidad antibiótica de los casos publicados y nuestras cepas, no parece que haya un patrón claro de sensibilidad antibiótica en esta especie, aunque todas las cepas parecen sensibles a vancomicina.

Las cepas de los 2 casos presentados en este estudio se considerarían de sensibilidad intermedia (CLSI) o resistentes (EUCAST) a penicilina, según los criterios utilizados. Al no existir consenso, ni puntos de corte específicos para esta especie no se podría determinar con certeza su clasificación como sensible o resistente ni si el tratamiento antibiótico recibido por el primer paciente (amoxicilina) fue el responsable de la resolución de los síntomas.

En cuanto al tratamiento del segundo paciente con ciprofloxacino, resistente utilizando puntos de corte para tratamientos sistémicos, se aplicó de forma tópica, por lo que la relación entre la CMI y la concentración de antibiótico alcanzada en el foco probablemente sea diferente a lo establecido en los criterios.

Es necesario el estudio de más aislados para determinar puntos de corte específicos para esta especie y correlacionar las CMI *in vitro* con los tratamientos antibióticos *in vivo*.

En cuanto a su identificación, la adición de 2 entradas en la biblioteca de microorganismos del MALDI-Biotyper® previamente inexistentes, permite su identificación sin ambigüedades, en cualquier laboratorio que disponga de MALDI-TOF MS, como afirmaban Bernard et al.²

El valor como patógeno ótico del *A. ignavus* es debatible. Aunque la casuística sobre esta especie es muy escasa, el hecho de que todos los aislados se hayan recuperado de muestras óticas en pacientes con clínica infecciosa, creemos que permite plantear la hipótesis de que existe dicha asociación. En los 2 casos que presentamos, el aislamiento de *A. ignavus* no se acompañaba de ningún otro patógeno ótico.

De todos modos, falta evidencia, un mayor número de aislados y más estudios tanto en pacientes con otitis como en individuos sanos para poder esclarecer el papel patógeno o comensal de *A. ignavus*. Curiosamente, los 2 casos que presentamos corresponden a pacientes pediátricos, mientras que todos los aislados descritos

anteriormente provenían de pacientes adultos, por ello, habría que estudiar además si existen diferencias entre la microbiota del conducto auditivo externo en niños y en adultos.

Financiación

La presente investigación no ha recibido ayudas específicas provenientes de agencias del sector público, sector comercial o entidades sin ánimo de lucro.

Conflictos de intereses

Los autores no presentan ningún conflicto de intereses.

Agradecimientos

A los doctores Juan José Palacios Gutiérrez y Fernando Vázquez Valdés por su ayuda en la revisión de la redacción del artículo.

Bibliografía

- Yassin AF, Hupfer H, Siering C, Klenk HP, Schumann P. *Auritidibacter ignavus* gen. nov., sp. nov., of the family *Micrococcaceae* isolated from an ear swab of a man with otitis externa, transfer of the members of the family *Yaniellaceae* Li et al., 2008 to the family *Micrococcaceae* and emended description of the suborder *Micrococcineae*. Int J Syst Evol Microbiol. 2011;61:223–30, <http://dx.doi.org/10.1099/ijsem.0.019786-0>.
- Bernard KA, Pacheco AL, Burdz T, Wiebe D, Beniac DR, Hiebert SL, et al. Emendation of the genus *Auritidibacter* Yassin et al., 2011 and *Auritidibacter ignavus* Yassin et al., 2011 based on features observed from Canadian and Swiss clinical isolates and whole-genome sequencing analysis. Int J Syst Evol Microbiol. 2020;70:83–8, <http://dx.doi.org/10.1099/ijsem.0.003719>.
- Seth-Smith HMB, Goldenberger D, Bernard KA, Bernier AM, Egli A. Complete genome assembly of an *Auritidibacter ignavus* isolate obtained from an ear infection in Switzerland and a comparison to global isolates. Microbiol Resour Announc. 2019;11:e00291–319, <http://dx.doi.org/10.1128/MRA.00291-19>.
- Xu J, Millar B, Moore J, Murphy K, Webb H, Fox A, et al. Employment of broad-range 16S rRNA PCR to detect aetiological agents of infection from clinical specimens in patients with acute meningitis-Rapid separation of 16S rRNA PCR amplicons without the need for cloning. J Appl Microbiol. 2003;94:197–206, <http://dx.doi.org/10.1046/j.1365-2672.2003.01839.x>.
- European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Clinical breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters. Version 12.0, 2022 [consultado 7 Abr 2022]. Disponible en: https://www.eucast.org/fileadmin/src/media/PDFs/EUCAST_files/Breakpoint_tables/v_12.0_Breakpoint_Tables.pdf
- Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Methods for antimicrobial dilution and disk susceptibility testing of infrequently isolated or fastidious bacteria. 3rd ed. CLSI guideline M45 (ISBN 1-56238-918-1 [electronic]).