



**FACULTAD DE FARMACIA  
UNIVERSIDAD COMPLUTENSE**

**TRABAJO FIN DE GRADO**

**TÍTULO: *Pseudomonas aeruginosa:***

**FACTORES DE PATOGENICIDAD IMPLICADOS EN LA  
INFECCIÓN DE PACIENTES CON FIBROSIS QUÍSTICA Y  
EPOC. TRATAMIENTO.**

Autor: Laura Gómez Lázaro

Fecha: Junio de 2020

Tutor: M<sup>a</sup> Gloria Molero Martín-Portugués

## ÍNDICE

<b>1</b>	<b>Resumen</b> .....	3
<b>2</b>	<b>Introducción</b> .....	3
2.1	Fisiología y morfología de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .....	3
2.2	Epidemiología de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .....	3
2.3	Factores de patogenicidad de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .....	4
2.4	Mecanismos de resistencia de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> frente a antibacterianos .....	4
<b>3</b>	<b>Objetivos</b> .....	8
<b>4</b>	<b>Materiales y métodos</b> .....	8
<b>5</b>	<b>Resultados y discusión</b> .....	8
5.1	¿En qué consiste la fibrosis quística? .....	9
5.2	¿En qué consiste la EPOC? .....	11
5.3	Factores de patogenicidad de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> implicados en FQ y EPOC.....	12
5.4	Protocolos de terapia frente a <i>Pseudomonas aeruginosa</i> en pacientes con FQ y EPOC .....	17
<b>6</b>	<b>Conclusiones</b> .....	19
<b>7</b>	<b>Bibliografía</b> .....	21

## 1. RESUMEN

*Pseudomonas aeruginosa* es un patógeno oportunista que, gracias a su versatilidad, su cosmopolitismo, el gran número de factores de virulencia que presenta (pigmentos, pili, flagelo, lectinas, sistemas de secreción, toxinas y biofilm), su capacidad de comunicación (“Quorum sensing”) y su inmensa resistencia frente a antimicrobianos ( $\beta$ -lactamasas, capacidad de formación de biofilm, enzimas modificadoras, mutaciones, proteína OrpF y OrpD...) lo convierten en uno de los principales patógenos causantes de infecciones nosocomiales.

Cabe destacar que los pulmones son uno de los nichos más relevantes para su colonización, por lo que es uno de los microorganismos más frecuentemente aislados en los pacientes con fibrosis quística (FQ) y enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC).

Dado que, en ambas infecciones, *P. aeruginosa* es uno de los principales patógenos aislados, se considera que muchos de los mecanismos de patogenicidad que este microorganismo utiliza para colonizar a ambos pacientes, son comunes.

Por este mismo motivo, muchos protocolos de terapia de la FQ, donde se tienen más estudios, podrían ser aplicados a los pacientes con EPOC colonizados por *P. aeruginosa*.

## 2. INTRODUCCIÓN

### 2.1 Fisiología y morfología de *Pseudomonas aeruginosa*.

*Pseudomonas aeruginosa* pertenece al género *Pseudomonas*, orden *Pseudomonadales*, clase Gammaproteobacteria, filo Proteobacteria y dominio Bacteria (1).

Es un bacilo gramnegativo con un flagelo que le confiere movilidad. Las colonias de este microorganismo, en determinados medios de cultivo, como es el agar F y el agar P, presentan un color característico verde o azul debido a los dos pigmentos que produce: piocianina (color azul, en agar P) y pioverdina (color amarillo fluorescente, en agar F).

Pertenece al grupo de bacterias no fermentadoras (no fermenta ni glucosa ni galactosa), pero es capaz de utilizar fuentes de carbono y nitrógeno como acetato y amoníaco para obtener energía.

Se caracteriza por ser un microorganismo que presenta respiración aerobia, sin embargo, también pueden presentar respiración anaerobia, utilizando nitratos o arginina como aceptor de electrones, por lo que *P. aeruginosa* se considera un patógeno aerobio facultativo (2-4).

### 2.2 Epidemiología de *Pseudomonas aeruginosa*.

Se distribuye por un amplio entorno dado sus sencillas exigencias para crecer y su elevada versatilidad nutricional, por ello se considera cosmopolita; este hecho es debido al gran tamaño de su genoma. Gracias a esta versatilidad resulta muy sencillo realizar su cultivo en medios comúnmente usados para aislamientos clínicos, como es el caso del agar sangre y el agar MacConkey en condiciones aeróbicas. Da positiva la prueba de la oxidasa y puede crecer entre 4 y 42 °C.

Es un patógeno oportunista, normalmente limitado a pacientes tratados con antibióticos de amplio espectro (suprimen poblaciones bacterianas normales) y a pacientes con defensas disminuidas (inmunodeprimidos o pacientes con quemaduras). Se encuentra en ambientes hospitalarios, en reservorios fundamentalmente húmedos como alimentos, baños, equipos de diálisis y terapia respiratoria e incluso en soluciones desinfectantes (2).

Tanto su capacidad para resistir a condiciones ambientales adversas como los mecanismos de patogenicidad que presenta, le han convertido en uno de los principales agentes causantes de infecciones nosocomiales.

Los pulmones son uno de los nichos más relevantes para la colonización por parte de *P. aeruginosa*, por lo que es uno de los patógenos más frecuentemente aislados en las infecciones respiratorias, tales como la **fibrosis quística (FQ)** y la **enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC)** (3).

### 2.3 Factores de patogenicidad de *Pseudomonas aeruginosa*. (revisado en 1)

Cabe destacar que *P. aeruginosa* presenta numerosos factores de virulencia. Esta gran variedad de factores de virulencia permiten a *P. aeruginosa* causar un gran número de infecciones, por lo que la patogénesis de este microorganismo se considera multifactorial. Los factores de patogenicidad de *P. aeruginosa* podemos agruparlos en dos niveles:

- ❖ Factores de patogenicidad asociados a la estructura bacteriana.
- ❖ Factores de patogenicidad secretados.

**Tabla 1.** Factores de patogenicidad de *Pseudomonas aeruginosa* (tomada de 1).

	FACTORES	PROTEÍNAS INVOLUCRADAS
Asociados a la estructura bacteriana	Flagelo	FlhC, FlhD
	Pili (Tipo IV)	PilA, PilB, PilT, PilU
	Proteínas de membrana	LecA, LecB, LPS
Factores secretados	Factores asociados a la formación de biopelículas	PelA-PelG, Psl, alginato
	Efectores SST2	LasA, LasB
	Efectores SST3	ExoA, ExoS, ExoT, ExoU, ExoY
	Efectores SST5	EstA
	Pigmentos	Piocianina, Pioverdina
	Efectores quorum sensing	LasIR, RhlIR, RhlAB, hcnABC, chic

### 2.4 Mecanismos de resistencia de *P. aeruginosa* frente a antibacterianos. (revisado en(2) y (4))

La Organización Mundial de la Salud (OMS) considera a *P. aeruginosa* como uno de los microorganismos ESKAPE. Este acrónimo engloba a cinco patógenos (*Enterococcus fecalis*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter*, *P. aeruginosa* y *Enterobacter*) frente a los cuales existe una urgencia crítica en cuanto al desarrollo de nuevos antibióticos para tratar infecciones. El patógeno que a nosotros nos concierne fue incluido en esta lista de microorganismos ESKAPE a raíz de hacerse resistente a carbapenémicos.

*P. aeruginosa* posee tres tipos de mecanismos de resistencia: intrínseca, adquirida y adaptativa y son, en gran parte, responsables de la gravedad de las infecciones que causa y de la dificultad de tratamiento.

#### ❖ Resistencia intrínseca:

- 1. Escasa permeabilidad de la membrana externa.** La membrana externa se caracteriza por la escasa capacidad de movimiento de los antibióticos a través de sus poros hacia el interior de la célula bacteriana. Esta membrana es una bicapa formada por fosfolípidos y lipopolisacárido (LPS) en la cual se encuentran embebidas porinas, formando canales. Actúa como una barrera muy restrictiva y selectiva para la entrada de antibióticos. La mayoría de los antimicrobianos empleados en el tratamiento de las infecciones por *P. aeruginosa* deben atravesar la membrana para alcanzar las dianas intracelulares, es el caso de: aminoglucósidos, quinolonas,  $\beta$ -lactámicos y polimixinas. Para ello, los aminoglucósidos y las polimixinas promueven su propio paso interactuando con el LPS de la membrana externa, mientras que los  $\beta$ -lactámicos y quinolonas atraviesan usando las porinas.

Existen 4 familias de porinas con varios subtipos: OprF, OprB, OprD, OprE, OprO, OprP, OprC, OprH, OprM, OprN y OprJ. La más predominante en este patógeno es la OprE, pero presenta baja eficiencia para el paso de los antibióticos. Esta porina presenta dos conformeros, abierto y cerrado, y es la forma cerrada el conformero predominante. Esto es lo que justifica que la membrana externa de *P. aeruginosa* sea tan poco permeable. Además, la ausencia de esta porina produce un aumento del mensajero c-di-GMP (bis-(3',5')-cyclic-dimeric-guanosine monophosphate) implicado en la adhesión y maduración del biofilm, lo que contribuye a la resistencia antibiótica.

La porina OprD participa en la captación de antibióticos tales como los carbapenémicos, por lo que la ausencia de esta porina produce un aumento en la resistencia frente a este tipo de antibióticos.

Un aumento en la expresión de la porina OrpH está asociado con un incremento de la resistencia frente a la polimixina B y a la gentamicina debido a la estabilización de la membrana externa, al inducir una modificación del lipopolisacárido (LPS).

**2. Bombas de eflujo.** Existen 5 familias de bombas de eflujo: RND, MFS, ABC, SMR y MATE; todas ellas constituidas por un transportador de membrana citoplasmática, por proteínas enlazadoras periplásmicas y por porinas de membrana externa.

La parte citoplasmática y la periplásmica de las bombas RND de *P. aeruginosa* se conocen como bombas de eflujo multidrogas. Son 12 bombas de las cuales 4 contribuyen a la resistencia antibiótica: MexAb-OprM, MexCD-OprJ, MexEF-OprN y MexXY-OprM.

**3. Producción de enzimas que modifican o inactivan antibióticos.** La mayoría de los antibióticos tienen grupos amido o éster que son susceptibles de sufrir hidrólisis por enzimas producidas por *P. aeruginosa*, como son las  $\beta$ -lactamasas y las enzimas modificadoras de aminoglicósidos.

- *P. aeruginosa* posee un gen inducible denominado ampC que codifica la  $\beta$ -lactamasa (enzima hidrolítica) que rompe en anillo  $\beta$ -lactámico, produciéndose la inactivación de los antibióticos con este anillo ( $\beta$ -lactámicos).

Algunas cepas de *P. aeruginosa* producen  $\beta$ -lactamasas de espectro ampliado (ESBLs), como consecuencia estas cepas presentan un elevado nivel de resistencia frente a la mayor parte de  $\beta$ -lactámicos (penicilinas, cefalosporinas y aztreonam).

Para combatir esta resistencia a los  $\beta$ -lactámicos, se han desarrollado inhibidores de  $\beta$ -lactamasas tales como ácido clavulánico, sulbactama y tazobactama.

- Los aminoglicósidos son un grupo de antibióticos comúnmente usados en el tratamiento de *P. aeruginosa*. La resistencia frente a este grupo de fármacos se debe a la baja permeabilidad de la membrana, a un incremento en el flujo de salida, a cambios ribosomales (cambios en la diana) y a enzimas modificadoras. *P. aeruginosa* posee 3 grupos de enzimas modificadoras de aminoglicósidos (APH, AAC y ANT) que se encargan de modificar los grupos amino o glicósido, lo que se traduce en un incremento de la resistencia frente a este grupo de fármacos.

❖ **Resistencia adquirida:** se debe a mutaciones que se producen en alguno de los genes de la bacteria y que determinan una mayor resistencia a antibióticos o a la transferencia horizontal de genes de resistencia frente a antibióticos mediante plásmidos u otros elementos genéticos. La resistencia adquirida contribuye al desarrollo de cepas multirresistentes, lo que dificulta la erradicación del patógeno y conduce a más casos de infecciones persistentes.

**1. Mutaciones.** Las mutaciones producen cambios que pueden conducir a una disminución en la captación de antibióticos, a la modificación en las dianas, a la sobreexpresión de las

bombas de eflujo o a la producción de enzimas inactivadoras de antibióticos. Todas ellas permiten a la bacteria sobrevivir en presencia de antibióticos.

- Las mutaciones espontáneas en las porinas pueden afectar a su expresión o función, produciéndose como consecuencia una disminución de la permeabilidad de la membrana y un incremento de la resistencia antibiótica. Por ejemplo, las mutaciones en el OprD ocasionan una elevada resistencia frente a carbapenémicos.
- La sobreexpresión de múltiples bombas de eflujo se ha encontrado en algunas cepas clínicas de *P. aeruginosa* y condiciona a un aumento de la resistencia frente a múltiples antibióticos. Por ejemplo, la sobreexpresión de MexAB-OrpM, como consecuencia de mutaciones en genes implicados en la transcripción (mexR, nalB, nalC o nalD), incrementa la resistencia frente a  $\beta$ -lactámicos y fluoroquinolonas. O la sobreexpresión de MexXY-OprM, originada como consecuencia de mutaciones en el gen mexZ, que se traduce en un incremento de la resistencia frente a aminoglucósidos,  $\beta$ -lactámicos y fluoroquinolonas.

También las mutaciones en el gen nfxB, implicado en la regulación de la transcripción, producen una sobreexpresión de la bomba MexCD-OprJ, aumentando la resistencia a fluoroquinolonas y a penicilinas.

- Un mecanismo comúnmente encontrado en la bacteria consiste en modificaciones en las dianas de los antibióticos, mediante protección o modificación de las mismas. La más comúnmente estudiada es la mutación en los genes que codifican las dianas de las quinolonas, la DNA girasa y la topoisomerasa IV, disminuyendo así la susceptibilidad frente a las quinolonas.

Por otro lado, las cepas con mutaciones ribosomales, presentan un incremento de la resistencia frente a aminoglicósidos, ya que este grupo de antibióticos inhiben la traducción proteica al actuar sobre la subunidad ribosomal 30S.

Las modificaciones en el sitio de unión de las penicilinas conducen a una mayor resistencia frente a  $\beta$ -lactámicos.

También se ha demostrado que la resistencia frente a polimixina por parte de este patógeno se asocia con modificaciones en el sitio de unión de la polimixina en el LPS mediante adición de 4-amino-L-arabinosa (L-Ara4N) a los grupos fosfato dentro del resto lipídico del LPS.

- También cabe destacar como mecanismo de resistencia las mutaciones que ocasionan una sobreexpresión de las enzimas inactivadoras de antibióticos. Un ejemplo es la sobreproducción de  $\beta$ -lactamasas, como consecuencia de mutaciones en el gen ampC.

**2. Transferencia horizontal de genes.** *P. aeruginosa* puede adquirir genes de resistencia por transferencia horizontal mediante plásmidos, transposones, integrones y profagos. Este mecanismo de transferencia horizontal implica procesos de transformación, transducción y conjugación.

❖ **Resistencia adaptativa:** es un proceso reversible que se produce como consecuencia de la exposición de *P. aeruginosa* ante estímulos ambientales o ante antibióticos específicos.

Los mecanismos de resistencia adaptativa más característicos de *P. aeruginosa* son la formación de **biofilm** en los pacientes con FQ o sobre superficies como catéteres, ya que este biofilm impide el acceso del antibiótico a la célula bacteriana. Y **la generación de células persistentes**, lo que conduce a infecciones prolongadas y recurrentes en los pacientes con FQ.

**1. Biofilm.** Debemos tener en cuenta que el biofilm es un agregado de microorganismos que se unen unos a otros sobre una superficie inerte o viva y que se encuentran embebidos en una matriz extracelular de sustancias poliméricas producidas por ellos mismos.

Esta matriz está formada por exopolisacáridos, proteínas, metabolitos y DNA extracelular (eDNA) y su formación depende de factores ambientales y de mutaciones genéticas.

Estos microorganismos que constituyen el biofilm son menos sensibles frente a antibióticos y frente al sistema inmune que los que crecen en suspensiones acuosas. Cabe destacar que cuando la bacteria pierde la protección del biofilm, vuelve a ser sensible a antibióticos.

*P. aeruginosa* produce infecciones crónicas en los pulmones de los pacientes con FQ y forma un biofilm sobre la superficie del epitelio pulmonar mediante la producción de proteínas y exopolisacáridos. La formación de este biofilm es un proceso multifactorial, en el que interviene el Quorum Sensing (QS), que contribuye a la formación del biofilm maduro y a la diferenciación del mismo; también participan exopolisacáridos, que estabilizan esta matriz extracelular; eDNA, que facilita la adhesión de las células entre sí y la agregación sobre las superficies; y el mensajero c-di-GMP, que en elevados niveles, se asocia con la formación de este biofilm, además, participa en la formación y maduración de este, contribuyendo al proceso de adhesión célula-célula y con la producción del exopolisacárido.

- 2. Células persistentes.** Las células persistentes son variantes fenotípicas que no son genéticamente resistentes a antibióticos, pero sí son tolerantes a altas concentraciones de estos. Además, estas células pueden permanecer viables y repoblar biopelículas debido a que presentan un estado latente que disminuye la síntesis de las dianas antibióticas. Estas células persistentes que se encuentran latentes en el biofilm son responsables de las recalcificaciones de las infecciones crónicas. Además, no proliferan en presencia de antibióticos, pero sí lo hacen cuando se retira el tratamiento.

Este estado de latencia se debe a un sistema toxina-antitoxina (TA), el cual induce a que estas células persistentes queden en estado de latencia. Este sistema TA consiste en una toxina proteica que interrumpe procesos celulares esenciales y una antitoxina que puede ser una proteína o un pequeño RNA no codificante que inhibe la toxicidad de la toxina. Este sistema participa en la regulación de la replicación del DNA, en la traducción proteica, en el mantenimiento de los plásmidos y en la síntesis de la pared ante diversos estímulos medioambientales.

El nivel de toxina y degradación de antitoxina están asociados con la formación de estas células persistentes, aunque en el caso de *P. aeruginosa* no está establecido con claridad el proceso por el que el TA media en la formación de células persistentes.

Las cepas de *P. aeruginosa* aisladas de los pacientes con CF presentan altos niveles de células persistentes, lo que hace que sean resistentes a antibióticos. Además, se ha demostrado que la pirocianina y el QS (a través del 3-OC12-HSL) incrementan el número de células persistentes en los cultivos de este patógeno.

### 3. OBJETIVOS

Atendiendo a lo expuesto anteriormente sobre las características de *P. aeruginosa* y su resistencia frente a los antimicrobianos, los objetivos planteados en el siguiente trabajo son:

1. Estudio de los factores predisponentes en los pacientes con fibrosis quística y EPOC para la colonización por *P. aeruginosa*.
2. Análisis de los factores de patogenicidad de *P. aeruginosa* implicados en la infección de pacientes con fibrosis quística y EPOC.
3. Indagación sobre de las diferentes opciones de tratamiento de dichos enfermos así como las pautas más eficaces.

#### 4. MATERIALES Y MÉTODOS

1. Se realizó una revisión bibliográfica de varios libros de microbiología procedentes de la biblioteca de Farmacia de la UCM, como es el caso del libro “*Medical Microbiology*” (2).
2. Se efectuaron búsquedas en internet en distintas bases de datos tales Pubmed, Google Académico e *ISI Web of Knowledge*, donde introdujeron palabras clave como “*Pseudomonas aeruginosa*, cystic fibrosis, COPD, pathogenesis, treatment, antibiotic resistance”.
3. Se consultaron publicaciones de revistas científicas como *Journal of Clinical Microbiology*, *Journal of Cystic Fibrosis* o algunas encontradas en la editorial Elsevier.
4. Por otro lado, se revisaron los protocolos de terapia publicados por el SEIMC y diversas fuentes de datos del Instituto de Salud Carlos III.

#### 5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Como se ha expuesto anteriormente, gran parte de las infecciones causadas por este patógeno se encuentran relacionadas con el ámbito hospitalario, ya que puede colonizar ambientes húmedos como alimentos, lavabos, equipos de diálisis y de terapia respiratoria... lo que representa un gran problema clínico (5). Esta capacidad de colonizar un gran número de ambientes es debida al gran tamaño de su genoma y a su capacidad de adaptarse a distintas situaciones metabólicas (6). Las infecciones se producen, normalmente, en hospedadores inmunocomprometidos, ambulatorios, hospitalizados y personas con quemaduras, produciendo en estos pacientes una elevada mortalidad (3).

*P. aeruginosa* se considera patógeno oportunista porque invade zonas desprovistas de defensas normales, por ejemplo, cuando hay una pérdida de la continuidad de mucosas y de la piel por lesiones directas del tejido; cuando se utilizan catéteres intravenosos o sondas urinarias; o cuando hay neutropenia como consecuencia de la terapia antineoplásica. Se adhiere a las mucosas o a la piel y las coloniza, produciendo una invasión local y como consecuencia una infección sistémica (7).

Uno de los nichos más relevantes en la patogenicidad de *P. aeruginosa* es el epitelio pulmonar. Este epitelio actúa como una barrera física para prevenir la entrada de patógenos o agentes nocivos a la mucosa de las vías respiratorias y que de ahí puedan acceder a la circulación sistémica. Además, controla el flujo de iones para mantener las vías aéreas hidratadas y actúa regulando la respuesta inmune en defensa a posibles patógenos invasores. En determinadas ocasiones la funcionalidad de este epitelio pulmonar se encuentra alterado, por lo que existe una mayor tendencia a las infecciones como es el caso de la FQ y de la EPOC.

En esta revisión bibliográfica vamos a estudiar la influencia de *P. aeruginosa* en dos patologías como son la FQ y la EPOC. Antes de comenzar debemos tener en cuenta que, aunque son dos patologías con etiología y patogénesis diferentes, ambas se caracterizan por una incapacidad de aclaramiento mucociliar, una obstrucción del flujo aéreo, una inflamación neutrofílica crónica y por recurrentes exacerbaciones infecciosas. En ambos casos, son las exacerbaciones las que más contribuyen a la morbilidad y mortalidad (8).



### 5.1 ¿En qué consiste la fibrosis quística?

La FQ se caracteriza por ser una enfermedad hereditaria autosómica recesiva, que tiene como consecuencia que la secreción mucosa del aparato respiratorio no se expulse correctamente.

El epitelio ciliado de las vías respiratorias se encarga de transportar la secreción mucosa a lo largo de todo el tracto traqueobronquial, arrastrando a su paso cualquier microorganismo o partícula que encuentre. Para que este proceso sea efectivo, la secreción debe presentar mucopolisacáridos y componentes acuosos en proporciones equilibradas.

En los pacientes con FQ se produce una alteración de la secreción mucosa como consecuencia de una serie de mutaciones en el gen que codifica el regulador de la conductancia transmembrana de la fibrosis quística (CFTR). El CFTR se localiza en tejidos exocrinos y actúa como canal de cloro. Un defecto en este canal produce que los pacientes tengan un sudor excesivamente salado y deshidratación de todo tipo de secreciones, produciendo un aumento de su densidad y viscosidad.

Como consecuencia de la alteración del CFTR aumenta la reabsorción de cloro y sodio, lo que va acompañado de una reabsorción pasiva de agua, produciendo así una deshidratación de la superficie del epitelio respiratorio ciliado. Por este motivo, el moco es incapaz de desplazarse correctamente a lo largo del tracto respiratorio, representando un medio idóneo para diversos microorganismos, como es el caso de *P. aeruginosa* (9).

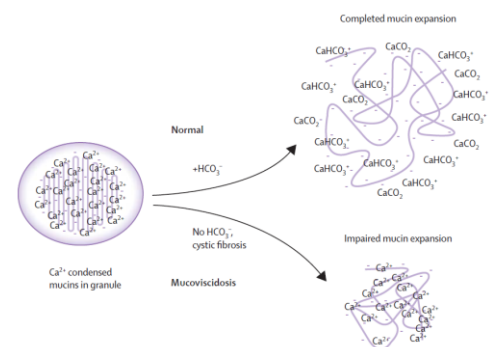
Este canal también se encarga de regular el transporte de  $\text{HCO}_3^-$ . En los pacientes que padecen FQ se produce una disminución de la secreción de este ion a la luz de las vías respiratorias y como consecuencia el pH es excesivamente ácido en la capa fluida de las mismas, lo que afecta a la viscosidad de la secreción mucosa y a la unión de las bacterias. En condiciones normales, cuando las mucinas son secretadas a la luz del epitelio respiratorio aumentan de tamaño gracias a que el  $\text{HCO}_3^-$  secuestra los cationes  $\text{Ca}^{2+}$  y  $\text{H}^+$  y forma complejos con ellos. Sin embargo, en los pacientes con FQ este aumento de tamaño no tendrá lugar como consecuencia del déficit de aniones  $\text{HCO}_3^-$  (10).

La teoría del déficit de aniones  $\text{HCO}_3^-$  también justifica el déficit inmunitario que sufren los pacientes con FQ debido a su papel en la regulación del pH de la capa fluida de la vía aérea. El mantenimiento de un pH óptimo permite el funcionamiento de una mezcla de sustancias como proteínas (como es el caso de las mucinas), lípidos... presentes en las secreciones respiratorias y que tienen actividad antimicrobiana intrínseca (11).

Además, las células del epitelio respiratorio de estos enfermos con FQ, no son capaces de responder ante estímulos producidos por agentes extraños mediante el sistema adrenérgico que estimula la producción de moco en individuos sanos (9).

Cabe destacar que, las secreciones de los pacientes con FQ, presentan elevada cantidad de hierro, metal nutricionalmente importante para la mayoría de los patógenos. Sin embargo, *P. aeruginosa* posee un sistema quelante de hierro, el cual comentaré posteriormente, que explica por qué *P. aeruginosa* es el patógeno predominante en esta patología.

La incapacidad de expulsión de la secreción mucosa del aparato respiratorio conlleva a alteraciones que, en última instancia, aumentan la frecuencia de infecciones en el tracto respiratorio inferior. Dentro de las mismas, la infección ocasionada por *P. aeruginosa* constituye la complicación más frecuente y prevalente en los pacientes con FQ, aunque



**Figura 1.** Papel del  $\text{HCO}_3^-$  en una persona normal y en una persona con FQ (12).

también existen otros patógenos importantes como *Staphylococcus aureus*, *Haemophilus influenzae* y el complejo *Burkholderia cepacia* (6). El 50% de los menores de 18 años con FQ están colonizados por *P. aeruginosa*, sin embargo, en los mayores de 25 años esta cifra se eleva al 90%. Generalmente la colonización se produce a partir de microorganismos que se localizan en el ambiente o por transmisión cruzada, generalmente entre miembros de una misma familia (7).

Los pacientes jóvenes que presentan FQ sufren una **infección aguda** por *P. aeruginosa*, estos se caracterizan por ser asintomáticos. Además, esta infección suele estar causada por cepas de morfotipo no mucoso, las cuales son sensibles a antibióticos. (12).

Cabe destacar también que, una vez establecida la colonización-infección por *P. aeruginosa*, los pacientes con FQ representan un grupo de riesgo para las **infecciones respiratorias crónicas**. Defectos en el sistema inmune en respuesta a infecciones bacterianas o para expulsar las secreciones viscosas y densas hacen que los microorganismos queden retenidos (13). Una vez que este patógeno oportunista ha colonizado de forma crónica los pulmones del paciente, resulta imposible eliminarlo con antibioterapia (14).

## 5.2 ¿En qué consiste la EPOC?

La enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC) es una enfermedad respiratoria crónica, progresiva e irreversible del flujo aéreo por hiperinsuflación pulmonar debido al atrapamiento del aire inspirado. Esta patología indica que el individuo ha desarrollado de forma paralela una bronquitis crónica y un enfisema pulmonar (revisado en 16).

- **Bronquitis crónica:** el individuo sufre una inflamación de la mucosa bronquial que hace que presente una tos persistente productora de esputo durante más de 3 meses al año, en al menos 2 años consecutivos.
- **Enfisema pulmonar:** dilatación anormal de los espacios aéreos, aquellos situados más allá de los bronquiolos terminales, con destrucción parcial de los tabiques interalveolares, en ausencia de fibrosis.

Es una enfermedad compleja y heterogénea que presenta una elevada incidencia y morbi-mortalidad. Sin embargo, es prevenible y tratable. Las previsiones para 2020 indican que esta patología pasará de la sexta a la tercera causa más común de muerte en el mundo, mientras que en lo que a morbilidad se refiere, pasará del cuarto al tercer lugar (sin tener en cuenta la COVID-19). La prevalencia a nivel mundial se sitúa en torno a un 1%, pero se eleva a un 10% en la población mayor de 40 años, por lo que esta patología sube sensiblemente conforme aumenta la edad.

Es una patología a menudo subdiagnosticada, no sólo en estadios tempranos, sino también cuando la función pulmonar está gravemente afectada. Está causada tanto por factores genéticos como ambientales, siendo el principal factor de riesgo desencadenante de la EPOC el humo del tabaco o el mismo tabaco (8). Este factor de riesgo desencadena una respuesta inflamatoria a lo largo de la vía respiratoria, concretamente en los alveolos pulmonares y en la vasculatura pulmonar (5). Además, el humo del tabaco también produce alteraciones en la estructura del epitelio de las vías respiratorias y en la funcionalidad de la barrera epitelial aumentando así la permeabilidad (8).

Muchos estudios recientes evidencian que el humo del tabaco induce a adquirir una disfunción en el gen CFTR en pacientes con el gen normal. Como consecuencia se produce una deshidratación del epitelio respiratorio ciliado y por ello el moco es incapaz de desplazarse correctamente a lo largo del tracto respiratorio. Este moco incapaz de desplazarse representa un medio idóneo para la colonización por parte de diversos microorganismos como es el caso de *P. aeruginosa*.

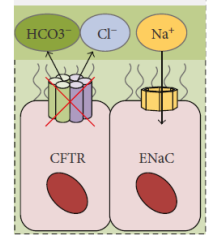


Figura 4. Fisiopatología en pacientes con EPOC (8).

Todas estas alteraciones derivan en una disfunción de las defensas de las vías respiratorias, que tiene como consecuencia un aumento de patógenos y partículas nocivas en la mucosa de la vía respiratoria (8).

En cuanto a estos patógenos, *H. influenzae* coloniza las vías aéreas inferiores en aproximadamente el 30% de los pacientes con EPOC. Sin embargo, *P. aeruginosa*, se encuentra en las vías aéreas de un 4-20% de los pacientes afectados de forma más grave, como es el caso de los pacientes con exacerbaciones por EPOC (16).

Estudios recientes muestran que *P. aeruginosa* causa infecciones crónicas en EPOC que se asemejan mucho a las de la FQ, tanto en patrones de infección como en su evolución (5). Cabe destacar que dentro de los pacientes con exacerbaciones con EPOC (AECOPD), es más frecuente encontrar *P. aeruginosa* en aquellos que requieren ventilación mecánica para controlar las exacerbaciones (revisado en 18).

Además el fenotipo más frecuentemente encontrado en estos pacientes es el fenotipo hipermutador, que se caracteriza por acumular múltiples mutaciones (cerca de 10 por año), y que tiene la capacidad de persistir en las vías aéreas y de ser resistente frente a antibióticos. En esta patología, normalmente una única cepa de *P. aeruginosa* infecta a un paciente, pero aparecen diferentes fenotipos. Además, no hay evidencias de transmisión interfamiliar como ocurría en la FQ (3).

### 5.3 Factores de patogenicidad de *P. aeruginosa* implicados en la fibrosis quística y en la EPOC

Uno de los factores de virulencia de *P. aeruginosa* es la **piocianina**, que se caracteriza por ser un pigmento azul, hidrosoluble y no fluorescente. Su contribución al proceso infeccioso radica en que este factor de virulencia es un componente redox que atraviesa las membranas celulares oxidando nucleótidos como el NADPH y generando especies reactivas de oxígeno (ROS). Este proceso sucede en las células del epitelio respiratorio, que como consecuencia sufren una disminución de su capacidad de cicatrización, de expulsión de bacterias y un aumento de la producción de mucus.

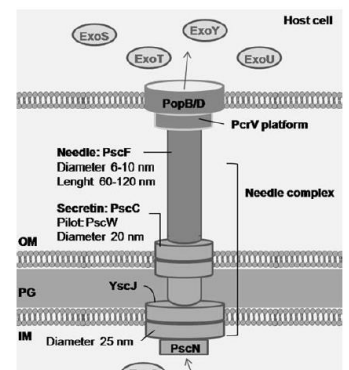
Los ROS generados inducen la síntesis de los genes MUC2 y MUC5AC en la célula hospedadora. Estos genes se encargan de regular la producción de mucus. El aumento de los ROS produce un incremento en la producción de esta sustancia, obstruyendo las vías respiratorias y favoreciendo la infección por patógenos como es el caso de *P. aeruginosa*. Este es el motivo por el cual este patógeno está relacionado con el proceso infeccioso que se produce tanto en la FQ como en la EPOC.

A largo plazo estos ROS pueden producir la activación del factor NF- $\kappa$ B, dando lugar a la transcripción de una serie de genes que codifican moléculas proinflamatorias (IL-8 o el LTB4) que actúan atrayendo neutrófilos, que en elevadas concentraciones, dañan el epitelio respiratorio (18).

Como se ha comentado anteriormente, varios estudios han demostrado que las secreciones de los pacientes con FQ presentan elevadas concentraciones de hierro, lo cual favorece aún más la colonización por *P. aeruginosa* (18). Para poder entender este hecho debemos tener en cuenta que *P. aeruginosa* produce un pigmento denominado **pioverdina**, que es de color amarillo, hidrosoluble y fluorescente. Este pigmento es un sideróforo formado por una cadena polipeptídica variable y un cromóforo y tiene la capacidad de quelar  $Fe^{3+}$ . Este metal es nutricionalmente importante para *P. aeruginosa*, por ello este patógeno usa el hierro presente en las secreciones de los pacientes con FQ desplazándolo de su unión a la transferrina (19).

Durante la **infección aguda** en los pacientes con FQ, este patógeno secreta exotoxinas al medio ambiente, lo que conduce a un daño de las células del hospedador. Este microorganismo usa una estructura asociada a la superficie similar a una aguja, el **sistema de secreción tipo III (T3SS)**, que se encarga de inyectar directamente las toxinas efectoras en el citosol de las células del hospedador (13) y como consecuencia interfiere con las señales de transducción y causa la muerte o alteraciones en las respuestas del sistema inmune (20). El T3SS de *P. aeruginosa* es un complejo macromolecular formado por el Sistema de Secreción o *Needle Complex* ("forma de aguja"), el Sistema de Traslocación y las toxinas efectoras. Constituye el **principal mecanismo de patogenicidad** asociado al transporte de toxinas desde la bacteria hasta el citosol de la célula hospedadora. Este Sistema de Secreción está formado por (20):

- **Cuerpo basal**, es intracelular y comprende la membrana interna y externa bacteriana y el peptidoglicano. En la membrana externa tiene secretinas (PscC) que forman poros en dicha membrana. Este cuerpo basal es el encargado de transportar las toxinas efectoras desde el citosol de la célula bacteriana hasta el inyectosoma.
- **Inyectosoma**: sistema con forma de aguja hueca que se encuentra anclado al cuerpo basal. Se encarga de transportar las toxinas efectoras hasta el Sistema de Translocación, el cual forma un poro en la membrana de la célula hospedadora gracias a las proteínas PopB, PopD y PcrV, insertándose y transmitiendo las toxinas directamente al citosol de esta.



**Figura 2.** Estructura del T3SS de *P. aeruginosa* (17).

Gracias a este mecanismo se secretan toxinas tales como Exo A, Exo T, Exo S, Exo U y Exo Y (revisado en 1).

- ❖ **ExoA**: mono-ADP-ribosiltransferasa que altera la síntesis de proteínas mediante la catalización de la ADP ribosilación del factor 2 de elongación de la cadena peptídica en las células eucariotas. Esta exotoxina participa en el daño tisular en las infecciones pulmonares crónicas.
- ❖ **ExoS y ExoT**: se consideran toxinas bifuncionales, ya que el extremo carboxilo terminal presenta función activadora de GTPasa (GAP), mientras que el extremo amino terminal presenta actividad adenosina difosfato ribosil transferasa (ADPRT). El extremo con actividad GAP presenta la capacidad de inactivar a las GTPasas, al Rho, al Rac y al Cdc43 actuando como disruptor del citoesqueleto de actina, lo que provoca una disminución de la internalización de la bacteria por las células permitiendo a la bacteria evadir la fagocitosis. Se ha demostrado que la ExoS induce la apoptosis de células endoteliales, linfocitos T, macrófagos y células epiteliales de las vías aéreas en ratones. La ExoT se ha relacionado con retrasos en la cicatrización de heridas, lo que incrementa la capacidad oportunista de *P. aeruginosa*.

- ❖ **ExoU**: regula el incremento en las células infectadas de CD95 y del ligando de CD95, produciendo la activación de la vía JNK que inducirá a su vez la muerte por apoptosis en las células infectadas. *P. aeruginosa* produce un aumento de las proteínas JNK y p38, mientras que ERK se encuentra gradualmente desactivada. El hecho de que primero se suprima ERK para después activar a p38 y posteriormente a JNK contribuye a la activación de la cascada de señalización para la apoptosis.
- ❖ **ExoY**: presenta actividad adenilato ciclasa, por lo que al unirse con un cofactor se produce un incremento del AMPc alterando el citoesqueleto, produciendo una inhibición de la fagocitosis y aumentando la permeabilidad endotelial.

Además, este patógeno posee dos **elastasas**: **LasA** (serinproteasa) y **LasB** (metaloproteasa), que actúan de manera conjunta degradando la elastina, ocasionando así daño en los tejidos que contienen elastina y en el parénquima pulmonar. Por otro lado, estas dos enzimas degradan también los componentes del sistema del complemento e inhiben la función de los neutrófilos, lo que provoca una mayor diseminación y daño tisular en las infecciones agudas (1). Al igual que estas elastasas, la **proteasa alcalina** participa en la destrucción tisular y en la diseminación de *P. aeruginosa* (2).

Las **infecciones crónicas** ocasionadas por este patógeno se caracterizan por un deterioro de la función pulmonar, exacerbaciones frecuentes y con una escasa supervivencia (12). Durante los primeros 5 años de vida, los pacientes infectados por *P. aeruginosa* presentan un riesgo de mortalidad 2,6 veces mayor que los pacientes que no han sufrido colonización (21).

El proceso de adaptación responsable de la persistencia de este microorganismo en las vías respiratorias de los pacientes con FQ y EPOC se debe tanto a cambios fisiológicos como genéticos.

Dentro de los **cambios fisiológicos** cabe destacar la transición desde el estado de crecimiento planctónico (células libres suspendidas en el medio acuoso) al de crecimiento formado por las **biopelículas** (6).

El **flagelo** de este patógeno es imprescindible para la formación del biofilm, ya que aporta motilidad (4). Durante esta fase crónica de la infección, los factores de virulencia asociados a la superficie de la célula bacteriana disminuyen para conseguir evadir el reconocimiento por parte del sistema inmune (18), para ello, este patógeno suprime la acción del gen que codifica la **flagelina** (1). Estos cambios de superficie que se producen también permiten la adaptación génica a fenotipo mucoide (de la cual hablaré posteriormente), característica de la infección crónica en estos pacientes.

El proceso de formación del biofilm comienza con la adhesión de este patógeno a las superficies, para ello *P. aeruginosa* emplea el **pili tipo IV**; este factor de virulencia es clave para que este patógeno se pueda adherir a las superficies y formar el biofilm.

El pili IV está constituido por una subunidad proteica o PilA y una secretina o PilQ que secreta el PilA fuera de la célula para que éste pueda formar un filamento polimérico fimbrial y posibilitar la adhesión a la superficie. PilA y PilQ son derivados de la prepilinas PilY1 y PilY2, las cuales participan en el ensamblaje y en la biosíntesis fimbrial (PilY1 y PilY2 respectivamente). El pili tipo IV es necesario para la adhesión inicial junto con dos formas de la cadena del O-polisacárido que constituyen el lipopolisacárido y que se denominan A y B. El lipopolisacárido A, que mejora la adherencia a superficies hidrófobas, y el B, que mejora la adherencia a las hidrófilas (22).

También participan en este primer proceso de adhesión las **lectinas** PA-IL (o **LecA**) y PA-III (o **LecB**), sintetizadas en el citoplasma de las células en estado planctónico. Para ayudar a la adherencia estas dos lectinas se localizan en la membrana exterior del biofilm y se unen a residuos de galactosa (PA-IL) y a monosacáridos, especialmente fructosa (PA-III) aumentando la adhesión y favoreciendo la formación del biofilm. (14). En este patógeno estas lectinas son solubles, y existe evidencia suficiente de que están involucradas tanto en el fortalecimiento del biofilm, una vez establecido, como en la adhesión a las vías respiratorias (22).

Una vez llevado a cabo este proceso se produce la acumulación y maduración del biofilm, procesos marcados por un aumento en la producción de la sustancia polimérica extracelular, formada fundamentalmente por polisacáridos, proteínas y ácidos nucleicos. Este fenómeno se debe a cambios a nivel genético.

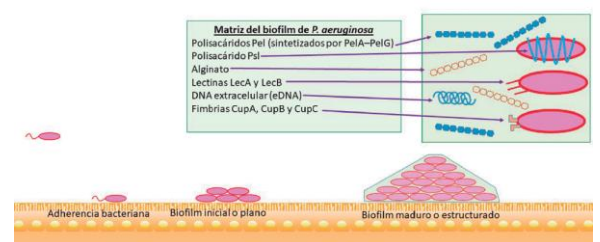
- ◆ Las **cepas no mucoides** secretan los expolisacáridos Psl y Pel, cuya síntesis está regulada por los genes *pslA-O* y *pelA-G* respectivamente. La maduración del biofilm y la producción de los expolisacáridos dependen entre otras cosas del segundo mensajero c-di-GMP, cuyo aumento de concentración produce un incremento de la adhesión y de la acumulación del biofilm, y del ADN extracelular, que compensa la carencia de alginato, sobre todo en los biofilms no maduros, estabilizándolos. El hecho de no poseer ácido algínico hace que estas cepas tengan menor capacidad para formar biofilms (22).
- ◆ En cambio, las **cepas mucoides** secretan el ácido algínico o alginato, un polisacárido cuya síntesis está regulada por los genes *algA*, *algC* y *algD*, los cuales codifican enzimas involucradas en la síntesis del precursor del alginato, el GDP-ácido manurónico, que finalmente da lugar al polisacárido que constituye el biofilm de estas cepas mucoides (22), que interviene en la evasión frente a los Ac y la fagocitosis de las células inmunológicas (12). Además las proteínas de esta matriz extracelular presentan la capacidad de unirse a antimicrobianos, impidiendo así que estos péptidos antimicrobianos alcancen a los microorganismos (6).

Estas cepas mucoides participan en la colonización de dispositivos médicos y superficies celulares, como es el caso de los pulmones de los pacientes con FQ. Son características de los pacientes con FQ (2) y pueden permanecer en el tracto respiratorio durante años (13), además se caracterizan por tener peor pronóstico que las cepas no mucoides (23).

Una diferencia entre la FQ y la EPOC, es que, en el caso de los paciente con EPOC, sólo una pequeña proporción de las cepas de *P. aeruginosa* adquieren fenotipo mucoides, pero las que lo adquieren persisten.

En esta fase, las cepas mucoides de *P. aeruginosa* son capaces de alterar la composición fenotípica de su lipopolisacárido para mejorar la adherencia, lo cual favorece su supervivencia y la formación de biofilm sobre diversas superficies (22). Este patógeno tiene la capacidad de formar dos tipos de biopelículas (revisado en 1):

- Plana o inicial: caracterizada por poseer una confluencia uniforme de bacterias en su superficie. La formación de esta biopelícula comienza cuando la bacteria se adhiere a superficies tisulares, generando la formación de microcolonias, que crecen por la adhesión de nuevas bacterias y la reproducción de bacterias ya adheridas.
- Estructurada o madura: formada por agregados celulares incluidos en la matriz de la biopelícula separadas por canales o espacios.



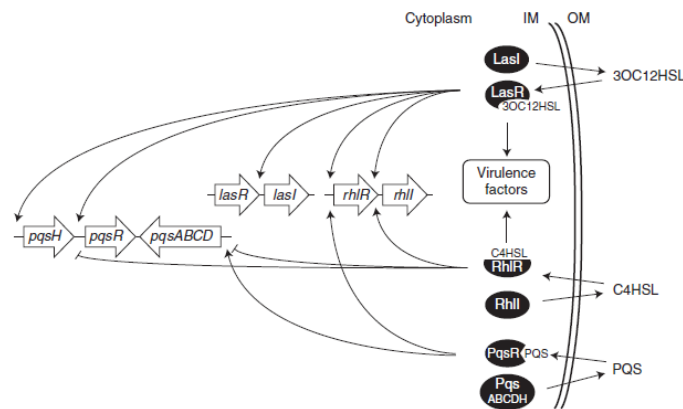
**Figura 3.** Proceso de formación de la biopelícula en *P. aeruginosa* (1).

En resumen, los biofilms permiten la adhesión de las colonias bacterianas a las superficies celulares donde se va a producir la infección, favoreciendo la colonización. Además, constituyen la resistencia intrínseca de las bacterias, protegiéndolas de los antimicrobianos y favoreciendo la persistencia de dicha infección.

- ◆ Además del fenotipo mucoso se han descrito otras adaptaciones fenotípicas de este patógeno como las **cepas hipermutadoras o las variantes rugosas de colonia pequeña (rSCV)** que se han asociado con una capacidad de adquisición de resistencias a los antibióticos mayor incluso que en el caso de las cepas mucoides (18).

Otro de los factores de virulencia de *P. aeruginosa* implicado en la FQ y en la EPOC es el **Quorum Sensing (QS)**, el cual controla aproximadamente el 10% del genoma de *P. aeruginosa*. El QS es un proceso de comunicación celular que permite a las bacterias compartir información sobre la densidad celular, así como regular la expresión de factores de virulencia tales como proteasas, elastasas, pioverdina, etc.

Este patógeno presenta tres sistemas de QS: dos de tipo LuxI/LuxR y otro de tipo no LuxI/LuxR o PQS (*Pseudomonas Quinolone Signal*). En este sistema participan 3 sintasas denominadas AIs: LasI, RhII y PqsABCDH, las cuales producen AIs 3OC12HSL, C4HSL y PQS respectivamente. Las AIs son detectadas por los factores de transcripción LasR, RhIR y PqR respectivamente implicados en la síntesis de factores de virulencia (revisado en 22).



**Figura 4.** Sistemas de QS de *P. aeruginosa* (22).

En definitiva, el QS es un sistema de comunicación intercelular cuyo papel en el proceso infeccioso consiste en la participación, entre otros, del mantenimiento de las colonias, la regulación de la síntesis de factores de virulencia como exoenzimas y metabolitos, la formación del biofilm y el consiguiente aumento de la resistencia a antimicrobianos.

Cabe destacar que el **SST5** (o sistema auto transportador), el cual está constituido por varios factores de virulencia que producen la lisis de las células eucariotas, contribuye a la formación de biopelícula y adherencia celular (1).

#### Factores de virulencia involucradas en pacientes con EPOC.

A día de hoy no se disponen de datos suficientes sobre la idiosincrasia de la infección por *P. aeruginosa* en pacientes con EPOC, aunque un elevado porcentaje de los casos se ajustan al modelo de colonización-infección crónica explicado anteriormente en los pacientes con FQ. Por este motivo, muchos de los factores de virulencia de *P. aeruginosa* implicados en la FQ serían perfectamente aplicables en la EPOC.

Entre estos factores extrapolables encontramos el **SST3**, mecanismo de patogenicidad asociado al transporte de toxinas desde la bacteria hasta el citosol de la célula hospedadora; la formación del **biofilm**, mediante el proceso de adhesión, acumulación y maduración, en los cuales también están implicadas las **lectinas y el pili**; el **QS** es principal factor de virulencia de



*P. aeruginosa* implicado en esta patología y contribuye a la formación del biofilm. La movilidad de este patógeno y la formación de biopelícula también son relevantes para la colonización de la superficie.

Diversos estudios han demostrado que las cepas de *P. aeruginosa* que infectan a pacientes con EPOC tienden a producir niveles bajos de caseína, elastasa y pirocianina, además de presentar la citotoxicidad y la motilidad disminuida, mientras que la producción de pioverdina se distribuye de forma más uniforme.

#### 5.4 Protocolos de terapia frente a *P. aeruginosa* en pacientes con FQ y EPOC.

##### Terapia en pacientes con FQ

La erradicación de *P. aeruginosa* sólo es posible en la infección inicial, mientras que la reducción de su carga bacteriana es el objetivo de la terapia en la infección crónica y las exacerbaciones (24).

1. En cuanto a la **terapia de erradicación de la primoinfección** por *P. aeruginosa* se emplean tres regímenes de tratamiento que resultan muy efectivos y que no requieren hospitalización del paciente (25):

- Colistina (solución para inhalar, 1 M.U/2 veces al día durante 28 días) + Ciprofloxacino (oral 20 mg/Kg/día en 2 dosis durante 14 días).
- Tobramicina (solución para inhalar, 300 mg/2 veces al día durante 28 días).
- Aztreonam-lisina (solución para inhalar, 75mg 3 veces al día por 28 días).

2. Las **exacerbaciones**, tanto leves como severas, ocasionadas por *P. aeruginosa* deben tratarse siempre por vía endovenosa con 2 antibióticos, generalmente un  $\beta$ -lactámico y un aminoglicósido. Se considera entre 10 y 14 días el periodo de tiempo adecuado para este tratamiento, ya que no hay cambio clínico de la función pulmonar después de 10 días (25).

**Tabla 2.** Antibióticos para el tratamiento de la exacerbación aguda producida por *P. aeruginosa* (tomado de 25)

	DOSIS PEDIÁTRICA	DOSIS ADULTOS	COMENTARIOS
<b>Uno de los siguientes</b>			
Ceftazidima	150 a 200mg/kg/día en 3 a 4 dosis IV	2g cada 6 u 8 horas IV	Máximo 8g diarios
Imipenem	60 a 100 mg/Kg/día en 4 dosis IV	0,5 a 1g cada 6 horas IV	Máximo 4g diarios
Meropenem	120 mg/Kg/día en 3 dosis IV	2g cada 8 horas IV	Máximo 6g diarios
Piperacilina-Tazobactama	350 a 450 mg/Kg/día en 4 dosis IV	4.5g cada 6 horas IV	Máximo 16g diarios
Ticarcilina-Clavulánico	400 mg/Kg/día en 4 a 6 dosis IV	3g cada 4 a 6 horas IV	Máximo 18g diarios
Cefepime	150 mg/kg/día en 3 dosis IV	2g cada 8 horas IV	Máximo 6g diarios
<b>Más uno de los siguientes</b>			
Amikacina	30-35 mg/Kg/día en 1 dosis IV	30-35 mg/Kg/día en 1 dosis IV	Se ajusta en función de los niveles plasmáticos y función renal
Tobramicina	10 mg/Kg/día en 1 dosis	10 mg/Kg/día en 1 dosis IV	Se ajusta en función de los niveles plasmáticos y función renal
Ciprofloxacino	40 mg/Kg/día en 2 dosis oral 30 mg/Kg/día en 3 dosis IV	750 mg cada 12 horas oral 400 mg cada 8 horas IV	Máximo 1,5g oral o 1,2 g IV
Colistin (colistimetato sódico)	200 mg/Kg/día en 4 dosis IV	2 g cada 8 horas IV	Máximo 300mg diarios



3. En cuanto a la terapia de la **infección crónica**, el objetivo no es obtener cultivos negativos, sino disminuir al máximo el número de colonias, para mantener la función pulmonar estable y evitar las exacerbaciones. Se emplean antibióticos inhalados en tratamientos permanentes y a altas dosis, alternando 2 o incluso 3 de estos antibióticos (25).

**Tabla 3.** Antibióticos para uso inhalatorio en FQ (tomado de 25).

ANTIBIÓTICO INHALADO	DOSIS	COMENTARIO
<b>Tobramicina (solución para inhalar)</b>	300 mg/2 veces al día	Uso previo de beta-2 de acción corta (salbutamol) para evitar broncoconstricción
<b>Tobramicina (polvo seco)</b>	112 mg (4 cápsulas)/2 veces al día	Uso previo de beta-2 de acción corta (salbutamol) para evitar broncoconstricción
<b>Colistina (solución para inhalar)</b>	1 a 2 millones de unidades/2 veces al día	Uso previo de beta-2 de acción corta (salbutamol) para evitar broncoconstricción
<b>Aztreonam-lisina (solución para nebulizar)</b>	75 mg/3 veces al día	Uso previo de beta-2 de acción corta (salbutamol) para evitar broncoconstricción

El uso excesivo de antibióticos ha permitido a *P. aeruginosa* el desarrollo de cepas multirresistentes, lo que ha conducido a una ineffectividad de la terapia empírica existente frente a este patógeno. Este hecho ha llevado al estudio de **otras posibles alternativas antibióticas** (revisado en 4):

- **Doripenem:** antibiótico carbapenémico resistente a la hidrólisis por  $\beta$ -lactamasas (excepto por las metalo- $\beta$ -lactamasas).
- **Plazomicina:** aminoglicósido semisintético, resistente a un gran número de enzimas modificadoras de aminoglicósidos, pero no frente a la metiltransferasa ribosomal 16 rRNA, y en combinación con otros antibióticos como cefepima, doripenem, imipenem o piperacilina-tazobactama resulta muy útil en el tratamiento de cepas multirresistentes.
- **POL7001**, molécula macrocíclica perteneciente a la familia de antibióticos PEM ("Protein epitope mimetic"), al cual son sensibles algunas cepas de *P. aeruginosa* aisladas en los pacientes con FQ. Esta molécula inhibe el transporte de LPS hacia la membrana externa de la bacteria. Este efecto se ha demostrado in vitro y en modelos murinos, sin embargo, aún no se ha utilizado en ensayos clínicos.

#### Alternativas a la terapia antibiótica (revisado en 4)

- Una alternativa a la terapia antibiótica es la inhibición del QS. La inhibición de este sistema se consigue mediante el empleo de inhibidores que se unen a los receptores de señales del QS (Las y Rhl) y al bloquear la expresión de los correspondientes genes de virulencia. Este enfoque puede prevenir o reducir la formación de biopelículas, disminuir la virulencia del patógeno y además tiene un bajo riesgo de desarrollar resistencia. Algunos de estos inhibidores son la zeaxantina, los flavonoides, el N-decanoil ciclopentamida, etc. Pero es la azitromicina el único inhibidor del QS que ha sido probado en ensayos clínicos para el tratamiento de pacientes con FQ en la fase crónica de la infección por *P. aeruginosa*.
- Otro posible estrategia está basada en el bloqueo de la unión de las lectinas a la superficie de la célula huésped por inhibidores de lectina como glicoconjugados, glicopolímeros o glicoclusters. Estos inhibidores presentan una gran capacidad de unión a las lectinas inhibiendo así su función. Esta inhibición competitiva se ha estudiado como una posible estrategia para reducir las exacerbaciones por *P. aeruginosa* en los pacientes con FQ, sin embargo, aún no se han realizado estudios *in vivo* ni ensayos clínicos con ellos.
- Otra alternativa que debemos señalar es la quelación del hierro. El hecho de que el esputo de los pacientes con FQ posea elevadas concentraciones de hierro junto con que *P. aeruginosa* posea un sideróforo capaz de quelarlo, sugiere que el uso de análogos del hierro y quelantes pueden funcionar como agentes terapéuticos contra él.

Se ha comprobado en modelos *in vitro* que el uso de tobramicina junto con quelantes del hierro como deferoxamina y deferasirox (aprobados por la FDA) reduce significativamente la biomasa de la biopelícula de *P. aeruginosa*. Se considera que esta alternativa debe tenerse en cuenta para futuros ensayos clínicos.

- Otra opción que se está desarrollando es la terapia con fagos. Los fagos son virus que infectan y matan bacterias al causar lisis. El uso de fagos para el tratamiento de infecciones crónicas por *P. aeruginosa* ha sido ampliamente estudiado como una alternativa a los antibióticos. Hasta la fecha, hay caracterizados 137 fagos diferentes dirigidos al género *Pseudomonas*.

Una de las ventajas de la terapia con fagos sobre el tratamiento con antibióticos es su actividad contra las biopelículas de *P. aeruginosa*. Es importante destacar que el pretratamiento de los catéteres recubiertos con hidrogel con fago M4 redujo significativamente la formación de biopelículas de *P. aeruginosa*.

Aunque se ha demostrado que los fagos son efectivos contra la infección bacteriana *in vitro* y en modelos animales, hasta la fecha sólo se han realizado un número limitado de ensayos clínicos de terapia con fagos.

- También se deben tener en cuenta las vacuna. El desarrollo de vacunas tiene como objetivo prevenir y reducir las infecciones por *P. aeruginosa*. Sin embargo, todavía no hay una vacuna autorizada contra este patógeno.

Los antígenos de *P. aeruginosa* provocan respuestas inmunes potentes y son responsables de la patogénesis, por lo que resultaría muy ventajoso realizar vacunas con ellos. Entre las posibles vacunas frente a *P. aeruginosa*, solo la vacuna de flagelos y la vacuna recombinante IC43, que comprende OprF y OprI, han pasado a ensayos clínicos de fase III en pacientes con FQ.

Las vacunas actuales para *P. aeruginosa* manifiestan baja eficiencia en ensayos clínicos debido a la capacidad de este patógeno para experimentar fenotipos cambios en condiciones ambientales variables. Además, la inmunidad innata desregulada en los pulmones con FQ también puede afectar a la eficacia de las mismas. Es por ello que el desarrollo de nuevas vacunas se encuentra actualmente en curso.

- Otra posible alternativa está basada en el uso de péptidos antimicrobianos (AMP), que son producidos por una variedad de organismos, y son activos contra una amplia gama de microorganismos. Sin embargo, el mecanismo de acción de los AMP no se entiende completamente. Numerosos péptidos antimicrobianos que incluyen GL13K, LL-37, T9W, NLF20, cecropina P1, indolicidina, magainina II, nisina, ranalexina, melitina y defensina han mostrado potentes efectos antimicrobianos contra *P. aeruginosa* a través de efectos bactericidas directos o interrupción de biopelículas. Además, algunos AMP han mostrado sinergia con antibióticos, por ejemplo, se ha demostrado que la combinación GL13K más tobramicina aumenta el aclaramiento de la biopelícula de *P. aeruginosa*.

#### Terapia en pacientes con EPOC (revisado en 26)

Para el tratamiento de *Pseudomonas spp.* en pacientes con EPOC, se debe valorar la instauración de un tratamiento combinado ( $\beta$ -lactámico + aminoglucósido/quinolona), con el fin de aumentar la probabilidad de éxito y de prevenir la selección de cepas mutantes resistentes. La combinación de un aminoglucósido +  $\beta$ -lactámico puede resultar sinérgica, ya que se produce un aumento de la permeabilidad de la membrana externa.

Cabe destacar, que la difusión al parénquima pulmonar de las fluoroquinolonas, especialmente, el levofloxacino, es mayor que para los  $\beta$ -lactámicos y aminoglucósidos.

Respecto a los aminoglucósidos, la tobramicina presenta mayor actividad intrínseca frente a este patógeno, sin embargo, la amikacina, es activa frente a un mayor número de aislados, ya que se inactiva por un menor número de enzimas.

Recientemente se ha introducido en la terapia dos nuevos antibióticos:

- Ceftazolano: cefalosporina activa frente a la mayoría de las cepas resistentes a  $\beta$ -lactámicos.

La combinación ceftazolano-tazobactam es activa en aproximadamente el 95% de los aislados.

- Avibactam: inhibidor de  $\beta$ -lactamasas capaz de bloquear las  $\beta$ -lactamasas de tipo AmpC producidas por *P. aeruginosa*.

La asociación ceftazidima-avibactama recupera la sensibilidad frente a esta cefalosporina de tercera generación en cerca del 80% de las cepas resistentes.

Los pacientes en los que existen nichos de persistencia de *P. aeruginosa*, están sometidos a un gran número de tratamientos antibióticos por las numerosas exacerbaciones. Además, la difusión del antimicrobiano por el moco bronquial es muy baja. Dosis inferiores a las inhibitorias de los antipseudomónicos clásicos (ceftazidima, piperacilina-tazobactam, carbapenem) son capaces de seleccionar fácilmente cepas mutantes. Por este motivo, en los pacientes con aislamiento previo de *Pseudomonas* o riesgo de *Pseudomonas* multirresistentes en agudizaciones graves con sepsis, podrían considerarse las dos combinaciones con los nuevos antibióticos anteriormente comentadas como antipseudomónicos de elección (ceftazolano + Avibactam o ceftazidima/Avibactam). Además, ambas son activas frente a BLEE producidas por Enterobacterias y podrían ser empleadas en estrategias terapéuticas de ahorro de carbapenémicos.

Estos protocolos de tratamiento antibiótico frente a *P. aeruginosa* se recomiendan en una duración máxima de 10-14 días.

Como hemos comentado anteriormente la EPOC comparte muchas características comunes con la FQ, por lo que la información obtenida para el tratamiento de pacientes con FQ podría ayudar a identificar estrategias terapéuticas efectivas para los pacientes con EPOC.

## 6. CONCLUSIONES

1. *P. aeruginosa* es un microorganismo de especial relevancia en las infecciones nosocomiales, siendo los pulmones uno de sus nichos más relevantes. Esta importancia radica en su capacidad cosmopolita y en su resistencia tanto al medio como a los antimicrobianos. Estos hechos, junto con su enorme versatilidad para adaptarse a diferentes medios, su gran número de factores de virulencia y su capacidad de comunicación intracelular hacen de él un patógeno difícil de tratar.
2. Tanto la FQ como la EPOC cursan con una incapacidad de aclaramiento mucociliar, obstrucción del flujo aéreo, una inflamación neutrofílica crónica y por recurrentes exacerbaciones infecciosas. Además, en ambas patologías se produce una alteración de la secreción mucosa como consecuencia de una disfunción en el CFTR. Por este motivo se produce una deshidratación del epitelio respiratorio, dando como resultado un moco más denso y viscoso incapaz de desplazarse correctamente a lo largo del tracto respiratorio, lo que representa un medio idóneo para la colonización por diversos microorganismos como es el caso de *P. aeruginosa*.
3. La FQ es una patología de origen genético, pero que tiene un componente microbiológico muy importante, el cual determina la evolución y el pronóstico de la enfermedad.

La infección por *P. aeruginosa* en los pacientes con FQ puede ser aguda, en la cual este microorganismo emplea una serie de sus factores de virulencia tales como el SST3 y las elastasas para conseguir llevar a cabo la infección-colonización. En esta etapa este patógeno es sensible a antimicrobianos y es la etapa clave para su erradicación.

Sin embargo, si se alcanza la infección crónica, una vez que el patógeno ha conseguido colonizar, sufre una serie de modificaciones fisiológicas y genéticas en las que intervienen factores de virulencia tales como el flagelo, el pili tipo IV, su capacidad para formar biopelículas, que le hacen resistente a la gran mayoría de antimicrobianos, siendo prácticamente imposible erradicarla. Este hecho ha conducido a una extrema urgencia por el desarrollo de nuevos tratamientos.

4. Dado que la FQ y la EPOC presentan características comunes tanto en los patrones de infección como evolución, numerosos estudios han sugerido que lo que se aplica a la FQ, donde hay más estudios, es fácilmente aplicable a la EPOC. De tal manera que cuando tenemos aislamientos frecuentes de *P. aeruginosa* en EPOC, podemos extrapolar los factores de patogenicidad que intervienen en la FQ a la EPOC.
5. Respecto a los protocolos de terapia frente a *P. aeruginosa* en pacientes con FQ caben destacar tres líneas de tratamiento. La primera de ellas está constituida por la erradicación de la primoinfección; la segunda consiste en el tratamiento de las exacerbaciones combinando un  $\beta$ -lactámico y un aminoglicósido. Y por último, la tercera, está basada en disminuir al máximo el número de colonias en la infección crónica para mantener la función pulmonar estable y evitar las exacerbaciones. Sin embargo, el uso excesivo de antibióticos ha permitido a *P. aeruginosa* el desarrollo de cepas multirresistentes, lo que ha llevado al estudio de otras posibles alternativas como el Doripenem, Plazomicina, POL7001, inhibidores del QS, vacunas etc.
6. En cuanto al tratamiento de la EPOC, de igual modo que con los factores de virulencia, muchos de los protocolos de terapia que se utilizan en el tratamiento de *P. aeruginosa* en los pacientes con FQ, podrían emplearse en el tratamiento de este patógeno en el caso de los pacientes con EPOC.

## 7. BIBLIOGRAFÍA

1. Paz-Zarza VM, Mangwani-Mordani S, Martínez-Maldonado A, Álvarez-Hernández D, Solano-Gálvez SG, Vázquez-López R. Pseudomonas aeruginosa: patogenicidad y resistencia antimicrobiana en la infección urinaria. Rev Chil infectología. 2019;36(2):180–9.
2. Hadfield TL. Medical Microbiology 18th Edition. Vol. 155, Military Medicine. 1990. 26–26 p.
3. Martínez-Solano L, Macia MD, Fajardo A, Oliver A, Martínez JL. Chronic Pseudomonas aeruginosa Infection in Chronic Obstructive Pulmonary Disease. Clin Infect Dis. 2008;47(12):1526–33.
4. Pang Z, Raudonis R, Glick BR, Lin TJ, Cheng Z. Antibiotic resistance in Pseudomonas aeruginosa: mechanisms and alternative therapeutic strategies. Biotechnol Adv [Internet]. 2019;37(1):177–92. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2018.11.013>
5. Roca L, Ángel D. Pseudomonas aeruginosa: un adversario peligroso Pseudomonas aeruginosa: a dangerous adversary. Acta Bioquím Clín Latinoam. 2014;48(4):465–74.
6. Mulcahy LR, Isabella VM, Lewis K. Pseudomonas aeruginosa Biofilms in Disease. Microb Ecol. 2014;68(1):1–12.
7. Geo.F.Brooks, Karen C. Carroll, Janet S. Butel, Stephen A. Morse TAM. 528-1240-1-SM.pdf. 2016.
8. De Rose V, Molloy K, Gohy S, Pilette C, Greene CM. Airway epithelium dysfunction in cystic fibrosis and COPD. Mediators Inflamm. 2018;2018(Figure 1).

9. Oliver A, Alarcón T, Del I, Científico D. con fibrosis quística.
10. Choi JY, Muallem D, Kiselyov K, Lee MG, Thomas PJ, Muallem S. Aberrant CFTR-dependent HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> transport in mutations associated with cystic fibrosis. *Nature*. 2001;410(6824):94–7.
11. Quinton PM. Cystic fibrosis: impaired bicarbonate secretion and mucoviscidosis. *Lancet*. 2008;372(9636):415–7.
12. Taccetti G, Denton M, Hayes K, Bilton D, Campana S, Dolce D, et al. A critical review of definitions used to describe *Pseudomonas aeruginosa* microbiological status in patients with cystic fibrosis for application in clinical trials. *J Cyst Fibros*. 2020;19(1):52–67.
13. Talwalkar JS, Murray TS. The Approach to *Pseudomonas aeruginosa* in Cystic Fibrosis. *Clin Chest Med*. 2016;37(1):69–81.
14. Tummler B, Koopmann U, Grothues D, Weissbrodt H, Steinkamp G, Von der Hardt H. Nosocomial acquisition of *Pseudomonas aeruginosa* by cystic fibrosis patients. *J Clin Microbiol*. 1991;29(6):1265–7.
15. Álvarez-Sala JL, Peces-Barba G, Agusti AGN, Antó JM, Escarrabill J, García Rio F, et al. Enfermedad pulmonar obstructiva crónica. *Aten Primaria*. 2004;34(7):366–7.
16. Eklöf J, Sørensen R, Ingebrigtsen TS, Sivapalan P, Achir I, Boel JB, et al. *Pseudomonas aeruginosa* and risk of death and exacerbations in patients with chronic obstructive pulmonary disease: an observational cohort study of 22 053 patients. *Clin Microbiol Infect*. 2020;26(2):227–34.
17. Murphy TF, Brauer AL, Eschberger K, Lobbins P, Grove L, Cai X, et al. *Pseudomonas aeruginosa* in chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Respir Crit Care Med*. 2008;177(8):853–60.
18. Rada B, Leto TL. Pyocyanin effects on respiratory epithelium: Relevance in *Pseudomonas aeruginosa* airway infections. *Trends Microbiol*. 2013;21(2):73–81.
19. Cornelis P, Dingemans J. *Pseudomonas aeruginosa* adapts its iron uptake strategies in function of the type of infections. *Front Cell Infect Microbiol*. 2013;4(NOV):1–7.
20. Galle M, Carpentier I, Beyaert R. Structure and Function of the Type III Secretion System of *Pseudomonas aeruginosa*. *Curr Protein Pept Sci*. 2013;13(8):831–42.
21. La infección pulmonar por *Pseudomona aeruginosa* constituye la complicación más importante en los pacientes con fibrosis quística - El médico interactivo : El médico interactivo [Internet]. [cited 2020 Mar 18]. Available from: <https://elmedicointeractivo.com/infeccion-pulmonar-pseudomona-aeruginosa-constituye-complicacion-mas-importante-pacientes-fibrosis-quistica-20110824145407035333/>
22. Laverty G, Gorman SP, Gilmore BF. Biomolecular mechanisms of *Pseudomonas aeruginosa* and *Escherichia coli* biofilm formation. *Pathogens*. 2014;3(3):596–632.
23. Infecciones por *Pseudomonas* y patógenos relacionados - Enfermedades infecciosas - Manual MSD versión para profesionales [Internet]. [cited 2020 Mar 18]. Available from: <https://www.msdmanuals.com/es/professional/enfermedades-infecciosas/bacilos-gramnegativos/infecciones-por-pseudomonas-y-patogenos-relacionados>
24. Cantón R, Máiz L, Escribano A, Oliveira C, Oliver A, Asensio O, et al. Consenso español para la prevención y el tratamiento de la infección bronquial por *Pseudomonas aeruginosa* en el paciente con fibrosis quística. *Arch Bronconeumol*. 2015;51(3):140–50.
25. Fielbaum Ó. Manejo Actual De La Fibrosis Quística. *Rev Médica Clínica Las Condes*. 2017;28(1):60–71.
26. Del Castillo JG, Candel FJ, de la Fuente J, Gordo F, Martín-Sánchez FJ, Menéndez R, et al. Integral approach to the acute exacerbation of chronic obstructive pulmonary disease. *Rev Esp Quimioter*. 2018 Oct 1;31(5):461–84.