



FACULTAD DE FARMACIA
UNIVERSIDAD COMPLUTENSE

TRABAJO FIN DE GRADO
MICROBIOLOGÍA DE LA FIBROSIS
QUÍSTICA

Autor: Nuria Muñoz Funes

Tutor: Ángela Gómez Alferez

Convocatoria: Junio

Índice

1. Resumen.....	3
2. Introducción y antecedentes.....	3
2.1. Fisiopatología de la FQ.....	4
2.2. Principales microorganismos en FQ.....	5
2.3. Sintomatología	7
3. Objetivos	9
4. Material y métodos.....	9
4.1. Procesamiento de muestras para cultivo cuantitativo.....	10
4.2. Medios de cultivo y condiciones de incubación.....	10
4.3. Estudio de la sensibilidad a antibióticos	11
5. Resultados y discusión.....	12
5.1. <i>Pseudomonas aeruginosa</i> : prevalencia y estructura poblacional.....	12
5.2. <i>Pseudomonas aeruginosa</i> : resistencia a antibióticos	15
5.3. <i>Staphylococcus aureus</i> : prevalencia y estructura poblacional	16
5.4. <i>Staphylococcus aureus</i> : resistencia a antibióticos	17
6. Conclusión	18
7. Bibliografía	19

1. Resumen

La fibrosis quística (FQ) es una enfermedad hereditaria que provoca que la secreción mucosa en el aparato respiratorio no se expulse de manera correcta, lo que da lugar a infecciones en el tracto respiratorio inferior, por lo que el componente microbiológico tiene relevancia en el pronóstico y evolución de la enfermedad. Para el procesamiento de las muestras respiratorias de estos pacientes se realiza un cultivo cuantitativo empleando medios selectivo-diferenciales y se estudia la sensibilidad a antibióticos. Según los estudios revisados, *Pseudomonas aeruginosa* y *Staphylococcus aureus* son los microorganismos mayoritarios. *Pseudomonas aeruginosa* se caracteriza por presentar distintos morfotipos (mucoide, SCV, metálico...) en sus aislamientos, cada uno con distinta sensibilidad a antibióticos. Es el patógeno predominante en la población adulta, mientras que *S. aureus* tiene una mayor prevalencia en niños y adolescentes. Dentro de este último es importante estudiar la presencia de *S. aureus* resistente a meticilina (SARM) que se asocia con una mayor mortalidad y presenta mayor resistencia a antibióticos. Según varios registros de pacientes la colonización por *P. aeruginosa* está disminuyendo en los últimos años mientras que por *S. aureus* está aumentando.

2. Introducción y antecedentes

La fibrosis quística (FQ) o mucoviscidosis es la enfermedad hereditaria autosómica recesiva más frecuente en la población caucásica y la primera causa de afección pulmonar crónica en la infancia. La FQ se produce por una serie de mutaciones en el gen que codifica para una proteína transmembrana, CFTR (Cystic Fibrosis Transmembrane Conductance Regulator) que actúa como canal de cloro y se encuentra en los tejidos exocrinos. El defecto en el transporte de este ión causa un sudor salado característico de estos pacientes y una deshidratación de las secreciones de distintos tejidos y órganos lo que hace que se trate de una enfermedad multisistémica (1). La enfermedad pulmonar en estos pacientes se manifiesta como una inflamación y fibrosis progresiva del tejido pulmonar que acaba perdiendo funcionalidad ocasionando la muerte en la mayoría de los casos por fracaso respiratorio. La causa principal de esta inflamación pulmonar es la colonización patogénica crónica en la vía aérea inferior por parte de un amplio conjunto de microorganismos, entre los que destaca *Pseudomonas aeruginosa* por su impacto negativo sobre los pacientes. (2)

2.1. Fisiopatología de la fibrosis quística

A pesar de que la FQ es una enfermedad multisistémica, en este trabajo se va a tratar la enfermedad respiratoria ya que es la manifestación más grave en la actualidad.

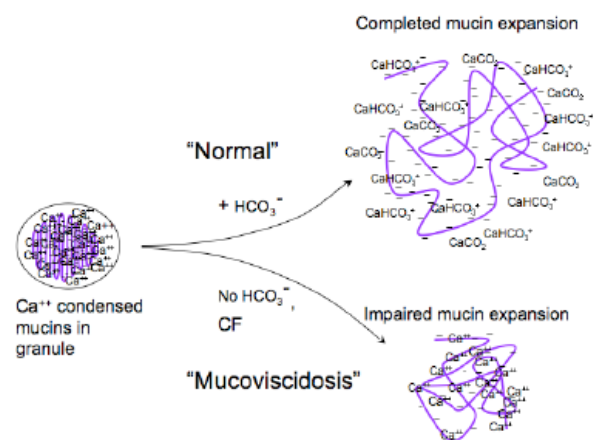
El aclaramiento mucociliar es un mecanismo de defensa en el que el epitelio ciliado transporta la secreción mucosa que contiene bacterias y partículas extrañas hacia la vía aérea superior para eliminarla a través de la tos o la deglución. Este mecanismo es efectivo gracias a la presencia de una capa fluida que permite el batido de los cilios (3). En la fibrosis quística la alteración del CFTR da lugar a un aumento de la reabsorción de cloro y sodio así como una reabsorción pasiva de agua, lo que produce una deshidratación de la superficie del epitelio ciliado. Como consecuencia esto impide el correcto deslizamiento del moco y se produce un estancamiento de este que favorece la colonización de diversos microorganismos (1).

Esta **respuesta inflamatoria exagerada** es otro de los factores patogénicos de la enfermedad se manifiesta principalmente por un intenso filtrado de neutrófilos que mediante la secreción de proteasas van a dañar más aún el tejido bronquial (1). Esta inflamación y la destrucción del tejido llevan finalmente a la producción de bronquiectasias y fibrosis progresiva del tejido que favorecen las infecciones crónicas generándose un círculo vicioso de inflamación-destrucción del tejido pulmonar (2).

Se ha descubierto que CFTR también se encarga de otros transportes, como el de HCO_3^- .

En los pacientes con FQ existe un déficit en la secreción de este ión a la luz de las vías respiratorias y un pH anormalmente bajo en la capa fluida de la superficie de las vías, lo que afecta a la viscosidad de la secreción mucosa y a la unión de las bacterias (4). Las mucinas cuando se secretan a la luz del epitelio respiratorio expanden su tamaño gracias a que el HCO_3^- secuestra los cationes Ca^{++} y H^+ y forma complejos. En los pacientes con FQ, esta expansión no se produce debido al déficit de aniones HCO_3^- (4).

La teoría del HCO_3^- también aporta una justificación para el déficit inmunitario que sufren los pacientes de FQ debido a su papel en la regulación del pH de la capa fluida



de la vía aérea. El mantenimiento del pH óptimo permite el funcionamiento de una mezcla de sustancias como proteínas, lípidos etc presentes en las secreciones respiratorias que tienen actividad antimicrobiana intrínseca (5).

La fisiopatología de la fibrosis quística continua siendo un tema abierto sobre el que investigar en el que intervienen numerosos factores.

2.2. Principales microorganismos en FQ

Estos mecanismos fisiopatológicos favorecen el establecimiento de una colonización pulmonar crónica por microorganismos entre los que hay bacterias, hongos y virus. *Pseudomonas aeruginosa* es el patógeno más importante en este proceso por su impacto negativo sobre la supervivencia, la función pulmonar y la calidad de vida. Otros patógenos importantes implicados son *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina (SARM), *Burkholderia cepacia* o *Mycobacterium abscessus*. Sin embargo, se desconoce la implicación de muchos otros microorganismos detectados en las muestras respiratorias por cultivo tradicional. Estos microorganismos con implicación desconocida han aumentado en las últimas décadas con la introducción de nuevas técnicas diagnósticas como la espectrometría de masas o la secuenciación masiva (8).

La vía aérea inferior de los pacientes con FQ se encuentra estéril en el momento del nacimiento e inmediatamente después se produce la colonización por microorganismos. Esta colonización depende de factores como la edad, la evolución y la exposición a antibióticos (7, 8).

- *Pseudomonas aeruginosa*

Es el microorganismo más frecuente e importante en los pacientes con fibrosis quística ya que la colonización por este patógeno se relaciona con un aumento en la morbilidad y mortalidad en estos pacientes.

Este patógeno se ha relacionado con un deterioro de la función pulmonar. Inicialmente la infección es intermitente e incluye distintas cepas, pero en un momento alguna de las cepas predomina y establece una infección crónica, que suele producirse por la evolución de estas cepas a un fenotipo mucoso (8, 11).

Se han descrito además otras adaptaciones fenotípicas que se relacionan con la persistencia *P. aeruginosa* en el pulmón como la hipermutación o la formación de

variantes rugosas de colonia pequeña. Todas estas estrategias se han asociado con una mayor resistencia a antibióticos y con una peor evolución clínica del paciente (2).

P. aeruginosa presenta de manera general resistencia a b-lactámicos, fluoroquinolonas y aminoglucósidos.

- *Staphylococcus aureus*

Fue el primer microorganismo reconocido como causante de infección pulmonar crónica en pacientes con FQ (1). Las infecciones con mayor morbimortalidad son las producidas por cepas resistentes a la meticilina (SARM), que normalmente son multirresistentes a los antimicrobianos.

Se han identificado mecanismos de resistencia a antimicrobianos como consecuencia de la terapia antistafilocócica como el surgimiento de colonias pequeñas variantes (SCV) que presentan resistencia a los aminoglucósidos, el desarrollo de SARM, que presentan resistencia a todos los b-lactámicos y problemas de resistencia que se observa es en *S. aureus* intermediarios de vancomicina (VISA) (9)

S. aureus es el patógeno predominante desde el nacimiento hasta la adolescencia y se ha demostrado que en la población pediátrica los pacientes colonizados por *S. aureus* presentan mayor grado de inflamación pulmonar.

La mayoría de las infecciones por este patógeno cursan de manera crónica y al igual que en el caso de *P. aeruginosa*, evoluciona hacia fenotipos de persistencia que se instalan en el pulmón, dando lugar a cepas hipermutadoras o SCVs (9).

- *Burkholderia cepacia* complex

El género *Burkholderia* comprende un conjunto de bacilos Gram – aerobios, no fermentadores. Actualmente se ha comprobado que los organismos identificados como *B. cepacia* forman un conjunto muy heterogéneo formado por especies fenotípicamente similares. Existen al menos 9 variedades genómicas dentro del complejo (1) y comprende alrededor de 18 especies fenotípicamente indistinguibles pero genotípicamente dispares (2).

Los pacientes afectados por este complejo son individuos inmunodeprimidos o que sufren FQ. Aproximadamente en el 20 % de los pacientes con FQ, este patógeno causa una enfermedad llamada el Síndrome Cepacia que producía en los pacientes un cuadro

de neumonía con sepsis fulminante. Estas especies tienen la capacidad de transmitirse de unos pacientes a otros produciendo brotes epidémicos (8).

La colonización por esta especie se asoció a una mayor mortalidad en pacientes que habían sido sometidos a un trasplante pulmonar, por lo que este recurso dejó de utilizarse en numerosos centros en pacientes que estaban colonizados por ese patógeno (8).

Las especies de este complejo son muy difíciles de tratar ya que son resistentes a muchos tipos de antibióticos como los aminoglucósidos, muchos b-lactámicos, fosfomicina... También es bastante frecuente la resistencia adquirida (2).

- *Stenotrophomonas* y *Achromobacter spp*

Ambos géneros son bacilos Gram –, aerobios, no fermentadores.

Stenotrophomonas se encuentra en aproximadamente entre el 10% y 20% de los pacientes con FQ, mientras que *Achromobacter* se ha encontrado entre el 5% y 10%.

La incidencia clínica de estos microorganismos ha sido debatida. Algunos estudios sugieren que la colonización por estos patógenos está asociada a un rápido descenso de la función pulmonar y al aumento de marcadores inflamatorios en muestras respiratorias y otros estudios no han encontrado relación entre la situación clínica del paciente y la presencia de estos patógenos (8).

Estos microorganismos presentan resistencia intrínseca a numerosos grupos de antimicrobianos y también es frecuente la resistencia adquirida, por lo que es posible encontrar cepas panresistentes de estos patógenos en infecciones crónicas (2, 8).

- Otros patógenos

Además de los microorganismos mencionados anteriormente, existen otros microorganismos que pueden encontrarse en el contexto de la FQ pero que tienen un papel minoritario. Entre ellos se encuentran las bacterias anaerobias, las micobacterias no tuberculosas (MNT), hongos filamentosos e incluso algunos virus respiratorios (2).

2.3. Sintomatología de FQ

Existe una presentación típica o clásica, la más frecuente, en la que el paciente tiene afectados múltiples órganos y sistemas, y las manifestaciones digestivas y pulmonares son las de mayor gravedad.

También existe una variante no clásica que se da más frecuentemente en adultos, en la que la enfermedad se manifiesta en un único órgano o sistema. Estas formas tienen un mejor pronóstico y una sintomatología más leve (9).

- **Gastrointestinales**

Uno de los primeros síntomas es el fleo meconial, una enfermedad obstructiva intestinal que aparece en un 15-20% de los pacientes y se produce por la acumulación de un meconio denso y adherente (2). La obstrucción intestinal es frecuente en niños y adultos y está provocada por secreciones intestinales densas y malaabsorción de nutrientes (9).

La insuficiencia pancreática (IP) aparece en el nacimiento o durante el primer año de vida y se da en más del 85% de los pacientes con FQ (2). Se produce como consecuencia de un insuficiente jugo pancreático con obstrucción de los conductos y activación prematura de las enzimas, lo que provoca la destrucción del tejido pancreático.

La enfermedad hepática es poco frecuente en pacientes con FQ, pero con el aumento de la esperanza de vida, las manifestaciones hepáticas emergen con más frecuencia y hoy en día constituyen la 3ª causa de muerte en pacientes de FQ (9).

- **Respiratorios**

El grado de compromiso respiratorio depende de factores medioambientales y del genotipo. Los síntomas respiratorios suelen aparecer en la infancia o incluso en la segunda o tercera década de vida. Las manifestaciones principales son la tos crónica y la expectoración, que a medida que progresa la infección y la inflamación pulmonar se vuelve más densa y purulenta. Otros síntomas que pueden aparecer son fiebre, fatiga y pérdida de peso. Los pacientes presentan periodos de exacerbación de estos síntomas durante los cuales desciende la función pulmonar. Cuantas más exacerbaciones se producen, más rápido desciende la función pulmonar y aumenta la mortalidad (9).

Las complicaciones respiratorias presentes en FQ son el neumotórax, con una incidencia del 3-9%, la hemoptisis que se da con mayor frecuencia y la ABPA (Aspergilosis broncopulmonar alérgica) con una incidencia del 8% (2, 9).

- Osteoarticulares

La osteopenia y osteoporosis tienen una alta incidencia en pacientes con FQ y su causa es multifactorial, está ligada a la malnutrición, al uso de corticoides, al déficit de vitamina D, las infecciones recurrentes... Para prevenir estos síntomas se recomienda suplementar con vitaminas K y D y mejorar el estado nutricional (8). Entre un 5-10% de los pacientes presentan también artropatía asociada a FQ que se manifiesta con cuadros de dolor e inflamación de las articulaciones.

- Otros síntomas

La infertilidad puede darse en hasta el 98% de los varones con FQ como consecuencia de una azoospermia secundaria a la atresia o ausencia de los conductos deferentes (9). Los pacientes con FQ tienen un mayor riesgo de desarrollar neoplasias en el tracto digestivo a partir de la tercera década de vida.

La enfermedad renal aguda es más frecuente en niños con FQ y puede surgir como consecuencia del uso de aminoglucósidos intravenosos (2).

3. Objetivos

El objetivo de esta revisión bibliográfica es conocer los principales agentes patógenos que se aíslan en muestras de pacientes con fibrosis quística, su prevalencia y variantes fenotípicas encontradas en distintos estudios.

Esta revisión también como objetivo recoger datos sobre la resistencia a antibióticos que presentan los microorganismos mayoritarios en base a las distintas cepas aisladas en pacientes.

4. Material y métodos

Para la obtención de esta información se han consultado numerosos artículos publicados en bases de datos incluidas en internet, principalmente PubMed. También se obtuvieron publicaciones de revistas científicas como Journal of Cystic Fibrosis, Journal of Clinical Microbiology o algunas encontradas a través de la editorial Elsevier. Muchos de estos artículos revisados incluían datos de estudios en los que se había llevado a cabo el aislamiento de microorganismos en muestras de pacientes con fibrosis quística.

Por último, se consultaron fuentes que establecen las pautas para llevar a cabo el procesamiento de este tipo de muestras para el aislamiento de los microorganismos, lo que supone un procedimiento necesario en este tipo de estudios, ya que en el caso de la fibrosis quística las muestras se procesan de manera distinta y hay que hacer algunas consideraciones. Algunas de estas fuentes son la Fundación Americana de Fibrosis Quística (*Cystic Fibrosis Foundation*), la Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica (SEIMC) o la UK Cystic Fibrosis Trust.

A continuación se describe de manera general el proceso que se lleva a cabo en este tipo de estudios según las pautas establecidas.

4.1. Procesamiento de muestras para cultivo cuantitativo

Las muestras respiratorias utilizadas fueron el **esputo**, que es la más utilizada por su facilidad de obtención aunque puede haber contaminación con la microbiota del tracto respiratorio superior, el **lavado broncoalveolar** que evita contaminaciones con la microbiota del TRS y se recomienda en pacientes con escasa expectoración, y **muestras retrofaríngeas o aspirados bronquiales**, utilizadas en casos en los que no se puede obtener muestras de esputo o en niños pequeños. Estas muestras respiratorias deben someterse antes de realizar el cultivo a una homogeneización, para lo cual se emplean mucolíticos como N-acetilcisteína o ditiotreitól (1).

En el caso de fibrosis quística es necesario realizar un cultivo cuantitativo en el que se utilizan cantidad de medios selectivos y diferenciales. Además de la utilización de medios selectivos específicos se recomienda la realización de siembras cuantitativas que permiten conocer la cantidad de microorganismos de las muestras, un seguimiento más preciso de la evolución de la colonización y valorar la eficacia del tratamiento (11).

4.2. Medios de cultivo y condiciones incubación

Para el cultivo de estas muestras se recomienda una incubación prolongada de al menos 48 horas las primeras 24 horas a 35-37°C y después a 30°C para facilitar el crecimiento de posibles bacilos Gram –.

En la Tabla 1 se recogen los principales medios de cultivo empleados y su aplicación.

Medio de cultivo	Tipo de medio	Aplicación
Agar sangre	General	Visualización de morfotipos de <i>P. aeruginosa</i> , SCV de <i>S. aureus</i> y <i>S. pneumoniae</i> .
Agar chocolate		Aislamiento de <i>H. influenzae</i> . Si hay también colonización por <i>P. aeruginosa</i> se recomienda suplementar el medio con bacitracina y colistina que inhiben el crecimiento de este. La incubación en anaerobiosis también facilita el desarrollo de <i>H. influenzae</i>
Agar manitol-sal	Selectivo, diferencial	Selectivo para <i>S. aureus</i> y útil para las SCV
Agar MacConkey	Selectivo, diferencial	Crecimiento de bacilos Gram – incluido <i>P. aeruginosa</i> .
Agar cetrimida	Selectivo diferencial para <i>P. aeruginosa</i>	
BCSA, OFPBL o PC	Selectivo, diferencial	Identificación y aislamiento de <i>B. cepacia</i> . Inhiben el crecimiento de otros patógenos como <i>P. aeruginosa</i>

Tabla 1.

4.3. Estudio de la sensibilidad a antibióticos

Para el estudio en *P. aeruginosa* se consideran como técnicas de referencia la dilución en agar y la microdilución. La difusión con discos y el Etest (Epsilon test) han obtenido también resultados satisfactorios, por lo que también se ha recomendado su empleo, además este último permite determinar la CMI de tobramicina en un amplio rango de concentraciones, y ambos permiten la detección de cepas hipermutadoras mientras que la microdilución no (1).

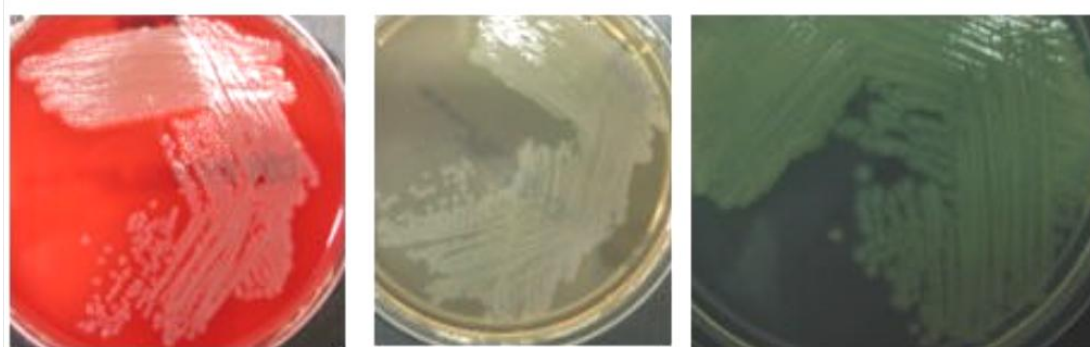
En el caso de *S. aureus* es importante la detección de SARM (*S. aureus* resistente a meticilina), para lo cual se emplean técnicas como el disco de cefoxitina, la siembra en cribado con oxacilina, la aglutinación con látex o la detección por PCR del gen *mecA*.

5. Resultados y discusión

5.1. *Pseudomonas aeruginosa*: prevalencia y estructura poblacional

La colonización por *P. aeruginosa* se inicia de manera intermitente mediante adquisición de distintas cepas o clones de origen medioambiental. Estas cepas iniciales son móviles, de fenotipo no mucoso y con numerosos factores de virulencia. En un momento, algunas de estas cepas sufren un proceso adaptativo y se convierten en bacterias más resistentes, inmóviles y de fenotipo mucoso que se adaptan a las vías respiratorias donde permanecen crónicamente (9).

Este agente patógeno es fácilmente reconocible en el laboratorio en medio MacConkey normalmente, gracias a una pigmentación verdosa y un olor característico.



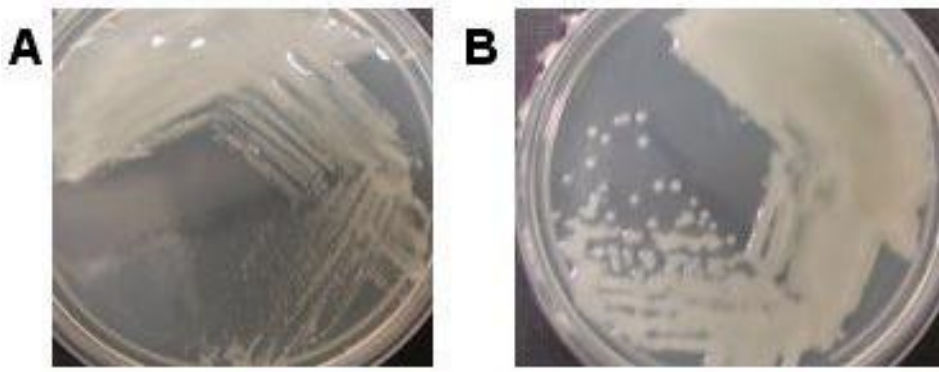
A

B

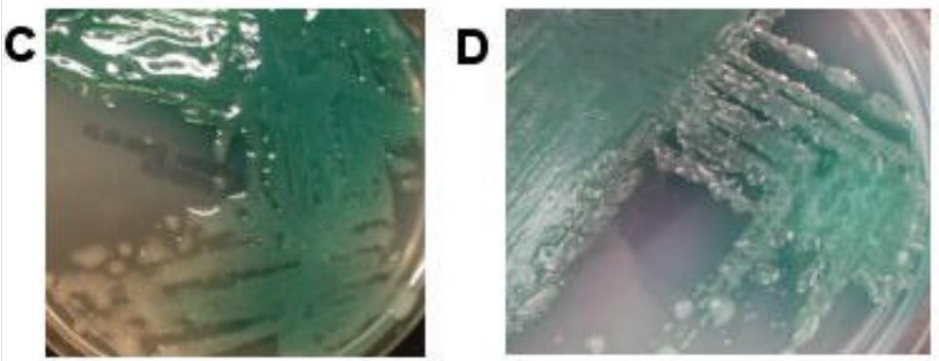
C

Aislamiento de *P. aeruginosa* convencional procedente de un paciente con FQ y colonización incipiente por este microorganismo: 24h de incubación a 37°C en Agar Sangre (**A**), en agar de MacConkey (**B**) y en agar Müller-Hinton (**C**)

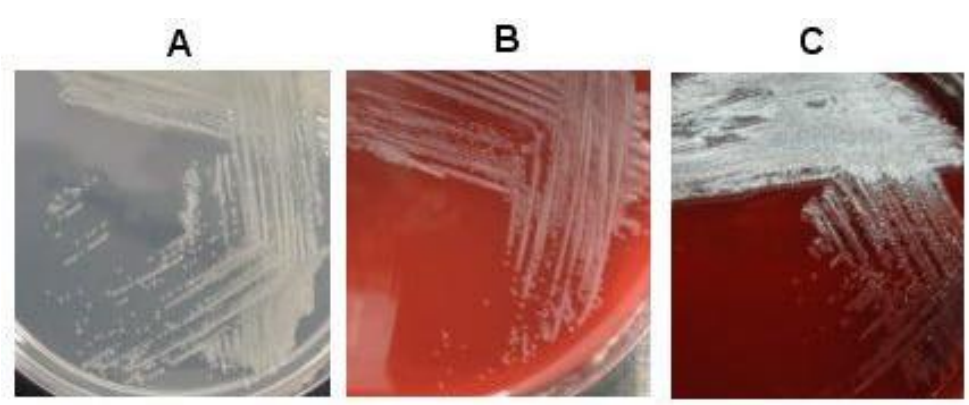
Sin embargo en los casos de FQ con colonización-infección crónica suelen aparecer múltiples morfologías atípicas como las **colonias mucoides**, las **SCV** y los **morfotipos metálicos** o **rugosos** (1). Además a medida que la infección crónica progresa, algunas cepas pierden la habilidad de producir estos pigmentos típicos de *P. aeruginosa* así como otros fenotípicos característicos, lo que dificulta su identificación (10).



Aislamiento de *P. aeruginosa* **mucoide no pigmentado** procedente de un paciente con FQ con colonización crónica: 24h (A) y 48h (B) de incubación en agar Müeller-Hinton a 37°C

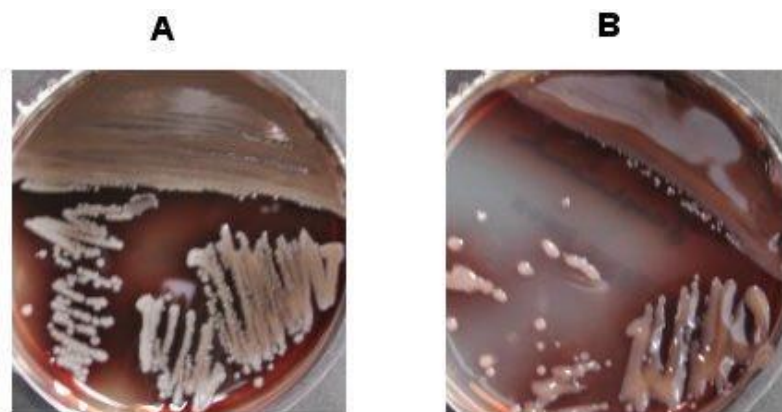


C y D: aislamientos de *P. aeruginosa* **mucoides pigmentados**, incubación en Müeller-Hinton a 37°C durante 48h, en ambos casos se observa la aparición de mutantes con morfología puntiforme (SCV, *small colony variants*)



Aislamiento de *P. aeruginosa* con **morfotipo puntiforme** (SCV, *small colony variant*) procedente de un paciente con FQ con colonización crónica; 48h de incubación a 37°C en agar Müeller-Hinton (A) y agar sangre (B); (C) aislamiento de *P. aeruginosa* con **morfotipo metálico**, 24h de incubación a 37°C en agar sangre

En algunas ocasiones puede presentar otros pigmentos, como en el caso de las cepas de pigmentación marrón, que son hiperproductoras de piomelanina.



Aislamientos de *P. aeruginosa* **hiperproductores de piomelanina no mucoide** (A) y **mucoide** (B) procedentes de pacientes con FQ con colonización crónica, 48h de incubación a 37°C en agar Müeller-Hinton.

A continuación se recogen los resultados de algunos estudios en los que se ha aislado *P. aeruginosa* en pacientes con fibrosis quística y se analiza su prevalencia y estructura poblacional.

Según la Fundación Americana de FQ (*Cystic Fibrosis Foundation*), el **52,5%** de los pacientes incluidos en el Registro de pacientes de 2008 (14), mostraban presencia de *P. aeruginosa* tras el cultivo de esputos. La prevalencia de la infección variaba de forma significativa con la edad: 25 % en niños de 5 años o más, y 80% en adultos de 25 a 34 años. Sin embargo, parece que la prevalencia de la infección por *P. aeruginosa* está disminuyendo. En el Registro de Pacientes del 2016 (16) se recoge que el porcentaje de individuos que presentaban cultivos positivos para *P. aeruginosa* ha continuado disminuyendo con el tiempo, con una mayor disminución observada entre pacientes menores de 18 años: un 49,8% presentaron un cultivo positivo en 1995 mientras que en 2016 solo un 29,1%.

Un estudio sobre la microbiología de la fibrosis quística en EEUU desde 1995 a 2005 (15) recoge que la prevalencia de *P. aeruginosa* disminuyó de un 60,4% en 1995 a un 56,1%.

Por otro lado, otro análisis realizado en el Royal Brompton Hospital de Londres (16) muestra que la prevalencia de *P. aeruginosa* se mantiene más o menos estable de 1985 a 2005.

Estas diferencias pueden deberse a factores como el número de muestras utilizadas, la media de edad de los pacientes registrados o a los criterios utilizados por los estudios para determinar la prevalencia de la infección.

En España se ha realizado un estudio multicéntrico que incluía diferentes hospitales con unidades de fibrosis quística (2). En este estudio se analiza por primera vez en España la estructura poblacional de *P. aeruginosa* en fibrosis quística. De los 341 pacientes incluidos, el 22% presentaron un cultivo positivo para *P. aeruginosa*. En las cepas estudiadas, se observó una elevada diversidad fenotípica encontrándose: morfotipos **mucosos** (22%), **metálicos** (29%), de tipo **enterobacteria** (29%), **SCVs** (20%) y **cepas hipermutadoras** (15%). El porcentaje de estas cepas hipermutadoras fue mucho menor en comparación a otro estudio que se realizó también en España en el que se encontraron un 30% de estas cepas. La frecuencia de estas variantes fenotípicas fue mucho mayor en pacientes adultos que en niños, encontrándose solamente SCVs en pacientes adultos. Este dato está relacionado con la presencia de cepas evolucionadas de *P. aeruginosa* que establecen la colonización persistente y crean un peor pronóstico para la evolución de la enfermedad.

5.2. *Pseudomonas aeruginosa*: resistencia a antibióticos

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 mayor capacidad de adquisición de resistencias a los antibióticos.

Las guías clínicas en España establecen la instauración de un tratamiento erradicador agresivo para retrasar la infección crónica por este microorganismo, para lo que se utiliza antibioterapia inhalada. Para el mantenimiento de la función pulmonar se emplea el tratamiento prolongado con antibióticos inhalados. Los tres antibióticos con formulación inhalada aprobados en España son la colistina, la tobramicina y el aztreonam (18).

En el estudio multicéntrico realizado en España mencionado anteriormente (2) se obtuvieron como resultados que la **colistina** fue el compuesto más activo frente a *P. aeruginosa* y solo el 4% de los aislamientos se clasificaron como resistentes a colistina.

Considerando co-resistencias y excluyendo el aztreonam, el 29% de los aislamientos fueron susceptibles a todos los antibióticos, el 55% se clasificó como multirresistentes (MDR) y el 16% como extremadamente resistentes (XDR).

El **morfotipo SCV** fue el más resistente a los antibióticos, mientras que las cepas **hipermutadoras** presentaron importantes tasas de cepas multirresistentes (MDR) y extremadamente resistentes (XDR). Por el contrario, el morfotipo más sensible fue el **mucoso**, dato que concuerda con otros estudios realizados, como por ejemplo un estudio realizado en Dinamarca que estudiaba la sensibilidad de los fenotipos mucoso/no mucoso en pacientes con FQ (21). Según este estudio, la producción de alginato por parte de las cepas mucosas permite a *P. aeruginosa* la formación de un biofilm, donde otras cepas más resistentes de este y otros microorganismos facilitan la eliminación del antibiótico, posibilitando la supervivencia del morfotipo mucoso (19).

En algunos estudios se ha comparado la sensibilidad a antibióticos por parte de fenotipos mucosos de *P. aeruginosa* que crecen en biofilms con los que crecen de forma sénil. Los aislamientos que crecían como biofilms fueron menos sensibles a los antibióticos al contrario que las formas de crecimiento sénil. Además, las cepas que crecían en biofilms fueron menos susceptibles también a la combinación de 2 o 3 antibióticos (20).

En el Registro de pacientes de 2016 de la Fundación Americana de Fibrosis Quística (CFF), se recogió que el número de cepas MDR de *P. aeruginosa* fue mucho mayor en adultos. Estos resultados se deben probablemente a la exposición a antibióticos acumulada. Entre los individuos con FQ que presentaron colonización por *P. aeruginosa* el 17,7% presentó cepas MDR (17).

5.3. *Staphylococcus aureus*: estructura poblacional y prevalencia

En los aislamientos de *S. aureus* en pacientes con FQ es frecuente la presencia de colonias con morfologías atípicas que son de pequeño tamaño, no hemolíticas, no pigmentadas y de crecimiento lento en medios enriquecidos de los mutantes SCV autotróficos para timidina que pueden dificultar su reconocimiento en los medios de cultivo (1, 12). La estructura poblacional de *S. aureus*, a diferencia de la *P. aeruginosa*, se caracteriza por la presencia de complejos clones predominantes, sobre todo para los aislados con resistencia a la meticilina (SARM) (2).

En el Registro de la CFF de 2008, el 50,9% de los pacientes presentó un cultivo positivo para *S. aureus*. La prevalencia fue mayor, superior al 60%, ente niños de 6 a 10 años y adolescentes de 11 a 17 años (14). Los análisis del Registro de Pacientes de CFF indicaron que la prevalencia de *S. aureus* en pacientes de FQ en EEUU ha aumentado durante los últimos 14 años. En 1995, *S. aureus* fue aislado en el 37% de los pacientes. Entre 1995 y 2005 tanto la incidencia (21,7% en 1995 y 33,2% en 2005) como la prevalencia (37% en 1995 y 52,4% en 2005) de *S. aureus* sensible a meticilina aumentó notablemente, siendo la prevalencia mayor en pacientes entre 6 y 17 años.

5.4. *Staphylococcus aureus*: resistencia a antibióticos

Dentro de las infecciones por *S. aureus* se ha demostrado que las cepas **resistentes a meticilina (SARM)** son patógenos relevantes en el contexto de FQ, provocan una función pulmonar más baja y un mayor riesgo de mortalidad.

La presencia de SARM también ha ido aumentando en la población con FQ a lo largo de los años. Según los datos de la CFF, el 2001 el 7,3% de los pacientes presentaron infección por MRSA, y en 2008 la prevalencia fue del 22,6% (14). El aumento de la incidencia y prevalencia fue significativo a todas las edades pero fue mucho mayor en adolescentes de entre 11 y 17 años (15).

En el Registro de 2016 de CFF (17) se recoge que más de la mitad de los pacientes presentaba al menos un cultivo positivo para *S. aureus* sensible a meticilina (SASM) y que la prevalencia de SARM fue mayor en pacientes de entre 10 y 30 años de edad, mientras que el pico de SASM se encuentra en pacientes menores de 10 años.

En EEUU las cepas de SARM más comúnmente aisladas son de adquisición hospitalaria, mientras que las de adquisición comunitaria son menos frecuentes aunque se han asociado a una peor evolución de la enfermedad (2).

En el estudio multicéntrico realizado en España se obtuvieron un 60% de las muestras positivas para *S. aureus*, y un 11% estaban colonizados por SARM. Los pacientes con cultivo positivo para SARM presentaban una función pulmonar más baja y una tendencia a un mayor número de exacerbaciones.

Se observó que de manera general las cepas de SARM fueron más resistentes a los antimicrobianos que las cepas de SASM, sobre todo en el caso de la tobramicina y amikacina (aminoglucósidos) y de las quinolonas. Se encontró una mayor resistencia a tobramicina y a quinolonas en las cepas de SARM-AH, mientras que en las cepas de

SARM-AC predominó la resistencia a macrólidos y clindamicina. Además se encontró por primera vez la presencia de SERM-AH resistente al linezolid.

Al contrario que para *P. aeruginosa*, no existen recomendaciones consensuadas para el tratamiento de pacientes colonizados por *S. aureus*. En los 46 pacientes en los que se detectaron al menos un aislamiento de SARM los antibióticos más utilizados para el tratamiento de las exacerbaciones fueron el cotrimoxazol y el linezolid. El linezolid se ha identificado en EE.UU como el tratamiento más habitual en las exacerbaciones por SARM (2).

6. Conclusiones

1. La fibrosis quística es una enfermedad de origen genético pero que tiene un componente microbiológico importante que determina la evolución y el pronóstico de la enfermedad. Los agentes patógenos mayoritarios causantes de estas infecciones son *Pseudomonas aeruginosa* y *Staphilococcus aureus*.
2. Según los estudios revisados *P. aeruginosa* tiene una elevada prevalencia en adultos, aunque esta parece estar disminuyendo con los años según revelan algunos registros de pacientes que obtuvieron un 60,4% de pacientes positivos en 1995 y un 50,6% en 1995. Este microorganismo presenta una elevada variedad fenotípica, en sus aislamientos se observan diferentes morfotipos que presentan distintas resistencias a antibióticos. De entre ellos los morfotipos más resistentes son SCV y las cepas hipermutadoras, mientras que el morfotipo mucoso es el más sensible.
3. En cuanto a *S. aureus*, es el microorganismo predominante en niños y adolescentes, obteniéndose prevalencias superiores al 60% en algunos registros que parecen estar aumentando con los años. Destaca la presencia de *S. aureus* resistente a meticilina (SARM) que predomina también en niños y que se asocia con un peor pronóstico de la enfermedad. Además estas cepas presentan resistencia a numerosos antibióticos. En el caso de *S. aureus* no se establecen recomendaciones para su tratamiento pero uno de los más utilizados es el linezolid.

7. Bibliografía

1. **Alarcón T, Caballero T, Cantón R, Oliver A.** 2007. Diagnóstico de la colonización-infección broncopulmonar en el paciente con fibrosis quística. En Cercenado E, Cantón R. (ed), Procedimientos en microbiología clínica, cap. 28. Disponible en Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica (SEIMC):
<https://www.seimc.org/contenidos/documentoscientificos/procedimientosmicrobiologia/seimc-procedimientomicrobiologia28.pdf>
2. **Caballero JD.** 2018. Aspectos microbiológicos del microbioma broncopulmonar y descripción clínica y demográfica de los pacientes con fibrosis quística: Estudio multicéntrico en España. Tesis doctoral. Universidad Complutense de Madrid, España.
3. **Tarran R, Button B, Picher M, Paradiso AM, Ribeiro Cm, Lazarowski ER, Zhang L, Collins PL, Pickles RJ, Fredberg JJ, Roucher RC.** 2005. Normal and cystic fibrosis airway surface homeostasis. The effects of phasic shear stress and viral infections. *J Biol Chem* 280:35751:35759.
4. **Choi JY, Muallem D, Kiselyov K, Lee MG, Thomas PJ, Muallem S.** 2001. Aberrant CFTR-dependent HCO₃⁻ transport in mutations associated with cystic fibrosis. *Nature* 410:94-97.
5. **Quinton PM.** 2008. Cystic fibrosis: impaired bicarbonate secretion and mucoviscidosis. *Lancet* 372:415-417.
6. **Stolz DA, Meyerholz DK, Welsh MJ.** 2015. Origins of Cystic Fibrosis Lung Disease. *N Engl J Med* 372:351-362.
7. **Gilligan PH.** 2014. Infections in patients with cystic fibrosis: Diagnostic microbiology update. *Clin Lab Med* 34:197-217.
8. **Dickson RP, Erb-Downward JR, Huffnagle GB.** 2013. The role of the bacterial microbiome in lung disease. *Expert Rev Respir Med* 7:245-257.
9. **Melo J, Fernández P.** 2015. Fibrosis quística en el adulto. *Rev Med Clin Las Condes.* 26:276-284.
10. **Lipuma JJ.** 2010. The changing microbial epidemiology in cystic fibrosis. *Clin Microbiol Rev* 23:299-323.

11. **Miller MB, Gilligan PH, Hill C.** 2003. MINIREVIEW Laboratory Aspects of Management of Chronic Pulmonary Infections in Patients with Cystic Fibrosis. *Society* 41:4009-4015
12. **Cacho JB, Meseguer MA, Oliver A, Puig J.** 2007. Diagnóstico microbiológico de las infecciones bacterianas del tracto respiratorio inferior. En Cercenado E, Cantón R. (ed), *Procedimientos en microbiología clínica*, cap. 25. Disponible en Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica (SEIMC): <http://www.seimc.org/contenidos/documentoscientificos/procedimientosmicrobiologia/seimc-procedimientomicrobiologia25.pdf>
13. **Denton M, UK CF Trust Microbiology Laboratory Standards Working Group.** 2010. Laboratory standards for processing microbiological samples from people with cystic fibrosis. Disponible en: <https://www.cysticfibrosis.org.uk/the-work-we-do/clinical-care/consensus-documents>
14. **Cystic Fibrosis Foundation.** 2008. Patient registry 2008. Annual data report to the center directors. Cystic Fibrosis Foundation, Bethesda, MD.
15. **Razvi, S., L. Quittell, A. Sewall, H. Quinton, B. Marshall, and L. Saiman.** 2009. Respiratory microbiology of patients with cystic fibrosis in the United States, 1995-2005. *Chest* 136:1554-1560
16. **Millar, F. A., N. J. Simmonds, and M. E. Hodson.** 2009. Trends in pathogens colonising the respiratory tract of adult patients with cystic fibrosis, 1985-2005, *J. Cyst. Fibros.* 8:386-391
17. **Cystic Fibrosis Foundation.** CFF patient registry 2016 annual report. 2016. Disponible en: <https://www.cff.org/Research/Researcher-Resources/Patient-Registry/2016-Patient-Registry-Annual-Data-Report.pdf>
18. **Cantón R, Maíz L, Escribano A, Oliveira C, Oliver A, Asensio O, Gartner S, Roma E, Quintana-Gallego E, Salcedo A, Girón R, Barrio MI, Pastor MD, Prados C, Martínez-Martínez MT, Barberán J, Castón JJ, Martínez-Martínez L, Poveda JL, Vázquez C, de Gracia J, Solé A.** 2015. Spanish consensus on the prevention and treatment of *Pseudomonas aeruginosa* bronchial infections in cystic fibrosis patients. *Arch Bronconeumol* 51:140-150.
19. **Ciofu O, Fussing V, Bagge N, Koch C, Hoiby N.** 2001. Characterization of paired mucoid/non-mucoid *Pseudomonas aeruginosa* isolates from Danish cystic fibrosis patients: antibiotic resistance, beta-lactamase activity and RiboPrinting. *J Antimicrob Chemother.* 48:391-6.

20. **Aaron, S. D., W. Ferris, K. Ramotar, K. Vandemheen, F. Chan, and R. Saginur.** 2002. Single and combination antibiotic susceptibilities of planktonic, adherent, and biofilm-grown *Pseudomonas aeruginosa* isolates cultured from sputa of adults with cystic fibrosis. *J. Clin. Microbiol.* **40**:4172-4179.