

Aislamientos bacterianos de muestras de pacientes pediátricos con Fibrosis Quística durante los años 2010-2014.

Roffé G¹; Kuzawka M¹; Regueiro F²; Giorgetti M²; Pereda R¹

Resumen

La fibrosis quística (FQ) se caracteriza por la disfunción en las glándulas de secreción exocrina del organismo. Las primeras manifestaciones clínicas suelen observarse en el sistema respiratorio, constituyendo una de las principales causas de morbi-mortalidad en los pacientes afectados. En este trabajo se investigaron los microorganismos aislados de muestras respiratorias de pacientes pediátricos con FQ. Se analizó además la distribución por grupo etario y se examinó la resistencia a antimicrobianos de los principales microorganismos aislados. Se aisló *Staphylococcus aureus* en el 30% de las muestras, seguido de *Haemophilus influenzae* (27%) y *Pseudomonas aeruginosa* (17%). *S. aureus* fue el microorganismo más frecuentemente aislado en todos los grupos etarios. El 21% de *S. aureus* fue meticilino-resistente, mientras que un 53% presentó resistencia a clindamicina por un mecanismo inducible. El 16% de los *H. influenzae* fue resistente a la ampicilina por producción de β -lactamasa.

Palabras clave: Fibrosis Quística, patógenos respiratorios, aislamientos bacterianos pediatría

Summary

Cystic Fibrosis (CF) is characterized by dysfunction of exocrine secretion glands of the organism. First clinical manifestations are frequently observed in the respiratory system, constituting one of the main causes of morbimortality in affected patients. In this study, microorganisms isolated from respiratory samples of CF pediatric patients have been investigated. In addition, age distribution as well as antimicrobial resistance of the main isolated microorganisms have been analyzed. S. aureus was isolated from 30% of samples, followed by H. influenzae (27%) and P. aeruginosa (17%). S. aureus was the most frequently isolated microorganism in all age groups. 21% of S. aureus was methicillin-resistant while 53% presented clindamycin resistance by an inducible mechanism. 16% of H. influenzae was ampicillin-resistant due to β -lactamase production.

¹Laboratorio Microbiología, Hospital General de Niños "Dr. Pedro de Elizalde"

²Servicio de Neumotisiología, Hospital de Niños "Dr. Pedro de Elizalde"

Dirección Postal. Georgina Roffe. Laboratorio Microbiología, Hospital General de Niños "Dr. Pedro de Elizalde" Montes de oca 40 (1270) CABA E-mail: georro87@gmail.com

Introducción

La Fibrosis Quística (FQ) es la enfermedad hereditaria autosómica recesiva más frecuente de la población caucásica^{1,2,3} con una frecuencia estimada en nuestro país de 1/7213 recién nacidos vivos⁴; y es la primer causa de patología pulmonar crónica en la infancia. Se debe a un defecto en un gen que mapea en el brazo largo del cromosoma 7; que codifica para el Regulador de la Conductancia Transmembrana de la FQ (CFTR). Este regulador, que se encuentra en todas las glándulas de secreción exócrina, interviene en el balance de fluidos a través de las células epiteliales: actúa como un canal para el pase del cloro e inhibe la absorción de sodio.¹ El defecto en este regulador genera un aumento de la reabsorción de cloro y sodio, lo que provoca que estos pacientes tengan un sudor característicamente salado y conduce a una deshidratación de las secreciones del tracto respiratorio, pancreáticas, hepáticas, intestinales y genitourinarias, aumentando su viscosidad^{2,4}.

Las manifestaciones clínicas se producen tanto a nivel gastrointestinal como genitourinario; pero la principal causa de morbi-mortalidad se debe a la infección pulmonar⁴. La enfermedad broncopulmonar es la causa de muerte en el 95% de los pacientes con FQ¹. La alteración a este nivel genera secreciones muy espesas que dificultan el correcto accionar de las cilias y el desplazamiento de las mismas. Este "estancamiento del moco" y la incapacidad de las células secretoras de responder a los estímulos producidos por los agentes extraños generan un ambiente propicio para la colonización e infección por múltiples microorganismos, en especial bacterias. Además, la respuesta inflamatoria exagerada, genera un infiltrado importante de neutrófilos, los cuales mediante la secreción de proteasas dañan aún más el tejido bronquial², adicionando un factor de riesgo a la mortalidad por daño pulmonar. Estas situaciones en conjunto dan lugar a la triada característica de inflamación, infección y obstrucción⁵.

Los pacientes sufren infecciones o colonizaciones pulmonares siguiendo una secuencia más o menos establecida dependiente de la edad. En los estadios iniciales los patógenos son diferentes a los que se aíslan en los periodos finales². Los patógenos más frecuentemente aislados son *S. aureus* (Sau) y *P. aeruginosa* (Pae). El primero de ellos se aísla con mayor incidencia en los pacientes de

menor edad mientras que el segundo, principalmente en su fenotipo mucoso, en adolescentes y adultos, y se asocia con una colonización-infección crónica². Estas infecciones no suelen ser monomicrobianas, y en el 70% de los pacientes pueden coexistir diferentes patógenos². Esto impacta no solo en el tratamiento a instaurar sino también en la sobrevida del paciente.

El aislamiento de *Burkholderia cepacia* no es habitual, sin embargo, la infección por este microorganismo determina un aumento de la morbi-mortalidad debido a su multirresistencia a antimicrobianos, y por asociarse a un deterioro rápido de la función pulmonar, con mal pronóstico evolutivo⁵.

Los micoplasmas, clamidias y virus se han asociado con las exacerbaciones que sufren los pacientes o en los periodos iniciales de la enfermedad, pero no en la colonización crónica de la vía aérea². En los últimos años se ha observado a nivel mundial, un importante aumento en la edad media de sobrevida, como resultado del diagnóstico precoz, el conocimiento de los mecanismos de la enfermedad, el tratamiento adecuado basado en la fisiopatología, la formación de equipos interdisciplinarios, los cuidados en centros de FQ, y las medidas de control de infección⁴.

El propósito de este trabajo fue determinar la prevalencia de los microorganismos patógenos más frecuentemente aislados en muestras respiratorias de niños con FQ que concurren al Hospital General de Niños "Dr. Pedro de Elizalde" (HGNPE), estudiar su distribución por edades y la sensibilidad de los mismos frente a diferentes agentes antimicrobianos.

Materiales y Métodos

Se realizó un trabajo retrospectivo, descriptivo. Se analizaron los aislamientos bacterianos hallados en muestras de esputo de pacientes fibroquísticos

que concurren al HGNPE en el periodo comprendido entre los años 2010-2014. Las muestras fueron sembradas en distintos medios de cultivo: Agar Chocolate (Ach), Agar Sangre (AS), Agar Levine (Lev), Agar manitol y medio selectivo para *Burkholderia cepacia* (BCSA). Las placas fueron incubadas a 37°C en aerobiosis (Lev, Manitol, BCSA), y en estufa con CO₂ al 5% (Ach y AS), durante 2 a 5 días. La identificación y el perfil de sensibilidad antibiótica de los diferentes microorganismos se realizó mediante pruebas fenotípicas convencionales y de difusión, y también utilizando métodos automatizados (Vitek 2C); en algunos casos se usó una combinación de técnicas. Aquellas muestras consideradas no representativas (menos de 25 leucocitos/campo y más de 10 células epiteliales/campo en observación directa) y con recuentos no significativos, no fueron consideradas. Las muestras en las cuales se aisló el complejo *Burkholderia cepacia* (BC) fueron derivadas al Servicio de Bacteriología especial del INEI-ANLIS "Dr. Carlos G. Malbrán" para su genotipificación, la cual se realizó mediante técnicas de secuenciación y/o Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization-Time-Of-Flight (MALDI-TOF).

Sobre el total de los aislamientos encontrados se calculó la frecuencia de los diferentes microorganismos. También se analizó la distribución de los agentes más frecuentes por rango etario.

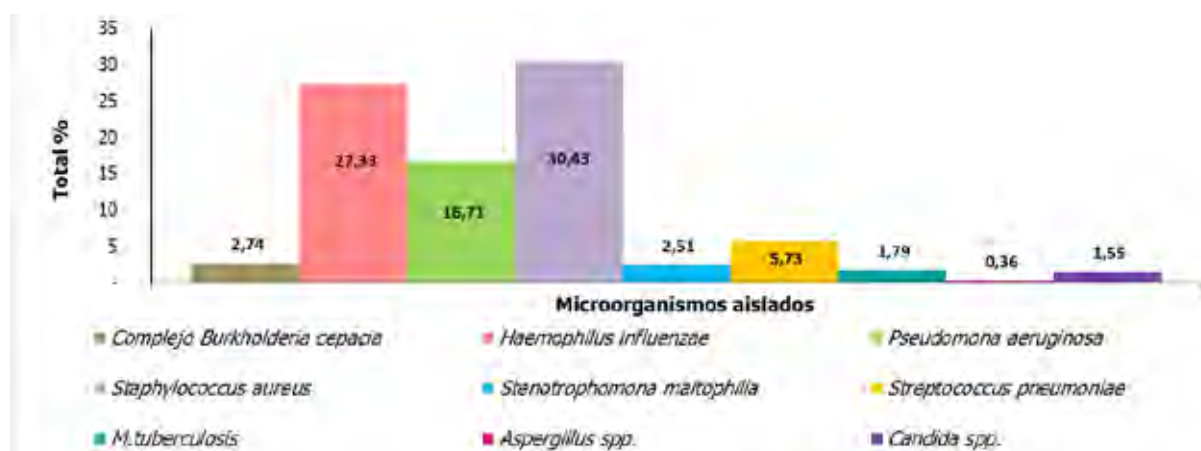
Por último se analizó el perfil de resistencia antibiótica de *Sau*, *Pae* y *Haemophilus influenzae* (Hae).

Resultados

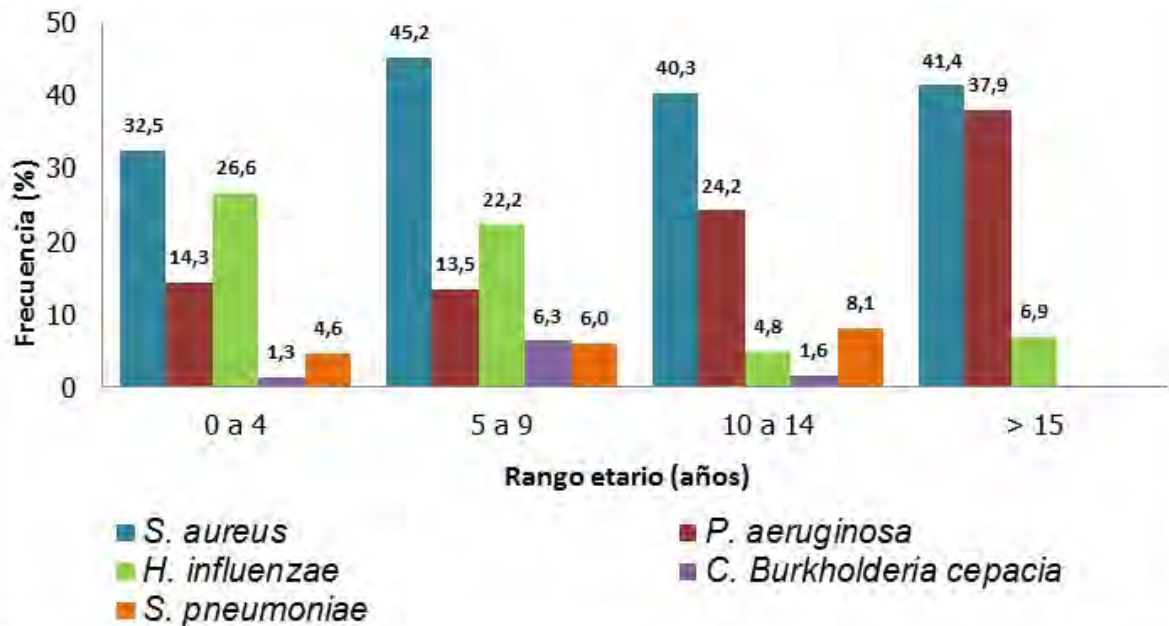
En el periodo analizado se obtuvieron un total de 838 aislamientos. El microorganismo más frecuentemente aislado fue *Sau* (30,43%), seguido de *Hae* (27,33%) y *Pae* (16,71%) (Gráfico 1).

Sau ocupó el primer lugar en frecuencia como causa de colonización/infección crónica en todos los

GRÁFICO N°1 Frecuencia de los diferentes microorganismos aislados (n: 838)



Prevalencia puntual de los principales agentes de colonización/infección bacteriana (no siempre monomicrobiana) en los diferentes grupos etarios evaluados (0-4, 5-9, 10-14 y mayor a 15 años).



grupos etarios analizados. La prevalencia de Hae fue mayor en los niños de menor edad (0-9 años), siguiéndole en frecuencia a Sau. Cabe destacar que la prevalencia de aislamientos de Pae aumentó con la edad y superó a Hae a partir del rango etario de 10-14 años, convirtiéndose en el segundo microorganismo de mayor prevalencia, tal como está reportado en la bibliografía¹ (Gráfico 2).

Con respecto al perfil de resistencia de Sau, un 21% presentó metililino resistencia (SAMR) y un 52,8% resistencia a clindamicina por un mecanismo inducible por macrólidos (MLSBI+). El perfil de resistencia a antimicrobianos mostró variaciones a lo largo del período estudiado, evidenciando en el último año un aumento de la resistencia a oxacilina y ciprofloxacina, y disminución frente a eritromicina, gentamicina y clindamicina (Gráfico 3).

Con respecto a Pae, un 54,3% correspondió al fenotipo mucoso, no encontrándose diferencia en su prevalencia según el grupo etario. El perfil de sensibilidad antibiótica muestra en el último año una disminución de la resistencia frente a imipenem, meropenem y ciprofloxacina (Gráfico 4).

En la Tabla 1 se muestran los porcentajes de resistencia globales de Sau y Pae frente a los diferentes agentes antimicrobianos ensayados en todo el período analizado.

Con respecto a *Haemophilus influenzae* no se encontraron resistencias antibióticas para destacar,

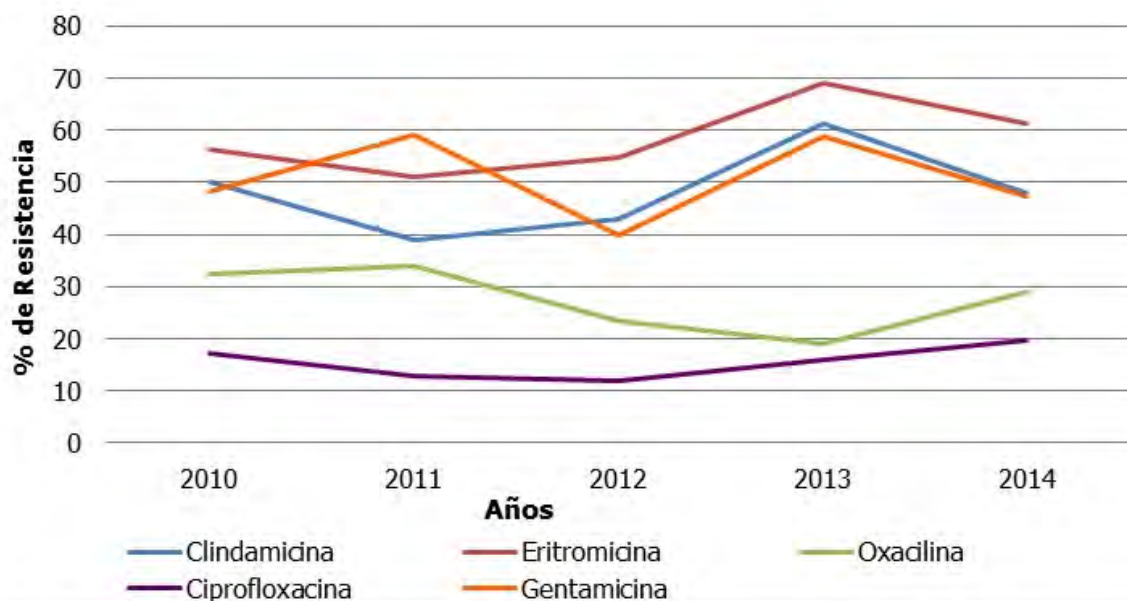
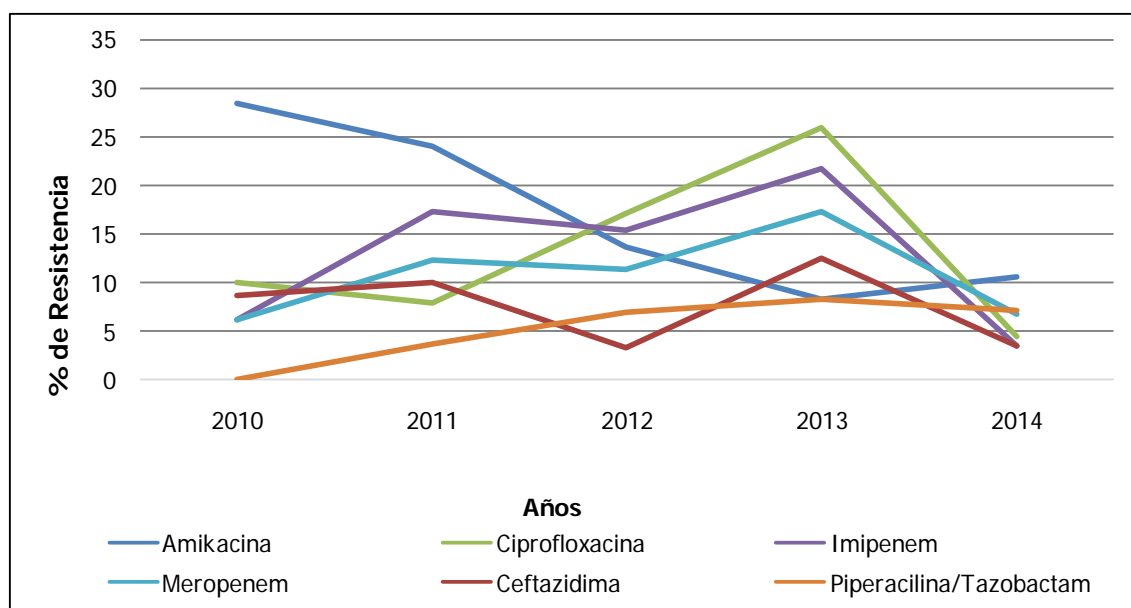
y solo en un 16,3% pudo constatar la presencia de β -lactamasa.

Del total de las 23 BC aisladas, 18 fueron derivadas para su genotipificación. 5 de ellas resultaron ser *Burkholderia cenocepacia*, las 13 restantes fueron *Burkholderia contaminans*.

Discusión

La colonización e infección del tracto respiratorio en los pacientes con FQ ocurre a edades muy tempranas y representa un importante problema de salud, ya que es considerada una de las principales causas de morbilidad y mortalidad. En este trabajo se analizó la frecuencia de los diferentes aislamientos bacterianos obtenidos en muestras de pacientes pediátricos con FQ, y su distribución etaria.

Sau fue el microorganismo más frecuentemente aislado en todos los grupos etarios, tal como está reportado en la literatura^{1, 3}. Este hallazgo también se vio en otros trabajos realizados en nuestro país, pero la frecuencia encontrada fue menor que la reportada (30,43% vs 72%¹). Esta diferencia podría deberse a múltiples causas, entre ellas a los tratamientos antibióticos profilácticos utilizados, lo que disminuiría la colonización o la recuperación in vitro de este microorganismo. Con respecto al perfil de resistencia, alrededor de la mitad de los aislamientos de Sau presentó como mecanismo de resistencia más frecuente la presencia de MLBSi. Un 21%

GRÁFICO N°3 Perfil de resistencia antimicrobiana de los aislamientos de Sau en el periodo analizado.**GRÁFICO N°3** Perfil de resistencia antimicrobiana de los aislamientos de Sau en el periodo analizado.

de los aislamientos presentó meticilino resistencia, lo cual concuerda con lo reportado¹. La presencia de SAMR se asocia con una disminución más rápida de la función pulmonar y una mayor mortalidad, por lo que es importante su detección e informe para poder comenzar con la terapia antibiótica lo más rápido posible.

El aislamiento de Hae fue el segundo en frecuen-

cia, y fue más prevalente en pacientes de menor edad (menores a 9 años). Esto difiere de lo reportado en un trabajo realizado en nuestro país¹ donde el segundo microorganismo en frecuencia aislado fue Pae, sin importar el grupo etario. Esto indicaría un mejor pronóstico para los pacientes estudiados, ya que la colonización-infección por Hae no se asocia con deterioro de la función pulmonar, y además

TABLA N°1

Perfil de resistencia global de los aislamientos de Sau (n: 255) y Pae (n:140) frente a los principales agentes antimicrobianos ensayados, en el período estudiado.

Antimicrobianos	Resistencia (%)	
	S. aureus	P. aeruginosa
Amikacina	NE	17,1
Ceftazidima	NE	7,58
Ciprofloxacina	17,1	13,16
Clindamicina	10,84	NE
Eritromicina	7,58	NE
Gentamicina	12,88	19,3
Imipenem	NE	12,88
Meropenem	NE	10,92
Oxacilina	21	NE
Piperacilina/Tazobactam	NE	5,2

NE: no ensayado

el porcentaje de resistencia a β -lactámicos fue también menor a la reportada¹. De todas formas es importante su erradicación ya que varios autores han alertado de la posibilidad de la aceleración de la colonización por Pae en pacientes que presentan aislamientos repetidos de Hae debido al daño epitelial local que podrían generar².

Según la literatura, aproximadamente el 30% de los niños con FQ tienen colonización-infección con Pae antes de los dos años¹. Los datos de este trabajo revelan un menor porcentaje (14%) lo cual nos permite inferir un mejor pronóstico para los pacientes de esta edad, ya que la colonización por Pae en este rango etario aumenta hasta 2,6 veces el riesgo de mortalidad². Sin embargo más de la mitad de estos aislamientos presentaron un fenotipo mucoso. Este porcentaje es mayor que el reportado^{1,5} lo que indicaría un peor pronóstico para los pacientes colonizados, con un rápido deterioro de la función pulmonar. El perfil de sensibilidad de Pae muestra una disminución en el último año de la resistencia frente a imipenem, meropenem, ciprofloxacina y ceftazidima. Esto podría deberse a un cambio en el uso de estos agentes en el tratamiento de la infección por Pae. El correcto estudio microbiológico de las secreciones respiratorias se debe realizar en forma pe-

riódica en todos los niños con diagnóstico de FQ, aun cuando no existan manifestaciones clínicas, ya que resulta imprescindible evitar la colonización con microorganismos patógenos que alteren la estructura y funcionalidad pulmonar. Esto permite un tratamiento adecuado y temprano, y una mejora en la calidad de vida del paciente.

Este trabajo permite conocer los diferentes agentes microbianos que colonizan las vías respiratorias de los pacientes con FQ de nuestro hospital y sus respectivas sensibilidades a fin de brindar herramientas para la optimización de la terapia antibiótica, y mejorar la calidad de vida de los pacientes.

Conclusiones

Se pudieron analizar los distintos aislamientos de muestras respiratorias de pacientes con FQ, determinándose la prevalencia de los diferentes microorganismos que colonizan y/o infectan las vías respiratorias de estos pacientes. Además se pudo describir estas prevalencias en los diferentes grupos etarios, y la susceptibilidad antimicrobiana de los diferentes agentes aislados. Los resultados obtenidos concuerdan con lo reportado por otros autores, tanto dentro como fuera de nuestro país.

Bibliografía

1. Busquets N, Baroni MR, Ochoteco MC, Zurbriggen ML, Virgolini S, Meneghetti F. Aislamientos bacterianos de muestras respiratorias de pacientes pediátricos con fibrosis quística y su distribución por edades. *Revista Argentina de Microbiología* (2013) 45: 44-49
2. Alarcón T, Caballero E, Cantón R, Oliver A. Diagnóstico microbiológico de la colonización-infección broncopulmonar en el paciente con fibrosis quística. *Procedimientos en Microbiología Clínica*. SEIMC 2007.
3. Campos M, Navarro R, Amuy E, Vargas A, Herrera ML. Aislamientos bacterianos del tracto respiratorio de niños con fibrosis quística del páncreas. *Rev. méd. Hosp. Nac. Niños (Costa Rica)* vol.35 no.1-2 San José ene. 2000.
4. Guía de diagnóstico y tratamiento de pacientes con fibrosis quística. Actualización. Comités Nacionales de Neumonología, Nutrición, Gastroenterología y Grupo de Trabajo de Kinesiología. Año 2014.
5. Anzaudo M.M, Busquets N.P, Ronchi S., Mayoral C. Microorganismos patógenos aislados en muestras respiratorias de niños con fibrosis quística. *Revista Argentina de Microbiología* (2005) 37: 129-134
6. Valenza G, Tappe D, Turnwald D, Frosch M, König C, Hebestreit H, Abele-Horn M. Prevalence and antimicrobial susceptibility of microorganisms isolated from sputa of patients with cystic fibrosis. *J Cyst Fibros.* 2008 Mar;7 (2):123-7. Epub 2007 Aug 13.
7. Paixão VA, Barros TF, Mota CM, Moreira TF, Santana MA, Reis JN. Prevalence and antimicrobial susceptibility of respiratory pathogens in patients with cystic fibrosis. *Braz J Infect Dis.* 2010 Jul-Aug;14 (4):406-9