

Fibrosis quística: estudio microbiológico durante un período de 8 años

A. Ferrer Marcelles, P. Bellver Moreira, N. Cobos Barroso*, S. Liñán Cortés*, G. Codina Grau y F. Fernández Pérez

Servicio de Microbiología y Parasitología. *Sección de Neumología Pediátrica. Unidad de Fibrosis Quística. Ciudad Sanitaria de la Vall d'Hebron. Universidad Autónoma de Barcelona.

Objetivo: Estudiar la microbiología de la fibrosis quística en nuestro hospital durante los años 1985 a 1992.

Material y métodos: Se procesaron un total de 1.034 muestras, predominando esputos y aspirados nasofaríngeos, que correspondían a 113 pacientes, 64 varones y 49 mujeres, con una media de edad de 10 años (límites: 15 días-33 años).

Resultados y discusión: Solamente un 1,7% de las muestras fueron negativas y en un 10,8% creció flora normal, siendo el 87,4% restante positivas a uno o más microorganismos potencialmente patógenos. En el 77,8% de los cultivos cuantitativos el número de colonias fue superior a 10^6 UFC/ml. Globalmente los microorganismos aislados con más frecuencia fueron *P. aeruginosa* (53,9%), *S. aureus* (30,3%) y *H. influenzae* (22,0%), aunque en los pacientes menores de un año fueron significativamente superiores los aislamientos de *S. pneumoniae* y *B. catarrhalis* y en los pacientes mayores de 16 años de los hongos filamentosos, fundamentalmente *Aspergillus* spp. No se halló ninguna cepa de *Legionella* spp. y *P. cepacia* se aisló sólo en 3 pacientes, cuyo curso clínico fue favorable. En pacientes mayores de 11 años, junto a los tres patógenos clásicos, obtuvimos varios aislamientos consecutivos de *Proteus mirabilis*, *Xanthomonas maltophilia* y *Serratia marcescens*, lo que podría suponer en los próximos años, y debido al aumento de supervivencia de estos pacientes y a la presión antibiótica a que están sometidos, ligeros cambios en la ecología bacteriana típica de esta enfermedad.

Ninguna cepa de *S. aureus* resultó resistente a la meticilina y *P. aeruginosa* mostró una gran resistencia a la gentamicina (58,2%) entre los aminoglucósidos y a algunos betalactámicos considerados como tratamiento eficaz de este microorganismo: 25,2% a piperacilina, 22,6% a ceftazidima e incluso 19,8% al aztreonam, mostrando baja resistencia a la ciprofloxacina (6,3%).

Palabras clave: Fibrosis quística. Microbiología. Colonización.

Arch Bronconeumol 1995; 31: 494-500

Correspondencia: Dra. A. Ferrer Marcelles.
Servicio de Microbiología y Parasitología. Ciudad Sanitaria Vall d'Hebron.
Passeig Vall d'Hebron. 119-129. 08035 Barcelona.

Recibido: 27-1-95; aceptado para su publicación: 6-6-95.

Cystic fibrosis: microbiological analysis over 8 years

Objective: To study the microbiology of cystic fibrosis in our hospital for the period from 1985 to 1992.

Material and methods: The number of samples analyzed totalled 1,034, most of which were sputum and nasopharyngeal aspirates belonging to 113 patients (49 women and 64 men). The average age was 10 years (range: 15 days-33 years).

Results and discussion: Only 1.7% of the samples were negative. Normal flora were found in 10.8% and one or more potentially pathogenic microorganisms were found in the remaining 87.4%. Colonies were over 10^6 UFC/ml in size in 77.8% of the quantified cultures. The most frequently identified microorganisms in the population overall were *P. aeruginosa* (53.9%), *S. aureus* (30.3%) and *H. influenzae* (22.0%). In patients less than 12 months old, however, the most common isolations were of *S. pneumoniae* and *B. catarrhalis*; cultures from patients older than 16 years old most often yielded filiform fungi, mainly *Aspergillus* spp. We found no strains of *Legionella* spp. and *P. cepacia* was found in only 3 cases, in which the clinical outcome was good. In addition to the 3 most common organisms, we recorded several consecutive isolations of *Proteus mirabilis*, *Xanthomonas maltophilia* and *Serratia marcescens* in patients older than 11 years old; this finding suggests that given the improved survival of cystic fibrosis patients over the coming years and the antibiotic pressure placed on them, there may be slight changes in the bacterial ecology typical of this disease.

No strain of *S. aureus* proved resistant to methicillin, but *P. aeruginosa* was shown to be resistant to gentamycin (58.2%) among the aminoglycosides and also to some of the β -lactams considered to be effective, as follows: 25.2% to piperacillin, 22.6% to ceftazidime and even 19.8% to aztreonam. There was slight resistance to ciprofloxacin (6.3%).

Key words: Cystic fibrosis. Microbiology. Colonization.

Introducción

La mucoviscidosis o fibrosis quística (FQ) es una enfermedad genética monogénica de herencia autosó-

mica recesiva. Las mutaciones afectan al gen que codifica el regulador de conductancia transmembrana. Se conocen hasta el momento al menos 200 alelos de este gen, que dan lugar a distinto grado de severidad de la enfermedad¹.

La incidencia de la FQ en España es de 1/3.000 a 1/5.500 recién nacidos vivos, según distintos autores^{2,3}. El aumento de la supervivencia en estos pacientes y la frecuencia con que necesitan atención médica especializada llevaron a la creación de la Unidad de Fibrosis Quística en nuestro hospital en marzo de 1991.

Las principales características de la FQ son la insuficiencia pancreática exocrina y la infección pulmonar. Esta última es la primera causa de mortalidad entre estos enfermos²⁻⁶. Los gérmenes aislados con mayor frecuencia en la FQ son: *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* y *Haemophilus influenzae*^{4,6,7-12}. La incidencia de *P. aeruginosa* va aumentando con la edad, mientras que la de los otros dos microorganismos es superior en niños de corta edad^{3,4,6,13}.

El fin de este estudio es analizar la microbiología de la mucoviscidosis durante un período de 8 años (1985 a 1992) en nuestro hospital.

Material y método

Se han revisado retrospectivamente 1.034 muestras: procesadas entre los años 1985-1992 correspondientes a un grupo de 113 pacientes, 64 varones y 49 mujeres, afectados de FQ y controlados en nuestra unidad. Su media de edad es de 10 años con un rango entre 15 días y 33 años.

A lo largo de los años el número de pacientes ha aumentado progresivamente, así como el de muestras por paciente y año.

Las muestras analizadas correspondían a enfermos tanto en fase de reagudización como en situación estable.

Los resultados obtenidos se han relacionado con la edad pero no con el grado de afectación.

Las 1.034 muestras procesadas se han distribuido de la siguiente manera: 784 esputos, 204 aspirados nasofaríngeos, 27 frotis faríngeos, 9 aspirados traqueales, 6 exudados nasales, 2 aspirados gástricos, un cepillado bronquial y un lavado broncoalveolar. La media de muestras por paciente fue de nueve (límites: 1-57).

A las muestras de vías bajas (esputos y aspirados traqueales), se les practicó examen microscópico previa tinción de Gram y control de calidad de la muestra según los criterios de Murray y Washington¹⁴.

Todas las muestras se sembraron en agar sangre, agar chocolate, agar MacConkey, y a partir de 1989 se sembró además una placa de agar Chapman y de agar Sabouraud. Los cultivos cuantitativos de esputos y aspirados traqueales se hicieron en agar chocolate según la técnica de Pirtle modificada¹⁵, correspondiendo cada colonia con 10⁶ unidades formadoras de colonias/ml (UFC/ml). En las muestras de vías altas sólo se utilizaron criterios semicuantitativos. En 100 muestras consecutivas durante 1988-1989 se realizó siembra en medio selectivo OFPBL para *P. cepacia* (medio base agar oxidación-fermentación suplementado con lactosa, polimixina B-300 U/ml y bacitracina -0,2 U/ml) y BCYE- α con antibióticos (vancomicina 1 mg/l, colistina 11 mg/l y cicloheximida 80 mg/l) para *Legionella* spp.

Los medios convencionales se incubaron 48-72 horas a 37 °C con atmósfera del 5% de CO₂ o aerobia. El medio OFPBL se incubó 4-5 días a 30 °C y el BCYE- α 9 días a 37 °C en atmósfera del 5% de CO₂.

Para la identificación de los microorganismos se utilizaron los sistemas AMS-Vitek (BioMérieux), API (BioMérieux) y/o sistema convencional. La detección de betalactamasa se llevó a cabo según el método acidométrico (inoculación del microorganismo en medio con penicilina e indicador de pH rojo fenol y detección de acidificación en caso de producción de betalactamasa por rotura del anillo betalactámico dando ácido peniciloico).

El antibiograma se realizó por el método de difusión de Kirby-Bauer, interpretando los resultados según las recomendaciones de la NCCLS y posteriormente por métodos automatizados de microdilución en caldo (Aladín-Ditasa o AMS-Vitek). La sensibilidad de *S. aureus* a la metilicina se estudió en paralelo mediante el sistema de disco-placa (agar Mueller-Hinton-4% ClNa incubado a 30 °C durante 48 h).

Análisis de resultados: se efectuó mediante el test de la χ^2 de Pearson y en caso necesario se aplicó el test exacto de Fisher.

Resultados

Se valoró como flora normal el crecimiento de tres o más microorganismos pertenecientes a especies consideradas habitualmente como saprofitas del tracto respiratorio, sin predominio de ninguna de ellas y como flora probablemente patógena el crecimiento de más de 10 colonias de especies consideradas patógenos primarios (*Pseudomonas* spp., enterobacterias, otros bacilos gramnegativos, *S. aureus*) o que podrían comportarse como tales (*Branhamella catarrhalis*, *Haemophilus* spp., *Streptococcus pneumoniae*, *Streptococcus* spp., levaduras y hongos filamentosos).

Como se observa en la tabla I, de las 1.034 muestras de pacientes con FQ sólo 18 (1,7%) presentaron cultivo negativo, en 112 (10,8%) creció flora normal y en 904 (87,4%) flora potencialmente patógena; en 499 muestras (48,3%) fue en cultivo puro. Fue significativamente mayor ($p < 0,001$) el número de muestras de vías altas con flora normal o cultivo negativo.

El 59,3% de las muestras de vías bajas recibidas cumplía los criterios de calidad de Murray y Washington (grados 4 y 5), aislándose el 58,7% de la flora patógena de vías bajas en este tipo de muestras y el 41,3% restante en muestras de grados 1, 2 y 3 o con predominio de fibras mucosas. El examen microscópico de la flora mostró un predominio de bacilos gramnegativos (BGN, 86,4%) y/o de cocos grampositivos (CGP, 82,3%), que en el 36,8% de los casos tenían morfología sugestiva de estafilococo (CGPE) (tabla II). En cuanto a los BGN aislados (principalmente *P. aeruginosa* y *H. influenzae*) la sensibilidad y especificidad de la tinción de Gram respecto al cultivo fueron del 98,4 y 50,7%, respectivamente, con un valor predictivo positivo del 91,0% y negativo del 80,2%. La observación de CGP en racimo tuvo una sensibilidad, especificidad y valores predictivos positivo y negativo del 99,1, 77,7, 99,6 y 93,3%, respectivamente, en relación al aislamiento de *S. aureus* por cultivo.



TABLE I
Características del cultivo en 1.034 muestras de pacientes con fibrosis quística

	Muestras			
	Vías altas	Vías bajas	Total	Porcentaje
Cultivo positivo				
Flora patógena	122	782	904	87,4
Puro	73	426	499	48,3
Mixto	49	356	405	39,2
Flora normal	45	67	112	10,8
Cultivo negativo	15	3	18	1,7
Total	182	852	1.034	

TABLE II
Examen microscópico de las muestras de esputo y aspirado traqueal

Examen microscópico								
Control de calidad (Murray y Washington)						Microorganismos		
1	2	3	4	5	Otros	CGP	CGPE	BGN
51	71	143	145	325	58	653	292	685
(6,4)	(8,9)	(18,0)	(18,3)	(41)	(7,3)	(82,3)	(36,8)	(86,4)

Las cifras entre paréntesis expresan el porcentaje. CGP: cocos grampositivos; CGPE: cocos grampositivos con morfología de estafilococo; BGN: bacilos gramnegativos.

Solamente el 22,2% de las muestras de vías bajas con flora patógena tenía menos de 10^6 UFC/ml y en el 28,7% de las muestras el número de colonias superaba a 10^8 UFC/ml.

En la tabla III se aprecia que los microorganismos aislados más frecuentemente por muestras fueron en este orden: *P. aeruginosa* (53,9%), *S. aureus* (30,3%) y *H. influenzae* (22,0%), mientras que por pacientes se modifica el orden: *S. aureus* (65,5%), *H. influenzae* (64,6%) y *P. aeruginosa* (61,1%) en tercer lugar. Se aisló *S. pneumoniae* en el 4,5% de muestras y el 28,3% de los pacientes. A mucha distancia siguen en proporción los aislamientos de *Candida albicans* y *Aspergillus* spp. (3,6 y 3,4% de muestras y 21,2 y 15,0% de pacientes, respectivamente) y *B. catarrhalis* (2,1% de muestras y 16,8% de pacientes); recuperándose otros gérmenes muy esporádicamente. No se halló ninguna cepa de *Legionella* spp. y solamente 10 cepas (0,7% de muestras), en 3 pacientes (2,6%), de *Pseudomonas cepacia*; de las cuales sólo una se aisló durante el período en que se usó medio OFFPBL.

Se encontraron tres fenotipos distintos de *P. aeruginosa*: mucoso, rugoso y liso. En un 48,7% de las muestras sólo se expresó un fenotipo, con predominio del mucoso (59%), seguido del rugoso (36%) y liso (5%). El 88,9% de los aislamientos mostraba colonias de fenotipo mucoide, solo o asociado a los otros dos mencionados.

TABLE III
Microorganismos aislados en 1.034 muestras de 113 pacientes con fibrosis quística

Microorganismos	En muestras			En pacientes (%)
	Vías altas	Vías bajas	Totales (%)	
Gramnegativos				
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	35	522	557 (53,9)	69 (61,1)
<i>Haemophilus influenzae</i>	45	182	227 (22,0)	73 (64,6)
<i>Branhamella catarrhalis</i>	19	3	22 (2,1)	19 (16,8)
<i>Xanthomonas maltophilia</i>	1	17	18 (1,7)	6 (5,3)
<i>Escherichia coli</i>	7	10	17 (1,6)	11 (9,7)
<i>Haemophilus parainfluenzae</i>	4	10	14 (1,4)	6 (5,3)
<i>Enterobacter</i> spp.	6	7	13 (1,3)	9 (8,0)
<i>Pseudomonas cepacia</i>	0	10	10 (0,9)	3 (2,6)
<i>Proteus mirabilis</i>	0	14	14 (1,4)	4 (3,5)
<i>Achromobacter xylosoxidans</i>	1	6	7 (0,7)	4 (3,5)
<i>Klebsiella</i> spp.	1	5	6 (0,6)	2 (1,8)
<i>Serratia marcescens</i>	0	8	8 (0,8)	3 (2,7)
<i>Acinetobacter</i> spp.	2	3	5 (0,5)	5 (4,4)
<i>Neisseria meningitidis</i>	1	0	1 (0,1)	1 (0,8)
Otros BGN no fermentadores	2	7	9 (0,9)	5 (4,4)
Grampositivos				
<i>Staphylococcus aureus</i>	66	247	313 (30,3)	74 (65,5)
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	34	13	47 (4,5)	32 (28,3)
Estaf. plasmocoagulasa neg.	7	5	12 (1,2)	7 (6,2)
<i>Enterococcus</i> spp.	1	9	10 (1,0)	9 (8,0)
Estreptococos beta-hemolíticos	3	2	5 (0,5)	5 (4,4)
Levaduras y hongos				
<i>Candida albicans</i>	5	32	37 (3,6)	24 (21,2)
<i>Aspergillus</i> spp.	1	34	35 (3,4)	17 (15,0)
Otras levaduras	1	12	13 (1,3)	9 (8,0)
Otros hongos filamentosos	0	9	9 (0,9)	4 (3,5)

BGN: bacilos gramnegativos.



TABLA IV
Porcentajes de microorganismos aislados en relación al número de muestras recibidas entre 1985-1992

Año	<i>P. aeruginosa</i>	<i>S. aureus</i>	<i>H. influenzae</i>	Otros	Muestras	Pacientes*
1985	65,5	3,4	6,8	3,4	29	14
1986	40,7	20,3	20,3	29,6	54	22
1987	56,1	10,9	10,9	12,3	73	65
1988	59,7	15,8	17,0	24,3	82	26
1989	69,3	31,6	27,5	14,2	98	38
1990	58,8	30,2	23,0	19,8	123	52
1991	47,1	34,3	24,0	38,0	237	87
1992	48,6	30,5	17,9	34,3	338	98

*El número total de pacientes estudiados es 113, controlados entre 1985-1992.

TABLA V
Porcentajes de microorganismos aislados en relación al número de muestras distribuidas según grupos de edad

Microorganismos	Número de pacientes*				
	12 < 1 año	46 1-5	54 6-10	31 11-15	24 16-33
<i>P. aeruginosa</i>	4,3	40,8	61,7	58,4	45,0
<i>S. aureus</i>	8,7	23,3	28,6	38,4	34,2
<i>Haemophilus influenzae</i>	8,7	20,2	20,4	23,3	26,2
Enterobacterias	13,0	5,8	4,3	5,3	11
<i>B. catarrhalis</i>	13,0	4,5	1,5	1,2	3
Otros BGN					
no fermentadores	—	4,0	2,6	3,3	12,0
<i>S. pneumoniae</i>	13,0	8,1	4,3	1,6	2,0
Estafilococo					
<i>Pneumocistis carinii</i>	—	0,9	1,3	0,4	0,7
Levaduras	4,3	4,0	4,8	4,5	6,7
Hongos filamentosos	—	3,1	2,6	5,3	10,7
Otros microorganismos	—	0,9	1,3	3,3	2,0

*Algunos de los 113 pacientes estudiados se incluyen en más de un grupo de edad a lo largo de los 8 años de estudio. BGN: bacilos gramnegativos.

Prácticamente en la mitad de las muestras positivas (59%) aislamos más de un microorganismo, dos en 74,8%, tres en 22,6% y cuatro en 2,6%. La asociación más frecuente fue entre *P. aeruginosa* y *S. aureus* (34%), seguida de *S. aureus* y *H. influenzae* (31,1%) y este último con *P. aeruginosa* en el 23%.

En la tabla IV se muestra la distribución de los microorganismos aislados en relación al número de muestras recibidas y al número de pacientes entre 1985 y 1992. Destaca el aumento paralelo de muestras y pacientes a lo largo de los tres últimos años, hecho al que ha contribuido la creación de la unidad de FQ. En años previos el incremento del número de muestras y de pacientes no es totalmente paralelo. Durante los últimos 3 años ha descendido ligeramente el aislamiento de *P. aeruginosa*, aunque sigue manteniéndose alrededor del 50%, el de *S. aureus* aumenta a partir de 1989 probablemente por introducción del agar Chapman en el cultivo de estas muestras. El porcentaje de aislamiento de *H. influenzae* y otros microorganismos oscila según los años estudiados.

La mayor parte de las muestras recibidas corresponden a pacientes entre 1 y 15 años (83,3%), sólo el 2,2% a pacientes menores de un año y el 14,4% a pacientes

mayores de 15 años. El porcentaje de muestras con cultivo negativo o flora normal fue del 56,5% en el grupo de menor edad, del 20,6% entre 1 y 5 años e inferior al 11% en los restantes grupos de edad. Como se observa en la tabla V en los pacientes menores de un año la frecuencia de aislamiento de los patógenos típicos de la FQ fue muy baja (*P. aeruginosa*, 4,3%; *S. aureus* y *H. influenzae*, 8,7%), siendo significativamente superior ($p < 0,05$) la de *S. pneumoniae* y *B. catarrhalis* (13,0%). En el grupo de mayor edad fue significativamente superior la frecuencia de aislamiento de hongos filamentosos ($p < 0,05$). Entre los demás microorganismos no se hallaron diferencias significativas.

Se estudió el biotipo de las cepas de *H. influenzae*, encontrándose predominio de los biotipos I (28,2%) y II (26,4%), seguidos del V (13,2%) y III (12,8%).

Sólo el 18,5% de las cepas de *H. influenzae* fueron betalactamasa positivas, mientras que el 68,2% de *B. catarrhalis* la producían. Estudiamos la sensibilidad de 429 aislados de *P. aeruginosa* y 132 de *S. aureus* por métodos automatizados. No se halló ninguna cepa de *S. aureus* meticilín-resistente, siendo el 100% de las cepas resistentes a la ampicilina y ninguna a amoxicilina-ácido clavulánico. *S. aureus* mostró solamente un 8,3% de resistencia a la eritromicina y un 0,7% a la ciprofloxacina. El porcentaje de resistencia a betalactámicos de los aislamientos de *P. aeruginosa* fue: 44,9% a cefotaxima, de 25,2% a piperacilina, 22,6% a ceftazidima, 19,8% a aztreonam, 19,2% a ticarcilina-ácido clavulánico y 7,6% a imipenem. Con respecto a los aminoglucósidos *P. aeruginosa* mostró un 58,2% de resistencia a gentamicina, 22,4% a tobramicina y 19,4% a amikacina. Sólo el 6,3% fue resistente a ciprofloxacina.

En la tabla VI se expresa la persistencia global de las distintas especies de microorganismos obtenidos en una sola muestra y en dos o más muestras consecutivas de un mismo paciente, en algún caso hasta 34 veces como *Pseudomonas aeruginosa*. En la misma tabla se relacionan los aislamientos seriados positivos para cada microorganismo con el total de aislamientos; el cociente obtenido nos indica la tendencia a colonizar/infectar las vías respiratorias. Como puede apreciarse la capacidad de persistencia es máxima en *P. aeruginosa* (0,90) y mínima en nuestra serie en *S. pneumoniae*.

TABLA VI
Persistencia global de las distintas especies de microorganismos en 1.034 muestras de 113 pacientes

Microorganismos	Aislamientos no seriados	N.º de casos en que el microorganismo se aísla en muestras consecutivas en series de														N/Nt*	P/Pt**						
		2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	15	16			17	20	23	25	27	34
<i>P. aeruginosa</i>	62	21	11	10	4	3	2	2	4	1	2	2	2	1	1	2	1	1	1	1	1	495/557=0,90	63/69=0,91
<i>S. aureus</i>	81	20	24	5	5	2	3		2		1		1									232/313=0,74	43/74=0,58
<i>H. influenzae</i>	85	18	9	7	5	2	2															142/227=0,63	32/73=0,44
<i>S. pneumoniae</i>	38	3	1																			9/47=0,19	4/32=0,13
<i>C. albicans</i>	29	4																				8/37=0,22	3/24=0,13
Otras levaduras	9	2																				4/13=0,31	2/9=0,22
<i>Aspergillus</i> spp.	21	4	2																			14/35=0,4	5/17=0,29
<i>P. mirabilis</i>	2	1								1												12/14=0,86	2/4=0,50
<i>E. coli</i>	14		1																			3/17=0,18	1/11=0,09
<i>B. catarrhalis</i>	14	4																				8/22=0,36	4/19=0,21
<i>X. maltophilia</i>	7	1	2	1																		12/19=0,63	2/6=0,33
<i>S. marcescens</i>	4			1																		4/8=0,50	1/3=0,33
<i>E. cloacae</i>	9	1																				2/11=0,18	1/8=0,13
<i>Enterococcus</i> spp.	8	1																				2/10=0,20	1/9=0,11

*Número de aislamientos seriados/número total de aislamientos.

**Número de pacientes con aislamientos seriados/número de pacientes en que se aísla el germen.

Discusión

La disfunción pulmonar es responsable de aproximadamente el 90% de defunciones en los pacientes con FQ y se debe en gran parte a la infección crónica padecida por estos enfermos.

Sadeghi et al¹⁶ encontraron una muy buena correlación entre los morfotipos visualizados por tinción de Gram y los microorganismos aislados por cultivo. También hemos podido constatar este hecho, pero en nuestro caso la especificidad de la tinción de Gram fue menor, con valores del 50,7 y 77,7% para BGN y *S. aureus*, respectivamente; en contraste con el 94,9 y 98,3% comunicado por estos autores, aunque pensamos que esta diferencia podría atribuirse quizás a que en su estudio sólo procesaron muestras purulentas y con escasa contaminación por células de descamación epitelial y, en cambio, nosotros realizamos el cultivo a todas las muestras de vías bajas, ya que su obtención no es siempre fácil en los niños.

P. aeruginosa es el agente mayoritario causante de colonización crónica y así queda reflejado en distintos estudios, oscilando el porcentaje de aislamientos entre el 50 y el 83%¹⁶⁻¹⁸. En nuestra serie se aisló en el 53,9% de las muestras y en el 61,1% de los pacientes.

Entre los factores que explican esta preponderancia de *P. aeruginosa* sobre los demás microorganismos se citan los factores de virulencia (exotoxina A, exoenzima S, elastasa, proteasa alcalina, pioverdina, dos tipos de hemolisinas, lipopolisacáridos, pili y el expolisacárido mucoide denominado vulgarmente alginato)¹⁸⁻²⁰. El alginato es el responsable del característico aspecto mucoide de las colonias de *P. aeruginosa* en los cultivos de los pacientes con FQ, siendo raramente encontrado en etapas tempranas de colonización, y es posteriormente, debido a una presión ambiental todavía poco conocida en el pulmón de los pacientes con FQ, cuando las cepas típicamente rugosas de *P. aeruginosa* se convierten al fenotipo mucoide, siendo el predomi-

nante en las infecciones pulmonares crónicas de estos pacientes^{18,21,22}.

En nuestro estudio hallamos un 88,9% de cepas con fenotipo mucoide, algo superior al 70-80% encontrado por Berkin et al¹⁷ y Hoiby⁶ y mucho mayor que el 50% comunicado por McCowan²³.

S. aureus ocupa en nuestra revisión el segundo lugar en número de aislamientos (30,3%), pero curiosamente supera ligeramente a *P. aeruginosa* respecto al número total de pacientes (65,5%); y es que sigue siendo un patógeno pulmonar importante, especialmente en pacientes menores de 10 años^{18,24}, que en nuestra serie predominan en el periodo de 8 años en que se ha realizado el estudio, doblando esta población a la comprendida entre 10 y 33 años. En la literatura revisada los porcentajes de pacientes colonizados por *S. aureus* oscilan entre el 15,9 y el 90%^{6,16,25}.

H. influenzae ocupa el tercer lugar, hallándose en un 22% de las muestras y en el 64,6% de los pacientes, que coincide con Hoiby⁶ y difiere de otros autores que refieren porcentajes entre el 10 y el 19% de las muestras^{16,26,27}. Los biotipos I (28,2%) y II (26,4%) fueron los más frecuentemente aislados, coincidiendo con dos trabajos diferentes realizados por Watson et al^{28,29} y difiriendo ligeramente de Hoiby et al³⁰, que hallaron un 38% de cepas de biotipo I y un 21% de cepas de biotipos II y III, respectivamente. Nuestro porcentaje de cepas betalactamasa positivas es del 18,5%, similar al obtenido por diferentes autores, en los que oscila entre el 6 y el 15%^{10,29}.

Aunque en nuestro estudio predominaron las muestras de vías bajas (795) sobre las de vías altas (239) el porcentaje de aislamientos de *P. aeruginosa* fue muy superior en las primeras (93,7%) y, así mismo, aunque con porcentajes inferiores en *S. aureus* (79%) y *H. influenzae* (80,2%).

En los pacientes menores de un año la frecuencia de aislamiento de los patógenos típicos de la FQ fue muy



baja, siendo significativamente superior la de *S. pneumoniae* y la de *B. catarrhalis*, con porcentajes del 72,3 y 86,4%, respectivamente, en muestras de vías altas respecto a los aislamientos en vías bajas, por la dificultad de obtención de esputo en niños de esta edad. En el 68,2% de las cepas de *B. catarrhalis* se detectó la producción de betalactamasa, algo inferior a los porcentajes entre el 85 y el 95% obtenidos en el mismo período estudiado en la población infantil general. El porcentaje relativamente bajo de producción de betalactamasa es difícil de explicar, ya que suelen utilizarse antibióticos betalactámicos en los pacientes de esta edad.

En los pacientes con edad superior a 16 años fue significativamente superior la frecuencia de aislamiento de hongos filamentosos, destacando *Aspergillus* spp., en el 15% de los pacientes. En un estudio de Bhargava et al³¹ en 63 pacientes con FQ que fueron autopsiados hallaron en 14 de ellos evidencia histológica de infección o colonización por hongos o levaduras. La media de edad de estos pacientes era de 18 años. También aislamos levaduras en el 28,2% de pacientes, destacando *C. albicans* (21,2%).

En la última década se ha sugerido que el hallazgo de *P. cepacia* se correlacionaba en algunos casos con un rápido deterioro de la función pulmonar en los pacientes con FQ^{32,33}. Por este motivo se han usado diferentes medios selectivos de aislamiento^{34,35}. Empleamos en 100 muestras consecutivas el medio OFPBL descrito por Welch et al³⁵, aislando solamente una cepa en este período, que junto a nueve más, representan un 0,7% del número total de muestras, pertenecientes a 3 pacientes cuyo curso clínico fue favorable. En la literatura existen grandes oscilaciones en los porcentajes de aislamiento de *P. cepacia*, desde un 0 a un 20%^{5,32,34}.

El papel de *Legionella pneumophila* en la FQ ha sido investigado por métodos serológicos por algunos autores. Cong et al³⁶ no obtuvieron ningún título valorable, mientras que Efthimiou et al³⁷ observaron un 17% de pacientes con títulos de 1/32 o superiores.

En 100 muestras en que investigamos *Legionella* spp. en medio de cultivo BCYE- α no obtuvimos crecimiento de este microorganismo.

Al estudiar la persistencia de las distintas especies aisladas en muestras consecutivas de los pacientes con FQ, hallamos que los índices más altos de colonización correspondían a *P. aeruginosa*, *S. aureus* y *H. influenzae*, manteniéndose en los diferentes grupos de edad; pero microorganismos como *P. mirabilis*, *X. maltophilia* y *S. marcescens* aparecen de forma reiterada en muestras de pacientes mayores de 11 años, así como *Aspergillus* spp., lo que podría suponer en los próximos años, y debido al aumento de supervivencia en estos pacientes y a la presión antibiótica a que están sometidos, ligeros cambios en la ecología bacteriana típica de esta enfermedad. Concretamente Ojeda-Vargas et al³⁸ publican en 1990 el caso de un paciente con FQ en el que se aisló *Proteus mirabilis* como única especie en 6 cultivos consecutivos realizados una vez al mes, y que posteriormente se asoció en

tres cultivos más a *Xanthomonas maltophilia*, que finalmente lo reemplazó.

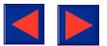
Es de señalar que no se halló ninguna cepa de *S. aureus* resistente a la meticilina y que *P. aeruginosa* mostró una gran resistencia a la gentamicina (58,2%) y no fue desdeñable a la piperacilina (25,2%), ceftazidima (22,6%) y al aztreonam (19,8%); siendo los porcentajes de resistencia menores los correspondientes a imipenem (7,6%) y ciprofloxacina (6,3%).

Finalmente queremos destacar que en nuestros pacientes con FQ hallamos, como la mayoría de los autores, los tres microorganismos clásicos de esta enfermedad: *P. aeruginosa*, *S. aureus* y *H. influenzae*, con porcentajes muy superiores a los demás aislados, excepto en niños menores de un año, en los que *S. pneumoniae* y *B. catarrhalis* se aislaron más frecuentemente, ya que probablemente no habrán sido todavía colonizados por los gérmenes clásicos de esta enfermedad.

En nuestro medio no nos parece esencial la utilización de medios selectivos encaminados a la detección de *P. cepacia* y *Legionella* spp., ya que en nuestra experiencia el número de aislamientos cuando se utilizó este tipo de medios de cultivo, fue escaso o nulo.

BIBLIOGRAFÍA

1. Kubesch P, Dörk T, Wulbrand U, Kálin N, Neumann T, Wulf B et al. Genetic determinants of airways' colonization with *Pseudomonas aeruginosa* in cystic fibrosis. *The Lancet* 1993; 341: 189-193.
2. Molina JA. Fibrosis quística. Otras afecciones pancreáticas. En: Cruz M, ed. Tratado de pediatría. Barcelona: Expax, 1988; 991-1.001.
3. Ojeda-Vargas M. Fibrosis quística: perspectivas e implicaciones microbiológicas. *Rev Esp Microbiol Clin* 1990; 4: 187-188.
4. Taylor CJ, Mc Gaw J, Howden R, Duerden BI, Baxter PS. Bacterial reservoirs in cystic fibrosis. *Arch Dis Child* 1990; 65: 175-177.
5. Brett MM, Ghoneim ATM, Littlewood JM. Prediction and diagnosis of early *Pseudomonas aeruginosa* infection in cystic fibrosis: a follow-up study. *J Microbiol* 1988; 26: 1.565-1-570.
6. Hoiby N. Microbiology of lung infections in cystic fibrosis patients. *Acta Paediatr Scand* 1982; 301 (Supl): 33-54.
7. De Gracia J, Urrutia A, Guarga A, Joanmiquel Ll, Monso E, Vidal R. Fibrosis quística en el adulto. *Med Clin (Barc)* 1984; 83: 392-393.
8. Anónimo. Fibrosis quística e infección por *Pseudomonas*. *Lancet* (ed. esp.) 1983; 3: 453-455.
9. Bavernfeind A, Bertele RM, Harms K et al. Qualitative and quantitative microbiological analysis of sputa of 102 patients with cystic fibrosis. *Infection* 1987; 15: 270-277.
10. Hoiby N. *Haemophilus influenzae*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas cepacia* and *Pseudomonas aeruginosa* in patients with cystic fibrosis. *Chest* 1988; 94 (Supl): 97-103.
11. Penketh ARL, Wise A, Mearns MB, Hodson ME, Batten JC. Cystic fibrosis in adolescents and adults. *Thorax* 1987; 42: 526-532.
12. Pérez Gorricho B. Patología infecciosa y quimioterapia en fibrosis quística. Revisión bibliográfica. *Rev Esp Quimioterap* 1989; 2: 309-315.
13. May JR, Herrick NC, Thompson D. Bacterial infection in cystic fibrosis. *Arch Dis Child* 1972; 47: 908-913.
14. Murray PR, Washington JA. Microscopic and bacteriologic analysis of expectorated sputum. *Mayo Clinic Proc* 1975; 50: 339-344.
15. Pirtle K, Monroe SW, Smalley TK, Mohr JA, Rhoades ER. Diagnostic and therapeutic advantages of serial quantitative



- cultures of fresh sputum in acute bacterial pneumonia. *Am J Respir Dis* 1969; 100: 831-838.
16. Sadeghi E, Matlow A, Mac Lusky I, Karmali A. Utility of gram stain in evaluation of sputa from patients with cystic fibrosis. *J Clin Microbiol* 1994; 32: 54-58.
 17. Berkin KE, Alcock SR, Stack HR. Cystic fibrosis, a review of 26 adolescent and adult patients. *Eur J Respir Dis* 1985; 67: 103-111.
 18. Gilligan P. Microbiology of airway disease in patients with cystic fibrosis. *Clin Microbiol Rev* 1991; 4: 35-51.
 19. Döring G, Maier M, Müller E, Bibi Z, Tümmler B, Kharazmi A. Virulence factors of *Pseudomonas aeruginosa*. *Antibiot Chemother* 1987; 39: 136-148.
 20. Wretling B, Pavlovskis OR. The role of proteases and exotoxin A in the pathogenicity of *Pseudomonas aeruginosa* infections. *Scand J Infect Dis* 1981; Supl 29: 13-19.
 21. May TB, Shinabarger D, Maharaj R et al. Alginate synthesis by *Pseudomonas aeruginosa*: a key pathogenic factor in chronic pulmonary infections of cystic fibrosis patients. *Clin Microbiol Rev* 1991; 4: 191-206.
 22. Kelly NM, Falkiner FR, Keane CT, Fitzgerald MX, Tempany E. Mucoid gram-negative bacilli in cystic fibrosis. *Lancet* 1983; 1: 705.
 23. McCowan K. The microbiology associated with cystic fibrosis. *Clin Microbiol Newslet* 1988; 10: 9-16.
 24. Marks MI. Clinical significance of *Staphylococcus aureus* in cystic fibrosis. *Infection* 1990; 18: 53-56.
 25. Boxerbaum B, Jacobs RJ, Cechner RL. Prevalence and significance of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in patients with cystic fibrosis. *Pediatric Pulmonology* 1988; 4: 159-163.
 26. Bauerfeind A, Hörl G, Przyklenk B. Microbiologic and therapeutic aspects of *Staphylococcus aureus* in cystic fibrosis patients. *Scand J Gastroenterol* 1988; 23 (Supl 143): 99-102.
 27. Corey M, Allison L, Prober C, Levison H. Sputum bacteriology in patients with cystic fibrosis in a Toronto hospital during 1970-1981. *J Infect Dis* 1984; 149: 283.
 28. Watson KC, Kerr EJC, Bailie M. Temporal changes in biotypes of *Haemophilus influenzae* isolated from patients with cystic fibrosis. *J Med Microbiol* 1988; 26: 129-132.
 29. Watson KC, Kerr EJC, Hinks CA. Distribution of biotypes of *Haemophilus influenzae* in patients with cystic fibrosis. *J Clin Pathol* 1985; 38: 750-753.
 30. Hoiby N, Kilian M. *Haemophilus* from the lower respiratory tract of patients with cystic fibrosis. *Scand J Resp Dis* 1976; 57: 103-107.
 31. Bhargava V, Tomashefsky JF, Stern RC, Abramowsky CR. The pathology of fungal infection and colonization in patients with cystic fibrosis. *Human Pathology* 1989; 20: 977-986.
 32. Thomassen MJ, Demko CA, Klinger JD, Stern RC. *Pseudomonas cepacia* colonization among patients with cystic fibrosis. *Am Resp Dis* 1985; 131: 791-796.
 33. Goldmann DA, Klinger JD. *Pseudomonas cepacia*: biology mechanisms of virulence, epidemiology. *J Pediatr* 1986; 108: 806-812.
 34. Tablan OC, Carson LA, Cusick LB, Bland LA, Martone WJ, Jarvis WR. Laboratory proficiency test results on use of selective media for isolating *Pseudomonas cepacia* from simulated sputum specimens of patients with cystic fibrosis. *J Clin Microbiol* 1987; 25: 485-487.
 35. Welch DF, Muszkinsky MJ, Pai CH et al. Selective and differential medium for recovery of *Pseudomonas cepacia* from the respiratory tracts of patients with cystic fibrosis. *J Clin Microbiol* 1987; 25: 1.730-1.734.
 36. Cong EL, Ellis ME, Webb AK, Neal KR, Dodd M, Caul EO. Infective respiratory exacerbations in young adults with cystic fibrosis: role of viruses and atypical microorganisms. *Thorax* 1989; 44: 739-742.
 37. Efthimiou J, Hodson ME, Taylor P, Taylor AG, Batten JC. Importance of viruses and *Legionella pneumophila* in respiratory exacerbations of young adults with cystic fibrosis. *Thorax* 1984; 39: 150-154.
 38. Ojeda-Vargas M, Pacheco A, Elia M, Villaverde R, Baquero F. *Proteus mirabilis* as a cause of recurrent lung infection in a cystic fibrosis patient. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 1990; 9: 234-235.