

Colonización-infección por *Pseudomonas aeruginosa* en pacientes con bronquiectasias y EPOC. Aspectos clínicos microbiológicos y evolutivos

Pseudomonas aeruginosa infection-colonization in patients with bronchiectasias or COPD. Clinical features, microbiology and outcome

J. Garrós Garay, E. Ruiz de Gordejuela, G. Martín Saco (*), L. Gallego (**), J. Pérez Escajadillo (***), F. García Cebrián

Hospital de Santa Marina. Servicio de Neumología, Microbiología (*) y Medicina Interna (***)

Departamento de Inmunología, Microbiología y Parasitología. Facultad de Medicina y Odontología. Universidad del País Vasco (**).

RESUMEN

Conocer determinadas características epidemiológicas, clínicas, microbiológicas y evolutivas de los pacientes con bronquiectasias (sin fibrosis quística) o EPOC con colonización o infección por *Pseudomonas aeruginosa*. Se estudian prospectivamente 39 pacientes respiratorios crónicos que ingresaron a lo largo de 1998 en nuestro centro con el diagnóstico de agudización respiratoria y en los que se aisló *P. aeruginosa* en el esputo. Para ello se realizó un análisis de parámetros clínicos, epidemiológicos y microbiológicos. Incluyendo determinación de la sensibilidad antimicrobiana y tipado genético. A 23 pacientes se pudo hacer un seguimiento de tipo clínico y microbiológico (incluido estudio genético) a lo largo de un año. Veinticuatro pacientes tenían bronquiectasias (12 % del total de enfermos ingresados con este diagnóstico en todo el año 1998) y 15 EPOC. Todos los pacientes presentaban un grado de obstrucción severo en sus vías respiratorias (FEV1 <45 %). 22 pacientes (56 %) presentaban insuficiencia respiratoria crónica. De las 42 cepas estudiadas (3 pacientes tenían 2 cepas) 14 eran mucosas y 28 no mucosas. El antibiograma demuestra bajo nivel de resistencia a Amicacina (0 %), Ticarcilina (5 %), Imipenem (13,3 %) y Gentamicina (14,2 %). A lo largo de la evolución se desarrollan resistencias a 1 o más antimicrobianos en el 74 % de los pacientes. En la evolución clínica destaca un 38 % de mortalidad a un año. La anulación persistente de *P. aeruginosa* solo se consiguió en el 20 % de los casos (sobre 15 pacientes). Persistió continuamente en el 66 % y reapareció tras su aparente anulación en el 13,3 %. El estudio genético demuestra que el 82 % de los pacientes presenta un único clon y que este es en general el que tiende a persistir, en algún caso con variantes subclonales. De los 41 pacientes en los que se realizó estudio genético, 29 (70 %) tienen un clon propio (exclusivo) y 12 (29 %) lo comparten con uno o un máximo de 2 pacientes. La *P. aeruginosa* que se identifica en el esputo fue la misma que se hallaba en el frotis rectal en el 90 % de los casos en los que esta se encontró en ambas muestras (10 casos). La colonización-infección por *P. aeruginosa* incide en pacientes con enfermedades bronquiales crónicas y severas complicando su evolución, lo que supone una alta mortalidad y la necesidad de nuevos ingresos hospitalarios. Este microorganismo tiende a persistir en estos pacientes pese al empleo de tratamiento antibiótico. Los estudios genéticos demuestran que es la misma *Pseudomonas* la que tiende a persistir, por lo que los frecuentes cambios evolutivos en la sensibilidad antimicrobiana no dependen en general de la adquisición de nuevas cepas. La mayoría de los pacientes no comparten los mismos clones por lo que salvo casos aislados no parece existir una fuente común de exposición

PALABRAS CLAVE: *Pseudomonas aeruginosa*. Colonización crónica. Evolución. Estudio genético.

SUMMARY

In order to know the epidemiological, clinical, microbiologic and outcome features in *Pseudomonas aeruginosa* (PA) infected-colonized patients with bronchiectasias (without cystic fibrosis) or chronic obstructive pulmonary disease (COPD), a prospective study was conducted on 39 patients admitted to our center during 1998 for acute respiratory exacerbation in which PA was isolated from their sputum. Clinical, epidemiological and microbiologic parameters, including antibiotic susceptibility and genetic analysis, were evaluated. Twenty two patients were clinical and microbiologically followed for one year. Twenty-four patients has bronchiectasias (12% of all cases hospitalized with this diagnosis in 1998) and 15 had COPD. All patients presented severe airflow obstruction (FEV1 <45%). Twenty-two patients (56%) had chronic respiratory failure. Of the 42 strains studied (three patients had 2 strains), 14 were mucoid and 28 non-mucoid phenotype. The resistance rates for amikacin, ticarcillin, imipenem and gentamicin were 0%, 5%, 13.3% and 14.2% respectively. During the follow-up, 74% patients developed resistance to one or more antibiotic. Mortality of 38% in one year was observed. The persistent eradication of PA was only achieved in 20% cases (in 15 patients). It continued in sputum in 66% and reappeared, after had apparently been eradicated, in 13.3%. Only one clone was present in 82% patients, which usually tended to persist. Of 41 cases in which genetic study was performed, 29 (70%) had a solo clone. PA isolated from sputum was the same that the one isolated in stool samples in 90% cases in which PA was founded in both specimens.

PA infection-colonization affects patients who have severe chronic respiratory diseases increasing mortality and need for hospitalization. PA tends to remain in spite of antimicrobial treatment. According to our genetic study, the emergence of drug resistance is not usually related to the acquisition of new strains. Most patients do not share the same clones; therefore, except for isolated cases, exposure to a common source is not supported.

KEY WORDS: *Pseudomonas aeruginosa*. Chronic colonization. Evolution. Genetical Study.

LABURPENA

Bronkiektasiak (fibrosi kistikoak) edo Biriketako Gaixotasun Butxatzaile Kronikoak (BGBK) -*Pseudomonas aeruginosa* bidezko kolonizazio edo infekzioarekin- dituzten pazienteen ezaugarri epidemiologiko, kliniko, mikrobiologiko eta ebolutibo jakin batzuk ezagutzea. Armas hartzeko arazoak dituzten 39 paziente kroniko aztertu dira; 1998an iritsi ziren gure zentroa eta *P. aeruginosa* isolatu zen haien kerruan. Besteak beste, parametro klinikoak, epidemiologikoak eta mikrobiologikoak analizatu ziren. Era berean, sentikortasun antimikrobianoa eta tipo genetikokoak ere zehaztu ziren. 23 pazienteren segimendu kliniko eta mikrobiologikoa egin zen urtebetez (azterketa genetikoak bane). 24 pazientek bronkiektasiak zituzten (1998an ingesatuko %12k); 15 pazientek, BGBK. Paziente gutziek butxadura-maila handiak zituzten arnasbideetan (FEV1<45%). 22 pazientek (%56) arnas gutxiegitasun kroniko zuten. Aztertutako 42 anduietatik (3 pazientek 2na andui zituzten), 14 mukizkoak ziren eta 28 ez-mukizkoak. Antibiogramak erresistentzi maila apala erakusten du Amikazina (%0), Tikarzilina (%5), Imipenem (%13,3) eta Gantamizinarekiko (%14,2). Eboluzioan zehar, pazienteen %74ek antimikrobiano bat edo gehiagorekiko erresistentziak garatu dituzte. Eboluzio klinikoari dagokionez, heriotza-tasa %38koa izan da urtebetean. Kasuen %20an bakarrik lortu da *P. aeruginosa* behin betiko ezabatzea; %66ean mikroorganismoak irau egin du eta %13,3an berragertu egin da itxuraz ezabatua izan ondoren. Azterketa genetikokoak erakusten duenez, pazienteen %82k klon bakar bat dute; klon hori da, oro har, irauteko joera duena, aldagai subzonalen kasuren batean edo beste. Genetikoki aztertutako 41 pazienteetatik, 29k (%70) klon propioa dute (esklusiboa) eta 12k (%29) paziente batekin edo birekin gehienez elkarbanatzen dute bera. Kerruan identifikatutako *P. aeruginosa* eta ondesteko froteskoak berberak dira mikroorganismo hori bi laginetan identifikatu zen kasuen (10 kasu) %90ean. *P. aeruginosa* bidezko kolonizazio-infekzioak bronkiektasiak dituzten pazienteei eragiten die eta haien eboluzioa korapilatzen du; horrek heriotza-tasa handitu eta ospitaleko ingresu berrien kopurua areagotzen du. *Pseudomonas* tratamendu antibiotikoa izan duten pazienteetan irauteko gaitasuna du. Azterketa genetikoen arabera, *Pseudomonas* bera da irauteko joera duena; beraz, sentikortasun antimikrobianoaren etengabea aldatzea ebolutiboak ez daude, oro har, geruza berrien mende. Paziente gehienek ez dituzte klon berdinak elkarbanatzen; ondorioz, ez dirudi infekzio-iturri komun bat dagoenik, salbuespenak salbuespen. **HITZ GAKOAK:** *Pseudomonas aeruginosa*, Kolonizazio kronikoa, Eboluzioa, Azterketa genetikoa.

Correspondencia:
Dr. Javier Garrós Garay
Hospital de Santa Marina
Carretera de Santa Marina, 41
48008 Bilbao

Introducción

P. aeruginosa es un bacilo gram negativo causante de un gran número de infecciones adquiridas especialmente en el ámbito hospitalario, donde se desarrolla con facilidad favorecida por el empleo de medios técnicos invasivos. En este contexto *P. aeruginosa* a nivel del aparato respiratorio puede ser causa de graves infecciones agudas tales como neumonía, bronconeumonía y absceso (1). Además, la *pseudomonas* se puede comportar como un germen causante de afección no aguda con gran tendencia a persistir a nivel bronquial, donde establece una situación de colonización-infección crónica. Esta situación sucede fundamentalmente en pacientes con daño estructural bronquial o pulmonar importante. En estudios realizados en pacientes con fibrosis quística se demuestra la facilidad de este germen para colonizar sus vías respiratorias y la gran capacidad de adaptación que presenta, lo que le permite persistir durante largos periodos de tiempo e incluso de forma indefinida (2, 3). En pacientes respiratorios crónicos con patologías distintas a la fibrosis quística también se ha descrito esta afectación especialmente en presencia de bronquiectasias (4, 5).

Si la muestra es adecuada (vías respiratorias bajas) el hallazgo de *P. aeruginosa* en esputo significa colonización bronquial y no implica necesariamente infección bronquial, para cuyo diagnóstico se requieren criterios clínicos en especial la presencia de expectoración purulenta persistente.

El objetivo de este trabajo es conocer determinadas características epidemiológicas, clínicas, microbiológicas y evolutivas de pacientes con EPOC o bronquiectasias (sin fibrosis quística) con colonización o infección por *Pseudomonas aeruginosa* diagnosticados en nuestro centro a lo largo de 1998 y cuya evolución hemos seguido durante un año a partir de su inclusión en el estudio.

Material y métodos

Estudio prospectivo para cuya realización se estudiaron microbiológicamente (Gram y cultivo de esputo) todos los pacientes con EPOC o bronquiectasias que ingresaron en planta a lo largo del año 1998 con clínica de infección respiratoria. Nuestro hospital atiende fundamentalmente a pacientes con patología cardiorespiratoria con una elevada proporción de enfermos crónicos. El objetivo fué identificar a aquellos que presentaban *P. aeruginosa* en el esputo para proceder a su análisis.

Se estudiaron como parámetros clínicos: edad, sexo, patología de base neumológica y de otro tipo (en especial aquella causante de inmunodepresión), existencia de ingresos hospitalarios previos en nuestro centro o en otros, datos de aislamiento de *P. aeruginosa* con anterioridad, ubicación dentro del hospital en todas sus estancias y antecedentes de tratamiento con antibióticos en el año previo al ingreso índice. Como parámetros microbiológicos: muestras de esputo, frotis rectal, orina y antibiograma. Las cepas aisladas se remitieron para tipado genético al departamento de inmunología, microbiología y parasitología de la facultad de medicina de la universidad del País Vasco. Ello nos permitió estudiar la posible relación entre las mismas y estudiar su evolución. A 23 pacientes se les pudo hacer un seguimiento en consultas externas o a través de sucesivos ingresos hasta 1 año. Así se evaluó su evolución clínica y se les recogieron sucesivas muestras de esputo para su análisis microbiológico y determinación genética.

El diagnóstico de las bronquiectasias se realizó en base a técnicas radiológicas (Rx simple, TAC o broncografía). Todos los pacientes presentaban además clínica sugerente. No se incluyó ningún caso de fibrosis quística al tener las bronquiectasias en esta entidad un contexto diferenciado.

El diagnóstico de EPOC se basó en el estudio de las alteraciones funcionales respiratorias conforme la normativa SEPAR (6). Se considera obstrucción leve: FEV1 > 65 % del teórico, moderada: FEV1 45-65 % y severa: FEV1 < 45 %.

Se consideró insuficiencia respiratoria crónica la presencia de pO2 < de 60 mmHg o pCO2 > de 45 mmHg en situación clínica estable (7).

Las muestras de esputo y otras muestras clínicas se procesaron de acuerdo a métodos microbiológicos standard (8, 9). En el frotis rectal y en la orina se investigó la presencia de *Pseudomonas* para estudiar una posible colonización más amplia del paciente. Las concentraciones inhibitorias mínimas (CIM) se determinaron por técnica de microdilución en caldo, como se des-

cribe en the National Committee for Clinical Laboratory Standards(10). Se testaron los siguientes antibióticos: ticarcilina, cefotaxima, ceftazidima, cefepime, aztreonam, imipenem, ampicacina, gentamicina y ciprofloxacino.

El estudio genético se realizó utilizando la técnica de tipado mediante la Reacción en Cadena de la Polimerasa. La variante utilizada fue la de RAPD con los iniciadores denominados RD1 y ERIC 2 siguiendo la metodología descrita en un estudio previo (5).

Resultados

Encontramos 39 pacientes en los que se aisló *P. aeruginosa* en el esputo de los que 30 fueron varones (77%) y 9 mujeres. La media de edad fue de 69 años (53-90).

– *Patología de base*: Se presenta en la Tabla 1.

– *Evaluación funcional*: Se pudo realizar en 37 de los 39 pacientes. En los otros 2 su estado clínico no permitió la practica de la espirometría. Todos los pacientes tenían un grado de obstrucción severa de la vía aérea (FEV1 < 45 % de su teórico) en situación estable.

La obstrucción era mayor en pacientes solo con EPOC que en los casos de bronquiectasias.

Veintidós pacientes se encontraban en situación de insuficiencia respiratoria crónica. De ellos, 13 tenían bronquiectasias (54 % del total de pacientes de este grupo) y 9 EPOC (60 %).

– *Extensión radiológica de las bronquiectasias*: Todos los casos presentaban un mínimo de 2 lóbulos afectados y en 21 de los 24 casos eran bilaterales.

– *Antecedentes de ingresos hospitalarios previos*: 38 pacientes (97%). Uno no tenía ingresos hospitalarios.

– *Distribución por habitaciones y plantas*: No se ha encontrado ninguna área de especial incidencia.

– *Tratamiento antibiótico en el último año previo a su ingreso*: 39 pacientes (100 %).

TABLA 1
Patología de base

| SOBRE 39 PACIENTES: | |
|---------------------|-----------|
| – Bronquiectasias | 24 (61 %) |
| Idiopáticas | 15 |
| Posttuberculosas | 6 |
| Postneumónicas | 2 |
| Postsarampión | 1 |
| – EPOC | 15 (39 %) |

– *Antecedente de aislamiento de P.aeruginosa en anteriores ingresos hospitalarios*: 9 pacientes (33%). En 3 de ellos ya fue detectada al menos 7 años antes.

– *Motivo de ingreso actual*:

- Reagudización EPOC o bronquiectasias infectadas: 37 (95 %).
- Neumonía: 2 (5 %).

– *Tipo de cepas*: De las 42 cepas estudiadas 14 eran mucosas (33 %) y 28 no mucosas (67 %). De las 14 cepas mucosas 12 asentaban en pacientes con bronquiectasias y 2 en pacientes con EPOC.

– *Antibiograma*: Se testaron 120 aislamientos cuyos resultados se muestran en la Tabla 2. Destacan un bajo grado de resistencias frente a Amicacina (0%), Ticarcilina (5%), Imipenem (13, 3 %) y Gentamicina (14,2 %).

– *Muestras de recto y orina*: (sobre 23 pacientes):

- En 10 casos se aisló en frotis rectal (43 %).
- En ningún caso se aisló en orina.

– *Evolución*:

Clínica: Mortalidad: 15 fallecidos antes de transcurrido 1 año de su inclusión en el estudio (38%). De ellos 4 fallecidos durante su ingreso índice.

Reingreso hospitalario (sobre 35 pacientes, se excluyen los fallecidos durante su ingreso inicial): 30 reingresaron antes de transcurrido 1 año de su ingreso inicial (85'5%). En pacientes no colonizados fue del 28 %.

Curso clínico: En general fue el propio de los pacientes respiratorios crónicos, con fases de agudización (en ocasiones prolongadas) y de estabilidad. En 5 pacientes se constata un muy rápido deterioro clínico a partir de la adquisición de la *P. aeruginosa* falleciendo 4 de ellos tempranamente.

Microbiológica: (sobre 15 casos, en los que al menos se recogieron muestras durante un mínimo de 8 meses)

- Anulación persistente: 3 casos (20 %). Las 3 cepas fueron no mucosas.
- Persistencia continua de *P. aeruginosa*: 10 casos (66 %).
- Recurrencia de la misma tras su aparente anulación: 2 casos (13,3 %).

Desarrollo de resistencias (antibiograma) sobre los 23 casos de los que se dispone de un mínimo de 2 muestras de esputo diferidas en el tiempo:

- Se hacen resistentes a 1 o más antibióticos: 17 casos (74 %).
- No se hacen resistentes: 6 casos (26 %).

Estancia media del ingreso índice: 26'2 días. Estancia media del conjunto de pacientes respiratorios crónicos: 14 días.

TABLA 2
Antibiograma

| ANTIBIOTICO | TESTADAS N.º (%) | NO TESTADAS N.º (%) | S N.º (%) | I N.º (%) | R N.º (%) |
|----------------|---------------------|------------------------|--------------|--------------|--------------|
| Ticarcilina | 120 (96) | 5 (4) | 114 (95) | 0 (0) | 6 (5) |
| Cefotaxima | 120 (96) | 5 (4) | 40 (33.3) | 43 (35.8) | 37 (30.9) |
| Ceftazidima | 120 (96) | 5 (4) | 87 (72.5) | 10 (8.5) | 23 (19) |
| Cefepime | 109 (87) | 11 (13) | 68 (62.4) | 24 (22) | 17 (15.6) |
| Aztreonam | 120 (96) | 5 (4) | 57 (47.5) | 23 (19.2) | 40 (33.3) |
| Imipenem | 120 (96) | 5 (4) | 72 (60) | 32 (26.7) | 16 (13.3) |
| Amicacina | 120 (96) | 5 (4) | 109 (90.8) | 11 (9.8) | 0 (0) |
| Gentamicina | 120 (96) | 5 (4) | 78 (65) | 25 (20.8) | 17 (14.2) |
| Ciprofloxacino | 120 (96) | 5 (4) | 53 (44.2) | 27 (22.5) | 40 (33.3) |

Estudio genético

Se incluyen 39 pacientes, todos con el denominador común de tener como enfermedad de base bronquiectasias o EPOC y presentar crecimiento de *P. aeruginosa* en al menos una muestra de esputo. Se realiza tipado genético de 118 muestras correspondientes a 39 pacientes. De ellas 105 corresponden a esputo, 10 a frotis rectal, 2 a hemocultivo y 1 de un catéter iv.

Se identifican un total de 42 clones distintos. Su distribución en los 39 pacientes se muestra en la Tabla 3.

– Estudio de persistencia en secreciones respiratorias

Considerando los 23 pacientes en que se obtuvieron 2 o más muestras de esputo diferidas en el tiempo (de ellos en 15 pacientes se consiguieron durante un mínimo de 8 meses):

- En 17 pacientes (74 %) se repetía el mismo clon en todas sus muestras.
- En 4 pacientes (7.3 %) se repetía el mismo tipo mayor, con variantes subclonales.
- En 2 pacientes (8.7 %) el clon inicialmente hallado variaba en muestras subsiguientes.

TABLA 3
Distribución de los 42 clones diferentes

| | |
|---------------------|---|
| 1 único clon | 32 pacientes (82 %). 3 de ellos con variantes subclonales |
| 2 clones diferentes | 6 pacientes (15 %). De ellos: 3 en 2 muestras de esputo 1 en esputo y frotis rectal 1 en hemocultivo y esputo 1 en esputo y catéter iv |
| 3 clones diferentes | 0 pacientes |
| 4 clones diferentes | 1 paciente (2.5 %). En 4 muestras de esputo |

– Estudio de coincidencia clonal en relación con eventual infección cruzada o fuente común de exposición

En este apartado se incluyen 41 pacientes, añadiéndose 2 pacientes que fallecieron por neumonía intrahospitalaria presentando *P. aeruginosa* uno en hemocultivo y otro en cultivo de punción transtorácica y no incluidos en el estudio general al no haberse identificado en esputo.

En total se identifican 43 clones distintos (de los 2 pacientes añadidos 1 tenía un clon ya identificado en un paciente del grupo general y el otro tenía un clon exclusivo).

- 29 pacientes tienen uno o varios clones pero que no son compartidos por ningún otro paciente. 4 de ellos presentan además variantes subclonales.
- 12 pacientes comparten clones con otro o un máximo de otros 2 pacientes: 6 comparten con otro paciente. 6 comparten con otros 2 pacientes.
- Expresado de otra manera, de los 43 clones identificados:
 - 38 eran exclusivos de un único paciente.
 - 5 eran compartidos entre 2 ó 3 pacientes.
 - Ningún clon es compartido por más de 3 pacientes.

En todos los pacientes que presentaron un clon común se analizó su ubicación a lo largo de todas sus estancias en el hospital, encontrándose únicamente 2 pacientes que ocuparon la misma habitación coincidiendo en el tiempo. Otra sala fue ocupada por otros 2 pacientes con el mismo clon pero con 6 meses de diferencia entre sus estancias. En el resto de los casos no se encontró ninguna relación en cuanto a su ubicación.

– *Relación entre el desarrollo de resistencia antibiótica y los clones:* De los 23 pacientes en que se obtuvo un mínimo de 2 muestras de esputo diferidas en el tiempo, se desarrollaron resistencias al menos a un antimicrobiano en 17 (74 %). De los 17 pacientes, en 5 (29.5 %) existían cambios

clonales o subclonales. Los cambios clonales se dieron en 2 pacientes y los subclonales en otros 3 (en un paciente se daban ambos tipos de cambios). Por lo tanto en el 70 % de los pacientes que desarrollaron resistencias estas ocurrieron en ausencia de variaciones clonales o subclonales.

– *Relación entre muestras rectales y esputo:* De los 39 pacientes a 23 se les recogieron muestras rectales (frotis rectal). En los 10 casos en los que se aisló en frotis rectal en 9 (90 %) la cepa era la misma que la que se identificaba en el esputo.

Discusión

La colonización-infección por *P. aeruginosa* es una circunstancia que se encuentra con una frecuencia significativa entre nuestros pacientes respiratorios crónicos. Esta situación se dio en el 12 % de los pacientes con bronquiectasias que ingresaron con clínica de agudización bronquial infecciosa en nuestro hospital durante el año 1998. Entre los pacientes con EPOC esta circunstancia fue mucho menos común, debiendo puntualizar que en alguno de los casos diagnosticados de EPOC pudieran existir bronquiectasias asociadas no sospechadas en la radiología simple de tórax.

En el caso de las bronquiectasias en otros estudios similares el porcentaje de colonización por *P. aeruginosa* oscilaba entre el 10 y el 33 % (4, 11-14), tanto en muestras recogidas de esputo (4, 11, 12, 14) como aspirado bronquial con catéter protegido (12) o lavado broncoalveolar (12). *P. aeruginosa* es junto con *Haemophilus influenzae* (en muchos trabajos con similar frecuencia) el germen más veces aislado (11, 12, 14, 15). Los resultados son parecidos cuando las muestras se recogen tanto en fase de agudización como en situación estable. Los pacientes con bronquiectasias en general suelen presentar un grado de obstrucción bronquial ligero o moderado o incluso estar este ausente (14, 16, 17) y el declinar de la función pulmonar suele ser similar al de las personas normales (4, 17). Sin embargo estudios funcionales demuestran que cuando las bronquiectasias están colonizadas por *P. aeruginosa* existe mala función pulmonar (18) y esta es peor que cuando están colonizados por otros gérmenes (4, 11, 13) o no lo están por ninguno (11). Además los pacientes colonizados por *P. aeruginosa* tienen unos cambios estructurales (en la TACAR) mayores que aquellos que no lo están (19, 20). Por todo ello se puede considerar a este germen como un marcador de alteración estructural severa. Nosotros encontramos grave deterioro clínico, estructural (radiológico) y funcional en

todos nuestros pacientes colonizados y fue frecuente la situación de insuficiencia respiratoria crónica (54 % de los pacientes). No hemos hallado casos de colonización-infección por *P. aeruginosa* en pacientes con limitación funcional leve o moderada, e incluso cuando a los que ahora están colonizados se les investigo en estadios funcionalmente menos avanzados la presencia del microorganismo, este no fue encontrado. Además se cree que la propia *P. aeruginosa* puede ser causa en si misma de bronquiectasias, como ha sido demostrado en monos (21), o agravar las ya existentes por efecto de las sustancias tóxicas que produce. En pacientes japoneses con bronquitis crónica se ha sugerido que la *P. aeruginosa* juega un papel importante en aquellos que posteriormente desarrollan bronquiectasias (20).

En el caso de la EPOC la presencia de *P. aeruginosa* es mucho menos común, siendo el germen con mayor frecuencia aislado el *Haemophilus influenzae* tanto en muestras de esputo (22) como de aspirado bronquial con catéter telescópico en pacientes estables (23, 24) o agudizados (24, 25). En estos pacientes a mayor grado de obstrucción bronquial mayor aumento en las posibilidades de colonización por gram negativos (al margen de *H. influenzae*) y entre ellos de *P. aeruginosa*. En todos nuestros pacientes con EPOC colonizados por este germen el grado de obstrucción bronquial fue severo, encontrándose el 60 % de ellos en insuficiencia respiratoria crónica. En nuestro medio Viejo et al encontraron un 7% de aislamientos de *P. aeruginosa* en el esputo de pacientes con bronquitis crónica agudizada, siendo precedido en frecuencia por *H. influenzae*, *Streptococcus pneumoniae*, *H. parainfluenza* y *Moraxella catarrhalis* (22).

Todos nuestros pacientes salvo uno tenían ingresos hospitalarios previos, y todos habían recibido tratamiento antibiótico en el año anterior a su inclusión en el estudio. La *P. aeruginosa* se considera un germen de adquisición hospitalaria difundiéndose por contacto y no jugando la transmisión aérea un papel importante (26). El empleo de antibióticos, al modificar la flora orofaríngea normal, facilita su colonización por gérmenes gram negativos entre ellos la *Pseudomonas* y este parece ser el paso previo para la posterior colonización bronquial. La presencia de este germen en la orofaringe de personas sanos es poco frecuente (0-6,6 %) (27). Se han descrito casos de infección bronquial y de neumonía nosocomial a partir del empleo de equipos de aerosolterapia contaminados (28). Estos equipos, de uso tan común en nuestros servicios, se colonizan fácilmente si no se observan medidas preventivas estrictas.

Los estudios de sensibilidad antibiótica demuestran un patrón de resistencias en general similar a los ya descritos (29-31). Es de significar que a pesar del empleo de antibióticos a los que el germen es sensible "in vitro", estos a menudo resultan ineficaces para su erradicación bronquial, especialmente en el caso de las formas mucosas. Además, se describe una menor actividad antibiótica "in vitro" frente a este tipo de cepas mucosas de *P. aeruginosa* con respecto a las no mucosas (32). Encontramos un 33 % de cepas mucosas. Son clásicas las descripciones de este tipo de cepas en pacientes con fibrosis quística, pero también han sido descritas en pacientes con bronquiectasias (5, 18, 33).

En la evolución clínica de estos pacientes encontramos una mortalidad muy elevada (38 %) durante el primer año a partir de su inclusión en el estudio. Así mismo, el 85 % de los pacientes que no fallecieron en el ingreso índice necesitaron reingresar antes de transcurrido un año, cifra superior a la de los pacientes no colonizados. Además precisaron de estancias hospitalarias más prolongadas. En general el curso clínico fue el propio de los pacientes crónicos con sus fases de agudización y de estabilidad. En 5 pacientes se constató un muy rápido deterioro clínico a partir de la adquisición de la *Pseudomonas*, falleciendo 4 de ellos tempranamente. Por el contrario hay que reseñar que en 3 pacientes se objetivó la presencia de *P. aeruginosa* al menos 7 años antes. En general parece lógico afirmar que la adquisición de este germen es una circunstancia complicativa en la evolución de estos pacientes. En estudios funcionales se ha demostrado que el declive anual del VEMS es mayor en estos pacientes que en los que no están colonizados (4). Se discute si ello es debido a la propia acción del microorganismo o bien si los pacientes que lo adquieren pertenecen al grupo en los que el declive funcional es de forma natural mayor, siendo la *Pseudomonas* un marcador de esta situación (4). Creemos que este germen coloniza a enfermos ya avanzados (18), que a partir de entonces muestran una progresión mayor en su evolución desfavorable. En pacientes con fibrosis quística se ha demostrado un rápido declive de la función pulmonar cuando resultan colonizados por *P. aeruginosa* (34).

En la evolución microbiológica destaca la tendencia de la *P. aeruginosa* a persistir en el árbol bronquial de estos pacientes ya que solo se consiguió la anulación persistente en el 20 % (3 de 15) de los pacientes. Para ello tiende a adoptar formas mucosas particularmente invulnerables a la acción de los antibióticos (32, 35). La capacidad de persistencia es por tanto mayor en el caso de las cepas mucosas con respecto

a las que no lo son (35, 36). Entre nuestros pacientes en los 3 en que el germen se erradicó se trataba de cepas no mucosas. En estudios realizados en pacientes con fibrosis quística se demuestra que entre todos los microorganismos que llegan a colonizar sus vías respiratorias, la capacidad de persistencia es máxima para *P. aeruginosa* (3). Se considera que cuanto más prolongado sea el periodo de colonización más difícil es su erradicación y por ello se aconseja ser particularmente riguroso en el tratamiento de la infección inicial. En pacientes con SIDA la mejora de la inmunidad con los nuevos tratamientos antiretrovirales puede conseguir la erradicación del germen (37).

Es conocido que después de largos periodos de infección con múltiples exposiciones a diversos antibióticos las cepas resistentes aparecen (38). En la evolución observamos desarrollo de resistencias a uno o más antibióticos en el 74 % de los casos.

Los resultados de los estudios genotípicos evidencian que la colonización crónica del árbol bronquial es típicamente debida a un escaso numero de cepas, es decir cada enfermo tiene "su" *Pseudomonas* y esta es la que tiende a persistir o a reaparecer de nuevo. El remplazamiento de cepa es un fenómeno poco frecuente. Nosotros solo lo hemos encontrado en 2 pacientes, de los 23 en que pudimos obtener muestras diferidas en el tiempo. Estos aspectos ya fueron demostrados por estudios genéticos en pacientes con fibrosis quística (39-41). En los escasos estudios existentes en pacientes con bronquiectasia los resultados son similares (42), incluido un estudio realizado con cepas recogidas en años anteriores en pacientes con bronquiectasias de nuestro centro, en el cual se observó que 2/3 partes de ellos portaban el mismo tipo de clon durante todo el periodo de estudio (5).

En el 70 % de los casos en que se desarrollaron resistencias, estas ocurrieron en ausencia de variaciones clonales o subclonales. Los cambios en la sensibilidad antibiótica o en la morfología de las colonias tan frecuentes en la evolución de estos pacientes, son debidos en la mayor parte de los casos únicamente a variaciones fenotípicas (5). Por ello los estudios epidemiológicos con relación a este germen deben basarse en estudios genéticos.

La escasa coincidencia de clones entre los distintos pacientes parece indicar que la infección cruzada o la existencia de una fuente común de exposición es poco habitual. Esta misma observación ha sido descrita en otros estudios (43).

En los casos en que aislamos *Pseudomonas* en el esputo y en el frotis rectal esta se correspondió con la misma cepa en el 90 % los casos, poniendo en evi-

dencia como la colonización por este germen es un fenómeno más general que afecta al tubo digestivo tal como se describe en la bibliografía (43).

En conclusión la colonización-infección por *P. aeruginosa* incide en pacientes con enfermedades bronquiales crónicas y severas complicando su evolución lo que supone una alta mortalidad y la necesidad de nuevos ingresos hospitalarios. La misma cepa tiende a persistir en estos pacientes siendo infrecuente su reemplazamiento o su erradicación pese al empleo de tratamiento antibiótico. El frecuente desarrollo de resistencias no se corresponde generalmente con la adquisición de nuevas cepas sino con variaciones fenotípicas de las mismas. Pese a ser gérmenes de adquisición hospitalaria la transmisión entre los pacientes es poco frecuente ya que la mayoría de ellos no comparten los mismos clones por lo que salvo casos aislados no parece existir una fuente común de exposición.

Referencias bibliográficas

- Frazer RS, Pare JAP. Synopsis of Diseases of the Chest 2ª ed Ed Saunders. Philadelphia 1994;307-308
- Kulczycki L L, Murphy T M, Bellanti J A. Pseudomonas colonisation in cystic fibrosis. A study of 160 patients. JAMA 1978 ; 240:30-34.
- Ferrer A, Marcelles P, Bellver P, Cobos N, Liñan S, Codina G, Fernandez F. Fibrosis quística: estudio microbiológico durante un periodo de 8 años. Arch Bronconeumol 1995, 31:494-500
- Evans SA, Turner SM, Bosch BJ, Hardy CC, Wodhead MA. Lung function in bronchiectasis: the influence of Pseudomonas aeruginosa. Eur Respir J. 1996; 9:1601-1604
- Pujana I, Gallego L, Martin G, Lopez F, Canduela J, Cisterna R. Epidemiological analysis of sequential Pseudomonas aeruginosa isolates from chronic bronchiectasis patients without cystic fibrosis. Journal of Clinical Microbiology 1999; 37(6): 2071-2073
- Montemayor T, Alfajeme I, Escudero C, Morera J, Sanchez Agudo L. Normativa SEPAR: Normativa para el diagnóstico y tratamiento de la enfermedad obstructiva crónica. Arc Bronconeumol 1996; 32: 285-301
- Manual de Neumología y Cirugía torácica. (vol 1) SEPAR. Ed. Editores medicos SA. Madrid 1998 ; 729-730
- Murray PR, Baron EJ, Pfaller MA, Tenover FC, Tenet RH .1999. Manual of clinical Microbiology, 7 th ed. American Society for Microbiology. London.
- Isenberg, H.D. 1992. Clinical Microbiology Procedures Handbook, 1st ed. American Society for Microbiology. Washington, DC.
- National Committee for Clinical Laboratory Standards. 1990. Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically, 2 nd ed. Approved standard M7-A2. National Committee for Clinical Laboratory Standards, Villanova, Pa.
- Alvarez A, De Gracia J, Vendrell M, Ferrer A, Mayordomo C, Iscar M et al. Colonización bronquial en la bronquiectasias. Arch Bronconeumol 1999 ;35 (supl 2) 48.
- Pang JA, Cheng A, Chan H.S, Poon D, French G. The Bacteriology of Bronchiectasis in Hong Kong Investigated by protected catheter Brush and Bronchoalveolar Lavage. Am Rev Respir Dis 1989.139:14-17.
- Pak-leung H, Kwok-ning C, Mary SM, Wah-kit L, Chu-sek H, Kwok-yung Y , Kenneth W T. The effect of Pseudomonas aeruginosa Infection on Clinical Parameters in Steady-State Bronchiectasias. Chest 1998; 114:1594-1598
- Nicotra MB, Rivera M, Dale AM, Shepherd R, Carter R. Clinical, Pathological and Microbiologic Characterization of Bronchiectasis in an Aging Cohort. Chest 1995;108:955-961.
- Ho PL, Chang KN, Ip MS, Lam WK, Ho CS, Yuen KY, Tsang KW. The effect of Pseudomonas aeruginosa infection on clinical parameters in steady-state bronchiectasis. Chest 1998;114(6):1594-1598
- Vendrell M, de Gracia J , Álvarez A. Bronquiectasias. Arch Bronconeumol 2000;36 (Supl 4):3-12
- Ellis DA, Thornley PE, Wightman AJ, Walker M, Chalmers J, Crofton JW. Present outlook in bronchiectasias:clinical and social study and review of factors influencing prognosis. Thorax 1981;36:659-664.
- Wells A , Desai S, Whetton C, Wilson R, Cole P. The isolation of Pseudomonas aeruginosa from sputum in idiopathic bronchiectasis: and association with extensive disease and severe airflow obstruction. Am Rev Respir Dis 1993; 147 (4) : A645
- Miszkiel K A,Wells A U, Rubens MB, Cole PJ, Hansell DM. Effects of airway infection by Pseudomonas aeruginosa:a computed tomographic study.Thorax.1997;52(3) :260-264.
- Nagaki M, Shimura S, Tanno Y, Ishibashi T, Sasaki H, Takishima T. Role of chronic Pseudomonas aeruginosa infection in the development of bronchiectasis. Chest 1992;102 (5)1464-1469
- Cheung AT, Moss RB, Kurlan J, Leong AB. Chronic Pseudomonas aeruginosa endobronchitis in rhesus monkey:II. A histopathologic analysis. Journal of Medical Primatology 1993 ; 22 (4): 257-262
- Viejo JL, Fernandez MA, Lalaparra J. Estudio epidemiológico de los agentes patógenos hallados en las agudizaciones de la bronquitis crónica en el norte de España.Arch Bronconeumol; 1997;33 : 106
- Zalacain R, Achótegui V, Pascal Y, Camino J , Barrón J, Sobradillo V. El cepillado protegido bacteriológico en pacientes con EPOC severa. Arch Bronconeumol 1997;33:16-19
- Monsó E, Ruiz J, Rosell A, Manterola J, Fiz J, Morera J et al.Bacterial infection in chronic obstructive pulmonary disease. A estudy of stable and exacerbated outpatients using the protected specimen brush. Am J Respr Crit Care Med 1995; 152:1316-1320
- Fagon J.Y, Chastre J, Trouillet JL, Domart Y, Dombret M.C, Bornet M et al .Characterization of distal bronchial microflora during acute exacerbation of chonic bronchitis. Am Rev Respir Dis 1990;142:1004-1008
- Fishman A P. Tratado de Neumología. de Mc Graw-Hill / Doyma.1983 ;987-996
- Morrison AJ Jr, Wenzel RP. Epidemiology of infections due to Pseudomonas aeruginosa. Rev Infect Dis 1984; 6 Supl 3 :627-640.
- Cobben NA, Drent M, Jonkers M, Wouters EF, Venechoutte M, Stobberingh EE. Outbreak of severe Pseudomonas aeruginosa respiratory infections due to contaminated nebulizers. J Hosp Infect 1996 ;33:63-70
- Hanberger H, Garcia-Rodriguez JA, Gobernado M, Goosens H, Nilsson L, Struelens MJ.Antibiotic susceptibility among aerobic Gram-negative bacilli in intensive care units in 5 European countries. JAMA 1999; 281(1):67-71.
- Archibal L, Phillips L, Monnet D, McGowan JE, Tenover F, Gaynes R. Antimicrobial resistance in isolates from inpatients and outpatients in the Unites States: increasing importance of the intensive care unit. Clin Infect Dis 1997; 24(2):211-5.
- Carvalho JD, Leblanc F, Fabre R. Pathologie Biologie 2000; 48(5):472-7. Surveillance of Pseudomonas aeruginosa sensitivity to antibiotics in France and distribution of beta lactam resistance mechanisms: 1998 GERPB study.
- Ikemoto H, Watanabe K, Mori T, Igari J, Oguri T et al. Susceptibilities of bacteria isolated from patients with respiratory infectious diseases to antibiotics. Jpn Antibiot.1996;49:419-455
- Rivera M, Nicotra MB. Pseudomonas aeruginosa mucoid strain. Its significance in adult chest diseases. Am Rev Respir Dis 1982;126:833-836
- Packe G E, Hodson ME. Changes in spirometry during consecutive admissions for infective pulmonary exacerbations in adolescent and adult cystic fibrosis. Respir Med 1992 ;86:45-48
- Ohgaki N. Bacterial biofilm in chronic airway infection. Kansenshogaku Zasshi 1994;68(1):138-15
- Makeda K, Sawaki M, Mikasa K, Teramoto M, Mori K et al. A clinical study of respiratory infections due to mucoid Pseudomonas aeruginosa diagnosed by transtracheal aspiration .Kansenshogaku Zasshi 1994;68(12):1472-1478.
- Domingo P, Ferré A, Baraldés M.A, Ris J, Sanchez F. Pseudomonas aeruginosa bronchopulmonary infection in patients with AIDS, with emphasis on relapsing infection. Eur Respir J 1998; 12(1):107-112
- Saiman L, Mehar F, Weil W N, Neu HC , Shaw K J, Miller G, Prince A. Antibiotic susceptibility of multiply resistant Pseudomonas aeruginosa isolated from patients with cystic fibrosis, including candidates for transplantation .Clin Infect Dis 1996 ;23:532-537
- Mahenthalingam E, Campbell M E, Foster J, Lam JS, Speert D P. Random amplified polymorphic DNA typing of Pseudomonas aeruginosa isolates recovered from patients with cystic fibrosis. J Clin Microbiol 1996;34: 1129-1135
- Römling U, Fiedler B, Bo_hammer J, Grothues D, Greipel J, Von der Hardt H, Tümmler B. Epidemiology of chronic Pseudomonas aeruginosa infections in cystic fibrosis. J Infect Dis 1994;170:1616-1621
- Struelens M J, Schwam V, Deplano A, Baran D. Genome macrorestriction analysis of diversity and variability of Pseudomonas aeruginosa strains infecting cystic fibrosis patients.J Clin Microbiol 1993 ;31:2320-2326
- Hla S W, Hui K P, Tan WC, Ho B. Genome Macrorestriction Analysis of Sequential Pseudomonas aeruginosa Isolates from Bronchiectasis Patients without Cystic Fibrosis.J Clin Microbiol 1996;34:575-578
- Bonten M, Bergmans D, Speijer H, and Stobbering E. Characteristics of Polyclonal Endemicity of Pseudomonas aeruginosa Colonization in Intensive Care Units. Am J Respir Crit Care Med 1999,160:1212-1219.