

# Casos de Microbiología Clínica

## Caso n° 582

### Bacteriemia fulminante asociada a *Burkholderia cepacia*.

#### Descripción

Paciente varón de 68 años de edad que es ingresado por el servicio de guardia a nuestra institución por presentar dolor precordial esporádico. En sus antecedentes consta la presencia de diabetes tipo 2, hipertensión arterial, sedentarismo, obesidad y personalidad tipo A.

Con diagnóstico de ángor de reciente evolución se decide su ingreso en la unidad de cuidados intensivos (UCI) para su diagnóstico y tratamiento.

Al ingreso a esta unidad se encuentra hemodinámicamente estable sin ángor ni disnea ni signos de isquemia aguda.

Se decide realizar una coronariografía que demuestra una enfermedad en tres vasos con obstrucción severa de las arterias descendente anterior y primera diagonal, arteria circunfleja y arteria coronaria derecha. A raíz de este hallazgo se realiza durante el quinto día de su ingreso una angioplastia transluminal coronaria de arteria descendente anterior y rama diagonal con colocación de *stents* farmacológicos con resultado favorable.

Reingresa nuevamente a UCI en asistencia respiratoria mecánica (ARM) y cuatro días más tarde comienza a presentar abundantes secreciones respiratorias y rales gruesos móviles en ambos campos pulmonares.

Con el diagnóstico de neumonía intrahospitalaria asociada a ARM se decide tomar muestras para cultivo (hemocultivos, cultivo de punta de catéter, urocultivo) y comenzar terapia antibiótica empírica con ciprofloxacino, 400 mg/12 h, y cefotaxima, 1 g/6 h, hasta obtener los resultados microbiológicos.

A las 15 y 18 h posteriores se positivizaron los frascos de hemocultivos incubados en el sistema Bactec. Se realizó tinción de Gram observándose bacilos gramnegativos. Se subcultivó en agar sangre Columbia y en agar Levine. A las 24 h se obtuvieron colonias no hemolíticas y oxidasa positiva. Se realizaron pruebas bioquímicas y luego de la incubación se obtuvieron los siguientes resultados: DNasa negativa, ONPG negativa, LDC negativa y esculina negativa. Se realizó también antibiograma por difusión con el siguiente resultado: sensible a cefepima, cef tazidima, imipenem, meropenem, piperacilina-tazobactam, ciprofloxacino y piperacilina; resistente a ampicacina, aztreonam, gentamicina y colistina.

Se realizó también la identificación mediante el sistema API 20NE que indicó *Burkholderia cepacia* con un porcentaje de identificación del 97,1.

La muestra de orina y la punta de catéter arrojaron un resultado negativo.

Dos días más tarde el paciente presenta picos de 38,8°C de temperatura por lo que se decide cambiar el esquema antibiótico a vancomicina, 1 g/12 h, e imipenem, 500 mg/8 h, y tomar hemocultivos en los que se aísla nuevamente *B. cepacia* con el mismo antibiotipo.

Al día siguiente, en su noveno día de ARM, presenta acidosis metabólica, hiperglucemia persistente e hipotensión que no responde a altas dosis de inotrópicos. Se cambia el tratamiento antibiótico a piperacilina/tazobactam, 18 g/24 h. El paciente fallece ese día. ■

#### Caso descrito y discutido por:

**Fernando Traverso**

Laboratorio de Microbiología  
Nueva Clínica Chacabuco  
Tandil, Buenos Aires, Argentina

Correo electrónico:

[fernandotraverso@yahoo.com.ar](mailto:fernandotraverso@yahoo.com.ar)

#### CON LA COLABORACIÓN EDITORIAL DE:

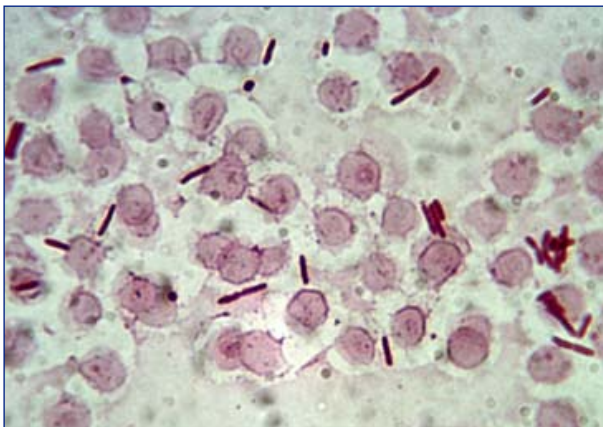
**Dr. JUAN IGNACIO ALÓS**

Servicio de Microbiología.  
Hospital Universitario de Getafe  
Getafe - Madrid.

Editado por:

**FRANCISCO  
SORIA  
MELGUIZO, S.A.**

Caramuel 38, 28011 Madrid  
Tel. 91 464 94 50  
Fax. 91 464 62 58  
<http://www.f-soria.es>



**Figura 1.** Tinción de Gram de muestra de hemocultivo en la que se observan bacilos gramnegativos pertenecientes al género *Burkholderia*.

## 1. ¿Cuáles son las resistencias naturales, qué antibióticos debemos probar en el laboratorio y cuáles utilizar en el tratamiento de infecciones causadas por *B. cepacia*?

*B. cepacia* presenta resistencia natural o intrínseca a los antibióticos aminoglucósidos (AG) debido a la presencia de enzimas modificadoras de AG además de la impermeabilidad a este grupo de agentes. Tiene resistencia natural a antibióticos polipeptídicos (colistina), característica muy útil como criterio de identificación.

Con frecuencia es resistente a antibióticos beta-lactámicos por beta-lactamasas cromosómicas inducibles y/o por alteraciones en las proteínas fijadoras de penicilina (PBP). Bombas de expulsión pueden mediar resistencia a fluoroquinolonas y trimetoprim.

Debemos ensayar e informar los siguientes antibióticos por el método de difusión o dilución: ceftacídima, meropenem, minociclina y trimetoprim/sulfametoxazol.

Los tratamientos más utilizados asocian meropenem y ampicilina, cloranfenicol y minociclina, cloranfenicol y ceftacídima, meropenem y minociclina, y meropenem y una fluoroquinolona. También existen pautas de tres antibióticos, entre ellas una con beta-lactámico, fluoroquinolona y rifampicina. ■

## 2. ¿Cómo se clasifica actualmente *B. cepacia*?

*B. cepacia* es un bacilo gramnegativo, descrito por Burkholder en 1950 como patógeno de plantas y causante de la podredumbre blanda de la cebolla y que es saprofita en muestras ambientales. Originalmente se llamó *Pseudomonas cepacia* y en 1992 se consideró que pertenecía al género *Burkholderia* en base a estudios taxonómicos. Actualmente se ha comprobado que los organismos identificados como *B. cepacia* forman un grupo muy heterogéneo de especies fenotípicamente similares (complejo *B. cepacia* = CBC). Existen al menos 9 variedades genómicas dentro del complejo: *B. cepacia* (variedad genómica I), *Burkholderia multivorans* (variedad genómica II), *Burkholderia cenocepacia* (variedad genómica III), *Burkholderia stabilis* (variedad genómica IV), *Burkholderia vietnamiensis* (variedad genómica V), *Burkholderia dolosa* (variedad genómica VI), *Burkholderia ambifaria* (variedad genómica VII), *Burkholderia anthina* (variedad genómica VIII) y *Burkholderia*

*pyrocinia* (variedad genómica IX), y otras 15 especies dentro del género *Burkholderia*. La variedad genómica I es un patógeno de plantas y contiene la especie tipo.

Estas especies se encuentran estrechamente relacionadas tanto en términos genéticos como fenotípicos, de modo que resulta difícil diferenciarlas. La identificación definitiva se debe realizar por técnicas de biología molecular.

Si bien todas las especies del CBC han sido aisladas de muestras clínicas, *B. multivorans* y *B. cenocepacia* son las de mayor incidencia a nivel mundial y dan cuenta de la mayoría de los episodios de diseminación epidémica en pacientes con fibrosis quística (FQ) y sin ella. Algunos estudios recientes revelan que en la Argentina existe una epidemiología local particular, con alta prevalencia de *B. contaminans*. ■

### 3. ¿Cuál es la implicancia clínica de este complejo?

*B. cepacia* apareció hace más de 25 años como un importante patógeno oportunista en pacientes con FQ y neutropénicos. La infección pulmonar producida por estas bacterias es con frecuencia crónica, difícil de tratar con antimicrobianos debido a su multiresistencia, y se asocia en algunos pacientes con alta morbilidad y mortalidad. En ellos, *B. cepacia* se ha asociado con lo que se ha denominado síndrome cepacia que se caracteriza por fiebre alta, bacteriemia, bronconeumonía, deterioro pulmonar rápido y muerte en más del 62% de los pacientes. Sin embargo, otros pacientes pueden presentar infección o colonización intermitente o transitoria. En los pacientes neutropénicos puede producir bacteriemia de curso fatal por tratarse de un microorganismo oportunista de difícil manejo terapéutico debido a su multiresistencia.

Algunos miembros de este complejo han emergido como patógenos oportunistas en pacientes inmunocomprometidos, en los que causan una variedad de infecciones como bacteriemia, infección del tracto urinario, artritis séptica y neumonía.

En 1972 se describió por primera vez como patógeno oportunista en humanos, aislándose en pacientes neutropénicos sometidos a ventilación mecánica y en pacientes de FQ.

*B. cepacia* es causa esporádica de infección nosocomial, especialmente causa bacteriemia en inmunocomprometidos, en brotes epidémicos asociados a la administración de fluidos parenterales o anti-sépticos contaminados, como por ejemplo povidona yodada. También se han descrito bacteriemias secundarias a contaminación de solución de dextrosa durante la preparación de heparina para cateterización. ■

### 4. ¿Cómo se detecta e identifica la colonización por bacterias del complejo *Burkholderia cepacia* en pacientes con FQ?

Los medios de cultivo que se utilicen deben ir dirigidos a seleccionar estas bacterias y a eliminar el crecimiento de *Pseudomonas aeruginosa* que enmascararía el crecimiento de otras colonias más pequeñas y que crecen de forma más lenta. Existen diferentes medios selectivos para el aislamiento de *B. cepacia* que son:

- BCSA (*B. cepacia* selective agar): contiene 1% de lactosa y 1% de sacarosa en un medio enriquecido con base de caseína y extracto de levadura con 600 U/ml de polimixina, 10 mg/L de gentamicina y 2,5 mg/L de vancomicina.

- OFPBL (oxidación-fermentación, polimixina, bacitracina, lactosa): agar oxidación-fermentación suplementado con lactosa, 300 U/ml de polimixina y 0,2 U/ml de bacitracina. Incluye un indicador, el azul de bromotimol, que permite la detección de *B. cepacia* en base a un cambio de color.

- PC (*Pseudomonas cepacia* agar): medio que contiene 300 U/ml de polimixina y 100 mg/L de ticarcilina, además de cristal violeta y sales biliares. El indicador rojo fenol facilita la detección de *B. cepacia*.

Los 3 medios de cultivo selectivos son útiles para el aislamiento de *B. cepacia* de muestras respiratorias de pacientes con FQ. BCSA es el que tiene mayor especificidad y en él se obtiene el cultivo más denso y más rápidamente que en OFPBL o en PC y además impide mejor el crecimiento de otras bacterias, pero también son aceptables el OFPBL y el PC.

La caracterización fenotípica de las especies del CBC es difícil, aun con un panel extendido de pruebas bioquímicas manuales. Ante un BGNNF oxidasa positivo de reacción lenta, DNasa negativo y que oxida la glucosa, el manitol y descarboxila la lisina, debemos pensar en la asignación de dicho aislado a un miembro del CBC. Es fundamental tener en cuenta que *S. maltophilia* puede utilizar glucosa y lisina y, ocasionalmente, dar una débil o lenta reacción de oxidasa, pero la

prueba de DNasa en general es positiva dentro de las 48 horas; además, no oxida el manitol.

La identificación correcta de los aislados clínicos que pertenecen al complejo *B. cepacia* es crítica para el cuidado del paciente y para el pronóstico. Para la identificación *B. cepacia* se deben utilizar pruebas bioquímicas convencionales y pruebas moleculares ya que los métodos rápidos o automatizados no son válidos para estos microorganismos pues realizan identificaciones erróneas.

Los métodos automáticos no son útiles para la identificación de *B. cepacia*. Estos sistemas y el API 20NE no incluyen *B. gladioli* en su base de datos a la que identifica como *B. cepacia*. Entre los sistemas comerciales el API 20NE es el que permite realizar una identificación más fiable. Se deben identificar mediante métodos moleculares en el propio centro o enviándolo a un centro de referencia para la identificación definitiva cualquier aislamiento similar a *Burkholderia* en los siguientes casos: todos los primeros aislamientos de cada paciente, al menos un aislado cada año si el paciente continúa colonizado, los aislamientos que puedan estar asociados a brotes, y cualquier gramnegativo no fermentador que presente una identificación equívoca con los métodos bioquímicos habituales.

Las técnicas moleculares, especialmente las pruebas basadas en PCR son altamente discriminatorio y se pueden utilizar también para identificar las variedades genómicas dentro del complejo. Iniciadores específicos del gen *recA* permiten detectar *B. cepacia* y diferenciar las diferentes variedades genómicas mediante secuenciación del producto amplificado, mediante RFLP tras digestión con enzimas de restricción o realizando una PCR anidada con reacciones de PCR independientes. También son útiles los iniciadores específicos de las regiones conservadas del gen 16S ARNr o de la región espaciadora 16S a 23S.

La caracterización fenotípica de los organismos pertenecien-

tes al CBC es compleja, dado que es un grupo heterogéneo y de difícil crecimiento. Sumado a esto, se debe tener presente que los integrantes del CBC pueden sufrir presión selectiva para sobrevivir en los pacientes.

Esto resulta en la pérdida de factores fenotípicos característicos y genera la necesidad de desarrollar métodos moleculares que puedan ser llevados a cabo fácilmente en los laboratorios clínicos. ■

## 5. ¿Qué muestras deben solicitarse para el estudio de pacientes con FQ? ¿Cómo se procesan?

Los cultivos de muestras respiratorias en FQ deben realizarse al menos trimestralmente en pacientes clínicamente estables y que no presentan exacerbaciones, siempre que exista una exacerbación pulmonar, cuando exista un cambio en el estatus clínico, cuando requieran hospitalización o cuando esté indicado epidemiológicamente. La muestra más habitual es el esputo pues el resultado se correlaciona bien con los resultados obtenidos de muestras de lavado broncoalveolar. En los niños menores de 8 años, debido a la dificultad en obtener esputo, se puede utilizar exudado bronquial o exudado retrofaríngeo. Las muestras deben recogerse en un contenedor estéril y transportarse de forma rápida al laboratorio o conservarse a 4°C si el procesamiento no es inmediato.

Dada la escasa fluidez del esputo de este tipo de pacientes, las muestras deben homogeneizarse antes de proceder a su siembra

con agentes mucolíticos (N-acetilcisteína o ditiotreitól) o tratamiento mecánico. El esputo se debe sembrar en un medio selectivo para facilitar el crecimiento de *B. cepacia*. Incubar las placas sembradas en atmósfera aerobia a 35-37°C y examinarlas diariamente para detectar el crecimiento de *B. cepacia* hasta un máximo de 5 días. Se puede incubar a 35°C las primeras 48 horas y posteriormente a 30°C. El aspecto permitirá seleccionar las colonias para realizar pruebas de identificación. Se debe realizar la prueba de la oxidasa y pruebas bioquímicas. Como se ha comentado, los métodos comerciales no son adecuados para identificar las bacterias de este complejo y con el que se pueden obtener mejores resultados es con el API 20NE, incubado durante 48 horas. Para llegar a la identificación definitiva es imprescindible realizar métodos moleculares que se pueden realizar en el propio laboratorio o enviándolo a un centro de referencia. ■