



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
FACULTAD DE MEDICINA
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO E
INVESTIGACIÓN
SECRETARÍA DE SALUD**

HOSPITAL INFANTIL DE MÉXICO FEDERICO GÓMEZ

**FRECUENCIA DE GÉRMENES AISLADOS EN
PACIENTES CON FIBROSIS QUÍSTICA Y SU
RELACIÓN CON EL GENOTIPO.**

TESIS

Tesis para optar por el título en la Especialidad de:

NEUMOLOGÍA PEDIÁTRICA

PRESENTA:

Dra. Griselda Alejandrina Téllez Laguna.

DIRECTOR DE TESIS:

Dr. José Luis Lezana Fernández.

ASESORES:

Dra. Ruth Saraí Aldana Vergara.
Dra. Marta Margarita Zapata Tarrés.



MÉXICO D.F.

FEBRERO 2010.



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MÉXICO
FACULTAD DE MEDICINA
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO E INVESTIGACIÓN
HOSPITAL INFANTIL DE MÉXICO FEDERICO GÓMEZ**

TESIS

**FRECUENCIA DE GÉRMINES AISLADOS EN PACIENTES
CON FIBROSIS QUÍSTICA Y SU RELACIÓN CON EL
GENOTIPO.**

PRESENTA

Dra. Griselda Alejandrina Téllez Laguna.

DIRECTOR DE TESIS

Dr. José Luis Lezana Fernández.
Medico Adscrito al Departamento de Neumología y Fisiología Pulmonar.
Hospital Infantil de México Federico Gómez

ASESORES DE TESIS

Dra. Ruth Saraí Aldana Vergara.
Jefe del Departamento de Neumología y Fisiología Pulmonar.
Hospital Infantil de México Federico Gómez.

Dra. Marta Margarita Zapata Tarrés.
Médico Adscrito al Departamento de Oncología Pediátrica.
Hospital Infantil de México Federico Gómez.

AGRADECIMIENTOS

*En primer lugar a Dios por ser
siempre quien guía mis pasos y me
acompaña en todo momento.
Mil gracias ...*

*A Juanito mi hijo, por ser
mi fuerte compañero en este ir y venir
durante nueve meses; y ahora ser el dueño
de mis pensamientos a cada instante.
Te adoro mi vida ...*

*A Juan Manuel mi esposo;
por ser parte fundamental en mi vida,
por tu incondicional apoyo, comprensión
y amor.
Te amo...*

*A mis padres José Luis y Martha;
por ser mi ejemplo y estar
siempre a mi lado, apoyándome en todo.
Mejores padres no podrían serlo.*

*A mi hermano y Tania, por estar
siempre ahí, los quiero...
A mis abuelos, por sus oraciones.*

*A mis amigos... siempre en las
buenas y en las malas.*

*A mis maestros Dr. Lezana, Dra. Aldana,
Dra. Jamaica, Dra. Zapata; por ser parte
de mi formación. Por todo gracias ...*

*A los pacientes del servicio de
neumología, por permitirme aprender.*

INDICE.

	Página.
I. RESUMEN.....	5
II. ANTECEDENTES	7
III. MARCO TEÓRICO.....	11
IV. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	16
V. JUSTIFICACIÓN.....	17
VI. OBJETIVOS.....	17
VII. HIPOTESIS.....	18
VIII. MATERIAL Y MÉTODOS.....	18
IX. DESCRIPCIÓN DE VARIABLES.....	19
X. LIMITACION DE ESTUDIO.....	20
XI. CONSIDERACIONES ÉTICAS	20
XII. ANALISIS ESTADISTICO Y RESULTADOS.....	21
XIII. DISCUSIÓN.....	29
XIV. CONCLUSIONES.....	32
XV. BIBLIOGRAFÍA.....	33
XVI. ANEXOS.....	37

RESUMEN

Título. Frecuencia de gérmenes aislados en pacientes con fibrosis quística y su relación con el genotipo.

Téllez-Laguna GA, Aldana-Vergara RS, Zapata-Tarrés M, Lezana-Fernández JL (autor correspondiente).

Antecedentes. La fibrosis quística (FQ) es una enfermedad genética, autosómica recesiva, cuya incidencia es variable en los diferentes países y razas. En los últimos 50 años la supervivencia de los pacientes con FQ se ha visto incrementada por los avances en el tratamiento de la infección pulmonar crónica y por el seguimiento en unidades multidisciplinarias. El defecto de la enfermedad radica en una proteína de membrana apical de las glándulas exócrinas (Regulador de Conductancia Transmembranal de FQ; CFTR), ocasionando la acumulación de secreciones espesas en las vías respiratorias, que permite la invasión bacteriana y la colonización por distintos microorganismos de acuerdo a un patrón edad dependiente, entre ellos *Staphylococcus aureus* y *Pseudomonas aeruginosa*, con una aparente relación entre el genotipo y dicha colonización.

Planteamiento del problema: La enfermedad pulmonar crónica es la mayor causa de morbimortalidad en el paciente con FQ. Es por lo tanto importante conocer, cual es la frecuencia de gérmenes aislados en cultivos de pacientes pediátricos mexicanos con FQ, así como su sensibilidad y resistencia a distintos antibióticos.

Justificación: Debido a que en México no existen estudios acerca de la frecuencia de gérmenes aislados en pacientes pediátricos con FQ, consideramos necesario determinar la misma, para de acuerdo a la prevalencia de gérmenes por grupo étnico y las principales sensibilidades y resistencias reportadas, proponer un esquema de tratamiento lo más apropiado para nuestra población.

Objetivo general: Conocer la frecuencia de gérmenes aislados por grupo étnico, en cultivos de pacientes con FQ del HIMFG y su relación con el genotipo.

Objetivos específicos:

- Conocer el patrón de sensibilidad y resistencia a los distintos antimicrobianos.
- Determinar la frecuencia de gérmenes aislados por número de cultivos, por paciente y grupo étnico.
- Determinar la frecuencia de pacientes con colonización múltiple.
- Establecer la relación entre germen aislado y el genotipo del paciente.

Hipótesis: La colonización bacteriana en pacientes con FQ es edad dependiente, encontrando hasta 60% de cultivos positivos para *P. aeruginosa* en pacientes de 18 años relacionándose con mutaciones más graves. Sin embargo en nuestro medio consideramos que la frecuencia de aislamientos de *P. aeruginosa* es mayor que la reportada en la literatura.

Metodología: Estudio retrospectivo, retrolectivo, descriptivo, comparativo y transversal.

Criterios de selección: Se incluyeron pacientes con diagnóstico de FQ establecido por dos determinaciones de cloros en sudor o estudio genético y pacientes que contaron con por lo menos con un cultivo de expectoración con antibiograma. Se excluyeron a los que tuvieron alguna enfermedad concomitante. No hay criterios de eliminación al ser un estudio transversal.

Población objetivo: Pacientes pediátricos con diagnóstico de FQ.

Población elegible: Pacientes evaluados en el HIMFG del 01 de Enero de 2001 al 31 de Diciembre de 2008.

También se revisaron las libretas de cultivos del laboratorio vaciando los datos en una hoja de recolección de datos, para posteriormente hacer el análisis estadístico por frecuencia y porcentaje.

Descripción de variables: Edad, sexo, genotipo, cultivo de esputo, germen aislado, edad actual al año 2008, estado actual, edad de fallecimiento.

Análisis estadístico: Se describieron las variables cuantitativas mediante la media y desviación estándar y las variables cualitativas calculando los porcentajes de las mismas. Posteriormente se analizaron los riesgos relativos en relación a grupos de edad, variedad de genotipo y tiempo de supervivencia.

Consideraciones éticas: Este estudio fue evaluado por la Comisión de Investigación del HIMFG y la información obtenida durante el estudio será mantenida con estricta confidencialidad.

ANTECEDENTES

La Fibrosis Quística (FQ) es una enfermedad hereditaria de carácter autosómico recesivo, causada por mutaciones en un gen localizado en el brazo largo del cromosoma 7. Considerada como uno de los trastornos cromosómicos más frecuente en caucásicos, aunque la enfermedad ha sido descrita en todos los grupos étnicos con diversas incidencias. En México, Orozco y cols. establecen la alta heterogenicidad genética de la población de pacientes con FQ en México, estimando una incidencia aproximada para nuestra población de 1 por cada 8,500 nacidos vivos. (1).

Fibrosis quística es una enfermedad genética de las glándulas exocrinas, causada por mutaciones en un gen que codifica para una proteína de 1,480 aminoácidos, conocida como factor de conductancia transmembranal de fibrosis quística (CFTR). La proteína CFTR mutada se ancla en la membrana apical de las células epiteliales donde funciona como un canal de cloro dependiente de AMP cíclico, la cual provoca alteraciones iónicas y en el contenido de agua en varios órganos y tejidos, principalmente en el epitelio ciliar y líquido que recubre la vía aérea, ocasionando la alteración fisiopatológica principal en FQ, un espesamiento anormal de las secreciones respiratorias.

Las manifestaciones clínicas son inespecíficas y tienen una amplia variedad de presentación determinada en gran medida por el tipo de mutación en la proteína CFTR. (1).

Los principales factores que inciden en la colonización pulmonar en FQ están la edad, el género, la insuficiencia pancreática y el ser portador de mutaciones del CFTR catalogadas como graves. (2).

Pseudomonas aeruginosa (*P. aeruginosa*) es el microorganismo más frecuente, encontrándose en el 60% de los 30,000 pacientes con edad media de 15+-2 años en el registro de la Cystic Fibrosis Foundation.

Las cifras en otros países oscilan desde 69% en Irlanda y 62% en Francia, hasta 44% en Nueva Zelanda y 48% en Canada. Sin embargo el porcentaje de

colonización por *Burkholderia cepacia* es inferior en EE.UU. frente a Canadá (3.6 vs 9.2 %). (3)

Ratjen y col. refieren una incidencia de infección por *Staphylococcus aureus* de 20 a 40% dependiendo del grupo etáreo. (4)

Pamukcu A. y col. reportan que la prevalencia de infección por *P. aeruginosa* aumenta conforme la edad del paciente; de esta forma en menores de 24 meses el riesgo es de 20 a 30%, de 30 a 40% en niños de 2 a 10 años de edad, 60% en adolescentes y 80% en adultos. (5).

Aunque estudios iniciales hacían pensar que la mutación del gene CFTR más frecuente $\Delta F508$ confería un fenotipo grave de la enfermedad, este hallazgo no ha podido ser demostrado en pacientes homocigotos para esta mutación, por ello se establece que el pronóstico de la enfermedad no viene determinado por una determinada mutación. El factor más importante que actúa sobre la morbimortalidad de la enfermedad es la afectación respiratoria, que no sólo se ve influenciada por factores genéticos sino también por factores ambientales. (6).

En el estudio realizado en las unidades de la Comunidad de Madrid, en 126 pacientes con FQ, el 33.1% presentaron colonización por *P. aeruginosa*; aunque en los menores de 18 años fue de solamente el 24.4%, observándose claramente la influencia del factor edad en la colonización. (8).

No obstante, un estudio reciente en 27.703 enfermos de las unidades de FQ de EE.UU. concluye, que los pacientes con genotipos graves (delF508, y otras mutaciones de clase funcional I, II y III) tienen más riesgo (OR 1.8) de una supervivencia reducida y una mayor posibilidad de adquisición precoz de *P. aeruginosa* frente al grupo con genotipos leves (clases IV y V). (7).

En el estudio realizado en 387 pacientes controlados en las unidades de FQ de la Comunidad de Madrid (CM) en el año 2001, los enfermos tuvieron una edad media de 15.1 años, 209 eran varones (54%) y 310 (80.1%) mostraban insuficiencia pancreática. La mutación más frecuente fue la $\Delta F508$ (52.8%) seguida de la G542X (4.78%) y del N1303K (1.42%) y R1162X (1.23%). (8).

En nuestro país la frecuencia de la mutación Δ F508 varía de 34.4% en el estudio de Flores – Martínez y col. hasta 40.72% reportado por Orozco y col. (9-10), encontrando como segunda mutación más frecuente la G542X (6.18%), Δ I507 y la S549N con 2.57% cada una y N1303K en 2.06% de los casos. (10).

Teniendo en cuenta que los antibióticos beta lactámicos en combinación con los aminoglucósidos constituyen la terapia de elección para el tratamiento de las infecciones causadas por *P. aeruginosa*, Henwood et al. analizaron el comportamiento de 54 cepas de *P. aeruginosa* aisladas de pacientes FQ frente a cuatro antibióticos beta-lactámicos (11).

Se observó un elevado porcentaje de cepas sensibles a ceftazidima (85%) cuyas concentraciones mínimas inhibitorias se encontraban entre 1 y 8 μ g/mL y un bajo porcentaje de cepas resistentes a este antibiótico (7%) (CIM=32-128 μ g/mL). Los valores de CIM₉₀ para ceftazidima oscilaron entre 1-16 μ g/mL, por debajo de las concentraciones requeridas para considerar a las cepas como resistentes (32 μ g/mL). (11). Así también, 83% fueron sensibles a azlocilina, 37% sensibles a carbenicilina, y solamente un 20% de las cepas estudiadas fueron sensibles a cefotaxima. Los resultados evidencian que ceftazidima continúa siendo un beta-lactámico de elección en el tratamiento de las infecciones causadas por *P. aeruginosa* en pacientes con FQ.(12).

Quintas y col. revisaron 30 muestras de esputo procesadas de los años 2005-2006 correspondientes a 5 pacientes afectados de FQ, el microorganismo más frecuente aislado fue *P. aeruginosa* con un 58%, seguido por *Klebsiella Pneumoniae* 17% y 8% *Staphylococcus aureus* sólo en 1 paciente.

Se analizó además el porcentaje de resistencia a los antibióticos frente a cepas de *P. aeruginosa* aislada, encontrando un porcentaje de resistencia a betalactámicos de 86% a la cefazolina y 40% a la ceftazidima. Con relación a los aminoglucósidos el porcentaje de resistencia a la amikacina fue nulo y solo el 14% fue resistente a la gentamicina. El 40% fue resistente al cloranfenicol y a la ciprofloxacina se encontró un 17% de resistencia. (13).

García y col. revisaron retrospectivamente un total de 305 esputos procesados entre los años 2001 y 2002, correspondientes a 76 enfermos (42

mujeres y 34 hombres) con FQ, con una edad media de 15 años (rango de edad 5-28 años). De las 305 muestras, 123 (40,3%) fueron negativas (no se aislaron patógenos bacterianos), las restantes 182 (59,7%), fueron positivas a una o más bacterias.(14). Los microorganismos más frecuentemente encontrados fueron, por orden, *S. aureus* (109, un 59.8%), *P. aeruginosa* (90, un 49.4%), *S. maltophilia* (9, un 4.9%) y *H. influenzae* (7, un 3.8%). Además, se aislaron en menor cantidad (menos de 4, un 2%) *Acinetobacter lwoffii*, *Alcaligenes xilosoxidans*, *Burkholderia cepacia*, *Citrobacter freundii*, *Escherichia coli*, *Enterobacter cloacae*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus mirabilis* y *Serratia marcescens*.

En el 30,4% de los casos se aisló más de un microorganismo, siendo la combinación más frecuente *S. aureus* y *P. aeruginosa*, con un 52,7% de los aislamientos multibacterianos (16% del total de aislamientos).

El 82% de las cepas de *S. aureus* fueron sensibles a la oxacilina y *P. aeruginosa* fue sensible en 81% a ceftazidima y 52% a amikacina. (14).

En cuanto a la mortalidad en pacientes con FQ, numerosos estudios han evaluado la influencia de diversos factores en la misma. Según Rosenfeld M. y cols en una cohorte de 21.047 pacientes seguidos entre 1988 y 1992 en Estados Unidos de Norteamérica, encontraron que el riesgo de fallecer fue 1,6 veces mayor en mujeres de edades entre 1 y 20 años. Más allá de dicho rango, la sobrevivida no varió significativamente según sexo. (15). Asimismo, O' Connor GT y cols. en una cohorte de 23.817 pacientes ajustada por diversas variables, demostró que el grupo de menor ingreso económico familiar presentó un riesgo 1,4 veces mayor de fallecer por FQ, en comparación al grupo de mayor ingreso económico. (16). Por su parte, Mckone EF. y cols. en estudios de mortalidad, según el tipo de mutación del gen que codifica para la proteína CFTR, han demostrado que diferentes genotipos se asocian a fenotipos de mayor mortalidad, al igual que la condición de homocigoto versus heterocigoto para una misma mutación (17). De igual forma, diversos grupos han evaluado el efecto de infecciones y de la respuesta inmune contra microorganismos como *Burkholderia cepacia* y *P. aeruginosa* sobre la mortalidad de pacientes con FQ. Emerson J. y cols. en una cohorte de 3.323 pacientes, demostró un riesgo 2,6 veces mayor de

fallecer en pacientes con cultivos positivos para *P. aeruginosa*, en comparación a pacientes con cultivos negativos. (18)

fallecer en pacientes con cultivos positivos para *P. aeruginosa*, en comparación a pacientes con cultivos negativos. (18)

III. MARCO TEÓRICO

La fibrosis quística (FQ) es una enfermedad descrita en todos los grupos étnicos con incidencias variables, desde 1 en 2,500 a 1 en 4,000 nacidos vivos. En México, Orozco y cols., establecen la alta heterogeneidad genética la población de pacientes con FQ, probablemente relacionada a una composición étnica compleja que incluye genes Amerindios, Caucásicos (Hispanos) y Negros, así como el patrón genotípico predominante y la identificación de nuevas mutaciones del gene CFTR, estimándose una incidencia aproximada de 1 por cada 8,500 nacidos vivos . (19).

La clonación y secuenciación del gene de FQ en 1989 permitió identificar en el brazo largo del cromosoma 7 (región q31) un gene de 250 Kb. de ADN genómico (250,000 pares de bases), constituido por 27 exones e igual número de intrones, que transcribe para un ARNm de 6.5 Kb., el cual codifica para una proteína de 1,480 aminoácidos conocida como Factor de Conductancia Transmembranal de Fibrosis Quística (CFTR). La secuencia del ADN en el gene de FQ demostró la ausencia de una tripleta de bases que codifican para una fenilalanina en la posición 508 de la proteína CFTR (20). Esta mutación, conocida como $\Delta F508$ se observa en el 70% de la población caucásica con FQ. Se han descrito sin embargo más de 1,500 mutaciones del gene CFTR, las cuales están asociadas a diferentes formas fenotípicas o expresión de la enfermedad. Menos de 30 de estas mutaciones han sido reportadas con una frecuencia mayor al 0.1% de los alelos identificados, el resto son mutaciones extremadamente raras y frecuentemente limitadas a uno o dos individuos, o bien han sido descritas en grupos étnicos específicos (G551D en Franco Canadienses, W1282X en Judíos Ashkenazi) (21). La frecuencia de la mutación $\Delta F508$ en una muestra de pacientes mexicanos con FQ reportada por Orozco y cols, fue de 40.72% y con el análisis de 34 diferentes mutaciones, se identificaron solamente el 74.58% de los cromosomas para FQ.

La vía normal de maduración de la proteína CFTR en las células epiteliales inicia con la transcripción en el núcleo celular de un ARN mensajero, el cual sufre modificaciones postranscripcionales durante su paso por el retículo endoplásmico, incluyendo un adecuado acoplamiento, glicosilación y tránsito a través del aparato de Golgi hasta la membrana celular donde se ancla y funciona como un canal regulador de Cl.

En la membrana apical de las células epiteliales del pulmón normal, el CFTR ejerce un efecto inhibitorio tónico en el transporte de Na a través del canal epitelial de sodio (ENaC). En ausencia de CFTR, una absorción sodio-dependiente acelerada por el ENaC, depleta el líquido periciliar e interfiere con el proceso mecánico del transporte de moco, con el tiempo, la secreción persistente de moco junto con la depleción en el volumen del líquido que recubre la vía aérea causa formación de placas de moco deshidratado favoreciendo la infección crónica (18).

Cualquiera que sea la mutación del CFTR, cada paciente presenta las siguientes anomalías en distintos grados: 1) Una concentración anormal de iones en las secreciones de las glándulas serosas, manifestado por aumento en la concentración de cloro y sodio en sudor. 2) Un incremento en la viscosidad de las secreciones de las glándulas secretoras de moco, asociada con obstrucción y pérdida secundaria de la función glandular. 3) Un aumento en la susceptibilidad a colonización endobronquial crónica por grupos específicos de bacterias (*Staphylococcus aureus*, *Haemophilus influenzae*, *P. aeruginosa*) (22, 23).

Una alteración en el canal de Cl ocasiona que el transporte de este ión a través de la membrana apical de las células epiteliales se vea reducido, pero tal vez lo más importante sea una absorción aumentada de Na, reduciendo el contenido de agua en las secreciones por efecto osmolar, lo que aumenta la viscoelasticidad del moco. La causa de esta alteración iónica en el movimiento del Cl está relacionada a las mutaciones del CFTR, el cual en condiciones normales parece también regular la actividad de otros canales iónicos, incluida la vía del Na. En resumen, el CFTR normal funciona como un regulador de los canales de Na y Cl dependientes de AMPcíclico en la membrana apical de las células epiteliales,

estableciendo un balance entre la absorción de Na y la secreción de Cl y HCO₃, para hidratar en forma adecuada la superficie de las vías aéreas (24).

Las anomalías secretoras en FQ tienen profundas consecuencias clínicas y una etiología compleja, teniendo como base una disminución en la secreción de Cl hacia el líquido periciliar, con un incremento en la absorción de Na y H₂O. Este desbalance electrolítico depleta el contenido de agua en el moco, cambia su contenido iónico e incrementa la osmolaridad, comprometiendo sus propiedades reológicas. (26).

Basándose en los estudios funcionales de proteínas anómalas se ha propuesto la clasificación de las mutaciones en 6 grupos:

Clase I incluye mutaciones que introducen una señal prematura de terminación, produciendo transcritos inestables y/o proteínas truncadas. (G542X, R553X, W1282X).

Clase II afectan la maduración de la proteína. La mutación Δ F508del es la más relevante de este grupo. Y N1303K.

Clase III alteran la regulación del canal reduciendo su actividad. (G551D).

Clase IV está constituida por mutaciones que cambian los aminoácidos que forman el poro del canal. (R117H, R347P, A455E, R334W).

Clase V se agrupan las mutaciones que producen una disminución en la síntesis de proteína. (3849 + 10 kbC-T, D565G, G576A). (27-31).

La edad es el factor más importante que influye en la colonización por los distintos gérmenes; otros factores menos importantes son el sexo (las mujeres se colonizan antes que los varones), la presencia de insuficiencia pancreática y la detección de genotipos más graves.

Los patógenos bacterianos que colonizan la vía aérea en los pacientes con FQ lo hacen frecuentemente siguiendo una secuencia, más o menos establecida, dependiente de la edad. La mayoría son colonizados en los estadios iniciales por

S. aureus y *H. influenzae*. (32). En esta fase, la profilaxis con agentes antimicrobianos es controvertida ya que, no sólo no existen evidencias claras sobre los beneficios derivados de este enfoque terapéutico, sino que podría adelantar la colonización por *P. aeruginosa*. *S. aureus* es a menudo el primer microorganismo que se aísla en los niños pequeños con FQ, aunque su significado en la patogénesis de la infección pulmonar sigue siendo motivo de debate. Mientras que la colonización por *S. aureus* decrece con la edad de los pacientes, la infección por *P. aeruginosa* se incrementa de forma gradual hasta convertirse en el patógeno más frecuente. Debido a la mayor expectativa de vida de estos pacientes y al hecho de que se utilicen ciclos repetidos de antibióticos para controlar las exacerbaciones, se ha favorecido la colonización por otros patógenos oportunistas multirresistentes como *B. cepacia*, *A. xylosoxidans* o *S. maltophilia*. Hay una tendencia general a incrementar su incidencia a partir de los 10 años y se alcanzan valores máximos a partir de los 18 años para *S. maltophilia* y *B. cepacia* y de los 24 para *Achromobacter* spp. (30).

La muestra más habitual en el estudio microbiológico de los pacientes con FQ es el esputo. En los niños pequeños también se recomienda, en ausencia de secreciones de vías bajas, la toma de muestras retrofaríngeas ya que los hallazgos en esta localización suelen considerarse representativos de los microorganismos presentes en el espacio bronquial. (33). Otras muestras utilizadas con poca frecuencia, sobre todo en pacientes con escasa expectoración, son las obtenidas por broncoaspirado y lavado broncoalveolar. (34).

El esputo es la muestra que mejor refleja la ecología microbiana del tracto respiratorio del paciente con FQ con una sensibilidad del 50 al 60% y una especificidad superior al 80%. En algunos trabajos el cultivo de esputo se considera superior al lavado broncoalveolar con una sensibilidad de 65% y una especificidad de 70%, debido a que es más representativo de las diferentes localizaciones de la colonización pulmonar (35), incluso cuando se aplican técnicas de biología molecular para definir estadios de primocolonización. A temperatura ambiente la viabilidad de *S. aureus* y *P. aeruginosa* no se ve comprometida en las

primeras 24-48 horas aunque puede afectar los recuentos bacterianos. En el caso de *H. influenzae* y *S. pneumoniae* los recuentos disminuyen con el tiempo y los cultivos pueden ser negativos. Para evitarlo, deben congelarse hasta su procesamiento. El número de muestras respiratorias estudiadas por paciente y año varía dependiendo de la edad del paciente, de su situación clínica y del tipo de tratamiento que esté realizando. En el caso de pacientes diagnosticados por tamiz neonatal se recomienda un cultivo mensual para detectar el primer cultivo positivo por *P. aeruginosa*. En el resto de los pacientes son necesarios al menos un esputo cada dos o tres meses y en todos aquellos casos en los que se produzcan exacerbaciones o ingresos hospitalarios. (36).

El estudio de sensibilidad a los antimicrobianos en los patógenos aislados en los pacientes con FQ adquiere una gran importancia para el seguimiento de los mismos y la adecuación del tratamiento. Las técnicas habitualmente utilizadas en los laboratorios de microbiología también son útiles para el estudio de sensibilidad en estos patógenos. No obstante, han de tenerse en cuenta algunas consideraciones particulares de los microorganismos que se obtienen en las muestras respiratorias de los pacientes con FQ y que pueden afectar a la interpretación de los resultados y a su utilidad clínica. En general se recomienda la utilización de técnicas cuantitativas; determinación de la concentración mínima inhibitoria (CMI) y posterior interpretación clínica de los resultados en detrimento de técnicas cualitativas que sólo ofrecen categorías interpretativas (sensible, intermedio o resistente). Por ello se prefieren las técnicas de microdilución y dilución en agar y no las de difusión con discos. (37).

El tratamiento de FQ es complejo debido a los múltiples órganos involucrados en la enfermedad así como su marcada variabilidad, por lo que deberá realizarse en forma individualizada, integral y multidisciplinaria, con el objetivo de minimizar y prevenir la destrucción progresiva del parénquima pulmonar, así como el adecuado control del proceso infeccioso endobronquial.

El principal objetivo en el tratamiento de pacientes con FQ es prevenir, erradicar o controlar la infección respiratoria particularmente la infección pulmonar

y endobronquial por *Staphylococcus aureus*, *P. aeruginosa* y *Burkholderia cepacia*, para minimizar el deterioro funcional progresivo. Sin tratamiento antimicrobiano, las secreciones respiratorias anormales se reinfectan tempranamente; la infección endobronquial y la inflamación se establecen progresando hacia la falla respiratoria. (38).

Está demostrado que varios regímenes de tratamiento antibiótico, oral, nebulizado o intravenoso, pueden prevenir, erradicar o retardar la infección crónica de la vía aérea baja. Aun cuando la infección de la vía aérea se ha establecido, el manejo apropiado con antibióticos puede retardar la caída de la función respiratoria. El metabolismo y aclaramiento de algunos antibióticos está alterado en individuos con FQ. Las dosis requeridas y los niveles plasmáticos alcanzados son diferentes con respecto a otro tipo de pacientes. (39).

Aunque muchos factores han contribuido a mejorar el pronóstico del paciente, está demostrado claramente que la supervivencia es mejor entre aquellos que se mantienen libres de infección crónica y que la progresión en el deterioro respiratorio es mayor cuando la infección crónica por *P. aeruginosa* se ha establecido. La terapia con antibióticos en pacientes con FQ requiere de un abordaje especializado que tome en cuenta la idiosincrasia de los patógenos, la mejor actividad desarrollada en los últimos años de los diferentes agentes antibacterianos, así como los beneficios clínicos de una terapia temprana y agresiva. (40).

IV. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La enfermedad pulmonar crónica es la mayor causa de morbimortalidad en el paciente con FQ, iniciada por un defecto genético y perpetuada por un ciclo de inflamación – infección – obstrucción y daño.

Es por lo tanto importante conocer, cual es la frecuencia de gérmenes aislados en cultivos de expectoración por grupo etéreo, en pacientes pediátricos mexicanos, así como su sensibilidad y resistencia a distintos antimicrobianos, generando así; conocimiento con evidencia válida.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La enfermedad pulmonar crónica es la mayor causa de morbimortalidad en el paciente con FQ, iniciada por un defecto genético y perpetuada por un ciclo de inflamación – infección – obstrucción y daño.

Es por lo tanto importante conocer, cual es la frecuencia de gérmenes aislados en cultivos de expectoración por grupo etéreo, en pacientes pediátricos mexicanos, así como su sensibilidad y resistencia a distintos antimicrobianos, generando así; conocimiento con evidencia válida.

OBJETIVO PRINCIPAL

Conocer la frecuencia de aislamiento de gérmenes por grupo etéreo, en cultivos de expectoración de pacientes con Fibrosis Quística del Hospital Infantil de México Federico Gómez y su relación con el genotipo.

HIPÓTESIS

En pacientes con Fibrosis Quística la colonización bacteriana es edad dependiente, encontrando hasta 60% de cultivos positivos para *P. aeruginosa* en pacientes de 18 años relacionándose con mutaciones más graves, sin embargo, en nuestro medio consideramos que la frecuencia de aislamientos de *P. aeruginosa* es mayor que la reportada en la literatura.

JUSTIFICACIÓN

Debido a que en México no existen estudios acerca de la frecuencia de gérmenes aislados en pacientes pediátricos con FQ consideramos necesario determinar la misma, para de acuerdo a la prevalencia de gérmenes por grupo etéreo, las principales sensibilidades y resistencias reportadas, proponer un esquema de tratamiento lo más apropiado para nuestra población.

MATERIAL Y MÉTODOS

DISEÑO DEL ESTUDIO.

Retrospectivo, retrolectivo, descriptivo, comparativo y transversal.

FUENTE.

Expedientes clínicos y cultivos de pacientes con diagnóstico de Fibrosis Quística del Hospital Infantil de México Federico Gómez, del 1º de Enero de 2001 a 31 de Diciembre de 2008, que cumplan con criterios de inclusión.

TAMAÑO DE LA MUESTRA.

Debido a que la población en estudio es una muestra consecutiva de cultivos de pacientes pediátricos con FQ en un lapso de tiempo preestablecido, no determinamos el tamaño de la muestra.

CRITERIOS DE INCLUSION.

- a) Pacientes con diagnóstico de Fibrosis Quística establecido por dos determinaciones de cloros en sudor > 60 mEq/L realizadas por el método de iontoforesis cuantitativa con pilocarpina descrito por Gibson y Cooke (41), o estudio genético.
- b) Pacientes que cuenten con al menos un cultivo de expectoración con antibiograma.

CRITERIOS DE EXCLUSIÓN.

Pacientes con alguna enfermedad concomitante que sesgara los resultados del estudio como inmunodeficiencias, etc.

CRITERIOS DE ELIMINACIÓN.

No aplica al tratarse de un estudio transversal.

DESCRIPCIÓN DEL PROCEDIMIENTO.

Se revisaron resultados de cultivos de expedientes clínicos de pacientes con diagnóstico de FQ del HIMFG así como libretas de cultivos del laboratorio del HIMFG y se vaciaron en la hoja de recolección de datos (anexo 1 y 2), para posteriormente hacer el análisis estadístico por frecuencia y porcentaje.

IX. DESCRIPCIÓN DE LAS VARIABLES

VARIABLES	DEFINICION	INDICADOR	ESCALA
<i>EDAD</i>	Tiempo transcurrido desde el nacimiento hasta el momento del estudio	En meses	Cuantitativa
<i>SEXO</i>	Características biológicas que definen al ser humano	Femenino, Masculino	Cualitativa
<i>GENOTIPO</i>	Constitución genética de un individuo.	Resultado del CFTR.	Nominal/Dicotómica.
<i>CULTIVO DE ESPUTO</i>	Método diagnóstico de infecciones por diferentes agentes antimicrobianos obtenido por isopado, aspirado bronquial, esputo inducido.	Positivo. Negativo.	Nominal. Dicotómica.
<i>GERMEN AISLADO</i>	Agente causal infeccioso que crece en un medio de cultivo.	Resultado del cultivo.	Politómica.
<i>EDAD DE DIAGNÓSTICO</i>	Tiempo transcurrido desde el nacimiento hasta el día del diagnóstico de FQ.	En meses.	Cuantitativa
<i>MUTACIONES DEL CFTR</i>	El análisis de mutaciones del CFTR se realiza de forma rutinaria en el INMEGEN durante el seguimiento de cada paciente y su familia.	Resultado de mutación del CFTR	Nominal

<i>EDAD ACTUAL AL AÑO 2008</i>	Tiempo transcurrido desde el nacimiento hasta el 31 de Diciembre de 2008.	En meses	Cuantitativa
<i>ESTADO ACTUAL</i>	Condición del paciente al 31 de Diciembre de 2008.	Muerto, vivo o perdido.	Nominal, politémica.
<i>EDAD DE FALLECIMIENTO</i>	Tiempo transcurrido desde el nacimiento hasta el día de su defunción.	En meses.	Cuantitativa

X. Limitaciones del Estudio

El análisis de los cultivos fue independiente de los pacientes aunque existe un estudio de la parte clínica de estos. El estudio de los cultivos es un estudio epidemiológico ya que analizan la población bacteriana que afecta a los niños con fibrosis quística. Algunas de las conclusiones como la no 4 tendría que confirmarse en estudios prospectivos ya que no podemos asegurar que los cultivos de un mismo paciente no corresponden al mismo evento infeccioso.

XI. Consideraciones Éticas

Este estudio será evaluado por la comisión de Investigación del HIMFG y la información obtenida durante el estudio será mantenida con estricta confidencialidad.

ANÁLISIS ESTADÍSTICO Y RESULTADOS.

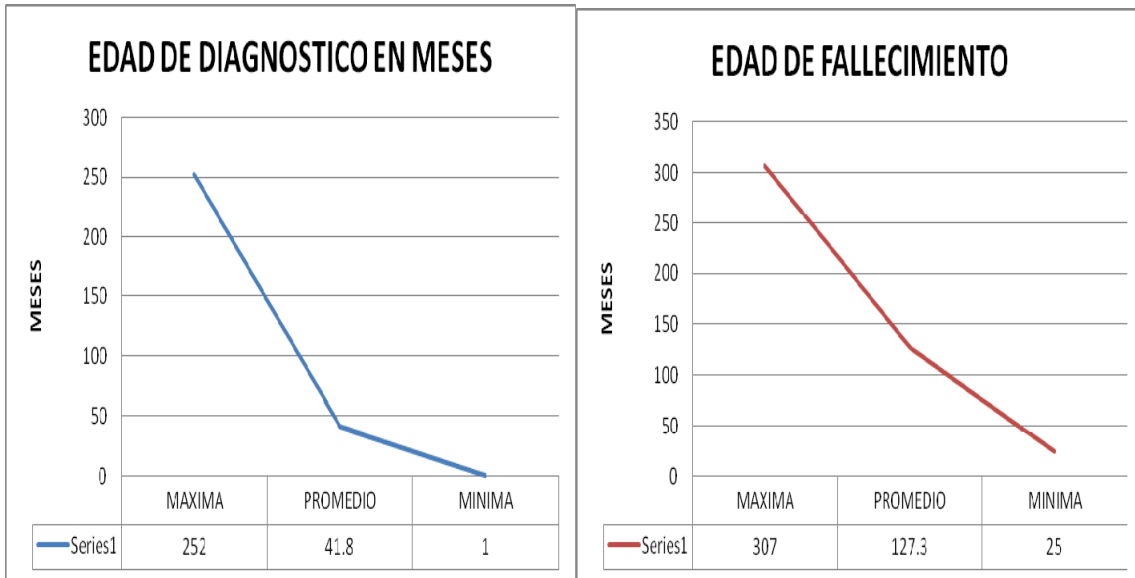
Se describieron las variables cuantitativas mediante la media y desviación estándar y las variables cualitativas calculando los porcentajes de las mismas. Posteriormente se realizó el análisis factorial, para relacionar resultado de cultivos y mutaciones del CFTR. Utilizaremos el sistema SPSS 12.0.

Así también se llevará a cabo una relación de momios para riesgo de fallecimiento conforme a germen aislado.

RESULTADOS

Se incluyeron un total de 293 pacientes de los cuales 129 (44%) correspondieron al género masculino y 164 (56%) al femenino. La edad media en meses al diagnóstico de FQ fue de 41.8 con una máxima de 252 y una mínima de 1 mes, con una desviación estándar de 48.5 meses; la edad media en meses de ingreso al HIMFG fue de 48.5 meses, con una desviación estándar de 49.8 meses.





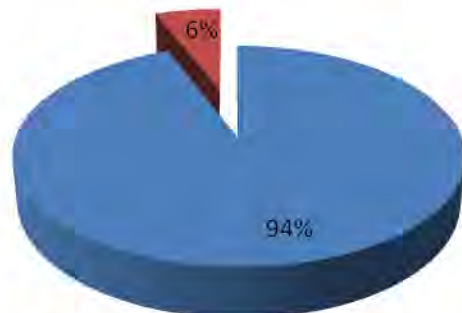
El estado actual de los pacientes es: 138 (47%) pacientes vivos; de los cuales, la edad media al año 2008 es de 139.8 meses con una máxima de 322 y una mínima de 9 meses. 81 (27.6%) pacientes muertos; con una edad promedio de fallecimiento de 250.78 meses y por último 74 (25.2%) pacientes perdidos.



Del total de pacientes 276 (94.2%) eran insuficientes pancreáticos y 17 (5.8%) suficientes pancreáticos.

FUNCIÓN DEL PANCREAS

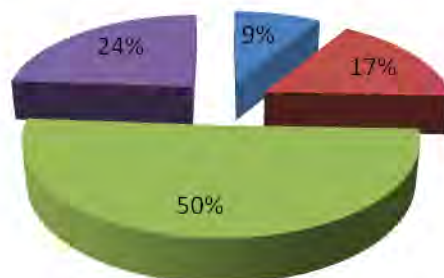
■ CON INSUFICIENCIA PANCREÁTICA ■ SIN INSUFICIENCIA PANCREÁTICA



En cuanto a la mutación genética con la que contaban 26 pacientes (8.8%) fueron positivos para mutación homocigotos $\Delta F508$, 49 (16.7%) heterocigotos $\Delta F508$, 148 (50.5%) no contaban con estudio genético y 70 (23.8%) otro tipo de mutación.

TIPO DE MUTACIÓN

■ HOMOCIGOTO DF508 ■ HETEROCIGOTO DF508
■ SIN ESTUDIO GENETICO ■ OTROS



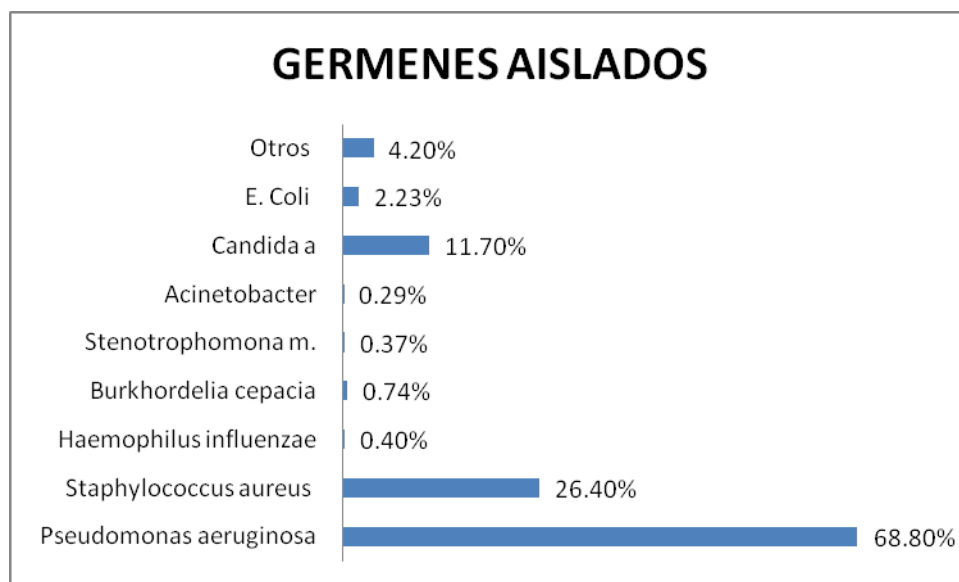
La determinación de cloros en sudor promedio por el método de Gibson y Cooke fue de 106.2 mmol/L, con un valor máximo de 157 y un mínimo de 70 mmol/L.

En cuanto a la toma de cultivos, solo 1 paciente (0.34%) tuvo un máximo de 21 cultivos lo que significa 2 cultivos por año en promedio y 77 pacientes (26.2%) un mínimo de 1 cultivo.

El número total de cultivos revisados fueron 1341, de los cuales se reportaron 1143 (85%) positivos y 198 (15%) negativos. El método de obtención de la muestra fue mediante expectoración 807 (60.1%), aspirado bronquial 510 (38.2%) y cultivo faríngeo 23 (1.71%). Se realizó examen microscópico de todos los esputos previa tinción de Gram, con control de calidad de la muestra según los criterios de Murray y Washington. Todas las muestras validas fueron sembradas en medios de McConkey, agar sangre - CNA, agar chocolate. Se incubaron durante 48 – 72 hrs a 37° en atmósfera con un 5% de CO2. Para la identificación y el estudio de sensibilidades y resistencias se emplearon paneles WIDER I.

En cuanto a la edad de la toma del cultivo, 242 (18.2%) correspondían a la edad de 0 a 24 meses, 712 (53%) a la edad de 25 a 120 meses y 387 (28.8%) de 121 meses o más.

De los cultivos positivos: 924 (68.8%) fueron para *Pseudomonas aeruginosa*, 355 (26.4%) para *Staphylococcus aureus*, 157 (11.7%) para *Candida albicans*, 30 (2.23%) para *E. coli*, 10 (0.74%) para *Burkholderia cepacia*, 6 (0.4%) para *Haemophilus influenzae*, 5 (0.37%) para *Stenotrophomona maltophilia*, 4 (0.29%) para *Acinetobacter* y 57 (4.2%) para otros.



De acuerdo a la edad, en el grupo de 0 a 24 meses se encontraron 45.8% de cultivos positivos para *Pseudomonas aeruginosa* y 54.1% negativos, en el grupo de 25 a 120 meses 67.1 % positivos y 32.8% negativos y en el grupo de 121 meses o más 67.9% y 32.1% negativos. Aplicando la prueba de Chi cuadrada comparando la proporción de cultivos positivos para *Pseudomonas aeruginosa* en menores de 24 meses y el resto de mayor edad, encontramos que el valor de $p=0.0001$ lo cual es estadísticamente significativo.

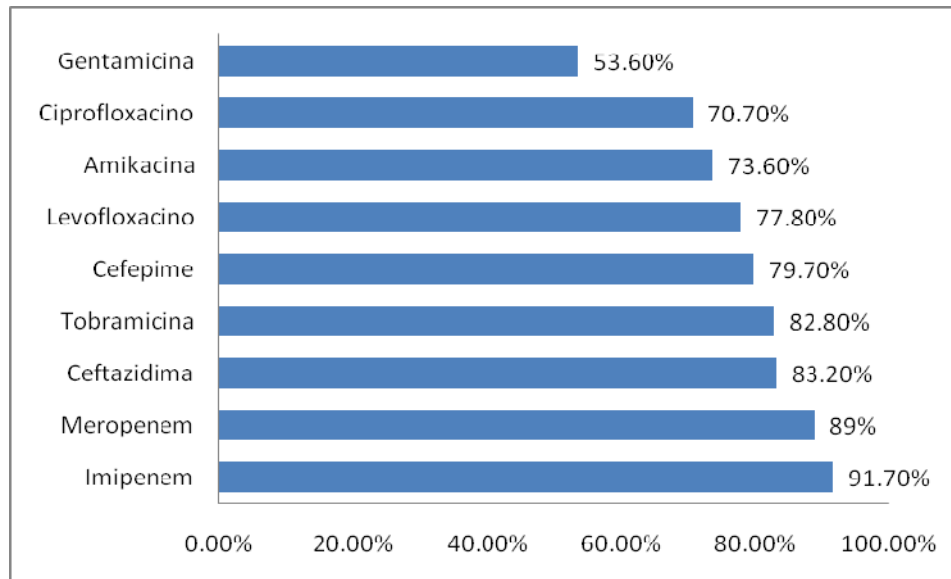
RIESGO DE ADQUISICIÓN DE *Pseudomonas aeruginosa* DE ACUERDO A GRUPO ETAREO EN PORCENTAJE

0 A 24 MESES	45.8%
25 A 120 MESES	67.1%
121 MESES O MÁS	67.9%
PRUEBA DE Chi cuadrada	Valor de $p =0.0001$

Así también de acuerdo a la edad, en el grupo de 0 a 24 meses se encontraron 21.4% de cultivos positivos para *Staphylococcus aureus* y negativos de 78.5%, en el grupo de 25 a 120 meses 30% positivos y 70% negativos y finalmente en el grupo de 121 meses o más 22.7% positivos y 77.2% negativos.

Pseudomonas aeruginosa reportó una sensibilidad de 91.7% a imipenem, 89% a meropenem, 83.2% a ceftazidima, 82.8% a tobramicina, 79.7% a cefepime, 77.8% a levofloxacino, 73.6% a amikacina, 70.7% a ciprofloxacino y 53.6% a gentamicina. Mostrando una sensibilidad intermedia de 67% a carbenicilina, 57.6% a ceftriaxona y 37.6 a cefotaxima.

PRINCIPALES SENSIBILIDADES REPORTADAS DE *Pseudomonas aeruginosa* A DISTINTOS ANTIICROBIANOS



Staphylococcus aureus reportó una sensibilidad de 90.1% a dicloxacilina y 81.6% a levofloxacino.

Haemophilus influenzae reportó una sensibilidad de 83.3% para tobramicina, meropenem, imipenem, ciprofloxacino y levofloxacino.

Burkholderia cepacia mostró una sensibilidad de 80% para meropenem, 40% para levofloxacino, cefepime, ceftazidima y tobramicina, siendo 80% resistente a gentamicina y 60% a carbenicilina y ceftriaxona.

E. coli reportó una sensibilidad de 93.3% a imipenem, 83.3% a amikacina y 80% a ceftazidima y meropenem.

Del total de cultivos 71.29% mostró colonización por un solo germen y 28.71% colonización mixta, siendo de ésta la más frecuente *Pseudomonas aeruginosa* + *Staphylococcus aureus* en un 68.7% de los casos.



El ser homocigoto para el gen $\Delta F508$ aumenta 2.1 veces el riesgo relativo de presentar infección por *Pseudomonas aeruginosa* que ser heterocigoto $\Delta F508$.

El ser heterocigoto para la mutación $\Delta F508$ aumenta 1.58 veces el riesgo relativo de presentar infección por *Pseudomonas aeruginosa* en comparación con el ser portador de cualquier otra mutación genética (que no incluya la mutación $\Delta F508$).

RIESGO RELATIVO DE PRESENTAR INFECCIÓN POR *Pseudomonas aeruginosa* DE ACUERDO A MUTACIÓN.

HOMOCIGOTO $\Delta F508$	↑ 2.1 VECES RIESGO RELATIVO VS	HETEROCIGOTO $\Delta F508$
HETEROCIGOTO $\Delta F508$	↑ 1.58 VECES RIESGO RELATIVO VS	OTRA MUTACIÓN NO $\Delta F508$

RIESGO DE ADQUISICIÓN DE *Pseudomonas aeruginosa* DE ACUERDO A MUTACIÓN EN PORCENTAJE

OTRA MUTACIÓN NO Δ F508	60.2 %
HOMOCIGOTO Δ F508	62.0 %
HETEROCIGOTO Δ F508	68.5 %
PRUEBA DE Chi cuadrada	Valor de p =0.05

DISCUSIÓN

Debido a que la FQ es una enfermedad genética de las glándulas exocrinas, causada por mutaciones en un gen que codifica para una proteína conocida como factor de conductancia transmembranal de fibrosis quística (CFTR) y la expresión del mismo tiene un impacto sobre las manifestaciones de la enfermedad, quisimos determinar la relación que existe entre gérmenes aislados en cultivos de secreción bronquial y el genotipo; así como determinar la frecuencia de aislamiento de distintos gérmenes en una muestra de 293 pacientes pediátricos mexicanos con diagnóstico de FQ.

De acuerdo a los registros de la Fundación de FQ en Estados Unidos ⁽³⁾ existe un predominio de pacientes del género masculino sobre el femenino afectados por el padecimiento, reportando 54% para el primer grupo, sin embargo en nuestra población se encontró predominio del género femenino sobre el masculino, reportando 56% para el primer grupo. En cuanto a la edad de diagnóstico de la enfermedad, siendo esta un factor determinante para incidir de manera oportuna sobre el tratamiento adecuado de estos pacientes, el registro americano cuenta con una edad media al diagnóstico de 34.8 meses. En nuestra población la edad promedio de diagnóstico fue de 41.8 meses, situación que refleja el retraso en el inicio de un tratamiento adecuado para cada paciente y la proyección a futuro de mayores complicaciones, influyendo en el tiempo de sobrevivencia medio ya que en el registro americano es de 331.2 meses vs 250.7 meses en nuestra población.

Los patógenos bacterianos que colonizan la vía aérea en los pacientes con FQ lo hacen frecuentemente siguiendo una secuencia, más o menos establecida, dependiente de la edad. La mayoría son colonizados en los estadios iniciales por *S. aureus* y *H. influenzae*. ⁽³²⁾ *S. aureus* es a menudo el primer microorganismo que se aísla en los niños pequeños con FQ, el registro americano y otras series como Ratjen et al ⁽⁴⁾ muestran un aislamiento en sus pacientes de 28.3%, siendo en el registro americano el patógeno más común en los pacientes menores de un año de edad. En nuestra serie, tuvimos un aislamiento de 26.4% para *Staphylococcus aureus*, no siendo el patógeno más común en menores de 24

meses, ocupando dicho lugar *Pseudomonas aeruginosa* con un aislamiento de 45.8% en menores de 24 meses.

Mientras que la colonización por *S. aureus* decrece con la edad de los pacientes, corroborado en nuestro estudio, la infección por *Pseudomonas aeruginosa* se incrementa de forma gradual hasta convertirse en el patógeno más frecuente, siendo en el registro americano hasta de 60.7%; confirmamos nuestra hipótesis de que en nuestro medio contamos con un aislamiento mayor que el reportado en la literatura, siendo este de 68.8%, con un predominio de 69.7% en el grupo etéreo de 121 meses o más.

Teniendo en cuenta que los antibióticos beta lactámicos en combinación con los aminoglucósidos constituyen la terapia de elección para el tratamiento de las infecciones causadas por *P. aeruginosa*, Henwood et al ⁽¹¹⁾ observó un elevado porcentaje de cepas sensibles a ceftazidima (85%) y amikacina (50%), otras series como Quintas et al. ⁽¹³⁾ reportan una sensibilidad de 60% a ceftazidima y 100% para amikacina.

En nuestro estudio *Pseudomonas aeruginosa* muestra una sensibilidad amplia a distintos antimicrobianos siendo 82.8% sensible a ceftazidima, 70.7% a amikacina y 79.7% a tobramicina, con lo cual consideramos tenemos una resistencia aún baja a dichos antimicrobianos; y el decremento en la resistencia a aminoglucosidos puede ser atribuida al empleo de tobramicina inhalada a partir del año 2004.

Así también, reportamos una sensibilidad de 91.7% a imipenem y 89% a meropenem, considerando a este último como la terapia de elección aunado a altas dosis de tobramicina en cepas multirresistentes de *Pseudomonas aeruginosa*, de acuerdo a lo publicado por Bianca J, Lang et al.⁽¹²⁾.

En cuanto a la mutación genética, un estudio reciente en enfermos de las unidades de FQ de EE.UU. concluye, que los pacientes con genotipos graves (delF508, y otras mutaciones de clase funcional I, II y III) tienen más riesgo (OR 1.8) de una supervivencia reducida y una mayor posibilidad de adquisición precoz de *P. aeruginosa* frente al grupo con genotipos leves (clases IV y V) ⁽⁷⁾. En nuestra muestra concluimos que de los pacientes a quienes se les realizó determinación

genética, el 48.2% contaba con una mutación diferente para homocigoto o heterocigoto $\Delta F508$, en segundo lugar 33.7% fueron positivos para mutación heterocigoto $\Delta F508$ y por último 17.9% positivos para mutación homocigoto $\Delta F508$. Determinando que el ser homocigoto para el gen $\Delta F508$, aumenta 2.1 veces el riesgo relativo de presentar infección por *Pseudomonas aeruginosa* que ser heterocigoto $\Delta F508$. Y el ser heterocigoto para el gen $\Delta F508$, aumenta 1.58 veces el riesgo relativo de presentar infección por *Pseudomonas aeruginosa*.

CONCLUSIONES.

- La proporción de cultivos positivos para *Pseudomonas aeruginosa* en menores de 24 meses comparado con la proporción de cultivos positivos en mayores de 24 meses es estadísticamente significativa.
- La proporción de pacientes menores de 24 meses de nuestra muestra que cuentan con cultivos positivos para *Staphylococcus aureus* es menor a la descrita en la literatura.
- *Pseudomonas aeruginosa* muestra una amplia sensibilidad a distintos antibióticos lo que contrasta con lo descrito en la literatura en donde se describe que estos microorganismos son multiresistentes.
- La colonización por *Pseudomonas aeruginosa* parece ir aumentando a lo largo de la evolución de la enfermedad de los pacientes con diagnóstico de fibrosis quística.
- El ser homocigoto para el gen $\Delta F508$ aumenta 2.1 veces el riesgo relativo de presentar infección por *Pseudomonas aeruginosa* comparado con ser heterocigoto $\Delta F508$.
- El ser heterocigoto para la mutación $\Delta F508$ aumenta 1.58 veces el riesgo de presentar infección por *Pseudomonas aeruginosa* comparado con el ser portador de cualquier otra mutación genética (que no incluya la mutación $\Delta F508$).

BIBLIOGRAFIA

- 1- Kerem B, Rommens JM, Markiewicz D.: "Identification of the cystic fibrosis gene : genetic analysis." *Science*. 1999; 245: 1073 – 1080.
- 2- Donaldson SH, Boucher RC: "Update on pathogenesis of cystic fibrosis lung disease." *Current Opinion Pulmonary Medicine*. 2003; 9:486 – 491.
- 3- Stacey C. FitzSimmons. The changing epidemiology of cystic fibrosis. *The Journal of pediatrics*. January 1993. Vol 1. Number 1. And Canadian Patient Data Registry Nacional Report 1995. Canadian Cystic Fibrosis Foundation.
- 4- M, Gibson RL, Castile R. Early pulmonary infection , inflammation, and clinical outcomes in infants with cystic fibrosis. *Pediatric Pulmonology*.2001; 164: 1425-31. Boucher RC.: "An overview of the pathogenesis of cystic fibrosis lung disease". *Adv Drug Deliv Rev*. 2002. 54; 1359 – 1371.
- 5- Pamukcu A, Bush A, Buchdahl R. Effects of *P. aeruginosa* colonization on lung function and anthropometric variables in children with cystic fibrosis . *Pediatric Pulmology*. 1995; 19: 10-5.
- 6- West SE, Zeng L, Lee B, Kosorok MR: "Respiratory infections with *Pseudomonas aeruginosa* in children with cystic fibrosis: early detection by serology and assessment of risk factors". *JAMA* 2002. 287: 2958 – 2967.
- 7.-Lai HJ, Cheng Y, Cho H, Kosorok MR, Farrell PM. Association between initial disease presentation, lung disease outcomes, and survival in patients with cystic fibrosis. *Am J Epidemiol* 2004; 159: 537-46.
- 8.- García Hernández G, Antelo C, Maiz L, Girón RM, Salcedo A, Martínez Gimeno A, et al. Pacientes con fibrosis quística atendidos en las unidades de fibrosis quística de la Comunidad de Madrid: estudio transversal de 387 casos. *Med Clin (Barc)* 2004;122: 698-700.
- 9.- Flores – Martínez SE. Molecular analysis of northwestern Mexican patients with cystic fibrosis: screening of 10 know mutations. *Mutations in brief* no. 185. *Hum Mutat*. 1998; 12: 217-8.
- 10.- Orozco L. Spectrum of CFTR mutations in Mexican cystic fibrosis patients: identification of five novel mutations. *Hum Genet*. 2000; 106:360-5.
- 11.- Henwood CJ, Livermo DM, James D, Warner M and the *Pseudomonas* Study Group. Antimicrobiol susceptibility of *Pseudomonas aeruginosa*: results of a

UK survey and evaluation of the British Society for Antimicrobial Chemotherapy Disc Susceptibility Test. *J Antimicrobiol Chemother* 2001; 47: 789-99.

12.- Chen Hy, Yuan M, Ibrahim IB, Livermore DM. National survey of susceptibility to antimicrobial amongst clinical isolates of *Pseudomonas aeruginosa*. *J. Antimicrob. Chemother.* 1995. 35: 521-34.

13.- Quintas S, Pereira L, Lito L, Barreto C. Epidemiological survey of bacteria isolated from the respiratory tract of Cystic Fibrosis patient. *Rev Part Pneumology.* 2003; 14(5 suppl 1): 35-36.

14.- A. D. García. Sensibilidad a los antimicrobianos de los aislamientos bacterianos de pacientes con Fibrosis Quística. *Rev Esp*, Diciembre 2004; Vol.17 (Nº 4): 332-335.

15.- Rosenfeld M, Davis R, Fitzsimmons S, Pepe M, Ramsey B. Gender gap in cystic fibrosis mortality. *Am J Epidemiol* 1997; 145: 794-803.

16.- O'Connor GT, Quinton HB, Kneeland T, Kahn R, Lever T, Maddock J et al. Median household income and mortality rate in cystic fibrosis. *Pediatrics* 2003; 333-339.

17- Mckone EF, Emerson SS, Edwards KL, Aitken ML. Effect of genotype on phenotype and mortality in cystic fibrosis: a retrospective cohort study. *Lancet* 2003; 361: 1671-1676.

18.- Emerson J, Rosenfeld M, Mcnamara S, Ramsey B, Gibson RL. *Pseudomonas aeruginosa* and other predictors of mortality and morbidity in young children with cystic fibrosis. *Pediatr Pulmonol* 2002; 34: 91-100.

19.- Orozco L, Zielenski J, Markiewicz D,. Two novel frameshift deletion (1924del7, 2055del9_A) in the CFTR gene in Mexican cystic fibrosis patients. *Human Mutation* 1997;10:239-240.

20. Riordan JR, Romens JM, Kerem BS. Identification of the cystic fibrosis gene: cloning and characterization of complementary DNA. *Science* 1989;245:1066-1073.

21. Cystic Fibrosis Genetic Analysis Consortium: population variation of common cystic fibrosis mutations. *Hum Mutat* 1994;4:167-177.

22. Rosenfeld M, Gibson RL, McNamara S. 2001. Early pulmonary infection, inflammation, and clinical outcomes in infants with cystic fibrosis. *Pediatr. Pulmonol.* 32:356-66

23. Tarran R, Grubb BR, Gatzky JT. I. 2001. The relative roles of passive surface forces and active ion transport in the modulation of airway surface liquid volume and composition. *J. Gen. Physiol.* 118:223–36.

24. Raviv U, Glasson S, Kampf N, et al. 2003. Lubrication by charged polymers. *Nature* 425:163–165.

25. Matsui, H. et al. (2006) A physical linkage between CF airway surface dehydration and *P. aeruginosa* biofilms. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 103, 18131–18136.

26. Scheffner AL, Medler EM, Jacobs LW, et al. The in vitro reduction in viscosity of human tracheobronchial secretions by acetylcysteine. *Am Rev Respir Dis* 1964; 90:721-729.

27. Welsh MJ, Smith AE. Molecular mechanisms of CFTR chloride channel dysfunction in cystic fibrosis. *Cell.* 1993; 73:1251 -1254..

28. Sheppard DN, Rich DP. Mutations in CFTR associated with mild-disease-from Cl⁻ channels with altered pore properties. *Nature.* 1993; 362: 160-164.

29. Elborn JS, Cordon SM, Shale DJ. Inflammatory response to first infection with *P. aeruginosa*. *Pediatr Pulmonol.* 1993; 15: 287-291.

30. Rosenstein RC. The diagnosis of cystic fibrosis: a consensus statement. *J Pediatr* 1998; 132: 589-95.

31. Girón RM, Ancochea J. El diagnóstico de la fibrosis quística en el adulto. *Arch Bronconeumol* 2000; 36: 3-6.

32. Chernish RN, Aaron SD. Approach to resistant gram-negative bacterial pulmonary infections in patients with cystic fibrosis. *Curr Opin Pulm Med* 2003; 9: 509-515

33. Cantón R. Importancia de los protocolos microbiológicos en la obtención de datos de colonización pulmonar y en el seguimiento del paciente con fibrosis quística. 2004. En: *Formación continuada en Fibrosis Quística. Microbiología y Antimicrobianos.* R. Cantón y F. Baquero Coordinadores). Madrid: Adalia Farma; 2004. p. 45-56.

34. Welch DF, Muszynski MJ, Pai CH, Marcon MJ, Hribar MM, Gilligan PH, et al. Selective and differential medium for recovery of *Pseudomonas cepacia* from the respiratory tracts of patients

35. Aaron SD, Kottachchi D, Ferris WJ, Vandemheen KL, St Denis ML, Plouffe A, et al. Sputum versus bronchoscopy for diagnosis of *Pseudomonas aeruginosa* biofilms in cystic fibrosis. *Eur Respir J.* 2004; 24: 631-637.

36. Xu J, Moore JE, Murphy PG, Millar BC, Elborn JS. Early detection of *Pseudomonas aeruginosa*. Comparison of conventional versus molecular (PCR) detection directly from adult patients with cystic fibrosis (CF). *Ann Clin Microbiol Antimicrob* 2004; 20; 3: 21.

37. Cantón R. Concepto de sensibilidad y resistencia a los antimicrobianos y su aplicación a los patógenos que colonizan la vía aérea en el paciente con fibrosis quística. Interpretación del antibiograma. En: Formación continua en Fibrosis Quística. Microbiología y Antimicrobianos. R. Cantón y F. Baquero. Madrid: Adalia Farma; 2004. p. 59-74.

38. Bauernfeind A. Marks MI. Cystic fibrosis pulmonary infections: Lessons from around the world. Basel: Birkhauser Verlag 1996.

39. Ratjen F. Doring G. Effect of inhaled tobramycin on early *P. aeruginosa* colonization in patients with cystic fibrosis. *Lancet* 2001; 358: 983- 984

40. Doring G. Conway SP. Antibiotic therapy against *P. aeruginosa* in cystic fibrosis: A European consensus. *Eur Respir J.* 2000; 16: 749 – 752.

41. Gibson LE, Cooke RE. A test for concentration of electrolytes en sweat in cystic fibrosis of the pancreas utilizing pilocarpine by iontophoresis. *Pediatrics.* 1959; 23: 545 -549

ANEXOS

Hoja de recolección de datos # 1 y 2.

NOMBRE	REGISTRO	SEXO	EDAD ACTUAL AL AÑO 2008	LUGAR DE NACIMIENTO	EDAD DE DX	EDAD AL INGRESO
ESTADO ACTUAL (0=Muerto, 1=vivo, 9=perdido)	CLOROSUDOR	MUTACIÓN (1= HOMOCIGOTO ΔF508, 2=HETEROCIGOTO ΔF508, 3= SIN ESTUDIO GENÉTICO, 4= OTROS).	NUMERO DE CULTIVOS	INSUFICIENCIA PANCREÁTICA	EDAD DE FALLECIMIENTO	

NOMBRE	REGISTRO	COLONIZACIÓN MIXTA (1=P. a + P. a, 2= P.a + S. a., 3=Otra mixta, 0= no mixta)	Pseudomonas a 1 (0=negativo, 1=positivo)	AMIKACINA (1=sensible, 2= resistente, 3= intermedio, 0= no realizado)	GENTAMICINA (1= sensible, 2= resistente, 3= intermedio, 0= no realizado)	TOBRAMICINA (1=sensible, 2=resistente, 3= intermedio, 0=no realizado)

CEFTAZIDIMA (1=sensible, 2= resistente, 3= intermedio, 0= no realizado)	CARBENICILINA (1=sensible, 2=resistente, 3=intermedio, 0= no realizado)	CEFEPIME (1=sensible, 2=resistente, 3=intermedio, 0= no realizado)	CEFTRIAXONA (1=sensible, 2=resistente, 3=intermedio, 0= no realizado)	CEFOTAXIMA (1=sensible, 2=resistente, 3=intermedio, 0= no realizado)	MEROPENEM (1=sensible, 2=resistente, 3=intermedio, 0= no realizado)	CIPROFLOXACINA (1=sensible, 2= resistente, 3=intermedio, 0=no realizado)

LEVOFLOXACINO (1=sensible, 2=resistente, 3=intermedio, 0=no realizado)	OXACILINA (1=sensible, 2=resistente, 3=intermedio, 0=no realizado)	IMIPENEM (1=sensible, 2=resistente, 3=intermedio, 0=no realizado)	Pseudomonas a. 2 (0=negativo, 1=positivo)	AMIKACINA (1=sensible, 2= resistente, 3= intermedio, 0= no realizado)	GENTAMICI NA (1= sensible, 2= resistente, 3= intermedio, 0= no realizado)	TOBRAMICIN A (1=sensible, 2=resistente, 3= intermedio, 0=no realizado)
--	--	---	--	--	---	---

CEFTAZIDIMA (1=sensible, 2= resistente, 3= intermedio, 0= no realizado)	CARBENICILINA (1=sensible, 2=resistente, 3=intermedio, 0= no realizado)	CEFEPIME (1=sensible, 2=resistente, 3=intermedio, 0= no realizado)	CEFTRIAXONA (1=sensible, 2=resistente, 3=intermedio, 0= no realizado)	CEFOTAXI MA (1=sensibl e, 2=resistent e, 3=intermed io, 0= no realizado)	MEROPENE M (1=sensible, 2=resistente, 3=intermedio, 0= no realizado)	CIPROFLOXACINA (1=sensible, 2= resistente, 3=intermedio, 0=no realizado)
---	---	---	---	--	--	---

LEVOFLOXACINO (1=sensible, 2=resistente, 3=intermedio, 0=no realizado)	OXACILINA (1=sensible, 2=resistente, 3=intermedio, 0=no realizado)	IMIPENEM (1=sensible, 2=resistente, 3=intermedio, 0=no realizado)
--	--	---

Staphylococcus a. (0=negativo, 1=positivo)	AMIKACINA (1=sensible, 2= resistente, 3= intermedio, 0= no realizado)	GENTAMICINA (1= sensible, 2= resistente, 3= intermedio, 0= no realizado)	TOBRAMICINA (1=sensible, 2=resistente, 3= intermedio, 0=no realizado)	CEFTAZIDIMA (1=sensible, 2= resistente, 3= intermedio, 0= no realizado)	CARBENICILINA (1=sensible, 2=resistente, 3=intermedio, 0= no realizado)
---	--	--	---	---	---

CEFEPIME (1=sensible, 2=resistente, 3=intermedio, 0= no realizado)	CEFTRIAXONA (1=sensible, 2=resistente, 3=intermedio, 0= no realizado)	CEFOTAXIMA (1=sensible, 2=resistente, 3=intermedio, 0= no realizado)	MEROPENEM (1=sensible, 2=resistente, 3=intermedio, 0= no realizado)	CIPROFLOXACINA (1=sensible, 2= resistente, 3=intermedio, 0=no realizado)
---	---	--	---	--

LEVOFLOXACINO (1=sensible, 2=resistente, 3=intermedio, 0=no realizado)	OXACILINA (1=sensible, 2=resistente, 3=intermedio, 0=no realizado)	IMIPENEM (1=sensible, 2=resistente, 3=intermedio, 0=no realizado)
--	---	--

Haemophilus i. (0=negativo, 1=positivo)	Burkholderia c. (0=negativo, 1=positivo)	Stenotropho monas m. (0=negativo, 1= positivo)	Acinetobacter x. (0=negativo, 1=positivo).	Candida a. (0=negativ o, 1=positivo)	E. coli (0=negativo, 1=positivo)	Otros (0=negativo, 1=positivo (Enterobacter cloacae, Serratia marcescens, Klebsiella oxytoca, Citrobacter freundii, Stenotrophomonas maltophilia)
---	--	---	--	--	--	--

FORMA DE OBTENCIÓN DE MUESTRA (1= Expectoración, 2=Aspirado bronquial, 3=cultivo orofaríngeo)	REPORTE DE CULTIVO (1= POSITIVO, 2= NEGATIVO)	EDAD DE TOMA DE CULTIVO
--	--	-------------------------------