



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

Facultad de Medicina

División de estudios de Posgrado e Investigación

Secretaría de Salud

Instituto Nacional de Pediatría

Caracterización microbiológica de *Pseudomonas aeruginosa* en
pacientes con Fibrosis Quística en el Instituto Nacional de Pediatría.

Tesis para obtener el grado de:

Especialista en Neumología Pediátrica

Presenta:

Dra. Susann Fabiola Galo Tróchez

Asesor titular:

Dr. Francisco Javier Cuevas Schacht



Ciudad de México, México

Julio de 2016



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.



INDICE

1. Introducción	2
2. Planteamiento del Problema	4
3. Justificación	5
4. Hipótesis	6
5. Objetivo General	6
6. Objetivo Específico	6
7. Marco Teórico	7
8. Diseño Metodológico	16
9. Operacionalización de Variables	18
10. Bibliografía	19
11. Anexos	21

Caracterización microbiológica de *Pseudomonas aeruginosa* en pacientes con Fibrosis Quística en el Instituto Nacional de Pediatría.

Autor: Dra. Susann Fabiola Galo Tróchez
Tutor: Dr. Francisco Javier Cuevas Schacht

Introducción

La Fibrosis Quística (FQ) es una enfermedad genética autosómica recesiva potencialmente letal, cuya incidencia en los EEUU es de 1/2,500 recién nacidos vivos y en el resto de los países desarrollados tiene una prevalencia de 7/100,000 habitantes. El defecto genético está localizado en el brazo largo del cromosoma 7, ésta es una glucoproteína transportadora dependiente de ATP y mediada por AMPc, llamada regulador de la conductancia transmembrana de la FQ (CFTR). Existen más de 2,000 mutaciones reportadas hasta la fecha¹, la más frecuente es la delección del codón Δ F508 (50-70%). El CFTR es un canal de cloro defectuoso, cuya alteración determina un transporte anormal de electrolitos en las células epiteliales en todos los órganos y sistemas, lo que condiciona la disfunción de diversas glándulas exocrinas y tiene como manifestaciones más importantes el aumento de electrolitos en el sudor, la obstrucción pulmonar crónica, la insuficiencia pancreática, la inflamación y la infección del aparato respiratorio. La infección respiratoria es una de las causas más importantes de la morbilidad y mortalidad en pacientes con FQ lo que afecta en su pronóstico y su calidad de vida. La afectación pulmonar en estos pacientes se caracteriza por la pérdida progresiva de la función pulmonar debido a la obstrucción de las vías respiratorias y a una respuesta inflamatoria frente a la infección bacteriana crónica. Se ha demostrado un incremento de la síntesis de diversos mediadores inflamatorios, principalmente IL-1, IL-8 y el Factor de Necrosis Tumoral alfa (TNF- α) junto con una deficiencia local de IL-10¹. A edades tempranas los pacientes con FQ pueden ser infectados por virus (Adenovirus, Rinovirus, coronavirus y Syncitial Respiratorio), *Staphylococcus aureus* y *Haemophilus influenzae*, los que favorecerían la denudación del epitelio respiratorio y estimularían la atracción de los neutrófilos con la producción de factores pro-inflamatorios¹. Se ha sugerido que las infecciones virales pueden predisponer a la colonización y sobre-infección bacteriana, o

están implicados en las exacerbaciones pulmonares. Posteriormente, hasta el 80% de ellos presenta cultivos positivos a *Pseudomonas aeruginosa*, el que inicialmente es del tipo no mucoso, con cultivos intermitentes pero luego se produce una selección de clones específicos, siendo la colonización permanente y de difícil erradicación². La *Pseudomonas aeruginosa* coloniza las vías respiratorias a través de la producción de una biopelícula que la protege de la actividad de los polimorfonucleares (PMN) y de los antibióticos, esta propiedad depende del “quorum sensing” (comunicación entre microorganismos), estas moléculas de señalización (lactonas de N-acil homosiderina) suprimirían la acción de los PMN. Otra propiedad importante de la *Pseudomonas aeruginosa* es su hipermutabilidad, caracterizada por una mutación espontánea en todo el genoma debido a defectos en los sistemas de reparación del ADN, lo que facilitaría la presencia de mutantes resistentes a los antibióticos. Una particularidad en estos pacientes es el fenómeno de colonización-infección. En cuanto a la *Pseudomonas aeruginosa*, ésta puede producir hasta cinco formas de colonización-infección: Colonización inicial: un primer cultivo positivo sin signos clínicos; Colonización intermitente: cultivos positivos luego de una colonización inicial en un período de seis meses y sin signos clínicos; Colonización con infección: colonización inicial o intermitente pero con signos clínicos; Colonización crónica: pacientes con cultivos positivos persistentes, o en más del 50% de los cultivos en los últimos 12 meses; y finalmente, infección crónica con exacerbaciones: se producen nuevos signos clínicos en el curso de una colonización crónica.

Constituye un problema de salud la elevada incidencia de infecciones respiratorias crónicas por *Pseudomonas aeruginosa* en los pacientes pediátricos con FQ, lo cual reduce de forma ostensible la expectativa y calidad de vida de estos. Con el propósito de caracterizar los aislados de *P. aeruginosa* obtenidos de pacientes con FQ se utilizó la reacción en cadena de la polimerasa en tiempo real, lo que nos permitió identificar los fenotipos aislados de muestras sucesivas de lavado broncoalveolar para el análisis de la epidemiología de *P. aeruginosa* en los enfermos de FQ que acudieron al Servicio de Neumología y Cirugía de Tórax del Instituto Nacional de Pediatría durante el periodo comprendido de Junio del 2015 a Junio del 2016.

Planteamiento Del Problema

La Fibrosis Quística (FQ) constituye un importante problema pediátrico por la elevada y prematura mortalidad que lo caracteriza, la deficiente calidad de vida que genera en los enfermos y la ausencia de un tratamiento curativo. La estrecha relación entre *Pseudomonas aeruginosa* y los pacientes con FQ ha sido ampliamente descrita; por encima del 80% de estos pacientes desarrollan infecciones crónicas por *P. aeruginosa*, ocurriendo en los primeros 2 años en aproximadamente 20% de los niños, aumentando al 40% antes de los 10 años de vida⁶, siendo ésta responsable de la infección pulmonar crónica más severa en éstos pacientes y asociándose a un deterioro progresivo de la función pulmonar.

La aparición por primera vez de *P. aeruginosa* en las secreciones bronquiales es indicación de antibioticoterapia agresiva aunque no exista ningún indicador clínico de exacerbación. En la mayoría de los pacientes la infección por *P. aeruginosa* es iniciada por cepas no mucoides y la transición a la variante mucoide se relaciona con el incremento de anticuerpos antipseudomonas. Aún con el empleo de terapias antibióticas agresivas, la infección por la forma mucoide de *P. aeruginosa* puede no ser erradicada, probablemente por la pobre penetración del antibiótico dentro de la biopelícula.⁵

Los fallos terapéuticos frente a *P. aeruginosa*, indican la necesidad de establecer diferenciación entre la persistencia de cepas idénticas, la evolución de las mismas y la reinfección debido a una nueva cepa, ya que diferentes cepas pueden desarrollar similares patrones de resistencia y aislamientos clínicos consecutivos de las mismas pueden exhibir diferentes patrones de susceptibilidad antimicrobiana.² Es de crucial importancia diagnosticar oportunamente la primoinfección por *Pseudomonas aeruginosa*, determinar si el paciente ha sido colonizado y establecer el fenotipo presente al momento del diagnóstico para ser luego comparado con los hallazgos posteriores en el mismo paciente.

Justificación

La Fibrosis Quística (FQ) es la enfermedad autosómica recesiva letal más frecuente en la raza caucásica; de evolución crónica, progresiva y compromiso multisistémico, presenta grandes variaciones fenotípicas según los diversos grupos étnicos estudiados. Si bien es cierto que existe un incremento en el número de casos reportados en México, el promedio de supervivencia aún no es ni siquiera la mitad de lo reportado en Estados Unidos, en donde se estima cercano a los 40 años; ello representan el doble de lo que fue hace 20 años. La incidencia de FQ en el hemisferio norte es alrededor de 1/2.000-1/2.500 nacidos vivos, siendo el 50% de los pacientes diagnosticados a la edad de 6 meses y el 90% a la edad de 8 años⁴. En México, se estima alrededor de 1/8,500 nacidos vivos, aunque este dato es sólo una aproximación y probablemente no represente la realidad epidemiológica.

La enfermedad pulmonar crónica progresiva es la manifestación clínica más importante en los pacientes con FQ y la infección pulmonar por *Pseudomonas aeruginosa* es la principal causa de morbilidad y mortalidad, pues una vez establecida en el tracto respiratorio bajo, es prácticamente imposible erradicarla a pesar de la terapia antibacteriana y el tratamiento en general.¹ En los pacientes con FQ, debido a la viscosidad de las secreciones, las bacterias inhaladas pueden adherirse y multiplicarse, sin que haya una respuesta por parte del organismo ni manifestaciones clínicas de la enfermedad, a esto se le denomina colonización, pero si hay una elevación de anticuerpos anti*Pseudomonas aeruginosa* como respuesta inflamatoria, estamos en presencia de una infección por esta bacteria. En pacientes con FQ la *Pseudomonas aeruginosa* es el patógeno más importante como causa de infección pulmonar crónica y se ha demostrado que la respuesta inflamatoria del pulmón puede contribuir a la patogénesis de esta infección, con la participación de los mecanismos de defensa específicos e inespecíficos³

Es de crucial importancia diagnosticar oportunamente la primoinfección por *Pseudomonas aeruginosa*, determinar si el paciente ha sido colonizado y establecer el fenotipo presente al momento del diagnóstico para ser luego comparado con los hallazgos posteriores en el mismo paciente.

Hipótesis

El paciente con Fibrosis Quística con colonización crónica por *Pseudomonas aeruginosa* presenta el mismo fenotipo durante sus exacerbaciones pulmonares que el aislado al momento del diagnóstico.

Objetivo General

Identificar los fenotipos de *Pseudomonas aeruginosa* aisladas de lavados broncoalveolares de pacientes con fibrosis quística manejados en el Servicio de Neumología y Cirugía de Tórax del Instituto Nacional de Pediatría durante el periodo comprendido de Junio del 2015 a Junio del 2016.

Objetivo Específico

Comparar los fenotipos de *Pseudomonas aeruginosa* aisladas durante las exacerbaciones pulmonares de los pacientes con Fibrosis Quística con los fenotipos encontrados al momento del diagnóstico de colonización.

Marco Teórico

I. Aspectos Genéticos

Un avance crucial en el entendimiento de FQ fue sin lugar a dudas la clonación del gen en 1989. Este gen de 230 kb, se encuentra localizado en el brazo largo del cromosoma 7 y codifica una proteína de 1.480 aminoácidos denominada CFTR (Cystic Fibrosis Transmembrane Regulator) situada en la porción apical de la membrana de las células epiteliales, que se expresa en las células secretorias, senos paranasales, pulmones, páncreas, hígado y tracto reproductivo. Consiste en doce regiones de membranas hidrofóbicas ligadas a dos puentes nucleótidos con su respectivo dominio y múltiples sitios para fosforilación (Figura 1). Desde que el gen fue clonado hasta la actualidad, se han identificado más de 2,000 mutaciones⁴.

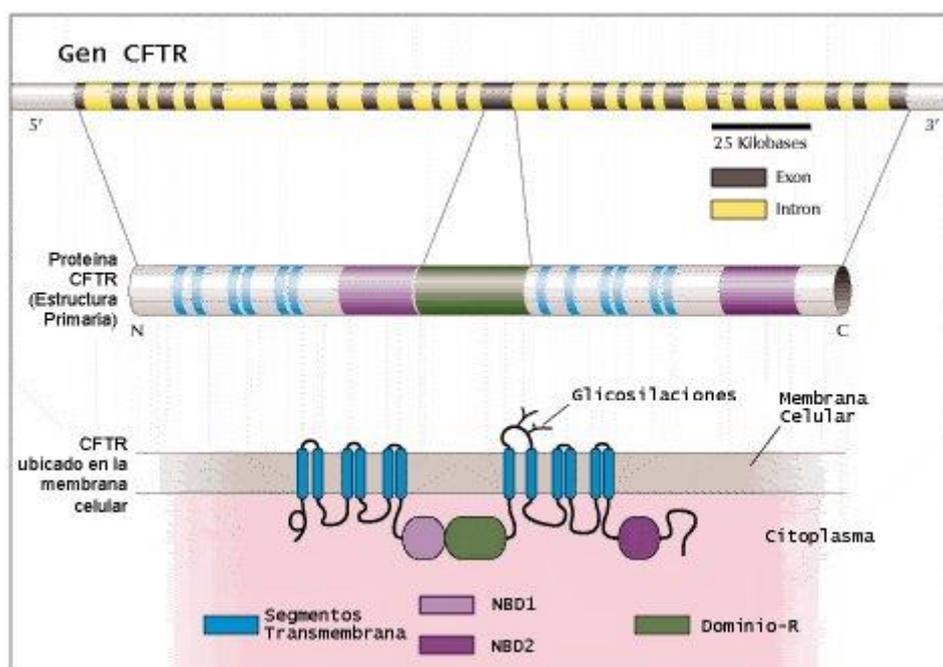


Figura 1. Representación gráfica de la proteína CFTR en la membrana celular.

Sin lugar a dudas, la mutación más frecuente es la delección del codón que produce la pérdida de un residuo de fenilalanina en la posición 508, denominada mutación DF508. Cerca del 70% de pacientes con FQ exhiben esta variedad, aunque existen grandes variaciones geográficas que oscilan entre 32 y 82%². Generalmente, los pacientes homocigotos para DF508 expresan enfermedad pulmonar, insuficiencia pancreática, azoospermia obstructiva y universalmente tienen pruebas de electrolitos en sudor elevado. Sin embargo, la función pulmonar es variable, lo cual sugiere la presencia de otros factores genéticos y ambientales. Entre los pacientes de países latinoamericanos se describe una prevalencia de F508 del cercana al 50%, siendo la segunda mutación más frecuente la G542X. Otras mutaciones encontradas fueron: W1282X, R1162X, R553X, G551D y R334W.⁴

En la actualidad se han descrito seis clases de mutaciones. La mutación **Clase I** (G542X, R1162X) es resultante de un defecto de inestabilidad del ácido ribonucleico mensajero o de una proteína anormal, la cual es rápidamente degradada. La mutación **Clase II** resulta de una falla en el proceso de síntesis de la proteína o del transporte de la misma a través de la membrana celular; esta clase incluye a la mutación F508 del. La mutación **Clase III** (G551D) resulta de una proteína correctamente localizada pero defectuosa en la actividad del canal. En la mutación Clase IV (R117H), la proteína está correctamente localizada y regulada pero tiene un defecto en la conductancia del cloro. La mutación **Clase V** (A455E) resulta en una reducida síntesis de CFTR. Finalmente, en la mutación Clase VI existe un defecto en la regulación de otros canales (principalmente Na, Cl). Las mutaciones **clases I-III** son las más comunes y están asociadas usualmente con insuficiencia pancreática. Esta característica está en relación con el efecto de la mutación en la producción de la proteína CFTR; valores < 3% se asocian a fenotipos más graves (figura 2).

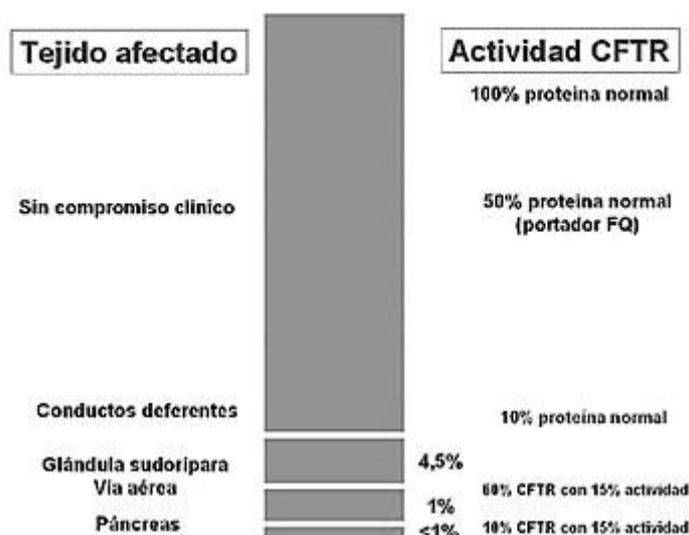


Figura 2. Expresión de la actividad normal de la proteína CFTR en relación con el tejido comprometido.

II. Fisiopatología y Aspectos Moleculares

Aunque es considerable el conocimiento molecular de CFTR, aún no se sabe exactamente cuál es la conexión entre la mutación del gen y la enfermedad pulmonar. Existe un considerable número de trabajos que muestran como el gen que codifica CFTR es regulado y procesado. La expresión de un gen defectuoso no es el único determinante que contribuye a los diferentes fenotipos clínicos, existiendo otros modificadores de canales también afectados. La tabla 1 muestra algunos de los mecanismos propuestos. CFTR es más que un canal de cloro; es una proteína compleja, responsable del transporte de iones y otras moléculas diferentes al cloro. Funciona como un exportador de membrana dependiente de AMP cíclico regulando la “exportación de iones” mediante la rectificación del canal, además de autorregular los canales de sodio sensibles (ENaC).⁶

Tabla 1. Funciones de la proteína CFTR

Equilibrio del agua
 Mecanismo de defensa
 Propiedades de ligazón de *Pseudomonas aeruginosa*
 Acción sobre canales de ENaC*
 Acción sobre la rectificación de canales de cloro
 Acción sobre los canales de potasio
 Acción sobre canales de bicarbonato
 Acción sobre canales de acuaporina
 Activación de las β -defensinas humanas-1

* ENaC: Canales de Sodio Sensibles

Existen diversas teorías que tratan de explicar la fisiopatología de la FQ. El transporte de iones (especialmente sodio) a través de la porción apical de la membrana genera diferencias de potencial (DP) que pueden ser medidos in vivo en la mucosa nasal o en la vía aérea baja. La administración de amiloride a pacientes con FQ reduce los DP a niveles normales, lo que sugiere que la "hiperabsorción" de sodio está incrementada dos o tres veces en los pacientes con FQ. Es probable que el defecto en ENaC sea secundario al defecto de la proteína CFTR (figura 3). El transporte de electrolitos es parcialmente responsable de la cantidad y composición del fluido en la superficie de la vía aérea (ASL: airway surface liquid).⁷ El ASL es una fina capa de 20-25 μm de profundidad de los cuales sólo 10 μm es líquido y el resto moco. El ASL provee una efectiva barrera defensiva frente a toxinas y agentes infecciosos, además de mantener un estado de hidratación "normal". La relación entre FQ, CFTR y alteración del ASL ha sido motivo de dos teorías opuestas (figura 4). Ambas teorías explican en parte, la infección temprana y persistente de la vía aérea. La hipótesis del volumen sostiene que CFTR regula el equilibrio del ASL mediante un transporte isotónico; bajo esta perspectiva, la deshidratación de la vía aérea interfiere con el trabajo y limpieza ciliar, produciendo un incremento de las bacterias e iniciando un proceso de inflamación. Existen trabajos que demuestran que el ASL obtenido de nariz de pacientes con FQ muestra igual osmolaridad que los sujetos controles; por su parte la hipótesis de la osmolaridad sostiene que en condiciones de salud, el ASL es hipotónico y la desproporcionada absorción de sal produce un incremento en la concentración de NaCl del orden de los 50 mM. A estas concentraciones las moléculas defensivas anti-bacterianas (defensinas 1 y 2) son inactivas. Ya que los

pacientes con FQ pierden la función de CFTR, ASL es relativamente inactivo, impidiendo la función de éstas moléculas defensoras, con una multiplicación de *P. aeruginosa* en cultivos celulares. No existe un consenso único que determine cuál ni cómo es la tonocidad del ASL en los sujetos con FQ. Existen serias limitaciones técnicas en la recolección de las muestras de ASL⁷.

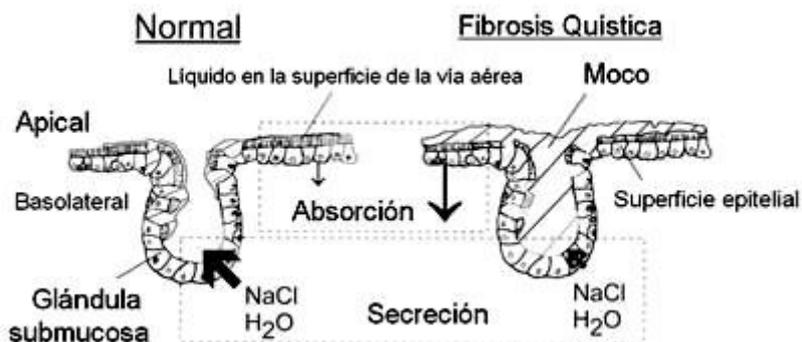


Figura 3. Actividad de la proteína CFTR en la membrana celular del humano.

Es muy probable que las secreciones viscosas de los pacientes FQ sea el resultado de la pobre hidratación del ASL secundaria a una secreción anormal de cloro y una hiperabsorción de sodio, por lo que los tapones mucosos resultantes impiden la limpieza ciliar normal promoviendo la sobrecolonización con bacterias. Estas bacterias encuentran un medio microaerófilo con condiciones favorables para crecer e inducir una respuesta inflamatoria permanente, responsable de la destrucción final del tejido pulmonar. Este medio pobre en oxígeno, induce a un cambio de la forma no mucoide a la forma mucoide.⁵ Además del ASL, la disfunción de CFTR puede predisponer la adherencia de bacterias a la vía aérea y esto puede resultar en un aumento de la actividad de células inflamatorias. La función de estas células puede estar mal regulada en los pacientes con FQ. Se ha visto, en modelos in vitro, que las altas concentraciones de cloro y sodio inactivan la B-defensina-1 humana, un péptido natural presente en la superficie de la vía aérea. Se ha postulado que CFTR puede actuar por sí mismo como receptor de ligazón y endocitosis contra *P. aeruginosa*, función que estaría perdida en los pacientes con FQ.

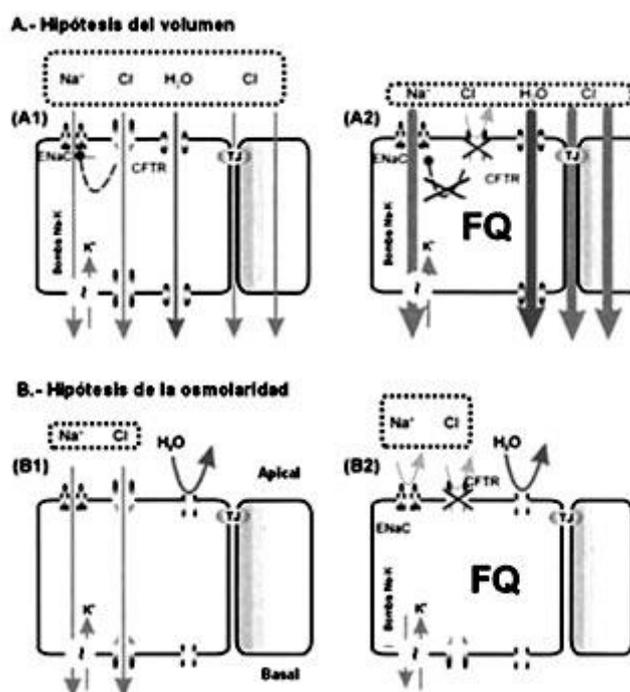


Figura 4. Representación esquemática de las hipótesis del volumen y la osmolaridad.

III. Otros Genes Involucrados

Algunos estudios interesantes, exploraron el efecto de otras mutaciones en genes y el polimorfismo en los fenotipos de FQ, tratando de explicar la variabilidad de los pacientes homocigotos para F508 del. Por ejemplo, el gen de la α 1-antitripsina y sus mutaciones S y Z han sido involucrados en las formas leves. En contraste, el gen de la lectina ligadora de manosa (MBL) está asociado a peor pronóstico.⁷ MBL es parte del sistema inmune innato de todo ser humano y es particularmente importante en los primeros meses de la vida. Existe una asociación entre los sujetos portadores de alelos defectuosos con una peor función pulmonar, especialmente los pacientes con FQ crónicamente infectados por *P. aeruginosa*. El factor de transformación de crecimiento (TGFB-1) es también un importante modificador de genes. Diversos polimorfismos han sido asociados a fibrosis pulmonar y mayor gravedad de la enfermedad. Estas áreas de investigación están actualmente en desarrollo y los genes que codifican citoquinas como IL-1, IL-10 y el factor de necrosis tumoral (TNF) están siendo estudiados.

IV. Microbiología

Staphylococcus aureus y *Haemophilus influenzae* son las bacterias más frecuentemente aisladas en el tracto pulmonar de niños con FQ. A diferencia de otras enfermedades, la FQ exhibe una clara distribución de gérmenes adquiridos en función de la edad. *S. aureus* es usualmente el primer patógeno aislado de la vía aérea de los pacientes con FQ, con una tasa de infección que disminuye con la edad, mientras que por su parte la tasa de *P. aeruginosa* se incrementa. La presencia de *S. aureus* en el tracto respiratorio en forma intermitente debe obligar a su erradicación completa por ser quien mayor destrucción produce en la vía aérea. A través de este invasor primario, la *P. aeruginosa* ve facilitada su entrada y posterior colonización. Si bien ambas bacterias pueden coexistir, el desarrollo abundante de *P. aeruginosa* puede inhibir el crecimiento de *S. aureus*.⁹

H. influenzae, una bacteria muy difícil de cultivar por sus requerimientos metabólicos, puede producir colonización crónica con deterioro significativo de la función pulmonar. La persistencia de al menos un cultivo positivo a *S. aureus* y/o *H. influenzae* debe alertar al médico hacia la sospecha de FQ. *P. aeruginosa* produce la infección pulmonar crónica más severa y se asocia a un deterioro progresivo de la función pulmonar; su aparición por primera vez en las secreciones bronquiales es indicación de antibioticoterapia agresiva aunque no exista ningún indicador clínico de exacerbación. En la mayoría de los pacientes la infección por *P. aeruginosa* es iniciada por cepas no mucoides y la transición a la variante mucóide se relaciona con el incremento de anticuerpos antipseudomonas.⁸ Aún con el empleo de terapias antibióticas agresivas, la infección por la forma mucóide de *P. aeruginosa* puede no ser erradicada, probablemente por la pobre penetración del antibiótico dentro de la biopelícula del ASL. *Burkholderia cepacia* (previamente denominada *Pseudomonas cepacia*) emergió en 1970 como un patógeno en FQ. Debido a la evidencia de infección cruzada y al impacto sobre la función pulmonar (especialmente en adolescentes y adultos), todos los centros tienden a aislar a aquellos pacientes colonizados con esta bacteria. A menudo es muy resistente a todos los antibióticos y fácilmente transmisible. Nuevos organismos, como

la *Stenotrophomonas maltophilia*, han sido descritos, aunque aparentemente sin un impacto claro en las pruebas de función pulmonar o en la sobrevida.

V. Infección Vs Inflamación: El Dilema

La interacción infección e inflamación en FQ es compleja (figura 5). Existe evidencia que muestra una respuesta inflamatoria exagerada aún en ausencia de infección. La infiltración de neutrófilos y los niveles de IL-8 como respuesta a una infección están incrementados en la vía aérea de FQ. Khan y colaboradores mostraron que los niños con FQ tienen un incremento en el número de neutrófilos y de IL-8 en lavado broncoalveolar (LBA) a las 4 semanas de vida, aún sin ninguna evidencia de infección.⁸ Por su parte, otros grupos sugieren que la infección precede a la inflamación. Los niveles de IL-10, un poderoso anti-inflamatorio endógeno, en LBA permanecen inhibidos aún después de erradicada la infección, lo cual hace más susceptible a la célula frente a una excesiva respuesta inflamatoria neutrofílica ante futuras infecciones principalmente por *S. aureus* o *P. aeruginosa*.

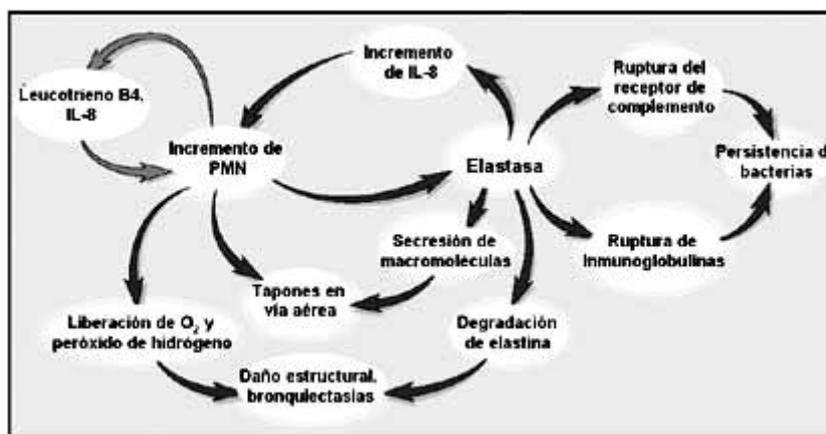


Figura 5. Interacciones fisiopatológicas entre inflamación e infección.

Diferentes líneas celulares de FQ infectadas por *P. aeruginosa* muestran incremento de los niveles de $TNF\alpha$, IL-6 y IL-8 en comparación con líneas

celulares de sujetos normales, existiendo un defecto en la regulación de diversas citoquinas. Los neutrófilos provenientes de pacientes con FQ eliminan más niveles de elastasa y oxidantes y menos L-selectina que sujetos controles, además de una exagerada respuesta frente a estimulación con IL-8 y TNF α . La actividad neutrofílica es sensible a los niveles de concentración de electrolitos mostrando una disminución en medio hipo o hipertónicos. El óxido nítrico (NO) tiene propiedades anti-microbianas e influye en la actividad mucociliar modulando la actividad de diversos canales. NO puede ser protector frente a la inflamación. Una falla en el incremento de los niveles de NO puede predisponer a la inflamación de la vía aérea. Los bajos niveles de NO modulados por una deficiente actividad de CFTR es un modelo atractivo para establecer una relación en FQ.

En resumen, es muy probable que sean muchos los distintos mecanismos que participan en forma simultánea en la destrucción de la vía aérea. Todos estos procesos determinan la expresión fenotípica de la enfermedad en diferentes grados. Si bien el proceso inflamatorio se inicia en forma muy precoz en la vida, la respuesta inflamatoria exagerada frente a infecciones posteriores por patógenos como *S. aureus* y *P. aeruginosa* tiene una implicancia más crítica en la injuria y remodelación del epitelio ciliar respiratorio. Esto puede tener un significado importante para la pesquisa y el manejo cada vez más agresivo con antibióticos y drogas anti-inflamatorias. Aún existe mucho por aprender acerca de estos procesos, pero indudablemente; el comprenderlo ayudará a establecer conductas más efectivas en términos de supervivencia.

Diseño Metodológico

Tipo de Estudio:

Estudio descriptivo observacional prospectivo, de seguimiento de una población de pacientes con Fibrosis Quística.

Área de estudio: Servicio de Neumología y Cirugía de Tórax del Instituto Nacional de Pediatría, Ciudad de México, DF.

Periodo de Estudio: De Junio del 2015 a Junio del 2016

Universo y Muestra:

Todos los pacientes de 0 a 18 años con diagnóstico de Fibrosis Quística con colonización del aparato respiratorio por *Pseudomonas aeruginosa*, manejados en el Servicio de Neumología y Cirugía de Tórax del Instituto Nacional de Pediatría (INP).

Definición de caso:

Pacientes entre 0 y 18 años de edad en quien se ha diagnosticado FQ por al menos uno de los siguientes criterios:

- a) Dos pruebas en sudor en días diferentes realizadas por iontoforesis cuantitativa con pilocarpina por el método de Gibson y Cooke, con resultados mayores a 60mmol/L
- b) Dos pruebas en sudor en días diferentes realizadas por el método de conductividad con resultados mayores a 90mmol/L
- c) Identificación de la mutación en ambos alelos.

En quienes se haya identificado por cultivo bacteriológico la presencia de *Pseudomonas aeruginosa* en el aparato respiratorio.

Criterios de Leeds para infección por *Pseudomonas aeruginosa* en pacientes con Fibrosis Quística

Infección crónica:

Pseudomonas aeruginosa es aislada en más de 50% de los cultivos efectuados en un período de 12 meses, realizados con frecuencia de 6 a 8 veces por año.

Infección intermitente:

Pseudomonas aeruginosa se aísla en 50% o menos de los cultivos realizados en un período de 12 meses.

Libre de infección:

Pseudomonas aeruginosa se ha aislado en alguna oportunidad, pero no en los 12 meses previos.

Nunca infectado:

Pseudomonas aeruginosa nunca se ha aislado en ese paciente.

Criterios de inclusión:

Son elegibles para este estudio, todos los pacientes manejados por el Servicio de Neumología y Cirugía de Tórax del Instituto Nacional de Pediatría, con diagnóstico de Fibrosis Quística en quien se haya aislado por cultivo de secreciones del aparato respiratorio la presencia de *Pseudomonas aeruginosa*.

Operacionalización de Variables

VARIABLES INDEPENDIENTES	DESCRIPCIÓN	INDICADOR	UNIDAD O CATEGORÍA	ESCALA
Edad	Número de años vividos por la persona	Fecha de Nacimiento	Años cumplidos	Cuantitativa Discreta
Sexo	Característica biológica de ser hombre o mujer	Clasificación de acuerdo a características sexuales primarios	Hombre Mujer	Nominal Dicotómica

VARIABLES DEPENDIENTES	DESCRIPCIÓN	INDICADOR	UNIDAD O CATEGORÍA	ESCALA
Fibrosis Quística	Enfermedad genética autosómica recesiva con un defecto genético localizado en el brazo largo del cromosoma 7, cuya alteración determina un transporte anormal de electrolitos en las células epiteliales en todos los órganos y sistemas, lo que condiciona la disfunción de diversas glándulas exocrinas. Diagnosticado por al menos uno de los siguientes criterios: a) Dos pruebas en sudor en realizadas por iontoforesis cuantitativa con resultados mayores a 60mmol/L b) Dos pruebas en sudor en días diferentes realizadas por el método de conductividad con resultados mayores a 90mmol/L c) Identificación de la mutación en ambos alelos.	Fibrosis Quística	Positivo Negativo	Nominal
Edad al diagnóstico	Número de años vividos por la persona al momento de diagnosticarse con Fibrosis Quística	Fecha de Nacimiento	Años cumplidos	Cuantitativa Discreta
Edad de la primoinfección	Número de años vividos por la persona al momento de evidenciarse por primera vez la presencia de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> en cultivos de secreciones del aparato respiratorio.	Fecha de Nacimiento	Años cumplidos	Cuantitativa Discreta
Fenotipo de <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Características estructurales y bioquímicas de la bacteria.	No Mucoide Mucoide	Positivo Negativo	Nominal

Bibliografía

1. Pérez Monrás, Miriam Fina; Batlle Almodóvar, Maria del C.; Verdera Hernández, Julia. Caracterización microbiológica y susceptibilidad antimicrobiana en cepas de *Pseudomonas aeruginosa*. Revista CENIC. Ciencias Biológicas, Centro Nacional de Investigaciones Científicas Ciudad de La Habana, Cuba. vol. 36, 2005.
2. Martínez AM, Pérez JL, Pérez MF. *Pseudomonas*. En: Llop A, Valdés-Dapena MM, Zuazo JL. Microbiología y Parasitología Médicas. Tomo I. Editorial Ciencias Médicas, Ciudad Habana, 2001: 303-20.
3. Maribel Ortiz-Herrera, QFB,(1) Armando Gerónimo-Gallegos, QFB,(1) Francisco Cuevas-Schacht, MD,(2) Lorenzo Pérez-Fernández, MD,(2) Rafael Coria-Jiménez, QBP, Dr en C. Caracterización, por RAPD-PCR, de aislados de *Pseudomonas aeruginosa* obtenidos de pacientes con fibrosis quística
4. Salud Pública Méx 2004; Vol. 46(2):149-157.
5. Cystic Fibrosis. *Pediatric Clinics of North America* 63:4, 617-636. 2016.
6. The Approach to *Pseudomonas aeruginosa* in Cystic Fibrosis. *Clinics in Chest Medicine* 37:1, 69-81. 2016.
7. Cystic Fibrosis. Murray and Nadel's Textbook of Respiratory Medicine, 822-852.e17. 2016.
8. Reduction in *Pseudomonas aeruginosa* sputum density during a cystic fibrosis pulmonary exacerbation does not predict clinical response. *BMC Infectious Diseases* 15:1. 2015.
9. Combination antimicrobial susceptibility testing for acute exacerbations in chronic infection of *Pseudomonas aeruginosa* in cystic fibrosis. *Cochrane Database of Systematic Reviews*. 2015.
10. Factors associated with response to treatment of pulmonary exacerbations in cystic fibrosis patients. *Journal of Cystic Fibrosis* 14:6, 755-762. 2015.
11. Salyers AA, Whitt DD. *Pseudomonas aeruginosa* and related species, a lesson of versatility. En: Salyers AA, Whitt DD, ed. *Bacterial pathogenesis, a molecular approach*. 2nd edition. Washington, DC: ASM Press; 2002:247-262. 5. Muñoz-Elías EJ, McKinney JD. Bacterial persistence:

Strategies for survival. En: Kaufmann SHE, Sher A, Ahmed R, ed.
Immunology of infectious diseases. Washington, DC: ASM Press; 331-355.
2002.

12. Cuevas Schacht F, Banegas-Matamoros J, Sosa de Martínez C, Coria-Jiménez VR, Pérez-Fernández L, Gerónimo-Gallegos A et al.
Identificación de *Pseudomonas aeruginosa* en pacientes pediátricos con fibrosis quística. Cultivo de expectoración vs lavado broncoalveolar. Acta Pediatr Mex; 22:419-423. 2001

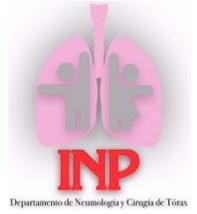


ANEXOS



Caracterización microbiológica de *Pseudomonas aeruginosa* en pacientes con Fibrosis Quística en el Instituto Nacional de Pediatría.

Autor: Dra. Susann Fabiola Galo Tróchez
Tutor: Dr. Francisco Javier Cuevas Schacht



Datos Generales:

Expediente _____

Nombre _____

Edad _____

Sexo _____

Historia de la Enfermedad:

Diagnóstico _____

Edad al diagnóstico _____

Edad de la primoinfección _____

Cultivos positivos para *Pseudomonas aeruginosa*:

Cultivo 1.

Fecha

Tipo de muestra

Seguimiento

Exacerbación

Resultado _____

Cultivo 2.

Fecha

Tipo de muestra

Seguimiento

Exacerbación

Resultado _____

Cultivo 3.

Fecha

Tipo de muestra

Seguimiento

Exacerbación

Resultado _____

Cultivo 4.

Fecha

Tipo de muestra

Seguimiento

Exacerbación

Resultado _____