



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
FACULTAD DE MEDICINA
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO

HOSPITAL INFANTIL DE MÉXICO FEDERICO GÓMEZ

LA TERAPIA PROFILÁCTICA Y SU RELACIÓN CON
LAS INFECCIONES Y HOSPITALIZACIONES EN
PACIENTES CON ENFERMEDAD GRANULOMATOSA
CRÓNICA EN EL HOSPITAL INFANTIL DE MÉXICO
FEDERICO GÓMEZ

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:
MÉDICO ESPECIALISTA EN PEDIATRÍA
P R E S E N T A:

DRA. BERENICE VELASCO BENHUMEA.



DIRECTOR DE TESIS:

E. A. I. P. OMAR JOSUÉ SAUCEDO RAMÍREZ

MÉXICO, DISTRITO FEDERAL, FEBRERO DE 2014.





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.

DRA. GÓMEZ CHICO VELASCO

JEFE DE ENSEÑANZA Y DESARROLLO ACADÉMICO

HOSPITAL INFANTIL DE MÉXICO FEDERICO GÓMEZ



DR. OMAR JOSUÉ SAUCEDO RAMÍREZ

MÉDICO ADSCRITO AL SERVICIO DE ASMA E INMUNOLOGÍA PEDIÁTRICA

TUTOR ACADÉMICO

ÍNDICE

| Contenido | Pág |
|--|-----|
| I. MARCO TEÓRICO | 3 |
| ANTECEDENTES..... | 3 |
| CAUSAS DE LA ENFERMEDAD..... | 5 |
| CUADRO CLÍNICO..... | 6 |
| DIAGNÓSTICO..... | 11 |
| CURSO DE LA ENFERMEDAD..... | 13 |
| TRATAMIENTO..... | 14 |
| Terapia profiláctica..... | 14 |
| Profilaxis antibiótica..... | 14 |
| Profilaxis antimicótica..... | 16 |
| Interferón gamma..... | 17 |
| Trasplante de células hematopoyéticas..... | 21 |
| Terapia génica..... | 21 |
| II. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA..... | 23 |
| II.1 Preguntas de investigación..... | 23 |
| III. JUSTIFICACIÓN..... | 24 |
| IV. OBJETIVOS..... | 25 |
| IV.1 Objetivo General..... | 25 |
| IV.2 Objetivos Específicos..... | 25 |
| V. MÉTODO..... | 26 |
| V.1 Tipo de estudio..... | 26 |
| V.2 Diseño de estudio..... | 26 |
| V.3 Descripción de las variables..... | 27 |
| V.4 Universo de trabajo y muestra..... | 30 |
| V.4.1 Criterios..... | 30 |
| V.5 Limite de espacio y tiempo..... | 31 |
| V.6 Plan de análisis estadístico..... | 31 |
| V.7 Cronograma..... | 32 |
| VI. RESULTADOS..... | 33 |
| VII. DISCUSIÓN..... | 37 |
| VIII. CONCLUSIONES..... | 43 |
| IX. BIBLIOGRAFÍA..... | 44 |

I. MARCO TEORICO

ANTECEDENTES

La enfermedad granulomatosa crónica es una inmunodeficiencia primaria, específicamente deficiencia de fagocitosis. Es causada por la dificultad de los neutrófilos para destruir eficazmente a los microorganismos fagocitados, debido a defectos en la nicotinamida adenina dinucleótido fosfato oxidasa (NADPH oxidasa), el complejo enzimático que realiza el “estallido respiratorio” en las células fagocíticas y produce los radicales libres de oxígeno para la eliminación de agentes patógenos.

El padecimiento comprende alteraciones hereditarias en el complejo de NADPH oxidasa, todas con fenotipo similar que se distingue por infecciones recurrentes graves, ocasionadas por bacterias, hongos y formación de granulomas en cualquier parte del organismo.¹

La enfermedad granulomatosa crónica se describió inicialmente por Janeway, en 1954, y se denominó “enfermedad granulomatosa fatal de la infancia”; desde entonces, la comprensión de la patogenia, el diagnóstico oportuno y el tratamiento adecuado han permitido la supervivencia de los pacientes con esta enfermedad.²

La tasa de incidencia de enfermedad granulomatosa crónica en la población general es de 1 por cada 200,000 recién nacidos vivos en todo el mundo. En Latinoamérica, los trastornos de la fagocitosis, en conjunto, comprenden 8.6% de las inmunodeficiencias primarias, y en México representan 14.1%.³ En general, se acepta que la frecuencia de la enfermedad y de todas las inmunodeficiencias primarias es más alta en todo el mundo, debido a los casos subdiagnosticados.³

CAUSAS DE LA ENFERMEDAD

Los mecanismos utilizados para la eliminación de agentes patógenos por los fagocitos se dividen en dependientes (ROI-dependiente) e independientes (ROI-independientes) de radicales libres de oxígeno.

En lo que se refiere a la destrucción de patógenos o material fagocitado, es indispensable la producción de radicales libres de oxígeno en el fagocito activado (estallido respiratorio) para ejercer su función efectora y provocar la muerte de las bacterias fagocitadas y la fragmentación del material ingerido. Con este fin, las células fagocíticas dependen de la NADPH oxidasa. Los productos de la NADPH oxidasa (ion superóxido) tienen actividad antimicrobiana directa; en conjunto con la mieloperoxidasa, el peróxido de hidrógeno y el hipoclorito pueden producir ácido hipocloroso con actividad microbicida; los radicales libres pueden interactuar con intermediarios reactivos de nitrógeno para formar productos citotóxicos. Además de dichos efectos, la activación de la NADPH oxidasa se encuentra estrechamente relacionada con la señalización intracelular, que resulta crítica para la defensa del hospedero.⁴

La estructura de la NADPH oxidasa es compleja, está integrada por seis componentes, dos subunidades incluidas en la membrana del fagosoma (gp91-phox, p22^{phox}) y cuatro componentes citosólicos (p47^{phox}, p67^{phox}, p40^{phox}) y dos GTP-asas de bajo peso molecular (rac2 y rap1A).⁵

El flavocitocromo b558 es un heterodímero (α , β), que se encarga del transporte de electrones desde NADPH a flavin adenin dinucleotido (FAD) a un grupo Hem y finalmente al oxígeno molecular para la formación del ion superóxido. La subunidad α también conocida como gp91^{phox} (gp por glucoproteína, 91 por su peso molecular y phox por oxidasa fagocitaria), es una proteína altamente glucosilada con masa molecular de 65kD, es el componente estructural principal del flavocitocromo y contiene todos los componentes de la cadena de transporte de electrones.⁵

La subunidad β también llamada p22phox, tiene una masa molecular de 22kD, su actividad es incierta pero aparentemente es importante para la unión de las subunidades citoplasmáticas activadas.⁵

El complejo NADPH oxidasa permanece en reposo hasta que es activado por fagocitosis o algún agonista artificial. Para su activación se requiere la participación de proteínas citoplasmáticas p47^{phox}, p67^{phox}, p40^{phox}, así como también de una proteína de unión GTP (guanosintrifosfato) p21rac, estas proteínas forman un complejo en el citoplasma que se trasloca a la membrana enganchándose con el flavocitocromo b558. El papel de p21rac es actuar como un apagador que activa y luego desactiva a la oxidasa.⁵

La función del NADPH oxidasa es la formación de anión superóxido y consecuentemente productos intermedios reactivos de oxígeno para la destrucción de microorganismos no fagocitados. En la generación de los PIRO también interfiere la enzima mieloperoxidasa, en cuya ausencia la bacterias no pueden ser destruidas. La NADPH oxidasa también eleva el pH fagosomal activando a proteinasa al alcanzar un pH de 7.⁵

Se ha demostrado que la enfermedad granulomatosa crónica tiene una base genética, que ante alguna mutación en los genes de la NADPH oxidasa, entorpece la función adecuada del complejo e impide la formación de radicales libres de oxígeno y, en consecuencia, la destrucción de microorganismos fagocitados, lo que favorece las infecciones fúngicas y por microorganismos catalasa positivos, responsables de las manifestaciones clínicas.⁷

CUADRO CLÍNICO

Las manifestaciones clínicas de la enfermedad granulomatosa crónica pueden aparecer desde la etapa de lactante o en la edad adulta. En 95% de los pacientes el diagnóstico se establece antes de los cinco años de edad, en promedio al año de vida, especialmente en los casos con defectos ligados al

cromosoma X.⁸ Las principales manifestaciones se deben a procesos infecciosos repetidos y graves. Los microorganismos implicados en la mayor parte de las infecciones son: *Staphylococcus aureus*, *Burkholderia cepacia*, *Serratia marcescens*, *Nocardia* y *Aspergillus* spp. Los sitios frecuentes de infección son la piel, los pulmones, los ganglios linfáticos y el hígado, generalmente concomitantes con neumonía, asociada o no con complicaciones (empiema, abscesos pulmonares), adenitis abscedada, abscesos hepáticos, perianales y osteomielitis. Las bacteriemias secundarias a infecciones por *Burkholderia cepacia*, *Serratia marcescens* o *Chromobacterium violaceum* son poco frecuentes; sin embargo, recientemente se aisló *Granulibacter bethesdensis* como agente causal de adenitis necrosante en un pacientes con enfermedad granulomatosa crónica.⁹ (Cuadro 1)

Los niños con enfermedad granulomatosa crónica ligada al cromosoma X tienen inicio más temprano de los síntomas y manifestaciones más graves, que evolucionan a daño del órgano afectado por granulomas e infecciones graves y frecuentes, y por consiguiente, morbilidad y mortalidad elevada.¹⁰

Las infecciones micóticas son la principal causa de muerte en estos pacientes. La afección ósea durante la infección fúngica ocurre generalmente por proximidad con un pulmón afectado, que se extiende hasta las costillas o los cuerpos vertebrales. Los agentes más frecuentes son *Aspergillus fumigatus* y *Aspergillus nidulans*, este último es exclusivo de la enfermedad granulomatosa crónica, por lo que su aislamiento debe hacer sospechar el diagnóstico, lo mismo que aislamientos de hongos no patógenos como *Penicillium piceum*.¹⁰

Recientemente, se describieron casos agudos de neumonía invasora por *Aspergillus* spp. asociada con la exposición ambiental de grandes cantidades de esporas fúngicas en el procesamiento de compostas, que resulta ser la manifestación inicial de la enfermedad granulomatosa crónica en adolescentes y adultos jóvenes.^{5, 10, 11}

La frecuencia de infecciones pulmonares por *Aspergillus* en estos pacientes sugiere que los mecanismos independientes de radicales libres de oxígeno son insuficientes para detener la infección, pero parecen ser suficientes para destruir las hifas e impedir la invasión intravascular, sin embargo, se ha encontrado que cepas de *Aspergillus* de baja virulencia son capaces de provocar la muerte por algún proceso inflamatorio excesivo; de hecho, al inocular hifas muertas o constituyentes de la pared fúngica (betaglucanos) se estimula una respuesta inflamatoria muy intensa y grave en el modelo murino de la enfermedad, pero no en las cepas silvestres. Estas observaciones sugieren el doble papel que desempeña la NADPH oxidasa como mediador de la respuesta inmunitaria innata y regulador del proceso inflamatorio.¹²

Las infecciones por el bacilo de Calmette-Guérin se reportan en pacientes con enfermedad granulomatosa crónica y son generalmente localizadas, las micobacterias son responsables de 6% de las neumonías en estos casos; los pacientes son más susceptibles a *M. tuberculosis* y puede ser un problema en zonas endémicas. La principal reacción adversa por la vacunación de BCG, en los pacientes con enfermedad granulomatosa crónica ha sido la BCGosis.¹³

En el Cuadro 1 se muestra la frecuencia y el tipo de infecciones ocurridas en pacientes con enfermedad granulomatosa crónica en todo el mundo.

Las infecciones graves en estos pacientes pueden ocurrir en cualquier momento y tener escasas manifestaciones clínicas, especialmente las ocasionadas por hongos. Es importante vigilar las alteraciones detectadas en la determinación de velocidad de sedimentación globular y proteína C reactiva, sobre todo en pacientes con sospecha de infección, ya que pueden orientar alguna infección oculta. Los estudios de imagen son importantes (radiografías de tórax, tomografías o resonancia magnética) porque indican el sitio afectado y la extensión de la infección.⁴

La afección del aparato gastrointestinal y genitourinario puede determinar el cuadro clínico inicial o pasar inadvertida durante la evolución de la enfermedad. Las manifestaciones gastrointestinales se reportan hasta en 32% de los pacientes, principalmente malabsorción intestinal, granulomas a lo largo del tubo digestivo que causan obstrucción o simulan enfermedad de Crohn.¹⁵

Las manifestaciones gastrointestinales pueden incluir saciedad temprana, dispepsia, vómitos matutinos o dolor abdominal leve intermitente. La elevación de enzimas hepáticas apareció en 73% de los pacientes con enfermedad granulomatosa crónica reportados en los Institutos Nacionales de Salud de Estados Unidos (n = 194), de los cuales 25% tuvo elevación persistente de la fosfatasa alcalina y 15% hepatitis inducida por fármacos. En los pacientes que se les realizó biopsia hepática se encontraron: granulomas (75%) y hepatitis lobular (90%). Las alteraciones en el conducto urinario se reportan hasta en 18% de los pacientes y comprenden la formación de granulomas vesicales, obstrucción ureteral e infecciones recurrentes.¹⁵

Otra manifestación inflamatoria de la enfermedad es la dehiscencia de heridas quirúrgicas sin procesos infecciosos, particularmente en operaciones de cuello, tórax y abdomen.

Cuadro 1. Infecciones frecuentes en la Enfermedad Granulomatosa Crónica y su etiología.

| Tipo | Órgano sistema | Manifestaciones clínicas | Etiología | Diagnóstico |
|--|--------------------|---|--|--|
| Infecciones | | | | |
| | Sangre periférica | Sepsis | <i>B. cepacia, Pseudomonas, Serratia, Staphylococcus, Salmonella</i> | Hemocultivos Electrocardiograma |
| | Pulmón | Neumonía Empiema Absceso pulmonar | <i>Aspergillus, Nocardia, Serratia, Pseudomonas, Staphylococcus, Klebsiella, Candida, otros.</i> | Radiografía, TC, Cultivos, Biopsia. |
| | Nódulos linfáticos | Adenitis Adenopatía | <i>Candida, Nocardia, Aspergillus, Serratia, Klebsiella</i> | Aspirado con aguja fina, Ultrasonido, TC, Biopsia. |
| | Hígado | Abscesos | <i>Staphylococcus, Streptococcus, Aspergillus, Nocardia, Serratia, Salmonella.</i> | Aspirado con aguja fina, Ultrasonido, TC, Biopsia. |
| | Hueso | Osteomielitis | <i>Serratia, Aspergillus, Staphylococcus, Pseudomonas, Nocardia</i> | TC, biopsia. |
| | Tracto GI | Abscesos perianales, Fístulas. | <i>Enterobacterias, Staphylococcus.</i> | Biopsia, cultivos. |
| | Urinario | Pielonefritis | Enterobacterias | Cultivos, PIV. |
| | SNC | Meningitis, abscesos cerebrales | <i>Candida, Haemophilus, Aspergillus, Staphylococcus.</i> | PL, cultivos, TC, RMN. |
| TC: Tomografía computarizada, RMN: Resonancia Magnética Nuclear, GI: Gastrointestinal, LP: Punción Lumbar, PIV: Pielograma intravenoso, SNC: Sistema Nervioso Central | | | | |

Modificado de: Song E, Chronic Granulomatous disease: A review of the infectious and inflammatory complications. *Clinical and Molecular Allergy*. 2011, 9:10.

Cuadro 2. Frecuencia de infecciones por sitio anatómico en pacientes con Enfermedad Granulomatosa Crónica.

| Tipo de infección | Estados Unidos (n=368) | Japón (n=221) | Irán (n=41) | Alemania (n=39) | México (n=23) | Unión Europea (n=429) |
|-------------------|------------------------|---------------|-------------|-----------------|---------------|-----------------------|
| Neumonía | 79 | 88 | 65 | 67 | 56 | 66 |
| Abscesos | 68 | 77 | 53 | 41 | 69 | 53 |
| Linfadenitis | 53 | 85 | 75 | 72 | - | 50 |
| Osteomielitis | 25 | 22 | 21 | 15 | 26 | 13 |
| Sepsis | 18 | 28 | - | 23 | 21 | 20 |

Cifras expresadas en porcentajes. Tomado de: Álvarez A, Yamazaki, MA, Espinosa SE. Enfermedad granulomatosa crónica. *Alergia Rev Mex* 2009;56(5):165-74.

Al igual que otras inmunodeficiencias primarias, la enfermedad granulomatosa crónica puede asociarse con manifestaciones de autoinmunidad. El lupus eritematoso sistémico y el discoide se han reportado en pacientes con

enfermedad granulomatosa crónica y en mujeres portadoras para la mutación de gp91^{phox} (ligada al cromosoma X). Se ha observado que los pacientes con enfermedad granulomatosa crónica tienen mayor frecuencia de enfermedades autoinmunitarias que la población general, como: púrpura trombocitopénica idiopática, sarcoidosis, artritis idiopática juvenil, síndrome antifosfolípido y pericarditis idiopática recurrente, el proceso inflamatorio crónico en el intestino es indistinguible de la enfermedad de Crohn. Se sugiere que el estado hiperinflamatorio de la enfermedad granulomatosa crónica y las infecciones recurrentes pueden favorecer la autoinmunidad, que puede influenciarse por predisposición genética diferente al defecto responsable de la enfermedad.¹⁷

El retraso en el crecimiento puede aparecer como manifestación clínica; los niños tienden a ser menores en talla para su edad, quizá por el efecto secundario de las infecciones recurrentes o algún aspecto relacionado con el estallido respiratorio defectuoso; sin embargo, los niños con enfermedad granulomatosa crónica alcanzan su talla epigenética y peso adecuado en la adolescencia tardía.¹⁸

DIAGNÓSTICO

Como en todas las inmunodeficiencias primarias, el antecedente de infecciones recurrentes o inusualmente graves desde edades tempranas debe sugerir el diagnóstico.

El patrón de herencia es sugerido por el antecedente familiar ligado al cromosoma X (antecedente de varones enfermos en la rama materna) o, bien, autosómico recesivo si existe consanguinidad. En el caso específico de la enfermedad granulomatosa crónica, los abscesos, granulomas, neumonías recurrentes, linfadenitis, hepatomegalia, esplenomegalia, retraso en el crecimiento, retraso en la cicatrización o dehiscencia de heridas y aislamientos de gérmenes asociados con la enfermedad deben orientar las pruebas diagnósticas específicas. La cuenta total de leucocitos no es sugerente de la

enfermedad, pero la elevación en la velocidad de sedimentación globular y la proteína C reactiva son reactantes de fase aguda sugerentes de infección. Las pruebas diagnósticas de la enfermedad miden la producción de radicales libres o actividad de los mismos a través:

1. La prueba de reducción de nitroazul de tetrazolio (NBT) consiste en exponer *in vitro* a los neutrófilos a sustancias bacterianas, como lipopolisacárido (activador) y al compuesto tetrazolio (incoloro). Al producirse, el anión súper oxido reduce al tetrazolio en formazano, el cual es visible al microscopio de luz; estimula la respuesta oxidativa de 90 a 100% en neutrófilos sanos. Una de las desventajas de esta técnica es que a pesar de que es una prueba cuantitativa, el valor dado estará basado en el análisis subjetivo del observador. Es por esto que puede haber falsos negativos, principalmente en aquellos casos con afección en moléculas de la NADPH oxidasa como p22phox, p47phox, y p67phox, en los que existe una producción parcial de radicales libres.¹⁹ La prueba es fácil de realizar, accesible, económica y de gran utilidad en los casos con sospecha de patrón ligado al cromosoma X; sin embargo, se requiere personal con experiencia para su interpretación.

2. En la actualidad la citometría de flujo para identificar la oxidación de dihidrorodamina-123 (DHR) es el patrón de referencia. Al activarse los fagocitos reducen la DHR al compuesto rodamina (altamente fluorescente) y permite el conteo de células funcionales.

Las deficiencias en gp91^{phox} (sin reducción de DHR) pueden distinguirse de los defectos de gp41^{phox} (escasa reducción). Las portadoras pueden identificarse mediante esta muestra, porque exhiben dos poblaciones de neutrófilos (reductores y no reductores).

La desventaja es que debe contarse con un mínimo de equipamiento para el laboratorio.

3. El análisis por quimioluminiscencia (emisión de luz como resultado de una reacción química) de los neutrófilos es útil para demostrar la ausencia de citocromo b558 en los pacientes con enfermedad granulomatosa crónica.

4. La reducción de citocromo-c permite, por citometría de flujo, identificar la producción del ion superóxido y junto con la reducción de DHR se ha convertido en referencia para protocolos de investigación.¹⁹

El diagnóstico clínico se establece con base en la historia clínica sugerente y la prueba de producción alterada de radicales libres de oxígeno.

El método definitivo para conocer el defecto molecular de los pacientes con enfermedad granulomatosa crónica se realiza con la secuencia directa de los genes de las subunidades del complejo NADPH oxidasa; por ejemplo: gp91^{phox}, gp22^{phox}, gp47^{phox}, gp67^{phox} en los cuales se detectan eliminaciones, inserciones o mutaciones puntuales. El defecto molecular identificado resulta en la ausencia de la expresión de proteínas del citocromo b₅₅₈.

El diagnóstico molecular es de certeza y tiene implicaciones de pronóstico: se ha observado que los niños con enfermedad granulomatosa crónica ligada al cromosoma X tienen un curso más grave. El consejo genético es fundamental para futuros embarazos. En diversos estudios a nivel mundial se han identificado mutaciones específicas en las proteínas de la NADPH oxidasa.¹⁹

CURSO CLINICO DE LA ENFERMEDAD

Los pacientes con enfermedad granulomatosa crónica padecen diferentes procesos crónicos que resultan del estímulo inflamatorio persistente, secundario a procesos infecciosos recurrentes o parcialmente curados. En el seguimiento a 22 años de pacientes con enfermedad granulomatosa crónica (n = 39) Liesey colaboradores encontraron que el proceso crónico más común fue la linfadenopatía en 82% de los pacientes. La talla menor de 10% para la edad se

observó en 31% de los casos; se registró 23% de pacientes con peso bajo (<10%) y hubo 5% de procesos de gingivitis y 28% de estomatitis.¹⁰

La mortalidad durante el periodo de seguimiento fue de 8 (20%) casos, con media de edad de 21 años. La causa más frecuente fue insuficiencia cardiopulmonar debida a neumonías agudas o recurrentes. En tres casos de aisló *Aspergillus* sp, un caso de septicemia por *Pseudomonas* sp, tres pacientes con antecedente de fibrosis pulmonar y uno con cirrosis hepática. La supervivencia fue de 91% a 10 años, de 86% a 20 años y de 54% a 30 años.²⁰

En el Instituto Nacional de Pediatría, durante la revisión de 23 casos (Staines 2004), se registraron nueve muertes con promedio de edad al fallecimiento de 47 meses (en un rango de 1 a 105 meses) y gérmenes aislados en 4 (44%) casos: dos con *Candida albicans*, uno con *Aspergillus fumigatus* y otro con *Burkholderia cepacia*.¹⁴

TRATAMIENTO

Los aspectos fundamentales en el tratamiento de la enfermedad granulomatosa crónica son: 1) diagnóstico temprano para impedir el daño a órganos afectados o aumento de la morbilidad asociada con infecciones de repetición; 2) prescripción de interferón gamma (IFN- γ) y profilaxis antimicrobiana con trimetoprim-sulfametoxazol (TMP-SFX) e itraconazol y 3) tratamiento agresivo de las complicaciones infecciosas.

Terapia profiláctica

Profilaxis antibiótica

La piedra angular de la atención clínica es la profilaxis antibiótica y antifúngica permanente con agentes microbicidas intracelularmente activos. El antibiótico más comúnmente utilizado es el Trimetoprim-Sulfametoxazol (TMP-SMX, cotrimoxazol), que tiene una amplia actividad contra las bacterias Gram-

negativas (incluyendo *Serratia marcescens* y *Burkholderia* spp.) así como bacterias Gram-positivas como el estafilococo; se concentra en el interior de células huésped. Es bien tolerado y muy rara vez conduce a un crecimiento excesivo de los agentes patógenos resistentes, probablemente debido a que mantiene intacta la flora intestinal, lo que impide la colonización por cepas resistentes.²¹

En los pacientes con enfermedad granulomatosa crónica, el tratamiento profiláctico y la validez terapéutica del uso a largo plazo del Trimetoprim-Sulfametoxazol (TMP-SMX) ha sido bien establecida.²² Sin embargo, el mecanismo de acción del TMP-SMX en la EGC está claro. En un estudio efectuado en Japón, se midió directamente la producción de óxido nítrico sérico en pacientes con EGC en tratamiento con TMP-SMX y un grupo control, mediante el uso de 4,5-diaminofluoresceína como un indicador fluorescente nuevo para el óxido nítrico intracelular. La producción de óxido nítrico intracelular de los neutrófilos aumentó cuando fueron estimulados por lipopolisacárido (LPS) y ionóforo de calcio. A pesar de que todos los leucocitos polimorfonucleares (PMN) de pacientes con enfermedad granulomatosa crónica fallaron para generar peróxido de hidrógeno, la producción de óxido nítrico por los PMN en pacientes con EGC en tratamiento con TMP-SMX se incrementó significativamente en comparación con la de los PMN de control. En conclusión, este estudio plantea la posibilidad de que en pacientes con EGC tratados con TMP-SMX, la producción de óxido nítrico por los neutrófilos tiene un papel de la actividad bactericida en el mecanismo de defensa del huésped.

23

En otros estudios retrospectivos, se observó una reducción marcada de las infecciones bacterianas graves e intervenciones quirúrgicas (abscesos, drenajes) y en consecuencia una gran reducción en el número de días de hospitalización. Los beneficios se observaron tanto en enfermedad granulomatosa ligada al X como en la enfermedad con patrón autosómico

recesivo. La dosis recomendada para la profilaxis bacteriana es de 5mgkgdía de trimetoprim y 30mgkgdía de sulfametoxazol en dos dosis divididas. En caso de alergia a las sulfamidas se recomienda una cefalosporina de espectro extendido oral o ciprofloxacino son alternativas adecuadas.²⁴

Profilaxis antimicótica

Aunque la terapia profiláctica con TMP-SMX reduce la incidencia infecciones bacterianas severas en pacientes con enfermedad granulomatosa crónica de alrededor de una por año a una cada cuatro años²² y el interferón gamma reduce aún más la incidencia de tales infecciones en aproximadamente el 70 por ciento, las infecciones por hongos siguen siendo un importante problema para estos pacientes.¹⁰

El agente antifúngico triazólico itraconazol administrado vía oral, ha demostrado ser útil en el tratamiento de infecciones fúngicas superficiales y en el tratamiento de la aspergilosis pulmonar invasiva en pacientes con cánceres hematológicos, enfermedad granulomatosa crónica, y el síndrome de inmunodeficiencia adquirida.²⁵

En un ensayo abierto que incluía a 30 pacientes con enfermedad granulomatosa crónica, se les administró profilaxis con itraconazol, la tasa de infecciones por *Aspergillus* se redujo a un tercio en comparación con los controles históricos.²⁶

En otro estudio clínico, aleatorizado al azar, doble ciego, controlado con placebo para evaluar la eficacia clínica del itraconazol como terapia profiláctica en 39 pacientes con enfermedad granulomatosa crónica durante 10 años, se concluye que el itraconazol es altamente eficaz en la prevención tanto en las infecciones fúngicas superficiales como infecciones graves (P=0,051) y que el uso a largo plazo fue altamente tolerado, con los mínimos efectos adversos. Los efectos adversos durante la administración del itraconazol observados en el

estudio fueron menores, dentro los cuales estuvieron: eritema, incremento de las enzimas hepáticas y dolor de cabeza (cada uno en un paciente) que se revirtieron al suspender el medicamento.²⁷

Con este estudio se muestra que la terapia profiláctica con itraconazol es eficaz y segura en niños y adultos, y no resulta en el desarrollo de resistencia clínicamente significativa cuando se usa durante un período prolongado. Se sugiere que la profilaxis con itraconazol debe añadirse a los regímenes de tratamiento para todos los pacientes con enfermedad granulomatosa crónica. Sin embargo, la mayor parte de los estudios se ha llevado a cabo en periodos cortos de tiempo; se debe de monitorizar rigurosamente las enzimas hepáticas con la finalidad de evitar la toxicidad hepática por itraconazol en pacientes que reciben terapia a largo plazo.

La errática absorción de la forma en cápsula ha sido superada con la introducción de una formulación líquida en ciclodextrina, que no necesita la ingesta concomitante de alimentos y no se ve afectada por la acidez gástrica. Se alcanzan concentraciones plasmáticas terapéuticas después de 2 semanas posterior a la ingesta vía oral de itraconazol en una sola dosis diaria de 5 mg/kg/día para pacientes menores de dos años, 100 mg/día para pacientes de 5 a 12 años y 200 mg/día para mayores de 12 años de edad. (Repentigny y colaboradores 1998). La solución oral es generalmente bien tolerada y segura. La futura evolución de la profilaxis antimicótica incluye una formulación en polvo de Anfotericina B a través de un inhalador, administrándose directamente a los pulmones una vez por semana.²⁴

Interferón-gamma.

Experimentos en seres humanos y ratones han demostrado que el interferón gamma (IFN γ) es el principal factor activador de macrófagos. La administración de interferón gamma in vivo o in vitro mejora la producción de radicales libres de oxígeno con la subsecuente eliminación de patógenos bacterianos y

protozoarios. El uso de IFN γ en ensayos clínicos en pacientes con la lepra lepromatosa y cáncer, mejoró la capacidad para secretar el peróxido de hidrógeno en monocitos circulantes.²⁴

Cuando el IFN γ fue agregado in vitro a los granulocitos y a los monocitos pacientes con los varios tipos genéticos de enfermedad granulomatosa crónica, el defecto en la producción del superóxido fue corregido parcialmente en los fagocitos de algunos pacientes. La corrección parcial del defecto funcional también fue observada después del tratamiento de pacientes con administración de IFN γ vía subcutánea.²⁸

En un estudio multicéntrico, al azar, doble ciego, controlado por placebo fase III (The international Chronic Granulomatous Disease Cooperative Study Group, 1991),²⁹ cuyo objetivo era evaluar la eficacia y potencial toxicidad del interferón gamma como terapia profiláctica en 128 pacientes con enfermedad granulomatosa crónica, se utilizaron inyecciones subcutáneas de IFN γ , se administraron tres veces a la semana, lo cual redujo la frecuencia de infecciones serias en pacientes con enfermedad granulomatosa crónica. El IFN γ era beneficioso sin importar el patrón de la herencia de la enfermedad, edad, o uso o no uso de antibióticos profilácticos.²⁹

Los pacientes que recibían IFN γ tenían una reducción en la duración y la frecuencia de hospitalizaciones. Los niños menores de 10 años de edad se beneficiaron más del tratamiento y tenían pocos efectos secundarios. El tratamiento no se acompañó por efectos tóxicos, con excepción de fiebre, cefalea, y mialgias, para lo cual fueron tratados acetaminofen. No se detectaron anticuerpos contra el IFN γ .

Puesto que la enfermedad granulomatosa crónica se diagnostica durante los primeros años de la vida, es importante que el tratamiento sea bien tolerado en pacientes de esta edad y no esté asociado a alteraciones en el crecimiento y el desarrollo, como lo observado después de 12 meses de seguimiento. Es

especialmente apreciable la capacidad del IFN γ de reducir la tasa de infecciones más dramáticamente en niños menores de 10 años.²⁹

Los mecanismos moleculares exactos por los cuales mejora defensa del huésped en la enfermedad granulomatosa crónica siguen siendo desconocidos. En diversos estudios, los neutrófilos y monocitos de pacientes con enfermedad granulomatosa crónica ligada al X, que se sometieron al tratamiento con IFN γ , mostraron producción de superóxido y la expresión aumentada del gen del citocromo b después del tratamiento interferón gamma in vitro o in vivo. Varios de los pacientes con enfermedad granulomatosa crónica autosómica recesiva que no tenían el p47 ni el componente oxidasa p67 en el citosol también tuvieron una ligera mejora en la producción de superóxido.

El interferón gamma puede conferir ventaja al mejorar la respuesta antibacteriana oxígeno-independiente de los fagocitos. Adicionalmente mejora la función de otros componentes del sistema inmune (las células T o B). Se requieren estudios adicionales para determinar los efectos del interferón gamma en rutas antimicrobianas tanto oxígeno-dependientes, como oxígeno-independientes. La caracterización molecular de defectos específicos en una gran cantidad de pacientes dentro de cada subgrupo genético y la correlación del defecto con la respuesta funcional al tratamiento, deben también ayudar a definir los mecanismos por los cuales el IFN γ aumenta la respuesta inmunitaria del huésped.^{28, 29}

Los resultados apoyan firmemente la recomendación de que el interferón gamma se administre a estos pacientes como profilaxis contra las infecciones, ya sea solo o (preferiblemente) en combinación con antibióticos profilácticos. El uso potencialmente eficaz de interferón gamma para otras enfermedades infecciosas, tales como la lepra y la leishmaniasis sugiere que esta citocina puede tener aplicaciones generales como un complemento a los agentes

antimicrobianos convencionales en el tratamiento de muchos otros tipos de enfermedades infecciosas.²⁸

La dosis recomendada en pacientes pediátricos es de 50 mcg/m² de superficie corporal total en pacientes con más 0.5 m² o 1.5 mcg/kg en quienes tienen menos de 0.5 m², administrado tres veces por semana vía subcutánea.¹⁴

En conclusión los mecanismos de acción del IFN- γ encontrados y que favorecen la función de los fagocitos son:

- Estimula la producción de óxido nítrico en los polimorfonucleares por medio de la sintetasa de óxido nítrico inducible, que favorece la muerte de los patógenos fagocitados por las vías independientes de radicales libres de oxígeno.
- Estimula la producción de pequeñas poblaciones de monocitos circulantes con actividad normal de reducción de nitroazul de tetrazolio, para inducir la corrección del “estallido respiratorio” en algunos pacientes.
- Estimula la producción de moléculas de superficie y las concentraciones de calcio intracelular que favorecen la activación de células mononucleares.

Las ventajas reportadas con el IFN- γ en pacientes con enfermedad granulomatosa crónica son:

- Infecciones menos graves
- Mayor tiempo libre de infecciones
- Menor tiempo de hospitalización
- Disminución de nódulos (granulomas) intestinales y pulmonares
- Disminución del absceso hepático piógeno recidivante tras el tratamiento antimicrobiano.¹⁴

Trasplante de células progenitoras hematopoyéticas

Después de la utilización con éxito del trasplante de médula ósea alogénica para el tratamiento de los niños con inmunodeficiencia combinada grave, Goudemand y colaboradores,⁶ hicieron el primer trasplante de médula ósea (TMO). Aunque en este caso el trasplante fracasó después de dos meses debido a rechazo, los últimos avances en la experiencia y la tecnología han llevado al TMO a convertirse en una opción de tratamiento eficaz para la EGC. Una revisión reciente de casos reveló que 20 de 24 pacientes con EGC están vivos y libres de enfermedad después de 1-7 años postrasplante.⁶

El Trasplante de médula ósea puede realizarse con éxito y sigue siendo una opción atractiva para los niños que tienen un donante compatible y útil en determinados casos muy graves en los que la terapia profiláctica es problemática, aunque en muchos casos, los donantes pueden ser difíciles de encontrar.⁶

Terapia génica

La terapia génica es una técnica que busca introducir un gen funcional dentro de una célula determinada y de esta manera corregir un defecto genético o conferirle a la célula una función adicional o diferente a la que naturalmente tiene. En la terapia génica ex vivo se obtienen células del paciente para ser modificadas en el laboratorio y posteriormente implantarlas en el organismo con el defecto genético.³⁰

Este método se emplea para realizar terapia génica en la EGC y en otros trastornos hematopoyéticos, como la inmunodeficiencia combinada grave (SCID por su sigla en inglés), el síndrome de Wiskott-Aldrich, la anemia de Fanconi y la anemia falciforme, entre otros.

Las células diana para corregir el defecto genético en estas enfermedades son las células pluripotenciales hematopoyéticas. Estas células son escasas, representan el 0.01% de toda la población celular hematopoyética, y se caracterizan por encontrarse en la fase G0 del ciclo celular. Las células progenitoras hematopoyéticas humanas utilizadas en el campo de la terapia génica son seleccionadas por la expresión del antígeno CD34 y se puede inducir su proliferación mediante la administración de factores de crecimiento, de forma que se aumente considerablemente su número en la sangre periférica. La habilidad de estas células para repoblar la médula ósea de individuos receptores que han sido expuestos a condiciones mieloablativas, así como su capacidad para alcanzar la diferenciación en un linaje específico de poblaciones celulares en la sangre periférica, las convierte en un blanco importante para la intervención genética. Esto explica por qué las células madre ofrecen oportunidades terapéuticas importantes, a pesar de que es necesario profundizar en el conocimiento acerca de la biología y de los factores microambientales que influyen en su desarrollo y proliferación *in vivo* e *in vitro*.

31

II. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Debido a que la enfermedad granulomatosa crónica es una enfermedad poco frecuente y sus manifestaciones son poco específicas, su diagnóstico suele retrasarse lo cual empeora el pronóstico. Cuando las manifestaciones iniciales son de tipo infeccioso se requiere de la pronta administración de antibióticos empíricos con espectro apropiado. Algunos microorganismos poco frecuentes pueden servir como marcadores de diagnóstico para que el médico sospeche la enfermedad y así se diagnostique oportunamente y se inicie plan de tratamiento.

No se cuentan con datos actuales en la literatura nacional sobre el curso clínico de la enfermedad granulomatosa crónica, así como los microorganismos prevalentes y cuál es su comportamiento en pacientes con enfermedad granulomatosa crónica.

II.1 Pregunta de investigación

¿Cuál es la frecuencia de hospitalizaciones e infecciones antes y después del establecimiento del tratamiento profiláctico en pacientes con enfermedad granulomatosa crónica atendidos en el Hospital Infantil de México Federico Gómez?

III. JUSTIFICACIÓN

Se estima que uno de cada 250,000 niños nace con enfermedad granulomatosa crónica, aunque los síntomas de la enfermedad pueden no aparecer hasta después de los primeros meses de edad. Los primeros informes documentados mencionan una supervivencia de los pacientes más allá de 7 años de edad; la supervivencia ha mejorado considerablemente debido a los avances en los tratamientos, y el uso profiláctico de antibacterianos ha visto una reducción significativa de las complicaciones infecciosas.⁶

Aunque es una enfermedad infrecuente, el médico de primer contacto y el pediatra son piedra angular para el diagnóstico temprano con el fin de evitar complicaciones que pongan en peligro la vida.

Las condiciones ambientales como lo son los microorganismos oportunistas, el patrón de resistencia bacteriana, estado del hospedero y otros son diferentes en las diversas regiones geográficas.

La dificultad en establecer su diagnóstico oportunamente, la alta mortalidad relacionada a la infección pulmonar por agentes fúngicos, así como la necesidad de contar con mejores herramientas terapéuticas, justifican la realización de investigaciones futuras en cuanto a esta patología.

IV. OBJETIVOS

IV.1 Objetivo General:

- Describir la frecuencia de infecciones así como de hospitalizaciones antes y después de la instauración de la terapéutica profiláctica en pacientes con diagnóstico confirmado de enfermedad granulomatosa crónica atendidos en el Hospital Infantil de México Federico Gómez.

IV.2 Objetivos Específicos:

- Describir la edad de inicio de las manifestaciones clínicas en pacientes con enfermedad granulomatosa crónica.
- Identificar la edad de diagnóstico.
- Describir el comportamiento clínico de las infecciones más frecuentes en pacientes con enfermedad granulomatosa crónica.
- Identificar los microorganismos aislados antes de la instauración de la terapia profiláctica y su susceptibilidad antimicrobiana.
- Identificar los microorganismos aislados después del inicio de la terapia profiláctica y su susceptibilidad antimicrobiana.
- Identificar los agentes etiológicos más frecuentemente aislados.
- Investigar la terapéutica profiláctica antibiótica usada.
- Describir la eficacia de la terapéutica inmunomoduladora.
- Investigar las causas de las defunciones relacionadas a enfermedad granulomatosa crónica.
- Describir la edad de defunción por enfermedad granulomatosa crónica.

V. MÉTODO

V.1 Tipo de estudio

Se realizará un estudio de tipo descriptivo, transversal, retrospectivo.

V.2 Diseño de estudio

Se realizará un estudio de diseño transversal. Para tal efecto se revisará la base de datos del Departamento de Archivo Clínico, así como los registros del laboratorio de inmunohistoquímica que incluyan pacientes con diagnóstico de enfermedad granulomatosa crónica, se identificará cada uno de los expedientes de éstos pacientes. A estos, se les aplicará un protocolo de recolección de datos mediante una hoja de recolección. El periodo de estudio comprende del 01 de enero de 1998 al 31 de diciembre de 2012.

V.3 Descripción de las Variables

| Variables | Definición teórica | Clasificación operacional | Nivel de medición | Escala de Medición |
|---|--|----------------------------------|--------------------------|---------------------------|
| Edad | Tiempo transcurrido desde el nacimiento. | Cuantitativa Discontinua | Ordinal | |
| Género | Se refiere a las características biológicas que definen a un ser humano como hombre o mujer. | Cualitativa Dicotómica | Nominal | Masculino ó Femenino |
| Consanguinidad | Relación o unión familiar que existe entre las personas que descienden de una misma raíz o tronco. | Cualitativa Dicotómica | Nominal | Si ó No |
| Número de Infecciones antes de terapia profiláctica | Procesos patológicos caracterizados por la invasión de tejidos o fluidos normalmente estériles por microorganismos potencialmente patógenos. | Cuantitativa Discontinua | Ordinal | |
| Número de hospitalizaciones antes de terapia profiláctica | Ingreso a un hospital de una persona enferma para su examen, diagnóstico y tratamiento | Cuantitativa Discontinua | Ordinal | |
| Edad de diagnóstico | Tiempo transcurrido desde el nacimiento hasta el diagnóstico de enfermedad granulomatosa crónica | Cuantitativa Discontinua | Ordinal | |

| Variab les | Definición teórica | Clasificación operacional | Nivel de medición | Escala de Medición |
|---|--|---|--------------------------|--|
| Manifestación clínica inicial | Expresión mediante signos y síntomas de una enfermedad | Cualitativa politómica | Nominal | |
| Terapéutica antibiótica profiláctica | Esquema de antibiótico inicial cuando posterior al diagnóstico que protege contra infecciones oportunistas | Cualitativa politómica | Nominal | |
| Uso de terapia inmunomoduladora | Terapia que interviene en los procesos de autorregulación del sistema de defensa | Cualitativa Dicotómica | Nominal | Si ó No |
| Número de Infecciones después de terapia profiláctica | | Cuantitativa Discontinua | Ordinal | |
| Número de hospitalizaciones después de terapia profiláctica | | Cuantitativa Discontinua | Ordinal | |
| Tiempo de estancia hospitalaria | Tiempo que el paciente permanecerá en un hospital. | Cuantitativa Discreta | Ordinal | |
| Microorganismo aislado antes del inicio de terapia profiláctica | Agente principalmente de etiología bacteriana causante de la infección, con crecimiento en el hemocultivo. | Cualitativa politómica | Nominal | Gram positivo Gram negativo Hongo Otros |

| Variables | Definición teórica | Clasificación operacional | Nivel de medición | Escala de Medición |
|---|--|-------------------------------------|--------------------------|--|
| Microorganismo aislado después del inicio de terapia profiláctica | | Cualitativa politémica | Nominal | Gram positivo Gram negativo Hongo Otros |
| Defunción | Fallecimiento de una persona | Cualitativa Dicotómica | Nominal | Si/No |
| Edad de defunción | Tiempo ocurrido desde el nacimiento de una persona hasta su fallecimiento. | Cuantitativa Discontinua | Ordinal | |
| Causa de defunción | Motivo por el cual fallece una persona | Cualitativa politémica | Nominal | |

V.4 Universo de trabajo y muestra

El universo de estudio serán todos expedientes de los pacientes atendidos en el Hospital Infantil de México Federico Gómez, siendo la muestra los expedientes de los pacientes con diagnóstico confirmado de enfermedad granulomatosa crónica atendidos durante el periodo comprendido del 01 de enero de 1998 al 31 de Diciembre de 2012.

V.4.1 Criterios

En el presente estudio se tomarán como **criterios de inclusión** los siguientes puntos:

- Expedientes de pacientes menores de 18 años.
- Expedientes de pacientes con diagnóstico de enfermedad granulomatosa crónica atendidos en el Hospital Infantil de México durante el periodo del 01 de Enero de 1998 al 31 de Diciembre de 2012.
- Expedientes de pacientes que cuenten con diagnóstico de enfermedad granulomatosa crónica con o sin infecciones u hospitalizaciones durante su seguimiento en el Hospital Infantil de México.
- Pacientes que a su diagnóstico y/o durante su seguimiento hayan comenzado terapia profiláctica específica.

Se tomarán como **criterios de eliminación**:

- Pacientes que no tengan registro o no se encuentre el expediente.
- Expedientes de pacientes con diagnóstico de enfermedad granulomatosa crónica, pero que no hayan comenzado terapia profiláctica.

V.5 Límite de espacio y tiempo

La investigación se llevará a cabo en el Hospital Infantil de México Federico Gómez, perteneciente a los Institutos Nacionales de Salud. Dicho hospital se encuentra ubicado en la Ciudad de México, Distrito Federal. El periodo de estudio será del 01 de Enero del 1998 al 31 de diciembre del 2012.

V.6 Plan de análisis estadístico

La información obtenida de los expedientes por medio del cuestionario de investigación, se transcribirá a una base de datos en formato Microsoft Office Excel versión 2010 en tablas organizadas, de acuerdo a las variables.

Los datos se exportarán para su análisis al programa estadístico *Statistical Package for the Social Sciences* (SPSS) versión 20.0.

Se utilizará estadística descriptiva y la información se presentará a manera de tablas y gráficas.

V.7 CRONOGRAMA DE ACTIVIDADES

| ACTIVIDAD | 2012 | | | | | | | 2013 | | | | | | | | | | | | 2014 | | |
|---|------|-----|-----|-----|-----|-----|-----|------|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|------|-----|--|
| | JUN | JUL | AGO | SEP | OCT | NOV | DIC | ENE | FEB | MAR | ABR | MAY | JUN | JUL | AGO | SEP | OCT | NOV | DIC | ENE | FEB | |
| Planeación del anteproyecto | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Elección del tema y población de estudio | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Solicitar autorización al hospital para realizar el estudio | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Elaboración de protocolo de investigación | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Revisión bibliográfica | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Elaboración de marco teórico | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Presentación de protocolo de investigación en el hospital | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Recolección de datos | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Análisis de la información | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Obtención y presentación de resultados | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Elaboración de discusión y conclusiones finales | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Elaboración de propuesta y recomendaciones | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |

VI. RESULTADOS

Durante el periodo de estudio comprendido del 01 de enero de 1998 al 31 de diciembre del 2012 en el Hospital Infantil de México Federico Gómez, se diagnosticaron 10 pacientes con enfermedad granulomatosa crónica. Se incluyeron en el estudio por satisfacer los criterios de inclusión, 9 casos con diagnóstico de enfermedad granulomatosa crónica, se excluyó un paciente por fallecer antes de la instalación de la terapia profiláctica. La edad media de diagnóstico fue 6.5 años, con un rango de 8 meses y 13 años. Ninguno de los pacientes tuvo antecedentes de consanguinidad en los padres.

En cuanto al género se identificaron 7 pacientes del sexo masculino (77.8%) y 2 del sexo femenino (22.2%), los pacientes del género masculino con un patrón de herencia ligado al X y las pacientes del género femenino con un patrón de herencia autosómico recesivo. En el Cuadro 3 se describen las manifestaciones iniciales, la edad al diagnóstico y el tiempo de retraso del diagnóstico.

Cuadro 3. Características clínicas en pacientes con enfermedad granulomatosa crónica. Hospital Infantil de México. 1998-2012.

| Paciente | Sexo | Herencia | Manifestación clínica Inicial | Edad de la primera manifestación (meses) | Edad de diagnóstico (meses) | Retraso en el diagnóstico (meses) |
|----------|-----------|---------------------|-------------------------------|--|-----------------------------|-----------------------------------|
| 1 | Masculino | Ligada al X | Absceso perianal | 3 | 42 | 39 |
| 2 | Masculino | Ligada al X | Absceso cervical | 3 | 10 | 7 |
| 3 | Femenino | Autosómica Recesiva | Oclusión intestinal | 84 | 95 | 11 |
| 4 | Masculino | Ligada al X | Absceso inguinal | 9 | 156 | 147 |
| 5 | Masculino | Ligada al X | Neumonía | 5 | 124 | 119 |
| 6 | Masculino | Ligada al X | Absceso cervical | 1 | 26 | 25 |
| 7 | Masculino | Ligada al X | Absceso perianal | 1 | 24 | 23 |
| 8 | Masculino | Ligada al X | Absceso inguinal | 84 | 108 | 24 |
| 9 | Femenino | Autosómica Recesiva | Granuloma pulmonar | 24 | 120 | 96 |

Fuente: Archivo clínico Hospital Infantil de México Federico Gómez.

En cuanto los procesos infecciosos antes del establecimiento de la terapia profiláctica se documentaron en promedio 5.4 eventos por paciente, dentro de las infecciones más comunes se encontraban neumonía, absceso perianal, abscesos en piel y tejidos blandos. Dentro de las infecciones catalogadas como graves se documentaron neumonía grave que ameritó ventilación mecánica en 3 pacientes, meningoencefalitis en una paciente, sepsis en 3 pacientes y choque séptico en 2 pacientes (Cuadro. 4).

Cuadro 4 Infecciones reportadas antes del establecimiento de la terapia profiláctica en pacientes con enfermedad granulomatosa crónica

| <i>Infecciones antes de la terapia profiláctica</i> | <i>frecuencia</i> |
|---|-------------------|
| Neumonía | 10 |
| Absceso perianal | 8 |
| Absceso en piel y tejidos blandos | 4 |
| Sepsis | 3 |
| Choque séptico | 2 |
| Infección asociada a catéter | 2 |
| Absceso hepático | 2 |
| Meningoencefalitis | 1 |
| Pansinusitis | 1 |
| Absceso cervical | 1 |
| Mastoiditis | 1 |
| Infección de vías urinarias | 1 |
| Disentería | 1 |
| Absceso pulmonar | 1 |
| Peritonitis | 1 |

Fuente: Archivo clínico Hospital Infantil de México Federico Gómez.

Cabe mencionar que en tres pacientes debido a un cuadro clínico sugestivo de tuberculosis se inicia tratamiento antifímico. (uno de ellos con una reacción en cadena de la polimerasa, PCR, positiva para *Mycobacterium tuberculosis*, en los demás por hallazgos radiológicos, así como histopatológicos sugestivos de infección por tuberculosis).

El microorganismo aislado con mayor frecuencia fue el *Aspergillus fumigatus*. Los microorganismos aislados se describen en el Cuadro 5, así como las veces en las que se llevaron a cabo los aislamientos.

Cuadro 5. Microorganismos identificados durante las infecciones y hospitalizaciones en pacientes con enfermedad granulomatosa crónica.

| <i>Microorganismo</i> | <i>Número de aislamiento</i> |
|-----------------------------------|------------------------------|
| <i>Aspergillus fumigatus</i> | 4 |
| <i>Salmonella D</i> | 3 |
| <i>Enterobacter cloacae</i> | 2 |
| <i>Staphylococcus hominis</i> | 1 |
| <i>Histoplasma capsulatum</i> | 1 |
| <i>Mycobacterium tuberculosis</i> | 1 |
| <i>Candida albicans</i> | 1 |
| <i>Streptococcus viridians</i> | 1 |
| <i>Streptococcus sanguis</i> | 1 |
| <i>Streptococcus salivarius</i> | 1 |
| <i>Burkholderia cepacia</i> | 1 |

Fuente: Archivo clínico Hospital Infantil de México Federico Gómez

Asimismo en cuanto a las hospitalizaciones antes del establecimiento de la terapia profiláctica, se registraron 2.7 episodios por paciente, con un tiempo de estancia hospitalaria en promedio de 75.6 días por paciente.

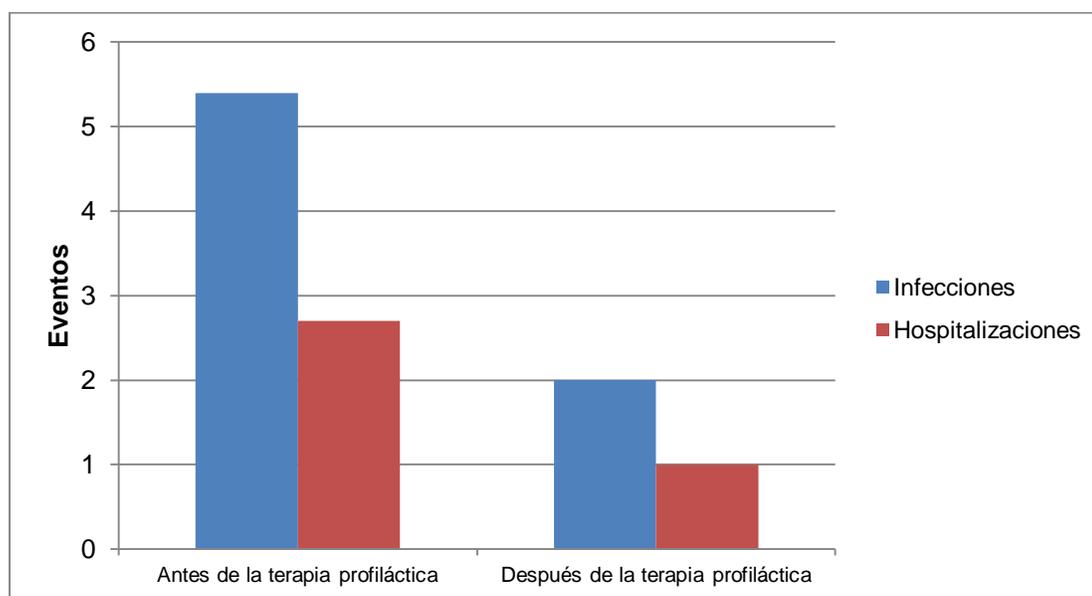
El diagnóstico se lleva a cabo a partir de la prueba de Reducción de Nitroazul de tetrazolio, en todos los pacientes fue positiva, asimismo se realizó conversión de 1,2,3DHR a 1,2,3 rodamina mediante citometría de flujo en 7 pacientes y secuenciación directa de los genes candidatos en un paciente.

En cuanto a la terapia profiláctica se inició al momento del diagnóstico, en la mayoría de los pacientes. En un paciente se retrasó 3 meses por duda diagnóstica. En 7 pacientes consistió en Trimetoprim-Sulfametoxazol (TMP-SMX), itraconazol e interferón gamma (IFN- γ); En un paciente se utilizó el esquema TMP-SMX, itraconazol y factor de transferencia; finalmente en un paciente con alergia a las sulfas se inició la terapia profiláctica con itraconazol y se cambió la administración de IFN- γ por factor de transferencia, por falta de recursos económicos, sin embargo con evolución clínica tórpida, se le inicia finalmente cefalexina años después así como IFN- γ , con mejoría clínica evidente.

A pesar de que en la mayoría de los pacientes se inicia terapia inmunomoduladora la administración fue llevada a cabo de manera irregular, la mayoría de las veces por falta de recursos económicos, sólo en un paciente se discontinuó el uso de IFN- γ por referir fiebre como evento adverso, que meses después se volvió a establecer.

Las infecciones registradas después del establecimiento de la terapia profiláctica disminuyeron, con una media de 2 eventos por paciente, las hospitalizaciones con una media de 1 por paciente; asimismo el tiempo de estancia hospitalaria disminuyó hasta 14.6 días por paciente. En total el número infecciones disminuyó en un 63.2%, el número de hospitalizaciones disminuyó en 64.1% y el tiempo de estancia hospitalaria disminuyó 80% después del establecimiento de una terapia profiláctica.

Grafica 1. Número de infecciones y hospitalizaciones antes y después de la terapia profiláctica.



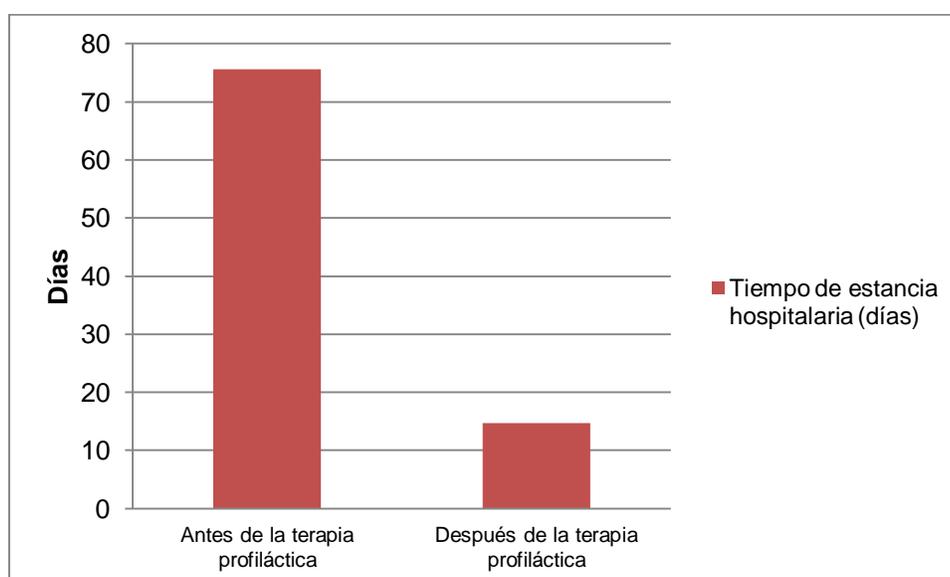
Fuente: Archivo clínico Hospital Infantil de México Federico Gómez

Cuadro 6. Tiempo de estancia hospitalaria antes y después del establecimiento de la terapia profiláctica.

| | <i>Estancia hospitalaria antes (días)</i> | <i>Estancia hospitalaria después (días)</i> |
|--------|---|---|
| Media | 75.67 | 14.67 |
| Mínimo | 53 | 0 |
| Máximo | 96 | 76 |

Fuente: Archivo clínico Hospital Infantil de México Federico Gómez

Grafica 2. Tiempo de estancia hospitalaria antes y después de la terapia profiláctica



Fuente: Archivo clínico Hospital Infantil de México Federico Gómez

Se registró una defunción en una paciente de 7 años de edad, cuya infancia curso con manifestaciones clínicas sutiles que no apuntaban a un cuadro de enfermedad granulomatosa crónica, la edad de diagnóstico fue a los 7 años por un cuadro de oclusión intestinal, granulomas intestinales y neumonía por *Histoplasma capsulatum* Durante su internamiento desarrolla Aspergilosis pulmonar con evolución clínica tórpida, finalmente se lleva a cabo el fallecimiento después de 137 días de estancia hospitalaria a causa de insuficiencia respiratoria por hemorragia pulmonar debido a Aspergilosis pulmonar.

VII. DISCUSIÓN

La EGC es una inmunodeficiencia primaria se caracteriza por un defecto de fagocitosis, específicamente en el complejo enzimático de la NADPH oxidasa; que condiciona infecciones recurrentes que en ocasiones ponen en peligro la vida.

Es un padecimiento raro, tiene una incidencia estimada de uno en 250 000 recién nacidos en todo el mundo. En Latinoamérica, los trastornos de la fagocitosis, en conjunto, comprenden 8.6% de las inmunodeficiencias primarias, y en México representan 14.1% del total de inmunodeficiencias.³ En un estudio realizado en nuestro país sobre inmunodeficiencias en un Hospital de tercer nivel de atención en un periodo de 30 años se reporta una frecuencia de enfermedad granulomatosa crónica de 12 casos.³² En nuestro estudio se identificaron 10 casos en un periodo de 15 años, con lo cual se confirma que se trata de una enfermedad rara, sin embargo por tratarse nuestro instituto de un hospital de referencia nacional se diagnostican con mayor frecuencia que en otros centros hospitalarios. Igualmente se acepta que la frecuencia de la enfermedad y de todas las inmunodeficiencias primarias es más alta en todo el mundo, debido a los casos subdiagnosticados.

La edad media de diagnóstico en nuestro estudio fue de 6.5 años, más tardío de lo reportado por la literatura, en donde en un seguimiento de 368 pacientes con enfermedad granulomatosa crónica, realizada en Estados Unidos por Winkelstein y colaboradores,¹⁰ reportan que la mayoría de los pacientes (76%) se diagnostican antes de los 5 años de edad. En un seguimiento de una cohorte de pacientes con diagnóstico de EGC realizado en Madrid, la edad media de inicio de los síntomas en la forma ligada al X, fue de 7.09 meses con una demora en el diagnóstico de 2.74 años, mientras que en la forma autosómica recesiva fue más tardía tanto la edad en la que se iniciaron los síntomas, 14.6 meses y sobre todo el tiempo de retraso en el diagnóstico, 8.7 años.³³ Lo anterior nos permite deducir que los niños con enfermedad

granulomatosa crónica ligada al cromosoma X tienen inicio más temprano de los síntomas y manifestaciones más graves, que evolucionan a daño del órgano afectado por granulomas e infecciones graves y frecuentes, y por consiguiente, morbilidad y mortalidad elevada.¹⁰

En cuanto al tipo de herencia la forma más común de transmisión de la mutación es la ligada al cromosoma X (más de 60% de los casos)³³. En nuestro estudio la mayoría de los pacientes (77.8%), pertenecen al sexo masculino, por lo que se podría asumir que el defecto genético es ligado al X. Se realizó en seis pacientes la reducción de Dihidrorrodamina 123 (123-DRH), la cual es una prueba efectiva para diagnosticar la enfermedad crónica granulomatosa y en muchos de ellos permite diferenciar entre la forma común ligada al cromosoma X y el defecto autosómico recesivo, ya que las portadoras pueden identificarse mediante esta muestra, porque exhiben dos poblaciones de neutrófilos (reductores y no reductores).¹⁴ Así pudimos inferir la herencia ligada al X en siete de nuestros 9 pacientes.

Dentro de las manifestaciones clínicas iniciales en nuestro estudio, sobresalen las linfadenopatías, abscesos cervicales, inguinales y perianales, siendo la manifestación clínica inicial más frecuente los abscesos cervicales. En varias series de casos^{10, 20} reportan como manifestaciones iniciales de enfermedad granulomatosa crónica, los abscesos, granulomas, neumonías recurrentes.

En cuanto a los eventos infecciosos desarrollados antes de la instauración de la terapia profiláctica la manifestación clínica más frecuente fue la neumonía, siendo éste el evento infeccioso mayormente relacionado a mortalidad.¹⁰ Tres eventos de neumonía de los 10 que se integraron, se catalogaron como neumonías graves, en una paciente la neumonía grave por *Aspergillus* fue la causa de la defunción.

Otra forma de presentación es la obstrucción de vísceras huecas en el tracto genitourinario y gastrointestinal debido a la formación de granulomas, en una

paciente la manifestación inicial fue un cuadro de abdomen agudo por obstrucción intestinal, debido a formación de granulomas. Liese y colaboradores reportaron que esta complicación ocurre en el 5% de los pacientes con EGC. Dicho evento se asocia con una actividad residual del complejo NADPH oxidasa. La explicación mayormente aceptada para la formación de granulomas es por una respuesta inflamatoria persistente, los neutrófilos presentan una apoptosis retardada y tienden a producir más IL-8 que los pacientes sanos.¹⁶

El microorganismo mayormente identificado en nuestra serie de casos fue el *Aspergillus fumigatus*. Hay que recordar que los hongos más frecuentes que afectan a pacientes con enfermedad granulomatosa crónica son *Aspergillus fumigatus* y *Aspergillus nidulans*, este último es exclusivo de la enfermedad granulomatosa crónica, por lo que su aislamiento debe hacer sospechar el diagnóstico, lo mismo que aislamientos de hongos no patógenos.^{10, 11}

La frecuencia de infecciones pulmonares por *Aspergillus* en estos pacientes sugiere que los mecanismos independientes de radicales libres de oxígeno son insuficientes para detener la infección, pero parecen ser suficientes para destruir las hifas e impedir la invasión intravascular. Sin embargo, se ha encontrado que cepas de *Aspergillus* de baja virulencia son capaces de provocar la muerte por algún proceso inflamatorio excesivo. Estas observaciones sugieren el doble papel que desempeña la NADPH oxidasa como mediador de la respuesta inmunitaria innata y regulador del proceso inflamatorio.¹²

Dos pacientes desarrollaron choque séptico por *Salmonella D*, que pusieron en riesgo la vida de los pacientes y cuya identificación orientó a la búsqueda de una inmunodeficiencia. La enfermedad granulomatosa crónica se caracteriza por infecciones recurrentes causadas por gérmenes piógenos catalasa

positivas, poco patógenos o de baja virulencia. Con el tratamiento específico dirigido contra este agente causal, se tuvo una remisión completa.

Es importante recordar que las infecciones en estos pacientes salen del contexto de lo habitual, es de primordial importancia sospechar de EGC cuando nos encontramos con microorganismos atípicos. En un paciente se identificó *Burkholderia cepacia*, en cultivo de aspirado bronquial, el paciente se le instauró antibioticoterapia específica, con lo cual la neumonía por este agente causal remitió. Cada vez más se reconoce la participación de *B.cepacia* como agente etiológico de infecciones oportunistas en pacientes con EGC.

Es importante resaltar que en países en vías de desarrollo como el nuestro, existe un alta prevalencia de tuberculosis. Se tiene que ser muy cauto, así como llevar a cabo un interrogatorio dirigido que nos permita descartar esta posibilidad diagnóstica. En tres pacientes se indicó tratamiento antifímico por sospecha de tuberculosis, en los tres casos los reportes de biopsias indicaron inflamación crónica granulomatosa, sugerente de tuberculosis, lo cual nos puede llevar a un diagnóstico incorrecto.

Todos los pacientes recibieron terapia profiláctica al momento del diagnóstico, en el 77.2% de los pacientes se les administró Trimetoprim-Sulfametoxazol, itraconazol e Interferon gamma. Esta demostrada la excelente actividad del TMP-SMX contra los microorganismos que infectan frecuentemente a los pacientes con EGC.²² Tiene la ventaja de ser lipofílico, por lo que alcanza concentraciones altas a nivel intracelular, además no altera la flora anaeróbica intestinal.^{6,9} Su uso ha demostrado una reducción significativa en la incidencia de infecciones cuando los pacientes lo toman de manera regular como profilaxis.²¹ En un paciente que fue alérgico a las sulfanamidas, la terapia profiláctica se inicio solamente con itraconazol y factor de transferencia; sin embargo la evolución clínica fue tórpida, con infecciones severas antes y después del inicio de la terapia profiláctica, incluso con un incremento del

tiempo de estancia intrahospitalaria posterior a la instauración de la terapia profiláctica. Lo que nos permite reconocer la importancia que terapia profiláctica antibiótica tiene en el paciente con enfermedad granulomatosa crónica.

El uso profiláctico de itraconazol ha demostrado una reducción en la incidencia de infecciones micóticas en los pacientes con EGC, especialmente por *Aspergillus*; tal como se observó en nuestra serie, en donde las infecciones por *Aspergillus* disminuyeron en un 50% posterior al inicio de la profilaxis. Gallin y colaboradores²⁷ en un estudio doble ciego, aleatorizado y con grupo control, demostraron que la profilaxis con itraconazol es efectiva y bien tolerada para la reducción de infecciones fúngicas. Se recomienda la monitorización de enzimas hepáticas durante su administración.

El uso de IFN gamma ha demostrado una mejoría parcial en la actividad de la NADPH-oxidasa de neutrófilos y macrófagos en los pacientes con EGC ligada al cromosoma X.^{28, 29} Con el uso de este medicamento se ha logrado reducir la frecuencia y riesgo de infecciones graves, así como los tiempos de estancia hospitalaria y uso de antibióticos intravenosos.²⁹ Debido a que se trata de un medicamento costoso y poco accesible, su administración fue muy irregular, teniendo impacto en la frecuencia de infecciones y hospitalizaciones mientras su administración fue suspendida. En este caso, existe un convenio entre el laboratorio médico que lo produce con la Clínica de inmunodeficiencias del Instituto Nacional de Pediatría, así como también con la Asociación Latinoamericana de Inmunodeficiencias Primarias para facilitar la adquisición del IFN gamma a los pacientes que así lo solicitan.

En general se concluye que la terapia profiláctica disminuye dramáticamente el número de infecciones, hospitalizaciones, así como el tiempo de estancia intrahospitalaria. Estudios similares reportan una reducción de infecciones severas en un 70% con terapia a base de TMP-SMX, itraconazol e IFN- γ . En nuestro estudio esta reducción fue del 63.2%. El tiempo de estancia

hospitalaria disminuyó 80% después del establecimiento de una terapia profiláctica.

VIII. CONCLUSIONES

- La enfermedad granulomatosa crónica es un padecimiento raro en donde actividad microbicida deficiente de los fagocitos de individuos genera una gran susceptibilidad a padecer infecciones bacterianas y micóticas en diferentes localizaciones.
- Aunque es una enfermedad infrecuente el médico de primer contacto, y en especial el pediatra son piedra angular para el diagnóstico temprano con el fin de evitar complicaciones que pongan en peligro la vida.
- La evidencia afirma que un diagnóstico temprano, el inicio del tratamiento con antibióticos profilácticos e interferón-gamma así como la referencia a centros especializados han modificado favorablemente la morbilidad y mortalidad de estos pacientes.
- En este estudio concluimos que el número de procesos infecciosos, las hospitalizaciones así como el tiempo de estancia hospitalaria se redujeron dramáticamente, mejorando así la calidad de vida del paciente.
- Aunque la literatura sustenta el uso seguro del interferon gamma, así como su efecto terapéutico benéfico, relacionado con la disminución de las infecciones, disminuyendo la así mortalidad en pacientes con enfermedad granulomatosa crónica; en nuestro medio continua siendo un medicamento de difícil acceso, básicamente por su alto costo; de aplicación ambulatoria complicada, así como por la presencia de efectos adversos que llevan al paciente a discontinuar su uso.

IX. BIBLIOGRAFIA

1. Wintergerst U, Rosenzweig SD, Abinun M, Malech HL, Orni, J. Maletz A, et al. Phagocytes defects. In Primary Immunodeficiency diseases. Berlin 2008. pp:143-56.
2. Janeway CA, Craig J, Davison M, Doropney W. Hypergammaglobulinemia associated with severe, recurrent, and chronic non specific infection. Am J Dis Child 1954;88:388-92.
3. Leiva LE, Zelazco M, Oleastro M, Carneiro, O. Sampaio M, et al. Primary Immunodeficiency diseases in Latin America: The second report of the LAGID registry. J Clin Immunol 2007;27:101-8.
4. Segal BH, Romani L, Puccetti P. Chronic granulomatous disease. Cell Moll Life Sci 2009;66:553-8.
5. Saucedo, O. Enfermedad granulomatosa crónica. Experiencia en el Hospital Infantil de México Federico Gómez. Tesis para obtener el título de Especialista en Pediatría. UNAM. México, D.F. 2009. pp.7-9.
6. Assari, T. Chronic Granulomatous Disease; fundamental stages in our understanding of CGD, Medical Immunology 2006, 5:4 1476-9433-5-4.
7. Rae J, Newburger PE, Dinauer MC, Noack D, et al. X-linked chronic granulomatous disease: mutations in the CYBB gene encoding the gp91phox Component of respiratory burst oxidase. Am J Hum Genet 1998;62:1320-31.
8. Greenber DE, Ding L, Zelazny AM, Stock F. A novel bacterium associated with lymphadenitis in a patient with chronic granulomatous disease. PLoS Pathog 2006;2(4):e28.
9. Mouy R, Fischer A, Vilmer E, Griseccelli C. Incidence, severity and prevention of infections in chronic granulomatous disease. J Pediatr 1989;114:555-60.
10. Winkelstein JA, Marino MC, Johnston RB, Boyle J, et al. Chronic granulomatous disease. Report on a national registry of 368 patients. Medicine 2000;79:155-69.
11. Siddiqui S, Anderson VL, Hilligoss DM, Abinun M, et al. Fulminant mulch pneumonitis: an emergency presentation of chronic granuomatous disease. Clin Inf Disease 2007;45:673-81.
12. Santos P. Ruiz , A, López R. Infecciones fúngicas en pacientes pediátricos con enfermedad granulomatosa crónica. Rev Iberoam Micol 2000; 17: 6-9.

13. Bustamante J, Aksu G, Vogt G, de Beaucoudrey L, et al. BCG-osis and tuberculosis in a child with chronic granulomatous disease. *J Allergy Clin Immunol* 2007;120:32-38.
14. Álvarez A, Yamazaki, MA, Espinosa SE. Enfermedad granulomatosa crónica. *Alergia Rev Mex* 2009;56(5):165-74.
15. Marciano BE, Rosenzweig SD, Kleiner DE, Anderson VL, et al. Gastrointestinal involvement in chronic granulomatous disease. *Pediatrics* 2004;114:462-8.
16. Song E, et al. Chronic Granulomatous disease: A review of the infectious and inflammatory complications. *Clinical and Molecular Allergy*. 2011, 9:10.
17. Suk S. et al. Chronic Granulomatous Disease as a Risk Factor for Autoimmune Disease. *J Allergy Clin Immunol*. 2008 December; 122(6): 1097–1103.
18. Buescher ES, Gallin JI. Stature and weight in chronic granulomatous disease. *J Pediatr* 1984;104:911-3.
19. Ramírez G. et al. Diagnóstico de enfermedad granulomatosa crónica; pacientes y portadoras. *Rev Alergia Mex* 2011;58(2):120-125.
20. Liese J, Kloos S, Jendrossek V, Petropoulou T, et al. Longterm follow-up and outcome of 39 patients with chronic granulomatous disease. *J Pediatr* 2000;137(5):687-93.
21. Gmunder, F.K, Seger, R.A. Chronic granulomatous disease: mode of action of sulfamethoxazole/trimethoprim. *Pediatric Research*, 1981. 15, 1533–1537.
22. Margolis DH, Melnick DA, Alling DW, Gallin JI. Trimethoprim-sulfamethoxazole prophylaxis in the management of chronic granulomatous disease. *J Infect Dis* 1990; 162:723-6.
23. Tsuji, S. et al. Increased nitric oxide production by neutrophils from patients with chronic granulomatous disease on trimethoprim–sulfamethoxazole Nitric Oxide 7. 2002. 283–288.
24. Seger, R. Modern management of chronic granulomatous disease. *British Journal of Haematology*, 2008. 140, 255–266.
25. Perfect, J.R., Savani, D.V. & Durack, D.T. Uptake of itraconazole by alveolar macrophages. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 1993. 37, 903–904.

26. Mouy, R. et. al. Long-term itraconazole prophylaxis against *Aspergillus* infections in thirty-two patients with chronic granulomatous disease. *J Pediatr*, 1994 125, 998–1003.
27. Gallin J. et. al. Itraconazole to Prevent Fungal Infections in Chronic Granulomatous Disease *N Engl J Med* 2003;348:2416-22.
28. Marciano B, et al. Long-Term Interferon-g Therapy for Patients with Chronic Granulomatous Disease. *CID* 2004;39; 692-699.
29. The International Chronic Granulomatous Disease Cooperative Study Group. A controlled trial of interferon gamma to prevent infection in chronic granulomatous disease. *N Engl J Med* 1991;324:509-16.
30. Dunbar C, Gene therapy for hematological disorders. *An Introduction to Molecular Medicine and Gene Therapy*. New York: Wiley-Liss; 2001. p. 133-151.
31. Velázquez, L. Importancia de la terapia génica en la enfermedad granulomatosa crónica. *Iatreia*. 2005. 18:3 292-295.
32. Leal J, Ferreira A, García Rodríguez C, Alonso, A, Fontán G. Seguimiento de una cohorte de pacientes diagnosticados de enfermedad granulomatosa crónica. *Inmunología*, 2002; 12:1;11-14
33. García M Camacho JA Ortega M, Berron P, Espinosa V, Hernández B. Registro de inmunodeficiencias primarias en pacientes mexicanos en una institución de tercer nivel: experiencia de 30 años. *Alergia, asma e Inmunología pediátrica*. 2002.11:2