

***Programa de Doctorado en Pediatria Universitat  
Autònoma de Barcelona  
Curs 2012-2013***

***Colonización de la vía respiratoria de los niños  
diagnosticados de Fibrosis Quística por cribado neonatal:  
Diferencias cuantitativas y cualitativas con la población de  
niños sanos***

Tesis realizada por Laura Valdesoiro Navarrete bajo la dirección del Profesor Carlos Rodrigo Gonzalo-de-Liria en el Servicio de Pediatria del Hospital de Sabadell. Corporació Sanitària Parc Taulí, - Universitat Autònoma de Barcelona, Campus d'Excel·lència Internacional, Sabadell

Tesis registrada en el "Departament de Pediatria, Obstetricia, Ginecologia i Medicina Preventiva, Universitat Autònoma de Barcelona". Programa de Pediatria.

Carlos Rodrigo  
Director de tesis

Laura Valdesoiro  
Doctorando



**“Conèixer no és suficient, ho hem d’aplicar!**

**Voler no és suficient, ho hem de fer!”**

Johann Wolfgang von Goethe



## Agraïments

Sóc molt feliç d'haver acabat aquest projecte que vaig iniciar fa ja ..... uns 10 anys i voldria fer partícip d'aquesta alegria als qui ho han fet possible. Aquest projecte té una llarga historia i per això han participat en ell moltes persones. Algunes des de l'inici fins al final i d'altres han anat entrant i sortint.

No voldria descuidar-me ningú i vull disculpar-me per endavant per si fos el cas.

Gràcies al meu director de tesi, Professor Carlos Rodrigo amb qui he compartit aquest treball des de l'inici i de qui he après molt.

Gràcies a la Dra. Bosque imprescindible en el naixement d'aquest projecte.

Un agraïment a tot l'equip investigador que ha permès que aquest treball arribés a terme:

- Fisioterapeutes respiratòries:

Sra. Núria López i Sra. Andrea Valiente que han obtingut les mostres respiratòries dels pacients durant les sessions de fisioteràpia.

- Cirurgianes pediàtriques:

Dra. Montserrat Martí y Dra. Begoña SanVicente que han col·laborat per a obtenir les mostres del grup control a quiròfan.

- Microbiòlegs:

Dra. Dolors Mariscal que va realitzar la tasca de laboratori des del començament i em va introduir en el difícil món de la microbiologia.

Dr. Mateu Espasa que m'ha ajudat en l'anàlisi de les dades.

- Infermeria d'Al·lèrgia Pediàtrica

Sres. Pepi Del Bas y Susana Loureda perquè sempre estan disposades a començar nous projectes. Sempre ensenyant i aprenent.

Sres. Susi Ponce y Montse Lorente que posen molta cura en la realització dels test de la suor.

Gràcies al Sr. Joan Carles Oliva, perquè m'ha dedicat hores i molta paciència per a entendre la complexitat de la estadística i a traduir en dades estadístiques els meus objectius clínics.

Gràcies a la Dra. Teresa Casals amb qui sempre aprenc, d'ençà que ens vam conèixer a Belfast i vaig entendre perquè és més freqüent una mutació que una altre en un lloc determinat. En aquest projecte ha aportat idees, recolzament i consells molt útils.

Gràcies a la Dra. Rivera pels seus consells i per confiar que un dia acabaria la tesi.

Gràcies a la Dra. Coloma Moreno. Secretaria Tècnica del CEIC perquè sempre té una estona per a ajudar-te, ensenyar i buscar les solucions més adients.

Gràcies al Dr. Christian Domingo que va orientar-me en la primera fase d'aquest projecte.

A la meva altra família, la de l' "Hospi", alguns ja els he anomenat. A tots els companys de la Unitat d'Al·lèrgia i Pneumologia pediàtriques i la resta del Servei de pediatria, amb els qui compartim moltes hores, a vegades moments difícils i són capaços d'animar, recolzar, aprendre i ensenyar: metges, infermeres, auxiliars, tècnics,... no puc enumerar a tothom.

Un agraïment a la meva família:

Especialment als meus pares perquè m'han donat l'oportunitat de ser qui sóc i m'han donat eines per a lluitar i seguir sempre endavant, per la seva paciència i serenor, la seva capacitat d'escoltar, ensenyar i donar pau..... i per ensenyar-me que existia la pediatria.

Als meus homes (Javi, Pol i Martí) que són el motiu de continuar caminant.

A tots els altres: germana, cunyats, cosins, sogres....sense deixar-me a ningú.

I als amics de debò, els qui estan on els necessites quan les coses es compliquen, ells saben qui són.

Voldria fer un gran agraïment a dues persones sense les quals jo no seria professionalment qui sóc, elles van ensenyar-me a estimar aquesta especialitat, van confiar en mi i em van engrescar a començar aquesta aventura. Durant els anys hem compartit moltes experiències divertides, apassionants i tristes també: la Dra. Montserrat Bosque, motor inicial d'aquest projecte i que és la "meva mare científica", entre molts altres títols professionals i personals i la Dra. Maria Teresa Marco, una figura important a la meva vida i a qui vaig prometre que acabaria aquest projecte.

Moltes gràcies a tots,





# Índice

Abreviaturas .....	11
1 Introducción.....	13
1.1 Fibrosis Quística.....	13
1.1.1 Concepto .....	13
1.1.2 Historia .....	15
1.1.3 Epidemiología.....	19
1.1.4 Fisiopatología de la Fibrosis Quística.....	23
1.1.5 Manifestaciones clínicas de la enfermedad .....	29
1.1.6 Diagnóstico .....	31
1.1.7 Cribado neonatal .....	34
1.2 Microbiología de la vía aérea respiratoria.....	38
1.2.1 Obtención de muestras de la vía aérea para cultivo microbiológico .....	38
1.2.2 Microbiología de la vía aérea respiratoria de los pacientes FQ .....	41
1.2.3 Flora bacteriana de la vía aérea superior de los sujetos NOFQ.....	46
1.3 Medidas de la evolución clínica en los pacientes afectados de FQ .....	48
1.3.1 Función pulmonar. Espirometría forzada .....	48
1.3.2 Tomografía computarizada helicoidal de alta resolución (TCAR).....	49
2 Justificación.....	51
3 Hipótesis de trabajo y objetivos.....	53
4 Metodología .....	55
4.1 Diseño del estudio .....	55
4.2 Lugar donde se realiza (ámbito geográfico) .....	55
4.3 Duración del estudio. Cronograma. ....	55
4.4 Población en estudio. Criterios de inclusión y exclusión .....	57
4.4.1 Pacientes FQ.....	57
4.4.2 Sujetos NOFQ .....	57
4.5 Procedimientos.....	58
4.5.1 Inclusión de pacientes FQ y sujetos NOFQ.....	58
4.5.2 Obtención de las muestras para cultivo microbiológico .....	58
4.5.3 Proceso de la muestra y lectura del cultivo microbiológico.....	58
4.5.4 Valoración de la evaluación clínica en los pacientes FQ .....	59
4.6 Variables del estudio.....	60
4.7 Cálculo de la muestra .....	60
4.8 Análisis estadístico.....	61
4.9 Aspectos Éticos .....	61
5 Resultados .....	63
5.1 Población en estudio .....	63
5.1.1 Características de los pacientes afectados de FQ .....	63
5.1.2 Características de los sujetos NOFQ.....	66
5.2 Resultados microbiológicos .....	68
5.2.1 Descripción de los cultivos cursados.....	68
5.2.2 Descripción de los aislamientos bacterianos.....	71
5.2.3 Cronología en la colonización de la vía aérea .....	77
5.2.4 Colonización bacteriana persistente de la vía aérea en los pacientes FQ.....	85
5.3 Evolución clínica y colonización bacteriana de la vía aérea de los pacientes FQ	

5.3.1	Función pulmonar y colonización bacteriana.....	90
5.3.2	Tomografía computarizada torácica y colonización bacteriana.....	91
5.4	Sujetos NOFQ con dos mutaciones del gen <i>CFTR</i> .....	95
6	Discusión.....	97
7	Conclusiones.....	109
8	Referencias bibliográficas .....	111
9	Apéndices .....	121
9.1	Colaboraciones y Financiación .....	121
9.2	Informe del Comité ético de investigación clínica (CEIC).....	122
9.3	Consentimiento informado .....	123

## Abreviaturas

AMPC	Monofosfato de adenosina cíclico
AOF	Aspirado orofaríngeo
ATP	Adenosina trifosfato
ATS	American Thoracic Society
BAL	Lavado broncoalveolar
BGN	Bacilos Gram negativos
CBAVD	Agnesia bilateral de conductos deferentes
CCF	Cystic Fibrosis Foundation
d.t	desviación típica
ECFS	European Cystic Fibrosis Society
ERS	European Respiratory Society
FEV1	Volumen espiratorio forzado en el primer segundo
FF	Frotis faríngeo
FFA	Frotis faringo-amigdalares
FNF	Frotis nasofaríngeo
FQ	Fibrosis Quística
Gen CFTR	Gen Cystic fibrosis transmembrana regulator
Pacientes FQ	Pacientes diagnosticados de Fibrosis Quística por cribado neonatal
PDN	Pruebas de la diferencia de potencial transepitelial nasal
Proteína CFTR	Proteína Cystic fibrosis transmembrana regulator
QPIT	Prueba cuantitativa de iontoforesis con pielocarpina
QPIT	Prueba cuantitativa de iontoforesis con pilocarpina
SEFQ	Sociedad Española de Fibrosis Quística
SENP	Sociedad Española de Neumología Pediátrica
Sujetos NOFQ	Pacientes de cirugía pediátrica no afectados de Fibrosis Quística
TC	Tomografía computarizada
TCAR	Tomografía computarizada helicoidal de alta resolución
TIR	Tripsina inmunoreactiva
VPN	Valor predictivo negativo
VPP	Valor predictivo positivo

WHO

World Health Organization

# 1 Introducción

## 1.1 Fibrosis Quística

### 1.1.1 Concepto

La Fibrosis Quística (FQ), originalmente denominada Fibrosis Quística del páncreas o mucoviscidosis (del latín *mucus*, "moco", y *viscosus*, "pegajoso"), es una patología multiorgánica de las células exocrinas que cursa con la formación y el acúmulo de secreciones espesas.

Es la enfermedad genética grave más frecuente en la población de origen caucásico. En esta población la prevalencia de la enfermedad es uno de cada 2.000-6.000 individuos<sup>1</sup>. Se estima que uno de cada 25-50 individuos es portador heterocigoto de una mutación para FQ.

La herencia es autosómica recesiva y tiene una distribución mundial que varía según etnias y áreas geográficas<sup>2</sup>. Está causada por una mutación en el gen *CFTR*, que codifica la proteína de conductancia transmembrana de la Fibrosis Quística (proteína CFTR). Este gen está localizado en brazo largo del cromosoma 7 y contiene información para la síntesis de la proteína CFTR. El defecto de esta proteína transmembrana es la causa de la alteración en las secreciones de estos pacientes.

La FQ presenta una evolución crónica y progresiva causando muerte prematura. Afecta especialmente al aparato respiratorio, páncreas, hígado, glándulas sudoríparas y aparato reproductor masculino. La FQ afecta a distintos órganos mostrando una gran variedad de síntomas como sinusitis crónica, diabetes, disminución del crecimiento, íleo meconial, enfermedad hepática o diarrea, probablemente debido a la interacción de genes modificadores<sup>3</sup>.

El pronóstico está determinado por la insuficiencia pancreática exocrina y la afectación pulmonar progresiva<sup>4</sup>. La patología digestiva fue la causa de la temprana mortalidad de estos pacientes hasta mediados del siglo XX, y determinaba una mortalidad del 70% antes del año de vida. Los avances en el tratamiento de la insuficiencia pancreática han mejorado la supervivencia del paciente. La esperanza de

vida actual es cerca de los 40 años. (Figura 1), siendo la patología pulmonar la principal causa de morbilidad y mortalidad. El 90% de los pacientes mueren de insuficiencia respiratoria<sup>5</sup>. Se hace necesario conocer los microorganismos implicados en la infección y deterioro de la función pulmonar de estos pacientes.

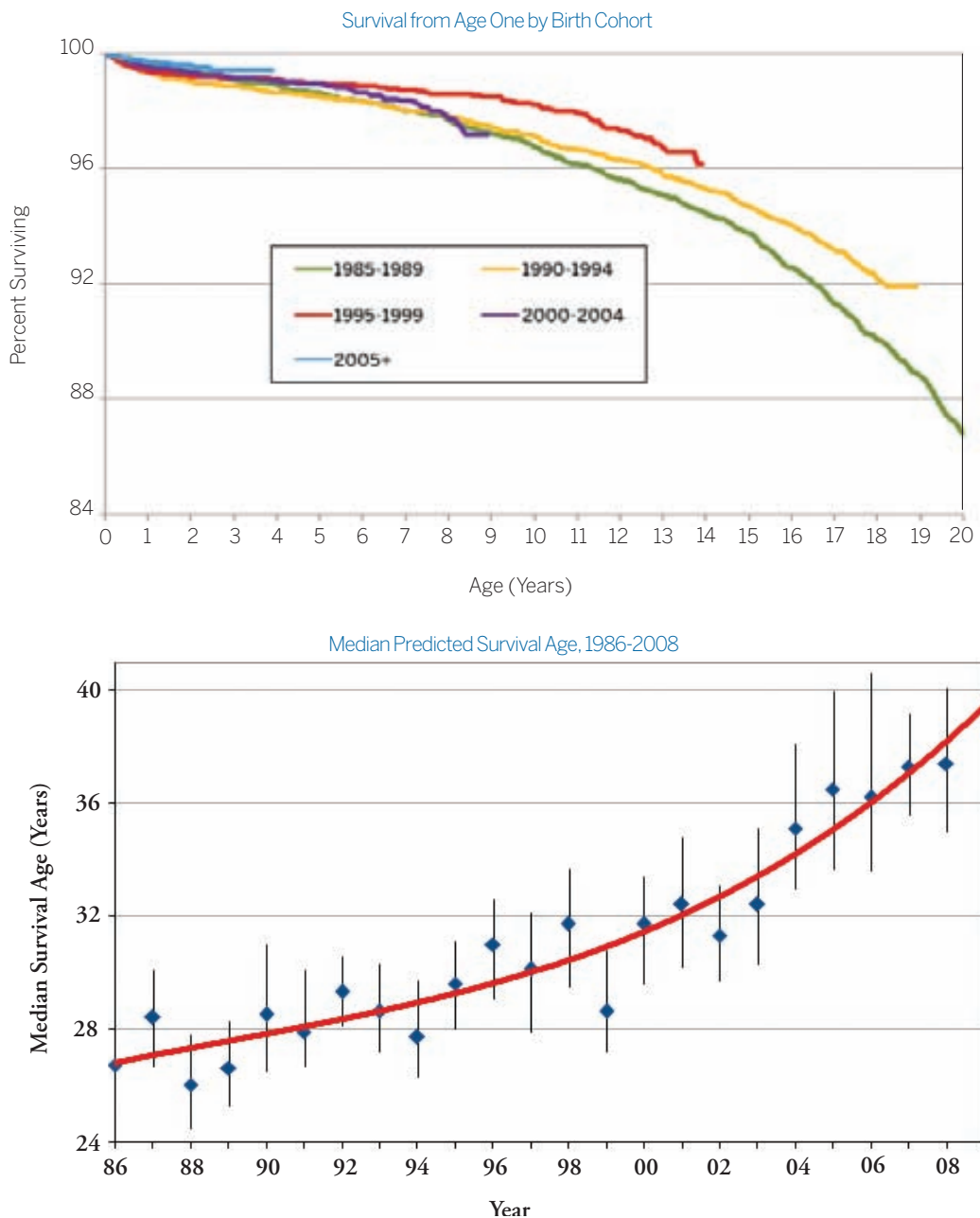


Figura 1. Gráficos de supervivencia en función de la cohorte de nacimiento y del año de nacimiento (CFF Patient Registry 2008)<sup>5</sup>

### 1.1.2 Historia

Las primeras descripciones de la enfermedad las hallamos en el siglo XV. Hacían referencia a niños salados, encantados, que morían prematuramente: “Ay, de aquel niño que al ser besado en la frente sabe a salado. Él está embrujado y pronto debe morir” (Irlanda S XV)

Se recogen historias similares en diferentes países europeos donde el exceso de sal era síntoma de hechizo, encanto, magia, posesión demoníaca: Polonia, Alemania, La Unión Soviética, Checoslovaquia, Austria, Suiza, Hungría, Rumania, Yugoslavia y España<sup>6</sup>.

Durante el siglo XVI se realizan estudios histológicos del páncreas. En 1595 Peter Pauwn (Leiden, Holanda) realizó una autopsia a una niña de 11 años “muy flaca” y observó un “páncreas cirroso”.

En 1606, Juan Alfonso y de Los Ruyces de Fontecha, catedrático de la Universidad de Medicina de Alcalá de Henares, escribe en su libro “Diez privilegios para mugeres preñadas”. L P Grande, Alcala de Henares, 1606, p 212.”(Figura 2) acerca de la enfermedad y describe el sabor salado de los dedos tras frotar la frente de estos niños embrujados.



**Figura 2.** Portada del libro de Alonso y de Los Ruyces de Fontecha.

En 1905, Karl Landsteiner describe la asociación entre meconio espeso en el recién nacido y fibrosis del páncreas, especula sobre la teoría de un déficit enzimático.

En 1912, Sir Archibald Garrod describió familias en las que nacían niños con esteatorrea y morían de bronconeumonía, sugiriendo una herencia genética.

En 1936, Guido Fanconi (Suiza) fue el primero en usar el término de Fibrosis Quística para definir la combinación de insuficiencia pancreática y enfermedad pulmonar crónica del niño, pero su publicación tuvo poca difusión.

En 1938, Dorothy Andersen define la enfermedad como Fibrosis Quística del páncreas y relacionó la enfermedad pulmonar e intestinal. (Figura 3)



**Figura 3.** Dorothy Andersen

En 1943, Sydney Farber describe la enfermedad como sistémica de todas las glándulas secretoras de moco: “Mucoviscidosis”

En 1945 se describe el patrón de herencia autosómico recesivo (Andersen and Hodges

En 1953, Paul Di Sant’Agnese da un valor a los electrolitos del sudor en el diagnóstico de la enfermedad.

En 1959, L. Gibson and Cooke describen la iontoforesis con pilocarpina para la estimulación y recolección del sudor. Establecen la prueba de sudor (Gibson 1959), que sigue siendo el estándar en el diagnóstico de los pacientes afectos de Fibrosis Quística.

En los años 50 se desarrollaron centros específicos para el estudio y tratamiento de los pacientes afectos de Fibrosis Quística: US National CF Research Foundation, La Fundación Canadiense de Fibrosis Quística y en 1965 se constituye, en París, la CF International Association.

En 1979, se pudo disponer de cribado neonatal mediante la cuantificación de tripsina inmunoreactiva (TIR) en sangre, en algunos países. En nuestra zona de referencia no se instauró hasta 1999. Aún hoy en día el cribado neonatal de FQ no es universal.

A principios de la década de los 80, Quinton<sup>7</sup> describió de manera precisa la alteración en el transporte de sales, explicando el defecto en la permeabilidad de los iones cloruro (Cl-) en las células epiteliales afectadas de las glándulas sudoríparas. Posteriormente Knowles<sup>8</sup> observó el mismo fenómeno en el epitelio respiratorio.

La localización del gen tuvo lugar en 1985 por Tsui<sup>9</sup> y finalmente lo aisló Rommens en 1989<sup>10</sup>. Identifican y clonan el gen y la proteína para la cual codifica, la denominan



proteína de conductancia transmembrana de la FQ (CFTR). La primera mutación descrita fue la F508del, la delección del aminoácido fenilalanina en el codón 508 por Kerem B<sup>11</sup>. Actualmente se conocen más de 1800 mutaciones del gen *CFTR*.

Desde 1990 se está investigado en terapia génica y fármacos para modificar el defecto génico. Durante los años 90 se aprueba el uso de dornasa-alfa, se demuestra que el uso de ibuprofeno es favorable en el tratamiento de la inflamación, se realizan múltiples estudios de terapia génica con vectores virales y liposomas. Se crean programas que favorecen los estudios precoces y redes para facilitar los estudios multicéntricos.

En 1997, científicos de Pennsylvania identificaron una molécula que podría explicar la conexión entre los defectos de las células de los pacientes con Fibrosis Quística y las infecciones pulmonares. También se realiza el mapa de la estructura de la *Pseudomonas aeruginosa*, lo que permite desarrollar nuevos fármacos para su tratamiento. Durante este año se aprueba el uso de tobramicina en solución para inhalación.

En el año 2000 se logra un Consenso Europeo para el tratamiento de la infección por *P. aeruginosa*.

En los últimos 10 años se han desarrollado muchos estudios multicéntricos sobre genes modificadores, terapia génica y fármacos antiinflamatorios y protocolos para la erradicación de las infecciones crónicas del pulmón de estos pacientes.

Desde el año 2007 se encuentran en fase de desarrollo nuevas estrategias de tratamiento para la modulación de la CFTR, restaurar la superficie líquida de la vía aérea (suero salino hipertónico, manitol inhalado en polvo seco, Galaad GS9411), mejorar la alteración del moco (dornasa-alfa), fármacos antiinflamatorias (N-acetilcisteína oral, ácido docosahexanoico, glutatión inhalado, KB001-monoclonal humano, GSK 656933, Sildenafil) y antiinfecciosas (azitromicina, aztreonam inhalado, tobramicina inhalada en polvo seco, MP-376, amikacina liposomal inhalada, GS 9310/11, ciprofloxacino inhalado)

El conocimiento de la enfermedad y los avances terapéuticos han permitido alargar la supervivencia y la calidad de vida de estos pacientes. A mediados del siglo XX aún la mortalidad era muy elevada, el 70% fallecían antes del año de vida a causa de la insuficiencia pancreática. En los últimos 10-20 años la esperanza de vida ha aumentado de 31 a 37 años<sup>5</sup> y se estima que los pacientes con la enfermedad clásica

nacidos hoy en día podrán superar los 50 años<sup>12</sup>. Se está investigando en tratamientos específicos de las distintas mutaciones para corregir la función alterada de la CFTR. También se estudian terapias génicas, independientemente de la mutación implicada, con el objetivo de insertar una copia de DNA normal en uno de los alelos. Actualmente los esfuerzos en el día a día del paciente son la nutrición y preservar la función pulmonar a la espera de tratamientos más definitivos <sup>13</sup>.

### **1.1.3 Epidemiología**

#### **1.1.3.1 Prevalencia de la enfermedad y portadores**

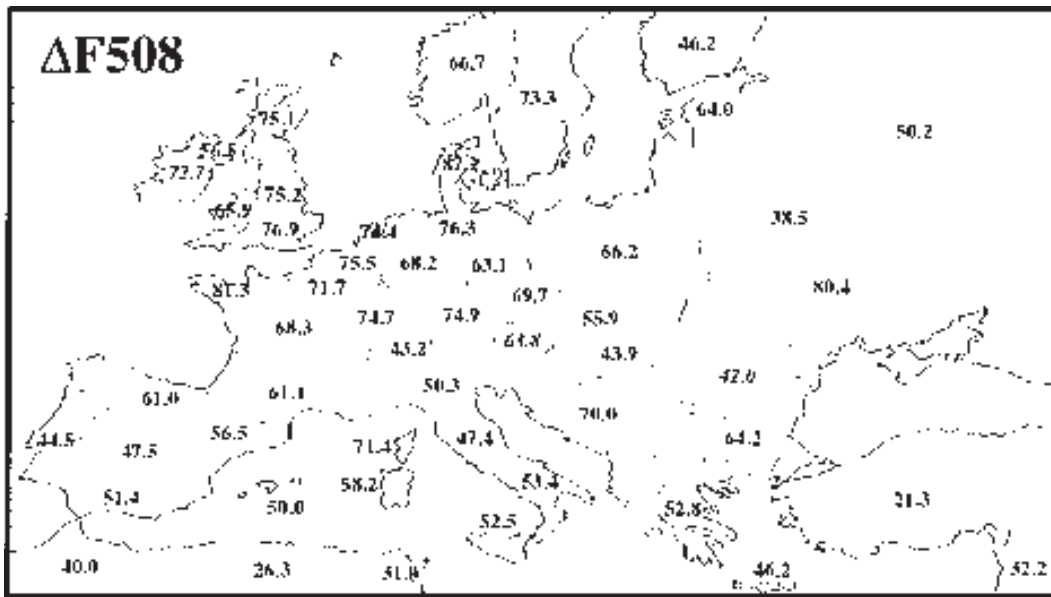
La FQ es la enfermedad genética autosómica recesiva más frecuente en la población de origen caucásico. Tiene una distribución mundial, pero su prevalencia y la de sus diferentes mutaciones varían según etnias y áreas geográficas. En Europa existe una elevada variabilidad debida a la influencia de las diferentes migraciones que han sucedido y también a situaciones geográficas y/o socio-culturales que favorecen el aislamiento de determinadas poblaciones. La mayor prevalencia, en Europa, se ha descrito en Albania<sup>14</sup> 1/450 e Irlanda<sup>15</sup> 1/1.460 y la menor en Finlandia<sup>16</sup> 1/25.000. La prevalencia en otros continentes África, Asia y América está aún poco documentada. Se han observado prevalencias muy bajas en norteamericanos de origen asiático (1/31.000)<sup>5</sup> y judíos iraníes<sup>17</sup> (1/39.000). En la población de origen caucásico la prevalencia de la enfermedad suele situarse entre 1/2.000 y 1/4.000, se estima que la frecuencia de portadores es de 1 por cada 25-35 individuos. El programa de cribado neonatal que se aplica en Cataluña ha permitido el diagnóstico de 122 niños afectados de FQ, desde octubre de 1999 hasta diciembre de 2008. La incidencia de diagnósticos es de 1/5.840 recién nacidos vivos, menor que la descrita para otras poblaciones <sup>1</sup>.

Distintos autores han intentado explicar el motivo de la alta prevalencia de esta enfermedad. Se ha investigado una ventaja selectiva de los heterocigotos frente a determinadas infecciones, pero no se ha podido determinar con certeza.<sup>2</sup>

#### **1.1.3.1. Frecuencia y distribución de las mutaciones del gen *CFTR***

Actualmente, 20 años después del descubrimiento del gen *CFTR*, se han descrito más de 1.800 mutaciones del mismo. Existe mucha variabilidad en su significación clínica. Se han descrito unas mutaciones más frecuentes y claramente relacionadas con la enfermedad como F508del, I507del, N1303K, G542X, 1677delTA, E92K, G85E, G85V, otras relacionadas con clínica variable como R347H i R347P, mutaciones asociadas a FQ con o sin insuficiencia pancreática como L206W y otras mutaciones descritas no

asociadas a como: R75Q, L997F, F1052V. La prevalencia de estas mutaciones está en función de la etnia, el área geográfica y las corrientes migratorias.



**Figura 4.** Distribución de la mutación  $\Delta F508$ del en Europa (Estivill 1997)

La mutación F508del es la más frecuente, representa aproximadamente 2/3 de todos los alelos de los pacientes afectados. Esta mutación tiene una prevalencia que decrece del noroeste (87%) al sudeste de Europa (21%) (Figura 4). El tercio restante es muy heterogéneo, sólo otras cuatro mutaciones (G542X, G551D, N1303K y W1282X) se hallan representadas en todas las poblaciones europeas con frecuencias superiores al 1%<sup>18</sup>.

La mayoría de las mutaciones del gen *CFTR* se asocian a las migraciones poblacionales europeas. En poblaciones no europeas se describen mutaciones propias, pero ninguna tiene la frecuencia de la F508del.

La población del área mediterránea tiene una elevada heterogeneidad de mutaciones en el gen *CFTR*. Las tres mutaciones descritas con mayor frecuencia en el área mediterránea<sup>19</sup> son F508del, N1303K y G542X. La difusión de la F508del probablemente ocurrió desde Asia, por lo que es más frecuente en ciertas regiones de Europa. La frecuencia relativa elevada en el norte de África y el sur de España de las otras dos mutaciones (Figuras 5 y 6) sugiere que se introdujeron en Europa a través del Mediterráneo, siguiendo la vía comercial más utilizada desde la antigüedad. Se

ha estimado la antigüedad de estas mutaciones en más de 50.000 años para F508del y aproximadamente de 35.000 años para N1303K y G542X.<sup>20,21</sup>

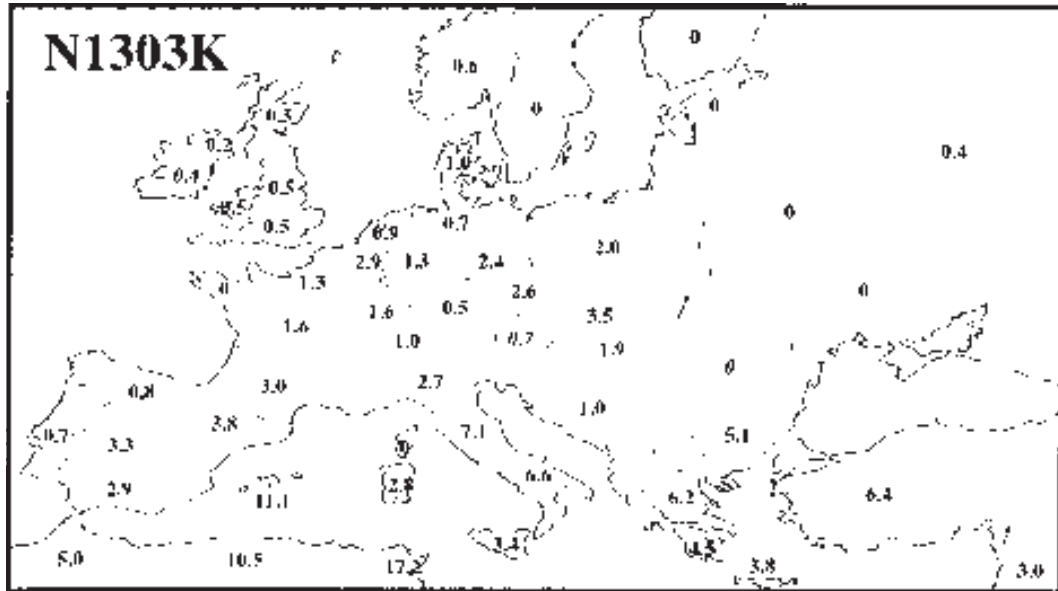


Figura 5. Distribución de la mutación N1303K en Europa (Estivill 1997) <sup>18</sup>

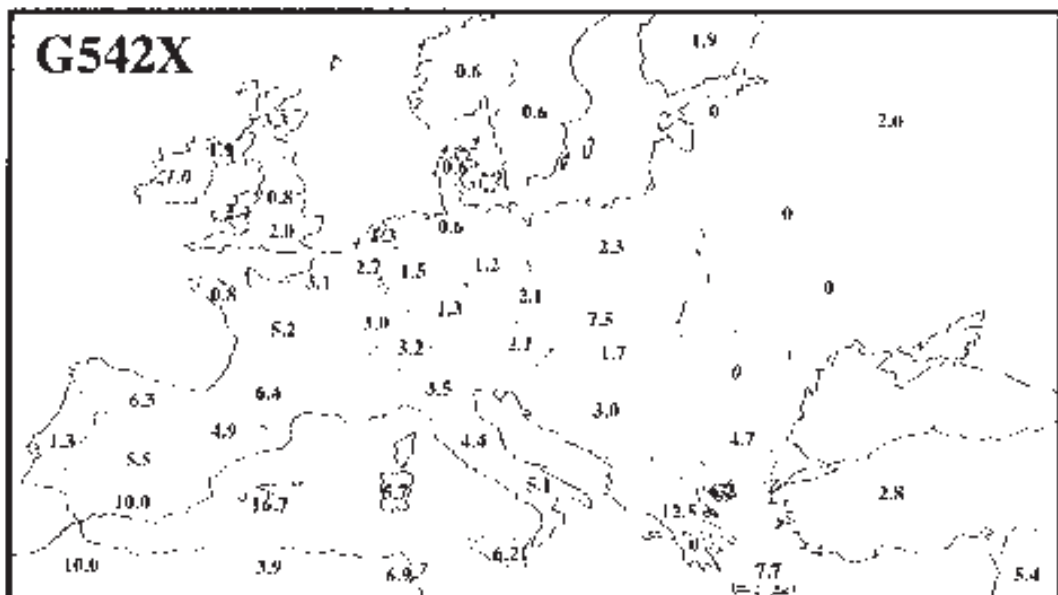


Figura 6. Distribución de la mutación G542X en Europa (Estivill 1997) <sup>18</sup>

En consecuencia, España es uno de los países con mayor heterogeneidad molecular, se han detectado más de 121 mutaciones que representan el 96% de los alelos FQ<sup>19</sup>.

En Cataluña el estudio genético del programa de cribado neonatal incluye 32 de las mutaciones descritas, con las que se detecta el 76% de los alelos FQ de nuestra población.

## 1.1.4 Fisiopatología de la Fibrosis Quística

### 1.1.4.1 Gen *CFTR*. Proteína CFTR

La FQ está causada por la mutación del gen *CFTR* que codifica la proteína CFTR.

El gen *CFTR* (*ABCC7*) está situado en el brazo largo del cromosoma 7, en la posición 31.2 (7q31.2). Contiene una secuencia genómica de 230kb organizada en 27 exones. El cDNA identifica un transcrito de 6,1kb y 4400 nucleótidos codificantes que se traducen en una proteína de 1480 aminoácidos y un peso molecular de 170kDa.

A pesar del elevado número de mutaciones descritas, sólo se conoce la importancia funcional de un reducido número de ellas.

Se ha intentado establecer una relación fenotipo-genotipo, agrupando las mutaciones que son causa de FQ en función de la síntesis de proteína y la clínica que presentan<sup>22</sup>. En función del defecto molecular de la proteína CFTR y su consecuencia funcional, las mutaciones de su gen se clasifican en cinco clases: La clase I incluye las mutaciones que producen defecto de síntesis (debidas a mutaciones *nonsense*, *frameshift* o *de splicing*) como G542X. La clase II incluye aquellas que implican un defecto de maduración e impiden que la proteína llegue a la membrana celular; a esta pertenece la mutación más frecuente, la F508del. Las mutaciones de clase III son las que alteran la regulación del canal CFTR. Las mutaciones de clase IV causan un defecto de conducción del ion cloro y están localizadas en los dominios transmembrana. En las mutaciones de clase V se produce una reducción de síntesis y función. Las mutaciones de las clases I, II y III tienen abolida la función de la CFTR y las de clase IV y V dan expresión disminuida de la CFTR. La mayoría de mutaciones de las clases I y II dan lugar a la FQ clásica, pero la correlación no es absoluta<sup>3</sup>. El gran número de mutaciones y sus combinaciones en heterocigosis u homocigosis, así como la presencia de genes modificadores implica una elevada variabilidad en genotipos y expresiones fenotípicas<sup>22</sup>. Las manifestaciones en pacientes con FQ pueden ser distintas incluso entre hermanos con el mismo genotipo. No se ha podido determinar la correlación fenotipo-genotipo. La insuficiencia pancreática se halla fuertemente asociada a las clases I, II y III. La afectación pulmonar en la FQ está, también, influida por factores ambientales.





funcionan durante la diferenciación celular, por tanto estaría implicada, muy precozmente, en la inmunidad innata<sup>24</sup>.

#### **1.1.4.2 Fisiopatología de la afectación pulmonar**

La fisiopatología de la afectación pulmonar en la FQ se basa en la inflamación crónica y la infección persistente de la vía aérea.

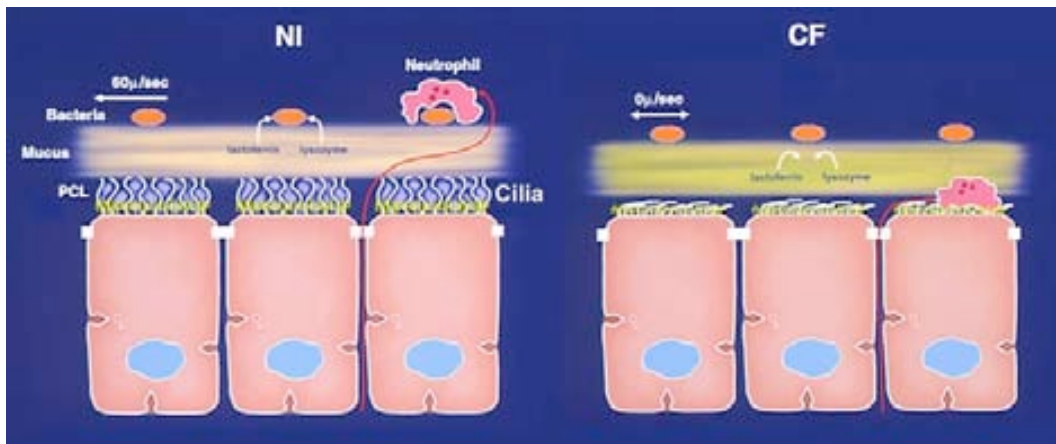
La principal función de la proteína CFTR es mantener la composición hídrica e iónica adecuada de las secreciones. Su defecto causa una alteración hidroelectrolítica, se produce una disminución del líquido periciliar de la superficie de la vía aérea y una alteración en su composición iónica. Secundariamente afecta a mecanismos de la inmunidad innata. La disminución de la motilidad ciliar dificulta el aclaramiento mecánico de microorganismos y detritus celulares. La alteración electrolítica causa la inhibición de componentes de la inmunidad innata: de enzimas bacteriolíticos y CAMPs como las beta-defensinas, la migración y función de los neutrófilos como los mecanismos de “bacterial oxidative killing”<sup>25</sup>

En las células epiteliales respiratorias sanas se produce un transporte activo de cloro a la luz bronquial y una reabsorción de sodio con paso de agua por el espacio paracelular. La alteración de la CFTR en el pulmón produce una disminución en la secreción de cloro a la luz, un aumento en la reabsorción de sodio, un aumento de la absorción de agua y un déficit en la secreción de bicarbonato. Estas alteraciones electrolíticas se mostraran en un aumento del potencial transepitelial.

El sistema de aclaramiento mucociliar tiene un papel primordial en prevenir la infección, funciona constantemente, no precisa de ningún estímulo para activarse. En la vía respiratoria de los pacientes afectados de FQ se produce hiperviscosidad de las secreciones por distintas causas que se enlazan entre ellas.

La disminución del volumen de agua periciliar resulta, además, en una menor lubricación entre epitelio y moco y compresión de los cilios. El moco forma placas hipóxicas que favorecen la infección por determinados microorganismos como *P. aeruginosa*. (Figura 8) La inhibición de componentes de la inmunidad innata

permitirían la persistencia de los microorganismos en la vía aérea que en condiciones normales se eliminarían <sup>13,25</sup>.



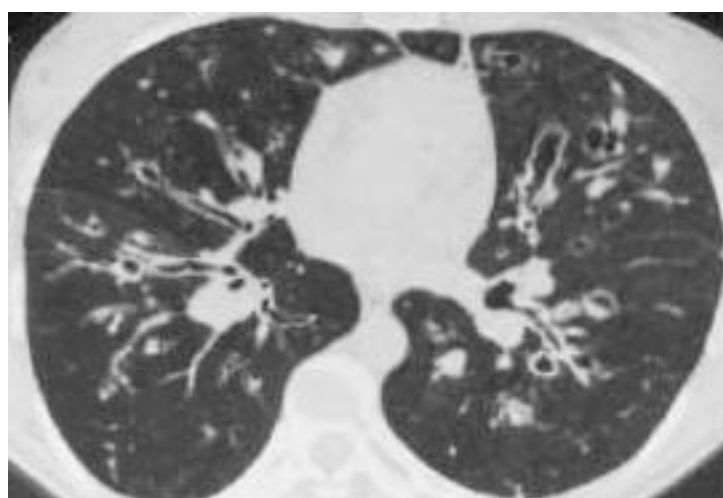
**Figura 8.** Diferencias del líquido periciliar en pacientes FQ (CF) y niños sanos (NI)

La hiperviscosidad de las secreciones no se produce sólo por las alteraciones hidroelectrolíticas. Contribuyen además de la concentración de electrolitos y el ion hidrógeno, la concentración de calcio, albúmina, la glicoproteína del moco y el acúmulo de ácido desoxirribonucleico principalmente <sup>26</sup>.

La glicoproteína del moco tiene un alto contenido en hidratos de carbono con numerosas cadenas laterales de azúcares con alto grado de sulfatación. En la FQ está aumentada la sulfatación de las cadenas formando un gel de alta viscosidad. El déficit de secreción de bicarbonato empeora la solubilidad y favorece el acúmulo de mucinas intraluminal. La fuente principal de DNA proviene de la destrucción de los neutrófilos que se acumulan en respuesta a la infección endobronquial crónica. <sup>26</sup>

En el pulmón del paciente afecto de FQ se produce también un aumento de adherencia al epitelio respiratorio. En pacientes no afectados de FQ la proteína CFTR se une a *P. aeruginosa* y activa una respuesta inmune innata rápida y autolimitada. En el epitelio de los pacientes FQ existe un exceso de asialogangliosido 1(aGM1), una glicoproteína no sializada que no se halla en el epitelio normal. En las células apicales de la membrana, el aGM1 actúa como receptor y favorece el aumento de adherencia de *P. aeruginosa* y *S. aureus*, sin activación de la inmunidad innata CFTR-dependiente <sup>25,27</sup>.

Todos estos factores en el pulmón del paciente FQ dificultan la eliminación de los microorganismos de la vía aérea y favorecen la colonización bacteriana de la vía aérea por determinados microorganismos. Esta situación desencadena un aumento del reclutamiento de polimorfonucleares y la liberación de radicales libres, DNA, citocinas y otros mediadores de la inflamación. De este modo conduce a una inflamación crónica de la vía aérea.



**Figura 9.** Rx de tórax y TCAR torácico de un paciente adolescente afecto de FQ

No se conoce bien la relación entre el defecto de la CFTR y la inflamación. Se ha observado una producción alterada de citocinas durante la diferenciación celular en ausencia de CFTR<sup>25</sup>. La interleucina-8 sería la principal citocina implicada. Es un potente quimiotáctico de neutrófilos, los cuales juegan un papel importante en la respuesta exagerada de los mecanismos inflamatorios que producen daño tisular<sup>3,25</sup>

La infección pulmonar se manifestará como bronquitis, bronquiolitis, neumonía o con frecuencia como una infección respiratoria más sutil y larvada. Suele cursar con aumento de tos, disminución de la ingesta, empeoramiento de la función pulmonar.

La colonización-infección por *P. aeruginosa* determina un punto de inflexión en la evolución de la enfermedad. Este microorganismo relacionado clásicamente con la FQ, produce daño pulmonar a través de la secreción de exotoxinas, elastasas, proteasas y neuraminidasas. Tiene un aumento de adherencia al epitelio respiratorio, uniéndose a un receptor específico que activa la liberación de citocinas y estimula factores de la inflamación. La infección por *P. aeruginosa* produce también un exopolisacárido mucoide, el alginato, que le permite formar microcolonias más resistentes a la fagocitosis y los antibióticos. La colonización persistente por *P. aeruginosa* se asocia a un deterioro progresivo de la función pulmonar<sup>3</sup>

Se desconoce con certeza el papel específico de la infección por otros microorganismos íntimamente relacionados con la enfermedad, como *S. aureus*.

La infección e inflamación crónica o persistente de la vía aérea produce lesión pulmonar (Figura 9) y una disminución progresiva de la función pulmonar. Es la causa del desarrollo de fibrosis pulmonar, bronquiectasias, atelectasias, neumotórax, hemoptisis, hipoxia, hipertensión pulmonar e insuficiencia cardíaca derecha. En su evolución natural se produce fallo respiratorio, que es la principal causa de mortalidad de estos pacientes.

### 1.1.5 Manifestaciones clínicas de la enfermedad

La FQ es una enfermedad multiorgánica y heterogénea. La clínica estará determinada por las mutaciones del gen *CFTR*, genes modificadores, factores ambientales, estilo de vida, tratamiento recibido y la edad del paciente. La clasificación en categorías Típica o Clásica y Atípica o no Clásica es arbitraria en función del valor de la prueba del sudor y la clínica, pero el fenotipo de la FQ es un continuo de síntomas. Debemos tener presente que las manifestaciones clínicas pueden no ser evidentes en los pacientes diagnosticados por cribado neonatal. Las manifestaciones clínicas<sup>28</sup> altamente sugestivas de FQ son:

*Clínica gastrointestinal:* ileo meconial, insuficiencia pancreática exocrina

*Clínica sino-pulmonar:* infección respiratoria persistente por *P. aeruginosa*, bronquiectasias en ambos lóbulos superiores, infección persistente por *Burkholderia cepacea*, pólipos nasales en niños.

*Otras manifestaciones:* Alcalosis hiperclorémica en ausencia de vómitos, ausencia congénita bilateral de conductos deferentes

La clínica respiratoria es la primera manifestación clínica en aproximadamente el 50% de los pacientes diagnosticados de FQ en EEUU<sup>5</sup>. La edad de inicio de los síntomas respiratorios es muy variable, pero con la edad se van haciendo más manifiestos. La inflamación crónica y la infección bacteriana persistente de la vía aérea, especialmente por *Pseudomonas aeruginosa*, dan lugar al desarrollo de bronquiectasias y fibrosis pulmonar. Pueden presentar con frecuencia complicaciones como atelectasias, hemoptisis y neumotórax. En fases avanzadas de la enfermedad los pacientes presentan hipoxia e hipertensión pulmonar. Entre un 25-50% pueden cursar con hiperreactividad bronquial. La pansinusitis<sup>29</sup> es un hallazgo común y algunos niños, sobretodo los mayores, pueden presentar poliposis nasal. La causa más frecuente de mortalidad por FQ es la insuficiencia respiratoria.

Las manifestaciones clínicas de la FQ<sup>30</sup> pueden clasificarse en: forma clásica o típica, no clásica o atípica y fenotipos asociados a la mutación *CFTR*.

### **1.1.5.1 Forma clásica o típica de la enfermedad**

Los pacientes se diagnostican de la forma clásica de la enfermedad si tienen uno o más características fenotípicas de la enfermedad y una concentración de cloro en el sudor superior a 60 mmol/l.

Las características fenotípicas de FQ son la enfermedad sino-pulmonar crónica, las anomalías gastrointestinales específicas o nutricionales, el síndrome pierde sal y la azoospermia obstructiva. La mayoría de los pacientes están afectados de la forma clásica. Habitualmente pueden detectarse dos mutaciones del gen de la CFTR. Los pacientes afectados de la forma típica de FQ pueden padecer o no insuficiencia pancreática y la enfermedad puede tener un curso más o menos grave.

### **1.1.5.2 Forma no clásica o atípica**

Esta forma clínica describe pacientes con fenotipo de FQ al menos en un órgano y una concentración de cloro en el sudor normal (< 30 mmol/l) o límite (30-60 mmol/l). Precisa confirmar la disfunción de la CFTR mediante la medida del potencial diferencial nasal<sup>31</sup>. Incluye pacientes con manifestaciones clínicas en un órgano o multiorgánicas. La mayoría no cursan con insuficiencia pancreática. Con frecuencia se detecta sólo una mutación y cuando se detectan dos mutaciones del gen *CFTR*, uno de ellos suele asociarse a clínica moderada.

### **1.1.5.3 Fenotipos asociados a mutaciones CFTR**

Las formas atípicas de la enfermedad en las que sólo está afectado un órgano la Organización Mundial de la Salud<sup>28</sup> recomienda denominarlos con otro nombre específico de la alteración como: Azoospermia obstructiva, Pancreatitis crónica, Aspergilosis broncopulmonar alérgica, Bronquiectasias diseminadas, Panbronquiolitis difusas, Colangitis esclerosante.

### **1.1.6 Diagnóstico**

El diagnóstico de la FQ se basa, clásicamente, en criterios clínicos. El reto es el diagnóstico de la enfermedad por cribado neonatal o el diagnóstico en un hermano antes de que aparezcan síntomas. Los criterios clínicos sugestivos de la enfermedad no son evidentes en el recién nacido, a excepción de las manifestaciones gastrointestinales: insuficiencia pancreática e íleo meconial. La prueba del sudor con la determinación cuantitativa de cloro sigue siendo el estándar diagnóstico de la FQ. Los nuevos avances en el conocimiento de la enfermedad, el cribado neonatal, el estudio genético y las nuevas técnicas de la medida de la conductancia permiten diagnósticos más acurados. Paralelamente, al diagnosticar niños asintomáticos de una enfermedad potencialmente grave surgen dudas sobre el manejo de estos pacientes.

#### **1.1.6.1 Criterios clínicos.**

La identificación del gen de la CFTR en 1989 y la mejoría en las técnicas de detección de mutaciones y de medida de la conductancia transepitelial que se desarrollan en los años 90, permiten conocer un amplio espectro de la enfermedad. Se observan formas atípicas de la enfermedad, pruebas del sudor en el límite de la normalidad o incluso normales y pacientes con manifestaciones sólo en un órgano como pancreatitis o esterilidad primaria. En 1998 se publica un documento de consenso<sup>31</sup> elaborado por “la Cystic fibrosis Foundation consensus Panel” que define los criterios diagnósticos de la enfermedad. En este consenso, el diagnóstico de la FQ se basa en la presencia de una o más características fenotípicas (Tabla 1) o el antecedente de FQ en hermanos o primos o un cribado neonatal positivo u otra evidencia de laboratorio que demuestre alteración de la proteína CFTR: prueba del sudor (concentración de cloro > 60 mmol/L) o diferencial de potencial transmembrana nasal o la detección de 2 mutaciones reconocidas de FQ.

<p>1. Enfermedad crónica sino-pulmonar manifestada como:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>a. Colonización/infección persistente con patógenos típicos de FQ. Incluidos: <i>Staphylococcus aureus</i>, <i>Haemophilus influenzae no tipable</i>, <i>Pseudomonas aeruginosa mucoide y no mucoide</i>.</li> <li>b. Tos crónica con expectoración</li> <li>c. Anomalías persistentes en la radiografía de tórax</li> <li>d. Obstrucción de la vía aérea manifestada como la presencia de sibilantes o atrapamiento aéreo.</li> <li>e. Pólipos nasales; anomalías de los senos paranasales observadas con radiología simple o tomografía computarizada.</li> <li>f. Dedos en palillos de tambor</li> </ul>
<p>2. Alteraciones gastrointestinales y nutricionales, incluyendo</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>a. Intestinales: ilio meconial, síndrome de obstrucción intestinal distal, prolapso rectal</li> <li>b. Pancreáticas: insuficiencia pancreática, pancreatitis recurrente</li> <li>c. Hepáticas: enfermedad hepática crónica clínicamente o evidencia histológica de cirrosis biliar focal o cirrosis multilobular</li> <li>d. Nutricional: falta de medro (malnutrición proteína-calórica), hipoproteïnemia, edema, complicaciones del déficit de vitaminas liposolubles.</li> </ul>
<p>3. Síndrome pierde sal: depleción aguda de sal, alcalosis metabólica crónica</p>
<p>4. Anomalías del aparato urogenital masculino que causen azoospermia obstructiva (CBAVD)</p>

**Tabla 1.** Características fenotípicas sugestivas de FQ: Criterios diagnósticos de Rosenstein <sup>31</sup>

### 1.1.6.2 Prueba del sudor. Estándar diagnóstico

La prueba del sudor sigue siendo el estándar en el diagnóstico. El reciente consenso de la Sociedad Española de FQ (SEFQ) y los últimos consensos de las Sociedades europea y americana: “European Cystic Fibrosis Society”<sup>30</sup> y la “Cystic Fibrosis Foundation (CFF) de Estados Unidos <sup>32</sup> así lo manifiestan. Su realización tiene aún



más importancia al desconocer la repercusión clínica real de muchas de las más de 1.800 mutaciones asociadas a la FQ.

La prueba del sudor tiene mucha importancia en el diagnóstico; motivo por el que debe estar realizada por expertos y con una técnica estrictamente correcta. La única prueba del sudor aceptable para la confirmación diagnóstica es la prueba cuantitativa de iontoforesis con pilocarpina (QPIT)<sup>32</sup>.

La QPIT consiste en la estimulación de la sudoración mediante iontoforesis de pielocarpina, recogida de la muestra mediante un procedimiento validado que, por su sencillez, suele ser el método Macroduct (Macroduct Sweat Collection System (Wescor Inc., Logan, Utah, USA). Este método utiliza disco cóncavo y tubo espiral de plástico. En el laboratorio debe analizarse la concentración de cloro con un clorodímetro para micromuestras mediante coulombometría y si es posible, también la concentración de sodio. La conductividad eléctrica del sudor in situ, no es por si solo un método fiable de confirmación diagnóstica.

La estimulación (iontoforesis con pielocarpina) y recogida mediante Macroduct Sweat Collection System<sup>33</sup> es la que se realiza en el protocolo de cribado neonatal de nuestra área. La muestra mínima de sudor para su realización es de 15 microlitros y debe recogerse en 30 minutos. La constatación en dos muestras de concentraciones de ion cloro en el sudor >60 mmol/l es compatible con FQ clásica. El consenso europeo de 2008 considera las concentraciones entre 30-60 mmol/l en el límite de la normalidad y recomienda realizar un estudio genético en estos pacientes<sup>34</sup>.

### **1.1.6.3 Medida de la conductancia transepitelial**

Consiste en la medición del voltaje potencial diferencial como resultado del flujo de iones a través de la membrana de las células epiteliales. Puede realizarse in vivo, mucosa nasal o ex vivo en muestras de mucosa nasal o intestinal. Esta determinación es especialmente útil en la confirmación diagnóstica de pacientes con una concentración de Cl entre 30-60 mmol/l en la prueba del sudor.

#### ***Prueba de la diferencia de potencial transepitelial nasal in vivo (PDN)***

El epitelio respiratorio regula la composición del líquido periciliar mediante el transporte de iones, principalmente sodio y cloro. Este transporte genera un PDN que puede medirse in vivo. Se ha documentado un patrón de anormalidad en los pacientes con FQ. La prueba se inicia con la medición del PDN basal que está elevado (más electronegativo) y refleja la reabsorción aumentada de sodio en los pacientes con FQ. La perfusión del epitelio nasal con amilorida en los pacientes produce un descenso del PDN que lo hace indistinguible del individuo sano. La perfusión con una solución falta de cloro, en presencia de amilorida no produce en los pacientes corriente detectable de cloro, a diferencia de en los sanos. Esta prueba puede ser útil en los pacientes en los que el diagnóstico es dudoso <sup>35,36</sup>.

#### **1.1.6.4 Estudio genético**

Las indicaciones para realizar un estudio genético son los pacientes con diagnóstico o sospecha clínica de FQ, pacientes con historia familiar, recién nacidos con cribado neonatal positivo y/o íleo meconial.

La estrategia a aplicar dependerá de la heterogeneidad de la población a la que pertenece el individuo. Actualmente existen equipos comerciales que permiten el análisis simultáneo de mutaciones. El nivel de detección conseguido para cada población depende de la frecuencia de las mutaciones analizadas. Puede variar desde el 90% (baja heterogeneidad) al 70% (elevada heterogeneidad). A pesar de las técnicas disponibles, un 3-5% de los genes de FQ no llegan a caracterizarse <sup>2,19</sup>.

#### **1.1.7 Cribado neonatal**

La FQ cumple los criterios aceptados para ser susceptible de un programa de cribado neonatal. Los criterios para que se indique el cribado de una enfermedad incluyen fundamentalmente cinco aspectos: 1) que la enfermedad tenga una incidencia importante; 2) que el método de cribado sea simple y práctico; 3) que tenga un alto grado de sensibilidad y especificidad. 4) que exista una adecuada relación coste-beneficio. 5) que el tratamiento precoz sea beneficioso en el curso de la enfermedad.

El programa de cribado neonatal se inició en los años 70 en algunos Estados de Norteamérica. Se ha ido aplicando cada vez en más países, con semejantes protocolos

en distintas regiones de Estados Unidos, Australia y Europa. En Europa, está universalizado en varios países: Francia, Reino Unido, Italia y Austria. En España (Figura 10) sólo 4 comunidades o ciudades autónomas no incluyen la FQ dentro cribado neonatal en la prueba del talón (Asturias, Castilla-La Mancha, Navarra y la ciudad de Ceuta).

La European Cystic fibrosis <sup>37</sup> y la Cystic Fibrosis Foundation <sup>32</sup> recomiendan la implantación universal del cribado neonatal, tal y como también refleja la Sociedad Española de Fibrosis Quística<sup>1,38</sup>.



**Figura 10.** Cribado neonatal en España. Federación española de FQ<sup>39</sup>. (Noticias febrero 2012)

Se han ensayado diversas estrategias en el cribado neonatal. La determinación de tripsina inmunoreactiva en una gota de sangre seca se ha impuesto por su simplicidad y elevada sensibilidad. Desde la descripción del gen de la FQ en 1985, el estudio de las mutaciones se ha incluido en los programas de cribado neonatal.

Los pacientes con cribado positivo son derivados a un centro de referencia para FQ, donde el primer paso será informar a las familias y realizar en todos ellos la prueba del sudor.

Numerosos estudios<sup>40,41</sup> han demostrado que los niños diagnosticados de FQ mediante cribado neonatal logran una adecuada nutrición, un mejor crecimiento, una

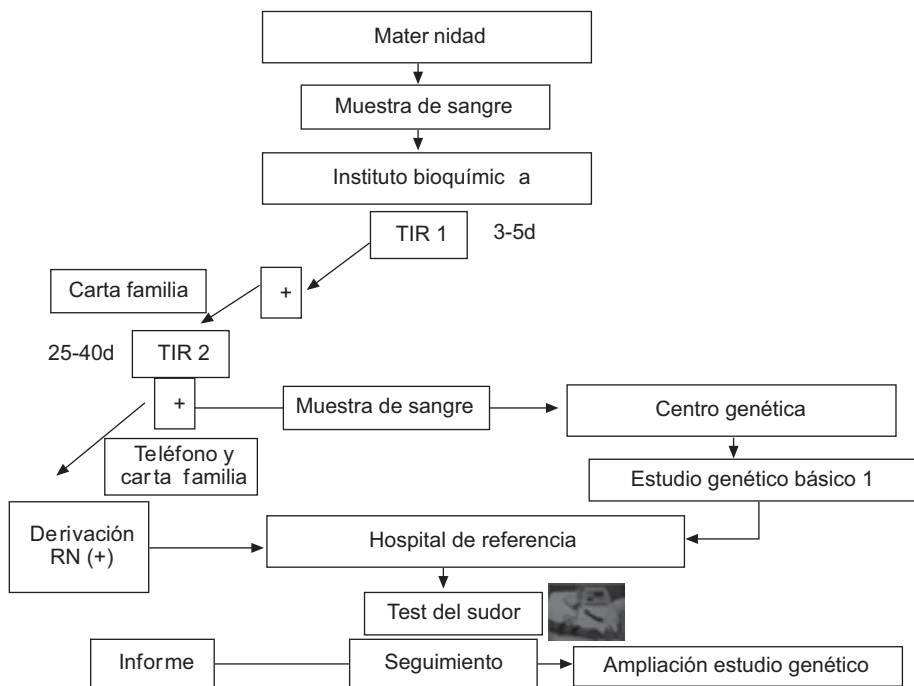
mejor función pancreática y pulmonar. El diagnóstico neonatal mediante cribado mejora la calidad de vida y la supervivencia de los pacientes afectados de FQ.

Desde el punto de vista respiratorio el cribado neonatal permite iniciar tratamientos orientados a prevenir o minimizar el daño pulmonar. Es de especial relevancia que el diagnóstico neonatal permita la detección precoz de la infección-colonización de la vía aérea por microorganismos potencialmente patógenos, especialmente la primera colonización por *P. aeruginosa*. Ésta es un hecho clave en la evolución de la afectación pulmonar. El cribado neonatal nos ofrece la posibilidad de estudiar la cronoinfección o cronología en la aparición de los microorganismos en la vía aérea del paciente afecto de FQ y la detección precoz, incluso en pacientes asintomáticos, de determinados microorganismos como *P. aeruginosa* que precisan de un tratamiento adecuado y precoz para su erradicación desde la primera colonización mejorando así el pronóstico pulmonar de estos pacientes <sup>42,43,44</sup>. No se han detectado cepas de *P. aeruginosa mucoide* en pacientes diagnosticados por cribado en España<sup>1</sup>. El cribado neonatal permite, también, conocer la incidencia real de la enfermedad en las distintas poblaciones y ofrece la posibilidad de realizar un asesoramiento genético precoz, un diagnóstico prenatal o preimplantacional en futuros embarazos.

#### **1.1.7.1 Cribado neonatal para Fibrosis Quística en Cataluña**

En Cataluña, el cribado sigue los consensos de la Sociedad Española de Fibrosis Quística<sup>32</sup>.(Figura 11) Se realiza mediante la determinación de la tripsina inmunorreactiva (TIR) en una gota seca de sangre del talón. La muestra se obtiene entre el 3er y 5º día de vida.

Si el resultado es positivo (>120 ng/ml, percentil 99,5), se realiza una segunda determinación entre los 25 y 40 días de vida. Si el resultado es negativo se da por finalizado el estudio. Si el resultado de la segunda determinación es > 60 ng/ml (percentil 99,5) con la misma muestra de sangre se realiza el estudio genético y se deriva a la familia al hospital de referencia. En el hospital se realizaran 2 pruebas del sudor con un intervalo de 1 mes para diagnosticar la enfermedad o descartarla <sup>34,45</sup>.



**Figura 11.** Algoritmo del protocolo de cribado neonatal . Consenso de la SEFQ<sup>32</sup>

El programa de cribado neonatal en Cataluña incluye, en su análisis genético, las 33 mutaciones más frecuentes alcanzando un nivel de detección del 76% de las mutaciones FQ en nuestra población.

Desde el inicio del programa de cribado neonatal hasta diciembre de 2008, en Cataluña se estudiaron 712.597 recién nacidos y se diagnosticaron 122 niños. Esto se traduce en una incidencia de 1/5840 recién nacidos vivos<sup>1</sup>.

## 1.2 Microbiología de la vía aérea respiratoria

### 1.2.1 Obtención de muestras de la vía aérea para cultivo microbiológico

La infección de la vía aérea es crucial en la fisiopatología de la enfermedad pulmonar en la FQ. La detección y el tratamiento precoz de estas infecciones mejoran el pronóstico de la enfermedad.

La “Cystic fibrosis foundation”<sup>32</sup> recomienda cultivos trimestrales de esputo u orofaríngeos de rutina como monitorización de la colonización de microorganismos potencialmente patógenos. Aunque, también recomienda que los resultados positivos de aspirado orofaríngeo en los que se aíslan microorganismos distintos a *P. aeruginosa* y *S. aureus* deben interpretarse con precaución, antes de instaurar antibioterapias agresivas en pacientes asintomáticos.

Obtener muestras de pacientes no expectoradores, especialmente los de menor edad, es un problema relevante y frecuente. Por este motivo se han desarrollado técnicas no invasivas, de fácil acceso que permitan la monitorización habitual de la colonización bacteriana de los pacientes.

La técnica ideal para realizar el seguimiento microbiológico debería ser aquella que tuviera mayor sensibilidad y especificidad, fuera poco invasiva, no precisara administrar sedación al paciente y permitiera la recogida seriada de muestras como un procedimiento de rutina, en el niño con o sin síntomas de sobreinfección respiratoria.

La técnica de referencia para el estudio microbiológico de la vía aérea de los pacientes afectados de FQ es el BAL porque nos da información de la vía aérea inferior. Las otras técnicas ensayadas informan, mayoritariamente, de la presencia de microorganismos en la vía aérea superior: esputo espontáneo, esputo inducido, frotis faríngeo (FF), frotis faringo-amigdalario (FFA), frotis nasofaríngeo (FNF), placa de tos y aspirado orofaríngeo (AOF).

La mayoría de estudios microbiológicos realizados en pacientes FQ están realizados con BAL, mediante fibrobroncoscopia flexible. Es una técnica invasiva aunque poco agresiva y que requiere sedación <sup>46</sup>. La importancia en la detección y tratamiento precoz de la infección ha obligado a aplicar otras técnicas menos invasivas que no precisen sedación y puedan realizarse periódicamente y de manera frecuente.

La obtención de esputo espontáneo no es una técnica invasiva, pero requiere de colaboración activa y no es posible en pacientes de corta edad. La técnica de esputo inducido<sup>47</sup> es también difícil en los pacientes de menor edad, precisa colaboración activa, aunque la muestra refleja mejor la vía aérea inferior.

Los estudios microbiológicos de vía aérea superior en pacientes FQ están realizados en su mayoría con la técnica de FF <sup>43,48,49,50</sup>. Avital compara las técnicas de AOF y BAL y concluye que una técnica no invasiva como el AOF puede ser útil para el diagnóstico microbiológico de pacientes con infección pulmonar crónica<sup>51</sup>.

Armstrong compara los aislamientos obtenidos mediante BAL con los obtenidos de muestras orofaríngeas en pacientes menores de 3 meses. Concluye que las muestras de vías altas tienen una gran sensibilidad para detectar infección de vías respiratorias bajas (100%) y un elevado VPN 99% del cultivo de vía aérea superior para descartar infección en la vía aérea inferior, son menores su VPP (35%) y su especificidad (80%)<sup>50</sup>.

Rosenfeld<sup>49</sup> compara también, cultivos microbiológicos de muestras orofaríngeas y de BAL en pacientes menores de 5 años. Sus resultados son similares a los descritos previamente mostrando una elevada especificidad respecto a *P. aeruginosa* (95%), *S. aureus* y *H. influenzae*, y menor sensibilidad, del 44%, obteniendo unos valores de VPN 95% y VPP del 44%. Resultados concordantes con los datos previos publicados por Ramsey<sup>52</sup>.

Estudios más recientes como los de Mainz o Bonestroo alertan del posible papel de la vía aérea superior como reservorio de *P. aeruginosa* y *S. aureus* en pacientes de todas

las edades, pero especialmente en el adulto. Observan que la infección de orofaringe parece preceder a la de vía aérea inferior <sup>53,54</sup>.

Por tanto, la obtención de una muestra orofaríngea es una opción útil, accesible y no invasiva. El cultivo obtenido de una muestra orofaríngea es un técnica con una alta sensibilidad, aunque con menor especificidad. Los resultados publicados dan a estas muestras un buen valor predictivo positivo, otorgando un valor clínico a los microorganismos aislados. Estas características permiten su uso para decidir el tratamiento de la infección en los pacientes afectos de FQ, especialmente los asintomáticos, diagnosticados por cribado neonatal.

Por todos los motivos previamente argumentados, decidimos el uso de la técnica de aspirado orofaríngeo para la obtención de muestras para cultivo microbiológico en nuestra cohorte.



## 1.2.2 Microbiología de la vía aérea respiratoria de los pacientes FQ

### 1.2.2.1 Flora bacteriana en los pacientes FQ. Orofaringe y vía aérea inferior

Las especies bacterianas asociadas con más frecuencia a infecciones de la vía aérea en los pacientes FQ incluyen patógenos comunes como *Staphylococcus aureus*, *Haemophilus influenzae* y otros patógenos oportunistas, el más relevante de los cuales es *Pseudomonas aeruginosa*. Otros microorganismos oportunistas son nosocomiales como *Stenotrophomona maltophilia* o se asocian ocasionalmente a patología en humanos, a excepción de los pacientes afectados de FQ como *Burkholderia cepacia complex* entre otros.

Los microorganismos aislados más prevalentes en la vía aérea de los pacientes FQ, sin diferenciar por edades son: *P. aeruginosa*, la más prevalente, seguida de *S. aureus* y en tercer lugar *H. Influenzae* <sup>55,5,56</sup>.

Oliver<sup>56</sup> describe también que se aíslan enterobacterias en la vía aérea de los pacientes FQ, con mayor frecuencia en menores de 5 años, aunque no lo asocian a enfermedad grave. Este autor halla de mayor a menor frecuencia de aislamientos: *Escherichia coli*, *Klebsiella spp.*, *Enterobacter spp.*, *Citrobacter spp.* y *Proteus*

Los estudios de prevalencia publicados muestran que *P. aeruginosa* y *S. aureus* son los microorganismos más comunes en la vía aérea de los pacientes FQ.

Ferrer<sup>55</sup> en un estudio retrospectivo de 8 años de seguimiento describe la microbiología de pacientes FQ del Hospital de la Vall d'Hebrón de Barcelona, diagnosticados antes del inicio del cribado neonatal. Sus pacientes tenían aislamientos positivos a *P. aeruginosa* (61,1%); *S. aureus* (65,5%); *H. influenzae* (64,6%). El 52,2% de los pacientes incluido en el CFF Patient Registry en 2008 han tenido aislamientos de *P. aeruginosa*. Parece que la prevalencia de aislamiento de este microorganismo en el *CFF Patient Registry*<sup>5</sup> tiende a descender en los últimos años, aunque existen algunos datos contradictorios <sup>57</sup>.

*S. aureus* fue el primer microorganismo asociado a infección pulmonar crónica en pacientes con FQ. Este germen es, con frecuencia, el primer microorganismo aislado

en la vía aérea de los pacientes FQ<sup>58</sup>. Se ha descrito, también, que hasta en el 70% de los pacientes pueden coexistir diferentes patógenos. En más del 50%<sup>56</sup> se aíslan simultáneamente *S. aureus* y *P. aeruginosa*.

*S. aureus* y *P. aeruginosa* son los microorganismos más relevantes en la progresión de la enfermedad pulmonar y además colonizan precozmente la vía respiratoria.

Muchos estudios publicados muestran la relación entre el aislamiento de *P. aeruginosa* o *S. aureus* en la orofaringe de niños FQ en el momento del diagnóstico y la enfermedad pulmonar más grave. La colonización crónica por *P. aeruginosa* marca un punto de inflexión en la evolución de la enfermedad. Tiene implicaciones en el empeoramiento de la función pulmonar y el pronóstico de vida. El deterioro de la función pulmonar no es brusca ni inmediata a la colonización por estos microorganismos, sino progresiva en los siguientes 2 ó 3 años<sup>59,60</sup>.

Inicialmente la colonización es intermitente, pero posteriormente se cronifica, con frecuencia por cepas mucoides. La erradicación de la colonización crónica por *P. aeruginosa mucoide* es prácticamente imposible. Por este motivo es básica la detección precoz de la infección y su erradicación en la primocolonización<sup>44</sup>.

#### **1.2.2.2 Cronología en la aparición de microorganismos en la vía aérea de los pacientes afectados de FQ**

El análisis y el patrón temporal de la colonización en los pacientes con FQ ha permitido definir el concepto de cronología de la infección, por el que los pacientes sufrían infecciones en una secuencia más o menos establecida en función de la edad.

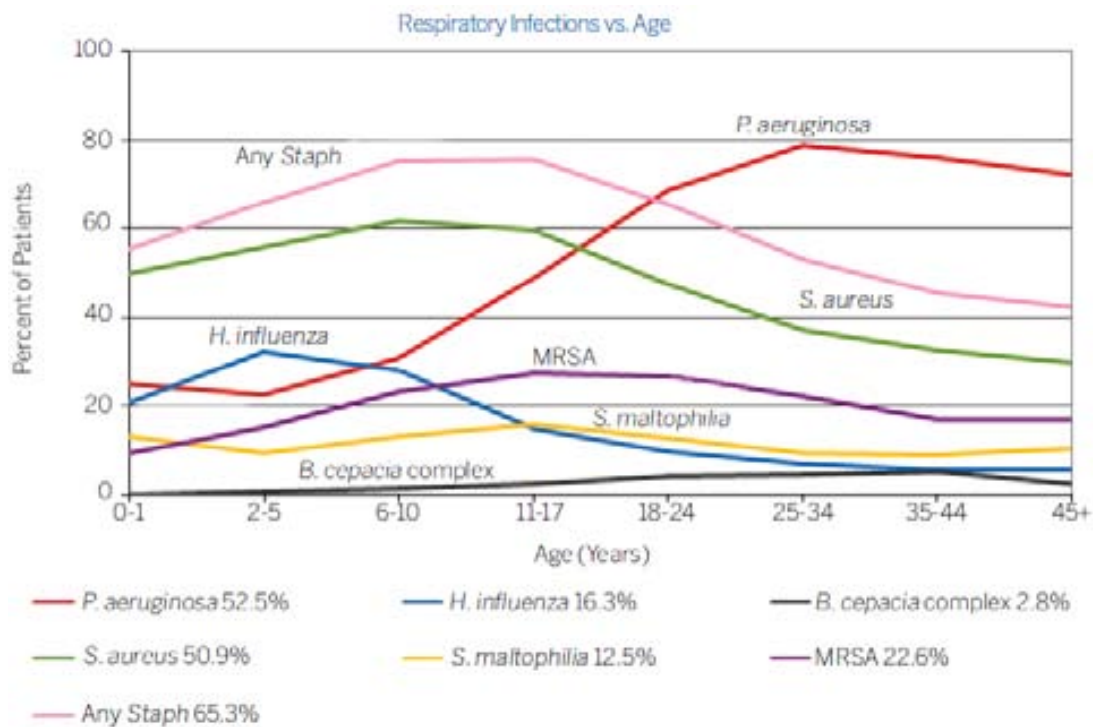
El desarrollo de programas de cribado neonatal para el diagnóstico de la FQ, permite el estudio precoz, aún en fase asintomática, de la colonización de la vía aérea los primeros meses o semanas de vida, desde el diagnóstico.

La colonización de la vía respiratoria en pacientes afectados de FQ se produce precozmente. Clásicamente se describe como característica la colonización por *H. influenzae* y/o *S. aureus* en los pacientes de menor edad (menores de 2-5 años) y por *P. aeruginosa*, posteriormente en el niño de mayor edad y el adulto. La prevalencia de

colonización por *P. aeruginosa* varía con la edad entre 25% en menores de 5 años a un 80% en mayores de 25 años de edad<sup>5</sup>.

*S. aureus*, comúnmente aislado en la vía aérea superior, es el patógeno predominante los primeros años de vida alcanzado prevalencias superiores al 50% a los 10 años de edad. En 2008 se aisló *S. aureus* en el 50% de todos los pacientes incluidos en el la CFFp Registry y hasta en el 60% de los niños FQ de 6-17 años<sup>5</sup>. (Figura 12). El análisis de la CFFp Registry refiere un aumento de prevalencia desde 1995 (35%).

Otro estudio<sup>56</sup> con población española describe que el 80% de sus pacientes mayores de 18 años están colonizados por *P. aeruginosa*.



**Figura 12.** Cronología de la infección de la vía respiratoria en pacientes FQ<sup>5</sup>. Cystic Fibrosis Foundation patient Registry pR 2008

Numerosos estudios han mostrado colonización por *P. aeruginosa* y *S. aureus* en fases iniciales de la enfermedad, incluso durante el primer año de vida<sup>43,48,49,50,58</sup>.

Armstrong<sup>50</sup> estudia pacientes FQ menores de 3 meses y observa crecimiento de *S. aureus* y *H. influenzae* en las muestras de lavado broncoalveolar (BAL) y frotis orofaríngeo (FF). Otro trabajo interesante porque estudia pacientes diagnosticados por cribado neonatal mediante FF<sup>60</sup>, halla un predominio de *S. aureus* en menores de 2 años y de *H. influenzae* y de *P. aeruginosa* en los pacientes mayores de 2 años. El

aislamiento de cepas mucoides de *P. aeruginosa* se ha descrito en pacientes mayores, a partir de los 10 años <sup>61</sup>.

Carlson <sup>48</sup>, en 75 muestras de FF de pacientes FQ menores de 1 año, aísla *S. aureus* (28%), seguidos de *E. cloacae* (18,7%), *P. aeruginosa* (14%). Los aislamientos de *P. aeruginosa* son en pacientes entre 9 y 12 meses.

Armstrong <sup>62</sup> estudia pacientes FQ menores de 3 años, mediante BAL y FF, y observa que al aumentar la edad disminuye la prevalencia de *S. aureus* y aumenta la de *P. aeruginosa*. Burns<sup>43</sup> en un estudio longitudinal, obtiene aislamientos de *P. aeruginosa* en el 72,5% de una muestra de pacientes de 1 a 3 años. En un 45% de los pacientes el cultivo es positivo en las muestras obtenidas por BAL y FF. En el 27% restante se aisló sólo *P. aeruginosa* en las muestras obtenidas por FF. Nixon<sup>63</sup> estudia también menores de 3 años mediante BAL y además de *P. aeruginosa* obtiene aislamientos de *S. aureus*, *H. influenzae*, *Moraxella catarrhalis*.

Rosenfeld<sup>49</sup> observa crecimiento de *P. aeruginosa* o *S. aureus* o *H. influenzae* en el 52% de 141 pacientes con FQ menores de 5 años, los 6 primeros meses de vida *S. aureus* fue el patógeno aislado más frecuente y a los 30 meses se igualan las frecuencias de aislamiento de *P. aeruginosa* y *S. aureus*. Este grupo observa un pico de aislamientos de *H. influenzae* entre los 7 y los 18 meses de edad y un aumento en la prevalencia de *P. aeruginosa* con la edad.

Bonestroo<sup>54</sup> detecta colonización crónica por *P. aeruginosa* en el 40% de un grupo de pacientes FQ de 3 a 19 años. Al igual que los estudios referidos previamente el microorganismo más frecuente en esta franja de edad es también *S. aureus* (50,3%) y observa mayor número de aislamientos de *P. aeruginosa* en relación a la edad.

Un estudio con población española <sup>56</sup>, realiza un seguimiento de 81 pacientes durante 5 años, y describen una mayor incidencia de *S. aureus* (>80%) en los menores de 10 años y *P. aeruginosa* (>60%) por encima de esta edad. Datos similares a los publicados en el Registro estadounidense de FQ.

### 1.2.2.3 Aislamientos fúngicos en pacientes FQ

En los cultivos de muestras de vía respiratoria de pacientes FQ se han aislado una variedad de hongos filamentosos y levaduriformes.

El aislamiento de *Cándida spp.*, especialmente de *Cándida albicans*, es muy frecuente. Carlson <sup>48</sup> aísla *Cándida spp.* en el 28% en la vía aérea superior de una población de paciente FQ menores de un año. Valenza<sup>61</sup> aísla *C. albicans* en el 78% en un grupo de 60 pacientes FQ de 6 a 41 años, durante un año de seguimiento. La elevada prevalencia de *C. albicans* en la piel y la orofaringe no permite esclarecer su significado clínico<sup>57</sup>.

El hongo filamentosos más relevante en la FQ es *Aspergillus fumigatus*. Las referencias a su prevalencia varían entre 6-60% en función de la edad, el medio de cultivo y los períodos de observación<sup>57</sup>.

En los estudios estratificados por edad se observa que la prevalencia de aislamientos de *A. fumigatus* es infrecuente en la edad pediátrica y aumenta con la edad. Los estudios publicados muestran que puede hallarse *A. fumigatus* desde los 6 años<sup>61</sup> aunque el primer aislamiento suele suceder entre los 12 y 14 años de edad<sup>64</sup>.

### 1.2.3 Flora bacteriana de la vía aérea superior de los sujetos NOFQ

Conocer la flora bacteriana orofaríngea de la población pediátrica sana desde el punto de vista respiratorio es imprescindible para poder diferenciar los microorganismos causantes de infección respiratoria.

Muchos de los trabajos que estudian la flora saprofita de las cavidades orales o vía respiratoria alta en pacientes pediátricos no afectados de FQ están realizados mediante frotis faríngeo, y son publicaciones de los años 70 y 80. La mayoría de los estudios en edad pediátrica hacen referencia a poblaciones específicas como neonatos sanos, ingresados en cuidados intensivos neonatales, lactantes menores de 6 meses en relación a pacientes fallecidos por síndrome de muerte súbita o en pacientes de mayor edad, pero en época epidémica con el objetivo de elucidar los gérmenes causales. Además, muchos de ellos no se usan medios de cultivo para enterobacterias<sup>65,66,67</sup>.

Baltimore<sup>68</sup> publica un trabajo en el que estudian la flora orofaríngea de niños sanos utilizando medios de cultivo para BGN, desde el nacimiento hasta los 6 meses de edad. Describen que el 85% de las muestras de los lactantes menores de 6 meses son positivas a bacilos gramnegativos, especialmente *Klebsiella spp*, *Escherichia coli* y *E. cloacae*

Estudios más recientes, también en población pediátrica, estudian flora orofaríngea de recién nacidos de bajo peso<sup>69</sup> donde también aíslan *P. aeruginosa*, o prematuros menores de 10 días de vida<sup>65</sup>. Avital estudia mediante BAL y AOF muestras de pacientes FQ y pacientes con otras patologías respiratorias NOFQ, aísla *H. influenzae* en BAL(17/21) y AOF (15/19) de pacientes con neumonías recurrentes<sup>51</sup>.

Hjuler<sup>70</sup> estudia colonización bacteriana de laringe y tráquea en 50 niños sanos de 3 meses a 13 años que precisan intubación para una cirugía menor. En el grupo de edad menores de 3 años obtienen un 80% de *H. influenzae*, aproximadamente un 40% de *S. pneumoniae* y otro 30% de *M. catarrhalis* del total de aislamientos. En laringe obtiene también aislamientos de *S. aureus* y *S. pyogenes*.

En el contexto del “Copenhagen Prospective Study on Asthma in childhood”<sup>71</sup> obtienen muestras de aspirado orofaríngeo de niños al mes y a los 12 meses de vida. Describen que los lactantes sanos al mes de vida presentan colonización por *S. aureus* del 61%; por *H. influenzae*, *M. catarrhalis* y *S. pneumoniae* del 8-9%. A los 12 meses de vida destaca la colonización por *S. aureus* del 13%.

Existen algunas referencias en la literatura de estudios microbiológicos en niños NOFQ realizados en el curso de estudios de infección e inflamación en pacientes FQ. Armstrong<sup>50</sup> estudia en este contexto cinco pacientes con estridor congénito de edades entre 2 y 33 meses, recoge muestras faríngeas y sólo observa crecimiento de *S. aureus* y *H. influenzae*. Ninguno de estos estudios realiza cultivos específicos para gramnegativos como *E. coli*, *K. pneumoniae* o *P. aeruginosa* y los objetivos, las técnicas de recogida de muestra y los resultados son muy variados.

Destaca por su singularidad, un estudio de los años 70 que tiene por objetivo describir específicamente el aislamiento de *E. coli* en la vía respiratoria alta de niños desde el nacimiento hasta los 2 años de vida. Este autor refiere que el aislamiento de este microorganismo en las secreciones respiratorias tiene un pico a las 3 semanas de vida y disminuye hasta el 13% o menos en el segundo año de vida<sup>72</sup>.

Carlson<sup>48</sup> publica un trabajo reciente en el que estudia la microbiología orofaríngea en sujetos NOFQ menores de un año usando medios de cultivo específicos y observa crecimiento de *S. aureus* (27%), *E. coli*, *E. cloacae*, *H. influenzae*, *M. catharralis* y aísla *P. aeruginosa no mucoide* en tres sujetos NOFQ. Observa crecimiento de gérmenes clásicamente asociados a FQ en sujetos NO FQ.

En estudios de población adulta se han evidenciado también, diferencias en la flora en función del área geográfica<sup>67</sup>.

Los trabajos publicados a cerca de la flora bacteriana comensal en niños sanos están orientados, en su mayoría, a neonatos y detectan un reducido número de especies bacterianas. Para poder interpretar los cultivos positivos de la orofaringe y realizar un seguimiento microbiológico del paciente asintomático afecto de FQ, es necesario conocer la flora orofaríngea de los niños no afectados de FQ de nuestra área geográfica.

## 1.3 Medidas de la evolución clínica en los pacientes afectados de FQ

### 1.3.1 Función pulmonar. Espirometría forzada

La medida de la función pulmonar tiene un papel fundamental en el seguimiento del paciente FQ. Permite evaluar la extensión y progresión de la enfermedad y la respuesta a diferentes intervenciones terapéuticas. La espirometría forzada es una técnica barata y reproducible. Muestra mayor sensibilidad que la radiología simple, la anamnesis o la exploración física para detectar precozmente la enfermedad pulmonar y mostrar deterioros bruscos. Se sabe que el FEV<sub>1</sub> desciende más rápidamente en los pacientes que adquieren fenotipos mucoides de *P. aeruginosa* o *B. cepacia*. También es un parámetro decisivo en la derivación del paciente afecto de FQ a un centro de referencia de trasplante pulmonar. Por su utilidad es una prueba de rutina en la práctica clínica diaria<sup>73</sup>.

Los parámetros funcionales se expresan como porcentaje del valor, en litros, predicho para la talla frente a una población de referencia. Algunos autores refieren que los mesoflujos son más sensibles en detectar daño pulmonar<sup>74</sup>, pero tienen más variabilidad interindividual y con los demás sujetos que el flujo espiratorio forzado en el primer segundo (FEV<sub>1</sub>). La espirometría forzada se complica en el niño de menor edad por la falta de colaboración. Hay pocos trabajos que hayan estudiado espirometrías en el paciente preescolar afecto de FQ. Marostica<sup>75</sup> muestra una disminución significativa de las variables, si existe colonización por *P. aeruginosa* en pacientes de 3 a 6 años de edad. Viložni<sup>74</sup> publica un estudio en el que se realiza espirometría a pacientes FQ de 2,5 a 9 años y demuestra disminución de todos los parámetros comparados con población sana. En nuestro laboratorio de función respiratoria, con personal experto, iniciamos espirometría de rutina a partir de los 3 ó 4 años de edad, incluso antes si el niño es colaborador.



### **1.3.2 Tomografía computarizada helicoidal de alta resolución (TCAR)**

La tomografía computarizada de alta resolución se ha mostrado útil para evaluar detalladamente los pulmones en FQ. Actualmente es la técnica más utilizada para diagnóstico de la enfermedad inicial, mientras que la radiología simple de tórax es más útil cuando la enfermedad ya está establecida

Sly publica en 2009 un trabajo en el que realiza TCAR a 55 lactantes de diagnosticados por cribado neonatal (mediana de 3,6 meses). El 80% de los pacientes mostró lesión estructural en el TC y en su mayoría estaban asintomáticos en el momento de su realización.

Existen distintos sistemas de puntuación como Bhalla (1991), Nathanson(1991) o Taccone(1992). Recientemente algunos autores han propuesto sistemas más simples de puntuación del TCAR<sup>76,77</sup>. Estos evalúan sólo tres parámetros: grado de gravedad de bronquiectasias, engrosamiento de la pared bronquial y atrapamiento aéreo. Oikonomou evalúa la visualización de condensación o atelectasias. En nuestro estudio hemos usado la puntuación de Sly.



## 2 Justificación

La fisiopatología pulmonar de la FQ se basa en la inflamación y la infección endobronquial. La colonización bacteriana del pulmón es muy importante en la progresión y el pronóstico de la enfermedad.

La aplicación de los programas de cribado neonatal son un gran avance, permite el diagnóstico en fases aún asintomáticas de la enfermedad y su derivación a centros de referencia en los primeros meses de vida. Estos programas ofrecen la oportunidad única de conocer la cronología de la colonización de la vía aérea de estos pacientes. La técnica de aspirado orofaríngeo (AOF), no invasiva y poco agresiva nos ha permitido obtener muestras seriadas y frecuentes de estos pacientes para cultivo microbiológico de la vía respiratoria superior.

Para poder interpretar los cultivos positivos de la orofaringe, realizar un seguimiento microbiológico y evitar iatrogenia se hace necesario conocer la flora orofaríngea de los niños afectados y de los no afectados de FQ.

Hasta el momento actual no existen publicaciones que estudien mensualmente la colonización bacteriana de la vía aérea superior de pacientes con FQ de 0 a 4 años. La mayoría de estudios en población afectada de FQ están realizados con BAL, algunos incluyen un grupo control de población sana en los que se estudian parámetros de inflamación y no se estudia la microbiología. Los autores que estudian la microbiología de la vía aérea superior lo hacen con frotis orofaríngeo y/o esputo espontáneo. Los trabajos publicados a cerca de la flora orofaríngea en población NOFQ son escasos y variados en grupos de edad, la mayoría están realizados en unidades neonatales, las muestras se recogen con distintas técnicas y los medios de cultivo utilizados son distintos de los habituales para muestras de pacientes afectados de FQ. Sólo un estudio reciente<sup>48</sup> compara flora orofaríngea de pacientes afectados de FQ (cultivos trimestrales) y niños NOFQ de 0 a 12 meses de edad (transversal), mediante frotis orofaríngeo. Aprovechando la ventaja que nos da el diagnóstico por cribado neonatal, hemos realizado el seguimiento microbiológico prospectivo de pacientes FQ (muestras seriadas mensuales) y niños NOFQ de 0 a 4 años de edad (transversal). La técnica de recogida de muestras, su proceso y la interpretación de los resultados microbiológicos son realizados de modo idéntico en ambos grupos.

El estudio longitudinal en una cohorte de pacientes, diagnosticados por cribado neonatal nos permitirá determinar la cronología de los microorganismos en la vía aérea superior de los pacientes afectados de FQ. Los datos de la colonización de la vía aérea de sujetos NOFQ y de la cronología del paciente FQ nos parece imprescindible para interpretar el significado de los cultivos orofaríngeos de los pacientes y evitar su sobretratamiento.

### **3 Hipótesis de trabajo y objetivos**

#### **Hipótesis de trabajo**

La colonización bacteriana de la vía respiratoria alta se produce precozmente.

La colonización bacteriana en los niños diagnosticados de FQ mediante cribado neonatal es cuantitativamente y cualitativamente diferente a la de los niños no afectados de FQ

#### **Objetivos**

##### **Objetivos principales**

1. Conocer los microorganismos que colonizan la vía aérea de los niños con FQ y NOFQ de 0-4 años
2. Conocer la cronología de la colonización bacteriana de la vía aérea en pacientes FQ de 0 a 4 años.
3. Comparar con una población sujetos NOFQ de las mismas edades.

##### **Objetivo secundario**

Evaluar afectación de la función pulmonar y la Tomografía computarizada de pulmonar de los niños FQ con colonización bacteriana persistente por *Pseudomonas aeruginosa* o *Staphylococcus aureus*



## 4 Metodología

### 4.1 Diseño del estudio

Estudio descriptivo y observacional de pacientes afectados de FQ (pacientes FQ) comparado con sujetos no afectados de FQ (sujetos NOFQ). En los pacientes FQ se hizo un estudio prospectivo longitudinal. En la población de sujetos NOFQ se realizó un estudio prospectivo transversal. Se escogieron sujetos NOFQ de los mismos grupos de edad que los pacientes FQ. No se ha realizado un estudio longitudinal de la población sana por razones éticas, por lo que hemos obtenido sólo una muestra para cultivo de cada paciente del grupo control.

### 4.2 Lugar donde se realiza (ámbito geográfico)

El estudio se ha realizado en la Unidad de Fibrosis Quística del Servicio de Pediatría del Hospital de Sabadell, Corporació Sanitaria Parc Taulí, Barcelona. La citada unidad es uno de los tres centros de referencia para cribado neonatal y seguimiento de los pacientes de FQ en Cataluña, desde el año 1999.



**Figura 13.** Ámbito geográfico

Nuestra Unidad de FQ abarca la población de la “Regió Sanitaria Catalunya central”: L’Anoia, Bages, Berguedà, Osona y Solsonés, el Vallés Oriental y el Vallés Occidental. Cubre una población aproximada de 1.782.000 de habitantes y 22.118 nacimientos por año, datos de Idescat (2009).

### 4.3 Duración del estudio. Cronograma.

En el grupo de pacientes afectados de FQ se incluyeron todos los pacientes nacidos desde octubre de 1999 (fecha de inicio del programa de cribado neonatal en Cataluña) hasta febrero de 2005. Se recogieron datos microbiológicos, de todos ellos,

desde su diagnóstico y durante los primeros cuatro años de vida, hasta febrero de 2009. Los datos de la tomografía computarizada de alta resolución (TCAR) y función pulmonar se obtuvieron hasta febrero de 2010.(Figura 14)

En el grupo control de pacientes no afectados de FQ se incluyeron pacientes entre octubre de 2005 y mayo de 2007. (Figura 14)

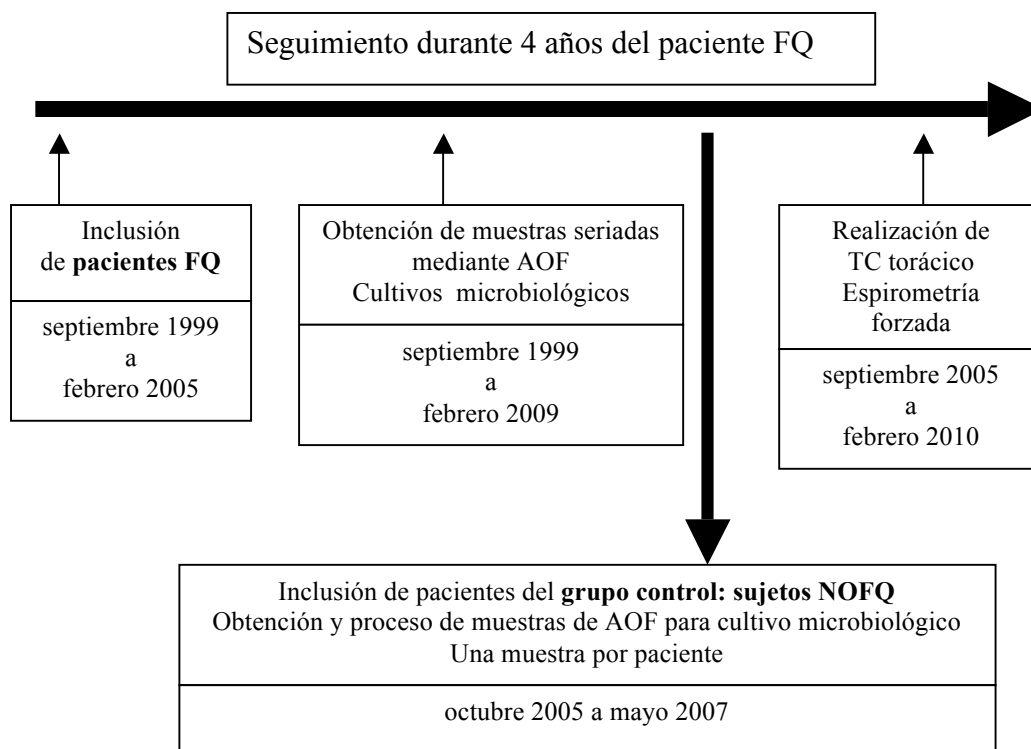


Figura 14. Cronograma del estudio



## **4.4 Población en estudio. Criterios de inclusión y exclusión**

### **4.4.1 Pacientes FQ**

#### **Criterios de inclusión:**

Pacientes diagnosticados de FQ mediante el programa de cribado neonatal y seguidos periódicamente durante los primeros 4 años de vida, en la unidad de FQ del Hospital de Sabadell.

#### **Criterio de exclusión:**

La presencia de otra patología crónica concomitante no secundaria a la patología de base en estudio.

### **4.4.2 Sujetos NOFQ**

#### **Criterios de inclusión:**

Niños, menores de 48 meses de vida, sin patología respiratoria e ingresados en el Hospital de Sabadell para la realización de una intervención quirúrgica programada que requiera ventilación asistida.

Firma del Consentimiento informado por un tutor legal.

#### **Criterios de exclusión:**

Existencia de una patología crónica concomitante, patología respiratoria intercurrente o la administración de antibioterapia en los 7 días previos a la intervención quirúrgica.

Rechazo de los tutores legales a participar o firmar en consentimiento informado.

## **4.5 Procedimientos**

### **4.5.1 Inclusión de pacientes FQ y sujetos NOFQ**

Los pacientes FQ son derivados a través del Programa de cribado neonatal del “Servei Català de la Salut”<sup>45</sup>. Se procede según las indicaciones del protocolo del citado programa.

Los sujetos NOFQ se reclutan en hospitalización de cirugía o en la visita previa a la intervención quirúrgica. El día de la intervención se realiza una anamnesis y exploración física con el objetivo de evaluar los criterios de inclusión y exclusión, previa firma del consentimiento informado.

### **4.5.2 Obtención de las muestras para cultivo microbiológico**

Las muestras para cultivo microbiológico de los pacientes FQ se recogerán mensualmente en fase estable y si tiene síntomas de reagudización respiratoria, siempre durante la sesión de fisioterapia respiratoria.

Las muestras de los sujetos NOFQ se obtienen en quirófano, durante la inducción anestésica, antes de la intubación traqueal o la colocación de una mascarilla laríngea.

En ambos grupos las muestras se obtendrán mediante la técnica de aspirado orofaríngeo (AOF)<sup>51</sup>. Las muestras se recogen por aspiración orofaríngea con sondas de aspiración de 10-12 French (de 10F en el primer año de vida). La muestra se envía al laboratorio de microbiología dentro de la sonda de aspiración, recortando la parte más distal porque ha estado en contacto directo con la mucosa faríngea.

### **4.5.3 Proceso de la muestra y lectura del cultivo microbiológico**

Todas las muestras obtenidas por AOF, de casos y controles, al llegar al laboratorio se introducen en una solución de tioglicolato durante 24 horas y posteriormente se resiembran en placas de agar-sangre, agar-chocolate, agar McConkey y agar-sangre con colistina y ácido nalidíxico. Se han recogido datos de los resultados positivos a

bacterias y hongos. No se han realizado análisis de virus. Se procede a la lectura de los cultivos a las 24 y a las 48 horas.

#### **4.5.4 Valoración de la evaluación clínica en los pacientes FQ**

##### **4.5.4.1 Medida de la función pulmonar**

Se realiza espirometría forzada conforme a los criterios de la American Thoracic Society (ATS) y European Respiratory Society (ERS)<sup>78</sup>.

La espirometría se ha realizado en los pacientes afectos de FQ por personal experto. Escogemos la primera espirometría correcta realizada a partir de los 4 años de edad. Los valores de referencia utilizados son valores de FEV1 tabulados por Polgar.

Se ha usado un espirómetro computerizado DATOSPIR 600 de Sibelman. Neumotacógrafo tipo Fleish y software W20 Sibelman incentivada.

##### **4.5.4.2 Tomografía computarizada torácica**

Realización de tomografía computarizada torácica mediante la técnica de TC helicoidal de alta resolución (TCAR).

Se evaluarán datos de las exploraciones realizadas de rutina entre los 4 y 6 años de edad. La tomografía computarizada de alta resolución se ha realizado con un aparato "Sensation 16 Siemens Erlangen, Germany".

#### **Descripción de la puntuación utilizada en TCAR**

Para estudiar el grado de afectación pulmonar nos hemos basado en el trabajo de Sly<sup>77</sup> encaminado a evaluar la afectación pulmonar de los pacientes diagnosticados también por cribado neonatal. Dividen el pulmón en 6 zonas (superior, inferior y media; derecha, izquierda) correspondientes a cada imagen axial obtenida en la TCAR. Se han recogido datos de la presencia de dilatación bronquial, pared bronquial engrosada, atrapamiento aéreo. Se evalúa cómo la presencia o no de alteración (0;1) y se cuantificó la extensión de la afectación <50%=1; >50%= 2. Combinamos la presencia o no de afectación (0,1) de cada zona con la extensión (1,2) para obtener

valores de 0 a 12 para dilatación bronquial, pared bronquial engrosada y atrapamiento aéreo respectivamente.

#### 4.6 Variables del estudio

**Cultivo cursado:** Muestra obtenida mediante AOF y procesada según el protocolo

**Resultado del cultivo:**

**Cultivo negativo:** Criterio microbiológico de flora normal o crecimiento de tres o más microorganismos que pertenezcan a especies consideradas habitualmente como saprófitas del tracto respiratorio sin observarse predominio de ninguna de ellas.

**Cultivo positivo:** Crecimiento de 10 o más colonias de especies consideradas como patógenos primarios o que podrían comportarse como patógenos.

**Aislamiento:** En un cultivo positivo, tipo de microorganismo aislado (bacteriano o fúngico).

**Colonización bacteriana:** Aislamiento de un microorganismo potencialmente patógeno.

**Colonización bacteriana persistente:** Aislamiento de un mismo microorganismo en 3 ó más muestras en un período de 6 meses.

**Puntuación TC torácico de alta resolución:** Puntuación 0-12 (datos de la presencia de dilatación bronquial, pared bronquial engrosada, atrapamiento aéreo).

**Volumen espiratorio forzado en el primer segundo (FEV<sub>1</sub>).** Expresado en porcentaje. Cálculo del porcentaje en función del valor de referencia de Polgar<sup>79</sup>.

#### 4.7 Cálculo de la muestra

El grupo de pacientes afectados de FQ fueron todos los pacientes de nuestra área de referencia que cumplían criterios de inclusión en el período establecido .

En el contexto de un estudio exploratorio, en el que no se ha establecido un contraste de hipótesis previo a la recogida de datos, no procede cálculo del tamaño muestral. De modo arbitrario se incluyen 5 sujetos NO FQ por cada paciente afecto de FQ, distribuidos en los mismos grupos de edad.

Pensamos que el tamaño del grupo control es suficiente para poder realizar, por primera vez de forma precisa, estimaciones de los parámetros poblacionales descritos en los objetivos.

#### **4.8 Análisis estadístico**

Las variables cualitativas se describen mediante tablas de frecuencias absolutas (número de casos) y relativas (porcentajes). Las variables cuantitativas se han descrito mediante media aritmética, desviación tipo, mediana, máximo y mínimo y percentiles 25 y 75.

La diferencia de porcentajes entre los diferentes grupos pacientes FQ/ sujetos NOFQ y las diferentes edades se han contrastado mediante la prueba de Chi cuadrado. Se ha estimado la diferencia entre porcentajes con un intervalo de confianza del 95%.

No se han comparado los distintos grupos de edad entre ellos para evitar las comparaciones múltiples en el grupo de pacientes FQ.

Para comparar los resultados de las variables respuesta FEV1 y Puntuación TCAR, entre los grupos colonizados o no por *P. aeruginosa* y colonizados o no por *S. aureus* se ha usado el test no paramétrico U de Mann-Whitney.

Se ha fijado el valor de la significación estadística en  $p < 0.05$ .

Los datos han sido analizados con los paquetes estadísticos SPSS para Windows versión 18 y R versión 2.11.1 (CRAN).

#### **4.9 Aspectos Éticos**

Este estudio fue aprobado por el Comité de Ética de Investigación Clínica de la Corporació Sanitària Parc Taulí el 22 de Abril de 2003



## 5 Resultados

### 5.1 Población en estudio

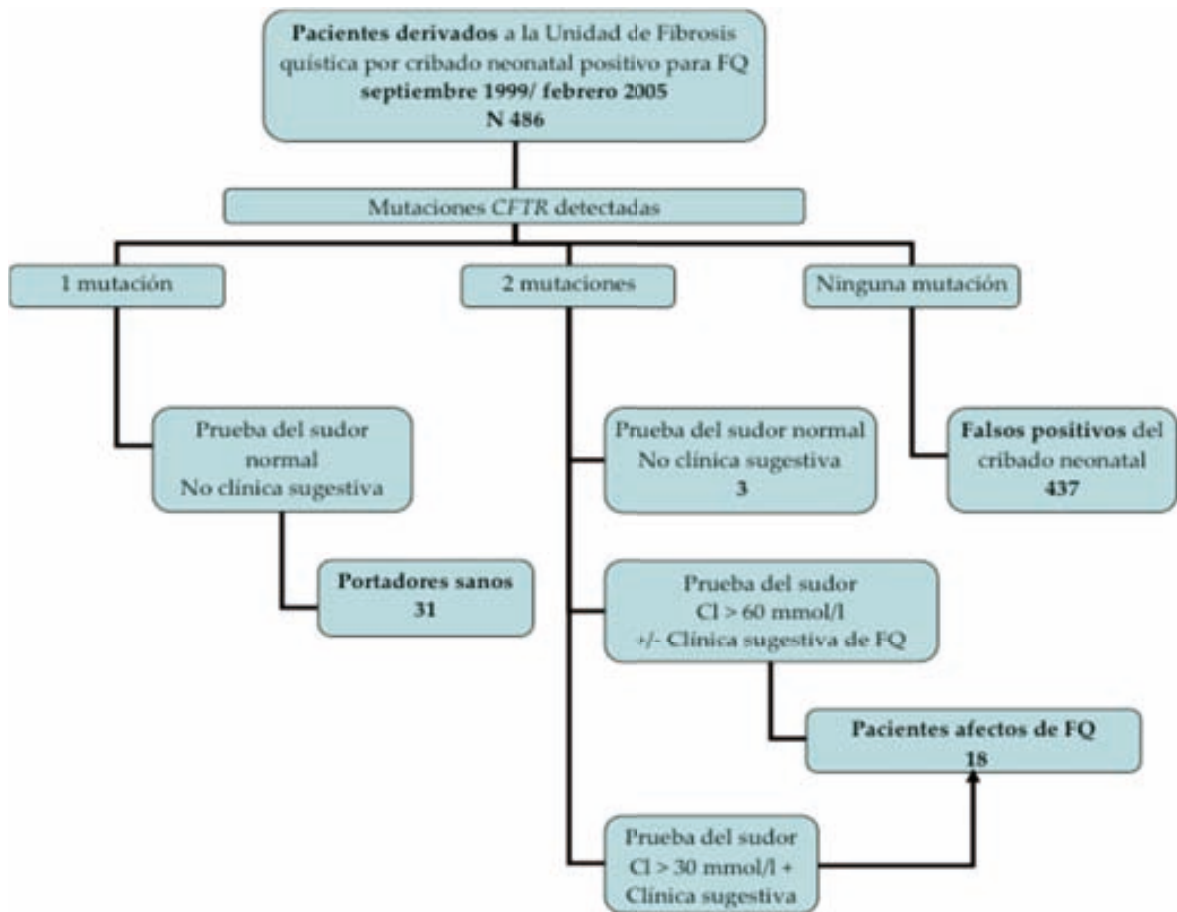
#### 5.1.1 Características de los pacientes afectados de FQ

Desde la implantación del programa de cribado neonatal en octubre de 1999 hasta febrero de 2005 se derivaron a la Unidad de FQ del Hospital de Sabadell, 486 neonatos con cribado positivo para FQ. Se detectaron dos mutaciones *CFTR* en 21 (4,32%), una mutación en 31 (6,37%) y ninguna mutación en 437 (89,9%) neonatos. Tres pacientes (3/21), en los que se detectaron dos mutaciones del gen *CFTR*, no cumplen criterios diagnósticos de FQ. Todos los pacientes en los que se detectaron 2 mutaciones se siguieron en consultas externas.

Se incluyeron en el estudio los 18 pacientes (3,7%;18/486) diagnosticados de FQ mediante el programa de cribado neonatal, entre octubre de 1999 y febrero del 2005 (figura 1). El 76% (13/18) de los pacientes afectados de FQ son niños y el 24% (5/18) niñas. Todos los pacientes diagnosticados en este período son caucásicos. La media de edad al diagnóstico son 2 meses. Los 18 pacientes FQ han sido visitados periódicamente en la unidad de FQ del Hospital de Sabadell desde su diagnóstico y durante un mínimo de 4 años. Se han excluido todos aquellos en los que el diagnóstico o el seguimiento inicial se realizaron en otro centro de referencia.

#### Datos del cribado neonatal de los pacientes diagnosticados de FQ.

El valor de la primera determinación de tripsina inmuno reactiva fue entre 114ng/ml y 775ng/ml (mediana de 305 ng/ml) y de la segunda determinación entre 102 ng/ml y 469 ng/ml (mediana de 218 ng/ml). El valor cualitativo de la prueba del sudor (Macroduct) fue entre 64 y 130 nmol/l (mediana de 111 nmol/l). La concentración del ion cloruro en sudor fue entre 40 y 114 mmol/l (mediana de 90 ng/ml), sólo un paciente presenta cloro en sudor de 40 mmol/l. Los 3 pacientes en los que se hallaron 2 mutaciones y se excluyeron del estudio presentan concentraciones de cloro en el sudor inferiores a 30 mmol/l. (Figura 15)



2

2 21 n24-T32 TN z2 oN2 Tz2M222 o pTop2v2z2p2p t TNW221 V1222 T2Vt2V1p222N1wTd 2V12 QQ“2 r2Td 2V12  
Fi i ü2

2

2tsí 2 i 22aus 2i 2

2

2z2TNt ro3 Tpgvr2o2N1V12z2mà 2p222d rNd 22d t TNW221t T222N1st p 22 T2V1d p22àp2 T2  
wLNP222pd t poV122rb22p2Tz2222oV2oVro2 T22Tpgvr22222 2222222p2Tz2d 2M2o2 Tz2  
LVosV2d 22 T22M222 o pTop2v2z222T2 T2V122Vop2 oN2d t v22ropTN2 Tz2s Tp2222222p2F: 2  
L22TpV1N2LTVo2Tp2WIN2 T2z2oN2N12 2z22Vop2d t v22ropTN2po22N2r2 2N22op222222) ü2x2  
2QQ) 2x22: i üF2yl22NoN2V1N2L22TpV1N2 2N222Tz2d od Tpvo222t 2z2po2 2p2LVIN1pv2 o2  
22p2222 ut T2 Nt srTV22 Tz2 r2spàNr2o2 T2 2222 2T2 r2spoNr22Vop2 ñ: 2 LoW2 oVIN2  
2L2V1pv1d TpV1N2poN2 T2p22d t v22ràp22N2r2 22222222  
2p2o oN2oN2L22TpV1N2p2z2r oN2N12 2z22Vop2F2d t v22ropTN2 Tz2s Tp2222222N2r2 2N222  
2222 2TpTd oN2 ñ( 2 2z2zoN2 22V222V1m2 oN2 2op2 : F2 d t v22ropTN2 22N2 d t v22ropTN2  
r Tpvr222 2N22op2d fN2eV12t Tp2222Nop22üi 3 Tz2üF2 2 20: Qçñ(y2ó222: ñi ñ222: : x 2 2  
0j çñ(y222222222F2d t TNW22222V12t Tp22222gz2222 Tz22N2d t v22ropTN2 T2V122 2N1Tp2oN2



L22TpvT2 T22222oi oWT22T2 22zà 2222d t v222ràp22üi 3 T22Tp2 J L22TpvT2LTVo2Nàzo2üi2  
L22TpvT22OF) x) 2 y2Nop2i od o2sowoN2L2V22T2N222d t v222ràp22222üi 2 200ç: 3y2 T2zoN2  
L22TpvT2LVINIpv2p22üi 3 T22Tp2 T2Vo2rsosN2222z2 Qx 2 20) çñ(y2 T222N2d t v222ropT2N2  
T2V222 2N2p222oi oWT2 T2L22TpvT2N2f p2Nàzo2p2i p222z2o2p22222222F2N2i2 t T2N22p2  
z2N2d t v222ropT2N2 T2V222 2N2p222 22L22TpvT2

Mutaciones	Alelos FQ	Frecuencia alélica de las mutaciones (%)
F508del	19	52,70%
N1303K	4	11,00%
G542X	2	5,55%
L206W	2	5,55%
E92K	2	5,55%
I507del	1	2,77%
1677delTA	1	2,77%
296+3insT	1	2,77%
R334W	1	2,77%
R347H	1	2,77%
R347P	1	2,77%
G85V	1	2,77%
<b>Total de mutaciones</b>	<b>36</b>	<b>100,00</b>

2  
2  
2  
2  
2  
2  
2  
2  
2  
2  
2  
2  
2  
2

222222F2N2V22T2 Tp22222z222 T222N2d t v222ropT2N2 T2V222 2N2p222 32L22TpvT222 2

2  
2  
2

22n22s2nt2s 22t 22ga 22t 2

2o oN2zoN2L22TpvT2N2 r2sp2oN222 oN2 T222222i 2p2LVINIpv2 o222çr2222 T2npé222ràp2  
VINLr2voVr22 t V2pvT2zoN2L2Vrd TVoN22t 2Wo22HoN2 T2br 22ç 2p2LVIT2N2 o2W222d r2pwo2  
TNL22ç22bi2222d 26oV22 T2zoN2L22TpvT2N2v2TpTp2rpNt e2T2p2222L2p2Mf v2222: ñç: 32  
0) Fx2 y2 2 T2zoN2FxF2 y2 T2t v2Vop2p2 22222 T2opr222222222y2

Inclusión	Genotipo		Insuficiencia Pancreática	Íleo meconial
1	F508del	G542X	Sí	Sí
2	F508del	R347H	Sí	No
3	I507del	1677delTA	Sí	Sí
4	F508del	N1303K	Sí	No
5	F508del	E92K	No	No
6	F508del	F508del	Sí	Sí
7	F508del	F508del	Sí	Sí
8	F508del	296+3insT	Sí	No
9	F508del	R347P	Sí	No
10	N1303K	R334W	No	No
11	N1303K	L206W	No	No
12	F508del	F508del	Sí	No
13	F508del	E92K	Sí	No
14	F508del	F508del	Sí	No
15	F508del	F508del	Sí	No
16	G542X	L206W	No	No
17	F508del	G85V	Sí	No
18	F508del	N1303K	Sí	No

Tabla 3. Genotipo y características clínicas

### 5.1.2 Características de los sujetos NOFQ

Obtuvimos muestras de aspirado orofaríngeo (AOF) de 104 sujetos NOFQ que acudieron a cirugía programada. Las edades estaban comprendidas entre 2 y 47 meses (media de 25,3 meses) y el 78,8% fueron varones. Todos los niños incluidos en el grupo de no afectados de FQ habían sido estudiados en el programa de cribado neonatal de la Generalitat de Catalunya. En el momento de la cirugía, ninguno de ellos había recibido antibioterapia en la semana previa a la intervención ni presentaban clínica de patología respiratoria aguda ni crónica, valorado mediante anamnesis y exploración física.

### Procedimientos quirúrgicos realizados en los sujetos NOFQ

En alguno de los niños se realizó más de un procedimiento en el mismo acto quirúrgico. La cirugía programada que se realizó en los niños del grupo control son por orden de frecuencia: herniorrafia, cirugía urogenital, exéresis de quiste, exéresis

de apéndice auricular, cierre de fístula, tenotomía y otros procedimientos variados. (Tabla 4). En total se realizaron 104 intervenciones y 107 procedimientos quirúrgicos.

Procedimiento quirúrgico	N=107
Herniorrafia	47 (43,9%)
Cirugía Urogenital	30 (28%)
Exéresis de quiste o apéndice	12 (11,1%)
Fístulas	3 (2,8%)
Tenotomía	3 (2,8%)
Otros procedimientos	12 (11,1%)

Tabla 4. Procedimientos quirúrgicos. Sujetos NOFQ



1. 2. 3. 4. 5. 6. 7. 8. 9. 10. 11. 12. 13. 14. 15. 16. 17. 18.

| Paciente     | Cultivos cursados  |                 | Cultivos positivos |
|--------------|--------------------|-----------------|--------------------|
|              | Nº total /paciente | Nº paciente/año | (%)                |
| 1            | 70                 | 17,5            | 45,70              |
| 2            | 62                 | 15,5            | 37,00              |
| 3            | 55                 | 13,75           | 58,10              |
| 4            | 45                 | 11,25           | 17,70              |
| 5            | 32                 | 8               | 59,30              |
| 6            | 52                 | 13              | 34,60              |
| 7            | 56                 | 14              | 42,80              |
| 8            | 47                 | 11,75           | 46,80              |
| 9            | 53                 | 13,25           | 60,30              |
| 10           | 55                 | 13,75           | 36,30              |
| 11           | 33                 | 8,25            | 30,30              |
| 12           | 43                 | 10,75           | 46,50              |
| 13           | 33                 | 8,25            | 21,20              |
| 14           | 42                 | 10,5            | 69,00              |
| 15           | 50                 | 12,5            | 50,00              |
| 16           | 36                 | 9               | 36,10              |
| 17           | 59                 | 14,75           | 27,10              |
| 18           | 54                 | 13,5            | 53,70              |
| <b>Total</b> | <b>877</b>         | <b>12,23</b>    | <b>42,92</b>       |

2

1. 2. 3. 4. 5. 6. 7. 8. 9. 10. 11. 12. 13. 14. 15. 16. 17. 18.

2 2

?

oNWVopMrd rTpw Tt pNzo d rVooVs prNd oñi Fçñ) Q( 32 y T oN d rVooVs prNd oN) i çñ) Q: 3x ( 2 y6 T vTNd rVooVs prNd oN) çñ) Q: xJ 2 y

?

| Cultivos cursados             | Pacientes FQ | Sujetos NOFQ |
|-------------------------------|--------------|--------------|
| Cultivo negativo              | 877          | 104          |
| Cultivo positivo              | 498 (56,7%)  | 72 (69,2%)   |
| Cultivo con un aislamiento    | 379 (43,2%)  | 32 (30,7%)   |
| Cultivo mixto                 | 302          | 28           |
| Cultivo con dos aislamientos  | 70           | 2            |
| Cultivo con tres aislamientos | 7            | 2            |

?

gR3M2VNr2N2 TzoNtt zrboNtpL2TpvTN700N alvoN7002

?

### T335 tt n m. a g t g di t nt it a g t í Asi t

?

TLVoTVop i J t TNWN TNLrV oVoeVpsToL2M2tt zrbo d rVo2rozàsr2x p LoVL2TpvTtt TVopLoNrboNhi x) 2 ñFy TzoNtt zrboNtt VN oNtpñi tt zrboNNT rN2VopTNL2T2Vr2p2N62Tp2F2NI2rNà22d222 22 20: xQ2 y22z2(QFñ2 20) Fy d oNWVopMrd rTpw TzoV22NLVoev2 Tz2V2vo2MTNLrV2voVro262NI22opN TV2Vop pTs zrboN222d 26oV22 TzoN2tt zrboN2LoNrboN2d oNwà22Mrd rTpw Tt pNzo d rVooVs prNd o2OF3çñFyl2 p2 2st p2N2 d t TNWN NI2 rNà2 d fN2 Tt p22 TNL2T2 222Vr2p22Tp2F2NI2rN2Vop2F ad rVooVs prNd oN2Tp2w2NF ad t TNWN NI2 r2TVop2ñ 2rN2d rTpwN20w2z22( y22p2wov2z2NI2i r2TVop2ñ322N2d rTpwN2 T2d rVooVs prNd oN LovTp22zd TpvTL2vàsTpoN2( 2 T2zoN222Vr2poN2

?

z2LoV2Tpv2al2 T2tt zrboN2LoNrboN2622op22rN2d rTpwN2222Vr2poN2TN2d 26oV2Tp2oN2 L22TpvTN222 262222 reIVTp2222TN2TN2 Nr22d TpvT2Nspre22mb2y222N2 reIVTp222N2Tp222 LoV2Tpv2al2 T22N2d rTpwN2222Vr2poN2( ñ3ç3) 2eTpvT222ñ( ç: i J y2TpvWT2zoN2 oN2 sVt LoN2d 2rgp2op2TN2 Nr22d TpvT2Nspre22mb2NOL2 xOL4i li üx2od oNI2cLopT2Tp2 z222222) 2

|                                       | FQ<br>N = 877 | NOFQ<br>N = 104 | Diferencia de<br>porcentajes<br>IC 95%(diferencia) | p-valor |
|---------------------------------------|---------------|-----------------|--|---------|
| <b>Cultivos positivos</b>             | 43,2%         | 30,76%          | 12,6% (2.4-22.4)                                   | 0.0195  |
| <b>Cultivos positivos a bacterias</b> | 40,3%         | 28,8%           | 11,5%(1,6-21,3)                                    | 0.03    |
| <b>Aislamientos bacterianos</b>       | 49,9%         | 34,6%           | 15,3(5-25,5)                                       | 0,0043  |

**Tabla 7.** Diferencias entre los cultivos en pacientes FQ y sujetos NOFQ

## 5.2.2 Descripción de los aislamientos bacterianos.

### 5.2.2.1 Descripción de los aislamientos bacterianos en los pacientes FQ

Se aislaron bacterias en el 40,3% (354/877) de los cultivos cursados. El 94,6% (438/463) de los aislamientos fueron bacterianos con predominio de gramnegativos 284/438 (64,84%). Los gramnegativos aislados con más frecuencia fueron de la familia *Enterobacteriaceae* 256/877 (29,19%). Se halló *P. aeruginosa* en el 3,53% (31/877), no se aislaron cepas mucoides de *P. aeruginosa* en ninguna de las muestras. El microorganismo aislado con más frecuencia es grampositivo, *S. aureus* 151/877 (17,2%), seguido en orden de frecuencia por *Klebsiella spp* 78/877 (8,9%), *Enterobacter spp* 65/877 (7,4%), *E. coli* 53/877 (6%), *Pseudomonas spp* 33/877 (3,76%), *Serratia spp* 28/877 (3,19%). También se aíslan *Citrobacter spp* (11/877), *Morganella morganii morganii* (3/877), *S. maltophila* (6/877) entre otros menos frecuentes. Aislamos *H. influenzae*, sólo en un paciente en el 4º año de vida. (tabla 8)

| <b>Microorganismo aislado</b>                   | <b>Aislamientos bacterianos</b> |     | <b>% respecto a los cultivos cursados</b> |
|---|---------------------------------|-----|---|
|   | <b>N= 438</b>                   |     | <b>N= 877</b>                             |
| <b>Gram positivos</b>                           |                                 |     |   |
| <b>Familia Staphylococcaceae</b>                | 151                             | 151 | 17,20                                     |
| <i>Staphylococcus aureus</i>                    |                                 |     |   |
| <b>Familia Streptococcaceae</b>                 |                                 | 3   | 0,30                                      |
| <b>Streptococcus spp</b>                        |                                 |     |   |
| <i>Streptococcus beta hemolitico grupoC</i>     | 1                               |     |   |
| <i>Streptococcus pyogenes</i>                   | 1                               |     |   |
| <i>Streptococcus pneumoniae</i>                 | 1                               |     |   |
| <b>Gram negativos</b>                           |                                 |     |   |
| <b>Familia Enterobacteriaceae</b>               |                                 |     |   |
| <b>Enterobacter spp</b>                         |                                 | 65  | 7,40                                      |
| <i>Enterobacter cloacae</i>                     | 53                              |     |   |
| <i>Enterobacter aerogenes</i>                   | 11                              |     |   |
| <i>Enterobacter cancerogenus</i>                | 1                               |     |   |
| <b>Klebsiella spp</b>                           |                                 | 78  | 8,90                                      |
| <i>Klebsiella oxytoca</i>                       | 48                              |     |   |
| <i>Klebsiella pneumoniae</i>                    | 28                              |     |   |
| <i>Klebsiella ornhitolytica</i>                 | 2                               |     |   |
| <b>Escherichia coli</b>                         | 53                              | 53  | 6,00                                      |
| <b>Citrobacter spp</b>                          |                                 | 11  | 1,20                                      |
| <i>Citrobacter amolnaticus</i>                  | 1                               |     |   |
| <i>Citrobacter koserii</i>                      | 8                               |     |   |
| <i>Citrobacter freundii</i>                     | 2                               |     |   |
| <b>Morganella morganii morganii</b>             | 3                               | 3   | 0,30                                      |
| <b>Serratia spp</b>                             |                                 | 28  | 3,10                                      |
| <i>Serratia marcescens</i>                      | 23                              |     | 2,60                                      |
| <i>Serratia liquefaciens</i>                    | 5                               |     |   |
| <b>Leclercia adenocarboxylata</b>               | 1                               | 1   | 0,10                                      |
| <b>Pantotea agglomerans</b>                     | 1                               | 1   | 0,10                                      |
| <b>Familia Pseudomonadaceae</b>                 |                                 |     |   |
| <b>Pseudomonas spp</b>                          |                                 | 33  | 3,70                                      |
| <i>Pseudomonas aeruginosa</i>                   | 31                              |     |   |
| <i>Pseudomonas fluorescens/putida</i>           | 2                               |     |   |
| <b>Familia Xantomonadaceae</b>                  |                                 |     |   |
| <i>Stenotrophomonas maltophila</i>              | 6                               | 6   | 0,6                                       |
| <b>Familia Moraxallaceae</b>                    |                                 |     |   |
| <b>Moraxella catharralis</b>                    | 1                               |     | 0,1                                       |
| <b>Familia Pasteurallaceae</b>                  |                                 |     |   |
| <i>Haemophilus influenza beta lactamasa (-)</i> | 4                               | 4   | 0,4                                       |

**Tabla 8.** Aislamientos bacterianos en los pacientes FQ



2009. El estudio se realizó en el mes de agosto del 2009, en el hospital de la Universidad de Cuenca, Ecuador. Se seleccionó una muestra de 18 pacientes internados en el hospital de la Universidad de Cuenca, Ecuador. Se les realizó un cultivo de orina y se les administró antibióticos. Los resultados de los cultivos de orina se muestran en el cuadro 3. Se observó que el 72,2% de los pacientes presentaron bacteriuria. El 16,7% de los pacientes presentaron bacteriemia. El 11,1% de los pacientes presentaron septicemia. El 0% de los pacientes presentaron meningitis. El 5,6% de los pacientes presentaron neumonía. El 2,8% de los pacientes presentaron infecciones de tracto respiratorio inferior. El 1,1% de los pacientes presentaron infecciones de tracto respiratorio superior. El 0,6% de los pacientes presentaron infecciones de tracto gastrointestinal. El 0,3% de los pacientes presentaron infecciones de tracto genitourinario. El 0,1% de los pacientes presentaron infecciones de tracto ocular. El 0,1% de los pacientes presentaron infecciones de tracto auditivo. El 0,1% de los pacientes presentaron infecciones de tracto cutáneo. El 0,1% de los pacientes presentaron infecciones de tracto muscular. El 0,1% de los pacientes presentaron infecciones de tracto esquelético. El 0,1% de los pacientes presentaron infecciones de tracto cardiovascular. El 0,1% de los pacientes presentaron infecciones de tracto nervioso. El 0,1% de los pacientes presentaron infecciones de tracto linfático. El 0,1% de los pacientes presentaron infecciones de tracto endocrino. El 0,1% de los pacientes presentaron infecciones de tracto inmunológico. El 0,1% de los pacientes presentaron infecciones de tracto hematológico. El 0,1% de los pacientes presentaron infecciones de tracto inmunológico. El 0,1% de los pacientes presentaron infecciones de tracto hematológico.

| Inclusión    | Cultivos cursados | Número aislamientos |                      | Porcentaje respecto al total de cultivos cursados(%) |                      |
|--------------|-------------------|---------------------|----------------------|--|----------------------|
|              |                   | <i>S. aureus</i>    | <i>P. aeruginosa</i> | <i>S. aureus</i>                                     | <i>P. aeruginosa</i> |
| 1            | 70                | 16                  | 3                    | 22,85  | 4,28                 |
| 2            | 62                | 1                   | 4                    | 1,61   | 6,45                 |
| 3            | 55                | 19                  | 5                    | 34,54  | 9,09                 |
| 4            | 45                | 0                   | 2                    | 0  | 4,44                 |
| 5            | 32                | 10                  | 1                    | 31,25  | 3,12                 |
| 6            | 52                | 8                   | 3                    | 15,38  | 5,76                 |
| 7            | 56                | 0                   | 3                    | 0  | 5,35                 |
| 8            | 47                | 5                   | 1                    | 10,63  | 2,12                 |
| 9            | 53                | 18                  | 0                    | 33,96  | 0                    |
| 10           | 55                | 15                  | 1                    | 27,27  | 1,81                 |
| 11           | 33                | 3                   | 0                    | 9,09   | 0                    |
| 12           | 43                | 14                  | 0                    | 32,55  | 0                    |
| 13           | 33                | 0                   | 1                    | 0  | 3,03                 |
| 14           | 42                | 15                  | 1                    | 35,71  | 2,38                 |
| 15           | 50                | 4                   | 1                    | 8  | 2                    |
| 16           | 36                | 5                   | 1                    | 13,88  | 2,77                 |
| 17           | 59                | 0                   | 3                    | 0  | 5,08                 |
| 18           | 54                | 18                  | 1                    | 33,33  | 1,85                 |
| <b>Total</b> | <b>877</b>        | <b>151</b>          | <b>31</b>            | <b>17,22</b>   | <b>3,53</b>          |

2009. El estudio se realizó en el mes de agosto del 2009, en el hospital de la Universidad de Cuenca, Ecuador. Se seleccionó una muestra de 18 pacientes internados en el hospital de la Universidad de Cuenca, Ecuador. Se les realizó un cultivo de orina y se les administró antibióticos. Los resultados de los cultivos de orina se muestran en el cuadro 3. Se observó que el 72,2% de los pacientes presentaron bacteriuria. El 16,7% de los pacientes presentaron bacteriemia. El 11,1% de los pacientes presentaron septicemia. El 0% de los pacientes presentaron meningitis. El 5,6% de los pacientes presentaron neumonía. El 2,8% de los pacientes presentaron infecciones de tracto respiratorio inferior. El 1,1% de los pacientes presentaron infecciones de tracto respiratorio superior. El 0,6% de los pacientes presentaron infecciones de tracto gastrointestinal. El 0,3% de los pacientes presentaron infecciones de tracto genitourinario. El 0,1% de los pacientes presentaron infecciones de tracto ocular. El 0,1% de los pacientes presentaron infecciones de tracto auditivo. El 0,1% de los pacientes presentaron infecciones de tracto cutáneo. El 0,1% de los pacientes presentaron infecciones de tracto muscular. El 0,1% de los pacientes presentaron infecciones de tracto esquelético. El 0,1% de los pacientes presentaron infecciones de tracto cardiovascular. El 0,1% de los pacientes presentaron infecciones de tracto nervioso. El 0,1% de los pacientes presentaron infecciones de tracto linfático. El 0,1% de los pacientes presentaron infecciones de tracto endocrino. El 0,1% de los pacientes presentaron infecciones de tracto inmunológico. El 0,1% de los pacientes presentaron infecciones de tracto hematológico.

**3.3.3. Resultados. Aislamiento bacteriano en el agua de la Aislamiento**

?

En el presente estudio se realizó el aislamiento bacteriano de las muestras de agua de la Aislamiento. Los resultados se muestran en el siguiente cuadro. Se aislaron un total de 36 bacterias, pertenecientes a 10 familias. Las familias más representativas fueron Gram positivos (13 especies) y Gram negativos (23 especies). El género *Staphylococcus* fue el más frecuente, con 13 aislamientos. Otros géneros importantes fueron *Enterobacter*, *Klebsiella*, *Escherichia coli*, *Citrobacter*, *Morganella*, *Serratia* y *Pseudomonas*.

?

| Microorganismo aislado              | Aislamientos bacterianos<br>N=36 |    | Porcentaje<br>respecto a<br>los cultivos<br>cursados<br>N= 104 |
|-------------------------------------|----------------------------------|----|--|
| <b>Gram positivos</b>               |                                  |    |  |
| <i>Familia micrococcaceae</i>       |                                  |    |  |
| <i>Staphylococcus aureus</i>        | 13                               | 13 | 12,50  |
| <b>Gram negativos</b>               |                                  |    |  |
| <i>Familia Enterobacteriaceae</i>   |                                  |    |  |
| <i>Enterobacter spp</i>             |                                  | 6  | 5,70   |
| <i>Enterobacter cloacae</i>         | 6                                |    |  |
| <i>Klebsiella spp</i>               |                                  | 6  | 5,70   |
| <i>Klebsiella oxytoca</i>           | 3                                |    |  |
| <i>Klebsiella pneumoniae</i>        | 3                                |    |  |
| <i>Escherichia coli</i>             | 4                                | 4  | 3,80   |
| <i>Citrobacter spp</i>              |                                  | 1  |  |
| <i>Citrobacter koserii</i>          | 1                                |    | 0,90   |
| <i>Morganella morganii morganii</i> | 1                                | 1  | 0,90   |
| <i>Serratia marcescens</i>          | 1                                | 1  | 0,90   |
| <i>Familia Pseudomonadaceae</i>     |                                  |    |  |
| <i>Pseudomonas aeruginosa</i>       | 3                                | 3  | 2,80   |
| <i>Stenotrophomonas maltophilia</i> | 1                                | 1  | 0,90   |

?

El presente estudio se realizó en el laboratorio de microbiología de la Universidad de la Aislamiento.

?

El estudio de los cultivos de las muestras de las unidades de cuidados intensivos de los hospitales de la zona de estudio, se realizó con el fin de determinar la presencia de bacterias Gram positivas y Gram negativas en las muestras de las unidades de cuidados intensivos de los hospitales de la zona de estudio. Los resultados de los cultivos se muestran en el siguiente cuadro:

El estudio de los cultivos de las muestras de las unidades de cuidados intensivos de los hospitales de la zona de estudio, se realizó con el fin de determinar la presencia de bacterias Gram positivas y Gram negativas en las muestras de las unidades de cuidados intensivos de los hospitales de la zona de estudio. Los resultados de los cultivos se muestran en el siguiente cuadro:

|  | FQ<br>N 877 | NOFQ<br>N 104 | Diferencia de<br>porcentajes<br>IC 95%(diferencia) | p-valor           |
|--|-------------|---------------|--|-------------------|
| <b>Aislamientos positivos respecto al total de cultivos cursados (%)</b> | <b>52,8</b> | <b>28,8</b>   | <b>24 (14,09-33,79)</b>                            | <b>&lt;0.0001</b> |
| <i>Staphylococcus aureus</i>   | 17,2        | 12,5          | 4,7(2,64-12)                                       | 0,28              |
| <i>Enterobacter spp</i>  | 7,4         | 5,7           | 1,7(3,7-6,9)                                       | 0,681             |
| <i>Klebsiella spp</i>  | 8,89        | 5,77          | 3,12(2,27-8,52)                                    | 0,3727            |
| <i>Escherichia coli</i>  | 6           | 3,84          | 2,16(2,35-6,75)                                    | 0,494             |
| <i>Pseudomonas spp</i>   | 3,76        | 2,88          | 0,88(3,11-4,87)                                    | 0,8614            |
| <i>Citrobacter spp</i>   | 1,2         | 0,96          | 0,24(2-2,6)  | 1                 |
| <i>Morganella morganii</i>   | 0,34        | 0,96          | 0,62(1,8-3)  | 0,9               |
| <i>Serratia spp</i>  | 3,19        | 0,96          | 2,23(0,51-4,97)                                    | 0,335             |
| <i>Stenotrophomona maltophilia</i>                                       | 0,68        | 0,96          | 0,28(1,95-2,5)                                     | 1                 |

El estudio de los cultivos de las muestras de las unidades de cuidados intensivos de los hospitales de la zona de estudio, se realizó con el fin de determinar la presencia de bacterias Gram positivas y Gram negativas en las muestras de las unidades de cuidados intensivos de los hospitales de la zona de estudio. Los resultados de los cultivos se muestran en el siguiente cuadro:

El estudio de los cultivos de las muestras de las unidades de cuidados intensivos de los hospitales de la zona de estudio, se realizó con el fin de determinar la presencia de bacterias Gram positivas y Gram negativas en las muestras de las unidades de cuidados intensivos de los hospitales de la zona de estudio. Los resultados de los cultivos se muestran en el siguiente cuadro:

□  
□

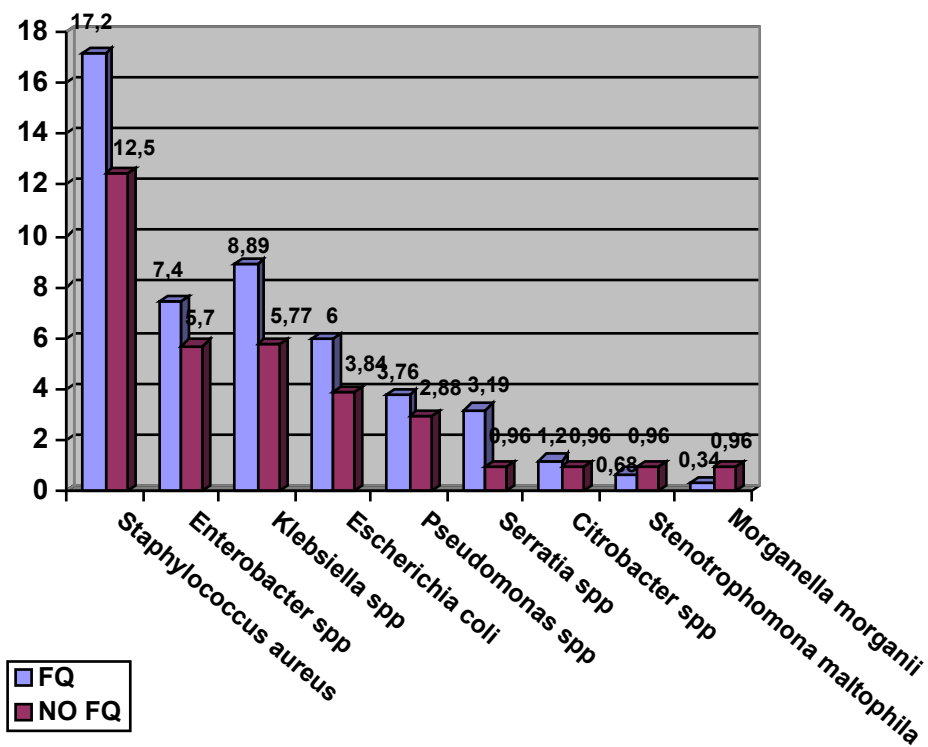


Figura 17. Porcentaje de microorganismos aislados en cada grupo en relación al total de cultivos realizado

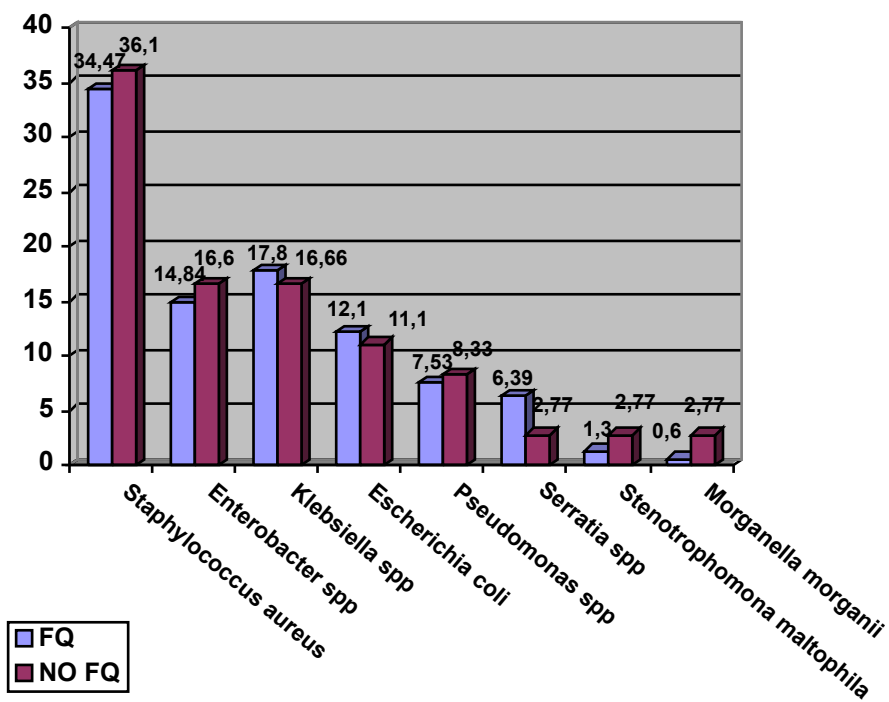


Figura 18. Porcentaje de microorganismos aislados en cada grupo en relación al total de aislamientos realizados.

?

?

**T333** ni ai g 1a g ni g a b . a g d 1 un

?

**T333** t n m . a g t í g di t a í a . a g 3 t i t c i a s n i g t 3

?

oN woNNT p s Vt L oLoVHoN T 1. 2V2N2zI2V22Vopozos 222V2Vp 22  
óLo TV2od L2V22oN222TpvTN22 22op2oN2t a'voN2 2 22 12222bi oWT2 T2.22TpvTN22 2  
ó222 t TNW22 TN a'voN2 2 22 d t TNW2p p 22 rN2t 2àp 1 od osgpT22.2V222 23 Vt Lo2  
T2 2 2V222 Fy22oV2t NLT2t z2Vr 2 TN2N2 TN2V2T2TNL22G22d TpvT2 p2N 2sVt Lo2  
T2 TpoVIN2 T2 d TNIN2 T2r 2122

?

|                 | Número de cultivos cursados |                    |
|-----------------|-----------------------------|--------------------|
|                 | Pacientes FQ (18)           | Sujetos NOFQ (104) |
| 1er año de vida | 218                         | 26                 |
| 2º año de vida  | 237                         | 20                 |
| 3er año de vida | 210                         | 26                 |
| 4º año de vida  | 212                         | 32                 |
| <b>Total</b>    | <b>877</b>                  | <b>104</b>         |

?

?

?

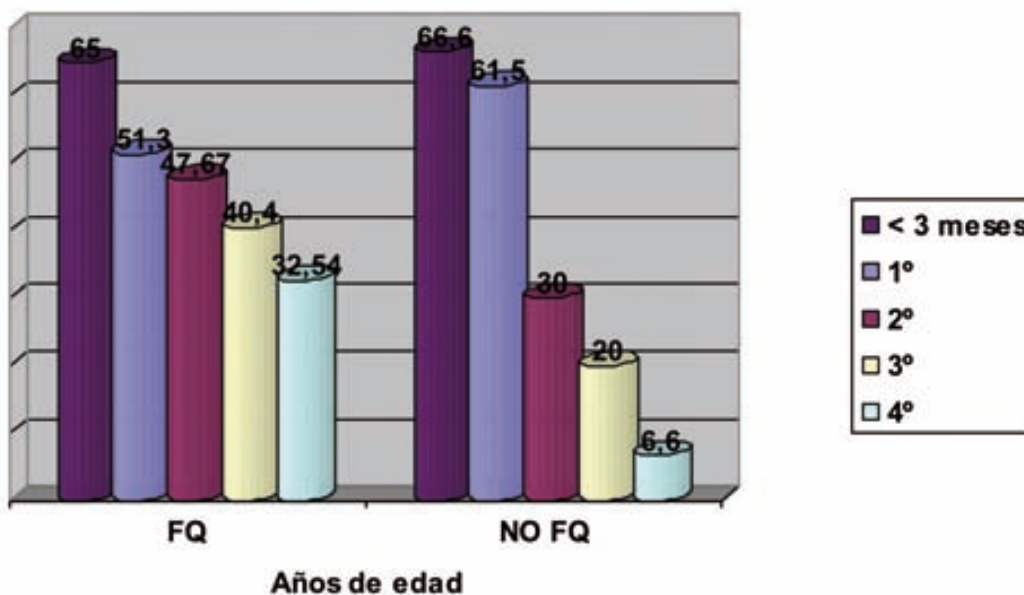
222g 4532 rN2t 2àp 2 2oN2t zrboN2t VN2 oN2p2t p2àp 2 T23 Vt Lo2 T2 2 2

?

2222b2opm22àp 2 T222b222gVI22N2 LVroV2NI22pr222LV22ond TpvT2Tp 22d 2oN2s Vt LoN2  
L22TpvTN22 22t a'voN2 2 22 12222d oN2 r2VooVs 2prNd oN2 TN T2zL.Vrd TV2d TN2 T2r 22  
2p2222bi oWT2 T2.22TpvTN22 2 2223 Vt Lo22opWoz2NI222NI2V221 p2V2p T22222 rNd rpt rV2  
z22LV2b2z2p22T2t zrboN2LoNvrboN2p2V2z22àp 2 rV2222222 d Tpv2 T2222 2 x2t put T2  
d t 2 o2d fN2d 2V22 22T22oN2t a'voN2 2 22 12222L.Vrd TV22Ho2 T22r 22TNL222zd TpvT22oN2  
LVrd TVoN222d TNIN2222NoN2222opWoz2IN2d t TNW2p2t p22LV2b2z2p2222Nd rz2V2 T22t zrboN2  
LoNvrboN2( ü2 2Tp22222V2pvT222( xü2 22 2222yl2222L2V2V2 T22NI2st p o22Ho2 T22r 22T22  
TN2TpNo2TN2d fN22r TpvT2Tp2oN2L22TpvTN22 2 22 22222 ú22Ho2 T22r 222222 reIV2p22222  
Nop222br222TpvT22d 2oN2s Vt LoN2

222 rN2t 2àp 2 T22t zrboN2LoNvrboN2Tp2V2z22àp2222p, d TVo2 T2d t TNW22Tp22oN2  
LVrd TVoN2 22Ho2 T2r 22T22d 2oN2s Vt LoN2NI2d t TNW22Tp2222st V22 Q122

**Porcentaje de cultivos positivos respecto a la edad**

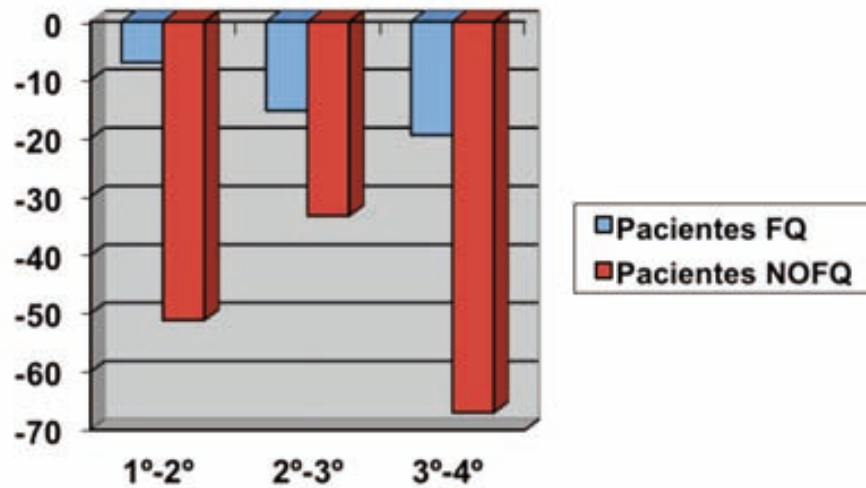


El análisis de la prevalencia de cultivos positivos en los niños con FQ y sin FQ, se realizó considerando la edad de los niños, en los primeros cuatro años de vida.

Los resultados muestran que la prevalencia de cultivos positivos es mayor en los niños con FQ que en los niños sin FQ, en todos los años de vida. La diferencia más marcada se observa entre el primer y segundo año de vida, donde la prevalencia en los niños con FQ es del 51,3% y en los niños sin FQ es del 61,5%. En el tercer año de vida, la prevalencia en los niños con FQ es del 47,67% y en los niños sin FQ es del 30%. En el cuarto año de vida, la prevalencia en los niños con FQ es del 40,4% y en los niños sin FQ es del 6,6%.

| Caída porcentual de la prevalencia de cultivos positivos | Pacientes FQ | Sujetos NOFQ | Diferencia de porcentajes IC 95%(diferencia) | p-valor                 |
|--|--------------|--------------|--|-------------------------|
| Del 1° al 2° año de vida                                 | -7%          | -51,2%       | (-32,13;-56,15)                              | 1,905×10 <sup>-11</sup> |
| Del 2° al 3° año de vida                                 | -15,24%      | -33,3%       | (-30,7; 54,7)                                | 0,00483                 |
| Del 3° al 4° año de vida                                 | -19,45%      | -67%         | (-60,5; -34,5)                               | 3,044×10 <sup>-11</sup> |

El análisis de la prevalencia de cultivos positivos en los niños con FQ y sin FQ, se realizó considerando la edad de los niños, en los primeros cuatro años de vida.



?

El número de pacientes que se encuentran en los grados de gravedad de 1° a 4° en los diferentes tipos de lesiones de la corteza visual.

?

**3.3.3. El número de pacientes que se encuentran en los grados de gravedad de 1° a 4° en los diferentes tipos de lesiones de la corteza visual.**

El número de pacientes que se encuentran en los grados de gravedad de 1° a 4° en los diferentes tipos de lesiones de la corteza visual.

?

El número de pacientes que se encuentran en los grados de gravedad de 1° a 4° en los diferentes tipos de lesiones de la corteza visual.

?

El número de pacientes que se encuentran en los grados de gravedad de 1° a 4° en los diferentes tipos de lesiones de la corteza visual.

El número de pacientes que se encuentran en los grados de gravedad de 1° a 4° en los diferentes tipos de lesiones de la corteza visual.

El número de pacientes que se encuentran en los grados de gravedad de 1° a 4° en los diferentes tipos de lesiones de la corteza visual.

El número de pacientes que se encuentran en los grados de gravedad de 1° a 4° en los diferentes tipos de lesiones de la corteza visual.

?

El número de pacientes que se encuentran en los grados de gravedad de 1° a 4° en los diferentes tipos de lesiones de la corteza visual.

El número de pacientes que se encuentran en los grados de gravedad de 1° a 4° en los diferentes tipos de lesiones de la corteza visual.

El número de pacientes que se encuentran en los grados de gravedad de 1° a 4° en los diferentes tipos de lesiones de la corteza visual.

El cultivo positivo más precoz en sujetos NOFQ fue a los 2 meses de vida. Cuatro sujetos NOFQ presentaron cultivos positivos a esta edad. En dos de ellos se aisló más de un microorganismo. Se aislaron: *Enterobacter spp* (2); *E. coli* (2); *S. aureus* (1); *Klebsiella spp* (1) (Tabla 14)

### Colonización precoz. Menores de 3 meses

Los pacientes FQ menores de 3 meses de vida es el rango de edad en el que se ha obtenido mayor porcentaje de cultivos positivos. Han resultado positivas el 65% de las muestras obtenidas por AOF de estos pacientes y se han hecho 17 aislamientos. (figura 19). Los microorganismos aislados con más frecuencia en este grupo de edad son gramnegativos, el 70% (14/20) de la familia *enterobacteriaceae*. (Tabla 14)

En los sujetos NOFQ menores de 3 meses fueron positivos el 66,5% de los cultivos cursados (figura 19). Obtuvimos 6 aislamientos de 4 cultivos positivos, en sujetos de 2 meses de edad. (Tabla 14)

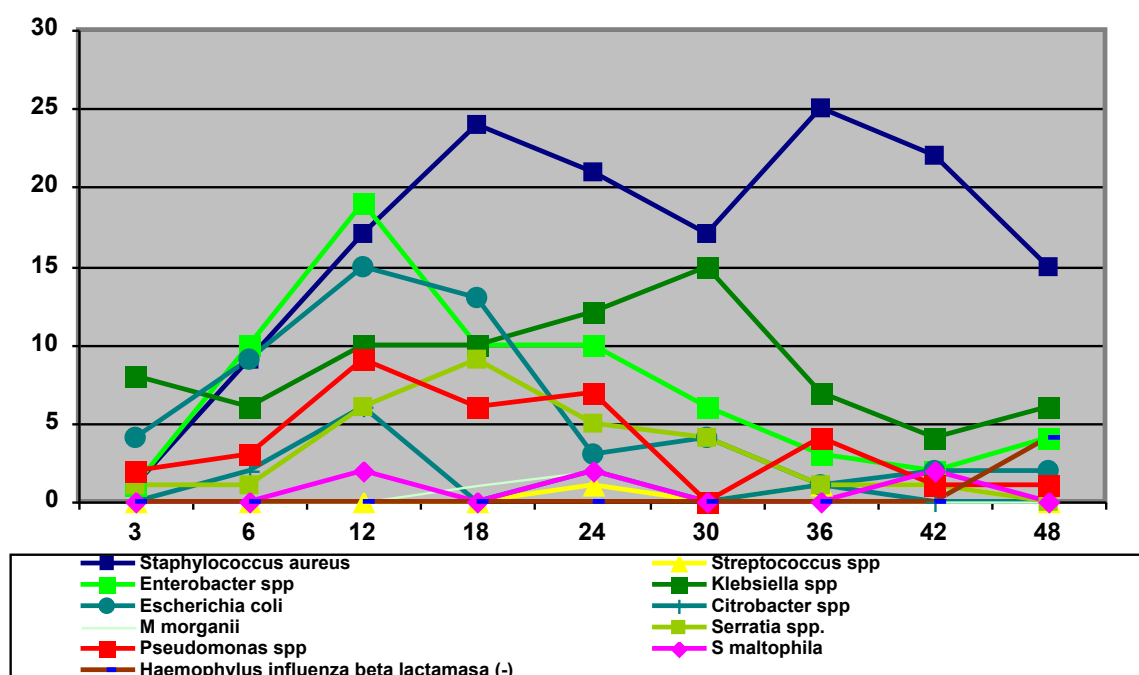
Los microorganismos aislados en menores de 3 meses, en pacientes FQ y sujetos NOFQ, son en su mayoría gramnegativos. A diferencia de los pacientes FQ, en el grupo control no se aisló ninguna *P. aeruginosa* ni *Serratia spp.* y se aislaron menor número de *Klebsiella spp.* (tabla 14) En los menores de 3 meses NOFQ no se detectó ningún factor de riesgo para sufrir infecciones bacterianas de vías altas.

| Menores de 3 meses<br>Microorganismos | Aislamientos /Cultivos cursados |              |
|---------------------------------------|---------------------------------|--------------|
|                                       | Pacientes FQ                    | Sujetos NOFQ |
| <i>S. aureus</i>                      | 1/20                            | 1/6          |
| <i>Enterobacter spp.</i>              | 1/20                            | 2/6          |
| <i>Klebsiella spp.</i>                | 8/20                            | 1/6          |
| <i>E. coli</i>                        | 4/20                            | 2/6          |
| <i>Serratia spp.</i>                  | 1/20                            | 0            |
| <i>Pseudomonas spp.</i>               | 2/20                            | 0            |

**Tabla 14.** Descripción de los aislamientos bacterianos en los pacientes FQ y los sujetos NOFQ menores de 3 meses de edad.

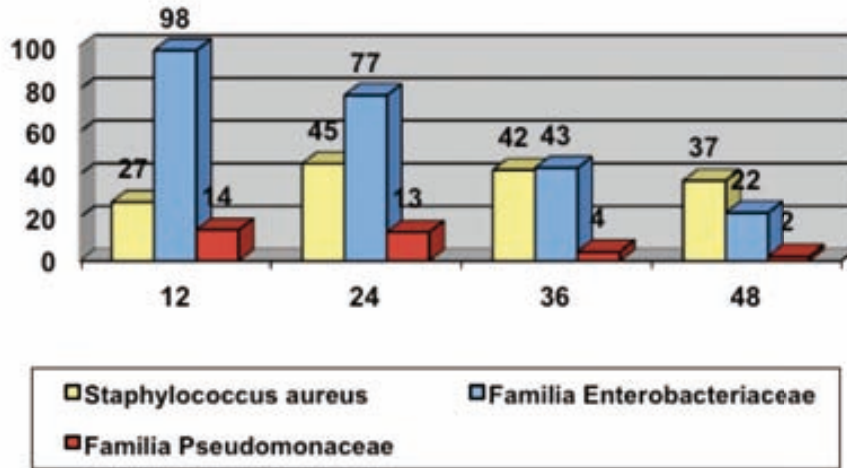


Todos los pacientes FQ de la cohorte han presentado cultivos positivos durante el primer año de vida. *S. aureus* es el microorganismo más constante en cuanto a prevalencia durante los 4 años de seguimiento, es el más prevalente en todos los grupos de edad excepto en el primer año de vida, donde está discretamente superado por *Enterobacter spp* (13,76% frente a 12,38%). (tabla 15) Con la edad se observa un cambio cualitativo de los microorganismos aislados tanto en pacientes FQ Figura 21, como en sujetos NOFQ.



**Figura 21.** Cronología en el aislamiento de microorganismos en la vía aérea superior de los pacientes afectados de FQ menores de 4 años de edad.

Los dos primeros años de vida predominan los aislamientos de enterobacterias, principalmente *Enterobacter spp*, *Klebsiella* y *E. coli*. A partir de los 12 meses de vida el microorganismo aislado con más frecuencia es *S. aureus*, aunque sigue siendo más prevalente el aislamiento de enterobacterias en su conjunto. El cuarto año de vida, el microorganismo aislado con más frecuencia en la cohorte de pacientes es *S. aureus*. (Tabla 14) Al aumentar la edad, observamos una tendencia a disminuir el número de aislamientos de microorganismos gramnegativos. Destacamos especialmente el descenso en los aislamientos de bacterias de las familias *Enterobacteriaceae* y *Pseudomonaceae*. (Figura 22)



?

El estudio de los factores de riesgo de infección hospitalaria en pacientes con infección por bacterias gramnegativas...

?

El estudio de los factores de riesgo de infección hospitalaria en pacientes con infección por bacterias gramnegativas...

?

| Pacientes FQ  | Número de muestras por grupo de edad |           |           |           |              |
|---|--------------------------------------|-----------|-----------|-----------|--------------|
|   | 218                                  | 237       | 210       | 212       | 877          |
| <b>Microorganismos aislados/ edad al obtener las muestras</b> | <b>12</b>                            | <b>24</b> | <b>36</b> | <b>48</b> | <b>Total</b> |
| <i>Staphylococcus aureus</i>                                  | 12,38                                | 19        | 20        | 17,4      | 17,2         |
| <i>Enterobacter spp</i>                                       | 13,76                                | 8,4       | 4,2       | 2,8       | 7,4          |
| <i>Klebsiella spp</i>   | 11                                   | 9,28      | 10,47     | 4,7       | 8,9          |
| <i>Escherichia coli</i>                                       | 12,8                                 | 6,75      | 2,38      | 1,9       | 6            |
| <i>Citrobacter spp</i>  | 3,7                                  | 0,8       | 0,4       | 0         | 1,25         |
| <i>Serratia spp.</i>  | 3,7                                  | 5,9       | 2,3       | 0,47      | 3,1          |
| <i>Pseudomonas spp</i>  | 6,40                                 | 5,5       | 1,90      | 0,94      | 3,7          |
| <i>S maltophilia</i>  | 0,9                                  | 0,84      | 0         | 0,94      | 0,68         |
| <i>Haemophilus influenza beta lactamasa (-)</i>               | 0                                    | 0         | 0         | 1,88      | 0,45         |
| <i>Candida albicans</i>                                       | 1,83                                 | 2,1       | 3,8       | 2,83      | 2,62         |
| <i>Aspergillus fumigatus</i>                                  | 0                                    | 0         | 0,4       | 0,47      | 0,22         |

| Sujetos NOFQ  | Número de muestras por grupo de edad |           |           |           |              |
|---|--------------------------------------|-----------|-----------|-----------|--------------|
|   | 26                                   | 20        | 26        | 32        | 104          |
| <b>Microorganismos aislados/ edad al obtener las muestras</b> | <b>12</b>                            | <b>24</b> | <b>36</b> | <b>48</b> | <b>Total</b> |
| <i>Staphylococcus aureus</i>                                  | 33,1                                 | 15        | 11,5      | 9,3       | 12,5         |
| <i>Enterobacter spp</i>                                       | 15,38                                | 0         | 0         | 6,25      | 5,76         |
| <i>Klebsiella spp</i>   | 19,23                                | 0         | 0         | 3,1       | 5,76         |
| <i>Escherichia coli</i>                                       | 7,69                                 | 5         | 0         | 0         | 2,88         |
| <i>Serratia spp.</i>  | 0                                    | 0         | 3,84      | 0         | 0,96         |
| <i>Pseudomonas spp</i>  | 3,84                                 | 5         | 0         | 3,1       | 2,88         |
| <i>S maltophilia</i>  | 3,84                                 | 0         | 0         | 0         | 0,96         |
| <i>Candida albicans</i>                                       | 0                                    | 5         | 3,84      | 0         | 1,92         |

?

El estudio de los factores de riesgo de infección hospitalaria en pacientes con infección por bacterias gramnegativas...



El aislamiento más precoz de este microorganismo fue a los 2 meses de vida. Se observó el primer aislamiento de *S. aureus* en edades entre 2 y 47 meses de edad, mediana de 5 meses.

La colonización por *S. aureus* fue antes del año de vida en el 55,5% (10/18) de los pacientes. El 77,2% (13/18) de los pacientes de la cohorte presentaron un primer aislamiento de *S. aureus* antes de los 2 años. (Figura 23)

Cuatro de los pacientes no habían tenido ningún aislamiento positivo a *S. aureus* al finalizar el período de seguimiento del estudio (4/18; 22,2%).

La adquisición de la colonización por *P. aeruginosa* fue antes de los 32 meses de vida en el 83,3% (15/18) de los pacientes, mediana de 11 meses, límites: 2-31 meses. El aislamiento más precoz de este microorganismo fue también a los 2 meses de vida. *P. aeruginosa*, pero no fue el primer microorganismo aislado en ningún paciente de la cohorte.(figura 23)

La primera colonización sucedió antes del año de vida en el 44,4%(8/18) de los pacientes FQ. Únicamente en 3/18 pacientes no se había aislado *P. aeruginosa* a los 4 años de edad.

En los cultivos de pacientes FQ, hemos observado que la colonización por *S. aureus* (mediana de 5 meses) precede a la colonización por *P. aeruginosa* (mediana de 12 meses), a pesar de hallarse cultivos positivos a ambos microorganismos en los primeros meses de vida.

En los sujetos NOFQ, el aislamiento más precoz positivo a *S. aureus*, en esta serie de pacientes, es a los 2 meses de edad. El primer aislamiento de *P. aeruginosa* se realizó en la muestra de un paciente de 7 meses de edad. Los otros aislamientos de *P. aeruginosa* fueron en dos muestras de pacientes de 18 y 38 meses. No se aisló ninguna cepa de *P. aeruginosa* mucóide en ninguno de los sujetos de la serie. No se administró tratamiento específico a ninguno de los sujetos del grupo control.

**T33** **İ ğ a b . a s n a t t s a s g d l u n a ğ t a s t**

**T333** **ñ i n a t r i t r n g i t a i c n i a i ğ**

t V p v L v d V o N t W o H o T b r T z b i o W T L T p v N e l v o N T x  
 : ( ç : 3 d L z T v o p T p z s , p d o d T p w v v i v o N T z o z o p m r à p L T V N N T p v T o N  
 d r V o o V s p r n d o N d L z o N t T v o p r T n 6 T t N v o p n ( L r N b r o N T z o z o p m r à p  
 L T V N N T p v T

z : x 2 : ç : 3 y T z o N L T p v T N L V N T p v V o p z o z o p m r à p L T V N N T p v T L o V f N  
 T p r V o o V s p r n d o L p b o L T p v T N L V N T p v V o p z o z o p m r à p L T V N N T p v T L o V W T N  
 ó N r N L T p v T N L o V o N d r V o o V s p r n d o N r e T p v T N o N L T p v T N L V N T p v V o p  
 z o z o p m r à p L T V N N T p v T L o V z d r N d o r V o o V s p r n d o T p f N T p 2 N à p e L o V  
 252. 6 L o V

r p z m d o N z o N T L r N b r o N T z o z o p m r à p L T V N N T p v T L o V s v t L o N T T  
 o N i v o d o N t T z d 6 o V F ñ ç ü . ( ü x ) 2 y N T r T v o p T z L v d T v H o T b r 6 N  
 p , d T v o r n d p t ó T t d T p v T ( y

| <i>Microorganismos/ Edad</i> | <b>1er año<br/>Nº episodios</b> | <b>2º año<br/>Nº episodios</b> | <b>3er año<br/>Nº episodios</b> | <b>Total<br/>Nº episodios</b> |
|------------------------------|---------------------------------|--------------------------------|---------------------------------|-------------------------------|
| <i>S. aureus</i>             | 7                               | 4                              | 2                               | 13                            |
| <i>E. coli</i>               | 4                               |                                |                                 | 4                             |
| <i>E. aerogenes</i>          | 2                               |                                |                                 | 2                             |
| <i>E. cloacae</i>            | 4                               |                                | 1                               | 5                             |
| <i>K. oxytoca</i>            | 2                               | 2                              |                                 | 4                             |
| <i>K. pneumoniae</i>         | 1                               |                                | 1                               | 2                             |
| <i>S. marcescens</i>         | 1                               | 1                              |                                 | 2                             |
| <i>M. organii</i>            |                                 | 1                              |                                 | 1                             |
| <i>H. influenzae</i>         | 1                               |                                |                                 | 1                             |
| <i>C. Koserii</i>            | 1                               |                                |                                 | 1                             |
|                              | 23                              | 8                              | 4                               | 35                            |

g R i n W r t à p T z o N L r N b r o N T z o z o p m r à p L T V N N T p v T p s v t L o T

z d r V o o V s p r n d o T t N z d f N e V T t T p v d T p v T t T d 252. x T p ñ ç ü z o z o p m r o p T N  
 L T V N N T p v T N T s t r o T d 6 o V F ñ ç ü x 2 y N T r T v o p T z L v d T v H o T b r 6 N

*pneumoniae* (2/35), *E. aerogenes* (2/35), *S. marcescens* (2/35) y en una ocasión cada uno, *H. influenzae*, *C. Koserii* y *M. Morganii morganii*.

*S. aureus* es el microorganismo que causa colonización persistente de la vía aérea superior en más pacientes FQ (11/18). Se han observado 13 episodios de colonización persistente en 11 pacientes. En un paciente se ha observado colonización persistente por *S. aureus* en 3 ocasiones, a los 4,15 y 30 meses de vida.

El primer episodio de colonización persistente por *S. aureus* sucedió entre los 4 y 34 meses de vida, mediana de 7,5 meses y moda 4 meses.

Cumplen criterios de colonización persistente por microorganismos de la familia *Enterobacteriaceae* 12 de los pacientes FQ. (Tabla 17) Algunos de ellos en más de una ocasión y por distintos microorganismos de esta familia. Un paciente presentó dos episodios de colonización persistente por *E. cloacae*, a los 6 y 30 meses de vida.

El primer episodio de colonización persistente por microorganismos de la familia *Enterobacteriaceae* sucedió entre el primer mes de vida y los 26 meses, mediana y moda de 7 meses.

Hemos hallado 21 episodios de colonización persistente por microorganismos de la familia *Enterobacteriaceae*: *E. cloacae* (5/18), *K. oxytoca* (4/18), *E. coli* (4/18), *K pneumoniae* (2/18), *Enterobacter aerogenes* (2/18), *S. marcescens* (2/18), *M. morganii morganii* (1/18), *Citrobacter koserii* (1/18).

Sólo se objetivó colonización persistente por *H. influenzae*, en un paciente y un solo episodio. Es importante remarcar que ningún paciente de la cohorte de pacientes afectos de FQ, con diagnóstico por cribado neonatal, presentó colonización persistente por *P. aeruginosa* durante los primeros cuatro años de vida.

| Paciente<br>(N° inclusión) | Edad de inicio de<br>colonización persistente (meses) | Microorganismo            |
|----------------------------|---|---------------------------|
| 7                          | 1   | <i>E. coli</i>            |
| 8                          | 2   | <i>E. coli</i>            |
| 15                         | 2   | <i>K. pneumoniae</i>      |
| 15                         | 3   | <i>K. oxytoca</i>         |
| 3                          | 4   | <i>S. aureus</i>          |
| 5                          | 4   | <i>S. aureus</i>          |
| 16                         | 4   | <i>S. aureus</i>          |
| 17                         | 4   | <i>K. oxytoca</i>         |
| 18                         | 4   | <i>S. aureus</i>          |
| 17                         | 5   | <i>E. cloacae</i>         |
| 6                          | 6   | <i>E. aerogenes</i>       |
| 8                          | 6   | <i>H. influenzae</i>      |
| 9                          | 6   | <i>E. cloacae</i>         |
| 12                         | 6   | <i>S aureus</i>           |
| 2                          | 7   | <i>E. aerogenes</i>       |
| 11                         | 7   | <i>E. cloacae</i>         |
| 14                         | 7   | <i>S. aureus</i>          |
| 18                         | 7   | <i>E. coli</i>            |
| 3                          | 8   | <i>E. coli</i>            |
| 9                          | 8   | <i>S. aureus</i>          |
| 18                         | 8   | <i>E. cloacae</i>         |
| 2                          | 10  | <i>Citobacter koserii</i> |
| 7                          | 10  | <i>S. marcescens</i>      |
| 1                          | 12  | <i>K. oxytoca</i>         |
| 9                          | 14  | <i>K. oxytoca</i>         |
| 3                          | 15  | <i>S. aureus</i>          |
| 6                          | 16  | <i>S. aureus</i>          |
| 17                         | 17  | <i>S. marcescens</i>      |
| 3                          | 18  | <i>M. morgani</i>         |
| 10                         | 19  | <i>S. aureus</i>          |
| 8                          | 22  | <i>S. aureus</i>          |
| 16                         | 26  | <i>K. pneumoniae</i>      |
| 3                          | 30  | <i>S. aureus</i>          |
| 9                          | 30  | <i>E. cloacae</i>         |
| 1                          | 34  | <i>S. aureus</i>          |
| 4                          | n.a   | n.a                       |
| 13                         | n.a   | n.a                       |

?

g2487ozopm22àp1TVN1Tpv127 2 2 Tpr1o1 r2VooVs2prNd o1d Lz22 o2

?

T3G3 222 2as2t 2i a 2i g a b22 . a 2222n 2a 2222nt tsas22a 2i a 2 . a 222g2

r 2i i n22a tr i r ng 222i 322n22s22nt s 22t 322ai s ni 32

?

2oN2 oN122Tpv1N1t Tpo1VTN1pv2Vop2Mv1VoN2 T2ozopm22àp222V1Vr2p21TVN1Tpv1T2  
L2M22pps, p2d r2VooVs 2prNd o2T2Tz2LTVG o2 T2N1st rd r1Pwo2v1P2Tz2Nst r1Pv1T2

sTpovLoeüü 3 Tz: ñi ñüü 3 Tz: QF 2172L Vrd TVo 2NpN e2TpvT1L 2p 2Vf vrüü 6  
 TzNst p oN e2TpvT1

227ozopm22àpL TVNNTpvT2 T22b 227gVT1N LTvroVLoVrd 2522. 2N2pr2à 2pvT2oN 2  
 ó2zoN2ñ 20d T r2p22 T2) xi2d TNIN22oN2L22TpvTN2ut T2LVIN2pv2Vop22ozopm22àp2  
 LTVNNTpvT2LoVrd 2522. 2N2d t TNV2p2Tp 222v2222 3 22àzo2t p2L 22TpvT2LVIN2pv2à 2  
 2MvTVroN2 T2ozopm22àpL TVNNTpvT2LoVrd 2522. 2p2d f N2 T2 p2o 22Nàp12

?

| <i>S. aureus</i> |                   |   |  |
|------------------|-------------------|---|--|
| Nº Inclusión     | Mutaciones        | Edad de la colonización Persistente (meses) | Fecha de inicio de la Colonización persistente |
| 1                | F508del/G542X     | 34  | julio-02                                       |
| 3                | I507del/1677delTA | 4<br>15<br>30                               | abril-01<br>marzo-02<br>junio-03               |
| 5                | F508del/E92K      | 4   | julio-01                                       |
| 6                | F508del/F508del   | 16  | agosto-02                                      |
| 8                | F508del/296+3insT | 22  | junio-04                                       |
| 9                | F508del/R347P     | 8   | setembre-03                                    |
| 10               | N1303K/334W       | 19  | diciembre-04                                   |
| 12               | F508del/F508del   | 6   | febrero-04                                     |
| 14               | F508del/F508del   | 7   | marzo-05                                       |
| 16               | G542X/L206W       | 4   | mayo-05  |
| 18               | F508del/N1303K    | 4   | julio-05                                       |

?

222g24M2ozopm22àpL TVNNTpvT2LoVrd 2522. 2N2TpvT2 2 62N2 22 T2pr2o 2  
 2t 2VoL 22TpvTN2t d LzTp 2MvTVroN2 T2ozopm22àpL TVNNTpvT2LoVrd 2522 222222222222222222  
 : Qy22N22N2pr2à 2pvT2zoN2üü 6ñi 2d TNIN22p2L 22TpvT2LVIN2pv2à 22ozopm22àp2  
 LTVNNTpvT2LoVrd 2N2d r2VooVs 2prNd o2Tp2 oN2 22NopTN2

?

| <i>E. cloacae</i> |                |   |  |
|-------------------|----------------|---|--|
| Nº Inclusión      | Mutaciones     | Edad de la colonización Persistente (meses) | Fecha de inicio de la Colonización persistente |
| 9                 | F508del/R347P  | 6<br>30                                     | julio-03<br>julio-05                           |
| 11                | N1303K/L206W   | 7   | diciembre-03                                   |
| 17                | F508del/G85V   | 5   | junio-05                                       |
| 18                | F508del/N1303K | 8   | octubre-05                                     |

?

222g24A2ozopm22àpL TVNNTpvT2LoVrd 2522. 2N2TpvT2 2 62N2 22 T2pr2o 2  
 2



El presente trabajo de tesis tiene como objetivo principal determinar la diversidad genética de las cepas de *K. oxytoca* que colonizan persistentemente el tracto gastrointestinal humano, a partir de la identificación de mutaciones específicas en el gen *hlyE* que confieren resistencia a la lisis por parte de bacteriófagos.

| <i>K. oxytoca</i> |                 |   |  |
|-------------------|-----------------|---|--|
| Nº Inclusión      | Mutaciones      | Edad de la colonización Persistente (meses) | Fecha de inicio de la Colonización persistente |
| 1                 | F508del/G542X   | 12  | noviembre-00                                   |
| 9                 | F508del/R347P   | 14  | marzo-04                                       |
| 15                | F508del/f508del | 3   | enero-06                                       |
| 17                | F508del/G85V    | 4   | mayo-05  |

El presente trabajo de tesis tiene como objetivo principal determinar la diversidad genética de las cepas de *E. coli* que colonizan persistentemente el tracto gastrointestinal humano, a partir de la identificación de mutaciones específicas en el gen *hlyE* que confieren resistencia a la lisis por parte de bacteriófagos.

El presente trabajo de tesis tiene como objetivo principal determinar la diversidad genética de las cepas de *E. coli* que colonizan persistentemente el tracto gastrointestinal humano, a partir de la identificación de mutaciones específicas en el gen *hlyE* que confieren resistencia a la lisis por parte de bacteriófagos.

| <i>E. coli</i> |                   |   |  |
|----------------|-------------------|---|--|
| Nº Inclusión   | Mutaciones        | Edad de la colonización Persistente (meses) | Fecha de inicio de la Colonización persistente |
| 3              | I507del/1677delTA | 8   | agosto-01                                      |
| 7              | F508del/F508del   | 1   | enero-02                                       |
| 8              | F508del/296+3insT | 2   | octubre-02                                     |
| 18             | F508del/N1303K    | 7   | setiembre-05                                   |

El presente trabajo de tesis tiene como objetivo principal determinar la diversidad genética de las cepas de *E. coli* que colonizan persistentemente el tracto gastrointestinal humano, a partir de la identificación de mutaciones específicas en el gen *hlyE* que confieren resistencia a la lisis por parte de bacteriófagos.

El presente trabajo de tesis tiene como objetivo principal determinar la diversidad genética de las cepas de *E. coli* que colonizan persistentemente el tracto gastrointestinal humano, a partir de la identificación de mutaciones específicas en el gen *hlyE* que confieren resistencia a la lisis por parte de bacteriófagos.

El presente trabajo de tesis tiene como objetivo principal determinar la diversidad genética de las cepas de *E. coli* que colonizan persistentemente el tracto gastrointestinal humano, a partir de la identificación de mutaciones específicas en el gen *hlyE* que confieren resistencia a la lisis por parte de bacteriófagos.

**T33** *gdi g . a n g a c i g a b . a s n a g d l un*

*g t m a s t*

?

TNT r o V z à p T b V z z i N T b o z à p p r o p o z o p m à p  
 LoV 252. o 252 ? ? d o T d o N b z t o N p e t ó T p p à p l t z d o p M  
 Lt p v à p T z o V r b e u t n à p b o T o z o p m à p L o V i p o T i N o N  
 d r V o o V s p n d o N t V p v T z L T V o o T N i s t r d r T p w x u t n à p T o z o p m à p  
 LoV 252. o 252 ? ? p v i N T z H o T b r o o z o p m à p L T V N T p v T L o V i  
 252. I

?

**T334** *í a . a í g r i a n c i g a b . a s n a*

?

T V T z m à T N L r V o d T W o V n T p o o N z o N p r H o N T z o i o W T T T T p à t T N T  
 i m o t T T p w T z o N j b z o N j H o N o d T r T x Q H o N y i o N L T p v i N T d f N T  
 i r T V o p z z L V r d T V T N L r V o d T W o d f N d o V i N o H o N y i p o T z o N L T p v i N T T  
 d T p o V T p o s V a p L L T T T T à p à p l t z d o p M L V z z i x o N T c t o à T T N T  
 p f z n N T  
 T T à p à p l t z d o p M T w o o N z o N L T p v i N T T z z o i o W T T N T T p w o T z o N  
 L M d T W o N T p o V d z r d o N W p o T T T : r s t z o N L T V r o V z z i 2 T z b z o V  
 T N L T V o L o V z z z x c i L à p T i p p r H o T b v t b r V o p b z o V i N T T T T : T p w T z  
 ) ) 2 ã ñ 2 d d T r T T i i x 2 y i o N L T p v i N T o z o p m o N b o o z o p m o N L o V  
 252. p o d t T N W p r e i V T p z N V i N T z o T T à p à p l t z d o p M T c L V i N T d T r p v T  
 T z L o V T p v d a T T T T : T T z z N F x F j o F ( y T T o N i V o p b z o V i N d T a o V i N T T T T : T p z o N  
 L T p v i N t T T ut r V T V o p z z o z o p m à p L o V 252 ? ? 200 z z z F ñ y t V p v T z  
 L T V o o T p T N t r o L i i i ( y L T V o p o N i z z p r e i V T p z N T N o N r d d T p v T  
 N s p r a r b z N N T N V r d T V z o z o p m à p t b o z s M b o t V p v T z L V r d T V H o T  
 b r I O z z z F ü y

| Colonización por <i>S. aureus</i> | FEV <sub>1</sub> media | d.t  | FEV <sub>1</sub> mediana | p <sup>25-75</sup> | p (U Mann-Whitney) |
|-----------------------------------|------------------------|------|--------------------------|--------------------|--------------------|
| No (N= 4)                         | 93.0                   | 10.3 | 94                       | (82.5; 102.5)      | 0.412              |
| Sí (N= 13)                        | 103                    | 17,2 | 100                      | (101; 116)         |                    |

g 5 5 3 o V T p v d a T T T : o z o p m à p L o V 252. ?

| Colonización por <i>P. aeruginosa</i> | FEV <sub>1</sub> media | d.t  | FEV <sub>1</sub> mediana | p <sup>25-75</sup> | p (U Mann-Whitney) |
|---------------------------------------|------------------------|------|--------------------------|--------------------|--------------------|
| No (N= 3 )                            | 82                     | 6.2  | 80                       | (77; -)            | p 0.006            |
| Sí (N= 14)                            | 104.6                  | 14.8 | 101.5                    | (95; 118)          |                    |

Figura 56. No colonización por *P. aeruginosa* en el momento de diagnóstico.

| Colonización por <i>S. aureus</i> antes de los 12 meses | FEV <sub>1</sub> media | d.t  | FEV <sub>1</sub> mediana | p <sup>25-75</sup> | p (U Mann-Whitney) |
|---|------------------------|------|--------------------------|--------------------|--------------------|
| No (N= 8)   | 103.1                  | 17.4 | 99                       | (91.5; 119)        | 0.673              |
| Sí (N= 9)   | 98.4                   | 15.8 | 100                      | (84.5; 110)        |                    |

Figura 57. No colonización por *S. aureus* antes de los 12 meses de vida.

| Colonización por <i>P. aeruginosa</i> antes de los 12 meses | FEV <sub>1</sub> media | d.t  | FEV <sub>1</sub> mediana | p <sup>25-75</sup> | p (U Mann-Whitney) |
|---|------------------------|------|--------------------------|--------------------|--------------------|
| No (N= 8)   | 100.3                  | 18.6 | 102                      | (82,2; 113)        | 0.963              |
| Sí (N= 9)   | 100.8                  | 14.9 | 98                       | (91; 113,5)        |                    |

Figura 58. No colonización por *P. aeruginosa* antes de los 12 meses de vida.

| Colonización persistente por <i>S. aureus</i> | FEV <sub>1</sub> media | d.t  | FEV <sub>1</sub> mediana | p <sup>25-75</sup> | p (U Mann-Whitney) |
|---|------------------------|------|--------------------------|--------------------|--------------------|
| No (N= 7)                                     | 96.1                   | 15.5 | 96                       | (80.0;104.0)       | p 0.364            |
| Sí (N= 10)                                    | 103.8                  | 16.7 | 101.5                    | (91.25; 118)       |                    |

Figura 59. No colonización persistente por *S. aureus* antes de los 12 meses de vida.

## 1.02. Descripción de los resultados de la investigación. antecedentes

En el presente estudio se ha realizado un análisis de los datos de los pacientes que han sido diagnosticados con enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC) en el momento de diagnóstico. Se han considerado los datos de los pacientes que han sido diagnosticados con EPOC en el momento de diagnóstico y se han comparado los resultados de los pacientes que han sido diagnosticados con EPOC en el momento de diagnóstico con los resultados de los pacientes que han sido diagnosticados con EPOC en el momento de diagnóstico.

El p-valor de la prueba de hipótesis de independencia de los factores de riesgo y la presencia de colonización por *S. aureus* en el momento de la cirugía es de 0,327.

El p-valor de la prueba de hipótesis de independencia de los factores de riesgo y la presencia de colonización por *S. aureus* en el momento de la cirugía es de 0,327.

?

| Colonización por <i>S. aureus</i> | Puntuación TCAR (media) | d.t | Puntuación TCAR (mediana) | p <sup>25-75</sup> | p (U Mann-Whitney) |
|-----------------------------------|-------------------------|-----|---------------------------|--------------------|--------------------|
| No (N= 4)                         | 6,5                     | 1,9 | 7                         | (4,5; 8)           | 0.327              |
| Si (N= 14)                        | 5,1                     | 3,2 | 4                         | (2; 8)             |                    |

?

El p-valor de la prueba de hipótesis de independencia de los factores de riesgo y la presencia de colonización por *S. aureus* en el momento de la cirugía es de 0,327.

?

| Índice de gravedad | Índice de gravedad |     | Índice de gravedad | Prueba de hipótesis | Prueba de hipótesis |
|--------------------|--------------------|-----|--------------------|---------------------|---------------------|
| Índice de gravedad | J                  | ñj  | F                  | OF·Ej               | índice de gravedad  |
| Índice de gravedad | üj                 | FxQ | J                  | Oj·Ej               |                     |

?

El p-valor de la prueba de hipótesis de independencia de los factores de riesgo y la presencia de colonización por *S. aureus* en el momento de la cirugía es de 0,515.

?

| Colonización por <i>S. aureus</i> antes de los 12 meses | Puntuación TCAR media | d.t | Puntuación TCAR mediana | p <sup>25-75</sup> | p (U Mann-Whitney) |
|---|-----------------------|-----|-------------------------|--------------------|--------------------|
| No (N= 8)   | 6                     | 3.2 | 5                       | (4; 8)             | 0.515              |
| Si (N= 10)  | 5                     | 2.8 | 4                       | (2; 8)             |                    |

El p-valor de la prueba de hipótesis de independencia de los factores de riesgo y la presencia de colonización por *S. aureus* en el momento de la cirugía es de 0,515.

?

| Colonización por <i>P. aeruginosa</i> antes de los 12 meses | Puntuación TCAR media | d.t | Puntuación TCAR mediana | p <sup>25-75</sup> | p (U Mann-Whitney) |
|---|-----------------------|-----|-------------------------|--------------------|--------------------|
| No (N= 9)   | 4.8                   | 2.6 | 4                       | (2; 8)             | 0.489              |
| Si (N= 9)   | 6                     | 3.3 | 4                       | (4; 9)             |                    |

El p-valor de la prueba de hipótesis de independencia de los factores de riesgo y la presencia de colonización por *P. aeruginosa* en el momento de la cirugía es de 0,489.

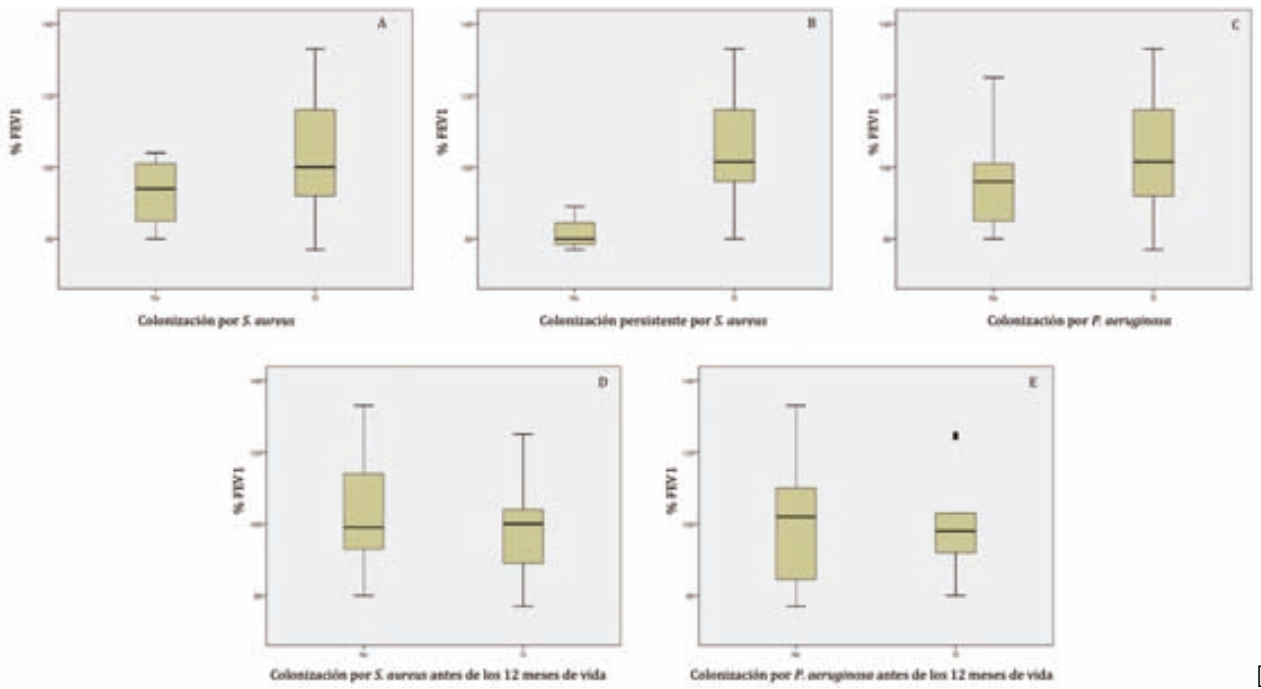
| Colonización persistente por <i>S. aureus</i> | Puntuación TCAR media | d.t | Puntuación TCAR mediana | p <sup>25-75</sup> | p (U Mann-Whitney) |
|---|-----------------------|-----|-------------------------|--------------------|--------------------|
| No (N= 7)                                     | 4,8                   | 2,5 | 4                       | (2; 8)             | 0.596              |
| Si (N= 10)                                    | 5,8                   | 3,2 | 4                       | (4; 8)             |                    |

Figura 4. Impacto de la colonización por *S. aureus* en la puntuación TCAR.

?

Tabla 1. Características de los pacientes con colonización por *S. aureus* y *P. aeruginosa* antes de los 12 meses de vida.

?

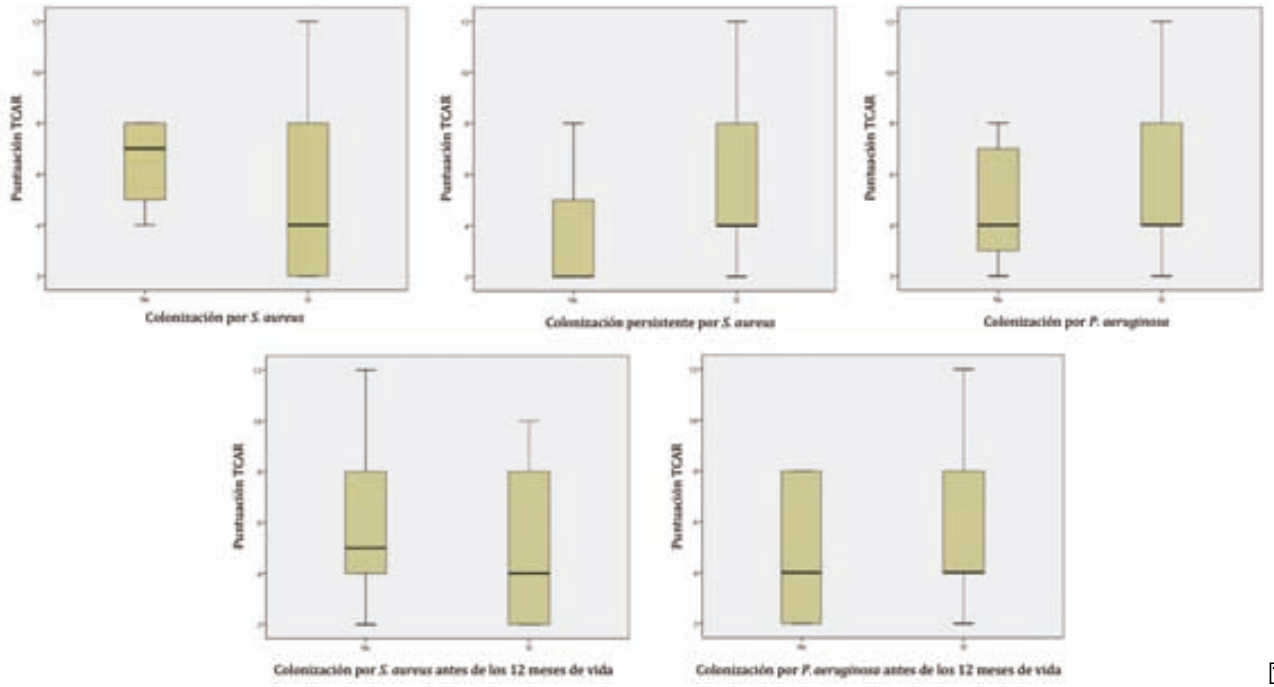


?

?

Tabla 2. Características de los pacientes con colonización por *S. aureus* y *P. aeruginosa* antes de los 12 meses de vida.

?



2

2 21 n25T37t pvt 22àp 22223 22ozpm22àp1.0V22.ç 22ozpm22àp1.0V22.2222 22







## 6 Discusión

Nuestro principal objetivo al diseñar este trabajo fue conocer los microorganismos y la cronología con que colonizaban la vía aérea de los pacientes afectos de FQ menores de 4 años. La implementación en Cataluña del programa de cribado neonatal nos ofrecía una oportunidad única para realizar este estudio longitudinal. Comparamos nuestros resultados con una población de niños no afectos de FQ de las mismas edades, que analizamos en un estudio transversal. Conocer la colonización bacteriana de la vía aérea de estas dos poblaciones en nuestra área es interesante porque se han descrito variaciones geográficas<sup>67</sup>.

Este estudio muestra datos de la microbiología de la vía aérea de los sujetos NOFQ menores de 4 años, comparables a los obtenidos en la población FQ porque se ha utilizado la misma técnica de obtención de muestras y los mismos medios de cultivo que en las muestras procesadas de los pacientes FQ. Se ha logrado una muestra homogénea de seguimiento de 4 años en cada uno de los pacientes FQ incluidos y un elevado número de muestras por paciente que ha permitido observar una cronología en la adquisición de la colonización por los distintos microorganismos implicados. Homogeneizar la edad de ambos grupos hace posible comparar los cultivos microbiológicos a lo largo de los primeros cuatro años de vida en cada uno de los grupos y entre ambos.

Hemos comprobado que los patógenos relacionados clásicamente con FQ, *S. aureus* y *P. aeruginosa*, pueden aislarse también en la orofaringe de niños no afectos de FQ.

Denominamos pacientes FQ a los niños de nuestra cohorte, y sujetos NOFQ a todos los niños incluidos en el grupo control. Se escogió el término sujetos NOFQ para indicar que no son pacientes afectos de la enfermedad en estudio.

Los 18 pacientes FQ de la cohorte cumplen los criterios diagnósticos de la enfermedad, clínico y molecular. En el estudio genético se han identificado 12 mutaciones *CFTR* que evidencian la alta heterogeneidad molecular observada en el área mediterránea y especialmente en España.

Detectamos F508del en el 52,7% de los alelos de nuestros pacientes FQ, muy similar a la frecuencia hallada por Alonso<sup>19</sup>. Este autor estudia la frecuencia de mutaciones en una población española de 1.954 pacientes y halla un 51,74% de F508del. Las siguientes mutaciones en frecuencia que detectan son G542X (7,69%) y N1303K (2,92%). En nuestra cohorte estas frecuencias difieren y la segunda mutación observada en nuestra población es N1303K (11%). De todos los pacientes diagnosticados por cribado neonatal en este período, sólo una de las 36 mutaciones detectadas no está incluida en el estudio genético inicial del programa de cribado neonatal de la Generalitat de Cataluña.

Hemos obtenido 877 muestras para cultivo microbiológico de la vía aérea superior de 18 pacientes FQ a lo largo de 4 años y otras 104 muestras de sujetos NOFQ, una por cada individuo, en un estudio transversal.

Los datos de prevalencia de colonización bacteriana en pacientes FQ son difíciles de comparar con los resultados publicados porque, a diferencia de la mayoría de trabajos, el nuestro es un estudio longitudinal de una cohorte pacientes de los que se obtienen numerosas muestras para cultivo.

En los pacientes FQ fueron positivos el 43,2% de los cultivos cursados. En la muestra de sujetos NOFQ, fueron positivos el 30,7% de ellos. En ambos grupos se describen cultivos polimicrobianos; otros estudios realizados en distintas épocas y a diferentes edades también describen cultivos polimicrobianos en pacientes FQ y en sujetos NOFQ<sup>48,49,56,70,71</sup>.

La prevalencia de cultivos positivos a bacterias o a hongos y el número de aislamientos bacterianos en la cohorte de pacientes FQ es mayor que en los sujetos NOFQ, con diferencias estadísticamente significativas. No obstante, las especies aisladas en ambos grupos son las mismas, con pequeñas diferencias que no se muestran estadísticamente significativas para ninguna de las especies.

Uno de los pocos trabajos publicados recientemente que compara ambas poblaciones es el estudio de Carlson, aunque sólo incluye pacientes menores de un año, también observa que las especies más prevalentes son las mismas en pacientes FQ y sujetos NOFQ<sup>48</sup>.

La actividad mucociliar es una de las principales barreras del tracto respiratorio frente a los microorganismos. La hiperviscosidad de las secreciones, la disminución del volumen de agua periciliar, el acúmulo de mucina intraluminal, el aumento de adherencia de determinados microorganismos al epitelio respiratorio de los pacientes FQ y la inhibición de determinados componentes de la inmunidad innata, facilitan la colonización por microorganismos en la vía aérea de estos pacientes y dificultan el aclaramiento de estos microorganismos de su vía aérea, tal y como sucedería en un sujeto sano<sup>25,26</sup>. La prevalencia más elevada de cultivos positivos en el grupo de pacientes FQ refleja la dificultad en la eliminación de los microorganismos de la vía aérea y está indicando también colonización persistente por determinados agentes.

La colonización de la vía aérea superior de nuestros pacientes sucede en edades tempranas<sup>43,48</sup>. Destaca la elevada prevalencia de cultivos positivos en ambos grupos los primeros tres meses de vida, 65% en pacientes FQ frente a 66,6% en sujetos NOFQ. En nuestro estudio la prevalencia de cultivos positivos disminuye en relación a la edad, pero los sujetos NOFQ presentan una caída porcentual mucho mayor que los pacientes FQ, mostrando una diferencia estadísticamente significativa.

*S. aureus* fue el microorganismo más prevalente en las muestras de AOF en nuestra cohorte de pacientes FQ durante los 4 años de seguimiento (17,2% del total de cultivos cursados). En los pacientes FQ menores de 10 años, *S. aureus* se ha considerado siempre el microorganismo más prevalente, precedido o no de otras colonizaciones como *S. pneumoniae* o *H. influenzae*.<sup>62,49,56,5</sup>.

En nuestro estudio las enterobacterias en su conjunto fueron los microorganismos más prevalentes, representando el 29,1% de los aislamientos de pacientes FQ; *E. coli* se ha descrito como la enterobacteria más frecuente aislada en menores de 5 años<sup>56,62</sup>. Un estudio clásico encuentra hasta un 23% de aislamientos de *E. coli* en pacientes FQ menores de dos años<sup>62</sup>. En nuestra cohorte hallamos con frecuencias similares *Klebsiella* spp. (11%), *Enterobacter* spp. (13,76%) y *E. coli* (12,8%) el primer año de vida, disminuyendo con la edad, especialmente *E. coli* que se aísla en un 1,9% de los cultivos cursados el cuarto año de vida.

En los pacientes FQ de nuestra cohorte la prevalencia de aislamientos de *S. aureus* fue inferior a la de aislamientos de microorganismos de la familia *Enterobacteriaceae* durante los tres primeros años de vida. El primer año predomina *Enterobacter* spp. (13,76%), seguido de *S. aureus* (12,38%), *E. coli* (12,8%) y *Pseudomonas* spp. (6,4%) . El segundo año, *S. aureus* representa 19% de los aislamientos, pero siguen predominando los microorganismos de la familia *Enterobacteriaceae*. Se igualan el tercer año, y a partir de los 36 meses de vida la prevalencia de aislamientos de *S. aureus* supera a los aislamientos de enterobacterias.

Nuestros resultados del primer año de vida son comparables a los publicados por Carlson en Massachusetts y Ferrer del Hospital de la Vall d'Hebrón de Barcelona<sup>48,55</sup>. Pero a diferencia de nuestros datos, Ferrer<sup>55</sup> halla que el microorganismo más prevalente a partir del segundo año de vida es *P. aeruginosa*. En nuestra cohorte de pacientes, *P. aeruginosa* nunca fue el microorganismo predominante durante los primeros 4 años de vida.

Se ha descrito clásicamente que la colonización de la vía aérea por *S. aureus* precede a la de *P. aeruginosa* en los pacientes FQ, considerándose la colonización por *S. aureus* factor predisponente para la adquisición de *P. aeruginosa*<sup>80</sup>. En nuestra cohorte hemos aislado *S. aureus* y *P. aeruginosa* en la mayoría de pacientes, independientemente de qué microorganismo colonizó primero, si bien es cierto que la mediana de edad de colonización por *S. aureus* (5 meses) es menor que la hallada para *P. aeruginosa* (12 meses). A los 4 años de vida cuatro pacientes FQ no estaban colonizados por *S. aureus* y tres no estaban colonizados por *P. aeruginosa*.

En la mayoría de estudios *H. Influenzae* es el tercer microorganismo aislado en frecuencia y se describen colonizaciones de hasta el 30% de los pacientes FQ<sup>48,55,56,62</sup>. Estos datos difieren de los nuestros: no aislamos *H. influenzae* en ningún sujeto NOFQ y sólo de modo anecdótico en un paciente FQ; todos los aislamientos (4/877; 0,45%) corresponden al mismo paciente y ocurrieron durante su cuarto año de vida.

Los estudios acerca de la adquisición de colonización por *P. aeruginosa* en pacientes FQ son difíciles de comparar debido a las diferencias metodológicas.

El 83,3% de los 18 pacientes de nuestra cohorte presentaron un primer cultivo positivo a *P. aeruginosa* antes de los 32 meses de vida, mediana de 11 meses (2-31 meses), mayor prevalencia que la hallada en otros estudios previos como el de Douglas<sup>81</sup> y con una mediana de edad más temprana; este autor observa colonización por *P. aeruginosa* sólo en el 27% en muestras recogidas mediante BAL de 77 pacientes diagnosticados por cribado neonatal y la mediana de edad del primer aislamiento es 26,1 meses. Los resultados discrepan probablemente por diferencias metodológicas: nuestros pacientes son de menor edad que los pacientes de la cohorte de Douglas, obtenemos un mayor número de muestras por paciente y durante un período de tiempo más prolongado: 1 BAL/paciente/año en el estudio de Douglas frente a 12,23 AOF/paciente/año en nuestra población en estudio. Al final del período de seguimiento, Douglas obtiene una mediana de 3 muestras por paciente y nosotros de 48,7 muestras por paciente.

Nuestros resultados globales de prevalencia de *P. aeruginosa* se asemejan más a los de Burns<sup>43</sup>, a pesar de ser pacientes no diagnosticados por cribado neonatal, las muestras para cultivo son también orofaríngeas y aíslan *P. aeruginosa* en el 72,5% de los pacientes.

Douglas observa que el primer BAL es positivo a *P. aeruginosa* en 3 de 21 pacientes, a los 3 y 7 meses de edad<sup>81</sup>. En nuestra cohorte identificamos *P. aeruginosa* en muestras de AOF de dos pacientes menores de 3 meses, aunque en todos ellos se hallaron previamente otros microorganismos.

La adquisición de la colonización por *P. aeruginosa* sucedió en el 44,4% durante el primer año de vida, en el 27,7% en el segundo, sólo un 11% durante el tercer año y ninguno el cuarto año. Nuestros datos de adquisición de la colonización por *P. aeruginosa* durante el primer año de vida son superponibles a los descritos por Carlson<sup>48</sup>, que incluye sólo pacientes menores de un año y aísla *P. aeruginosa* en el 45% de sus 20 pacientes, al menos en una ocasión, en este período. En este estudio obtuvieron, como nosotros, muestras orofaríngeas seriadas aunque fueron trimestrales en lugar de mensuales.

En contraposición a los estudios publicados acerca de la prevalencia de *P. aeruginosa*, en nuestra cohorte ésta disminuye al aumentar la edad. En nuestros pacientes FQ se aísla *P. aeruginosa* en el 6,4% de los cultivos realizados en menores de un año y su prevalencia disminuye con la edad hasta el 0,94% en el cuarto año de vida. En la literatura consultada, *P. aeruginosa* aumenta su prevalencia con la edad, incluso durante los primeros cinco años de vida e independientemente del método de obtención de las muestras y de si los pacientes están diagnosticados o no por cribado neonatal<sup>5,43,49,55,56,62</sup>. Consideramos que las diferencias podrían deberse a que son datos previos a la aplicación de los protocolos de erradicación de *P. aeruginosa* iniciados en la última década<sup>44</sup>. Su erradicación reduciría el número de cultivos positivos repetidos a este microorganismo en un mismo paciente. En nuestra cohorte no hallamos ninguna colonización persistente por *P. aeruginosa* ni se aisló ninguna cepa de *P. aeruginosa* mucoide. De hecho, desde la implantación del programa de cribado en Cataluña no se ha comunicado ninguna colonización crónica por *P. aeruginosa*, ni cepas de *P. aeruginosa* mucoide en ninguno de los pacientes diagnosticados por cribado neonatal, en el momento de finalizar la recogida de datos<sup>1</sup>.

Nuestros resultados indican que microorganismos clásicamente relacionados con FQ, como *S. aureus* o *P. aeruginosa*, se hallan también en la orofaringe de sujetos NOFQ desde los primeros meses de vida.

Existen pocos trabajos que estudien la colonización bacteriana de la vía aérea de sujetos NOFQ, la mayoría son publicaciones de los años 80 y 90, y no están diseñadas con el objetivo de compararse con la población de pacientes FQ por este motivo el proceso de las muestras es distinto, no incluye medios de cultivo para BGN y/o estudia otras poblaciones como neonatos sanos, lactantes pequeños o pacientes ingresados en unidades de cuidados intensivos neonatales<sup>66,70,71,82</sup>.

En nuestro estudio *S. aureus* fue el microorganismo aislado con mayor frecuencia en sujetos NOFQ (12,5%); un 33,3% de aislamientos son de este microorganismo en menores de un año. Un estudio reciente<sup>82</sup> en sujetos NOFQ halla una prevalencia menor de *S. aureus* (13%), pero se trata de un corte transversal a los 12 meses de vida y nuestro porcentaje de aislamientos de *S. aureus* hace referencia a todos los

sujetos de 1 a 12 meses. Nuestros datos se asemejan más a los publicados por Carlson<sup>48</sup> (27,7% de aislamientos de *S. aureus* en este período) que obtiene también muestras orofaríngeas de sujetos NOFQ con edades desde el nacimiento hasta el año. La prevalencia de cultivos positivos a *S. aureus*, también disminuye con la edad en los sujetos NOFQ, aunque siguen aislándose durante el cuarto año de vida.

La mayoría de los microorganismos aislados en la muestra de pacientes NOFQ son BGN (22,1%). Las enterobacterias en su conjunto fueron los microorganismos más prevalentes, representando el 18,2% de los aislamientos en pacientes NOFQ menores de 4 años.

Uno de los pocos estudios diseñados con el objetivo de evaluar la flora orofaríngea de lactantes sanos utilizando medios de cultivo para BGN<sup>68</sup>, describe que a los 6 meses de vida un 69% de los niños han presentado como mínimo un cultivo positivo a BGN. Esta cifra es incluso superior al 56,25% de aislamientos de BGN que obtenemos en los sujetos de nuestra serie en este grupo de edad. Otro estudio<sup>82</sup> publicado el mismo año, en muestras recogidas de nasofaringe se obtienen un 24% de BGN y sólo un 2,2% de enterobacterias en pacientes sanos menores de 6 meses

Nuestros datos respecto al primer año de vida de los sujetos NOFQ son similares a los de Carlson<sup>48</sup>, que evidencia un predominio de BGN (56,6%), en su mayoría enterobacterias (31,2%) como *E. coli* (10,8%), *E. cloacae* (10,8%) o *Klebsiella* spp. (9,6%).

Sorprende el aislamiento de *P. aeruginosa* en las muestras orofaríngeas de sujetos NOFQ, incluso en lactantes. Previamente, únicamente Carlson<sup>48</sup> había comunicado unos resultados similares: aisló *P. aeruginosa* en un 3,6% de los cultivos efectuados en menores de 12 meses, equivalente a nuestro porcentaje del 3,8% en la población de sujetos NOFQ menores de un año.

Cronológicamente el aislamiento de BGN, principalmente enterobacterias, es el más frecuente en los primeros meses de vida. Estos microorganismos se comportan como colonizadores transitorios de la vía aérea superior de los sujetos sanos, especialmente las primeras semanas de vida<sup>67,83</sup>.

Posteriormente la prevalencia de BGN en la vía aérea superior de los sujetos NOFQ disminuye espectacularmente. Un estudio clásico de Barrie<sup>72</sup>, diseñado para conocer específicamente la presencia de *E. coli* en la vía aérea superior de pacientes sanos, describe un pico de aislamientos de *E. coli* las primeras semanas de vida y una prevalencia de un 13 % el segundo año de vida. En nuestra serie de sujetos NOFQ no aislamos *E. coli* en mayores de 18 meses.

*H. influenzae* se describe con frecuencia en sujetos NOFQ el primer año de vida<sup>48,70,71</sup>. Se ha publicado una prevalencia de hasta el 80% de aislamientos de *H. influenzae* en niños sanos menores de tres años<sup>70</sup>. En este estudio en concreto sólo utilizan agar-sangre y agar-chocolate favoreciendo, el aislamiento de los microorganismos aislados. Nosotros no encontramos *H. influenzae* en ninguna muestra del grupo control, ni el primer año de vida ni posteriormente, a pesar de sembrar las muestras en los medios de cultivo apropiados.

El 88,9% de los pacientes de nuestra cohorte presenta criterios de colonización persistente de la vía aérea superior por algún microorganismo durante los primeros cuatro años de vida.

En nuestros pacientes, la mayoría de colonizaciones persistentes fueron por enterobacterias (21/35 episodios) o por *S. aureus* (13/35), como era esperable porque son las bacterias que se aíslan con mayor frecuencia en la población FQ y la NOFQ.

La presencia de enterobacterias en la orofaringe de pacientes sanos se ha descrito como transitoria. Un estudio clásico, e irreplicable por razones éticas, con adultos voluntarios sanos demuestra un rápido aclaramiento orofaríngeo, en menos de 3 horas, de suspensiones radiomarcadas de *K. pneumoniae*, *Proteus mirabilis* y *E. coli* introducidos en la cavidad oral<sup>83</sup>. Este rápido aclaramiento de la mucosa orofaríngea, junto a los mecanismos innatos locales de defensa, haría que estos microorganismos fueran temporales. Tal vez estos mecanismos son extrapolables al resto de microorganismos que pueden colonizar la vía aérea superior. En el paciente afecto de FQ los mecanismos de aclaramiento mucociliar están alterados, además presentan un aumento de adherencia de determinados BGN a las células del epitelio respiratorio.



Estos factores podrían ser causa de que los pacientes afectados de FQ sean colonizados crónicamente por estas bacterias<sup>25</sup>.

Es importante resaltar que no se ha observado colonización persistente por *P. aeruginosa* en ningún paciente FQ de nuestra cohorte antes de los 4 años de edad. Estos datos coinciden con los publicados del "grupo de trabajo de FQ de la SENP"<sup>1</sup>. Podría atribuirse este éxito a la aplicación del programa de cribado neonatal, pero algunos grupos, como Douglas, sí refieren aislamiento temprano de cepas mucoides de *P. aeruginosa* en pacientes FQ diagnosticados por cribado neonatal. A diferencia de nuestros pacientes, la media de edad de sus pacientes es mayor y sólo tienen una muestra anual de BAL<sup>81</sup>.

Pensamos que en nuestros pacientes FQ la obtención de muestras orofaríngeas mensuales de rutina facilita la detección de *P. aeruginosa* y por tanto su tratamiento y erradicación. Las muestras orofaríngeas para cultivo microbiológico tienen una elevada sensibilidad y un VPN del 85-95%<sup>44</sup>.

La ausencia de colonización persistente y de cepas mucoides de *P. aeruginosa* en nuestra cohorte podríamos atribuirla a varios motivos: la implementación del programa de cribado neonatal adelantando el diagnóstico, las recomendaciones de las sociedades científicas de realizar cultivos seriados para la detección de colonización en fases asintomáticas, pero también al desarrollo de antibioterapia inhalada antipseudomonas y a la aplicación sistemática de protocolos de erradicación de la colonización por *P. aeruginosa*<sup>81,84,85</sup>.

La repercusión de la colonización crónica por *P. aeruginosa* es muy importante en el pronóstico del paciente. Las cepas de *P. aeruginosa* mucoides son prácticamente imposibles de erradicar. Por este motivo la detección de colonización por esta bacteria en la vía aérea superior es suficiente para iniciar un tratamiento específico con el objetivo de erradicarla y evitar que se transforme en cepas mucoides.

Se han publicado consensos<sup>84</sup> cuyo objetivo es clasificar a los pacientes según el estadio de colonización por *P. aeruginosa*, para establecer el tratamiento adecuado.

Actualmente no existen consensos que definan los estadios de colonización por otros microorganismos.

La evolución clínica de la enfermedad en función de la colonización bacteriana de la vía aérea la hemos evaluado mediante la función pulmonar y la tomografía computarizada torácica helicoidal de alta resolución (TCAR).

En el paciente de menor edad la realización de la técnica de espirometría forzada es complicada, a pesar de iniciar la exploración de la función pulmonar cada vez a menor edad, incluso antes de los 3 años. Hemos escogido la mejor curva de las exploraciones realizadas a partir de los 4 años. Se ha excluido un paciente que no logró una espirometría correcta. La función pulmonar de todos los pacientes de la cohorte es normal, mediana FEV1 98% del valor de referencia, como corresponde a los pacientes FQ menores de 10 años<sup>86</sup>; pero hemos observado una mejor función pulmonar en aquellos que se colonizaron por *P. aeruginosa* durante el período en estudio. La espirometría forzada no muestra en nuestros resultados, las consecuencias de la colonización por *P. aeruginosa* ni por *S. aureus* antes de los 12 meses de edad. Es posible que su repercusión sea objetivable años después. La mayoría de trabajos estudian pacientes de mayor edad que los incluidos en nuestra cohorte.

La colonización pulmonar crónica o persistente por *P. aeruginosa* está claramente asociada a empeoramiento y gravedad de la enfermedad pulmonar en la FQ<sup>80,87</sup>. Afortunadamente, ninguno de los 18 pacientes de la cohorte cumple criterios de colonización persistente o crónica, por lo que no se ha podido evaluar esta condición. Un estudio publicado recientemente observa una mejor función pulmonar en los pacientes con colonización crónica por *P. aeruginosa*<sup>88</sup>. Otra publicación anterior no halla diferencias significativas en las variables de función pulmonar entre los pacientes antes y 2 años después de la colonización<sup>59</sup>. Parece ser que la alteración de la función pulmonar a causa de la colonización por *P. aeruginosa* podría estar diferida en el tiempo<sup>59,60</sup>.

La obtención de muestras orofaríngeas tiene la ventaja de ser una técnica no invasiva que nos permite recoger muestras seriadas y frecuentes, por lo que la probabilidad de hallar cultivos positivos es mayor. Es posible que estemos detectando colonización más precoz que la que pueda detectarse por BAL. Si fuera así, estaríamos tratando la

colonización por *P. aeruginosa* antes de producir daño pulmonar y alteración de los parámetros de la espirometría forzada. Hipotéticamente podría explicar que la función pulmonar fuera mejor en los pacientes colonizados por *P. aeruginosa*, que sí hemos tratado intensa y específicamente. Los pacientes de nuestra cohorte en los que aislamos *P. aeruginosa* reciben más sesiones de fisioterapia respiratoria, antibioterapia inhalada y sistémica, tal vez sea la causa de que la función pulmonar sea mejor. Algunos de los trabajos publicados al respecto, incluso los más recientes, incluyen pacientes que tuvieron la primera colonización por *P. aeruginosa* antes de la aplicación de la antibioterapia inhalada de rutina<sup>80</sup>. Sería coherente con esta teoría el hecho de que la prevalencia de colonización por *P. aeruginosa* en nuestra cohorte disminuye con la edad y es inferior al 1% el cuarto año de vida.

Una característica que hace distintos a nuestros pacientes de la literatura publicada es la gran heterogeneidad en su genotipo. Los trabajos publicados previamente son en su mayoría población con un elevado porcentaje de homocigotos F508del. Algunos estudios seleccionan sólo pacientes homocigotos para F508del para minimizar el efecto de la genética como el “GMS study”<sup>80</sup>, un estudio multicéntrico muy amplio que concluye que los pacientes con cultivo positivo a *P. aeruginosa* antes de los 5 años tienen mayor riesgo de sufrir enfermedad pulmonar grave respecto a los que lo tuvieron a los 10 años de edad.

La puntuación del TCAR no se ha visto influida por ninguna de las variables analizadas.

Será necesario ver la evolución de estos pacientes y seguir evaluando su función pulmonar periódicamente. En un futuro podremos conocer datos de función pulmonar y TCAR a edades mayores y evaluar la importancia de la colonización precoz de la vía aérea.

Los datos microbiológicos de la cohorte de pacientes FQ y los de la serie de sujetos NOFQ no son directamente comparables porque realizamos un estudio longitudinal de los pacientes FQ y un estudio transversal del grupo control. No obtuvimos muestras seriadas mensuales del grupo control por razones éticas. Por otra parte, las muestras de AOF se obtienen mensualmente durante las sesiones de fisioterapia

respiratoria, de modo que los pacientes más cumplidores tendrán mayor número de cultivos cursados. Sin embargo, las diferencias más significativas entre pacientes FQ y sujetos NOFQ, son las mismas que las observadas entre los pacientes FQ y los niños con mutaciones *CFTR* NOFQ, que tuvieron un seguimiento longitudinal igual al de los pacientes FQ. Pensamos, que la información obtenida es adecuada y suficiente para los objetivos planteados en el estudio.

Podemos concluir que la colonización bacteriana de la vía aérea superior se produce precozmente tanto en los niños afectados como en los no afectados de FQ, y que esta colonización en los pacientes FQ diagnosticados por cribado neonatal es cualitativa y cuantitativamente muy similar a la de los sujetos NOFQ los primeros meses de vida, para ir diferenciándose posteriormente con la edad. Estos datos pueden ser de utilidad al interpretar los cultivos positivos de los pacientes FQ, aunque son necesarios estudios con mayor número de pacientes. Pensamos que la obtención de muestras de vía aérea superior, técnica no invasiva ni agresiva, de rutina durante la fisioterapia respiratoria permite realizar cultivos microbiológicos frecuentes y facilita la detección de la colonización de la vía aérea superior.

Será muy interesante seguir con la recogida de datos y evaluar en estos pacientes la evolución de la cronología en la colonización bacteriana, así como su función pulmonar y TCAR al aumentar la edad.

## 7 Conclusiones

1. La prevalencia de cultivos positivos los primeros meses de vida es muy elevada y similar en los pacientes FQ y los sujetos NOFQ. Esta disminuye al aumentar la edad de los niños.
2. La disminución de la prevalencia de cultivos positivos en el grupo de sujetos NOFQ es mucho más marcada que en los FQ, con diferencias estadísticamente significativas.
3. Desde el primer mes de vida se aíslan microorganismos potencialmente patógenos tanto en pacientes FQ como en sujetos NOFQ. Enterobacterias y *S. aureus* son los microorganismos que colonizan la vía aérea superior con más frecuencia en ambos grupos.
4. En sujetos NOFQ se hallan los dos patógenos típicamente asociados a FQ, *S. aureus* y *P. aeruginosa*, desde los primeros meses de vida .
5. En los pacientes FQ predomina la colonización por enterobacterias los dos primeros años de vida y por *S. aureus* desde los 36 meses de vida. En los pacientes NOFQ, sólo predominan enterobacterias el primer año de vida.
6. La mayoría de pacientes FQ presentaron colonización por *P. aeruginosa* antes de los 3 años de vida, pero no ha sido causa de colonización crónica ni tampoco el microorganismo aislado con mayor frecuencia durante los primeros cuatro años de vida.
7. La función pulmonar de los pacientes FQ de nuestra cohorte es normal y no está afectada por la colonización por *P. aeruginosa* ni por *S. aureus*.
8. No hay diferencias estadísticamente significativas en la puntuación del TCAR entre los pacientes FQ colonizados o no por *S. aureus* y/o *P. aeruginosa*.



## 8 Referencias bibliográficas

- 1 Gartner S, Cobos N. Cribado neonatal para la Fibrosis Quística. An Pediatr(Barc).2009;71(6):481-482
- 2 Casals T. Patologia Molecular del gen CFTR: Fibrosis Quística i fenotips relacionats. Tesi doctoral 2003. Universitat de Barcelona
- 3 Tizzano E, Gartner S. Genética y fisiopatología de la Fibrosis Quística. En: Cobos N, Pérez-Yarza EG, editores. Tratado de Neumología Peditrica. Majadahona. (Madrid):Ediciones Ergon; 2009.p.775-792.
- 4 Ramsey WB, Boat F Th (for the consensus Group). Outcome measures for trials in cystic fibrosis. Summary of a cystic fibrosis Foundation Consensus conference. J Pediatr 1994;124:177-192
- 5 Cystic Fibrosis Foundation. 2008. Patient Registry 2008. Annual Data Report to the center directors. Cystic fibrosis Foundation, Betsheada,MD
- 6 Quinton PM. Physiological basis of cystic fibrosis: a historical perspective. Physiol Rev 1999; 79:S3-S22
- 7 Quinton PM. Chloride impermeability in cystic fibrosis. Nature 1983;301:421-422.
- 8 Knowles M, Gatzky J and Boucher R. Modulation of nasal epithelium ion permeability in normal and cystic fibrosis subjects in vivo. Clin Res. 1983; 31: 858
- 9 Tsui, Buchwald, Barker, Braman, Knowlton, Schumm et al. Cystic fibrosis locus defined by genetically linked polymorphic DNA marker. Science 1985,230:1054-1057

- 10 Rommens, Iannuzzi, Kerem B et al. Identificaton of the cystic fibrosis gen : chromosome walking and jumping. Science 1989, 245: 1059-1065
- 11 Kerem B, Rommens JM, Buchanan JA et col. Identification of the cystic fibrosis gene: genetic analysis. Science 1989;245:1073-1080
- 12 Dodge, Lewis, Stanon, Wilsher. Cystic fibrosis mortality and survival in the UK:1947-2003.Eur Respir J 2007;29:522-26
- 13 O'Sullivan BP, Freedman SD. Cystic Fibrosis. Lancet 2009;373: 1891-1904
- 14 Festini F, Taccetti G, Gioni ML, Repetto T, and Martino M. High prevalence of cystic fibrosis in children born in Italy to Albanian immigrants. Thorax 2003; 58:93
- 15 Cashman SM, Patino A, García Delgado M, Byrne L, Denham B, de Arce M. The irish cystic fibrosis database. J Med Genet 1995; 32: 972-975
- 16 Kere J, Estivill X, Chillón M et al. Cystic fibrosis in a low-incidence population:two major mutations in Finland. Human Genet 1994;93:162-166
- 17 Kerem E, Kalman YM, Yahav Y, et al. Highly variable incidence of cystic fibrosis and different mutation distribution among different Jewish ethnic groups in Israel. Hum Genet 1995,96:193-197.
- 18 Estivill X, Bancells C, Ramos C. for the BIOMED CF Mutation Analysis Consortium. Geographic distribution and regional origin of 272 cystic fibrosis mutations in European populations. Hum Mutat 1997; 10: 135-154
- 19 Alonso MJ, Heine-Sunyer D, Calvo M et al. Spectrum of mutations in the CFTR gene in Cystic Fibrosis patients of Spanish ancestry. Ann Hum Genet 2007, 71: 194-201



- 20 Morral N, Bertranpetit J, Estivill X, Nunes V, Casals T, Giménez J, Reis A, et al (1994) The origin of the major cystic fibrosis mutation (DF508) in European populations. *Nat Genet* 7:169–175
- 21 Estivill X, Morral N (1996) Evolution of Cystic Fibrosis Alleles. In Dodge JA, Brock DJH, Widdicombe JH (eds): *Cystic Fibrosis. Current Topics*. Sussex: John Wiley & Sons, pp 141–164.
- 22 Castellani C, Cuppens H, Macek M et al. Consensus on the use and interpretation of cystic fibrosis mutation analysis in clinical practice. *J Cys Fibr* 2008;7:179-196
- 23 Reddy, Light, Quinton. Activation of the epithelialNa<sup>+</sup> channel function. *Nature* 1999, 402: 301-304
- 24 Marcorelles P, Montier T, Gillet D, Lagarde N, Ferec C. Evolution of CFTR protein distribution in lung tissues from normal and CF fetuses. *Pediatr Pulmonol* 2007; 42:1032-1034
- 25 Döring G and Gulbins E. Cystic fibrosis and innate immunity: how chloride channel mutations provoke lung disease. *Cellular Microbiology* 2009; 11:208-216
- 26 Quinton PM. Cystic fibrosis: impaired bicarbonate secretion and mucoviscidosis. *Lancet* 2008;372:415-417
- 27 Imundo L, Barasch J, Prince A and Al-Awqati Q. Cystic fibrosis epithelial cells have a receptor for pathogenic bacteria on their apical surface. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 1995; 92:3019-3023
- 28 World health organization. Classification of cystic fibrosis and related disorders, Report of a joint Working Group of WHO, ICF(M)A/ECFS/ECFTN 2001 (Reprinted in *J Cys Fibros* 2002;1:5-8)

- 29 Salcedo A, Girón R, Beltran B y Sequeiros A. Manifestaciones respiratorias en la Fibrosis Quística. En:CobosN, Pe´rez-Yarza EG, editores. Tratado de Neumología Pediátrica. Majadahona (Madrid): EdicionesErgon;2009.p.809-834
- 30 De Boeck, Wilschanski M, Castellani C et al. Cystic fibrosis: Terminology and diagnostic algorithms. Thorax 2006;61:627-635
- 31 Rosenstein B, Cutting G. The diagnosis of cystic fibrosis: A consensus statement. J Pediatr 1998;132:589-95
- 32 Farrell PM, RosensteinBJ, WhiteTB et al. Guidelines for diagnosis of cystic fibrosis in newborns through older adults: Cystic Fibrosis Foundation Consensus Report.JPediatr.2008;153:S4–S14.
- 33 National Committee for Clinical Laboratory Standards. Sweat testing: sample collection and qualitative analysis; approved guideline. NCCLS document C34-A (ISBN:1-56238-260-8). 1994.
- 34 Barrio MI, García G, Gartner S y grupo de trabajo de Fibrosis Quística. Protocolo de diagnóstico y seguimiento de los pacientes con Fibrosis Quística. An Pediatr 2009;71:250-264
- 35 Knowles MR, Paradiso AM, Boucher RC. In vivo nasal potential difference techniques and protocols for assessing efficacy of gene transfer in cystic fibrosis. Human Gene Ther 1995;6:445-55
- 36 Vázquez C. Fibrosis Quística. Métodos diagnósticos. En . En: Cobos N, Pérez-Yarza EG, editores. Tratado de Neumología Pediátrica. Majadahona (Madrid): EdicionesErgon ;2009. Capítulo 39. p.783.

- 37 Castellani C, Southern K, Brownlee K et al. European best practice fibrosis neonatal screening. *J Cyst Fibros.* 2009;8:153–73. 15.
- 38 X Congreso Nacional de Fibrosis Quística .Cribado neonatal. *An Pediatr.* 2009;71(Espec Congr):8–20.
- 39 Federación Española de Fibrosis Quística: [www.fibrosisquistica.org](http://www.fibrosisquistica.org)
- 40 Rock M, Hoffman G, Laessig RH et al. Newborn screening for cystic fibrosis in Wisconsin: nine years experience with routine trypsinogen/DNA testing. *J Pediatr.* 2005;147(3Suppl):S73–7.
- 41 Sims E J, McCormick J, Metha G, Mehta A. Neonatal screening for cystic fibrosis beneficial even in the context of modern treatment. *J Pediatr.* 2005; 147(3Suppl):S42–6
- 42 Gartner S, Moreno A, Cobos A. Tratamiento de la enfermedad respiratoria en la Fibrosis Quística. En: Cobos N, Pe´rez-Yarza EG, editores. *Tratado de Neumología Pediátrica.* Majadahona (Madrid): Ediciones Ergon ;2009.p.849–66.
- 43 Burns JL, Gibson RL, McNamara S et al. Longitudinal assessment of *Pseudomonas aeruginosa* in young children with cystic fibrosis. *J Infect Dis* 2001; 183: 444–452.
- 44 TWR Lee. Eradication of early *Pseudomonas* infection in cystic fibrosis. *Chronic Respiratory Disease* 2009; 6: 99–107
- 45 Serra M. Cribatge neonatal de la fibrosi quística. Barcelona. Agència d’Avaluació de Tecnologia i Recerca Mèdiques. Servei Català de la Salut. Departament de Sanitat i Seguretat Social. Generalitat de Catalunya. Gener 2000 (BR01/2000)

- 46 Anthracopoulos MB, Eber E, Koumbourlis Ac, Wood RE. Bronchoalveolar lavage: indications and applications. En: Wood Paediatric Bronchoscopy. Capítulo 3. Paginas 30-41.2010. Ed Karger
- 47 Ho SA, Ball R, Morrison LJ, Brownlee KG, Conway SP. Clinical value of obtaining sputum and cough swab samples following inhaled hypertonic saline in children with cystic fibrosis. *Pediatr Pulmonol* 2004;38: 82-87
- 48 Carlson D, McKeen E, Mitchell M et al. Oropharyngeal flora in healthy infants: Observations and implications for cystic fibrosis care. *Pediatr Pulmonol* 2009; 44:497-502
- 49 Rosenfeld, Emerson, Accurso et al. Diagnostic Accuracy of Oropharyngeal Cultures in Infants and Young Children With Cystic Fibrosis. *Pediatr Pulmonol* 1999 28(5) 321-328
- 50 Armstrong, Grimwood, Carzino, Carlin, Olinsky and Phelan. Lower respiratory infection and inflammation in infants with newly diagnosed cystic fibrosis. *BMJ* 1995;310: 1571-2
- 51 Avital A, Uwyied K, Picard E, Godfrey S, Springer C. Sensitivity and Specificity of oropharyngeal suction versus bronchoalveolar lavage in identifying respiratory tract pathogens in children with chronic pulmonaey infection. *Pediatric Pulmonol* 1995;20:40-43
- 52 Ramsey BW, Wentz KR, Smith AL et al. Predictive value of Oropharyngeal cultures for identifying lower airway bacteria in Cystic Fibrosis patients. *Am Rev Resp Dis* 1991; 144:331-337
- 53 Mainz JG, Naehrlich L, Schien M et al. Concordant genotype of upper and lower airways *P. aeruginosa* and *S. aureus* isolates in cystic fibrosis. *Thorax* 2009

- 54 Bonestroo H, de Winter-de Groot, van der Ent C, Hubertus G.M. Arets. Upper and Lower airway cultures in children with cystic fibrosis: Do not neglect the upper airways. *J Cyst Fibr.* 2010; 9: 130-134
- 55 Ferrer A, Bellver P, Cobos N, Liñan S, Codina G y Fernández F. Fibrosis Quística: estudio microbiológico durante un período de 8 años. *Arch Bronconeumol* 1995;31:494-500
- 56 Oliver A, Alarcón T, Caballero E y Cantón R. Diagnóstico microbiológico de la colonización-infección broncopulmonar en el paciente con Fibrosis Quística. *Enferm Infecc Microbiol Clin* 2009;27:89-104
- 57 Lipuma. The changing microbial epidemiology in Cystic fibrosis. *Clinical Microbiology Reviews* 2010;23:299-323
- 58 Armstrong DS , Grimwood K, Carlin JB et al. Lower airway inflammation in infants and young children with cystic fibrosis. *Am J Respir Crit Care Med* 1997;156:1197-1204
- 59 Kerem E, Corey M, Gold R, Levison H. Pulmonary function and clinical course in patients with cystic fibrosis after pulmonary colonization with *Pseudomonas aeruginosa*. *J Pediatr* 1990;116:714-9
- 60 Abman SH, Ogle JW, Harbeck RJ, Butler-Simon N, Hammond KB and Accurso FJ. Early bacteriologic, immunologic, and clinical courses of young infants with cystic fibrosis identified by neonatal screening. *J Pediatr* 1991;119:211-7
- 61 Valenza G, Tappe D, Turnwald D et al. Prevalence and antimicrobial susceptibility of microorganisms isolated from sputa of patients with cystic fibrosis. *J. Cyst. Fibros* 2008;7:123-127.
- 62 Armstrong DS, Grimwood K, Carlin JB, Carzino R, Olinsky A and Phelan PD. Bronchoalveolar Lavage or Oropharyngeal Cultures to Identify Lower

- Respiratory Pathogens in Infants With Cystic Fibrosis. *Pediatric Pulmonol* 1996;21:267-275
- 63 Nixon GM, Armstrong DS, Carzino R et al. Early airway infection, inflammation, and lung function in cystic fibrosis *Arch. Dis. Child.* 2002;87:306-311
- 64 Pihet M., Carrere J, Cimon B et al. Occurrence and relevance of filamentous fungi in respiratory secretions of patients with fibrosis—a review. *Med. Mycol* 2009;47:387–397
- 65 Makhoul IR, Polo Sujov P, Ardekian L et al. Factors influencing oral colonization in premature infants. *IMAJ: Isr Med Assoc J* 2002;4:98-102
- 66 Rotimi vo, Duerden Bi. The development of bacterial flora in normal neonates. *J Med Microbiol* 1981;14:51-52
- 67 Sedgley CM, Samarayanake LP. Oral and oropharyngeal prevalence of Enterobacteriaceae in humans: a review. *J Oral Pathol Med* 1994;23:104-113
- 68 Baltimore RS, Duncan RL, Shapiro ED, Edberg SC. Epidemiology of pharyngeal colonization in infants with aerobic gram-negative rods bacteria. *Clin Microbiol* 1989;27:91-5
- 69 Finnelli L, Livengood, Saiman L. Surveillance of pharyngeal colonization: detection and control of serious bacterial illness in low birth weight infants. *Pediatr Infect Dis J* 1994;13:854-859
- 70 Hjuler IM, Hansen MB, Olsen B and Rennenberg J. Bacterial colonization of the larynx and trachea in healthy children. *Acta Paediatr* 1995; 84:566-8
- 71 Bisgaard H, Hermansen MN, Buchvald et al. Childhood in asthma after bacterial colonization of the airway in neonates. *N England J Med* 2007;357:1487-1495

- 72 Barrie JD, Gallecher JB. The significance of *Scherichia coli* in the upper respiratory tract of children under 2 years of age. *Postgrad Med J* 1975;51:373-81
- 73 Ranganathan S, Linnane B, Nola G, Gangell C and Hall G. Early detection of lung disease in children with cystic fibrosis using lung function. *Paediatr resp Rev* 2008;9: 160-167
- 74 Vilozni D, Bentur L, Efrati O et al. Spirometry in early childhood in cystic fibrosis patients. *Chest* 2007; 131:356-361
- 75 Marostica PJC, Weist AD, Eigen H et al. Spirometry in 3 to 6 year old children with cystic fibrosis. *Am J Respir Crit Care Med* 2002; 166:67-71
- 76 Oikonomou A, Tsanakas J, Hatziagorou E, Kirvassilis F, Efremidis S, Prassopoulos P. High resolution computed tomography of the chest in cystic fibrosis (CF): is simplification of scoring systems feasible?. *Eur Radiol* (2008) 18: 538-547
- 77 Sly P, Brennan S, Gangell C, de Klerk N et al. Lung Disease at Diagnosis in Infants with Cystic Fibrosis Detected by Newborn Screening. *Am J Respir Crit Care Med* 2009;180:146-152
- 78 Beydon N, Davis S, Lombardi E et al. An Official American Thoracic Society/European Respiratory Society Statement: Pulmonary Function Testing in Preschool Children. *Am J Respir Crit Care Med* 2007;175:1304-1345
- 79 Polgar G, Promadat V. Pulmonary function testing in children: techniques and standards. Philadelphia, PA: WB Saunders; 1971.
- 80 Pittman JE, Calloway EH, Kiser M et al. Age of *Pseudomonas aeruginosa* acquisition and subsequent severity of cystic fibrosis lung disease. *Pediatr pulmonol* 2011;46:497-504

- 81 Douglas, Brennan, Berry et al. Acquisition and eradication of *P aeruginosa* in young children with cystic fibrosis. *Eur Resp J* 2009; 33: 305-311
- 82 Telford, Morris, Hughes et al. The nasopharyngeal bacterial flora in the sudden infant death syndrome. *J Infect* 1989;18: 125-130
- 83 LaForce FM, Hopkins J, Trow R, Wang WLL. Human oral defences against gram-negative rods. *Am Rev Infect Dis* 1976;114:929-935
- 84 Cantón R, Cobos N, De Gracia J et al. Spanish consensus Group for Antimicrobial Therapy in the Cystic Fibrosis patient. Antimicrobial therapy for pulmonary pathogenic colonisation and infection by *Pseudomonas aeruginosa* in cystic fibrosis patients. *Clin Microbiol Infect* 2005;11:690-703
- 85 Treggiari MM, Rosenfeld M, Retsch-Bogart G, Gibson R, Ramsey B. Approach to eradication of initial *Pseudomonas aeruginosa* infection in children with cystic fibrosis. *Pediatr Pulmonol* 2007;42: 751-756
- 86 European Cystic Fibrosis Society Patient Registry Annual data report (year 2008-2009) Version 02.2012
- 87 Konstan, Morgan, Butler et al. Risk factors for rate decline in FEV1 in children and adolescents with Cystic fibrosis. *J Pediatr* 2007; 151:134-139
- 88 Milagres L, Castro T, Garcia D et al Antibody Response to *Pseudomonas aeruginosa* in Children With Cystic Fibrosis. *Pediatr Pulmonol*. 2009; 44:392-401



## **9 Apéndices**

### **9.1 Colaboraciones y Financiación**

El desarrollo de este proyecto de investigación ha precisado de la colaboración de los equipos de Fisioterapia Respiratoria Pediátrica, Enfermería de pruebas funcionales respiratorias, del Servicio de Cirugía Pediátrica, del Servicio de Anestesia del Hospital de Sabadell y del Servicio de Microbiología la UDIAT de la Corporació Sanitària i Universitària Parc Taulí.

El proyecto ha estado financiado por dos becas del Comité Institucional de Recerca de la Corporació Sanitària i Universitària Parc Taulí en las convocatorias 2002 y 2003. También con la aportación específica de una beca de los laboratorios Orphan en 2003.

## 9.2 Informe del Comité ético de investigación clínica (CEIC)



### Informe del CEIC d'aprovació de l'estudi

Dofia COLOMA MORENO QUIROGA, Secretaria del Comitè Ètic de Investigació Clínica de la CORPORACIÓ SANITÀRIA PARC TAULÍ DE SABADELL (Barcelona)

Faig constar

Que d'acord amb els antecedents documentals que existeixen en els arxius del CEIC,

**VALDESOIRO NAVARRETE LAURA**

consta en qualitat d'investigador/a principal del projecte:

**Colonització de les vies respiratòries dels nens diagnosticats de Fibrosi Quística Nounatal. Diferències quantitatives i qualitatives amb la població de nens sans.**

Codi CEIC 2003126

Va ser aprovat per aquest CEIC el 22/04/2003.

Promotor **BECA CIR**

Codi Promotor **CIR2002/066**

Col·laboradors de l'estudi:

MARISCAL MELERO, DOLORS  
DOMINGO RIBAS, CHRISTIAN  
LARRAMONA CARRERA, HELENA  
MARCO VALLS, JOAN  
RIVERA LUJAN, JOSEFA  
BOSQUE GARCIA, MONTSERRAT  
LÓPEZ GALBANY, NÚRIA  
ASENSIO DE LA CRUZ, OSCAR  
MARCO VALLS, TERESA  
MARTÍ CAMPS, MONTSERRAT

Dra. Coloma Moreno Quiroga

?

### 36 2i at 2as r 2asi 2a 2 nr 22i 2

?

Corporació  
**Parc Taulí**

**CONSENTIMENT INFORMAT PER A LA RECOLLIDA DE MOSTRES MICROBIOLÒGIQUES OROFARÍNGEAS**

Us demanem la vostra autorització per a recollir una mostra de secrecions respiratòries, durant la intervenció quirúrgica, amb la finalitat de determinar quins són els microorganismes que hi ha de forma habitual en la orofaringe dels nens sans de 0-48 mesos i comparar-los amb els que s'aïllen en l'orofaringe dels nens afectes de Fibrosi Quística .

Aquest procediment no representa cap risc per al nen i les dades obtingudes només s'utilitzaran per a aquesta finalitat. En cap moment es facilitarà l'identitat del pacient, sent només accessible als professionals sanitaris responsables de la seva assistència.

La col·laboració en la realització de l'esmentat procediment és totalment voluntaria. Us demanem la vostra col·laboració doncs és un mitjà molt valuós per a les finalitats abans esmentades.

Si esteu d'acord en col·laborar us preguem que signeu el consentiment que apareix a continuació.

**CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA LA RECOGIDA DE MUESTRAS MICROBIOLÓGICAS OROFARÍNGEAS**

Le solicitamos la autorización para la obtención de una muestra de secreciones respiratorias durante la intervención quirúrgica, con la finalidad de determinar los microorganismos que existen de forma habitual en la orofaringe de los niños sanos de 0-48 meses y compararlos con los que se aíslan en la orofaringe de pacientes afectados de Fibrosis Quística.

Este procedimiento no representa ningún riesgo para el niño y los datos obtenidos se usaran sólo para esta finalidad. En ningún momento se facilitará la identidad del paciente, siendo esta sólo accesible a los profesionales sanitarios responsables de su asistencia.

La colaboración en la realización del procedimiento es totalmente voluntaria. Le rogamos su colaboración dado que es un medio valioso para las finalidades antes señaladas.

Si está de acuerdo en colaborar le rogamos que firme el consentimiento que aparece a continuación

Manifiesto que he rebut i comprés la informació anterior i autoritzo la realització del procediment esmentat.  
Manifiesto que he recibido y comprendido la información anterior y autorizo la realización del procedimiento señalado.

Se/a \_\_\_\_\_  
En qualitat de \_\_\_\_\_  
En calidad de \_\_\_\_\_

Signatura del tutor legal                      Signatura del professional                      Identificació del nen

Data/Fecha: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_