
PREVALENCIA Y SUSCEPTIBILIDAD ANTIMICROBIANA DE *Pseudomonas aeruginosa* EN MUESTRAS DE SECRECIONES RESPIRATORIAS DE PACIENTES CON FIBROSIS QUÍSTICA DEL HOSPITAL INFANTIL MUNICIPAL DE CÓRDOBA.

Seculini, Gisele Andrea

González, Liliana Lorena

Sánchez, María Lucrecia

Laboratorio de Bacteriología - Hospital Infantil Municipal de Córdoba - Córdoba. Argentina.

Correspondencia: Andrea Seculini. Laboratorio de Bacteriología. Lavalleja 3050. Barrio: Alta Córdoba C.P: 5000. Córdoba -Tel: 0351-153484508 -andraseculini@hotmail.com.

RESUMEN

La fibrosis quística (FQ) es la enfermedad genética autosómica recesiva más frecuente y potencialmente fatal de la población de origen caucásico. Se caracteriza por la disfunción de las glándulas de secreción exocrina, que afecta a numerosos órganos y sistemas, siendo las infecciones respiratorias la principal causa de morbilidad y mortalidad. *Pseudomonas aeruginosa* es el principal patógeno responsable del deterioro de la función pulmonar y el segundo microorganismo más prevalente en pacientes pediátricos. El diagnóstico y seguimiento microbiológico en estos pacientes son fundamentales para detectar la infección, instaurar un tratamiento antibiótico adecuado y retrasar el progreso del daño pulmonar. En este trabajo se realizó un estudio descriptivo retrospectivo sobre 549 muestras de secreciones respiratorias pertenecientes a 57 pacientes con fibrosis quística del Hospital Infantil Municipal de Córdoba de 3 meses a 17 años de edad, con el objetivo de determinar la prevalencia de *Pseudomonas aeruginosa*, en el período comprendido entre enero de 2011 y diciembre de 2015, y analizar el perfil de resistencia antimicrobiana de las cepas aisladas de este microorganismo. La prevalencia de *Pseudomonas aeruginosa* fue de 42,3%. En cuanto al perfil antimicrobiano de las cepas estudiadas, carbapenemes, aminoglucósidos y ciprofloxacina mostraron una notable resistencia. Ceftazidima, cefepime y piperacilina-tazobactam presentaron buenos parámetros de sensibilidad y no se detectó resistencia a colistín, por lo cual podrían ser considerados para los esquemas terapéuticos empíricos.

Palabras clave: Fibrosis quística – *Pseudomonas aeruginosa* - Infecciones respiratorias - Pacientes pediátricos - Prevalencia - Susceptibilidad antimicrobiana.

INTRODUCCIÓN

La fibrosis quística (FQ) es una enfermedad genética autosómica recesiva, la más frecuente y potencialmente fatal de la población de origen caucásico ⁽¹⁻⁵⁾. Se caracteriza por la disfunción de las glándulas de secreción exocrina ⁽⁶⁻⁸⁾.

Son 70.000-100.000 las personas afectadas mundialmente ^(2,9-11), siendo 692 las registradas en Argentina en el año 2014 ^(6,12). La incidencia en la Unión Europea es de 1:2000 – 1:3000 recién nacidos ^(10,13,14,18), en Estados Unidos (EE.UU.) es de 1:3500 ^(13,15), y en Argentina es de 1:7213⁽⁶⁾. La edad media de sobrevida ha aumentado mundialmente en los últimos años, llegando a ser de 41,7 años en EE.UU., en donde el 51,6 % de los pacientes con FQ son adultos ⁽¹⁵⁾. En nuestro país se desconoce la edad exacta de sobrevida, pero hay un número creciente de pacientes adolescentes, y un 22,5% son mayores de 18 años ^(6,12). En Salvador, India y Bulgaria, no se supera los 15 años ^(9,13). La edad mediana al diagnóstico es de 4 meses ^(9,6,12,13,15).

La FQ es causada por mutaciones en el gen que codifica para la proteína Regulador Transmembrana de Fibrosis Quística (CFTR), que regula el transporte de cloro a través de las membranas de las células epiteliales ^(14,16-18). El defecto provoca principalmente un desbalance iónico, que conduce a la deshidratación de las secreciones mucosas, afectando a numerosos órganos y sistemas, siendo la afectación pulmonar por infecciones crónicas, la mayor causa de morbilidad y mortalidad en los pacientes afectados ^(3,5,6,14). Debido a la acumulación de moco anormalmente espeso y pegajoso, se obstaculiza el aclaramiento mucociliar en el tracto respiratorio, predisponiéndolo a la colonización e infección por diversos microorganismos, que evolucionan para persistir crónicamente, contribuyendo a la inflamación del epitelio bronquial, generando daño pulmonar progresivo, y eventualmente, falla respiratoria ^(2,3,19-21).

Las infecciones son polimicrobianas ^(3,20,22-25) y generalmente responden a un patrón de cronoinfección ^(2,3,5,14,26). En los primeros años de vida las bacterias asociadas a FQ son *Staphylococcus aureus* y *Haemophilus influenzae*, luego aparecen especies oportunistas como *Pseudomonas aeruginosa*, *Stenotrophomonas maltophilia*, *Achromobacter xylosoxidans*, y Complejo *Burkholderia cepacia*, entre otros ^(1,2,14,15,27).

Staphylococcus aureus es la especie más prevalente en pacientes pediátricos con FQ ^(6,14,15,26,28,29). Segunda en frecuencia es *Pseudomonas aeruginosa*, que es el microorganismo que provoca la infección crónica de mayor gravedad, deteriora progresivamente la función pulmonar y constituye la principal causa de muerte en esta enfermedad ^(2,5,14,22,30,31). Es adquirida usualmente de fuentes ambientales o en el ámbito clínico ^(1,25,31,32). A partir de la colonización, la bacteria va experimentando adaptaciones genéticas con emergencia de variantes de fenotipo mucoso (hiperproducción constitutiva de alginato por mutaciones en el gen *mucA*) ^(25,33,34), crecimiento en biopelículas (comunidades multicelulares complejas de difícil erradicación), colonias de crecimiento lento (variantes colonia pequeña), cepas multirresistentes y cepas hipermutadoras, que le confieren resistencia a los antibióticos y a la respuesta inmunitaria del paciente, y definen un estadio crónico ^(2,14,25,31,32,35-37). La erradicación es posible antes del establecimiento de la infección crónica (el microorganismo está presente en más del 50% de los cultivos, en un mínimo de cuatro muestras en los últimos doce meses) ^(6,14,26,31), por lo cual el

diagnóstico y seguimiento microbiológico son fundamentales para detectar la infección inicial, instaurar un tratamiento antibiótico agresivo y evitar o retrasar la cronicidad ^(6,14,26,27,38).

El objetivo de este trabajo es determinar la prevalencia de *Pseudomonas aeruginosa* en pacientes pediátricos con FQ del Hospital Infantil Municipal de Córdoba en el período comprendido entre enero de 2011 y diciembre de 2015 y analizar el perfil de resistencia antimicrobiana de las cepas aisladas de este microorganismo.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se realizó un estudio descriptivo retrospectivo sobre 549 muestras de secreciones respiratorias pertenecientes a 57 pacientes de 3 meses a 17 años de edad (35 mujeres y 22 varones) con FQ del Hospital Infantil Municipal de Córdoba, que fueron procesadas en el Laboratorio de Bacteriología de la misma institución durante el período comprendido entre el 1 de enero de 2011 al 31 de diciembre de 2015. La evaluación microbiológica de estos pacientes se realizó en cada consulta. Las muestras fueron esputo expectorado, esputo inducido, hisopados faríngeos profundos e hisopados tosidos, ya que se trata de una población pediátrica con dificultad para expectorar ^(1,6,14,21,25,27,39,40,41).

Se realizó la observación microscópica de las muestras, mediante frotis teñidos por técnica de Gram, para evaluar aptitud y reacción inflamatoria con lente objetivo de 10X, y predominio bacteriano a 100X ^(42,40,43,44), y se cultivó semi-cuantitativamente por descarga en cuatro estrías ^(43,45,46,39). Los medios y condiciones de cultivo utilizados fueron agar chocolate (5% de CO₂ a 35-37°C, 48 horas), BCSA -*B. cepacia selective agar*- (aerobiosis a 35-37 °C, 48 horas y posteriormente a 25°C, 48 horas), LEVINE y Chapman -agar manitol salado- (aerobiosis, 35-37°C, 4 días) ^(14,19,21,39,40,43,47).

Las colonias sospechosas de *Pseudomonas aeruginosa* en todos sus morfotipos ^(2,26,48,27,50) fueron identificadas mediante pruebas bioquímicas convencionales ^(51,52,53,54,55) y testeadas por antibiograma utilizando el método de difusión en disco de Kirby-Bauer ^(1,39,40) en agar Müller Hinton, siguiendo las recomendaciones del CLSI (Clinical Laboratory Standards Institute)⁽⁵⁶⁾. Como control de calidad se utilizaron las cepas *Escherichia coli* ATCC 25922, *Escherichia coli* ATCC 35218, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 y *Klebsiella pneumoniae* ATCC 700603. Los antibióticos ensayados fueron amicacina (AMK), aztreonam (ATM), cefepime (FEP), ceftacídima (CAZ), ciprofloxacina (CIP), colistin (COL), gentamicina (GEN), imipenem (IPM), meropenem (MEM), piperacilina (PIP), piperacilina-tazobactam (TZP) y ceftacídima-ácido clavulánico (CCV) y tobramicina (TOB) ⁽⁵⁶⁾, siguiendo un patrón estratégico de colocación de discos para la detección de mecanismos de resistencia, según protocolo de trabajo Whonet Argentina (Red de Vigilancia de la Resistencia a los Antimicrobianos) vigente, adaptación del documento M100 del CLSI ⁽⁵⁶⁾.

Criterios de inclusión: Pacientes pediátricos con fibrosis quística.

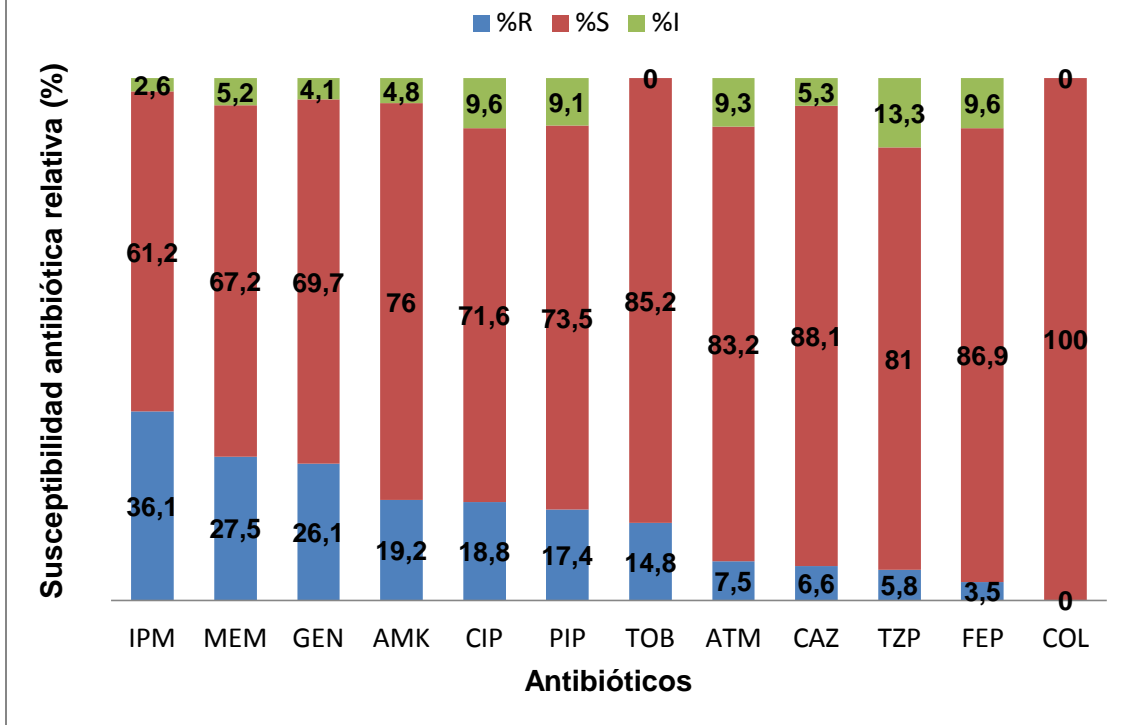
Análisis estadístico: Se utilizó el software WHONET 5.5 proporcionado por la Organización Mundial de la Salud para el análisis de número de muestras totales y número de muestras positivas para *Pseudomonas aeruginosa*. Para el estudio de susceptibilidad antimicrobiana se seleccionó un aislamiento de *Pseudomonas aeruginosa* por paciente, el de mayor resistencia por antibiótico, mediante aplicación de dos filtros del software. Se analizaron porcentajes de resistencia, sensibilidad y sensibilidad intermedia a cada antibiótico ensayado, en frecuencia relativa.

RESULTADOS

De las 549 muestras analizadas, 232 resultaron positivas para *Pseudomonas aeruginosa*, pertenecientes a 31 pacientes (14 mujeres y 15 varones). La prevalencia de *Pseudomonas aeruginosa* en pacientes pediátricos con fibrosis quística del Hospital Infantil Municipal de Córdoba fue de 42,3% en el período comprendido entre enero de 2011 y diciembre de 2015.

Al estudiar la susceptibilidad antimicrobiana de las cepas aisladas, se encontró que IPM, MEM y GEN presentaron los mayores porcentajes de resistencia, seguidos por AMK, CIP, PIP y TOB. Los antibióticos menos resistentes resultaron ser COL, FEP, TZP, CAZ y ATM. Para todos los antimicrobianos ensayados, se aislaron cepas con susceptibilidad intermedia, con la excepción de TOB y COL (Tabla 1). Se detectó como único mecanismo de resistencia el de betalactamasa de espectro extendido (enzima que se transmite plasmídicamente e hidroliza a los antibióticos penicilinas, cefalosporinas y monobactames, en este caso afectando a PIP, CAZ, FEP y ATM), presente en un 6,5% de las cepas de *Pseudomonas aeruginosa*.

Tabla 1. Susceptibilidad antimicrobiana de las cepas de *Pseudomonas aeruginosa* aisladas



%R: porcentaje de cepas resistentes; %S: porcentaje de cepas sensibles; %I: porcentaje de cepas con susceptibilidad intermedia.

IPM: imipenem; MEM: meropenem; GEN: gentamicina; AMK: amicacina; CIP: ciprofloxacina; PIP: piperacilina; TOB: tobramicina; ATM: aztreonam; CAZ: ceftacidima; TZP: piperacilina-tazobactam; FEP: cefepime; COL: colistin.

DISCUSIÓN

La infección por *Pseudomonas aeruginosa* en pacientes con FQ es, desde hace muchos años, el principal motivo de estudio debido a su gran impacto en la morbilidad y mortalidad de estos pacientes. El diagnóstico microbiológico es complejo y en pacientes pediátricos cuenta con la dificultad agregada de la toma de muestra. En el Hospital Infantil Municipal de Córdoba se cuenta con una importante población pediátrica que padece la enfermedad, la cual es asistida por un equipo multidisciplinario de salud, y evaluada microbiológicamente siguiendo pautas establecidas ⁽⁶⁾. Debido a la gran afectación pulmonar que puede provocar la infección por *Pseudomonas aeruginosa* y la necesidad que representa su temprano diagnóstico y tratamiento, resulta de interés conocer la

prevalencia de este microorganismo en las muestras respiratorias de los pacientes estudiados mediante cultivo y la susceptibilidad antimicrobiana de las cepas aisladas. En este estudio, la prevalencia de *Pseudomonas aeruginosa* es comparable a la que se observó en el último informe nacional argentino, que registró un 46,2% de infección por *Pseudomonas aeruginosa* en el año 2014 para menores de 18 años ⁽²⁸⁾, mientras que un trabajo local de la provincia de Santa Fe, publicó una prevalencia del 58% ⁽⁵⁷⁾. En EE.UU. se evidenció una disminución en la prevalencia, con cifras de 47,5% para la población total con FQ y de 30,4% para población pediátrica en el año 2015, como resultado de la intervención multidisciplinaria y terapia de erradicación ante la infección inicial ⁽¹⁷⁾. Las recomendaciones para tratamiento ante un primer aislamiento de *Pseudomonas aeruginosa* en pacientes con FQ incluyen un esquema combinado de CIP oral y COL nebulizado, o un antibiótico endovenoso y TOB inhalada ^(6,58). Para la infección crónica se utiliza como tratamiento supresivo un antibiótico endovenoso junto a TOB o ATM o COL aerolizados ^(2,6,15,47,49). En cuanto al perfil antimicrobiano de las cepas estudiadas, carbapenemes (IPM, MEM), aminoglucósidos (GEN, AMK, TOB) y CIP mostraron una notable resistencia, mayor a la observada en otros trabajos locales con respecto a carbapenemes y CIP, y menor en cuanto a aminoglucósidos ^(57,59). Ninguna cepa estudiada mostró resistencia a COL, lo que sugiere que éste antibiótico es la mejor opción para el tratamiento combinado. CAZ, FEP y TZP presentaron buenos parámetros de sensibilidad, por lo que podrían ser considerados de primera línea para los esquemas terapéuticos empíricos. El aporte de este trabajo de investigación a la epidemiología local constituye una herramienta valiosa para el abordaje integral de la enfermedad, permitiendo adaptar pautas e instaurar terapias empíricas dirigidas a una población particular, así como también promover conductas y acciones, tanto en la propia institución como a nivel nacional, que mejoren la atención del paciente e impacten en su sobrevida.

BIBLIOGRAFÍA

- 1- Ronald L. Gibson, Jane L. Burns, and Bonnie W. Ramsey. Pathophysiology and Management of Pulmonary Infections in Cystic Fibrosis. *Am J Respir Crit Care Med*, 2003; 168:918-51.
- 2- Bhagirath AY, Li Y, Somayajula D, Dadashi M, Badr S, Duan K. Cystic fibrosis lung environment and *Pseudomonas aeruginosa* infection. *BMC Pulmonary Medicine*, 2016 Dec 5; 16:174.
- 3- Kaur J, Pethani BP, Kumar S, Kim M, Sunna A, Kautto L, Penesyan A, Paulsen IT and Nevalainen H. *Pseudomonas aeruginosa* inhibits the growth of *Scedosporium aurantiacum*, an opportunistic fungal pathogen isolated from the lungs of cystic fibrosis patients. *Front. Microbiol*, 2015; 6:866.
- 4- O'Sullivan BP, Freedman SD. Cystic fibrosis. *The Lancet*, Vol 373, tema 9678, p. 1891-1904.
- 5- Federación Española contra la Fibrosis Quística. Libro Blanco de Atención a la Fibrosis Quística, 2002. En: <http://www.fqmadrid.org/crvdocs/INFOGENERAL/libro.pdf>. Consultado el 10/11/2017.
- 6- Comités Nacionales de Neumonología, Nutrición, Gastroenterología y Grupo de Trabajo de Kinesiología. Consenso: Guía de diagnóstico y tratamiento de pacientes con fibrosis quística. Actualización 2014. Argentina.
- 7- James F. Collawn, Sadis Matalon. CFTR and lung homeostasis. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 2014 Dec 15; 307(12):917-23.
- 8- Collawn JF, Lazrak A, Bebok Z, Matalon S. The CFTR and ENaC debate: how important is ENaC in CF lung disease? *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 2012 Jun 1; 302(11):1141-6.
- 9- Cystic fibrosis worldwide. www.cfww.org/what-is-cystic-fibrosis. Consultada el 05/02/17.
- 10- Davies JC, Ebdon AM, Orchard C. Recent advances in the management of cystic fibrosis. *Arch Dis Child*, 2014; 99(11):1033-6.
- 11- Cutting GR. Cystic fibrosis genetics: from molecular understanding to clinical application. *Nat Rev Genet*, 2015 January; 16(1):45-56.
- 12- Grupo Registro Nacional de Fibrosis Quística. Fibrosis quística: informe del registro nacional - Argentina, Mayo 2014. En: [www.sap2.org.ar/newsletter/enviados/informe % 20 fq.pdf](http://www.sap2.org.ar/newsletter/enviados/informe%20fq.pdf). Consultada el 04/02/17.
- 13- World Health Organization. En: [www.cff.org/Our-Research/CF-Patient-Registry/2015 Patient- Registry-Annual-Data-Report.pdf](http://www.cff.org/Our-Research/CF-Patient-Registry/2015-Patient-Registry-Annual-Data-Report.pdf). Consultada el 04/02/17.

- 14- Oliver A, Alarcón T, Caballero E, Cantón R. Diagnóstico microbiológico de la colonización-infección broncopulmonar en el paciente con fibrosis quística. *Enferm Infecc Microbiol Clin*, 2009; 27(2):89-104.
- 15- Cystic Fibrosis Foundation Patient Registry 2015. Annual Data Report Bethesda, Maryland ©2016 Cystic Fibrosis Foundation. En: www.cff.org/Our-Research/CF-Patient-Registry/2015-Patient-Registry-Annual-Data-Report.pdf. Consultado el 27/12/16.
- 16- Kerem B, Rommens JM, Buchanan JA, Markiewicz D, Cox TK, Chakravarti A, Buchwald M, Tsui LC. Identification of the cystic fibrosis gene: Genetic analysis. *Science*, 1989; 245:1073-80.
- 17- D'Alessandro V, Rentería F, Fernández A, Martínez MI, Segal E. Comparación del estado clínico-funcional en niños con fibrosis quística detectados por pesquisa neonatal o por síntomas clínicos. *Arch Argent Pediatr*, 2009; 107:430-5.
- 18- Sosnay PR, Siklosi KR, Van Goor F, Kaniecki K, Yu H, Sharma N, Ramalho AS, Amaral MD, Dorfman R, Zielenski J, et al. Defining the disease liability of variants in the cystic fibrosis transmembrane conductance regulator gene. *Nat Genet*, 2013; 45(10):1160-7.
- 19- Caballero J, Del Campo R, Tato M, De la Pedroza EG, Cobo M, López C, Mampaso E. Microbiological diagnostic procedures for respiratory cystic fibrosis samples in Spain: towards standard of care practices. *BMC Microbiology*, 2014; 14:335.
- 20- Mahboubi MA, Carmody LA, Foster BK, Kalikin LM, VanDevanter DR, LiPuma JJ. Culture-Based and Culture-Independent Bacteriologic Analysis of Cystic Fibrosis Respiratory Specimens, 2016 Mar; 54(3):613-19.
- 21- Burns JL, Rolain JM. Culture-based diagnostic microbiology in cystic fibrosis: Can we simplify the complexity? *Journal of Cystic Fibrosis*, 2014; 1:1-9.
- 22- Diaz Caballero J, Clark ST, Coburn B, Zhang Y, Wang PW, Donaldson SL, Tullis DE, Yau Y, Waters VJ, Hwang DM, Guttman DS. Selective sweeps and parallel pathoadaptation drive *Pseudomonas aeruginosa* evolution in the cystic fibrosis lung. *MBio* 2015; 6:981-15.
- 23- Lynch SV, Bruce KD. The cystic fibrosis airway microbiome, 2013 Mar 1; 3(3):9738.
- 24- Delhaes L, Monchy S, Fréalle E, Hubans C, Salleron J, Leroy S, Prevotat A, Wallet F, Wallaert B, Dei-Cas E, Sime-Ngando T, Chabé M, Viscogliosi E. The airway microbiota in cystic fibrosis: a complex fungal and bacterial community--implications for therapeutic management. *PLoS One*, 2012; 7(4):36313.
- 25- Hauser AR, Jain M, Bar-Meir M, Mc Colley SA. Clinical Significance of Microbial Infection and Adaptation in Cystic Fibrosis. *Clinical Microbiology Reviews*, 2011Jan; 24(1):29-70.

- 26- LiPuma JJ. The Changing Microbial Epidemiology in Cystic Fibrosis. *Clinical Microbiology Reviews*, 2010 Apr; p. 299–323.
- 27- Silva Filho LV, Ferreira F de A, Reis FJ, Britto MC, Levy CE, Clark O, Ribeiro JD. *Pseudomonas aeruginosa* infection in patients with cystic fibrosis: scientific evidence regarding clinical impact, diagnosis, and treatment, 2013.
- 28- Pereyro S. Fibrosis quística. Impacto de los registros en el manejo de los pacientes. Registro Nacional de fibrosis quística RENAFQ. Grupo Registro Nacional de Fibrosis Quística. 7° Congreso argentino de Neumonología pediátrica. Jornada de enfermería en enfermedades respiratorias pediátricas. En: http://www.sap.org.ar/docs/congresos_2015/Neumonolog%C3%ADa/pereyro_impacto_registro.pdf. Consultada el 06/02/2017.
- 29- Ahlgren HG, Benedetti A, Landry JS, Bernier J, Matouk E, Radzioch E. Clinical outcomes associated with *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa* airway infections in adult cystic fibrosis patients. *BMC Pulm Med*, 2015 Jun 21; 15:67.
- 30- Stoltz DA, Meyerholz DK, Welsh MJ. Origins of Cystic Fibrosis Lung Disease. *N Engl J Med*, 2015 Jan 22; 372(4):351-62.
- 31- Sordé R, Pahissa A, Rello J. Management of refractory *Pseudomonas aeruginosa* infection in cystic fibrosis. *Infection and Drug Resistance*, 2011; 4:31-41.
- 32- Mahomed TG, Kock MM, Ehlers MM. Gram-negative bacteria in cystic fibrosis. The Battle Against Microbial Pathogens: Basic Science, Technological Advances and Educational Programs. A. Méndez-Vilas, Ed. 2015. 2:822-31.
- 33- Deretic V, Schurr MJ, Yu H. *Pseudomonas aeruginosa*, mucoidy and the chronic infection phenotype in cystic fibrosis, 1995 Sep; 3(9):351-6.
- 34- Govan, J. R. W., and V. Deretic, 1996. Microbial pathogenesis in cystic fibrosis: mucoid *Pseudomonas aeruginosa* and *Burkholderia cepacia*. *Microbiol. Rev.*, 1996 Sep; 60(3):539-74.
- 35- Gilligan PH. Microbiology of airway disease in patients with cystic fibrosis. *Clin Microbiol Rev*, 1991; 4:35-51.
- 36- Lyczak JB, Cannon CL, Pier JB. Lung Infections Associated with Cystic Fibrosis. *Clinical Microbiology Reviews*, Apr. 2002; 15(2):194-222.
- 37- Tang AC, Turvey SE, Alves MP, Regamey N, Tümmler B, Hartl D. Current concepts: host–pathogen interactions in cystic fibrosis airways disease, 2014 Sep; 23(133):320-332.
- 38- Coutinho HD, Falcão-Silva VS, Gonçalves GF. Pulmonary bacterial pathogens in cystic fibrosis patients and antibiotic therapy: a tool for the health workers. *International Archives of Medicine*, 2008; 1:24.

39- Saiman L, Siegel J; Cystic Fibrosis Foundation. Infection control recommendations for patients with cystic fibrosis: microbiology, important pathogens, and infection control practices to prevent patient-to-patient transmission, 2003; 24(5 Suppl):6-52.

40- Calvo JB, Peinado MA, Oliver A, de la Bellacasa JP. Diagnóstico microbiológico de las infecciones bacterianas del tracto respiratorio inferior. Recomendaciones de la Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica. Procedimientos en Microbiología Clínica, 2007. Seimc. En: www.seimc.org/contenidos/documentos_cientificos/procedimientosmicrobiologia/seimc-procedimientomicrobiologia25.pdf.

Consultada el 7/10/16.

41- Hoppe JE, Towler EE, Wagner BD, Accurso FJ, Sagel SD, Zemanick ET. Sputum induction improves detection of pathogens in children with cystic fibrosis. *Pediatr Pulmonol*, 2015 July; 50(7):638-46.

42- Bindu Nair, Jenny Stapp, Lynn Stapp, Linda Bugni, Jill Van Dalfsen, and Jane L. Burns. Utility of Gram Staining for Evaluation of the Quality of Cystic Fibrosis Sputum Samples. *J Clin Microbiol*, 2002 Aug; 40(8): 2791-4.

43- Lopardo H, Hernández C, Soloaga R. Diagnóstico microbiológico de infecciones respiratorias bacterianas. *Britania apuntes de laboratorio*. Buenos Aires, Argentina, 1999; 2:21-22.

44- Campbell S, Forbes BA. The Clinical Microbiology Laboratory in the Diagnosis of Lower Respiratory Tract Infections. *Journal of Clinical Microbiology*, Sept. 2011; 49(9 Suppl):30-3.

45- Ellen Jo Baron, J. Michael Miller, Melvin P. Weinstein, Sandra S. Richter, Peter H. Gilligan, Richard B. Thomson Jr. A Guide to Utilization of the Microbiology Laboratory for Diagnosis of Infectious Diseases: 2013 Recommendations by the Infectious Diseases Society of America (IDSA) and the American Society for Microbiology (ASM). *Guide to Utilization of the Microbiology Lab*, 2013; 57(4):22-121.

46- Pritt BS, Yao JD. Microbiologic Diagnosis of Lower Respiratory Tract Infection. *Murray and Nadel's Textbook of Respiratory Medicine*, January 2010; cap 18, p 378-9.

47- Gilligan P. Section 3. Aerobic Bacteriology. 3.11.3 Respiratory Cultures from Cystic Fibrosis Patients. *Clinical Microbiology Procedures Handbook*. 3° Ed, 2007 updated. Vol 1, p 3.11.3.1-9.

48- Soloaga R, Guefand L. Optimización del diagnóstico microbiológico de la neumonía de la comunidad. *Curso Diagnóstico microbiológico de enfermedades infecciosas: de la teoría al caso clínico*. Parte III. Organizado por la Asociación de Bioquímicos de la Ciudad de Buenos Aires. Argentina. Directores: Dr. Rolando Soloaga - Dra. Liliana Guefand, 2015; p. 14-5.

- 49- Silva Filho LV, Ferreira Fde A, Reis FJ, Britto MC, Levy CE, Clark O, Ribeiro JD. *Pseudomonas aeruginosa* infection in patients with cystic fibrosis: scientific evidence regarding clinical impact, diagnosis, and treatment. *J Bras Pneumol*, 2013 Jun-Aug; 39(4):495-512.
- 50- Smith EE, Buckley DG, Wu Z, et al. Genetic adaptation by *Pseudomonas aeruginosa* to the airways of cystic fibrosis patients. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2006 May; 30; 103(22):8487-92.
- 51- Koneman E W, Procop GW, Schreckenberger PC, Woods GL, Janda WM, Allen SD, Winn (h.) WC. Diagnóstico microbiológico: texto y atlas en color. Ed. Panamericana, Buenos Aires. 6° ed. (2008), p. 289-370.
- 52- J. Mac Faddin. Pruebas Bioquímicas para la Identificación de Bacterias de Importancia Clínica. Ed. Panamericana, Buenos Aires. 3° ed. 2003.
- 53- York MK. Interpretation and Rapid Identification of Bacterial Growth on Primary Culture Media. *Microbiology Procedures Handbook*. 3°Ed, 2007 updated. Vol 1, section 3 Aerobic Bacteriology 3.3.2.
- 54- York MK. Guidelines for Biochemical Identification of Aerobic Bacteria. *Microbiology Procedures Handbook*. 3° Ed, 2007 updated. Vol 1, section 3. Aerobic Bacteriology. 3.16
- 55- York MK. Traylor MM, Hardy J, Henry M. Biochemical Tests for the Identification of Aerobic Bacteria. *Microbiology Procedures Handbook*. 3°Ed, 2007 updated. Vol 1, section 3. Aerobic Bacteriology. 3.17.
- 56- Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Twenty-Fifth Informational Supplement. CLSI document M100-S25 (ISBN 1-56238-989-0 [Print]; ISBN 1-56238-990-4 [Electronic]). USA, 2015.
- 57- Busquets N, Baroni MR, Ochoteco MC, Zurbriggen ML, Virgolini S, Meneghetti FG. Aislamientos bacterianos de muestras respiratorias de pacientes pediátricos con fibrosis quística y su distribución por edades. *Revista Argentina de Microbiología* 2013; 45:44-9.
- 58- Chmiel JF, Konstan MW, Elborn JS. Antibiotic and Anti-Inflammatory Therapies for Cystic Fibrosis. *Cold Spring Harb Perspect Med* 2013 Oct; 3(10):9779.
- 59- Boggio E, Amieva C, Berruezo F, Carrizo S, Sainz P, Piñero R, Bottiglieri M. Microorganismos colonizantes de vías respiratorias en pacientes fibroquísticos. *Revista Presencia Bioquímica*, junio 2016, N°305.

