

1 **PREVALENCE OF *ASPERGILLUS* SPP. IN SAMPLES OF INDUCED SPUTO IN**
2 **PATIENTS WITH CYSTIC FIBROSIS IN ECUADOR**

3
4 **PREVALÊNCIA DE *ASPERGILLUS* SPP. EM AMOSTRAS DE ESPORTE**
5 **INDUZIDAS EM PACIENTES COM FIBROSE CÍSTICA NO EQUADOR**

6
7 **Palabras clave:** *Aspergillus*, fibrosis quística, galactomanano

8 **Keywords:** *Aspergillus*, cystic fibrosis, galactomannan

9
10 **Resumen:**

11 **Objetivos:** El objetivo de este estudio fue determinar la prevalencia de *Aspergillus* spp. a
12 partir de muestras de esputo inducido provenientes de pacientes diagnosticados con fibrosis
13 quística atendidos en el Hospital de Especialidades “Eugenio Espejo” y relacionar con el
14 ensayo galactomanano en muestras de suero.

15 **Métodos:** el presente estudio fue de tipo observacional y descriptivo, se analizaron 40
16 muestras de esputo inducido y suero de pacientes con fibrosis quística atendidos en el
17 Hospital de Especialidades “Eugenio Espejo”. En las muestras de esputo inducido se
18 identificó *Aspergillus* mediante cultivos en agares Sabouraud y Extracto de Malta. Las
19 muestras de suero fueron analizadas mediante el KIT Platelia™ *aspergillus* EIA para la
20 detección del antígeno galactomanano.

21 **Resultados:** se obtuvo una prevalencia del 20% (n=8/40) de *Aspergillus* spp. en los pacientes
22 con fibrosis quística, de los cuales *Aspergillus fumigatus* y *Aspergillus candidus*
23 constituyeron las especies más representativas en el cultivo micótico con el 37.5% (n=3/8)
24 respectivamente. El antígeno galactomanano fue detectado en el 5 % (n=2/40) en las muestras
25 de suero, de los 2 resultados positivos ninguno tuvo desarrollo micológico.

26 **Conclusiones:** En el Hospital de Especialidades “Eugenio Espejo”, *Aspergillus fumigatus* y
27 *Aspergillus candidus* son las especies más frecuentes halladas en los cultivos y posiblemente
28 causantes de exacerbaciones pulmonares. La determinación del antígeno galactomanano en
29 pacientes diagnosticados con fibrosis quística es un método que requiere exámenes
30 complementarios como estudios clínicos, radiológicos y biopsias. La co-colonización de

31 microorganismos en las vías respiratorias inferiores influye en el desarrollo de
32 complicaciones y expectativa de vida de los pacientes.

33

34 **Abstract:**

35 **Objectives:** The objective of this study was to determine the prevalence of *Aspergillus* spp.
36 from induced sputum samples from patients diagnosed with cystic fibrosis treated at the
37 Hospital de Especiales "Eugenio Espejo" and related to the galactomannan assay in serum
38 samples.

39 **Methods:** the present study was of observational and descriptive type, 40 samples of induced
40 sputum and serum of patients with cystic fibrosis treated at the Hospital de Especialidades
41 "Eugenio Espejo" were analyzed. In the induced sputum samples *Aspergillus* was identified
42 by cultures in Sabouraud and Malta Extract. The serum samples were analyzed by the KIA
43 Platelia™ *Aspergillus* EIA for the detection of the galactomannan antigen.

44 **Results:** a prevalence of 20% (n = 8/40) of *Aspergillus* spp was obtained in patients with
45 cystic fibrosis, of which *Aspergillus fumigatus* and *Aspergillus candidus* constituted the most
46 representative species in the fungal culture with 37.5% (n = 3/8) respectively. The
47 galactomannan antigen was detected in 5% (n = 2/40) in the serum samples, of the 2 positive
48 results none had mycological development.

49 **Conclusions:** At the Hospital de Especialidades "Eugenio Espejo", *Aspergillus fumigatus*
50 and *Aspergillus candidus* are the most frequent species found in crops and possibly causing
51 pulmonary exacerbations. The determination of galactomannan antigen in patients diagnosed
52 with cystic fibrosis is a method that requires complementary tests such as clinical studies,
53 radiology and biopsies. The co-colonization of microorganisms in the lower respiratory tract
54 influences the development of complications and life expectancy of patients.

55

56 **1. Introducción**

57 La fibrosis quística es una enfermedad crónica multisistémica causada por una mutación en
58 el cromosoma 7 que codifica a la Proteína Reguladora de Conductancia de Transmembrana
59 de Fibrosis Quística (CFTR), esta proteína tiene variantes genéticas y a nivel mundial la más
60 frecuente es la delección de 3 pares de bases en el codón 508 (p.F508del) (1). Esta proteína de
61 membrana se encarga de regular el transporte y secreción de sodio, cloro, agua y bicarbonato

62 en las células caliciformes del epitelio pseudoestratificado cilíndrico ciliado de las vías
63 respiratorias altas y bajas. El funcionamiento anormal de la proteína CFTR eleva
64 concentraciones de bicarbonato reduciendo modificando la concentración de aniones,
65 desequilibrando la composición del moco y aumentando la viscosidad (2). Existen diferentes
66 mutaciones en la proteína CFTR y se clasifican en 6 tipos: las clases I, II y III presentan
67 ausencia total del canal que transportan iones de cloro, y las clases IV, V y VI tiene una falla
68 parcial en la proteína CFTR. La clase de mutación que posea el paciente influirá en el
69 pronóstico y evolución de la enfermedad siendo las de clase I, II y III las más severas (3).

70 El moco proporciona un ambiente propicio para infecciones microbianas de importancia
71 clínica originadas por bacterias y hongo (4). Estas infecciones tienen una evolución de tipo
72 crónica, iniciando con el ingreso de bacterias en las vías respiratorias formando un biofilm
73 en el parénquima pulmonar facilitando la adhesión de conidios y la formación de un
74 conglomerado de hifas sin síntomas sistémicos, serológicos o microbiológicos. Si el
75 conglomerado de hifas ha progresado durante 3 meses se produce una inflamación en las
76 cavidades causando infiltrados pericavitarios o la perforación de la pleura (5). En esta etapa
77 es necesario un diagnóstico serológico y microbiológico oportuno ya que si la evolución de
78 los infiltrados pericavitarios progresa se producirá fibrosis extensa con destrucción fibrótica
79 de al menos dos nódulos del pulmón y finalmente la invasión del tejido pulmonar causará
80 necrosis y un paro respiratorio (6).

81 Uno de los agentes causales más frecuentes en la formación de los conglomerados de hifas
82 es el hongo *Aspergillus* (7), este hongo se relacionada con un incremento de exacerbaciones
83 y disminución de la función pulmonar y está asociados con la elevación de la tasa de
84 morbilidad y mortalidad (8). *Aspergillus* es un hongo filamentoso del filo Ascomycota, su
85 modo de transmisión es por medio de la diseminación de conidios asexuales, y se ha
86 identificado *Aspergillus fumigatus* como la especie más frecuente hallada en cultivos de
87 secreciones respiratorias de pacientes diagnosticados con fibrosis quística (9) debido a que
88 sus mecanismos de respuesta inmune: fagocitosis, péptidos antifúngicos y el reconocimiento
89 del patrón del receptor, se encuentran disfuncionales (10).

90 Las formas clínicas de aspergilosis presentan seis fases: colonización, sensibilización
91 serológica, aspergilosis broncopulmonar alérgica (ABPA), bronquitis aspergilar,
92 aspergiloma y aspergilosis invasiva (11). Durante el desarrollo de estas fases las

93 complicaciones que se manifiestan con mayor frecuencia son la aspergilosis broncopulmonar
94 alérgica (12) que afecta al 10 % de los pacientes causando reacciones de hipersensibilidad
95 tipo I y tipo II, eosinofilia sistémica, niveles incrementados de IgE, infiltrados pulmonares y
96 bronquiectasias (13) y la aspergilosis invasiva (AI) que ocasiona una destrucción del tejido
97 tisular y una invasión vascular de antígenos provenientes de la pared del hongo lo que
98 producen un infarto y falta de oxigenación de las estructuras distales del pulmón (14).

99 Los exámenes microbiológicos para la identificación de aspergilosis una vez iniciada los
100 síntomas clínicos se constituyen de un examen directo y el cultivo, que consiste en la
101 investigación del lugar donde se encuentra el posible aspergiloma mediante medios
102 específicos para el crecimiento e identificación del hongo.

103 Este examen se complementa con la detección de marcadores séricos como el antígeno
104 galactomanano, este antígeno es liberado durante la fase de invasión tisular y es útil como
105 prueba de inicio para la investigación de una probable aspergilosis invasiva. Aunque la
106 aspergilosis invasiva no es frecuente en pacientes con fibrosis quística que no hayan tenido
107 un trasplante pulmonar, se conoce que después de la colonización en los pulmones se genera
108 una respuesta de anticuerpos sistémica frente a antígenos de *Aspergillus* indicando la
109 invasión del hongo a través de las vías respiratorias a sangre (15). La presencia del antígeno
110 galactomanano es detectada mediante el uso de un anticuerpo monoclonal EB-A2, este
111 anticuerpo al ser captor y detector del antígeno β -(1→5)-galactofuranosido es útil para la
112 detección temprana dos a tres semanas antes de aparición de signos y síntomas de la infección
113 fúngica (16).

114 El objetivo de este estudio fue determinar la prevalencia de *Aspergillus* spp. a partir de
115 muestras de esputo inducido provenientes de pacientes diagnosticados con fibrosis quística
116 atendidos en el Hospital de Especialidades “Eugenio Espejo”.

117

118 **2. Métodos**

119 2.1 Población de sujetos y recolección de datos

120 Corresponde a 40 pacientes adultos (>18 años) con fibrosis quística ubicados en Ecuador,
121 provincia de Pichincha, cantón Quito y que están registrados en la Clínica de fibrosis quística
122 en el Hospital de Especialidades “Eugenio Espejo” (HEEE) del área de neumología en el
123 periodo de septiembre a octubre 2018.

124 Se verificó registros clínicos de los últimos seis meses para observar el seguimiento de
125 infecciones respiratorias que tuvieron los pacientes en el Hospital, además se recolecto datos
126 demográficos de sexo y edad.

127 2.2 Recolección de muestras

128 Las muestras de esputo fueron obtenidas con solución hipertónica al 4%, administrada en
129 micro nebulizadores. El transporte de muestras para el procesamiento fue a temperatura
130 ambiente (23°C) en un lapso de 2 horas con el fin de conservar estructuras fúngicas. Estas
131 muestras fueron evaluadas mediante un “score” de Bartlett (17). Según la observación al
132 microscopio se asignó una puntuación en la que se sumó el puntaje obtenido, toda muestra
133 con un resultado numérico positivo fue aceptada para el análisis microbiológico y si el
134 resultado era un número negativo la muestra era rechazada. Todas las muestras de esputo
135 inducido del presente estudio alcanzaron un puntaje positivo por lo que ninguna fue
136 descartada.

137 Las muestras de sangre fueron obtenidas mediante punción venosa con sistema al vacío en
138 tubos tapa roja con activador de coagulo y transportadas en una hielera a una temperatura de
139 2 a 8°C bajo las normas del Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) (18) para su
140 procesamiento en el laboratorio.

141

142 2.3 Análisis microbiológicos

143 Las muestras de esputo inducido fueron trasvasadas a tubos plástico estériles de 10 mL, se
144 añadió solución salina estéril al 0.9 % en igual proporción al volumen de esputo inducido
145 envasado en el tubo de plástico. Se centrifugó a 2.500 RPM durante 5 minutos, con la
146 finalidad de obtener una muestra menos viscosa. El precipitado se lo cultivo en agar
147 Sabouraud e incubo a 23°C. En un lapso de cuatro días se observó si existía desarrollo de
148 micelios y a los 10 días de incubación las cajas sin crecimiento fueron desechadas. A las
149 muestras con crecimiento micelial se las reaisló en agar malta. Se empleó la técnica de cinta
150 scotch con azul de lactofenol, para la identificación de las estructuras fenotípicas y así
151 proceder a un microcultivo incubado a 23°C en agar extracto de malta y confirmar la especie
152 de *Aspergillus* segun el Atlas de Micología: Description of Medical Fungi.

153

154 2.4 Determinación del antígeno galactomanano

155 Las muestras de sangre fueron centrifugadas a 3.500 RPM durante 10 min para obtener el
156 suero, cada uno de los sueros se colocó en tubos estériles de 1.5ml.

157 Para romper la pared del hongo y dejar expuesto el antígeno, al suero se debe aplicar un
158 tratamiento previo al procedimiento del ELISA. Siguiendo las indicaciones del kit Platelia™
159 aspergillus EIA, se mezcló 100 µL de solución de tratamiento de muestra con 300 µL de
160 suero a 120°C por 6 minutos en un termobloque, posteriormente se centrifugó a 10000
161 gravedades por 10 minutos.

162

163 Una vez lisadas las paredes del hongo de la muestra de suero, se pipeteó 50 µL del
164 sobrenadante obtenido para iniciar el enzimoimmunoanálisis, se utiliza un control positivo,
165 un negativo y dos de punto de corte. La lectura de las absorbancias se lo realizó con una
166 densidad óptica de 450 nm y un filtro de referencia de 620 nm. La interpretación se da si el
167 índice de absorbancia es mayor a 0.50 y es considerado como un resultado positivo para el
168 antígeno galactomanano.

169

170 2.5 Análisis estadístico

171 Se utilizó estadística descriptiva para la elaboración de tablas de frecuencia, porcentaje de
172 los datos demográficos de edad y sexo, frecuencia de hongos identificadas en las muestras
173 de esputo inducido y frecuencia de la detección del antígeno galactomanano.

174

175

176 **3. Resultados**

177 Se analizó un total de 40 pacientes mayores de 18 años con diagnóstico de fibrosis quística,
178 el sexo femenino es más frecuente con el 68% (n=27/40). Para ambos sexos el rango de edad
179 entre 18-22 años es el más frecuente con el 53% (n=21/40) (Tabla 1).

180 Mediante la revisión de registros clínicos se relacionó los pacientes que tuvieron desarrollo
181 de *Aspergillus* en las muestras de esputo con hallazgos históricos de colonizaciones causadas
182 por *Pseudomonas aeruginosa* tratados con el panel de antibióticos antipseudomónicos
183 (azitromicina, tobramicina, ciprofloxacina). Se evidenció que todos los pacientes con
184 desarrollo de *Aspergillus* están colonizados con *Pseudomonas aeruginosa* y, además fueron

185 sometidos a una administración prolongada de antibióticos durante toda su vida, estos
186 factores son importantes en la predisposición de infecciones fúngicas.

187

188 Del total de las muestras de esputo inducido analizadas se observó desarrollo fúngico en el
189 55% (n=22/40) de los cultivos. En esta proporción se encontró 3 grupos de hongos:
190 levaduriformes 25% (n=10/40), hialohifomicetos 20% (n=8/40) y feohifomicetos 10%
191 (n=4/40) (Tabla 2). Dentro los hialohifomicetos se identificó fenotípicamente cuatro especies
192 de *Aspergillus*, las más frecuentes fueron *Aspergillus fumigatus* 37.5% (n=3/8) y *Aspergillus*
193 *candidus* 37.5% (n=3/8) (Tabla 3), este resultado corrobora que *Aspergillus fumigatus* es uno
194 de los hongos encontrado continuamente en secreciones respiratorias, adicionalmente
195 *Aspergillus candidus* se presenta en estos pacientes con similar prevalencia. En la figura 1 se
196 pueden observar las estructuras microscopias de las especies de *Aspergillus* halladas en esta
197 investigación. En cada una de las especies se logran identificar sus características fenotípicas.
198 De las 40 muestras de suero 2 obtuvieron un índice de densidad óptica mayor al 0.5 indicando
199 un resultado positivo para el antígeno galactomanano, sin embargo en estas muestras no se
200 evidenció desarrollo de *Aspergillus* spp. en el cultivo (Tabla 4).

201

202 **3. Discusión**

203 La fibrosis quística es una enfermedad genética que afecta del mismo modo al sexo femenino
204 como masculino, según la Guía Nacional de Fibrosis Quística se estima que en el Ecuador
205 existe una incidencia de 1 en 1.252 recién nacidos, sin embargo, están registrados 187
206 pacientes con fibrosis quística en las principales clínicas ubicadas en Quito, Guayaquil y
207 Cuenca, durante los últimos años (19). Se debe tomar en cuenta que el número de pacientes
208 diagnosticados ha incrementado, aun así existe un 80% de pacientes con un subdiagnóstico,
209 lo que dificulta la obtención de datos epidemiológicos con los cuales se pueda contrastar el
210 estudio (20).

211 En esta investigación participaron 40 pacientes y se obtuvo datos de un mayor número de
212 casos de fibrosis quística en mujeres 68% esto tiene relación con los datos obtenidos en el
213 2010 por el Instituto Nacional de Estadística y Censos en el que el porcentaje de mujeres fue
214 de 51.37 % indicando que existen más mujeres en la ciudad de Quito, también se encontró
215 que el rango de edad entre 18-22 años es el más frecuente. Esto se evidencia en una

216 publicación realizada por Aquino con un promedio de edad de 20 años (21), se observa que
217 el grupo de edad más prevalente se encuentra en rangos bajos debido a la progresión de la
218 enfermedad, sin embargo la edad máxima registrada en el proyecto fue de 37 años superando
219 la expectativa de edad que indica la Guía de Fibrosis Quística de Ecuador y que se acerca
220 más a lo registrado en la Cystic Fibrosis Foundation de Estados Unidos y la Fundación
221 Canadiense de Fibrosis Quística que menciona una estimación de vida de 41.6 y 51.8 años
222 respectivamente (22).

223 Uno de los factores que reduce la expectativa de vida de pacientes con fibrosis quística son
224 las infecciones y colonizaciones que se caracterizan por tener una progresión crónica en la
225 que su función respiratoria decae por la acumulación de secreciones (23). En el presente
226 estudio hubo desarrollo micótico en las muestras de esputo inducido con una tendencia
227 similar a los datos obtenidos en el artículo publicado por Garczewska en el que se obtuvo
228 68% de hongos levaduriformes, 32% de hialohifomicetos y 7% de feohifomicetos (24). Esta
229 tendencia se mantiene similar posiblemente a la capacidad que tienen los hongos
230 anteriormente mencionado a colonizar el tracto respiratorio inferior, por tamaño de los
231 conidios infectantes o estructuras levaduriformes y por la terapia antibiótica continua que
232 tienen los pacientes con fibrosis quística para sobrellevar las distintas infecciones que los
233 aquejan (25). Es importante mencionar que a pesar de que los hialohifomicetos se desarrollan
234 de mejor manera en ambientes cálidos-húmedos, se puede observar que también está
235 ocasionando infecciones micóticas en la ciudad de Quito-Ecuador.

236 Dentro de este estudio se obtuvo una prevalencia de *Aspergillus* del 20% de las muestras de
237 esputo inducido, artículos mencionan que *Aspergillus* spp. puede aislarse en secreciones
238 respiratorias de pacientes con fibrosis quística del 5 al 25% y del 10 al 57% (26,27). Al
239 comparar los resultados obtenidos se observa que se encuentran dentro de los porcentajes
240 esperados indicando que *Aspergillus* continúa siendo uno de los hongos aislados con mayor
241 frecuencia en muestras del tracto respiratorio.

242 De las especies identificadas de *Aspergillus* en esta investigación se destacan dos, *Aspergillus*
243 *fumigatus* y *Aspergillus candidus*, siendo *Aspergillus fumigatus* la especie más descrita en
244 casos de aspergilosis con una frecuencia del 80% (28), sin embargo, también se halló
245 *Aspergillus candidus*. Este dato sugiere que *Aspergillus candidus* en nuestra región
246 es nuevo patógeno causante de infecciones respiratorias, su relevancia radica en la

247 producción de sustancias citotóxicas como la terpenina provocando el declive de la función
248 pulmonar. Solo ha sido descrito un caso de infección pulmonar invasiva en Brasil causada
249 por *Aspergillus candidus*, también menciona un alto riesgo de infección en personas que
250 están en contacto con sembríos de granos (arroz, cebada, trigo) (29). La alta prevalencia de
251 este hongo podría indicar que los pacientes con desarrollo de *Aspergillus candidus* a pesar
252 de no tener contacto directo con polvo de grano han sido expuestos indirectamente.

253 La detección del antígeno galactomanano realizado en el suero de los pacientes
254 diagnosticados con fibrosis quística tuvo una frecuencia de 5 %, en otros estudios la prueba
255 ha sido sometida a diferentes tipos de muestras como, lavado broncoalveolar y suero, así
256 como diferentes poblaciones como pacientes hematológicos, con trasplante de órganos
257 sólidos, trasplante de médula ósea. Su especificidad y sensibilidad depende de la clínica del
258 paciente (30), es así que la sensibilidad y especificidad de la prueba en pacientes
259 neutropénicos es del 85% y 95% respectivamente, en neoplasias malignas y en trasplantes de
260 medula ósea su sensibilidad es del 80 y 90% respectivamente, sin embargo en trasplante de
261 órganos sólidos la sensibilidad decae del 25 al 50 % (31), esto se debe a que en ausencia de
262 neutropenia, existe una eliminación adecuada del antígeno presente en el organismo del
263 paciente. Esta prueba tuvo la finalidad de evaluar la colonización de *Aspergillus* en pacientes
264 con fibrosis quística como una alternativa para la prevención y detección temprana de una
265 probable aspergilosis invasiva, sin embargo a pesar de existir colonizaciones de las vías
266 respiratorias por *Aspergillus*, los pacientes tienen tasas bajas de invasión endotelial y
267 enfermedad invasiva posiblemente a que la función inmune se mantiene intacta o el nivel de
268 antigenemia permanece por debajo del límite de detección de la prueba.

269

270 Autores como Zhao y Schwarz afirman aislar frecuentemente *Aspergillus* spp. en vías
271 respiratorias de pacientes con fibrosis quística, cuando existe co-colonizaciones crónicas con
272 *Pseudomonas* spp. y el uso de antibióticos inhalados como tobramicina, colistin y aztreonam
273 (7,32). Además, se ha encontrado una asociación entre las infecciones fúngicas junto con la
274 administración de antibióticos desde una temprana edad favoreciendo la destrucción de la
275 microbiota normal y promoviendo la colonización de hongos (33). Mediante la revisión de
276 las historias clínica se logró evidenciar que existe co-colonización con *Pseudomonas* spp en
277 los paciente del estudio que obtuvieron desarrollo de *Aspergillus* spp. Dentro de este grupo

278 se halló un caso de exacerbaciones a repetición que evoluciono en ABPA posiblemente puede
279 estar relacionado con la edad de la paciente que bordea la expectativa de vida y por la
280 administración de antibióticos inhalados durante un largo período de tiempo como la
281 tobramicina.

282

283 **4. Conclusiones**

284 El aislamiento de los 40 cultivos permitió conocer que dentro de las especies de *Aspergillus*,
285 *Aspergillus fumigatus* y *Aspergillus candidus* son los más prevalentes causando
286 exacerbaciones pulmonares que no se recuperan totalmente y que van reduciendo la función
287 del pulmón.

288

289 *Aspergillus candidus* no ha demostrado ser un agente infectante común en infecciones
290 pulmonares en otras regiones, sin embargo en los pacientes con fibrosis quística que acuden
291 al hospital de Especialidades “Eugenio Espejo” se encuentra como uno de los más frecuentes
292 causando infecciones respiratorias y agravando la condición de los pacientes.

293

294 El antígeno galactomanano no es un método que pueda ser utilizado individualmente en
295 pacientes con fibrosis quística debido a que en ellos, existe una depuración rápida de los
296 antígenos en el torrente sanguíneo, por tanto, el diagnóstico de aspergilosis invasiva siempre
297 debe estar complementada del análisis clínico de los signos, síntomas, exámenes
298 radiológicos y biopsias.

299

300 Es importante realizar controles microbiológicos a los pacientes diagnosticados con fibrosis
301 quística desde tempranas edades, para que pueda ser usado como marcador de progresión de
302 la enfermedad e identificar pacientes con alto riesgo de exacerbaciones.

303

304 La edad de los pacientes diagnosticados con fibrosis quística ha sido un factor determinante
305 debido a la administración prolongada de antibióticos, exacerbaciones pulmonares que
306 destruyen el tejido y las colonizaciones de microorganismos a lo largo de toda su vida.

307

308 **Conflictos de intereses**

309

310 Los autores declaran no tener conflictos de intereses.

311

312 **Fuente de financiamiento**

313 Los rubros serán asumidos en su totalidad por los investigadores del proyecto. Esta
314 investigación no recibió ninguna subvención específica de agencias de financiamiento en los
315 sectores público, comercial o sin fines de lucro.

316

317 **Agradecimientos**

318

319 Los autores agradecen al Servicio de Neumología del Hospital de Especialidades “Eugenio
320 Espejo”, al área de fisioterapia y a la Pontificia Universidad Católica del Ecuador.

321

322 **5. Referencias**

323 1. Castellani C, Assael BM. Cystic fibrosis: a clinical view. Cell Mol Life Sci [Internet].
324 5 de enero de 2017 [citado 5 de enero de 2019];74(1):129-40. Disponible en:
325 <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27709245>

326 2. Elborn JS. Cystic fibrosis. Lancet [Internet]. 19 de noviembre de 2016 [citado 5 de
327 enero de 2019];388(10059):2519-31. Disponible en:
328 <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27140670>

329 3. Fielbaum Ó. MANEJO ACTUAL DE LA FIBROSIS QUÍSTICA. Rev Médica
330 Clínica Las Condes [Internet]. 1 de enero de 2017 [citado 2 de febrero de
331 2019];28(1):60-71. Disponible en:

332 <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0716864017300159>

333 4. Jones AM, Horsley A, Denning DW. What is the importance of classifying *Aspergillus*
334 disease in cystic fibrosis patients? Expert Rev Respir Med [Internet]. 29 de agosto de
335 2014 [citado 5 de enero de 2019];8(4):389-92. Disponible en:
336 <http://www.tandfonline.com/doi/full/10.1586/17476348.2014.915751>

337 5. Denning DW, Cadranel J, Beigelman-Aubry C, Ader F, Chakrabarti A, Blot S, et al.
338 Chronic pulmonary aspergillosis: Rationale and clinical guidelines for diagnosis and
339 management. Eur Respir J [Internet]. 2016;47(1):45-68. Disponible en:

- 340 <http://dx.doi.org/10.1183/13993003.00583-2015>
- 341 6. Kosmidis C, Denning DW. The clinical spectrum of pulmonary aspergillosis. *Postgrad*
342 *Med J*. 2015;91(1077):403-10.
- 343 7. Zhao J, Cheng W, He X, Liu Y. The co-colonization prevalence of *Pseudomonas*
344 *aeruginosa* and *Aspergillus fumigatus* in cystic fibrosis: A systematic review and
345 meta-analysis. *Microb Pathog* [Internet]. 2018;125(July):122-8. Disponible en:
346 <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2018.09.010>
- 347 8. Schwarz C, Hartl D, Eickmeier O, Hector A, Benden C, Durieu I, et al. Progress in
348 Definition, Prevention and Treatment of Fungal Infections in Cystic Fibrosis.
349 *Mycopathologia* [Internet]. febrero de 2018 [citado 5 de enero de 2019];183(1):21-32.
350 Disponible en: <http://link.springer.com/10.1007/s11046-017-0182-0>
- 351 9. Álvarez Lerma F, Olaechea Astigarraga P, Palomar Martínez M, Rodríguez Carvajal
352 M, Machado Casas JF, Jiménez Quintana MM, et al. Infecciones respiratorias por
353 *Aspergillus* spp. en pacientes críticos ingresados en unidades de cuidados intensivos.
354 *Med Intensiva* [Internet]. 1 de abril de 2015 [citado 5 de enero de 2019];39(3):149-59.
355 Disponible en:
356 [https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S021056911400045X?via%3D](https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S021056911400045X?via%3Dihub)
357 ihub
- 358 10. Cowley AC, Thornton DJ, Denning DW, Horsley A. Aspergillosis and the role of
359 mucins in cystic fibrosis. *Pediatr Pulmonol*. 2017;52(4):548-55.
- 360 11. Felton IC, Simmonds NJ. *Aspergillus* and cystic fibrosis: old disease - new
361 classifications. *Curr Opin Pulm Med* [Internet]. 2014;20(6):632-8. Disponible en:
362 <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25229669>
- 363 12. Noni M, Katelari A, Dimopoulos G, Doudounakis SE, Tzoumaka-Bakoula C, Spoulou
364 V. *Aspergillus fumigatus* chronic colonization and lung function decline in cystic
365 fibrosis may have a two-way relationship. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*.
366 2015;34(11):2235-41.
- 367 13. Oguma T, Taniguchi M, Shimoda T, Kamei K, Matsuse H, Hebisawa A, et al. Allergic
368 bronchopulmonary aspergillosis in Japan: A nationwide survey. *Allergol Int*
369 [Internet]. 2018;67(1):79-84. Disponible en:
370 <http://dx.doi.org/10.1016/j.alit.2017.04.011>

- 371 14. Schwarz C, Brandt C, Whitaker P, Sutharsan S, Skopnik H, Gartner S, et al. Invasive
372 Pulmonary Fungal Infections in Cystic Fibrosis. *Mycopathologia*. 2018;183(1):33-43.
- 373 15. Desoubeaux G, Bailly E, Chandenier J. Diagnosis of invasive pulmonary aspergillosis:
374 Updates and recommendations. *Med Mal Infect* [Internet]. 2014;44(3):89-101.
375 Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.medmal.2013.11.006>
- 376 16. Mayans ER, González FÁ. Infección fúngica invasiva (IFI): actualización. *Protoc*
377 *diagnóstico-terapéuticos la AEP Infectología pediátrica*. :135-47.
- 378 17. Cabezas L, Caiata L, Gutiérrez C. Manual de recolección, procesamiento e
379 interpretación de cultivos en muestras clínicas obtenidas para estudio bacteriológico.
380 2018;77. Disponible en: [https://cursos.evimed.net/wp-content/uploads/2018/03/ATB-](https://cursos.evimed.net/wp-content/uploads/2018/03/ATB-01-Seija-Manual-muestras-ES-PUB.pdf)
381 [01-Seija-Manual-muestras-ES-PUB.pdf](https://cursos.evimed.net/wp-content/uploads/2018/03/ATB-01-Seija-Manual-muestras-ES-PUB.pdf)
- 382 18. Adcock DM, Hoefner DM, Kottke-Marchant K, Marlar RA, Szamosi DI, Warunek
383 DJ. Collection , Transport, and Processing of Blood Specimens for Testing Plasma-
384 Based Coagulation Assays and Molecular Hemostasis Assays; CLSI Approved
385 Guideline-Fifth Edition. H21-A5. *Clin Lab Stand Inst*. 2008;28(5):H21-A5.
- 386 19. Martínez DM. Fibrosis quística en Ecuador. 2001;3321.
- 387 20. Pr DE, CI C, Procedimientos MDE. *CLÍNICA y MANUAL DE*. 2012;(36).
- 388 21. Aquino R, Gonzáles E, Samaniego S, Rivera J, Cedeño V, Urbina Y, et al.
389 Caracterización molecular de bacterias patógenas de las vías respiratorias de pacientes
390 peruanos con fibrosis quística. *Rev Peru Med Exp Salud Publica* [Internet].
391 2017;34(3):423. Disponible en:
392 <http://www.rpmesp.ins.gob.pe/index.php/rpmesp/article/view/2529>
- 393 22. Gartner S, Posadas AS. Enfermedad respiratoria en la fibrosis quística. 2017;(1):299-
394 320.
- 395 23. Brandt C, Roehmel J, Rickerts V, Melichar V, Niemann N, Schwarz C. *Aspergillus*
396 *Bronchitis in Patients with Cystic Fibrosis*. *Mycopathologia*. 2018;183(1):61-9.
- 397 24. Garczewska B, Jarzynka S, Kuś J, Skorupa W, Augustynowicz-Kopec E. Fungal
398 infection of cystic fibrosis patients - single center experience. *Pneumonol Alergol Pol*.
399 2016;84(3):151-9.
- 400 25. Graziani Noriega D, Ampuero López A. Diagnostic and therapeutic protocol of
401 aspergillosis. *Med*. 2018;12(64):3780-3.

- 402 26. King J, Brunel SF, Warris A. Aspergillus infections in cystic fibrosis. J Infect
403 [Internet]. 2016;72:S50-5. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jinf.2016.04.022>
- 404 27. López Mojares L, Pérez Ruiz M. Fibrosis quística. Actividad física, deporte, ejercicio
405 y salud en niños y adolescentes. 2010. 257-286 p.
- 406 28. Máiz L, Cuevas M, Lamas A, Sousa A, Quirce S, Suárez L. Aspergillus fumigatus y
407 Candida albicans en la fibrosis quística: Significado clínico e inmunorrespuestas
408 séricas específicas de inmunoglobulinas G, A y M. Arch Bronconeumol.
409 2008;44(3):146-51.
- 410 29. Ribeiro SCC, Santana ANC, Arriagada GH, Martins JEC, Takagaki TY. A novel cause
411 of invasive pulmonary infection in an immunocompetent patient: Aspergillus
412 candidus. J Infect. 2005;51(4):195-7.
- 413 30. Farmakiotis D, Le A, Weiss Z, Ismail N, Kubiak DW, Koo S. False positive
414 bronchoalveolar lavage galactomannan: Effect of host and cut-off value. Mycoses.
415 2018;(617):0-1.
- 416 31. Toro-Lezcano MM, Molina Saldarriaga F, Soto AF, Díaz Granados Cuenca L, Guerra
417 Villafañe A. Aspergilosis invasiva en unidad de cuidado intensivo. Infectio.
418 2015;19(1):35-9.
- 419 32. Schwarz C, Bouchara JP, Buzina W, Chrenkova V, Dmeńska H, de la Pedrosa EGG,
420 et al. Organization of Patient Management and Fungal Epidemiology in Cystic
421 Fibrosis. Mycopathologia. 2018;183(1):7-19.
- 422 33. Acosta N, Heirali A, Somayaji R, Surette MG, Workentine ML, Sibley CD, et al.
423 Sputum microbiota is predictive of long-term clinical outcomes in young adults with
424 cystic fibrosis. Thorax. 2018;73(11):1016-25.
- 425