

Comparación del estado clínico-funcional en niños con fibrosis quística detectados por pesquisa neonatal o por síntomas clínicos

Comparing the clinical-functional state in children with cystic fibrosis detected by neonatal screening or by clinical symptoms

Dra. Virginia D'Alessandro^a, Dr. Fernando Rentería^a, Dra. Adriana Fernández^b, Dra. María I. Martínez^b y Dr. Edgardo Segal^a

RESUMEN

Introducción. La pesquisa neonatal para fibrosis quística (FQ) ha demostrado que en los pacientes diagnosticados y tratados precozmente se asocia con mejores resultados clínicos y funcionales.

Objetivo. Comparar el estado clínico-funcional en niños con FQ detectados por pesquisa neonatal o por síntomas clínicos.

Población, material y métodos. Estudio transversal. Se compararon dos grupos apareados por edad, sexo y genotipo. Un grupo detectado por pesquisa neonatal (Grupo P) y otro por síntomas (Grupo S), confirmados con prueba del sudor. Se evaluaron: edades al diagnóstico y al ingreso al centro, puntaje z peso/edad (z P/E) en la primera visita y z de índice de masa corporal (z IMC) y de talla/edad (z T/E) al último control, puntaje de Shwachman-Brasfield (S/B), volumen espiratorio forzado en el 1er segundo (VEF₁), primer aislamiento de *Pseudomonas aeruginosa* (Pa) y número de hospitalizaciones.

Resultados. De 250 pacientes en seguimiento, se incluyeron 21 pacientes en cada grupo. La edad (media) de ambos fue 4,4 años. La edad al diagnóstico fue más temprana en el grupo P que en el grupo S (p=0,002, IC 95%: -1,11/-0,32). El z P/E diagnóstico, z IMC, z T/E, puntaje S/B y VEF₁ fueron mejores en el grupo P (p<0,001; 0,3; 0,01; 0,02; 0,1 respectivamente). La edad promedio del primer aislamiento de Pa y la media de hospitalizaciones fue menor en el grupo P (p=0,34, IC95%: -1,45/0,51, p=0,04, IC95%: -3,16/-0,07; respectivamente).

Conclusiones. Los niños con FQ detectados a través de programas de pesquisa neonatal presentan un mejor estado clínico y funcional.

Palabras clave: fibrosis quística, pesquisa neonatal, diagnóstico temprano, tratamiento oportuno.

SUMMARY

Introduction. Newborn Screening for Cystic Fibrosis (CF) has demonstrated better clinical and functional results in patients diagnosed and treated prematurely.

Objective. To compare clinical and functional state in children with CF detected by newborn screening or by symptoms.

Patients and methods. Cross-sectional study. We compared two groups paired by age, sex and genotype. A group detected by newborn screening

(Group N) and other by symptoms (Group S), both confirmed with sweat test. We evaluated: age at diagnosis and enter to the center, z score weight/age (z W/A) at first visit and z score for body mass index (BMI) and height/age (z H/A) in last control, score of Shwachman-Brasfield (S/B), forced expiratory volume in one second (FEV₁), first isolation of *Pseudomonas aeruginosa* (Pa) and number of hospitalizations.

Results. We included 21 patients in each of the groups from an universe of 250 patients treated in our center. The mean of both groups was 4.4 years. The age at diagnosis was lower in the group N than in the group S (p=0.002, IC95%: -1.11/-0.32). z W/A at diagnosis; z IMC; z H/A, score S/B and FEV₁ were better in group N (p<0.001, 0.3, 0.01, 0.02, 0.1, respectively).

The average age of first isolation of Pa and the average of hospitalizations was lower in group N (p=0.34, IC95%: -1.45/0.51, p=0.04, IC95%: -3.16/-0.07).

Conclusions. Children with CF detected by neonatal screening programs had better clinical and functional outcome.

Key words: cystic fibrosis, newborn screening, early diagnosis, opportune treatment.

a. Servicio de Neumonología.
b. Servicio de Nutrición.
Hospital de Niños "Sor María Ludovica" de La Plata.

Conflicto de intereses:
Nada que declarar.

Correspondencia:
Dra. Virginia D'Alessandro:
dalevi73@hotmail.com

Recibido: 7-11-08
Aceptado: 11-6-09

INTRODUCCIÓN

La fibrosis quística (FQ) es la enfermedad genética grave más frecuente en individuos de raza blanca. La incidencia estimada en la Argentina es de 1/5.600 recién nacidos vivos.¹ Es una enfermedad con amplia variabilidad en la presentación clínica, tasa de progresión y deterioro funcional. En 1989 se identificó y secuenció el gen regulador de conductancia de transmembrana, conocido como CFTR (*Cystic Fibrosis Transmembrane Conductance Regulator*), de cuyas mutaciones es expresión la enfermedad. Factores genéticos y ambientales influyen en el

pronóstico. De los genéticos, el más significativo es el genotipo del CFTR, con más de 1.500 variantes descritas. Es importante destacar el papel que cumplen los genes modificadores y su influencia en la gravedad de la FQ, mientras que el sexo tendría una trascendencia menor. El estudio de la mutación (genotipo) y la expresión clínica (fenotipo) ha sido objeto de amplia investigación.^{2,3}

Funcionalmente, las mutaciones en el gen CFTR asociadas a FQ pueden ser clasificadas en cinco variantes según el camino biosintético y la alteración en la función: Clase I) defecto en la síntesis de CFTR; Clase II) alteración en el proceso de síntesis con producción anormal de CFTR; Clase III) producción y tránsito intracelular del CFTR, con alteración de la activación y regulación de la membrana y sin activación por ATP ni AMPc; Clase IV) expresión de CFTR, con reducción de la conductancia de cloruros; Clase V) disminución de la cantidad de CFTR en la membrana celular. Las mutaciones asociadas con la pérdida completa de la función del CFTR (clases I y II) resultan en una expresión fenotípica clásica de la FQ, mientras que aquellas que conservan una actividad parcial del canal de cloruros (clases III, IV y V), pueden asociarse a valores limítrofes de la prueba del sudor, suficiencia pancreática y edad de diagnóstico tardía. La mutación p.PHE508del (correspondiente a la clase II) es la más frecuente en los pacientes con FQ y está presente en aproximadamente el 66% de los cromosomas afectados estudiados en el mundo, mientras que en la Argentina su frecuencia es de entre el 55 y 64%. Estas frecuencias son más altas que en el resto de América latina.^{4,5}

No existe hasta el momento un tratamiento curativo de la FQ, pero se ha demostrado la eficacia del tratamiento basado en las alteraciones fisiopatológicas para modificar su historia natural, con mejora de la supervivencia y la calidad de vida. Por este motivo se considera muy importante el diagnóstico temprano para tratar las manifestaciones pulmonares, digestivas y nutricionales en forma precoz. En nuestro país, el subdiagnóstico es frecuente y el diagnóstico es realizado en forma tardía en un gran número de pacientes.

Las pruebas para la pesquisa neonatal de la FQ se basan en la presencia de concentraciones elevadas de tripsina catiónica inmunorreactiva (TIR) en el suero, enzima producida en el páncreas. La estrategia empleada para su detección en el Programa de la Pcia. de Buenos Aires es la denominada TIR/TIR, que consiste en el análisis de TIR en una muestra de sangre extraída durante la prime-

ra semana de vida, en la que también se analizan la presencia de fenilcetonuria, hipotiroidismo, hiperplasia suprarrenal, deficiencia de biotinidasa y galactosemia, seguida de una segunda muestra de TIR, en el caso que el valor de la primera sea mayor a 70 ng/ml (valor límite). Los niños con dos pruebas cuyos valores superan el valor límite son estudiados con la prueba del sudor, método que puede confirmar el diagnóstico.

Se han desarrollado estudios observacionales y aleatorizados⁶ para evaluar los beneficios de la pesquisa, pero se han comunicado sólo dos aleatorizados. El más importante es el de la cohorte de Wisconsin;⁷ en él se informa que la edad al diagnóstico es un factor importante que influye sobre el estado nutricional y que el retraso en el diagnóstico incrementa la frecuencia de malnutrición en la infancia. En el ámbito local y de nuestro conocimiento, no existen hasta el momento estudios publicados sobre su efecto en la población.

El objetivo de este estudio fue comparar el grado de afectación clínica y funcional en niños con FQ detectados por pesquisa neonatal o por síntomas clínicos seguidos en el Centro Provincial.

POBLACIÓN, MATERIAL Y MÉTODOS

Se desarrolló un estudio de diseño transversal, con los datos correspondientes a las historias clínicas de los 250 pacientes en seguimiento en el Centro Provincial de Fibrosis Quística del Hospital de Niños "Sor María Ludovica" durante el año 2004.

Criterios de inclusión: de los pacientes seguidos en el centro con diagnóstico de FQ confirmado por prueba del sudor y estudio genético, se seleccionaron todos los que fueron detectados por pesquisa neonatal (P) y se los comparó con un grupo control cuyo diagnóstico fue realizado por síntomas clínicos (S), apareándolos por fecha de nacimiento, sexo y genotipo (clases de mutaciones), como estrategia de control de variables de confusión.

Criterios de exclusión: se excluyeron aquellos con antecedentes de prematuridad, enfermedad cardiovascular o pulmonar crónica no FQ.

El análisis de las mutaciones del CFTR se realizó mediante PCR por 3 métodos: 1) heterodúplex; 2) restricción enzimática y 3) mutagénesis dirigida y restricción enzimática. Las mutaciones analizadas fueron p.PHE508del, p.Gly542X, p.Asn1303Lys, p.Trp1282X, p.Gly551Asp, p.Arg553X, p.Arg1162X, p.Arg334Trp y p.Ile507del,⁸ agrupándose en las diferentes clases (I, II, III, IV y V) según el criterio funcional antes mencionado, de modo de obtener dos poblaciones homogéneas para su posterior comparación.

Se evaluó edad al diagnóstico y al momento de ingreso al Centro Provincial (expresada en años).

El estado nutricional al diagnóstico se evaluó mediante puntaje Z de peso para la edad (z P/E) y al momento del estudio por z P/E en menores de 2 años y por z de índice de masa corporal (z IMC) y z de talla para la edad (z T/E) en mayores de 2 años. Los puntajes z fueron calculados con el programa EpiInfo según tablas del Centro de Control de Enfermedades de EE.UU. del año 2000.

Para la categorización del grado de afectación al momento de la evaluación se utilizó el puntaje clínico-radiológico de Schwachman-Brasfield aceptado universalmente.⁹

La función pulmonar fue evaluada mediante la medición del volumen espiratorio forzado en el 1er segundo (VEF₁) con espirómetro Medical Graphics 1070. Esta prueba se realizó en niños mayores de 6 años (6 para el grupo P y 8 para el grupo S) capaces de realizar una maniobra adecuada y reproducible, y para los cuales existen tablas de referencia de valores esperados según edad, sexo y talla.¹⁰ Se evaluó edad al primer aislamiento de *Pseudomonas aeruginosa* y número de hospitalizaciones por exacerbaciones respiratorias desde su ingreso al centro.

Análisis estadístico: los resultados fueron expresados en medias y desvíos estándar (DE) para

las variables continuas con distribución normal. Se utilizó la prueba "t" de Student para comparar las medias de los indicadores con el programa SPSS 9.0. Se consideró una significación de $p < 0,05$.

Consideraciones éticas: se solicitó y obtuvo la aprobación del comité de Docencia e Investigación de la institución.

RESULTADOS

Se incluyeron 42 pacientes en dos grupos: 21 detectados por pesquisa neonatal y 21 por síntomas clínicos. La edad media al momento de la evaluación en el Grupo P fue de $4,2 \pm 2,55$ y de $4,4 \pm 2,58$ años para el grupo S (12 varones y 9 mujeres en cada grupo). En el grupo S el diagnóstico se sospechó por la presencia de síntomas respiratorios en el 76%, desnutrición en 76% e íleo meconial en un paciente (4,7%).

La determinación del genotipo evidenció mutaciones de clase II en el 57,1% de los integrantes de cada grupo. La mutación p.PHE508del fue la más frecuentemente detectada en el estado homocigota.

La edad al diagnóstico fue de $0,16 \pm 0,13$ años en el grupo P y $1,03 \pm 1,23$ años en el grupo S ($p < 0,002$). La edad de ingreso al centro fue de $0,98 \pm 1,69$ años en el grupo P y de $1,28 \pm 1,25$ años en el grupo S, sin hallarse diferencia estadísticamente significativa ($p > 0,5$).

El estado nutricional al diagnóstico se vio afectado en el grupo S con un puntaje de z P/E de $-2,33 \pm 1,32$ contra $-0,66 \pm 0,79$ en el grupo P ($p < 0,001$).

La evolución de ambos grupos de pacientes muestra que logran alcanzar un peso adecuado para la talla expresado como z IMC: grupo P $0,19 \pm 1,04$, GS $-0,17 \pm 0,99$ ($p > 0,31$). El z T/E mostró diferencias significativas en el grupo S con una media de $-0,68 \pm 0,72$ respecto al grupo P $0,1 \pm 0,95$ ($p < 0,01$) (Gráfico 1).

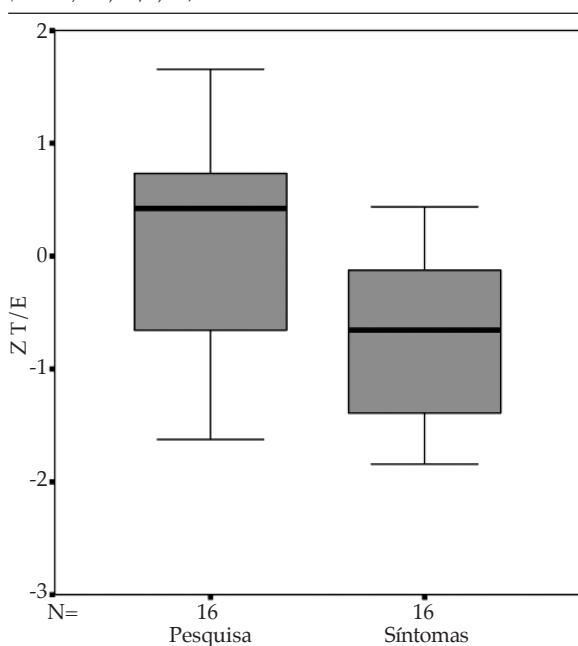
La edad en el momento del 1er aislamiento de *Pseudomonas aeruginosa* fue menor en el grupo P que en el grupo S, sin diferencia significativa ($p > 0,34$).

El puntaje clínico-radiológico fue significativamente más alto en el grupo P que en el grupo S (81,2 y 73,1 puntos; respectivamente) ($p < 0,02$).

Si bien la media de VEF₁ en los pacientes del grupo P fue de $99\% \pm 17,8$ y de $81\% \pm 20$ en los pacientes del grupo S, esta diferencia no fue estadísticamente significativa ($p > 0,1$).

El grupo P experimentó menor número de hospitalizaciones desde el comienzo en el seguimiento en el Centro que el grupo S (1,47 contra 3,09, respectivamente; $p > 0,04$). (ver Tabla 1).

GRÁFICO 1. Puntaje z T/E entre grupo P y grupo S. El z T/E fue mayor en el grupo P que en el grupo S (IC 95% 0,18/1,40)



DISCUSIÓN

Existe una gran cantidad de variables que pueden influir en la expresión clínica de la enfermedad. La correlación entre el genotipo y el funcionalismo pancreático y del aparato reproductor es muy alta, pero no lo es en relación a la enfermedad pulmonar; influyen otros factores distintos a los genéticos, como medioambientales, exposición a agentes patógenos respiratorios, diferencias en el tratamiento médico que podrían influir en la manifestación clínica.

Los programas de pesquisa neonatal de FQ, que en algunos países datan de más de 25 años, en la provincia de Buenos Aires comenzaron en 1995. Han permitido que un número creciente de pacientes con FQ se beneficie con estrategias oportunas de manejo y tratamiento. De esta manera es posible: 1) prevenir la malnutrición, 2) evitar la deficiencia prolongada de vitamina E y su consiguiente déficit cognitivo, 3) prevenir la depleción grave de sal, 4) realizar evaluaciones periódicas de la afectación pulmonar, 5) organizar su asistencia y evitar el contacto con pacientes con *Pseudomonas aeruginosa* (*Pa*), 6) monitorear la adquisición de *Pa* y su tratamiento precoz e intensivo, para evitar o postergar la infección crónica, y 7) brindar consejo genético a la familia.^{11,12}

El presente trabajo compara el estado clínico y funcional de niños con FQ detectados por pesquisa neonatal en la Pcia. de Buenos Aires con el de los diagnosticados por síntomas. En este último grupo, el diagnóstico se realiza frecuentemente en forma tardía, cuando los pacientes tienen una importante afectación pulmonar y nutricional.

Al igual que otros estudios publicados, en-

contramos diferencias en el estado nutricional al momento del diagnóstico entre los dos grupos, debido a la menor edad en la que se lo realizó en los pacientes de pesquisa neonatal. En el grupo detectado por síntomas, la desnutrición fue uno de los signos indicadores de FQ que llevó a la sospecha diagnóstica. Se eligió el puntaje z de peso para la edad (z P/E) como marcador del estado nutricional por la mayor proporción de lactantes al momento del diagnóstico y por ser un dato disponible en todas las historias clínicas. En uno de los estudios aleatorizados más extensos realizados hasta el momento, Farrell y col.⁷ hallaron mejores percentilos de peso, talla y perímetro cefálico en el grupo diagnosticado por pesquisa que en el grupo control, con la particularidad de ser más evidente en pacientes homocigotas para la mutación p.Phe508del. En el grupo control se encontró mayor número de pacientes por debajo del percentilo 10 para peso y talla. También se demostró que la edad tardía al diagnóstico es un factor importante para determinar el estado nutricional, y que, junto con la insuficiencia pancreática, incrementan el riesgo de desnutrición durante la infancia. En cambio, en otro estudio aleatorizado realizado en Gran Bretaña, Chatfield y col.¹³ no encontraron diferencias en este aspecto con un seguimiento hasta los 4 años de edad. De todos modos, la mayor parte de los estudios observacionales¹⁴⁻¹⁶ y aleatorizados muestran beneficios en el estado nutricional en el grupo pesquisa, como se evidenció en el grupo de Wisconsin hasta con 10 años de seguimiento o en un estudio realizado en Italia¹⁷ con un mayor IMC a los 18 años de edad. De esta forma, se lograría minimizar los efectos nocivos de la des-

TABLA 1. Resultados de las variables analizadas en los casos del grupo diagnosticado por pesquisa (grupo P) y por síntomas (grupo S)

VARIABLES	GRUPO P	GRUPO S	p	t
Edad al diagnóstico (años)	0,16 ± 0,13	1,03 ± 1,23	0,002	-3,22
Edad derivación (años)	0,98 ± 1,69	1,28 ± 1,25	0,5	-0,65
Edad 1 ^{er} aislamiento <i>Pseudomonas aeruginosa</i> (años)	1,18 ± 1,29	1,65 ± 1,77	0,34	-0,95
Nº hospitalizaciones	1,47 ± 1,56	3,09 ± 3,12	0,04	-2,12
Puntaje clínico-radiológico	81,2 ± 11,5	73,1 ± 11,42	0,02	2,26
VEF ₁ (% del valor predicho)	99 ± 17,8	81 ± 20	0,1	1,74
Z P/E diagnóstico	-0,66 ± 0,79	-2,33 ± 1,32	<0,001	4,93
Z P/E actual	-0,89 ± 0,73	-1,82 ± 1,14	0,13	1,62
Z IMC actual	0,19 ± 1,04	-0,17 ± 0,99	0,3	1,02

Los resultados fueron expresados en medias ± desvíos estándar (DE).

nutrición en la función pulmonar, en la defensa contra las infecciones y en el desarrollo cognitivo.

Los resultados de nuestro trabajo revelan que los pacientes del grupo S mejoran su estado nutricional con el seguimiento. Aun a pesar de que no lograron alcanzar los valores del grupo P, queda claro que la intervención nutricional es vital en los pacientes con FQ. La talla para la edad es menor en el grupo S, respecto de los diagnosticados por pesquisa que tienen una talla cercana a la media de la población de referencia. La talla es un buen indicador de la historia nutricional de un niño y es el resultado de varios factores (genéticos, nutricionales, endocrinológicos) que confluyen en el crecimiento normal. El seguimiento en el tiempo mostrará el resultado final de la talla en ambos grupos, ya que todos los pacientes son menores de 10 años en el momento del corte.

Definir los beneficios en relación al aparato respiratorio del grupo P se basa en la oportunidad de la identificación temprana de la enfermedad y sus complicaciones, así como en el tratamiento adecuado. Al momento del estudio, se observaron diferencias en el puntaje clínico-radiológico de Shwachman-Brasfield. Los puntajes para las radiografías de tórax fueron significativamente mejores para el grupo P, pero con tendencia a tener anomalías a mayor edad no obstante el leve compromiso clínico.⁴⁻¹⁸ Como en otros estudios, no hubo diferencias significativas en la edad (media) del primer aislamiento de *Pseudomonas aeruginosa*.^{19,20} El VEF₁ no mostró diferencias significativas, posiblemente por el bajo número de niños que estaban en condiciones de realizar la prueba de función pulmonar.

Cuando se analizó la frecuencia de hospitalizaciones se halló que los niños detectados por síntomas requirieron un mayor número de ellas como expresión de la gravedad y recurrencia de las exacerbaciones respiratorias.

La edad al diagnóstico fue significativamente menor en el grupo P, pero no hallamos diferencias en la edad de ingreso al centro, ya que algunos pacientes fueron derivados en forma tardía desde otro centro de atención, lo que pudo ocasionar un sesgo en la evaluación.

Nuestro trabajo no es un estudio aleatorizado, pero hemos comparado dos poblaciones homogéneas en cuanto a edad, sexo y genotipo. El número de pacientes es limitado para obtener conclusiones definitivas, lo cual posiblemente determine una baja potencia estadística. Sin embargo, los resultados obtenidos son similares a los de la bibliografía internacional.

En relación con nuestros hallazgos y los referidos en países con alto nivel de desarrollo, debemos considerar que la mayoría de nuestra población carece de condiciones socioeconómicas adecuadas.

La mayoría de los estudios publicados demuestran beneficios y logros en el estado nutricional y, en menor medida, en el grado de afectación del aparato respiratorio. Sería interesante poder realizar una evaluación funcional desde el diagnóstico en ambos grupos y continuarla en el tiempo para poder objetivar la afectación respiratoria, como también poder determinar el compromiso estructural con estudios por imágenes, como la tomografía de tórax de alta resolución.

En conclusión, este estudio demuestra un mejor estado nutricional y puntaje clínico radiológico, y menor número de hospitalizaciones en niños detectados por pesquisa neonatal. Es de interés continuar la evaluación de ambos grupos en el tiempo para lograr una mejor apreciación de los resultados. El beneficio de la detección temprana es la oportunidad de monitorear de forma adecuada las manifestaciones clínicas de las infecciones respiratorias, prevenir la desnutrición, indicar terapias precoces que ayuden a disminuir la inflamación de la vía aérea y prescribir antibióticos adecuados para evitar el daño pulmonar irreversible. ■

BIBLIOGRAFÍA

1. Borrajo GJC, Pistaccio LG, Gómez FR, et al. Diez años de experiencia en la pesquisa neonatal de fibrosis quística. Libro de resúmenes. 4^o Congreso Argentino de Neumología pediátrica. Diciembre de 2005. [Acceso: 15 de febrero de 2008] [Disponible en: http://www.sap.org.ar/staticfiles/actividades/congresos/congre2005/neumo/tl_neumo.pdf/página 42].
2. Kerem E, Corey M, Kerem BS, et al. The relation between genotype and phenotype in cystic fibrosis-analysis of the most common mutation (delta F508). *N Engl J Med* 1990;323(22):1517-22.
3. Hamosh A, Corey M. Correlation between genotype and phenotype in patients with cystic fibrosis: the cystic fibrosis genotype-phenotype consortium. *N Engl J Med* 1993;329(18):1308-1313.
4. Pivetta O, Luna M, Granados P. Genética. En: Segal E, Fernández A, Rentería F. Fibrosis quística, Buenos Aires: Ed Journal 2004; Págs. 5-14.
5. Nissim-Rafinia M, Kerem B, Kerem E. Molecular biology of cystic fibrosis: CFTR processing and functions, and classes of mutations. En: Hodson M, Geddes D and Bush A. Cystic fibrosis, 3th Ed. Ed Arnold 2007;49-58.
6. Castellani C. Evidence for newborn screening for cystic fibrosis. *Paediatr Respir Rev* 2003;4:278-284.
7. Farrell P, Kosarak M, Koch M, et al. Early diagnosis of CF through neonatal screening prevents severe malnutrition and improves long term growth. *Pediatrics* 2001;107(1):1-13.
8. Ogino S, Gulley ML, den Dunnen JT, Wilson RB, and the Association for Molecular Pathology Training and Education Committee. Standard mutation nomenclature in mo-

- lecular diagnostics. Practical and educational challenges. *J Mol Diagn* 2007;9(1):1-6.
9. Segal E, Rentería F, D'Alessandro V. Manifestaciones clínicas y evaluación. En: Segal E, Fernández A, Rentería F. Fibrosis quística, Buenos Aires: Ed Journal; 2004. Págs 101-135.
 10. Miller MR, Hankinson J, Brusasco V, et al. ATS/ERS standardization of lung function testing: standardization of spirometry. *Eur Respir J* 2005;26:319-338.
 11. Balfour-Lynn IM. Newborn screening for cystic fibrosis: evidence for benefit. *Arch Dis Child* 2008;93:7-10.
 12. Rock MJ. Newborn screening for cystic fibrosis. *Clin Chest Med* 2007;28(2):297-305.
 13. Chatfield S, Owen G, Ryley HC, et al. Neonatal screening for CF in Wales and West Midlands: clinical assessment after years of screening. *Arch Dis Child* 1991; 66:29-33.
 14. Waters DL, Wilcken B, Irwig L, et al. Clinical outcomes of newborn screening for cystic fibrosis. *Arch Dis Child Fetal Neonatal ed* 1999;80:F1-F7.
 15. Dankert-Roelse JE, te Meerman GJ. Long term prognosis of patients with cystic fibrosis in relation to early detection by neonatal screening and treatment in a cystic fibrosis centre. *Thorax* 1995; 50:712-718.
 16. Dankert-Roelse JE, te Meerman GJ, Martijn A, et al. Survival and clinical outcome in patients with cystic fibrosis, with and without screening. *J Pediatr* 1989;114:362-367.
 17. Mastilla G, Zanolla L, Castelani C, et al. Neonatal screening for CF: long term clinical balance. *Pancreatology* 2001;1:531-537.
 18. Farrell PM, Ksorok MR, Rock MJ, et al. Lung disease in patients with cystic fibrosis diagnosed through neonatal screening or after delays associated with traditional methods. *Pediatr Pulmonol* 2002;S24:319.
 19. Siret D, Bretaudeau G, Branger B, et al. Comparing the clinical evolution of cystic fibrosis screened neonatally to that of cystic fibrosis diagnosed from clinical symptoms: A 10 year retrospective study in a French region (Brittany). *Pediatr Pulmonol* 2003;35:342-349.
 20. Farrell PM, Shen G, Splaingard M, et al. Acquisition of *Pseudomonas aeruginosa* in children with cystic fibrosis. *Pediatrics* 1997; 100:886.

No desees y serás el hombre más rico del mundo.

Miguel de Cervantes