



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO**

**FACULTAD DE MEDICINA  
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO**

**INSTITUTO NACIONAL DE ENFERMEDADES  
RESPIRATORIAS  
“ISMAEL COSÍO VILLEGAS”**

**COMPARACIÓN DE PCR MULTIPLEX CON CULTIVOS PARA  
LA IDENTIFICACIÓN DE MICROORGANISMOS EN  
PACIENTES CON NEUMONÍAS ATENDIDOS EN EL INER**

**TESIS**

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE**

**ESPECIALISTA EN NEUMOLOGÍA**

**PRESENTA:**

**VÍCTOR FABIÁN HERNÁNDEZ HUIZAR**

**TUTOR:**

**EDUARDO BECERRIL VARGAS**



**MIEMBROS DEL COMITÉ:  
DR JUAN CARLOS VAZQUEZ GARCÍA  
DRA DAYANNA LORELLY ALVAREZ MONTER**

**CIUDAD DE MÉXICO, OCTUBRE DE 2021**



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

## **AGRADECIMIENTOS**

A todos los integrantes de mi familia; abuelo, padres, tíos, hermanos, primos, sobrinos, mi pareja y amigos que los considero como parte de esta. Todos ellos han sido el pilar fundamental para que yo haya logrado hasta hoy ser todo lo que me he propuesto a lo largo de mi vida, ellos han sido el motivante y un estímulo puesto que siempre han depositado toda su confianza en mí. Los amo.

Mis padres, Delia, Eduardo y Ángel que han hecho de mi a lo largo del tiempo, una persona de bien, sus enseñanzas han sido fundamentales para que en la actualidad yo esté parado donde estoy y sea el profesionalista en el que siempre me quise convertir.

Miriam y Misael. Mis hermanos menores dos grandes seres humanos, siempre estimulándome con sus palabras de aliento y de los cuales sé que no podía ser otra cosa que “un ejemplo a seguir” me hacía sentir que tenía que dar lo mejor de mí en todos los aspectos pues, quería que tuvieran la mejor imagen de mí para servir como “una guía” de sus pasos.

Mis tíos, Víctor y Nora que han estado siempre, en todo momento aconsejándome en los momentos complicados. Prácticamente han cumplido con una función de padres desde que estoy acá forjándome como especialista en medicina. Mi tío que ha sido mi ejemplo para seguir desde que tengo memoria, ha sido mi mentor, sus enseñanzas en el área, con ese talento de saber guiarme desde el primer día que

me paré como residente de neumología han hecho que aprenda con mucha mayor rapidez y facilidad lo que no se nos enseña en la formación en la residencia.

Marlene, la mujer que cualquier hombre quisiera tener a su lado, hermosa en todos los sentidos; ha tenido la virtud de ser comprensiva en las situaciones que conlleva tener como pareja a un médico apasionado, que ama lo que hace y que todo el tiempo quiere un todo, agradecido siempre con ella, ella que ha estado prácticamente en toda mi formación como médico y ahora como especialista. Tiene todo mi respeto, amor y agradecimiento. Siempre estaré para ella.

Dr. Eduardo Becerril, es usted “un tipazo” esa dedicación que pone cada año en algunos colegas, con esa empatía, carisma y empeño por culminar la especialidad de muchos de nosotros, le otorga el crédito de poderse decir maestro. Lo aprecio mucho y sepa que siempre tendrá en mí a un gran amigo.

Daniel, Roberto, Erick, Ariel, Juanjo, Memito, Pablito, Ramon, Chombo, Acosta; Mis amigos que a lo largo de la residencia me hicieron sentir “como en casa”.

Mis maestros de los que más he aprendido en este camino y a los que siempre les viviré agradecido, Dr. Zenteno, Dra. Mayra, Dr. Stanley Vega, Dr. Sebastián, Dra. Báez, Dr. Paul Flores, Dr. Guadarrama, Dr. Pérez Padilla, Dr. Mateos y Dr. Casas.

## CONTENIDO

AGRADECIMIENTOS .....	1
INTRODUCCIÓN .....	4
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA .....	13
PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN .....	14
JUSTIFICACIÓN .....	15
OBJETIVOS .....	15
General .....	15
Específico .....	15
HIPÓTESIS .....	16
MATERIALES Y MÉTODOS .....	16
Diseño:.....	16
Lugar del estudio. ....	16
PROCEDIMIENTO DEL ESTUDIO.....	17
POBLACIÓN DE ESTUDIO .....	17
Criterios de inclusión .....	17
Criterios de exclusión. ....	17
RESULTADOS .....	18
DISCUSIÓN .....	24
CONSIDERACIONES ÉTICAS .....	27
BIBLIOGRAFÍA .....	28

## INTRODUCCIÓN

La neumonía es una de las principales causas de morbilidad y mortalidad en todo el mundo. La presentación clínica varía desde una neumonía leve caracterizada por fiebre y tos productiva hasta una neumonía grave caracterizada por insuficiencia respiratoria y sepsis.

La neumonía adquirida en la comunidad (NAC) se refiere a una infección aguda del parénquima pulmonar adquirida fuera del hospital.

Una gran proporción de casos (hasta un 62% en algunos estudios realizados en entornos hospitalarios), no se detecta ningún patógeno a pesar de una evaluación microbiológica extensa.

La neumonía nosocomial se refiere a una infección aguda del parénquima pulmonar adquirida en entornos hospitalarios y abarca tanto la neumonía adquirida en el hospital (NAH) como la neumonía asociada al ventilador (NAV).

- **NAH** se refiere a la neumonía adquirida  $\geq 48$  horas después del ingreso hospitalario.
- **NAV** se refiere a la neumonía adquirida  $\geq 48$  horas después de la intubación endotraqueal.

En un ámbito hospitalario se debe diferenciar clínicamente de una traqueítis entidad en la cual podremos encontrar datos de infección respiratoria con la diferencia que esta última no tendrá nuevas radiopacidades.

Anteriormente se había descrito la Neumonía asociada a los cuidados de la salud, sin embargo, en los últimos años este término ha quedado en desuso porque no se evidenció ningún beneficio y únicamente llevó a una prescripción amplia e inadecuada de antibióticos.

La **NAH** es la segunda infección nosocomial más común y la principal causa de muerte por infecciones nosocomiales en pacientes críticamente enfermos. Su incidencia varía de 5 a más de 20 casos por 1000 ingresos hospitalarios; las tasas son más altas en pacientes inmunodeprimidos, quirúrgicos y ancianos.

Aproximadamente un tercio de los casos de neumonía nosocomial, la mayoría de los cuales son NAV, se adquieren en la UCI. La incidencia de la NAV es de 2 a 16 episodios por 1000 días-respirador.

Los factores de riesgo para neumonía nosocomial se dividen principalmente en intrínsecos y extrínsecos que se resumen en la (**tabla 1**).

Los datos en la literatura sobre etiología de la NAH son múltiples, aunque basados sobre todo en estudios observacionales, y principalmente en la NAV, existe una amplia gama de microorganismos implicados, donde los agentes responsables más frecuentemente aislados son *Pseudomonas aeruginosa* y *Staphylococcus aureus*. En general, es importante identificar los factores que se asocian con la posibilidad de contraer **NAV** por microorganismos oportunistas y multirresistentes, pues tiene implicación en el tratamiento y el pronóstico. Así, en las guías ATS/IDSA se diferencia entre neumonía precoz (5 días), con el objetivo de ajustar el tratamiento a la etiología más probable. En el primer grupo los microorganismos más frecuentes

son *Streptococcus pneumoniae* y *Haemophilus influenzae*, mientras que en el segundo existe mayor incidencia de bacilos gramnegativos y gérmenes multirresistentes, sin embargo; esta distinción entre neumonía precoz y tardía basados en >5 o <5 días, en diferentes estudios se ha evidenciado que tiene poca relevancia puesto que no se ha notado diferencias significativas en el tipo de etiología.

**Tabla 1.**

<b>FACTORES DE RIESGO PARA NEUMONIA NOSOCOMIAL</b>	
<b>FACTORES INTRÍNSECOS</b>	<b>FACTORES EXTRÍNSECOS</b>
Enfermedades subyacentes <ul style="list-style-type: none"> <li>- EPOC y otras pulmonares</li> <li>- Enfermedades del SNC</li> <li>- Neuromusculares</li> <li>- Diabetes</li> <li>- Insuficiencia renal</li> </ul>	Tratamientos <ul style="list-style-type: none"> <li>- Antisecretores</li> <li>- Antibioticoterapia prolongada</li> <li>- Esteroides</li> <li>- Sedantes</li> <li>- Citotóxicos</li> </ul>
Tabaco y alcohol	Traqueostomía
Alteraciones del nivel de conciencia	Hospitalización prolongada
Sinusitis	Nutrición enteral
Traumatismo craneoencefálico	Posición en decúbito supino
Desnutrición	Sondas nasogástricas
Colonización anormal orofaríngea	Cirugía toracoabdominal complicada
Colonización Gástrica	Mal control de la infección
Inmunosupresión	Aerosoles

Existen otros factores (**tabla 2**) que pueden condicionar la aparición de microorganismos multirresistentes durante los primeros días. En este sentido, *P. aeruginosa* se relaciona especialmente con la presencia de EPOC y el uso de

antibióticos previos, mientras que MRSA comparte, además de estos factores, la corticoterapia previa. Es posible que estos factores deban ser redefinidos. En general, y aunque esta aproximación es válida, la distribución de microorganismos causales de NAH varía de centro a centro, como se puede observar en la tabla, e incluso es diferente entre unidades del mismo hospital, por lo que los protocolos de tratamiento se han de adaptar a las circunstancias locales.

**Tabla 2.**

<b>FACTORES DE RIESGO PARA PATÓGENOS MULTIRRESISTENTES</b>
<ol style="list-style-type: none"> <li>1) Tratamiento antibiótico en los últimos 90 días</li> <li>2) Ingreso 5 días o más en los 90 días previos</li> <li>3) Alta frecuencia de resistencias en la comunidad o unidad hospitalaria</li> <li>4) Presencia de factores de riesgo para <b>NAH</b>: <ul style="list-style-type: none"> <li>- Ingreso de 2 o más días en los últimos 90 días</li> <li>- Residencia en un centro de cuidados crónicos</li> <li>- Tratamiento intravenoso domiciliario (incluyendo antibióticos)</li> <li>- Diálisis crónica en los últimos 30 días</li> <li>- Curas de heridas domiciliarias</li> <li>- Miembro de la familia afecto de un patógeno multirresistente</li> </ul> </li> <li>5) Enfermedad inmunosupresora y/o tratamiento inmunosupresor</li> </ol> <p><b>Factores de riesgo específicos.</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• <b><i>Pseudomonas aeruginosa</i></b>: Estancia prolongada en UCI, corticoterapia, tratamiento antibiótico previo, enfermedad pulmonar estructural.</li> <li>• <b><i>Staphylococcus aureus</i></b>: coma, traumatismo craneoencefálico, diabetes mellitus, insuficiencia renal.</li> <li>• <b><i>Streptococcus pneumoniae</i></b>: uso previo de antibióticos en los últimos tres meses, contacto con niños con infecciones respiratorias.</li> <li>• <b><i>Legionella</i></b>: tratamiento con altas dosis de corticoides y neoplasias.</li> <li>• <b><i>Anaerobios</i></b>: cirugía abdominal reciente, aspiración presenciada</li> </ul>

La patogenia es multifactorial, el mecanismo más frecuente es la aspiración de agentes colonizantes de vía aérea superior y tracto gastrointestinal. Esta aspiración ocurre hasta en el 45% de individuos sanos durante el sueño, sin embargo, no tiene mayores repercusiones al tratarse de la microbiota propia del paciente. En pacientes hospitalizados, contrastantemente, los factores combinados tanto del sistema inmunológico deprimido, la supresión de la deglución y del reflejo tusígeno, junto al aclaramiento debilitado del sistema mucociliar del tracto respiratorio y la suma de comorbilidades, desnutrición y organismos patógenos en tracto digestivo y respiratorio superior, hacen que la aspiración sea un gran contribuyente en la NAH. El origen de los agentes causales de la colonización e infección puede ser externo, cuando proceden del entorno (inhalación de aerosoles infectados, nebulizadores contaminados, circuito de ventilación, equipos de anestesia, broncoscopios, manos e indumentaria del personal sanitario, o interno, cuando proviene de la microbiota bacteriana habitual del enfermo (primaria) o de la sustituida por organismos hospitalarios. Un mecanismo patogénico relevante en pacientes con ventilación mecánica y tubo endotraqueal, es la formación de la biopelícula bacteriana, compuesta por agregados bacterianos, que aparece dentro del TE y protege a los organismos de la acción de los antimicrobianos y de las defensas de paciente; los microorganismos se desprenden fácilmente de la citada biopelícula al usar sondas de succión, lo que favorece la colonización traqueal y la inoculación distal.

En cuanto a la etiología de la NAH, los principales agentes reportados en diferentes series se identifican principalmente bacilos gram negativos aerobios (*Escherichia Coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Enterobacter spp*, *Pseudomonas aeruginosa*,

*Acinetobacter spp*); cocos gram positivos (*Staphylococcus aureus*, *S. aureus resistente a meticilina [MRSA]*, *Streptococcus spp*). En pacientes inmunocomprometidos destacan los virus, hongos y polimicrobianos.

La mortalidad bruta de la neumonía nosocomial varía entre 20-50% pero puede llegar al 70% aunque en estudios más recientes se reporta el 10%. Se ha estimado que entre un tercio y la mitad de todas las muertes relacionadas con NAV son el resultado directo de la infección y por ende la importancia de mencionar que la mayor tasa de mortalidad se reporta en los casos causados por *Pseudomonas aeruginosa* y *Acinetobacter spp*.

La neumonía hospitalaria y mayoritariamente la asociada a la ventilación, aumentan la duración de la hospitalización y los costos de atención médica. Se reportan de 7,6 a 11,5 días más de VM y prolonga la hospitalización de 11,5 a 13,1 días en comparación con pacientes similares sin **NAV**. Países como EUA, Reino Unido y Turquía han informado incremento en los costes hospitalarios hasta 40,000 Usd, 10,000 libras esterlinas y 400% más en pacientes con **NAV** respectivamente-

Debido a que en la actualidad no existe un estándar de oro, definimos neumonía como la presencia de "nuevas radiopacidades pulmonares" más evidencia clínica de que es de origen infeccioso con los siguientes datos: nueva aparición de fiebre, aumento de la secreción bronquial o incremento de la purulencia, leucocitosis y

disminución de la oxigenación. A pesar de ello, la clínica es inespecífica en enfermos ventilados mecánicamente, pudiendo confundirse con otras entidades como atelectasias, tromboembolismo pulmonar y sepsis de otros orígenes.

Con el objetivo de mejorar la sensibilidad y la especificidad del diagnóstico de neumonía Pugin et al desarrollaron una escala predictora, llamada Clinical Pulmonary Infection Score (**tabla 3**) en la que se valoran una serie de parámetros (temperatura, recuento de leucocitos, aspecto de las secreciones respiratorias, oxigenación, radiografía de tórax, tinción de Gram y cultivo de aspirado traqueal). Puntuaciones mayores de 6 se asociaron con el diagnóstico de neumonía en la serie original, donde la sensibilidad y la especificidad eran del 93 y del 100%, respectivamente. Sin embargo, Fábregas et al, utilizando como referencia los hallazgos histopatológicos, observaron una sensibilidad del 77%, pero únicamente un 42% de especificidad.

**Tabla 3.**

<b>CLINICAL PULMONARY INFECTION SCORE (CPIS)</b>			
<b>CRITERIO</b>	<b>0</b>	<b>1</b>	<b>2</b>
Secreciones traqueales	Ausentes	No purulentas	Abundantes y purulentas
Radiopacidades en radiografía de tórax	No	Difuso	Localizado
Temperatura (°C)	≥36.5 y ≤38.4	≥38.5 y ≤38.9	≥39 y ≤36
Leucocitos	≥4000 y ≤11000	<4000 y >11000	<4000 o >11000 + bandas 50% o >500
PaO <sub>2</sub> /FiO <sub>2</sub>	>240 o SDRA	-	≤240 Sin SDRA
Microbiología	Negativa	-	Positiva
<b>Puntuación ≥6: alta probabilidad de neumonía</b>			

El diagnóstico microbiológico se vuelve fundamental dado que al identificar al agente patógeno causante y su susceptibilidad facilita el dirigir la terapia antimicrobiana lo que impacta directamente en la mortalidad. El rendimiento diagnóstico del cultivo de esputo se reporta en 10%, de 54 a 86% en aspirado bronquial y lavado bronquioloalveolar. Los hemocultivos oscilan entre 7 y 16%.

A pesar de los avances en las terapias antimicrobianas, las pruebas de diagnóstico microbiológico y las medidas de prevención sigue habiendo alta mortalidad como consecuencia de la neumonía hospitalaria y sobre todo la neumonía asociada a la ventilación. Esto asociado a enfermedades crónicas, envejecimiento poblacional, factores de virulencia y bacterias multirresistentes.

El desarrollo e implementación de pruebas de diagnóstico molecular para la neumonía ha sido un avance importante en el diagnóstico microbiológico de patógenos respiratorios en los últimos diez años. Las pruebas moleculares nos ayudan a identificar un patógeno específico o ayudan a distinguir entre infección bacteriana y viral.

Biofire Filmarray Pneumonia Panel plus permite analizar de forma automatizada, y rápida, 27 bacterias y virus que causan neumonía y otras infecciones del tracto respiratorio inferior, así como 7 marcadores genéticos de resistencia a los antibióticos. Requiere 2 minutos de manipulación, no requiere mediciones ni pipeteo de precisión, arroja resultados en aproximadamente una hora y analiza simultáneamente 34 marcadores genéticos (**tabla 4**).

**Tabla 4.** Dianas genéticas que identifica el panel de neumonía biofire.

<b>Bacterias semicuantitativas</b>	<b>Genes de Resistencia a antibióticos</b>
<p><i>Acinetobacter calcoaceticus-baumannii</i> complex</p> <p><i>Enterobacter cloacae</i></p> <p><i>Escherichia coli</i></p> <p><i>Haemophilus influenzae</i></p> <p><i>Klebsiella aerogenes</i></p> <p><i>Klebsiella oxytoca</i></p> <p><i>Klebsiella pneumoniae</i> group</p> <p><i>Moraxella catarrhalis</i></p> <p><i>Proteus</i> spp.</p> <p><i>Pseudomonas aeruginosa</i></p> <p><i>Serratia marcescens</i></p> <p><i>Staphylococcus aureus</i></p> <p><i>Streptococcus agalactiae</i></p> <p><i>Streptococcus pneumoniae</i></p> <p><i>Streptococcus pyogenes</i></p>	<p>ESBL</p> <p>CTX-M</p> <p>Carbapenemases</p> <p>KPC</p> <p>NDM</p> <p>Oxa48-like</p> <p>VIM</p> <p>IMP</p> <p>Resistencia a la Meticilina mecA/mecC and MREJ</p>
<b>Bacterias atípicas cualitativas</b>	<b>Virus</b>
<p><i>Legionella pneumophila</i></p> <p><i>Mycoplasma pneumoniae</i></p> <p><i>Chlamydia pneumoniae</i></p>	<p><i>Influenza A</i></p> <p><i>Influenza B</i></p> <p><i>Adenovirus</i></p> <p><i>Coronavirus</i></p> <p><i>Virus parainfluenza</i></p> <p><i>Virus Respiratorio Sincitial (VRS)</i></p> <p><i>Rinovirus/Enterovirus humanos</i></p> <p><i>Metapneumovirus humano</i></p>

La Sensibilidad reportada es hasta del 100% para LBA y esputo y una especificidad  $\geq 87,2\%$  (falsos positivos en comparación con el cultivo). Un desafío de interpretación de cultivos respiratorios o de resultados de diagnósticos moleculares como el panel de neumonía es determinar si los organismos detectados son clínicamente significativos ya que algunos microorganismos pueden ser flora normal del tracto orofaríngeo. Se ha reportado que los resultados de FilmArray podrían alterar la prescripción de antibióticos en el 40,7% de los pacientes.

En otros estudios se ha descrito que podría interferir en el ajuste de antibióticos en el 70,7% de los pacientes en función del resultado del panel con Interrupción o reducción en el 48,2% de los pacientes con ello contribuyendo al ahorro promedio de 6,2 antibióticos días/paciente. Por lo que el objetivo de la utilización de este tipo de pruebas diagnósticas es la detección oportuna y el uso racional de antibióticos con todo el impacto en mortalidad y en costes que ello conlleva.

## **PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA**

La neumonía es una de las causas más comunes de hospitalización Y es una de las principales causas de muerte en todo el mundo. Para la neumonía bacteriana, el tratamiento oportuno con antibióticos puede mejorar los resultados y el retraso en la terapia antimicrobiana eficaz se asocia con un aumento de la mortalidad y la duración de la estancia hospitalaria. Esto enfatiza la importancia de un diagnóstico rápido y preciso.

Los métodos de diagnóstico tradicionales son actualmente demasiado lentos e insensibles para guiar las decisiones clínicas tempranas con respecto a la elección del tratamiento antimicrobiano y la necesidad de aislamiento. Estudios reportan que solo en el 50% de todos los casos de neumonía se tiene un diagnóstico microbiológico, por ende, las guías actuales recomiendan el uso empírico de la terapia antimicrobiana entre pacientes con sospecha de neumonía.

Los antibióticos empíricos son fundamentales para los pacientes con neumonía, el uso extensivo de antibióticos entre pacientes con afecciones respiratorias amenaza con disminuir la eficacia de estos medicamentos. Estimaciones recientes sugieren que la mitad de las prescripciones de antibióticos para afecciones respiratorias agudas son innecesarias; el ejemplo claro son las infecciones virales.

Las pruebas de diagnóstico rápido para la neumonía tienen el potencial de guiar las decisiones clínicas y reducir el uso de antibióticos de amplio espectro, sin embargo, estos beneficios dependen de la precisión de estos métodos de prueba.

### **PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN**

¿Cuál es la sensibilidad y especificidad del PCR multiplex para la detección de microorganismos causantes de neumonías en pacientes atendidos en el INER?

## **JUSTIFICACIÓN**

Durante las últimas dos décadas los estudios de biología molecular, incluidos la reacción en cadena de la polimerasa, han demostrado un mayor rendimiento, algunos métodos se han utilizado de manera rutinaria para el diagnóstico de virus y bacterias de lento y difícil crecimiento.

Recientemente ha sido aprobado un PCR múltiplex, el cual detecta a los principales microorganismos causantes de neumonía, la cual ha demostrado tener mayor capacidad para realizar diagnóstico microbiológico, el inicio oportuno de tratamiento y disminuir el uso de antibióticos innecesarios.

En el INER durante el 2019, se implementó el panel de PCR múltiplex, sin embargo, será importante conocer el rendimiento y la utilidad de esta en la prescripción de antibióticos, así como el impacto en el pronóstico de los pacientes.

## **OBJETIVOS**

### **General**

- Comparar el rendimiento del PCR multiplex para la detección de microorganismos causantes de neumonía con el del cultivo para bacterias.

### **Específico**

- Conocer la sensibilidad y especificidad de PCR multiplex para la detección de microorganismos causantes de neumonía.

## **HIPÓTESIS**

La sensibilidad del PCR multiplex para la detección de microorganismos causantes de neumonía será mayor del 80% comparado con el cultivo bacteriano.

## **MATERIALES Y MÉTODOS**

### **Diseño:**

#### **Tipo de investigación**

- Investigación clínica

#### **Tipo de estudio**

- Observacional retrospectivo

### **Lugar del estudio.**

Servicio de Microbiología Clínica, Instituto Nacional de Enfermedades respiratorias.

### **Descripción de la población de estudio.**

Se incluyeron resultados de las muestras de aspirados, lavados bronquiales, bronquiolo-alveolares y expectoraciones procesadas en el Laboratorio de microbiología clínica del INER, a partir del 01 marzo del 2020 al 31 de marzo del 2021.

## PROCEDIMIENTO DEL ESTUDIO.

Los resultados se obtuvieron por medio de la bitácora en el laboratorio de microbiología clínica, la información obtenida quedó registrada en una base de datos, la cual nos permitió realizar el análisis estadístico para la obtención de resultados.

### Número necesario de sujetos de investigación.

Para el cálculo de tamaño de muestra se realizó con la fórmula para comparar la sensibilidad entre dos pruebas diagnósticas.

$$n = \frac{\left[ Z_{\frac{\alpha}{2}} \sqrt{2 \times \bar{P}(1 - \bar{P})} + Z_{\beta} \sqrt{P_1(1 - P_1) + P_2(1 - P_2)} \right]^2}{(P_1 - P_2)^2}$$

El tamaño de la muestra necesitaría tener un 95% de confianza y un 80% de potencia para detectar una diferencia del 10% fue de **293**.

## POBLACIÓN DE ESTUDIO

### Criterios de inclusión

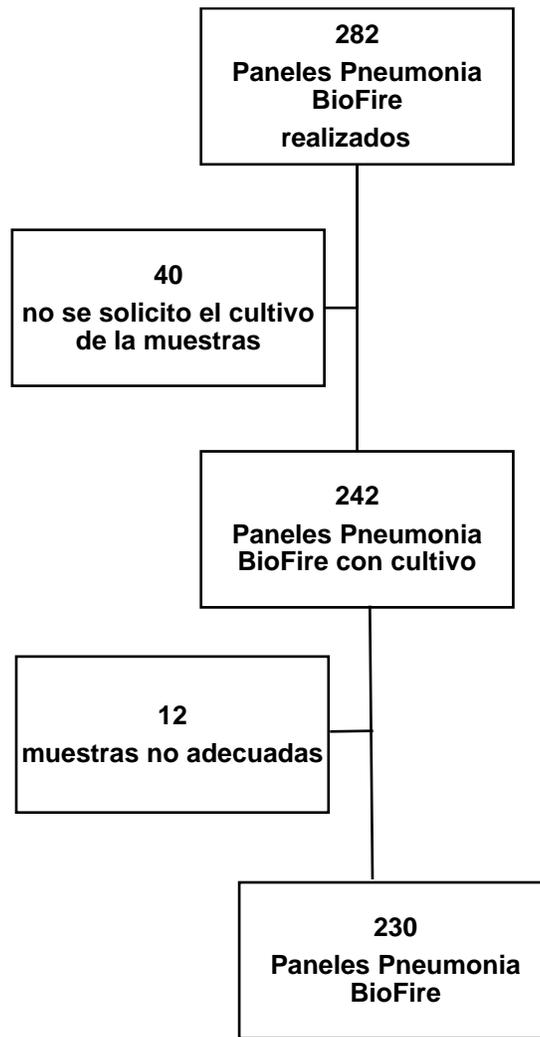
- Resultados de PCR múltiplex que cuenten con un cultivo simultáneo.

### Criterios de exclusión.

- Resultados que no cuenten con las dos pruebas realizadas el mismo día (PCR y Cultivo)
- Resultados de PCR múltiplex de pacientes externos al INER.

## RESULTADOS

Durante el periodo del estudio fueron realizados un total de 282 pruebas BioFire Pneumonia en pacientes con sospecha de neumonías asociados a cuidados de la atención. 52 fueron eliminadas para el análisis por no contar con un cultivo reportado, en 40 pacientes no se solicitó el cultivo de la muestra y 12 cultivos no se realizaron ser muestras no adecuadas con base a los criterios de Murray Washington.



Se incluyeron para el análisis 230 muestras de pacientes con sospecha de una infección de vías respiratorias bajas. La mediana de edad de los pacientes con bacteriemia fue 53.68 ( $\pm$  13,44). El 63% (37/59) de los pacientes con bacteriemia fueron hombres. Se observó un mayor número de casos con sospecha de neumonía en personas mayores de 60 años.

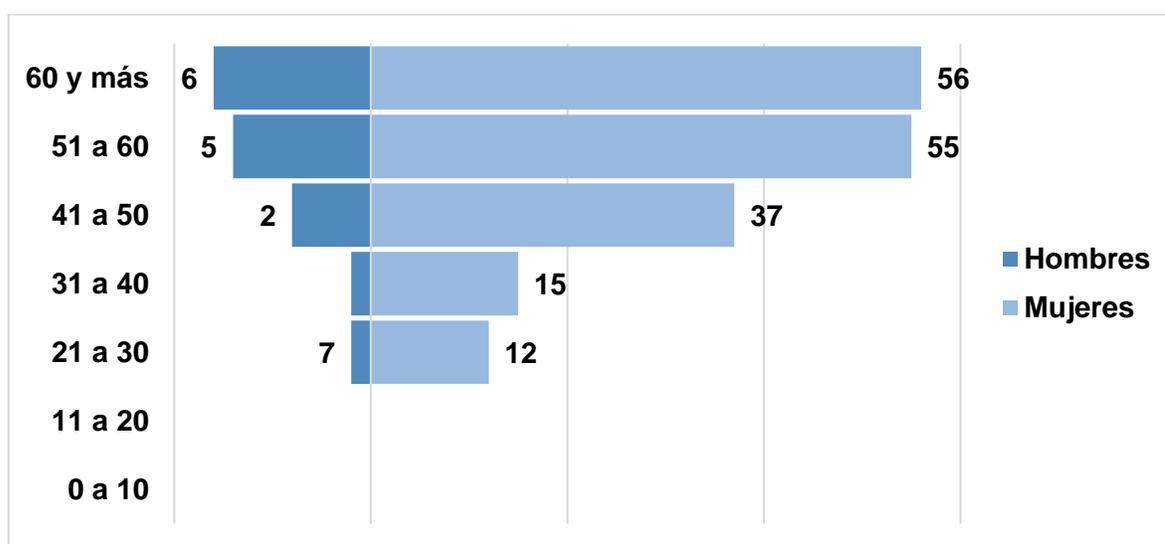


Figura 2. Comportamiento por rangos de edad.

Se observó un mayor número de casos en hombres, 76% (175/230) de la población del estudio fueron mujeres y 34% hombres. El 99% (228/230) de las muestras incluidas en el estudio fueron muestras de Aspirado Bronquial. Los 230 pacientes se encontraron con ventilación mecánica invasiva.

CARACTERÍSTICA	n= 230
<b>Edad promedio (años±DE)</b>	53.68 ± 13.44
<b>0 a 10 años (%)</b>	0 (0)
<b>11 a 20 años (%)</b>	0 (0)
<b>21 a 30 años (%)</b>	16 (7)
<b>31 a 40 años (%)</b>	24 (10)
<b>41 a 50 años (%)</b>	45 (20)
<b>51 a 60 años (%)</b>	69 (30)
<b>&gt;60 años (%)</b>	76 (33)
<b>Sexo</b>	N (%)
<b>Femenino</b>	53 (23)
<b>Masculino</b>	177 (77)

**Tabla 5. Características generales de los pacientes incluidos en el análisis.**

En el 52% (119/230) de los cultivos procesados, se reportó desarrollo de microorganismos Mediante el método tradicional, cultivo e identificación por el sistema **VITEK® 2**, identificaron un total de 125 microorganismos y el sistema **FilmArray®** identificó un total de 234 microorganismos. *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae* y *Acinetobacter baumannii* fueron los Gram negativos más frecuentemente identificados (**Tabla 6**). En 40 de los cultivos sin desarrollo de microorganismos el sistema FilmArray identifico 52 microorganismos. 42% de los microorganismos detectados por PCR fueron en niveles medios y altos ( $10^5$   $10^6$   $10^7$  y más de  $10^7$ ) en muestras con cultivo negativo. 30 bacterias fueron detectadas por niveles bajos de material genético en las muestras con cultivo negativo (menor a  $10^5$ ) (**Tabla 7**).

<b>Gram</b>	<b>Cultivo</b>	<b>FilmArray®</b>
<b>Negativos</b>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (35)	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (47)
	<i>Klebsiella pneumoniae</i> (24)	<i>Klebsiella pneumoniae</i> (46)
	<i>Acinetobacter baumannii</i> (20)	<i>Acinetobacter baumannii</i> (41)
	<i>Escherichia coli</i> (11)	<i>Escherichia coli</i> (43)
	<i>E. cloacae</i> (8)	Complejo <i>enterobacter cloacae</i> (16)
	<i>Klebsiella aerogenes</i> (2)	<i>Klebsiella aerogenes</i> (5)
	<i>Serratia marcescens</i> (1)	<i>Serratia marcescens</i> (7)
	<i>Klebsiella oxytoca</i> (0)	<i>Klebsiella oxytoca</i> (9)
	<i>Haemophilus influenzae</i> (0)	<i>Haemophilus influenzae</i> (2)
<b>Positivos</b>	<i>S. pneumoniae</i> (2)	<i>S. pneumoniae</i> (5)
	<i>Staphylococcus aureus</i> (7)	<i>Staphylococcus aureus</i> (13)
<b>Fuera de panel</b>	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i> (8)	No Detectado
	<i>Acinetobacter. calcoaceticus</i> (2)	No Detectado
	<i>Aspergillus sp</i> (1)	No Detectado
	<i>Raoltella planticola</i> (1)	No Detectado
	<i>Alcaligenes denitrificans</i> (1)	No Detectado
	<i>Citrobacter koseri</i> (1)	No Detectado
	<i>E. Faecalis</i> (1)	No Detectado

**Tabla 6.** Microorganismos identificados por el cultivo y la prueba de FilmArray.

	FilmArray®	FilmArray®	FilmArray® Mayor a 10 <sup>5</sup> copias/ml	FilmArray® Menor a 10 <sup>5</sup> copias/ml
<b>Cultivo NEGATIVO</b>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	14	6	8
	<i>E. coli</i>	10	3	7
	<i>Acinetobacter baumannii</i>	8	3	5
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	7	5	2
	<i>Enterobacter cloacae</i>	3	1	2
	<i>H. influenzae</i>	2	0	2
	<i>Klebsiella oxytoca</i>	2	0	2
	<i>Serratia marcescens</i>	2	1	1
	<i>Staphylococcus aureus</i>	3	2	1
	<i>S. pneumoniae</i>	1	1	0

**Tabla 7.** Microorganismos identificados por FilmArray en muestras con cultivo negativo.

Se encontró una sensibilidad del sistema FilmArray® de 89% y una especificidad del 62% comparándolo con el método tradicional. La sensibilidad es del 100% en muestras reportadas como positivas por el sistema FilmArray® y que contiene niveles altos y medios de material genético. En muestras con detección de microorganismos como 10<sup>4</sup> la sensibilidad disminuye hasta en 43%.

BioFire Pneumonia	Cultivo bacteriano (método de referencia)		Sensibilida d (%)	Especifici dad (%)	VPP (%)	VPN (%)	LR (-)
	(+)	(-)					
Positivo	106	41	89	63	72	84	0.17
Negativo	13	70					
<b>Volúmenes medios y altos de material genético (Mayor a 10<sup>5</sup>)</b>							
Positivos	92	41	100	63	60	100	0
Negativo	0	70					

**Tabla 8.** Sensibilidad y especificidad de Filmarray®

Por medio del panel se detectaron un total de 81 genes asociados con resistencia a los antimicrobianos. Las betalactamasas de espectro extendido CTX-M fueron las que se detectaron con mayor frecuencia. Observándose una prevalencia del 30% (62/216) para los bacilos Gram Negativos.

Las carbapenemasas se encontraron solo en 17 bacterias Gram Negativas, teniendo una prevalencia del 8%. El porcentaje de SAMR fue del 15%.

<b>BETALACTAMASAS ESPECTRO EXTENDIDO</b>		
<b>CTX-M</b>	62	29%
<b>CARBAPENEMASAS</b>		
<b>OXA-48-like</b>	7	3%
<b>NDM</b>	5	2%
<b>VIM</b>	3	1%
<b>IMP</b>	2	1%
<b>TOTAL</b>	17	8%
<b>RESISTENCIA A METICILINA</b>		
<b>MREJ</b>	1	15%
<b>mecA/C</b>	1	

**Tabla 9.** Genes de resistencia.

## DISCUSIÓN

La neumonía asociada a la hospitalización es una de las principales infecciones que se dan a nivel hospitalario, dentro de esta se engloba a la neumonía asociada a la ventilación que tiene una alta mortalidad y que eleva los días de estancia hospitalaria el uso de antibióticos entre otros fármacos y con ello los costes de la hospitalización. El realizar el diagnóstico microbiológico y además el hacerlo con rapidez beneficia directamente al paciente e impacta directamente en la mortalidad de este y reduce significativamente los costes de la hospitalización. El contexto de una neumonía hospitalaria obliga a la administración de terapia antimicrobiana empírica, muchas veces innecesaria o incorrecta por lo que el hacer el diagnóstico microbiológico es fundamental para llevar a ofrecer mayor beneficio al paciente con esta patología. Los métodos tradicionales son tardados y con una sensibilidad relativamente baja dependiente del tipo de muestra que se analice. En los últimos 10 años los métodos de biología molecular han venido a revolucionar los diagnósticos microbiológicos. Son rápidos y precisos lo que ayuda a normar la conducta terapéutica antimicrobiana de manera dirigida y oportuna evitando con ello muchas veces el uso innecesario de antibióticos. En nuestro estudio se encontró una sensibilidad del sistema FilmArray® de 89% y una especificidad del 62% comparándolo con el método tradicional. La sensibilidad es del 100% en muestras reportadas como positivas por el sistema FilmArray® y que contiene niveles altos y medios de material genético. Estos datos son compatibles con los datos reportados en otros estudios realizados previamente y con los cuales la PCR multiplex esté

siendo considerada como una prueba diagnóstica que ha venido a revolucionar la conducta terapéutica en el área de la microbiología.

Además, estos métodos moleculares detectan algunos de los principales genes de resistencia a los antimicrobianos por lo que aportan más información para la toma de decisiones al momento de elegir la terapia. Por medio del panel se detectaron un total de 81 genes asociados con resistencia a los antimicrobianos. Las betalactamasas de espectro extendido CTX-M fueron las que se detectaron con mayor frecuencia. Observándose una prevalencia del 30% (62/216) para los bacilos Gram Negativos. Las carbapenemasas se encontraron solo en 17 bacterias Gram Negativas, teniendo una prevalencia del 8%. El porcentaje de MRSA fue del 15%.

Una situación significativa es que no siempre el que el panel detecte microorganismos en las muestras de secreciones bronquiales representa necesariamente una infección que haya que tratar puesto que puede tratarse de colonización, agentes ya tratados anteriormente y que solo sea el material genético residual y traqueítis por lo que en este sentido es donde cobra relevancia la clínica y el uso de biomarcadores de laboratorio, imagenología y algunas escalas que nos orientan hacia un mejor diagnóstico. En nuestro estudio 40 de los cultivos sin desarrollo de microorganismos el sistema FilmArray identifico 52 microorganismos. 42% de los microorganismos detectados por PCR fueron en niveles medios y altos ( $10^5$   $10^6$   $10^7$  y más de  $10^7$ ) en muestras con cultivo negativo sin embargo no todas fueron consideradas infección que debería tratarse puesto que no había otros datos clínicos ni de laboratorio que orientaran hacia una infección que se tuviera que tratar.

## CONCLUSIONES

- Se encontró una sensibilidad del sistema FilmArray® de 89% y una especificidad del 62% comparándolo con el método tradicional. La sensibilidad es del 100% en muestras reportadas como positivas por el sistema FilmArray® y que contiene niveles altos y medios de material genético. En muestras con detección de microorganismos como  $10^4$  la sensibilidad disminuye hasta en 43%.
- En el 52% (119/230) de los cultivos procesados, se reportó desarrollo de microorganismos Mediante el método tradicional, cultivo e identificación por el sistema **VITEK®**, identificaron un total de 125 microorganismos y el sistema **FilmArray®** identificó un total de 234 microorganismos. *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae* y *Acinetobacter baumannii* fueron los Gram negativos más frecuentemente identificados.
- En 40 de los cultivos sin desarrollo de microorganismos el sistema FilmArray identifico 52 microorganismos. 42% de los microorganismos detectados por PCR fueron en niveles medios y altos ( $10^5$   $10^6$   $10^7$  y más de  $10^7$ ) en muestras con cultivo negativo. 30 bacterias fueron detectadas por niveles bajos de material genético en las muestras con cultivo negativo (menor a  $10^5$ ).
- El panel de neumonía ofrece un método diagnóstico, rápido, preciso con alta sensibilidad para la toma de decisiones terapéuticas sobre el uso de antibióticos lo que puede sugerir que impactaría directamente en la mortalidad, días de hospitalización, uso menor de terapias antimicrobianas empíricas y por ende en menores costes hospitalarios.

## CONSIDERACIONES ÉTICAS

De acuerdo con el artículo de la Ley General de la Salud de los Estados Unidos Mexicanos en materia de investigación para la salud y su reglamento, se considera una investigación sin riesgo.

## BIBLIOGRAFÍA

1. Blanquer, J., Aspa, J., Anzueto, A., Ferrer, M., Gallego, M., Rajas, O., Rello, J., Rodríguez de Castro, F., Torres, A., & Sociedad Española de Neumología y Cirugía Torácica (2011). SEPAR Guidelines for Nosocomial Pneumonia. *Archivos de bronconeumología*, 47(10), 510–520.
2. Cilloniz, C., Martin-Loeches, I., Garcia-Vidal, C., San Jose, A., & Torres, A. (2016). Microbial Etiology of Pneumonia: Epidemiology, Diagnosis and Resistance Patterns. *International journal of molecular sciences*, 17(12), 2120.
3. Vila Estapé, J., Zboromyrska, Y., Vergara Gómez, A., Alejo Cancho, I., Rubio García, E., Álvarez-Martínez, M. J., la Bellacasa Brugada, J. P., & Marcos Maeso, M. Á. (2016). Métodos moleculares de diagnóstico de infecciones respiratorias. ¿Ha cambiado el esquema diagnóstico? [Molecular diagnostic methods of respiratory infections. Has the scheme diagnosis changed?]. *Enfermedades infecciosas y microbiología clínica*, 34 Suppl 3, 40–46.
4. GBD 2015 LRI Collaborators (2017). Estimates of the global, regional, and national morbidity, mortality, and aetiologies of lower respiratory tract infections in 195 countries: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2015. *The Lancet. Infectious diseases*, 17(11), 1133–1161.
5. Torres, A., Niederman, M. S., Chastre, J., Ewig, S., Fernandez-Vandellos, P., Hanberger, H., Kollef, M., Li Bassi, G., Luna, C. M., Martin-Loeches, I., Paiva, J. A., Read, R. C., Rigau, D., Timsit, J. F., Welte, T., & Wunderink, R. (2017). International ERS/ESICM/ESCMID/ALAT guidelines for the management of

hospital-acquired pneumonia and ventilator-associated pneumonia: Guidelines for the management of hospital-acquired pneumonia (HAP)/ventilator-associated pneumonia (VAP) of the European Respiratory Society (ERS), European Society of Intensive Care Medicine (ESICM), European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases (ESCMID) and Asociación Latinoamericana del Tórax (ALAT). *The European respiratory journal*, 50(3), 1700582.

6. Kalil, A. C., Metersky, M. L., Klompas, M., Muscedere, J., Sweeney, D. A., Palmer, L. B., Napolitano, L. M., O'Grady, N. P., Bartlett, J. G., Carratalà, J., El Solh, A. A., Ewig, S., Fey, P. D., File, T. M., Jr, Restrepo, M. I., Roberts, J. A., Waterer, G. W., Cruse, P., Knight, S. L., & Brozek, J. L. (2016). Management of Adults With Hospital-acquired and Ventilator-associated Pneumonia: 2016 Clinical Practice Guidelines by the Infectious Diseases Society of America and the American Thoracic Society. *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America*, 63(5), e61–e111.
7. Garau, J., Baquero, F., Pérez-Trallero, E., Pérez, J. L., Martín-Sánchez, A. M., García-Rey, C., Martín-Herrero, J. E., Dal-Ré, R., & NACER Group (2008). Factors impacting on length of stay and mortality of community-acquired pneumonia. *Clinical microbiology and infection : the official publication of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*, 14(4), 322–329.
8. Nora, D., & Póvoa, P. (2017). Antibiotic consumption and ventilator-associated pneumonia rates, some parallelism but some discrepancies. *Annals of translational medicine*, 5(22), 450.

9. Buchan, B. W., Windham, S., Balada-Llasat, J. M., Leber, A., Harrington, A., Relich, R., Murphy, C., Dien Bard, J., Naccache, S., Ronen, S., Hopp, A., Mahmutoglu, D., Faron, M. L., Ledebor, N. A., Carroll, A., Stone, H., Akerele, O., Everhart, K., Bonwit, A., Kwong, C., ... Huang, A. (2020). Practical Comparison of the BioFire FilmArray Pneumonia Panel to Routine Diagnostic Methods and Potential Impact on Antimicrobial Stewardship in Adult Hospitalized Patients with Lower Respiratory Tract Infections. *Journal of clinical microbiology*, 58(7), e00135-20.
10. Murphy, C. N., Fowler, R., Balada-Llasat, J. M., Carroll, A., Stone, H., Akerele, O., Buchan, B., Windham, S., Hopp, A., Ronen, S., Relich, R. F., Buckner, R., Warren, D. A., Humphries, R., Campeau, S., Huse, H., Chandrasekaran, S., Leber, A., Everhart, K., Harrington, A., ... Bourzac, K. M. (2020). Multicenter Evaluation of the BioFire FilmArray Pneumonia/Pneumonia Plus Panel for Detection and Quantification of Agents of Lower Respiratory Tract Infection. *Journal of clinical microbiology*, 58(7), e00128-20.
11. Weber, D. J., Rutala, W. A., Sickbert-Bennett, E. E., Samsa, G. P., Brown, V., & Niederman, M. S. (2007). Microbiology of ventilator-associated pneumonia compared with that of hospital-acquired pneumonia. *Infection control and hospital epidemiology*, 28(7), 825–831.