

IMPACTO DE LA PCR MULTIPLEX EN NEUMONÍA GRAVE

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR

FACULTAD MULTIDISCIPLINARIA ORIENTAL

DEPARTAMENTO DE MEDICINA

ESCUELA DE POSTGRADO Y EDUCACIÓN CONTINUA



TEMA DE INVESTIGACIÓN:

**IMPACTO DE LA PCR MULTIPLEX EN LA IDENTIFICACIÓN MICROBIOLÓGICA
TEMPRANA EN NEUMONÍA GRAVE**

PARA OPTAR AL GRADO ACADÉMICO DE:

ESPECIALISTA EN MEDICINA INTERNA

PRESENTADO POR:

DRA. MELISSA STEFANY ZELAYA RODRÍGUEZ

DR. KEVIN ISAAC VILLATORO GUZMÁN

DOCENTE ASESOR:

DR. JULIO CESAR BONILLA BONILLA

FEBRERO DE 2026

SAN MIGUEL, EL SALVADOR, CENTROAMÉRICA

IMPACTO DE LA PCR MULTIPLEX EN NEUMONÍA GRAVE

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR

AUTORIDADES



M.SC. JUAN ROSA QUINTANILLA

RECTOR

DRA. EVELYN BEATRIZ FARFÁN

VICERRECTORA ACADÉMICA

M.SC. ROGER ARMANDO ARIAS aLVARADO

VICERRECTOR ADMINISTRATIVO

LIC. PEDRO ROSALÍO ESCOBAR CASTANEDAIII

SECRETARIO GENERAL

LIC. CARLOS ALMICAR SERRANO RIVERA

FISCAL GENERAL

IMPACTO DE LA PCR MULTIPLEX EN NEUMONÍA GRAVE

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR

FACULTAD MULTIDISCIPLINARIA ORIENTAL

AUTORIDADES



M.SC. CARLOS IVAN HERNANDEZ FRANCO

DECANO

DRA. AZUCENA RETANA

VICEDECANA

M.SC. BALMORE ALEXIS RODRIGUEZ OCHOA

DIRECTOR DE ESCUELA DE POSTGRADO

DR. SAUL RENE PEREZ GARCIA

COORDINADOR DE ESPECIALIDADES MÉDICAS

DR. ROQUE ALEJANDRO BARAHONA JORGE

COORDINADOR DEL PROGRAMA DE MEDICINA INTERNA

IMPACTO DE LA PCR MULTIPLEX EN NEUMONÍA GRAVE

ÍNDICE

RESUMEN.....	Error! Bookmark not defined.
ABSTRACT	2
INTRODUCCION	3
CAPITULO 1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	4
1.1 Situación problemática.....	4
1.2 Justificación.....	5
1.3 Objetivos	6
1.3.1 Objetivo general	6
1.3.2 Objetivos específicos.....	6
CAPITULO II. MARCO DE REFERENCIA	7
Bases teóricas	7
Estado del arte	24
3. CAPITULO III. METODOLOGIA.....	27
3.1 Tipo y diseño de investigación.....	27
3.2 Caracterización del área de estudio.....	27
3.3 Población y muestra	27
3.4 Descriptores del estudio	27
3.5 Técnicas e instrumentos	28
3.6 Plan de procesamiento y análisis de datos	28
3.7 Consideraciones Éticas.....	28
3.8 Operacionalización de variables.....	35
4. CAPITULO IV. RESULTADOS	39
Tabla 1. Distribución de pacientes según sexo	39
Figura 1. Distribución de pacientes según sexo	39
Tabla 2. Distribución de la edad de los pacientes con neumonía grave.....	40
Figura 2. Distribución de la edad de los pacientes con neumonía grave	40
Tabla 3. Evolución clínica.....	41
Figura 3. Evolución clínica	41
Tabla 4. Frecuencia de comorbilidades en los pacientes con neumonía grave.....	42
Figura 4. Frecuencia de comorbilidades en los pacientes con neumonía grave.....	42
Tabla 5. Comparación de detección de microorganismos entre PCR múltiplex y cultivo convencional.....	43
Figura 5. Comparación de detección de microorganismos entre PCR múltiplex y cultivo convencional.....	44

IMPACTO DE LA PCR MULTIPLEX EN NEUMONÍA GRAVE

Tabla 6. Comparación de microorganismos detectados por PCR múltiplex y cultivo convencional.....	45
Figura 6. Comparación de microorganismos detectados por PCR múltiplex y cultivo convencional.....	45
Tabla 7. Microorganismos detectados exclusivamente por PCR múltiplex y no identificados por cultivo convencional.	47
Figura 7. Microorganismos detectados exclusivamente por PCR múltiplex y no identificados por cultivo convencional.	47
Tabla 8. Mortalidad mensual por neumonía grave en 2023 y 2024	49
Figura 8. Mortalidad mensual por neumonía grave en 2023 y 2024.....	49
Tabla 9. Relación entre el resultado de PCR y la evolución clínica en pacientes con neumonía grave.	51
Figura 9. Relación entre el resultado de PCR y la evolución clínica en pacientes con neumonía grave.	51
Tabla 10. Comparación de la evolución clínica según PCR y cultivo convencional en neumonía grave	52
Figura 10. Comparación de la evolución clínica según PCR y cultivo convencional en neumonía grave	52
Tabla 11. Mortalidad según microorganismos detectados por PCR múltiplex en pacientes con neumonía grave.	53
Figura 11. Porcentaje de mortalidad según microorganismos detectados por PCR múltiplex en pacientes con neumonía grave.....	54
Tabla 12. Mortalidad según genes de resistencia detectados por PCR.	55
Figura 12. Mortalidad según genes de resistencia detectados por PCR.....	55
Tabla 13. Distribución de diagnóstico de ingreso	56
Figura 13. Distribución de diagnóstico de ingreso.....	56
Tabla 14. Distribución del tipo de infección	57
Tabla 14. Distribución del tipo de infección	57
Tabla 15. Distribución del Índice de Charlson.....	58
Figura 15. Distribución del Índice de Charlson	58
Tabla 16. Antibióticos empleados al ingreso	59
Figura 16. Antibióticos empleados al ingreso	60
Tabla 17. Distribución de la forma de obtención de la muestra para análisis microbiológico.	61
Figura 17. Distribución de la forma de obtención de la muestra para análisis microbiológico.	61
Tabla 18. Distribución de los días de estancia intrahospitalaria en pacientes con neumonía grave.....	62

IMPACTO DE LA PCR MULTIPLEX EN NEUMONÍA GRAVE

Figura 18. Distribución de los días de estancia intrahospitalaria en pacientes con neumonía grave.....	62
Tabla 19. Cambio de antibiótico durante la hospitalización.....	63
Figura 19. Cambio de antibiótico durante la hospitalización.....	63
Tabla 20. Método diagnóstico asociado al cambio de antibiótico.....	64
Figura 20. Método diagnóstico asociado al cambio de antibiótico.....	64
Tabla 21. Cambio de antibiótico y método diagnóstico asociado.....	65
Figura 21. Cambio de antibiótico y método diagnóstico asociado.....	65
Tabla 22. Número de microorganismos aislados por paciente.....	66
Figura 22. Número de microorganismos aislados por paciente.....	66
Tabla 23. Tipo de infección identificada.....	67
Figura 23. Tipo de infección identificada.....	67
5. CAPITULO V. DISCUSION.....	68
6. CAPÍTULO V. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....	70
CONCLUSIONES.....	70
RECOMENDACIONES.....	72
5. REFERENCIA BIBLIOGRÁFICAS.....	74
6. ANEXOS.....	77

RESUMEN

La neumonía grave constituye una causa importante de morbimortalidad en pacientes hospitalizados, especialmente en la Unidad de Cuidados Intensivos (UCI). La identificación etiológica temprana es fundamental para orientar el tratamiento antimicrobiano dirigido; sin embargo, los métodos microbiológicos convencionales presentan limitaciones como baja sensibilidad y tiempos de respuesta prolongados. La reacción en cadena de la polimerasa (PCR) multiplex permite la detección simultánea de múltiples patógenos respiratorios y genes de resistencia en tiempos clínicamente relevantes.

Objetivos: Evaluar el rendimiento diagnóstico de la PCR multiplex en comparación con el cultivo convencional en pacientes adultos con neumonía grave ingresados a la UCI del Hospital Nacional de San Miguel, así como analizar su impacto en la toma de decisiones terapéuticas y en los desenlaces clínicos.

Metodología: Se realizó un estudio observacional, analítico y retrospectivo en pacientes adultos con diagnóstico de neumonía grave. Se comparó la PCR multiplex con el cultivo convencional en cuanto a identificación microbiológica, detección de coinfecciones viral–bacterianas y genes de resistencia. Asimismo, se evaluó la influencia de los resultados en las modificaciones del tratamiento antimicrobiano y en desenlaces clínicos como estancia hospitalaria y mortalidad.

Resultados: La PCR multiplex identificó un mayor número de microorganismos por paciente y detectó coinfecciones con mayor frecuencia que el cultivo convencional. El 84.2% de los cambios en el tratamiento antibiótico se basó en la PCR, frente al 15.8% sustentado en el cultivo. No hubo diferencias significativas en mortalidad; más de la mitad presentó estancias menores de 20 días.

Conclusiones: La PCR multiplex demostró superioridad en la identificación microbiológica temprana y constituye una herramienta clave para optimizar el manejo antimicrobiano en pacientes críticos.

Palabras clave: Neumonía grave; PCR multiplex; Unidad de cuidados intensivos; Resistencia antimicrobiana; Diagnóstico microbiológico.

ABSTRACT

Severe pneumonia is a major cause of morbidity and mortality among hospitalized patients, particularly in the Intensive Care Unit (ICU). Early etiological identification is essential to guide targeted antimicrobial therapy; however, conventional microbiological methods are limited by low sensitivity and prolonged turnaround times. Multiplex polymerase chain reaction (PCR) enables the simultaneous detection of multiple respiratory pathogens and resistance genes within clinically relevant timeframes.

Objectives: To evaluate the diagnostic performance of multiplex PCR compared with conventional culture in adult patients with severe pneumonia admitted to the ICU of Hospital Nacional de San Miguel, and to assess its impact on therapeutic decision-making and clinical outcomes.

Methods: An observational, analytical, retrospective study was conducted in adult patients diagnosed with severe pneumonia. Multiplex PCR was compared with conventional culture regarding microbiological identification, detection of viral–bacterial coinfections, and resistance genes. The influence of results on antimicrobial modifications was analyzed, along with clinical outcomes including hospital length of stay and mortality.

Results: Multiplex PCR identified a greater number of microorganisms per patient and more frequent viral–bacterial coinfections than conventional culture. Overall, 84.2% of antibiotic changes were based on PCR results, compared with 15.8% guided by culture. Early detection of resistance genes allowed targeted antimicrobial adjustments. No statistically significant differences in mortality were observed; however, more than half of patients had hospital stays shorter than 20 days.

Conclusions: Multiplex PCR demonstrated superior early microbiological identification compared with conventional culture and represents a valuable tool to optimize antimicrobial management in critically ill patients.

Keywords: Severe pneumonia; Multiplex PCR; Intensive care unit; Antimicrobial resistance; Microbiological diagnosis.

INTRODUCCION

La neumonía es una de las principales causas de consulta a nivel mundial con un impacto clínico y económico a nivel sustancial, aunque varios organismos están implicados en la enfermedad los datos sobre la distribución de los patógenos no están representados de manera uniforme.

Según la situación epidemiológica de la semana 52 de neumonías en El Salvador para el año 2023 se reportan un promedio de 466 casos por cada 100.000 habitantes que representa un aumento según el periodo de 2022, con una tasa de mortalidad del 4% y siendo los mayormente afectados el sexo masculino y con mayor mortalidad en adultos mayores de 60 años. En San Miguel se reportaron 3518 casos para el año 2023. Siendo los agentes virales los únicos que cuentan con registro en la base de datos nacional, el más frecuente el virus sincitial respiratorio.

Las pruebas microbiológicas estándar pueden requerir varios días para la identificación inicial de un organismo patógeno, y muchos organismos no se pueden recuperar utilizando técnicas convencionales. Los métodos moleculares, particularmente la reacción en cadena de la polimerasa (PCR), han ampliado la gama de patógenos que se pueden identificar en los laboratorios clínicos.

El Panel de Neumonía es un dispositivo molecular múltiple que puede identificar rápidamente virus, bacterias y genes de resistencia antimicrobiana, en muestras tipo esputo y lavado broncoalveolar (BAL) obtenidas de individuos con signos de una infección del tracto respiratorio inferior

Debido al alto costo del panel de Neumonía no se utiliza de forma regular en todos los casos y se utiliza solo en pacientes en quienes tendrán un beneficio al obtener un reporte temprano del agente causal, ya que, al utilizar una terapéutica dirigida, contribuirá en la reducción de la mortalidad

CAPITULO 1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

1.1 Situación problemática

La neumonía es uno de los principales motivos de consulta en el Hospital Nacional de San Miguel, al momento no está descrito ni el patrón de resistencia ni la incidencia de coinfecciones y no existe una base de datos a nivel nacional, a pesar que existen estudios previos incluso a nivel de Latinoamérica de la contribución de las pruebas de detección molecular con respecto al diagnóstico oportuno de los agentes causantes de los cuadros de neumonía y de esta manera optimizando la terapia antimicrobiana dirigida.

También se debe de tomar en cuenta el impacto económico que implicaría la implementación más frecuente como parte del diagnóstico de neumonía grave y esto verse reflejado en la disminución de los costos de días de estancia intrahospitalaria y mal uso de antimicrobianos cuando el causante es un patógeno de origen viral o si es resistente a la terapia empírica inicial.

Este estudio serviría de propuesta para el sistema nacional de salud ya que podría demostrar el beneficio de la implementación de pruebas moleculares como el panel de neumonía para el diagnóstico oportuno y de esta manera obtener beneficios para la población y reducción de costos a nivel hospitalario.

Por esta razón se formula la siguiente pregunta:

¿Cuáles es el impacto de la PCR multiplex en la identificación microbiológica temprana en neumonía grave?

1.2 Justificación

La neumonía tiene una carga significativa de morbilidad y mortalidad alta a nivel mundial, El Salvador no es la excepción, especialmente en entornos hospitalarios, lo que incluye en Hospital Nacional de San Miguel que, al ser un Hospital regional y centro de referencia de toda la zona oriental, la cantidad de pacientes con dicha patología aumentan al igual que las complicaciones.

La identificación precisa y oportuna de los agentes causales de la neumonía es crucial para guiar el tratamiento antimicrobiano dirigido y mejorar los resultados clínicos, como disminución de mortalidad y días de estancia intrahospitalaria, sin embargo dichos reportes son tardíos, un cultivo convencional tarda alrededor de tres días, hemocultivos cinco días, aunque varios organismos están implicados en la enfermedad los datos sobre la distribución de los patógenos no están representados de manera uniforme, además hay falta de datos que puedan brindar epidemiología local que muestra una microbiota y especifique un plan antimicrobiano empírico.

La PCR multiplex permite la detección de múltiples patógenos bacterianos y virales en una sola muestra, gracias al esfuerzo de infectología en nuestro centro existe disponibilidad de este panel que permite reducir el tiempo para la identificación y reconocimiento de patrón de resistencia antimicrobiana, facilitando así la selección de terapias dirigidas.

En San Miguel se reportaron 3518 casos para el año 2023. Siendo los agentes virales los únicos que cuentan con registro en la base de datos nacional, siendo el más frecuente el virus sincitial respiratorio. Sin embargo, no hay registro de patógenos bacterianos ni patrones de resistencia de estos, no existe una base de epidemiología local, este estudio funciona como base para futuros estudios para Neumonía Grave, incluso para describir o iniciar un estudio de microorganismos más frecuentes sirve no solo para el área de medicina interna sino también para epidemiólogos, además del beneficio para todos los pacientes de la zona oriental.

1.3 Objetivos

1.3.1 Objetivo general

- Identificar el impacto del uso de la PCR multiplex en el diagnóstico microbiológico de neumonía grave

1.3.2 Objetivos específicos

- Describir las características sociodemográficas de la población con neumonía grave
- Correlacionar la sensibilidad y especificidad del resultado de la PCR multiplex y el cultivo convencional
- Identificar la incidencia de coinfecciones virales y bacterianas en pacientes con neumonía grave.
- Determinar los patrones de resistencia en pacientes con neumonía grave.

CAPITULO II. MARCO DE REFERENCIA

Bases teóricas

Definición

Las infecciones del tracto respiratorio inferior (ITRI) son una de las principales causas de morbilidad y mortalidad y abarcan una amplia gama de síndromes, incluida la neumonía adquirida en la comunidad, la neumonía adquirida en el hospital, la neumonía asociada al ventilador la bronquitis.

La Sociedad de Enfermedades Infecciosas de América (IDSA) define la neumonía como la presencia de un nuevo infiltrado pulmonar con otra evidencia clínica que respalda la infección, Incluyendo fiebre nueva aparición, esputo purulento, leucocitosis y disminución de la oxigenación. Es importante destacar que las infecciones respiratorias inferiores siguen siendo la enfermedad transmisible más mortal. (Rafeq & Igneri, 2024)

La IDSA y la Sociedad Torácica Americana (STA) definen como neumonía Grave (NACG) aquella que cumple 1 criterio mayor o 3 o mas criterios menores, siendo los criterios mayores shock séptico con necesidad de vasopresor y la insuficiencia respiratoria que requiere ventilación mecánica (ver anexo 2). (Metlay et al., 2019)

Epidemiología

La neumonía adquirida en la comunidad (CAP) es una enfermedad infecciosa prevalente y una importante preocupación por la salud en todo el mundo. La incidencia general de CAP oscila entre 1 y 25 casos por cada 1.000 habitantes por año, pero se observó un riesgo notablemente mayor en pacientes varones, mayores y en casos de comorbilidad. (Calabretta et al., 2024) según la IDSA es clasificada como la cuarta causa principal de muerte en todo el mundo, en el 2019 se cobraron 2,6 millones de vidas por neumonía. (Rafeq & Igneri, 2024)

Los datos del estudio Global Burd of Diseases (GBD) de 2019 mostraron que las infecciones del tracto respiratorio inferior, incluida la neumonía y la bronquiolititis, afectaron a 489

millones de personas en todo el mundo. Los niños de más de 5 años y los adultos de >70 años son las poblaciones más afectadas. En 2019, hubo 489 millones de casos de incidentes y 11 millones de casos prevalentes. Finalmente, la neumonía por aspiración contribuye entre el 5 y el 15 % de todos los casos de NAC y se asocia con peores resultados, especialmente en pacientes mayores con múltiples comorbilidades. Hay una falta de datos sobre la incidencia de neumonía por aspiración en pacientes con NAAS. (Torres et al., 2021)

La incidencia de NAC fue de 2,4 casos por cada 1.000 adultos, con las tasas más altas entre adultos de 65 a 79 años (6,3 casos por cada 1.000 individuos) y aquellos de ≥ 80 años (16,4 casos por cada 1.000 personas). En Europa, la incidencia anual de CAP se ha estimado en 1,07-1,2 casos por cada 1.000 personas, aumentando a 14 casos por cada 1.000 personas entre aquellos de ≥ 65 años y con preponderancia en hombres. (Torres et al., 2021)

Desde principios del siglo XXI, la neumonía ha sido la causa más común de infecciones pandémicas que tienen efectos en su propia epidemiología. En la pandemia de gripe de 2009, el virus de la gripe A H1N1 infectó a ~200 millones de personas y causó casi 250.000 muertes, con una mayor infectividad en niños que en adultos. Por el contrario, en la pandemia de SARS-CoV-2, 106 millones de personas habían sido infectadas y >2 millones habían muerto en todo el mundo para el 9 de febrero de 2021. Sin embargo, a diferencia del virus de la gripe A H1N1, el SARS-CoV-2 afecta a los adultos con más frecuencia que a los niños. (Torres et al., 2021)

Factores de riesgo

Los niños de <5 años y los adultos mayores, particularmente aquellos de ≥ 65 años y con comorbilidades, tienen un mayor riesgo de NAC. En adultos, las enfermedades respiratorias (por ejemplo, EPOC), la diabetes mellitus, la enfermedad cardiovascular y la enfermedad hepática crónica son las comorbilidades más frecuentes que aumentan el riesgo de NAC. Es de tener en cuenta que los hombres tienen un mayor riesgo de NAC que las mujeres, lo que puede explicarse por diferencias en la anatomía y factores conductuales, socioeconómicos y de estilo de vida. (Torres et al., 2021)

Los pacientes inmunocomprometidos tienen un mayor riesgo de NAC que la población general. Un análisis secundario de un estudio internacional multicéntrico de países de todo el mundo encontró que casi uno de cada cinco pacientes hospitalizados con NAC no era inmunocompetente. Entre los pacientes con NAC, el 18 % tenía uno o más factores de riesgo de inmunodeficiencia, siendo el uso crónico de esteroides (45%), el cáncer hematológico (25%) y la quimioterapia (22%) los más frecuentes. Varios estudios también han demostrado una asociación entre los factores de estilo de vida y el riesgo de NAC, incluido el tabaquismo, el alto consumo de alcohol y el bajo peso. (Torres et al., 2021)

Fumar está asociado con la colonización por bacterias patógenas y un mayor riesgo de infección pulmonar, especialmente por *S. pneumoniae*. El consumo de 24 g, 60 g y 120 g de alcohol puro al día (una bebida alcohólica estándar equivale a 10 ml u 8 g de alcohol puro, y es la cantidad aproximada de alcohol que el adulto promedio puede procesar en una hora) resultó en riesgos relativos para NAC de respectivamente, en comparación con la ausencia de consumo. Además, la exposición a la contaminación del aire puede aumentar el riesgo de neumonía a corto y largo plazo; un estudio en 345 pacientes hospitalizados con NAC y 494 controles (pacientes que fueron ingresados en el mismo período pero por razones no relacionadas con la neumonía) demostró que la exposición a largo plazo (1-2 años) a altos niveles de contaminantes del aire (partículas 2,5 μm y dióxido de nitrógeno) se asoció con una mayor hospitalización en aquellos de ≥ 65 años. (Torres et al., 2021)

Los factores que aumentan el riesgo de NAAS se pueden clasificar en grupos relacionados con el paciente y el tratamiento. La colonización orofaríngea es el principal mecanismo subyacente a la NAAS. Sin embargo, se ha prestado mucha atención a la colonización orofaríngea en pacientes críticos (presentes en el ingreso en la UCI o que ocurren durante la estancia en la UCI) Un estudio de Japón que investigó la colonización oral en residentes en centros de atención a largo plazo encontró que el 38% de estos individuos estaban colonizados con patógenos resistentes a los antibióticos, principalmente *Acinetobacter* spp., *Enterobacteriales* y *Pseudomonas* spp. La presencia de estos patógenos representa un riesgo potencial de neumonía. (Torres et al., 2021)

La colonización y la formación de biopelícula estuvieron presentes dentro de las 12 h de la intubación y permanecieron durante >96 h en la mayoría de los pacientes. Al respaldar una

asociación importante entre la intubación y la patogénesis de NAV, este estudio también mostró que la colonización en pacientes sometidos a ventilación mecánica ocurrió primero en la orofaringe y el estómago, seguida del tracto respiratorio inferior y, posteriormente, el tubo endotraqueal. La intubación y la ventilación mecánica pueden aumentar el riesgo de desarrollar NAV en 6-21 veces, con el mayor riesgo dentro de los primeros 5 días de intubación. (Torres et al., 2021)

Los tubos endotraqueales permiten la entrada directa de bacterias en el tracto respiratorio inferior, interfieren con los mecanismos normales de defensa del huésped y sirven como reservorio para los microorganismos patógenos. Múltiples factores de riesgo están relacionados con la neumonía por aspiración, cada uno aumenta la posibilidad de que el contenido gástrico llegue a los pulmones. Los más frecuentes de estos factores son el deterioro de la deglución, la disminución de la conciencia y un deterioro del reflejo de la tos. (Torres et al., 2021)

Fisiopatología

La gravedad de la neumonía está determinada por dos procesos: resistencia inmune y resiliencia tisular.

El término “resistencia inmune” designa los mecanismos del huésped que disminuyen el número microorganismos que conviven con agentes responsables de la infección eliminándolos. El término “resiliencia tisular” se refiere a mecanismo por los cuales el anfitrión resiste o tolera el estrés de un desafío microbiano determinado. En lugar de alterar las cargas microbianas, la resiliencia limita el daño provocado por patógenos o por la resistencia inmune. (Mizgerd, 2017)

La interfaz entre el entorno externo y el entorno interno fueron objeto de extenso estudio, se evidencio que una acción esencial de la citoquina IL-17 es activar el sistema respiratorio generando un revestimiento epitelial que tiene acción contra hongos y bacterias. A través del receptor IL-17RA. (Mizgerd, 2017) La IL-17 y la IL-22 median la protección durante la neumonía en gran medida a través de la activación de las células epiteliales. La IL-17 estimula el epitelio para secretar proteínas antimicrobianas y quimiocinas CXCL que desencadenan el

reclutamiento de neutrófilos. Las propiedades protectoras de IL-22 están vinculadas a su función para estimular la proliferación de células epiteliales, que es indispensable para la reparación después de una lesión. (Torres et al., 2021)

Resistencia inmune

Las barreras anatómicas presentan la primera línea de defensa contra la neumonía. El aclaramiento mucociliar, mediado por capas mucosas y líquidas y cilios en la superficie de las células epiteliales respiratorias, se considera el principal mecanismo de defensa innata. El epitelio respiratorio produce una barrera robusta compuesta por productos secretores, glicocálicos y membranas de superficie, y proteínas de unión intercelulares vinculadas al citoesqueleto de actina. Las mucinas asociadas a las células y secretadas forman una capa de glicoconjugado polimérico que puede unirse y transportarse desde las vías respiratorias.

El árbol bronquial ramificado proporciona un mecanismo de defensa adicional al evitar que partículas de $>3 \mu\text{m}$ de diámetro entren en las vías respiratorias inferiores. Si los microbios llegan al tracto respiratorio inferior, la defensa del huésped se moldea por una interacción entre las células y mecanismos inmunitarios residentes y reclutados. (Torres et al., 2021)

Cuando las células residentes no pueden erradicar los patógenos invasores, se activan mecanismos para atraer células efectoras adicionales al sitio de la infección. Los neutrófilos son las primeras células reclutadas en respuesta a la infección. También se liberan trampas extracelulares de neutrófilos, que comprenden fibras de cromatina descondensadas que transportan histonas y péptidos antimicrobianos para matar patógenos. (Torres et al., 2021)

Inmunidad adaptativa.

Encuentros previos con patógenos respiratorios dan forma a los mecanismos de defensa de la memoria contra la neumonía. La evidencia destaca los roles de las células inmunitarias innatas (por ejemplo, células epiteliales y AM) que habían sido modificadas por una infección previa para desencadenar alteraciones epigenéticas en un llamado proceso de "inmunidad entrenada". La inmunidad entrenada ha recibido atención en el contexto de la neumonía en humanos. La respuesta humoral a los microbios mejora la defensa del huésped al producir anticuerpos específicos de patógenos. (Torres et al., 2021)

Con respecto a la histopatología de la neumonía bacteriana, se han descrito clásicamente cuatro etapas: congestión, hepatización roja, hepatización gris y resolución. El término hepatización se refiere a un aumento de la firmeza del tejido pulmonar inflamado que hace que la consistencia del tejido sea similar a la atribuida al tejido hepático. En las primeras etapas de la neumonía bacteriana, el tejido pulmonar muestra edema intraalveolar leve y congestión de los capilares dentro del tabique alveolar. Esta etapa es seguida por la exudación inflamatoria con una acumulación en los espacios alveolares de neutrófilos, glóbulos rojos y fibrina, y una posterior desintegración gradual de glóbulos rojos y neutrófilos. Los exudados se transforman eventualmente en moldes fibromixoides intraalveolares, que consisten en macrófagos y fibroblastos, y a partir de entonces se sigue una resolución gradual. (Torres et al., 2021)

Etiología de la neumonía

Era preantibiótica

Grandes series de casos en 1917, 1927 y 1933 implicaron neumococos en más del 95% de los casos de neumonía lobar. De hecho, los libros de texto de medicina desde la primera edición de Osler (1892) hasta la undécima edición de Cecil-Loeb en 1963 discutieron la neumonía y el neumococo en el mismo capítulo. Los serotipos neumocócicos de menor número parecían ser los más virulentos y eran los responsables con mayor frecuencia de la neumonía lobar. (Gadsby & Musher, 2022)

La etiología de la bronconeumonía en adultos fue más compleja, con serotipos neumocócicos de mayor número, otros estreptococos, *Staphylococcus aureus*, *Haemophilus influenzae* (presumiblemente tipo b) o varillas gramnegativas (*Klebsiella* y *E. coli*) implicadas entre el 20% y el 40% de los casos. Por lo general, se encontró un organismo causal; en una gran serie, se determinó una etiología bacteriana presunta en el 98% de los casos. (Gadsby & Musher, 2022)

Sin embargo, a finales de la década de 1930 se identificaron claramente otras causas de neumonía. La neumonía por gripe había sido bien reconocida durante los brotes, aunque ahora sabemos que con frecuencia se complicó por la neumonía bacteriana secundaria. Eaton et al.

solidificaron el término "neumonía atípica primaria", y Chanock et al. Más tarde demostraron de manera concluyente que el organismo causal era un Mycoplasma. (Gadsby & Musher, 2022)

En contraste con la era pre antibiótica o antibiótica temprana, las personas que ahora desarrollan neumonía tienden a ser mucho mayores y tienen muchas más condiciones de comorbilidad; es probable que estos factores aumenten la colonización oral por Gram-negativos. Los hemocultivos son positivos solo en alrededor del 5 al 8 % de los pacientes. (Gadsby & Musher, 2022)

El descubrimiento de un tratamiento antimicrobiano eficaz provocó una reducción de interés en la etiología de la neumonía. En múltiples estudios se identificó que el neumococcus causaba poco menos del 50 % de los casos. Esta disminución de la prominencia de *S. pneumoniae* como causa de la neumonía fue en parte artefacto; los pacientes hospitalizados ahora eran tratados con un antibiótico efectivo (penicilina), por lo que si no proporcionaban una buena muestra de esputo en el ingreso, a menudo no se podía hacer un diagnóstico. Sin embargo, ahora se consideran otras etiologías para la neumonía adquirida en la comunidad, incluyendo la gripe y los adenovirus, los llamados organismos "atípicos", al principio Mycoplasma y *Coxiella burnetii*, pero luego *Legionella*, y a principios de la década de 1980, *Chlamydia pneumoniae*. Es importante tener en cuenta que las infecciones por Mycoplasma casi siempre se describieron en niños y adultos jóvenes; los adultos mayores se vieron afectados con mucha menos frecuencia. (Gadsby & Musher, 2022)

Las ITRI pueden resultar de una amplia gama de patógenos, incluyendo bacterias, micobacterias, hongos, virus y parásitos, y requieren el uso de una amplia gama de modalidades de prueba para su detección. Además, el arsenal de diagnóstico disponible para el laboratorio de microbiología clínica sigue siendo relativamente limitado en alcance y rendimiento, con cultivo bacteriano y fúngico que no detecta patógenos en el 40% al 60% de los casos, y la prueba de amplificación de ácido nucleico (NAAT) solo se implementó recientemente como el estándar de atención para objetivos virales y un conjunto limitado de objetivos bacterianos. (Lin et al., 2022)

Hasta la fecha, el estándar de oro para el diagnóstico de ITRI sigue siendo un cultivo para patógenos bacterianos (cultivo cuantitativo, semicuantitativo o cualitativo), micobacterianos

y fúngicos, requiere esputo, lavados bronquial o muestras de líquido de lavado broncoalveolar para un diagnóstico óptimo. (Lin et al., 2022)

Los métodos de rutina son clínicamente subóptimos, ya que varios patógenos ITRI no crecen en el cultivo bacteriano de rutina, y los resultados falsos positivos de la flora respiratoria normal pueden conducir a una posible sobreinterpretación. Además, es posible que se requieran NAAT o medios bacterianos especializados con un tiempo de incubación prolongado para detectar organismos atípicos o exigentes, como *Mycoplasma pneumoniae*, *Legionella pneumophila* o *Bordetella pertussis*. (Lin et al., 2022)

Las limitaciones de estos enfoques existentes provocaron el desarrollo de varios procedimientos moleculares desarrollados en laboratorio (LDP; también llamados pruebas desarrolladas en laboratorio), incluidos los paneles singleplex y multiplex. La mayoría de los LDP se dirigieron a patógenos responsables de la neumonía adquirida en la comunidad y la neumonía atípica, incluidos *S. pneumoniae*, *L. pneumophila*, *M. pneumoniae*, *Chlamydia pneumoniae* y *B. pertussis*. Aunque estos estudios mostraron un aumento en la tasa de detección con el uso de NAAT, las preocupaciones sobre el riesgo de mayor detección de la colonización en lugar de la infección, así como la falta de estandarización en diferentes LDP. (Lin et al., 2022)

Varios ensayos múltiples para la detección de patógenos respiratorios están aprobados por la FDA solo para las secreciones del tracto respiratorio superior. Estos incluyen, panel de patógenos respiratorios xTAG y prueba Verigene Respiratory Pathogens Flex (Luminex), paneles FilmArray RP y RP2 (BioFire Diagnostics) y eSensor RVP y panel de patógenos respiratorios ePlex (Gen- Mark Diagnostics, Carlsbad, CA). (Lin et al., 2022)

La disponibilidad de estas pruebas múltiples sindrómicas, aprobadas para pruebas solo en muestras del tracto respiratorio superior, ha permitido a los laboratorios validarlas y adaptarlas fácilmente para la detección de estos patógenos también en muestras del tracto respiratorio inferior. (Lin et al., 2022)

El Panel de Neumonía BioFire FilmArray recibió la autorización de la FDA a finales de 2018 para pruebas en esputo, aspirados endotraqueales y muestras de lavado bronquialveolar, y se dirige a genes de resistencia viral, bacteriana y antimicrobiana con un tiempo de respuesta a

los resultados de aproximadamente 1 hora. El método de comparación utilizado para establecer el rendimiento analítico fue la cultura bacteriana cuantitativa y las PCR dirigidas con secuenciación según fuera necesario. El APP y el acuerdo porcentual negativo oscilaron entre el 83,3 % y el 100 % y el 91,2 % al 99,8 %, respectivamente, para las muestras de BAL recogidas prospectivamente; estos valores fueron del 75,0 % al 100 % y del 87,2 % al 100 %, respectivamente, para las muestras de esputo recogidas prospectivamente. Algunos estudios^{72e77} han evaluado recientemente el rendimiento clínico y analítico del panel de neumonía BioFire en comparación con el cultivo bacteriano.^{72,73} El acuerdo general con el cultivo bacteriano osciló entre el 92,0 % y el 98 %, con una sensibilidad y especificidad específicos del objetivo que van del 0 % al 100 % y del 80 % al 100 %, respectivamente. (Lewinski et al., 2023)

Los desafíos en la evaluación de la utilidad clínica de los paneles moleculares para el diagnóstico rápido de ITRI incluyen la diferenciación entre organismos comensales y patógenos, asociando los marcadores de resistencia correctos con el patógeno. (Lewinski et al., 2023)

Correlacionar la cuantificación molecular con la cuantificación de cultivos no estandarizados, estableciendo una contribución relativa a la patogénesis de la enfermedad en casos de coinfecciones moleculares y la dificultad para replicar con precisión el paradigma actual de pruebas e informes ofrecido por el cultivo bacteriano semicuantitativo. (Lewinski et al., 2023)

Las evaluaciones iniciales sugieren que los paneles de neumonía pueden permitir una modificación más temprana de la terapia antimicrobiana en pacientes hospitalizados cuando los resultados de la prueba son positivos. Sin embargo, dada la sensibilidad limitada y el potencial de que otros patógenos no incluidos en el panel causen infección (es decir, bajo valor predictivo negativo), un resultado negativo de la prueba no afectaría las decisiones para modificar el tratamiento antimicrobiano. En este momento, la cultura bacteriana y las pruebas de susceptibilidad tradicionales siguen siendo necesarias para establecer un diagnóstico confiable de ITRI, con plataformas moleculares que se utilizan como Prueba complementaria. (Lewinski et al., 2023)

Las nuevas técnicas de diagnóstico rápido (TDR) parecen tener un alto potencial para mejorar la precisión y reducir el tiempo para el diagnóstico en caso de NACG bacteriana y viral. Se

han propuesto varias tipologías en la literatura y se pueden distinguir en métodos fenotípicos clásicos, técnicas basadas en métodos moleculares y aquellas basadas en espectrómetros de masa. (Calabretta et al., 2024)

Las técnicas de amplificación de ácidos nucleicos, y especialmente las pruebas de PCR en tiempo real, son sin duda las que han tenido más éxito en los últimos años, también gracias al desarrollo debido al brote de la pandemia del SARS-CoV-2. (Calabretta et al., 2024)

Con respecto a las bacterias, la ventaja clínica más importante del uso de plataformas moleculares es la capacidad de detectar los llamados patógenos no esenciales como MRSA (genes *mecA* y *mecC*), MDR y no MDR *Pseudomonas*, Enterobacteriales productores de ESBL y resistentes a los carbapenem (gen *ctxM*) y *Acinetobacter*. Estos microorganismos necesitan ser tratados con antibióticos diferentes a los recomendados para la mayoría de los pacientes con NACs (generalmente una combinación de un β -lactama y un macrolido o quinolona respiratoria). Sin embargo, es importante considerar que estas pruebas son altamente sensibles y podrían representar la colonización y no la infección. Por lo tanto, en algunos entornos clínicos, un resultado negativo de una prueba de PCR altamente sensible puede descartar efectivamente un patógeno sospechoso y ayudar a enfocar la terapia empírica inicial, evitando que sea un espectro demasiado amplio. (Niederman & Torres, 2022)

Las dos principales plataformas disponibles son la plataforma del Panel de Neumonía BioFire (Biomérieux) y el Curetis Unyvero, que mostraron diferentes perfiles en un estudio reciente que los comparó en el entorno de la neumonía asociada al ventilador con resultados comparables. (Calabretta et al., 2024) Un estudio reciente comparó directamente los resultados obtenidos de las dos plataformas en pacientes con neumonía asociada al ventilador y mostró las ventajas y desventajas de cada una. (Niederman & Torres, 2022)

La mayor ventaja potencial de las pruebas de PCR múltiple es la capacidad de obtener rápidamente (<4 h) resultados útiles para ajustar el tratamiento con antibióticos. También proporcionando información sobre los mecanismos de resistencia a los antibióticos. (Niederman & Torres, 2022)

Los estudios microbiológicos son integrales para guiar el tratamiento antimicrobiano y varían dependiendo de si se requiere el manejo ambulatorio o hospitalario. En el entorno de los

pacientes de emergencia, no se recomienda la toma de gram de esputo previo al tratamiento, el cultivo de las secreciones respiratorias inferiores y los hemocultivos. un estudio reciente sobre las pruebas en el punto de atención en pacientes con infecciones del tracto respiratorio inferior en el departamento de emergencias [9] mostró una reducción en el tratamiento antibacteriano y una administración más rápida de oseltamivir en casos de gripe. (Bai et al., 2024) Sin embargo, estos estudios son cruciales en pacientes hospitalarios, particularmente en pacientes que están siendo tratados por NAC resistente a la meticilina (MRSA) o *Pseudomonas aeruginosa*. Además, estas pruebas deben realizarse para todos los pacientes previamente infectados con MRSA o *Pseudomonas spp.*, o que fueron hospitalizados y recibieron antibióticos intravenosos en los últimos 90 días. En pacientes con NAC grave, se recomiendan las pruebas de legionella en orina y antígenos neumocócicos. (Rafeq & Ignéri, 2024) Los paneles de detección viral incluyen la gripe A y B, el adenovirus, los metapneumovirus, el virus sincitial respiratorio (VSR) y el SARS-CoV-2. (Niederman & Torres, 2022)

Con respecto a la NAC viral, las pruebas de PCR de hisopos nasofaríngeos siguen siendo el estándar actual de diagnóstico. Es de particular importancia detectar aquellos virus que se pueden tratar con antivirales, como la gripe y el síndrome respiratorio agudo severo coronavirus 2 (SARS-CoV-2). Otro aspecto significativo para considerar es que la detección viral positiva en ausencia de una infección bacteriana podría ayudar a los médicos a reducir la escala de los antibióticos, a menudo en combinación con la evaluación clínica y una baja probabilidad de infección bacteriana utilizando biomarcadores como la procalcitonina (PCT). (Niederman & Torres, 2022)

Las directrices de la NAC de 2019 abordan el uso de Procalcitonina (PCT) y corticosteroides, que difieren de la directriz anterior de 2007. PCT, independientemente del nivel, no se recomienda para determinar la necesidad de inicio empírico de antibióticos. En cambio, los criterios clínicos y el infiltrado confirmado por radiografía deben guiar la administración de antimicrobianos. Aunque los corticosteroides tampoco se recomiendan para el uso rutinario, se pueden considerar en pacientes con shock séptico. (Rafeq & Ignéri, 2024)

Por lo tanto, las directrices de la Sociedad Torácica Americana (ATS) y la Sociedad de Enfermedades Infecciosas de América (IDSA) de 2019 sobre NAC recomiendan no agregar

rutinariamente cobertura anaeróbica en pacientes con neumonía por aspiración, y tratar con antibióticos de primera línea para NAC como ceftriaxona o levofloxacina. Esta recomendación también consideró las posibles consecuencias dañinas de una cobertura antibiótica empírica más amplia que aumentan el riesgo de colitis por *Clostridioides difficile* y seleccionan resistencia antimicrobiana. (Bai et al., 2024)

Hay muy poca evidencia disponible sobre la efectividad comparativa de la terapia antibiótica empírica con cobertura anaeróbica limitada o extendida para la neumonía por aspiración. Los estudios no mostraron una diferencia significativa en la mortalidad o la tasa de curación clínica con una cobertura anaeróbica extendida. (Bai et al., 2024)

La PCR es un método engañosamente simple, pero muy versátil, que tiene aplicación en todas las áreas donde se haga uso de la biología molecular, lo que la PCR consigue es fabricar múltiples copias de una secuencia diana de ADN mediante un proceso de amplificación que llega a permitir la obtención de microgramos de ADN a partir de cada molécula inicial. Cualquier segmento de ADN o de ARN puede ser amplificado, podemos amplificar cualquier porción de ácido nucleico, conocido o no, siempre que quede comprendido entre dos secuencias conocidas con las que podrán hibridar oligonucleótidos complementarios que actuarán como cebadores para que la polimerasa pueda copiar las hebras molde. Por tanto, para que la reacción tenga lugar, los componentes básicos e indispensables de la misma son: ADN molde que se desea amplificar, ADN polimerasa, cebadores de secuencia específica, nucleótidos para la síntesis de nuevo ADN y tampón de reacción que incluye las distintas sales requeridas por la enzima. (Méndez-Álvarez & Pérez-Roth, n.d.)

La PCR es una reacción que ocurre en un único tubo tras mezclar en él los componentes necesarios e incubarlos en un termociclador, aparato que permite variar la temperatura de incubación a lo largo del tiempo de forma programada. Los protocolos básicos de PCR constan de los siguientes pasos fundamentales:

1. Desnaturalización térmica del ADN que se va a usar como molde.
2. A una temperatura menor que la de desnaturalización, anillamiento de cebadores sintéticos cuya secuencia les permite hibridar uno a cada lado de la secuencia diana.

3. Extensión por parte de la ADN polimerasa de los oligonucleótidos anillados que actúan como cebadores.
4. Este proceso de tres pasos es entonces repetido un número determinado de veces, duplicándose cada vez el número de moléculas de producto. Esta amplificación exponencial tiene como resultado un gran número de copias de la secuencia de ADN flanqueada por el par de oligonucleótidos. De esta manera, la reacción permite obtener una gran sensibilidad al detectar muy bajas cantidades de ADN molde y especificidad al detectar únicamente la secuencia de ácido nucleico para la que han sido diseñados los cebadores. (Méndez-Álvarez & Pérez-Roth, n.d.)

Sin embargo, en este proceso teórico que hemos descrito pueden influir numerosos factores que hagan que la reacción no sea realmente específica o que su eficiencia no sea la adecuada, de manera que la amplificación no ocurra en la progresión esperada y, por tanto, no sea sensible. Entre los muchos factores que pueden influir en el resultado final de la PCR, son destacables el diseño apropiado de los cebadores, la calidad y concentración del ADN, la concentración de magnesio, el tipo y la cantidad de ADN polimerasa y el programa de amplificación. (Méndez-Álvarez & Pérez-Roth, n.d.)

En el caso de una PCR múltiplex, lo que se persigue es amplificar simultáneamente en un único tubo distintas secuencias específicas, lo cual necesariamente implica que los reactivos mezclados y el programa utilizado sean suficientes y adecuados para permitir la detección de cada diana y no inhibir la de las demás. Con este fin, algunos parámetros, como la concentración de magnesio y de cebadores, y el tipo y la cantidad de ADN polimerasa, pueden ajustarse experimentalmente. (Méndez-Álvarez & Pérez-Roth, n.d.)

Cada bolsa de panel de FilmArray está compuesta por un depósito de polipropileno moldeado por inyección, soldada al calor a dos láminas de una película de poliéster/polipropileno que contiene una capa adhesiva de copolímero. Las láminas de película se sueldan entre sí utilizando placas calentadas para formar el patrón de canales y "ampollas" que comprende las estaciones de procesamiento de muestras y un área que contiene una matriz de 102 pozos para la PCR de la segunda etapa. El ajuste contiene 12 depósitos (6 mm de diámetro interior con una separación de 9 mm) que contienen los reactivos bioquímicos. Durante la fabricación de

la bolsa, se insertan tres reactivos adicionales en las ampollas apropiadas de la bolsa y la película se sella al vacío. (Poritz et al., 2011)

La matriz de PCR de segunda etapa está fabricada con plástico de policarbonato negro de 0,5 mm de espesor. Se perforan 12 pozos de 1 ml de volumen cada uno en la matriz. La película de laminación se sella por calor en la parte posterior de cada matriz y 96 matrices se colocan en una placa en el lecho de un instrumento de micromatriz piezoeléctrico (Nano-Plotter NP2.1e, GeSiM, Großerkmannsdorf, Alemania). Los juegos de imprimación de la segunda etapa se dispensan en los pozos de la matriz utilizando el estándar GeSiM Nano-Tip. Después de detectar, las matrices se sellan con una segunda capa de película de laminación que contiene una matriz de agujeros correspondiente y luego se unen al exterior de la bolsa, utilizando una película adhesiva sensible a la presión.

Todos los demás reactivos bioquímicos se liofilian en los 12 pozos del ajuste. Moviéndose de izquierda a derecha, los pozos contienen:

Pozo 1: Material de control de proceso (células de *Schizosaccharomyces pombe*).

Pozos 2, 3, 4, 5: Tampón de lavado

Pozo 6: tampón de elución de ácido nucleico.

Pozo 7: Transcripción inversa/mezcla maestra de PCR de primera etapa

Pozo 8: Tampón de dilución

Pozo 9, 10: Mezcla maestra de PCR de la segunda etapa: que contiene LCGreenH Plus+ (ITI),

Pozo 11: vacío

Pozo 12: Depósito de desbordamiento para la mezcla de PCR de segunda etapa.

Después de que estos reactivos se carguen en bolsas, un "árbol de éltoro" se inserta en el ajuste y las bolsas se colocan en un liofilizador Genesis (VirTis, Gardiner, NY). Al final del ciclo de liofilización, mientras las bolsas todavía están bajo vacío, el árbol del émbolo se empuja hacia abajo en el ajuste para preservar el vacío en cada uno de los pozos. Para mantener el vacío (en el equipo y las ampollas) durante el almacenamiento a largo plazo, las bolsas se empaquetan en una lata cilíndrica de aluminio y se sellan al vacío dentro de una bolsa de

poliéster aluminizado. El almacenamiento al vacío de la bolsa cumple tres funciones. Ayuda a mantener la integridad de los reactivos liofilizados durante el almacenamiento a largo plazo, permite que la muestra y la solución de hidratación se entreguen de manera no medida y minimiza la formación de burbujas de aire en la bolsa, que pueden ser difíciles de controlar o eliminar de los sistemas microfluídicos. (Poritz et al., 2011)

Análisis de datos de FilmArray

El instrumento FilmArray es capaz de recopilar imágenes de fluorescencia y los datos de temperatura correspondientes durante la rampa de temperatura realizada después de la PCR de la segunda etapa. La curva de fusión, definida como la intensidad de fluorescencia promedio de cada pozo como una función de la temperatura, es la base del algoritmo automatizado de detección de organismos que se describe a continuación. Durante el desarrollo del sistema, el instrumento también se programó para adquirir imágenes una vez por ciclo de PCR con el fin de generar curvas de amplificación de PCR en tiempo real convencionales y los valores C_q correspondientes. Sin embargo, los datos de amplificación no se utilizan en las llamadas de organismos automatizados para el sistema comercial FilmArray. (Poritz et al., 2011)

Para el análisis automatizado, se hace una jerarquía de llamadas: primero para pozos individuales, luego para ensayos individuales (cuando se replican cebadores específicos en múltiples pozos de la matriz) y finalmente para cada organismo. Este análisis se realiza primero en los ensayos de control. Si los controles devuelven resultados positivos, el análisis procede a los ensayos de patógenos y se informan los resultados. Si los ensayos de controles devuelven un resultado negativo, la ejecución se declara "Inválida" y no se informan los resultados del organismo. (Poritz et al., 2011)

Para cada pozo, los análisis de la forma de la curva y la ubicación máxima de la curva de fusión se utilizan para hacer una llamada "Positiva" (amplicón presente) o "Negativa". Si dos o más pozos replicados son negativos para cualquier ensayo, entonces el ensayo se llama "negativo". A continuación, si dos de las temperaturas de fusión (T_{ms}) para réplicas positivas están dentro de los límites específicos del ensayo, entonces el software asigna una llamada positiva al ensayo. Para los organismos con un solo ensayo asociado, el resultado final de la

prueba de "Detectado" o "No detectado" se basa en la llamada del ensayo. Para la influenza A y el rinovirus/enterovirus, el resultado final de la prueba se basa en la integración de todos los ensayos asociados. (Poritz et al., 2011)

Mortalidad

Tanto el PSI como el CURB-65 se desarrollaron como modelos pronósticos en pacientes inmunocompetentes con neumonía para predecir la mortalidad a 30 días. Cuando se compara con CURB-65, PSI identifica proporciones más grandes de pacientes como de bajo riesgo y tiene un mayor poder discriminatorio en la predicción de la mortalidad. (Torres et al., 2021)

Dos ensayos multicéntricos aleatorios de grupo demostraron que el uso de la PSI aumenta de forma segura la proporción de pacientes que pueden ser tratados en el entorno ambulatorio. Estos ensayos y un ensayo controlado aleatorio (ECA) adicional apoyan la seguridad del uso del PSI para guiar el sitio inicial de tratamiento de los pacientes sin empeorar la mortalidad u otros resultados clínicamente relevantes. (Torres et al., 2021)

La gravedad clínica no es la única consideración para determinar la necesidad de ingreso hospitalario. Algunos pacientes tienen contraindicaciones médicas y/o psicosociales para la terapia ambulatoria, como incapacidad para mantener la ingesta oral, antecedentes de abuso de sustancias, deterioro cognitivo, enfermedades comórbidas graves y estado funcional deteriorado. (Torres et al., 2021)

El estudio GBD de 2019 mostró que el ITRI fue responsable de >2,49 millones de muertes, con la mortalidad más alta entre los pacientes de >70 años de edad (1,23 millones de muertes). Estos datos indican que la mortalidad por ITRI es mayor que la mortalidad por tuberculosis (1,18 millones de muertes) y VIH (864.000 muertes), lo que la convierte en la principal causa de mortalidad por enfermedades infecciosas en todo el mundo. (Torres et al., 2021)

En los países de bajos ingresos, la alta mortalidad se asocia con el efecto de la contaminación del aire; el consumo de humo y alcohol son los principales factores de riesgo de neumonía. A nivel mundial, entre niños y adultos, la mortalidad en aquellos con NAC está relacionada con el entorno de tratamiento: <1% en atención ambulatoria, 4-18% en salas de hospital y hasta 50% en la UCI. Sin embargo, en los adultos, la edad y las comorbilidades influyen en la

mortalidad. Un estudio que investigó los efectos de la edad y las comorbilidades en la mortalidad de NAC encontró una mortalidad del 5 % en pacientes de <65 años de edad, el 8 % entre pacientes de 65 y 79 años y el 14 % entre pacientes de ≥ 80 años de 32 años, y estas tasas aumentaron al 20 %, 42 % y 43 %, respectivamente, en pacientes con más de una comorbilidad. Sobre la base de estudios sobre mortalidad a largo plazo durante 1-10 años aproximadamente uno de cada tres adultos morirá dentro de un año de ser hospitalizado con NAC. (Torres et al., 2021)

Se ha informado que la mortalidad estimada en el hospital en pacientes con trastorno pulmonar obstructivo crónico (EPOC) y NAC es del 6 % durante la hospitalización y del 12 %, 24 % y 33 % dentro de los 30 días, 6 meses y 1 año desde el alta, respectivamente. Curiosamente, la mortalidad a 30 días entre las personas con neumonía neumocócica se mantuvo bastante estable en un estudio de 20 años. A nivel mundial, NAC y NAV se consideran las principales causas de muerte por infección adquirida en el hospital. La mortalidad global estimada por NAAS es del 20 al 30 %, mientras que la mortalidad mundial al NAV es del 20 al 50 %. La mortalidad por NAV en los EE. UU. fue de ~13%4. Por el contrario, un estudio prospectivo en Europa central indicó que la mortalidad de 30 días debido a la NAV fue del 30 %. (Torres et al., 2021)

En una gran cohorte francesa de pacientes ingresados en la UCI durante >48 h, tanto la NASS no asociada al ventilador como la NAV se asociaron con un aumento del 82 % y el 38 % en el riesgo de mortalidad a 30 días, respectivamente. (Torres et al., 2021)

Estado del arte

La neumonía grave es una causa importante de morbi-mortalidad no solo en El Salvador si no a nivel mundial, se tienen diferentes datos a nivel mundial, siendo la cuarta causa de muerte según la OMS en 2019, (*Boletín epidemiológico_SE522023 (1)*, n.d.) además se conoce epidemiología local según país o región, sin embargo debido al retraso de reportes de cultivos como parte de los métodos convencionales y el retraso en instaurar un antibiótico dirigido se ha demostrado que aumenta la mortalidad y es debido a esta necesidad que nacen métodos donde se obtiene una respuesta más rápida para poder mejorar la atención a los usuarios, y de esta manera reducir las tasas de mortalidad, los días de ingreso hospitalario y la utilización de antibióticos de amplio espectro de forma arbitraria. (Martinez & et all, 2024)

Los efectos de la terapia antimicrobiana dirigida han sido estudiados en paciente con neumonía adquirida en la comunidad Mortensen et. all concluyeron la implementación de la terapia guiada redujo la mortalidad a 30 días entre los pacientes hospitalizados (Mortensen et al., 2004)

El diagnóstico de infecciones bacterianas respiratorias de vía aérea superior e inferior con la utilización de PCR Multiplex identifica patógenos en mayor proporción en comparación con los cultivos convencionales, las nuevas formas de diagnóstico también son importantes debido a que generar pauta para la nueva formación de vacunas por lo cual se debe considerar también su relevancia epidemiológica, descrito en 2013. (Xirogianni et al., 2013)

Detección de patógenos respiratorios bacterianos de neumonía atípica por PCR-RT Multiplex estudio realizado en países europeos, representa la primera evaluación simultánea de microorganismos atípicos, en el año 2018 en conclusión provee una herramienta importante para los casos de neumonías atípicas, proporcionando una terapia antimicrobiana adecuada y medidas de control necesarias, incluso pueden ser evaluadas veinticuatro muestras de forma simultánea con reportes en menos de 4 horas. (Wagner et al., 2018)

Una actualización en Neumonía adquirida en la comunidad de etiología bacteriana, en 2019 reporta alrededor de 2.4 millones de muertes a nivel de todas las edades, sin distribución uniforme de patógenos representados en todos los países, el alza de enfermedades

respiratorias, contribuyo al interés en el uso de pruebas moleculares, en años recientes las pruebas moleculares basadas en PCR múltiplex reportan de forma simultánea la cuantificación y resistencia genética del patógeno, hacen énfasis que el retraso en la identificación del microorganismo, aumenta las complicaciones, existe la necesidad de utilización de pruebas de laboratorio óptima para la optimización del manejo de pacientes. (Eshwara et al., 2020)

En el 2021 en países de primer mundo a nivel mundial, se realizó un estudio sobre la detección molecular de patógenos respiratorios en neumonía adquirida en la comunidad que únicamente involucraba adultos, donde de los 212 pacientes del estudio 70.7% se detectaron patógenos, de los cuales 36.3% fueron virus, 50% bacterias, los patógenos identificados con mayor frecuencia fueron *K. pneumoniae* en países de Norte America y Europa, en países asiáticos *S. pneumoniae*. La neumonía viral generalmente ocurre en el 0-30% de los casos, siendo la influenza y rinovirus los patógenos más comunes, como conclusión el estudio molecular pudo detectar 23.6% más patógenos que el cultivo convencional, sin embargo, todavía existe la posibilidad que no logre detectar algunos patógenos. (Lin et al., 2022)

Ha sido evaluada la relevancia clínica del panel de neumonía FilmArray en el año 2023 en los pacientes hospitalizados, incluye pacientes a quien se obtuvieron muestras por lavado broncoalveolar, compara el rendimiento del diagnóstico del panel con el enfoque de referencia basado en cultivos en muestras de lavado broncoalveolar para evaluar la relevancia clínica, sin embargo este estudio refiere que el beneficio del estudio molecular no es importante en un ambiente con baja prevalencia de microorganismos multidrogoresistentes. (Søgaard et al., 2024)

En el año 2023 se exploró la utilidad de las pruebas de panel multiplex de enfermedades infecciosas de diferentes sitios del cuerpo, en conjunto la Asociación de Patología molecular, Sociedad Americana de Microbiología y la Sociedad Panamericana de Virología clínica, establecen los claros beneficios de pruebas moleculares, sin embargo, dejan muchas preguntas como ¿Cuál es el panel ideal? ¿Existe beneficio en el uso de múltiples paneles? Son algunas preguntas que se resume serán respuestas según la evolución del estudio. (Lewinski et al., 2023)

En Argentina 2021, de los pocos estudios de Latinoamérica, ya han discutido la utilidad del panel de neumonía, cuando se plantea el uso de una prueba molecular hay dos estrategias posibles una de ellas buscar un microorganismo particular y la otra usar una PCR Multiplex tratando de identificar la mayor cantidad de agentes etiológicos posibles, puede tener un importante impacto en la decisión sobre cambios terapéuticos. (Marcone et al., 2015)

3. CAPITULO III. METODOLOGIA

3.1 Tipo y diseño de investigación

Tipo de estudio

- Descriptivo
- Retrospectivo
- Observacional

3.2 Caracterización del área de estudio

Se realizará una revisión de expedientes de pacientes con neumonía grave a quienes se les tomó muestra para PCR múltiplex obtenida por lavado bronquial y/o aspirado traqueal del Hospital Nacional de San Miguel.

3.3 Población y muestra

Total, de 30 paciente con diagnóstico de neumonía grave desde junio del 2023 a octubre del 2024 ingresados en el Hospital de San Miguel que se les realizo PCR Multiplex

3.4 Descriptores del estudio

Criterio de Inclusión

- Paciente con Neumonía Grave según criterios de ATS
- Mayores de 12 años
- Paciente con reporte de PCR multiplex obtenido por lavado bronquial y/o aspirado traqueal.
- Paciente que cuente con reporte de cultivo convencional y hemocultivos

Criterios de Exclusión

- Pacientes sin expediente completo
- Menores de 12 años
- Embarazada

3.5 Técnicas e instrumentos

Instrumento de recolección de datos (anexo1) en físico que consta de características sociodemográficas y clínicas además de 3 tablas agrupadas por microorganismos gran positivos, gran negativos y virus, describiendo sus genes de resistencia y susceptibilidad

3.6 Plan de procesamiento y análisis de datos

- Revisión de datos obtenidos por medio de expediente clínico en línea.
- Elaboración de una base de datos mediante programa estadístico de excel
- Tabulación y presentación gráfica realizadas mediante programa estadístico de excel

3.7 Consideraciones Éticas

Toda investigación en seres humanos debiera realizarse de acuerdo con cuatro principios éticos básicos: respeto por las personas, beneficencia, no maleficencia y justicia.

Se abordarán las siguientes pautas éticas para la investigación:

Pauta 1: Valor social y científico, y respeto de los derechos

La justificación ética para realizar investigaciones relacionadas con la salud en que participen seres humanos radica en su valor social y científico: la perspectiva de generar el conocimiento y los medios necesarios para proteger y promover la salud de las personas. Los pacientes, profesionales de la salud, investigadores, formuladores de políticas, funcionarios de salud

pública, empresas farmacéuticas y otros confían en los resultados de las investigaciones para llevar a cabo actividades y tomar decisiones que repercutirán sobre la salud individual y pública, así como sobre el bienestar social y el uso de recursos limitados. Por consiguiente, los investigadores, patrocinadores, comités de ética de la investigación y autoridades de salud deben asegurarse de que los estudios propuestos tengan solidez científica, tengan de base un conocimiento previo adecuado y puedan generar información valiosa.

Aunque el valor social y científico es la justificación fundamental para realizar una investigación, los investigadores, patrocinadores, comités de ética de la investigación y autoridades de salud tienen la obligación moral de asegurar que toda investigación se realice de tal manera que preserve los derechos humanos y respete, proteja y sea justa con los participantes en el estudio y las comunidades donde se realiza la investigación. El valor social y científico no puede legitimar que los participantes en el estudio o las comunidades anfitrionas sean sometidos a maltratos o injusticias.

Pauta 3: Distribución equitativa de beneficios y cargas en la selección de individuos y grupos de participantes en una investigación.

Los patrocinadores, investigadores, autoridades gubernamentales, comités de ética de la investigación y otras partes interesadas deben asegurarse de que el beneficio y las cargas de la investigación se distribuyan equitativamente. Los grupos, comunidades e individuos invitados a participar en la investigación deben seleccionarse por razones científicas y no porque sean fáciles de reclutar debido a su difícil situación social o económica o la facilidad con que pueden manipularse. Dado que la exclusión categórica en investigación puede causar o acentuar las disparidades de salud, la exclusión de grupos que necesitan una protección especial debe estar justificada.

Los grupos que tienen poca probabilidad de beneficiarse del conocimiento obtenido con la investigación no deberían asumir una parte desproporcionada de los riesgos y las cargas de participar en ella. A los grupos que no están suficientemente representados en la investigación médica se les debería dar acceso apropiado para que puedan participar.

Pauta 12: Recolección, almacenamiento y uso de datos en una investigación relacionada con la salud.

Cuando se almacenan datos, las instituciones deben contar con un sistema de gobernanza que les permita solicitar autorización para el uso futuro de estos datos en una investigación. Los investigadores no deben afectar adversamente los derechos y el bienestar de las personas de quienes se recolectaron los datos.

Cuando se recolectan y almacenan datos para fines de investigación, debe obtenerse de la persona de quien se obtienen los datos originalmente el consentimiento informado específico para un uso particular o el consentimiento informado amplio para un uso futuro no especificado. La aceptabilidad ética del consentimiento informado amplio descansa sobre una gobernanza adecuada. Este tipo de consentimiento informado debe obtenerse de la misma manera que se describe en la pauta 9 (Personas que tienen capacidad de dar consentimiento informado).

Cuando se usan datos que se recolectaron en el contexto de la atención clínica de rutina, debe usarse un procedimiento para solicitar de manera informada no ser incluido. Esto significa que los datos pueden almacenarse y usarse para investigación a menos que la persona manifieste de manera explícita su objeción. Sin embargo, la objeción de una persona no se aplica cuando es obligatorio incluir datos en registros de población. Este procedimiento para solicitar de manera informada no ser incluido debe cumplir las siguientes condiciones: 1) los pacientes deben estar al tanto de su existencia; 2) debe suministrarse información suficiente; 3) debe informarse a los pacientes de que pueden retirar sus datos; y 4) tiene que ofrecerse una posibilidad genuina de negarse.

Cuando los investigadores procuren usar datos almacenados que fueron recolectados para investigaciones, usos clínicos u otros propósitos pasados sin haber obtenido el consentimiento informado para su uso futuro en una investigación, el comité de ética de la investigación puede omitir el requisito de consentimiento informado individual si: 1) no sería factible o viable realizar la investigación sin la dispensa; 2) la investigación tiene un valor social

importante; y 3) la investigación entraña apenas riesgos mínimos para el participante o el grupo al cual este pertenece.

Los custodios de los datos deben tomar medidas para proteger la confidencialidad de la información vinculada a los mismos, para lo cual solo deben compartir datos anónimos o codificados con los investigadores y limitar el acceso de terceros a los mismos. La clave del código debe quedar con el custodio de los datos.

Los datos de entornos de escasos recursos solo deberían recolectarse y almacenarse en colaboración con las autoridades de salud locales. La estructura de gobernanza de este banco de datos debe tener una representación del entorno original.

Si los datos recolectados se almacenan fuera del entorno original, debe preverse la devolución de todos los datos a dicho entorno y compartir los posibles resultados y beneficios (véase la pauta 3, Distribución equitativa de beneficios y cargas en la selección de individuos y grupos de participantes en una investigación, la pauta 7, Involucramiento de la comunidad, y la pauta 8, Asociaciones de colaboración y formación de capacidad para la investigación y la revisión de la investigación).

Pauta 18: Las mujeres como participantes en una investigación.

Las mujeres deben ser incluidas en una investigación relacionada con la salud, a menos que exista una buena razón científica que justifique su exclusión. Las mujeres en edad fértil han sido excluidas de buena parte de las investigaciones relacionadas con la salud. Dado que las mujeres tienen fisiologías y necesidades de salud particulares, ameritan una consideración especial por parte de los investigadores y comités de ética de la investigación. Solo debería requerirse el consentimiento informado de la propia mujer para participar en una investigación. Si bien algunas sociedades no respetan la autonomía de la mujer, en ningún caso el permiso de otra persona ha de reemplazar el requisito de consentimiento informado individual por parte de la mujer.

Las mujeres en edad fértil deben ser informadas con antelación sobre la posibilidad de riesgos para el feto si quedan embarazadas durante su participación en una investigación. Cuando la

participación en la investigación pudiera ser peligrosa para el feto o la mujer si quedase embarazada, los patrocinadores e investigadores deben garantizar el acceso a pruebas de embarazo y a métodos anticonceptivos efectivos antes y durante la investigación, así como a la práctica segura y legal de aborto.

Pauta 23: Requisitos para establecer comités de ética de la investigación y para la revisión de protocolos.

Todas las propuestas para realizar investigaciones relacionadas con la salud en las que participen seres humanos deben presentarse a un comité de ética de la investigación para determinar si califican para una revisión ética y evaluar su aceptabilidad ética, a menos que califiquen para una exención a dicha revisión (que puede depender de la naturaleza de la investigación y la ley o las regulaciones pertinentes). El investigador debe obtener la aprobación o autorización de este comité antes de empezar la investigación. El comité de ética de la investigación debería realizar las revisiones adicionales que estime necesarias, por ejemplo, cuando se hagan cambios importantes al protocolo.

Los comités de ética de la investigación deben revisar los protocolos de investigación según los principios enunciados en las presentes pautas.

Los comités de ética de la investigación deben establecerse formalmente y recibir un mandato y apoyo adecuados para garantizar una revisión oportuna y competente acorde a procedimientos claros y transparentes. Los comités deben tener una composición multidisciplinaria para poder revisar competentemente una investigación propuesta. Los miembros del comité deben estar debidamente calificados y actualizar regularmente su conocimiento de los aspectos éticos de la investigación relacionada con la salud. Los comités de ética de la investigación deben contar con mecanismos para asegurar la independencia de sus operaciones.

Los comités de ética de la investigación de diferentes instituciones o países deberían establecer una comunicación eficiente en los casos de investigaciones con patrocinio externo e investigaciones multicéntricas. En el caso de las investigaciones con patrocinio externo, la

revisión ética debe tener lugar tanto en la institución anfitriona como en la institución patrocinadora.

Los comités de ética de la investigación deberían tener un procedimiento claro para que los investigadores o patrocinadores puedan apelar sus decisiones de forma legítima.

Pauta 24: Rendición pública de cuentas sobre la investigación relacionada con la salud.

La rendición pública de cuentas es necesaria para hacer realidad el valor social y científico de una investigación relacionada con la salud. Por consiguiente, los investigadores, patrocinadores, comités de ética de la investigación, financiadores, y directores y editores de publicaciones tienen la obligación de cumplir con la ética de la publicación establecida para la investigación y sus resultados.

Los investigadores deben registrar sus estudios por anticipado, publicar los resultados y compartir los datos sobre los cuales se basan estos resultados de manera oportuna. Tanto los resultados negativos y no concluyentes como los resultados positivos de todos los estudios deberían publicarse o de alguna otra forma hacerse del conocimiento público. Toda publicación o informe resultante de un estudio de investigación debería indicar qué comité de ética de la investigación ha autorizado el estudio.

Los investigadores y patrocinadores también deberían compartir información y datos de investigaciones pasadas.

Pauta 25: Conflictos de intereses.

El objetivo primario de una investigación relacionada con la salud es generar, de una manera éticamente apropiada, el conocimiento necesario para promover la salud de las personas. Sin embargo, los investigadores, las instituciones de investigación, los patrocinadores, los comités de ética de la investigación y los formuladores de políticas tienen otros intereses (por ejemplo, el reconocimiento científico o el beneficio financiero) que pueden entrar en conflicto con la realización ética de una investigación. Tales conflictos entre el objetivo primario de la

investigación relacionada con la salud e intereses secundarios se definen como conflictos de intereses.

Los conflictos de intereses pueden influir en la elección de las preguntas y los métodos de investigación, el reclutamiento y la retención de los participantes, la interpretación y publicación de los datos y la revisión ética de la investigación. Por lo tanto, es necesario formular y aplicar políticas y procedimientos para detectar, mitigar y eliminar o manejar tales conflictos de intereses.

Las instituciones de investigación, los investigadores y los comités de ética de la investigación deberían dar los siguientes pasos:

- Las instituciones de investigación deberían elaborar y poner en práctica políticas y procedimientos para mitigar los conflictos de intereses y educar a su personal acerca de tales conflictos
- Los investigadores deberían asegurarse de que los materiales presentados a un comité de ética de la investigación incluyan una declaración de los intereses que puedan afectar la investigación
- Los comités de ética de la investigación deberían evaluar cada estudio a la luz de cualquier interés declarado y asegurar que se tomen medidas apropiadas de mitigación en caso de un conflicto de intereses
- Los comités de ética de la investigación deberían solicitar a sus miembros que declaren sus propios intereses al comité y tomen medidas apropiadas de mitigación en caso de conflicto (véase la pauta 23, Requisitos para establecer comités de ética de la investigación y para la revisión de protocolos).

3.8 Operacionalización de variables

Objetivo: 1. Describir las características sociodemográficas de la población con neumonía grave

Variable	Definición operacional	Dimensiones	Indicador	Tipo de variable
Sexo	Características biológicas y fisiológicas que definen a hombres y mujeres		<ul style="list-style-type: none"> - Femenino - Masculino 	Cuantitativa
Edad	Tiempo que ha vivido una persona		<ul style="list-style-type: none"> - 18-30 - 31- 40 - 41- 50 - 51- 60 - > 60 	Cuantitativa
Comórbidos	Enfermedad o trastorno que coexiste en una misma persona con otra enfermedad o trastorno	Enfermedades crónicas no trasmisibles	<ul style="list-style-type: none"> - Hipertensión arterial - Diabetes mellitus - Enfermedad renal crónica - Neumopatía crónica 	Cuantitativa

Objetivo 2. Correlacionar la sensibilidad y especificidad del resultado de la PCR multiplex y el cultivo convencional

Variable	Definición operacional	Dimensiones	Indicador	Tipo de variable
Sensibilidad	Capacidad de una prueba de identificar la enfermedad en los sujetos enfermos	Microorganismo aislado	<ul style="list-style-type: none"> - Microorganismos gram negativas - Microorganismos gram positivos - Agentes Virales 	Cualitativas
Especificidad	Capacidad de una prueba para identificar la ausencia de enfermedad en sujetos sanos			

Objetivos 3. Identificar la incidencia de coinfecciones virales y bacterianas en pacientes con neumonía grave.

Variable	Definición conceptual	Dimensiones	Indicador	Tipo de variable
Coinfección	Infección simultánea por múltiples agentes patógenos	Microorganismo aislado	<ul style="list-style-type: none"> - Virus - Bacterias - Microorganismos atípicos 	Cuantitativa

Objetivo 4. Determinar los patrones de resistencia en pacientes con neumonía grave

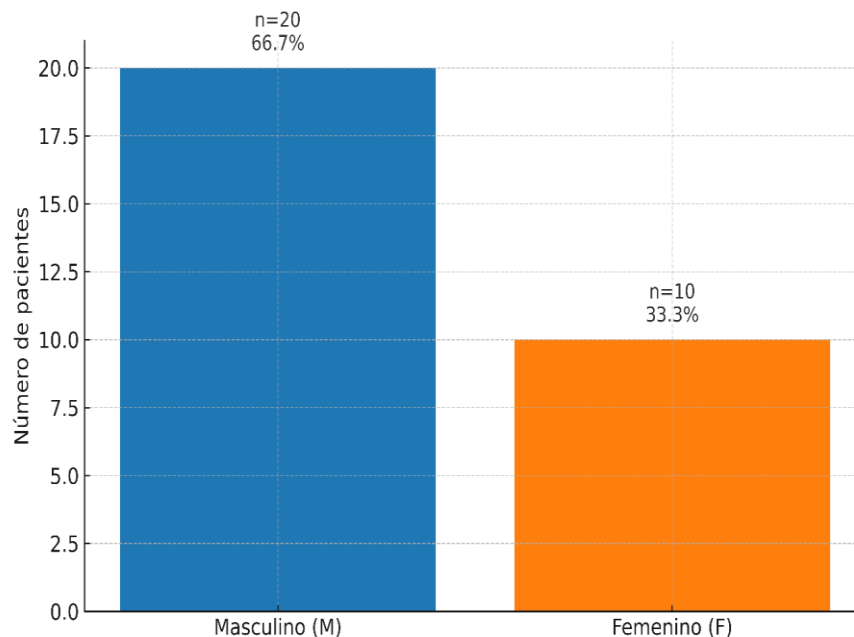
Variable	Definición conceptual	Dimensiones	Indicador	Tipo de variable
Patrones de resistencia	Forma de detección de la aparición de cepas refractarias al efecto bacteriostático y bactericida de los antimicrobianos	Identificación de patrón de resistencia	<ul style="list-style-type: none"> - Genes de resistencia - Susceptibilidad 	Cuantitativa
Susceptibilidad	Capacidad de un microorganismo para ser afectado o inhibido por un determinado Antibiótico	Concentración mínima inhibitoria	<ul style="list-style-type: none"> - Sensibilidad - Resistencia 	Cualitativa

4. CAPITULO IV. RESULTADOS

Tabla 1. Distribución de pacientes según sexo

Sexo	Frecuencia
M	20
F	10
Total	30

Figura 1. Distribución de pacientes según sexo



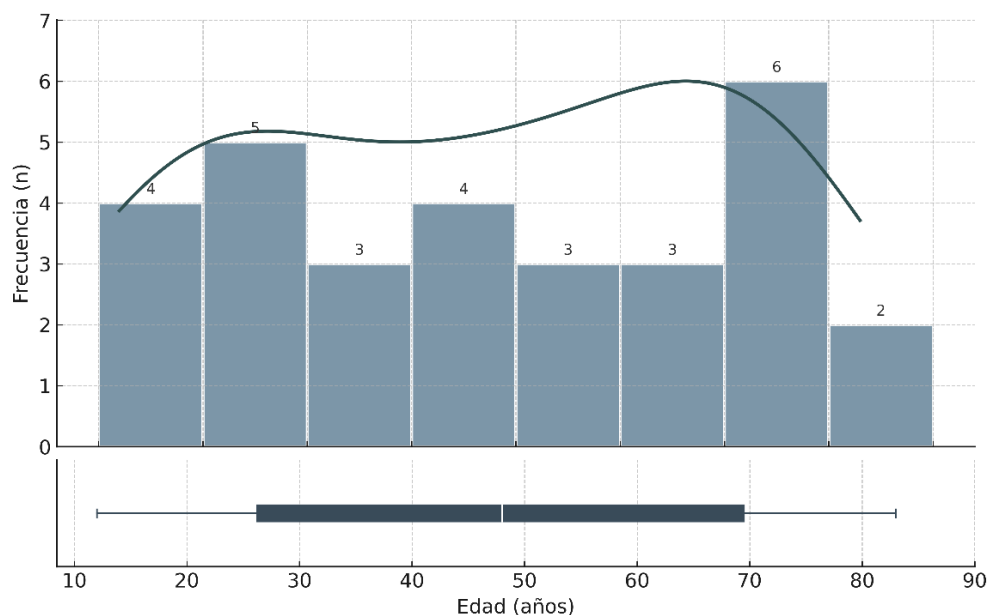
Análisis:

La distribución por sexo observada en la Figura 1, con predominio masculino (66.7%), concuerda con patrones epidemiológicos internacionales que describen mayor riesgo de neumonía grave en hombres. Esta diferencia biológica y clínica refuerza la necesidad de diagnóstico temprano mediante PCR multiplex, especialmente en este subgrupo de alto riesgo, lo cual puede contribuir a mejorar los desenlaces clínicos y reducir el impacto de patógenos altamente virulentos y resistentes.

Tabla 2. Distribución de la edad de los pacientes con neumonía grave

Intervalo de edad (años)	Frecuencia (n)	Porcentaje (%)
10–19	1	3.3%
20–29	3	10.0%
30–39	5	16.7%
40–49	7	23.3%
50–59	6	20.0%
60–69	4	13.3%
70–79	3	10.0%
80–89	1	3.3%
Total	30	100%

Figura 2. Distribución de la edad de los pacientes con neumonía grave



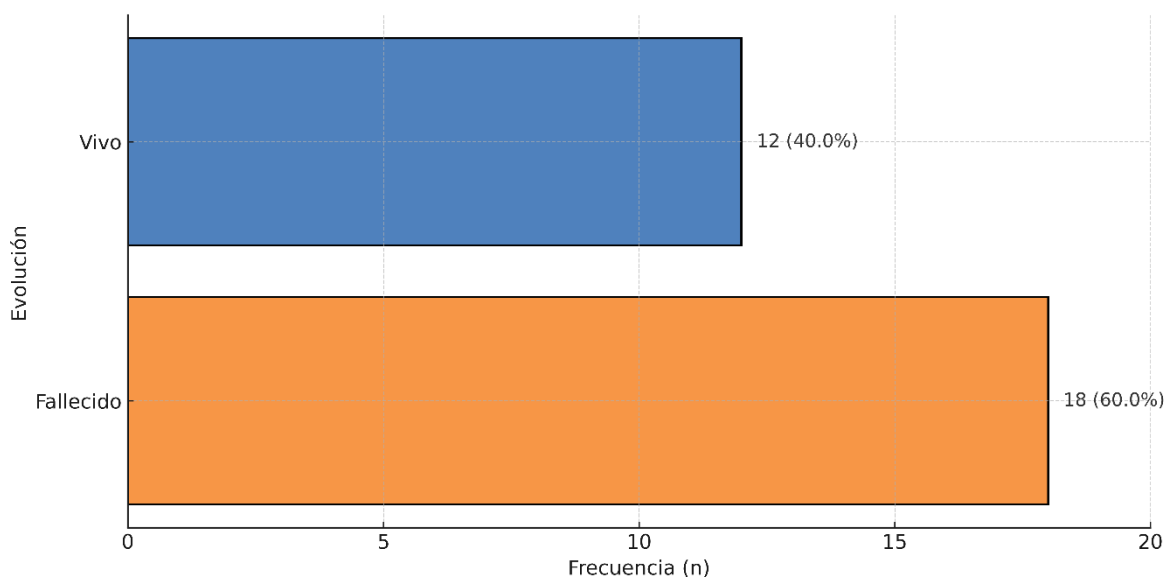
Análisis:

La Figura 2 muestra que la edad de los pacientes con neumonía grave presentó una distribución amplia (12–83 años), con una media de 47.5 años y una mediana de 48 años. El grupo con mayor frecuencia se concentró entre los 40 y 60 años (43.3% de la cohorte), seguido por pacientes mayores de 60 años (26.6%). Este patrón es consistente con lo descrito en la literatura, donde la neumonía severa afecta principalmente a adultos mayores, pero también a adultos jóvenes con comorbilidades o factores de riesgo.

Tabla 3. Evolución clínica

Evolución	Frecuencia (n)	Porcentaje (%)
Fallecido	18	60.0 %
Vivo	12	40.0 %
Total	30	100 %

Figura 3. Evolución clínica



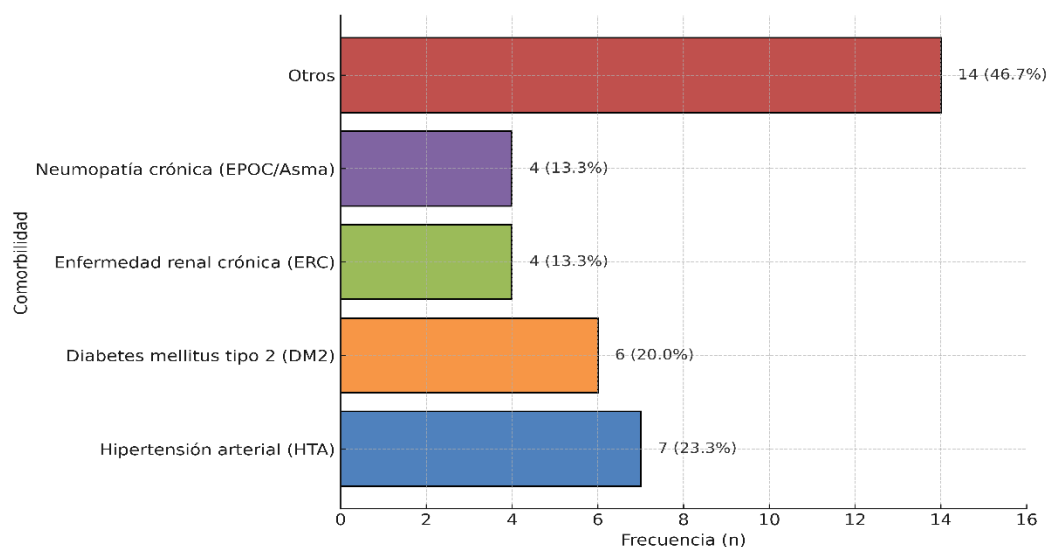
Análisis:

La Figura 3 muestra que el 60% de la cohorte (18/30 pacientes) falleció durante la hospitalización, mientras que el 40% (12/30) sobrevivió. Esta proporción es consistente con estudios latinoamericanos y europeos que reportan mortalidades entre 35–60% en neumonía grave manejada en UCI, especialmente en presencia de coinfecciones o patógenos multirresistentes. La alta mortalidad observada en esta cohorte respalda la necesidad de herramientas diagnósticas rápidas, como la PCR múltiplex, que pueden influir en decisiones terapéuticas tempranas.

Tabla 4. Frecuencia de comorbilidades en los pacientes con neumonía grave

Comorbilidad	Frecuencia (n)	Porcentaje (%)
Hipertensión arterial (HTA)	7	23.3 %
Diabetes mellitus tipo 2 (DM2)	6	20.0 %
Enfermedad renal crónica (ERC)	4	13.3 %
Neumopatía crónica (EPOC/Asma)	4	13.3 %
Otros	14	46.6 %
Total	30	100 %

Figura 4. Frecuencia de comorbilidades en los pacientes con neumonía grave



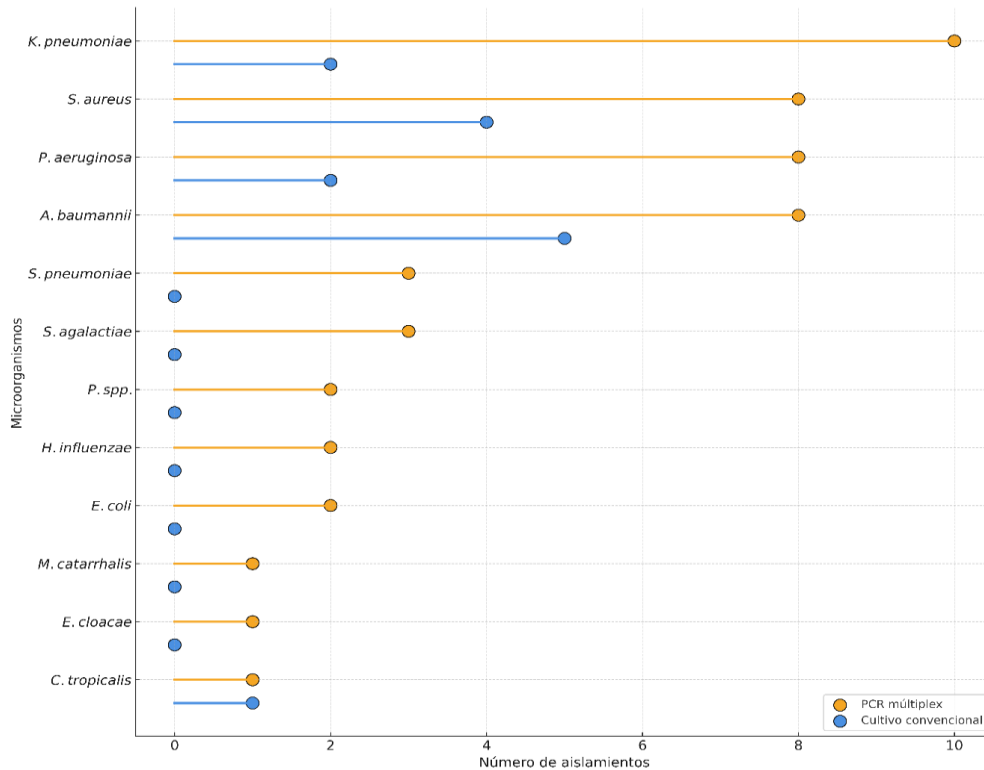
Análisis

La Figura 4 muestra que las comorbilidades más frecuentes en la cohorte fueron agrupadas en la categoría “Otros” (46.6%), que incluye obesidad, cardiopatía, tabaquismo, alcoholismo crónico, inmunosupresión y otras enfermedades crónicas relevantes. Entre las comorbilidades específicas, la hipertensión arterial representó el 23.3% de los casos, seguida de diabetes mellitus tipo 2 con 20%. Enfermedad renal crónica y neumopatía crónica (EPOC/asma) se observaron en 13.3% de los pacientes cada una. Este patrón es concordante con la literatura internacional, donde HTA y DM2 se describen como factores de riesgo predominantes en neumonía grave en UCI.

Tabla 5. Comparación de detección de microorganismos entre PCR múltiplex y cultivo convencional

Microorganismo	PCR (n)	Cultivo (n)
<i>K. pneumoniae</i>	10	2
<i>S. aureus</i>	8	4
<i>A. baumannii</i>	8	5
<i>P. aeruginosa</i>	8	2
<i>S. pneumoniae</i>	3	0
<i>S. agalactiae</i>	3	0
<i>P. spp.</i>	2	0
<i>H. influenzae</i>	2	0
<i>E. coli</i>	2	0
<i>M. catarrhalis</i>	1	0
<i>E. cloacae</i>	1	0
<i>C. tropicalis</i>	1	1

Figura 5. Comparación de detección de microorganismos entre PCR múltiplex y cultivo convencional



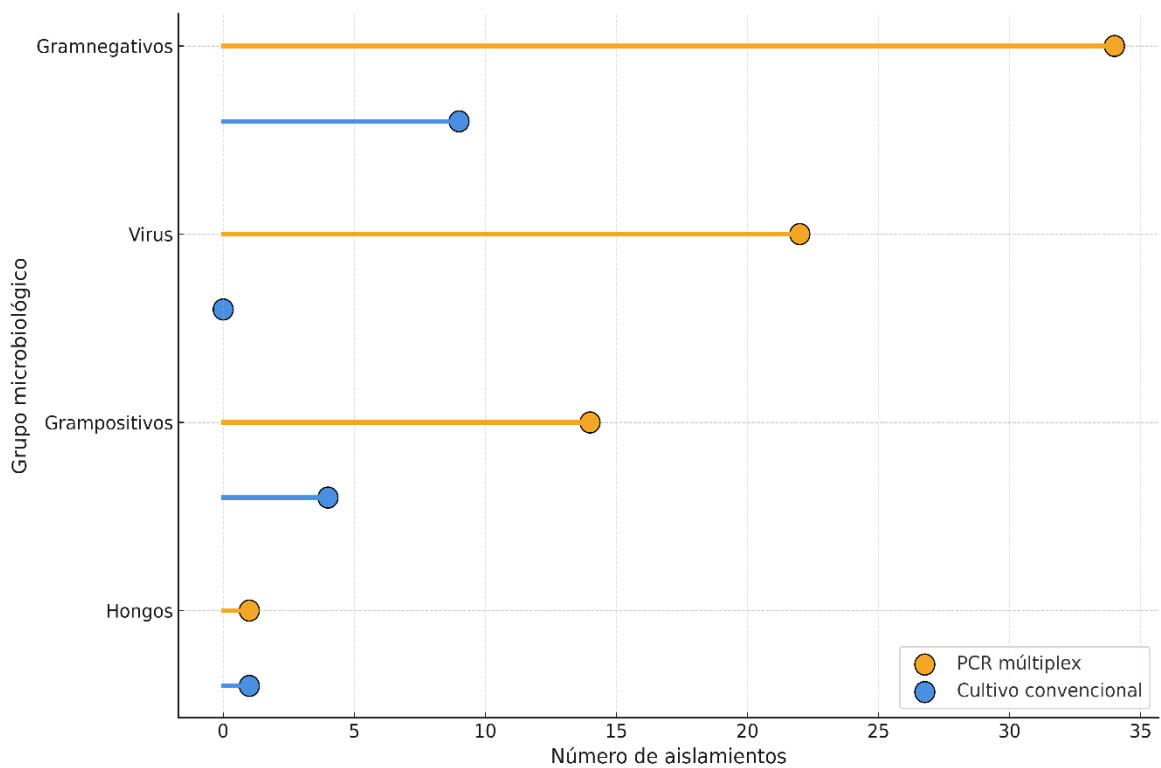
Análisis:

La PCR múltiplex identificó 51 microorganismos, mientras que el cultivo convencional detectó únicamente 18, lo que representa una diferencia absoluta de 33 aislamientos adicionales y un incremento relativo del +183% a favor de la PCR. Esto significa que, en conjunto, la PCR fue casi tres veces más efectiva que el cultivo para la identificación etiológica de neumonía grave en UCI. En los microorganismos de mayor relevancia clínica, la PCR mostró una superioridad marcada: *K. pneumoniae*: 10 vs 2 (+400%), *S. aureus*: 8 vs 4 (+100%), *P. aeruginosa*: 8 vs 2 (+300%), *A. baumannii*: 8 vs 5 (+60%). Además, la PCR detectó el 100% de los casos de *S. pneumoniae*, *S. agalactiae*, *H. influenzae*, *P. spp.*, *E. coli* y *M. catarrhalis*, mientras que el cultivo no identificó ninguno (0% de sensibilidad para estos patógenos). El único microorganismo con detección equivalente entre ambos métodos fue *C. tropicalis* (1 caso cada uno). En términos globales, la PCR detectó 2.83 veces más microorganismos que el cultivo, reforzando su utilidad diagnóstica en pacientes críticos con neumonía severa

Tabla 6. Comparación de microorganismos detectados por PCR múltiplex y cultivo convencional

Grupo microbiológico	PCR (n)	Cultivo (n)
Gramnegativos	34	9
Grampositivos	14	4
Virus	22	0
Hongos	1	1
Total	71	14

Figura 6. Comparación de microorganismos detectados por PCR múltiplex y cultivo convencional



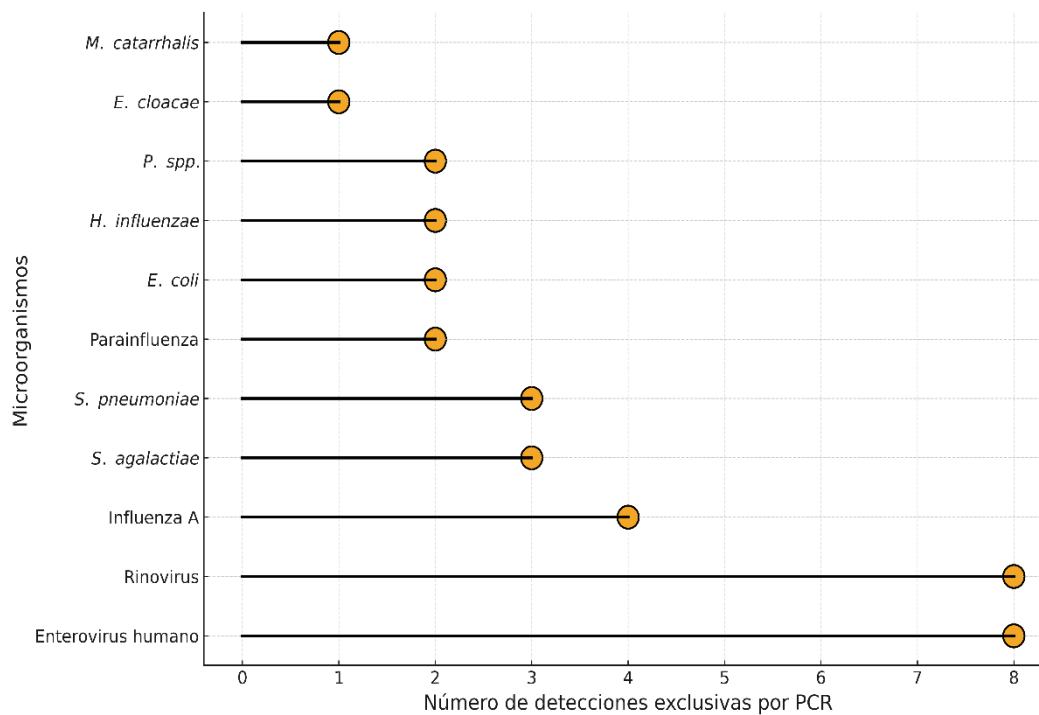
Análisis:

La Figura 6 muestra que la PCR múltiplex amplía de forma marcada la detección microbiológica en comparación con el cultivo convencional. En total, la PCR identificó 71 microorganismos, frente a 14 del cultivo, lo que implica 57 aislamientos adicionales y un incremento relativo de aproximadamente +400%. En Gramnegativos, la PCR detectó 34 casos vs 9 por cultivo (3.8 veces más); en Grampositivos, 14 vs 4 (3.5 veces más); y en virus respiratorios, 22 vs 0, es decir, el 100% de las detecciones virales dependió exclusivamente de la PCR. Solo en hongos se observó rendimiento equivalente (1 caso cada método). Esta distribución indica que la PCR no solo incrementa el número total de aislamientos, sino que recupera patógenos claves que el cultivo no identifica, especialmente virus y bacterias de difícil aislamiento. En términos prácticos, estos resultados se traducen en mayor claridad etiológica desde el inicio, lo que facilita ajustar el tratamiento antimicrobiano, reducir el uso empírico de antibióticos de amplio espectro y orientar mejor los recursos de la UCI hacia los pacientes con infección confirmada por un agente específico.

Tabla 7. Microorganismos detectados exclusivamente por PCR múltiplex y no identificados por cultivo convencional.

Microorganismo	Solo PCR (n)
<i>S. pneumoniae</i>	3
<i>S. agalactiae</i>	3
<i>P. spp.</i>	2
<i>H. influenzae</i>	2
<i>E. coli</i>	2
<i>M. catarrhalis</i>	1
<i>E. cloacae</i>	1
Rinovirus	8
Enterovirus humano	8
Influenza A	4
Parainfluenza	2
Total	36

Figura 7. Microorganismos detectados exclusivamente por PCR múltiplex y no identificados por cultivo convencional.



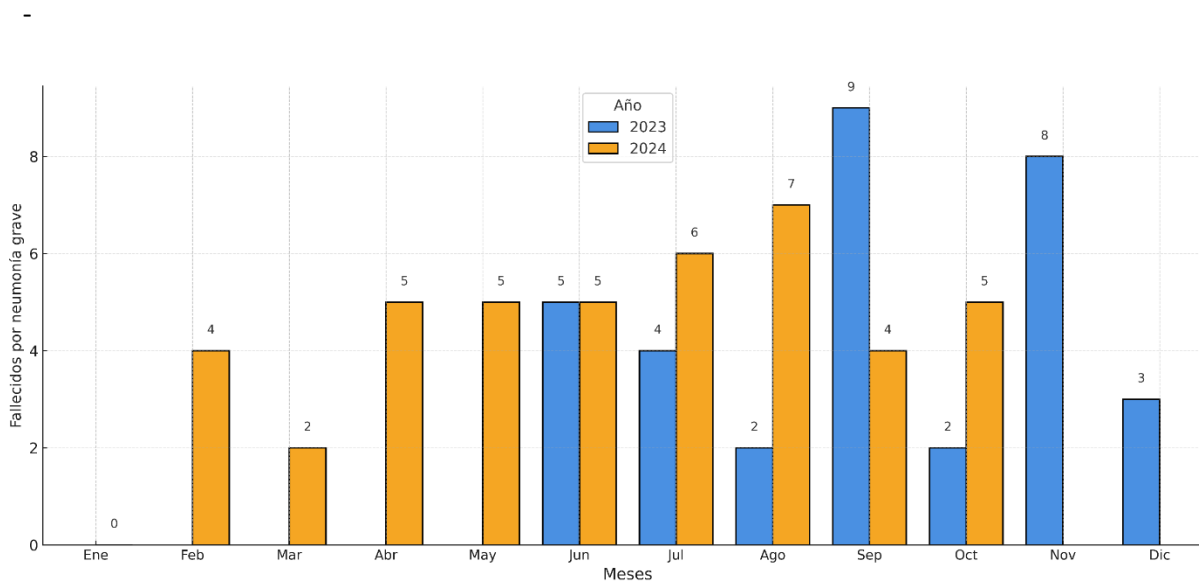
Análisis:

La Figura 7 muestra que la PCR múltiplex identificó 36 microorganismos que no fueron detectados por el cultivo convencional, lo que representa el 50.7% de toda la carga etiológica identificada en el estudio. Entre ellos se incluyen bacterias clínicamente relevantes —*S. pneumoniae* (3), *S. agalactiae* (3), *H. influenzae* (2), *E. coli* (2), *P. spp.* (2)— todas con 0% de detección por cultivo. Además, la totalidad de los virus respiratorios del panel (rinovirus 8, enterovirus humano 8, influenza A 4 y parainfluenza 2) se identificaron exclusivamente mediante PCR, confirmando que el cultivo no aportó ninguna detección viral (0%). En conjunto, estos datos evidencian que más de la mitad de los agentes etiológicos del estudio solo pudieron ser identificados por PCR, lo que refuerza su superioridad en sensibilidad diagnóstica frente al cultivo convencional.

Tabla 8. Mortalidad mensual por neumonía grave en 2023 y 2024

Mes	2023 (n)	2024 (n)
Enero	0	0
Febrero	0	4
Marzo	0	2
Abril	0	5
Mayo	0	5
Junio	5	5
Julio	4	6
Agosto	2	7
Sept	9	4
Oct	2	5
Nov	8	0
Dic	3	0
Total	33	43

Figura 8. Mortalidad mensual por neumonía grave en 2023 y 2024



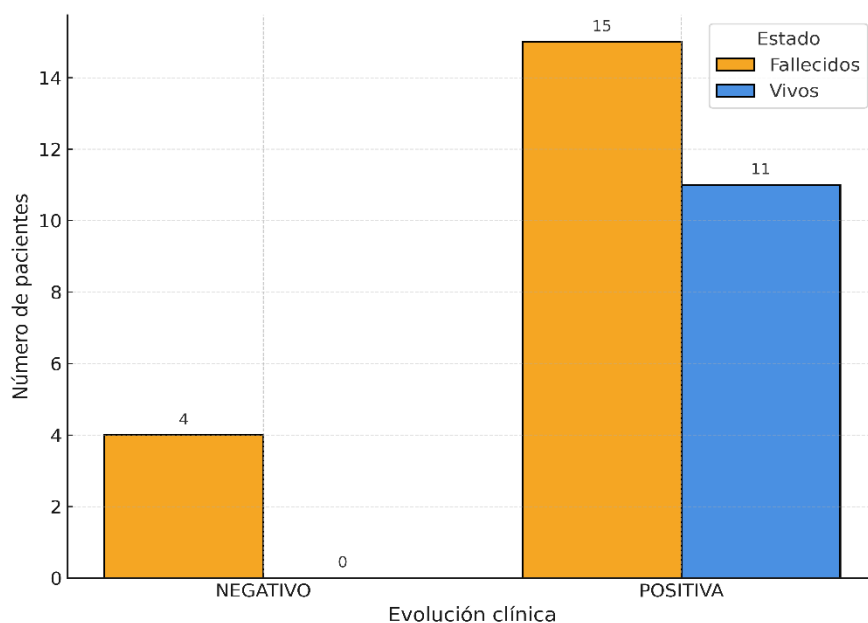
Análisis:

En la Figura para el 2023 se observó un total de 33 fallecidos, con un pico marcado en septiembre (9 casos) y valores elevados en noviembre (8). En 2024 la mortalidad alcanzó 43 casos, distribuidos de forma más sostenida a lo largo del año, con incrementos visibles en julio (6), agosto (7) y junio–octubre (5 casos cada mes). La comparación entre ambos años muestra que la mortalidad fue más alta en 2024, con un aumento absoluto de 10 fallecidos y un incremento relativo aproximado del 30% respecto a 2023. Se registran valores de **0** fallecidos en *enero de 2024* y ausencia de registros en los meses iniciales de 2023. Estos valores pueden corresponder a variabilidad estacional, pero también deben interpretarse con cautela, ya que pueden reflejar subregistro o diferencias en la disponibilidad de datos clínicos al inicio de cada año.

Tabla 9. Relación entre el resultado de PCR y la evolución clínica en pacientes con neumonía grave.

Resultado de PCR	Fallecidos (n)	Vivos (n)	Total
Negativo	4	0	4
Positiva	15	11	26
Total	19	11	30

Figura 9. Relación entre el resultado de PCR y la evolución clínica en pacientes con neumonía grave.



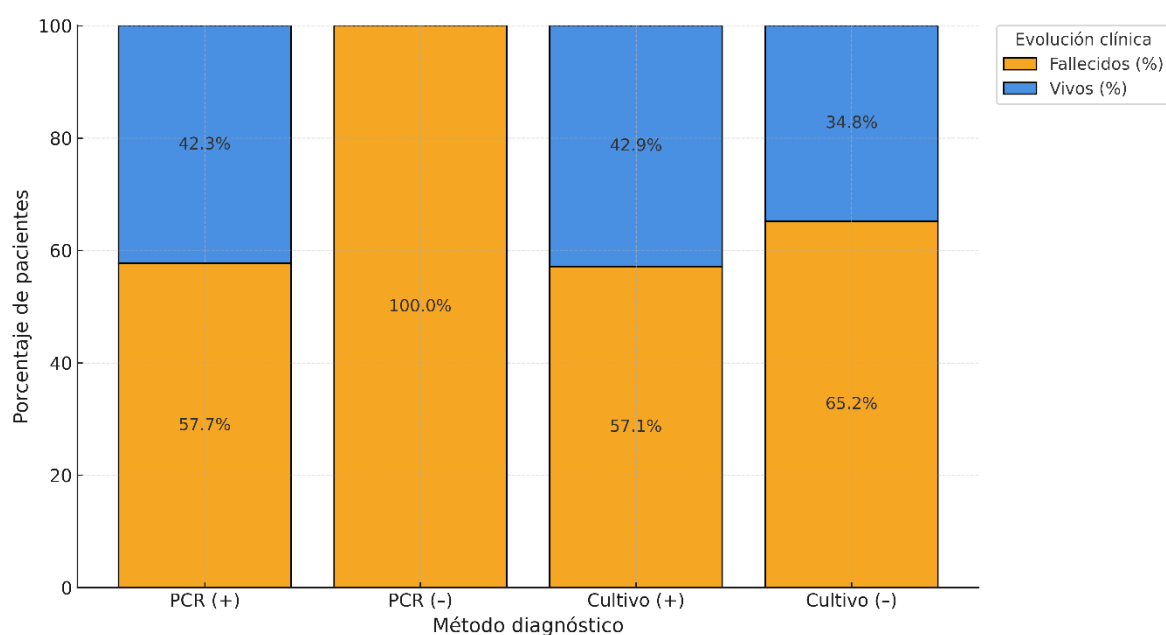
Análisis:

De los 30 pacientes evaluados, todos los casos con PCR negativa fallecieron (100%), mientras que entre los pacientes con PCR positiva la mortalidad fue 57.7%. Esto significa que la ausencia de detección microbiológica por PCR se asocia con peor evolución clínica, mientras que la identificación de un patógeno mediante PCR se relaciona con mayor probabilidad de supervivencia. Estos datos refuerzan el valor clínico de la PCR como herramienta crítica para orientar el manejo temprano en neumonía grave.

Tabla 10. Comparación de la evolución clínica según PCR y cultivo convencional en neumonía grave

Método diagnóstico	Total (n)	Fallecidos (n)	Vivos (n)	Mortalidad (%)
PCR (+)	26	15	11	57.7%
PCR (-)	4	4	0	100.0%
Cultivo (+)	7	4	3	57.1%
Cultivo (-)	23	15	8	65.2%

Figura 10. Comparación de la evolución clínica según PCR y cultivo convencional en neumonía grave



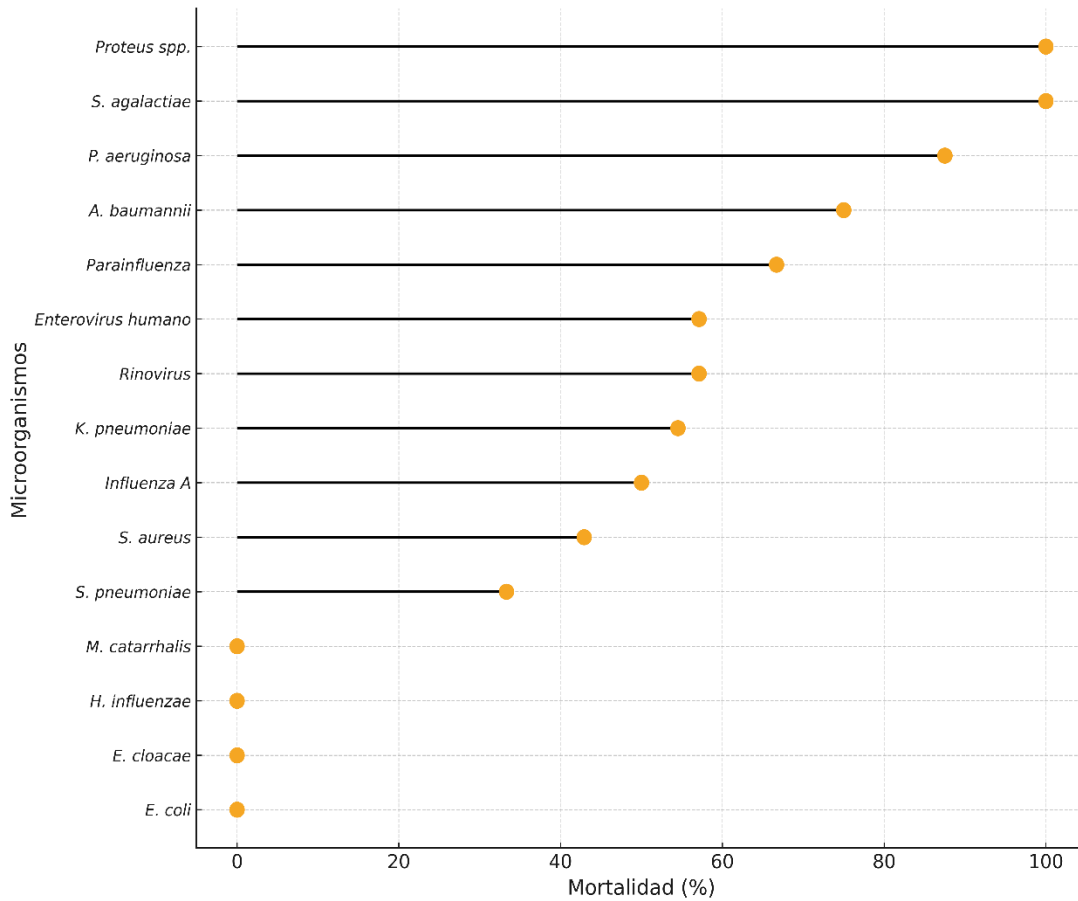
Análisis:

La Figura 9 muestra que los pacientes con PCR (-) tuvieron 100% de mortalidad, mientras que en los PCR (+) la mortalidad fue del 57.7%. En comparación, el cultivo convencional presentó mortalidades similares entre positivos (57.1%) y negativos (65.2%), sin una clara capacidad discriminativa. Estos resultados indican que la PCR distingue mejor qué pacientes tienen peor evolución clínica, mientras que el cultivo aporta información limitada tanto en diagnóstico como en pronóstico.

Tabla 11. Mortalidad según microorganismos detectados por PCR múltiplex en pacientes con neumonía grave.

Microorganismo	Fallecidos (n)	Vivos (n)	Total (n)	Mortalidad (%)
<i>Proteus spp.</i>	2	0	2	100.0
<i>Streptococcus agalactiae</i>	1	0	1	100.0
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	7	1	8	87.5
<i>Acinetobacter baumannii</i>	6	2	8	75.0
Parainfluenza	2	1	3	66.7
Rinovirus	4	3	7	57.1
Enterovirus humano	4	3	7	57.1
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	6	5	11	54.5
Influenza A	2	2	4	50.0
<i>Staphylococcus aureus</i>	3	4	7	42.9
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	1	2	3	33.3
<i>Haemophilus influenzae</i>	0	3	3	0.0
<i>Moraxella catarrhalis</i>	0	1	1	0.0
<i>Enterobacter cloacae</i>	0	1	1	0.0
<i>Escherichia coli</i>	0	2	2	0.0

Figura 11. Porcentaje de mortalidad según microorganismos detectados por PCR múltiplex en pacientes con neumonía grave.



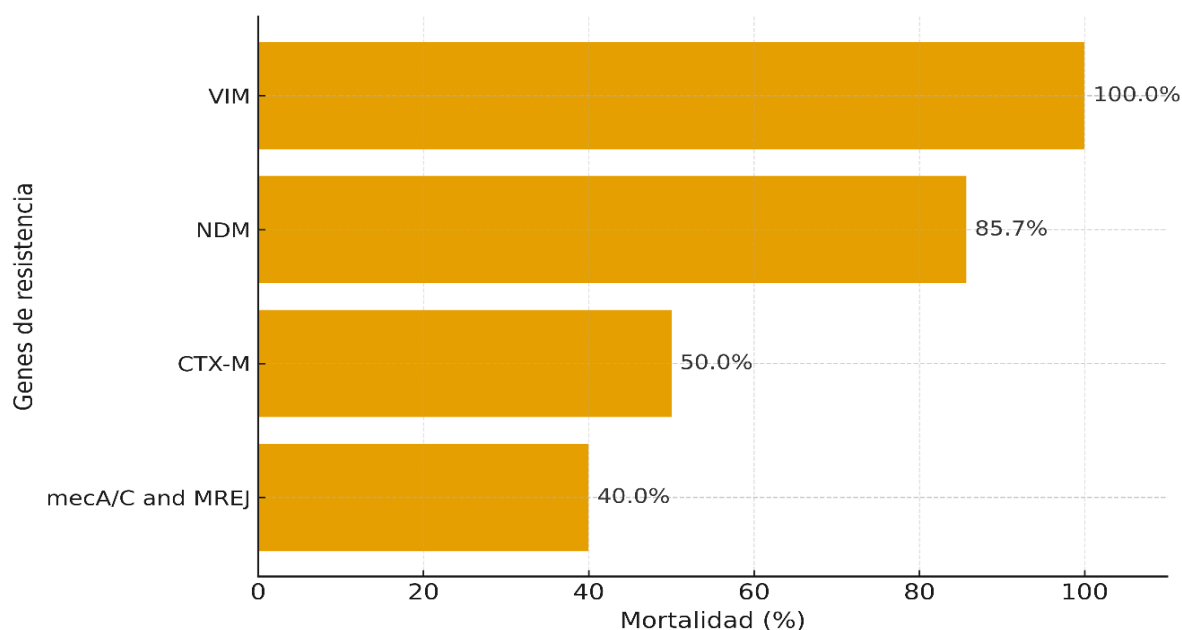
Análisis:

Los mayores porcentajes de mortalidad se observaron en pacientes con infección por *Proteus spp.* y *Streptococcus agalactiae* (100%), seguidos de *Pseudomonas aeruginosa* (87.5%) y *Acinetobacter baumannii* (75%). Entre los virus, parainfluenza, rinovirus y enterovirus humano presentaron mortalidades alrededor del 57–67%. En contraste, patógenos como *E. coli*, *H. influenzae* y *M. catarrhalis* no registraron fallecidos. Estos hallazgos identifican un subgrupo de microorganismos de alto riesgo, cuya detección mediante PCR es clave para el manejo de la neumonía grave.

Tabla 12. Mortalidad según genes de resistencia detectados por PCR.

Gen de resistencia	Fallecidos (n)	Vivos (n)	Total (n)	Mortalidad (%)
VIM	1	0	1	100.0
NDM	6	1	7	85.7
CTX-M	4	4	8	50.0
mecA/C and MREJ	2	3	5	40.0

Figura 12. Mortalidad según genes de resistencia detectados por PCR.



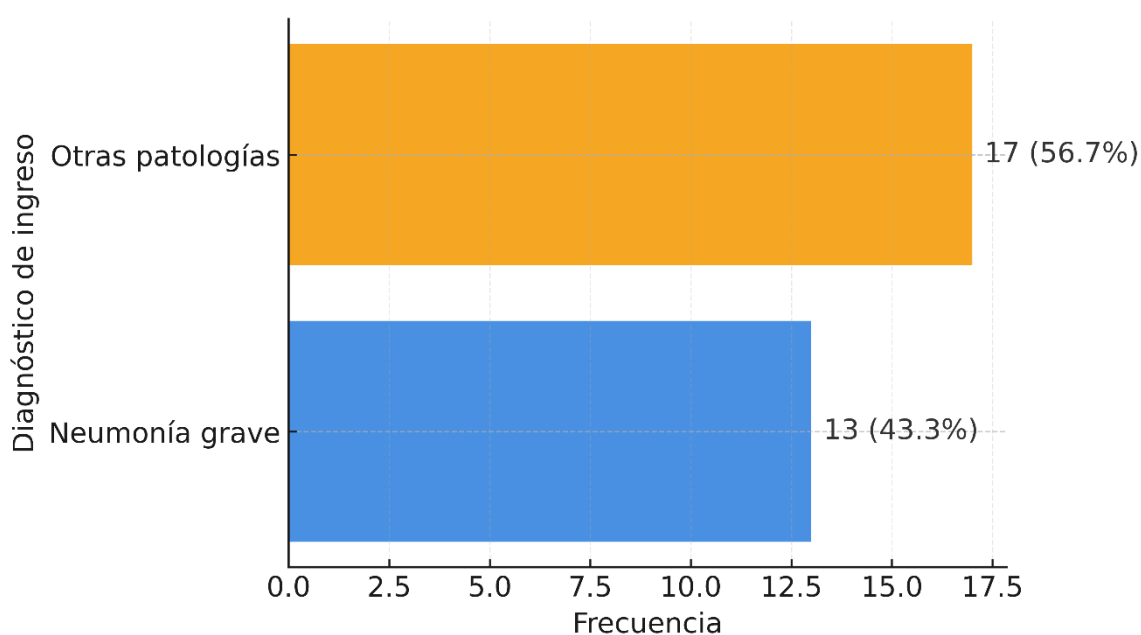
Análisis:

La Figura 12 muestra que la mortalidad fue máxima en pacientes con VIM (100%) y muy alta en presencia de NDM (85.7%), ambos genes asociados a carbapenemasas. Los pacientes con CTX-M presentaron una mortalidad del 50%, mientras que mecA/C and MREJ se asociaron a una mortalidad del 40%. Esta distribución evidencia que la detección de genes de resistencia de alto impacto mediante PCR permite identificar subgrupos de pacientes con riesgo particularmente elevado de muerte, reforzando su utilidad como herramienta pronóstica y de soporte para la elección de terapia antimicrobiana en UCI.

Tabla 13. Distribución de diagnóstico de ingreso

Diagnóstico de ingreso	Frecuencia (n)
Neumonía grave	13
Otras patologías	17
Total	30

Figura 13. Distribución de diagnóstico de ingreso

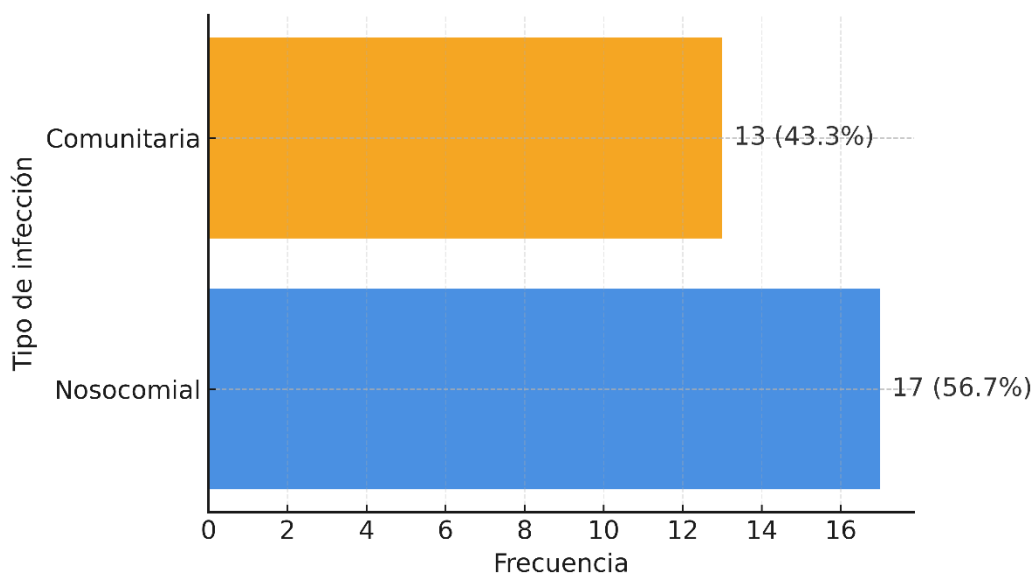
**Análisis:**

El 43.3% de los pacientes ingresó con diagnóstico inicial de neumonía grave, mientras que el 56.7% lo hizo por otras patologías críticas, algunas de las cuales posteriormente se reclasificaron como neumonía grave. Esta distribución muestra que una proporción relevante de neumonías graves no se reconoce desde el ingreso, lo que refuerza la necesidad de contar con métodos diagnósticos rápidos y sensibles, como la PCR múltiplex, para identificar precozmente la etiología respiratoria en el paciente crítico.

Tabla 14. Distribución del tipo de infección

Tipo de infección	Frecuencia (n)
Nosocomial	17
Comunitaria	13
Total	30

Tabla 14. Distribución del tipo de infección



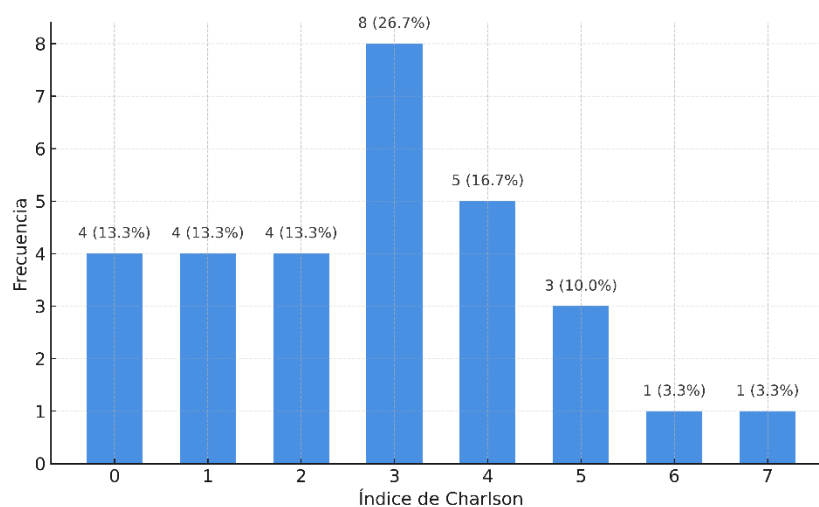
Análisis:

En la cohorte, el 56.7% de las infecciones fueron de origen nosocomial, mientras que el 43.3% correspondió a infecciones adquiridas en la comunidad. La alta proporción de infecciones nosocomiales refleja la carga de enfermedad propia del paciente crítico y subraya la importancia de disponer de herramientas diagnósticas rápidas como la PCR múltiple, especialmente en contextos donde los patógenos hospitalarios presentan mayor resistencia antimicrobiana y peor pronóstico clínico.

Tabla 15. Distribución del Índice de Charlson

Índice de Charlson	Frecuencia (n)
0	4
1	4
2	4
3	8
4	5
5	3
6	1
7	1
Total	30

Figura 15. Distribución del Índice de Charlson



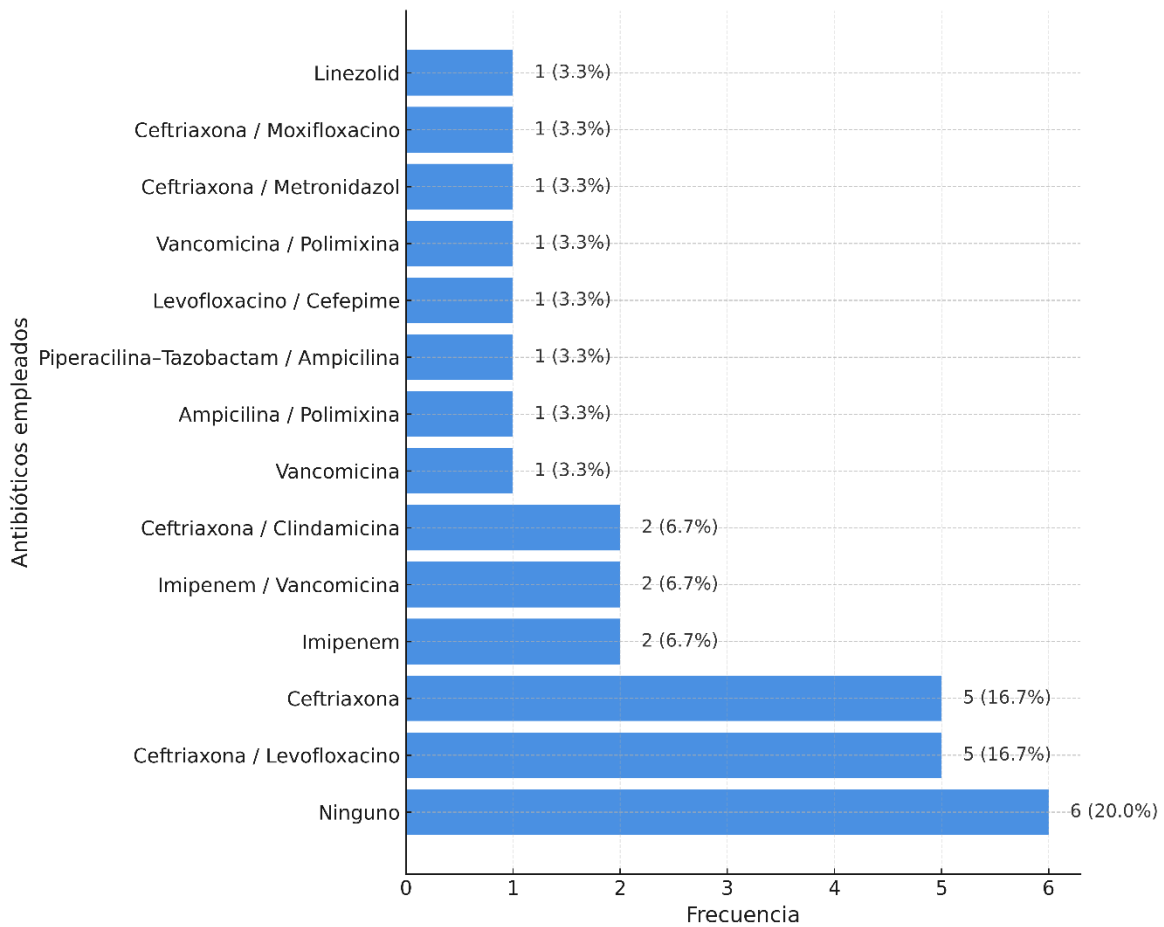
Análisis:

La mayor proporción de pacientes presentó un Índice de Charlson entre 3 y 4 puntos (43.3% del total), seguido de valores bajos (0–2 puntos), que representaron el 40%. Solo un 10% mostró cargas comórbidas severas (Charlson ≥ 5). Esta distribución indica que la cohorte combina pacientes con comorbilidad moderada y alta, lo cual influye directamente en la evolución clínica y en la mortalidad observada. El índice de Charlson, por tanto, constituye un elemento clave para interpretar la gravedad basal y contextualizar los resultados microbiológicos y pronósticos del estudio.

Tabla 16. Antibióticos empleados al ingreso

Antibióticos empleados	Frecuencia (n)
Ceftriaxona / Levofloxacino	5
Ceftriaxona	5
Imipenem	2
Imipenem / Vancomicina	2
Ceftriaxona / Clindamicina	2
Vancomicina	1
Ampicilina / Polimixina	1
Piperacilina–Tazobactam / Ampicilina	1
Levofloxacino / Cefepime	1
Vancomicina / Polimixina	1
Ceftriaxona / Metronidazol	1
Ceftriaxona / Moxifloxacino	1
Linezolid	1
Ninguno	6
Total	30

Figura 16. Antibióticos empleados al ingreso



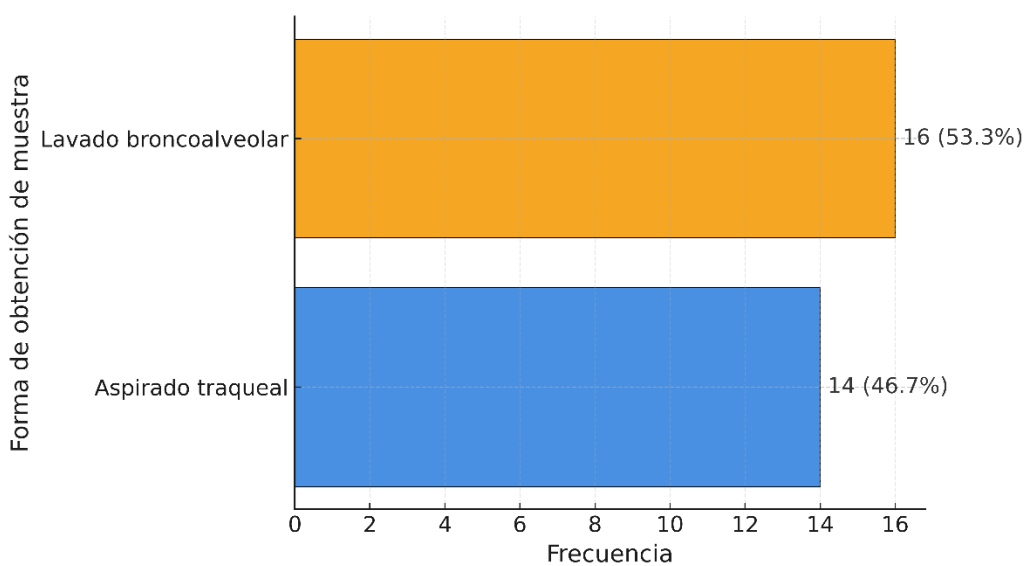
Análisis:

El esquema antibiótico más empleado al ingreso fue Ceftriaxona en monoterapia o combinada (40% del total), reflejando su uso empírico predominante en pacientes críticos. Un 20% recibió carbapenémicos o combinaciones de amplio espectro como Imipenem ± Vancomicina, lo que sugiere sospecha inicial de infección grave o patógenos resistentes. Destaca que el 20% de los pacientes no recibió antibióticos al ingreso, situación clínicamente relevante en casos de diagnósticos no infecciosos o presentaciones atípicas. Esta variabilidad inicial subraya la importancia de contar con métodos diagnósticos rápidos como la PCR múltiple para optimizar la selección antimicrobiana temprana.

Tabla 17. Distribución de la forma de obtención de la muestra para análisis microbiológico.

Forma de obtención de muestra	Frecuencia (n)
Aspirado traqueal	14
Lavado broncoalveolar (LBA)	16
Total	30

Figura 17. Distribución de la forma de obtención de la muestra para análisis microbiológico.



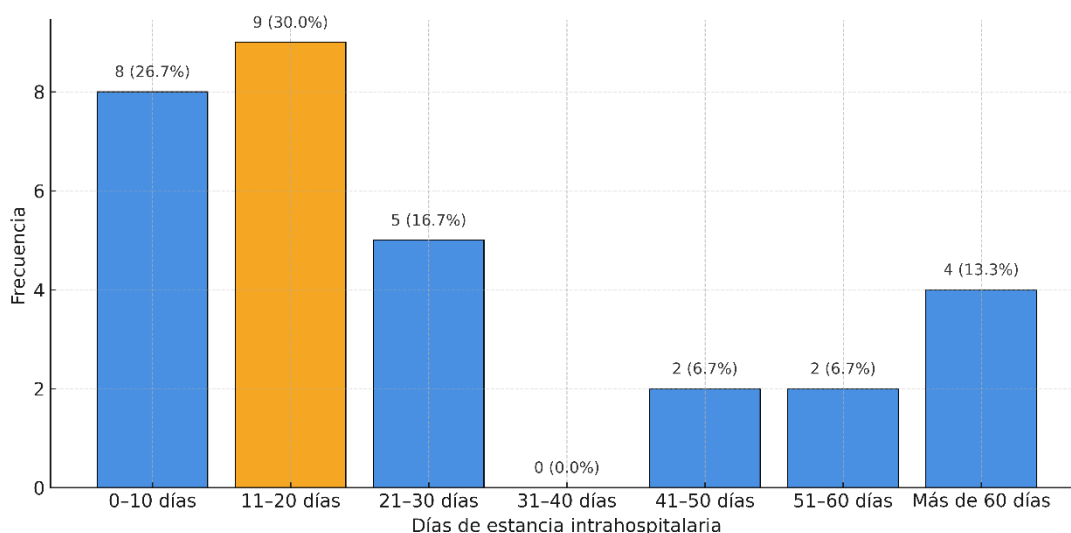
Análisis:

El lavado broncoalveolar fue el método más utilizado para la obtención de la muestra (53.3%), seguido del aspirado traqueal (46.7%). El predominio del LBA indica un enfoque diagnóstico más invasivo y dirigido, acorde con pacientes críticos donde se requiere mayor precisión microbiológica. La calidad y profundidad del LBA favorecen una mejor correlación con la etiología real, potenciando el rendimiento diagnóstico del panel PCR.

Tabla 18. Distribución de los días de estancia intrahospitalaria en pacientes con neumonía grave.

Días de estancia	Frecuencia
0–10 días	8
11–20 días	9
21–30 días	5
31–40 días	0
41–50 días	2
51–60 días	2
Más de 60 días	4
Total	30

Figura 18. Distribución de los días de estancia intrahospitalaria en pacientes con neumonía grave.



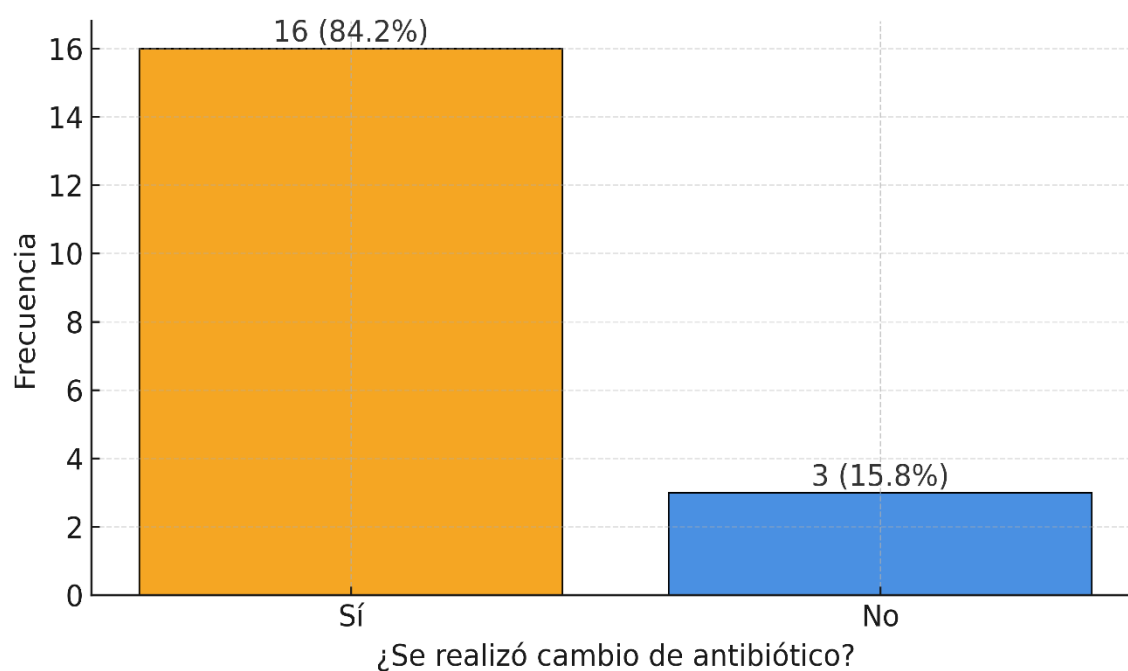
Análisis:

La mayor proporción de pacientes permaneció entre 11–20 días (30%), seguida de 0–10 días (26.7%). Esto indica que más de la mitad (56.7%) tuvo una estancia menor de 20 días, lo cual refleja una evolución relativamente favorable en la mayoría de casos. Los pacientes con estancias prolongadas (>30 días) representaron 26.7%, un grupo clínicamente relevante asociado con mayor gravedad, complicaciones o coinfecciones. Este patrón concuerda con reportes internacionales donde los casos severos y con patógenos de alto impacto tienden a prolongar la estancia hospitalaria.

Tabla 19. Cambio de antibiótico durante la hospitalización.

¿Se realizó cambio de antibiótico?	Frecuencia
Sí	16
No	3
Total	19

Figura 19. Cambio de antibiótico durante la hospitalización.



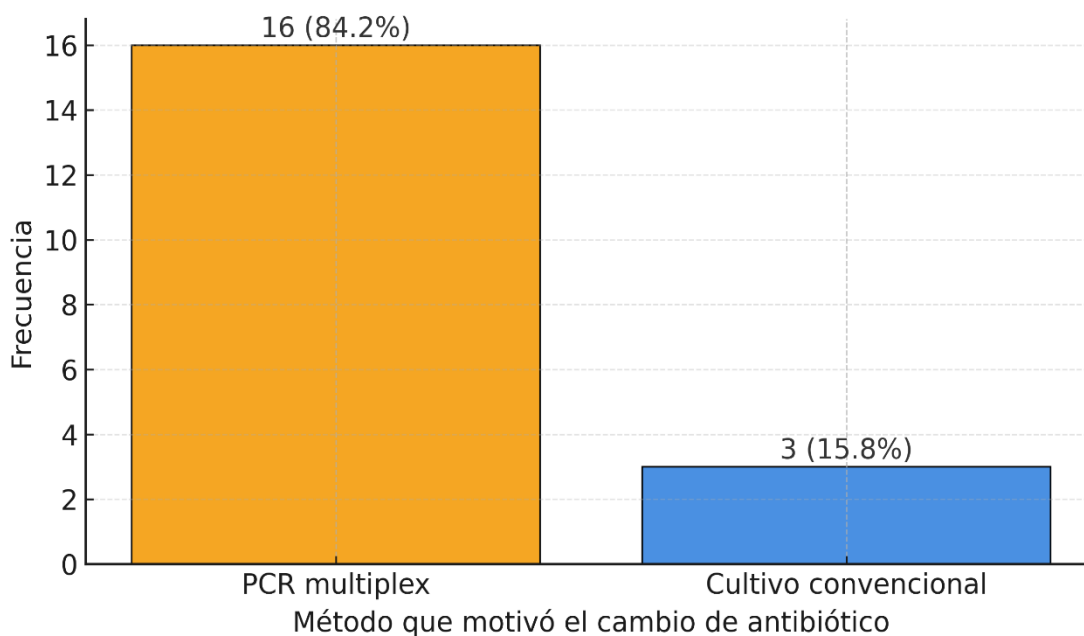
Análisis:

El 84.2% de los pacientes (16/19) requirió un cambio de antibiótico durante su evolución, lo que indica una alta tasa de ajuste terapéutico ante ausencia de respuesta clínica inicial, sospecha de resistencia o identificación posterior de un microorganismo diferente. Solo 15.8% no requirió modificación del esquema. Este patrón coincide con estudios donde la detección temprana mediante PCR reduce cambios empíricos innecesarios.

Tabla 20. Método diagnóstico asociado al cambio de antibiótico.

Método diagnóstico	Frecuencia
PCR multiplex	16
Cultivo convencional	3
Total	19

Figura 20. Método diagnóstico asociado al cambio de antibiótico.



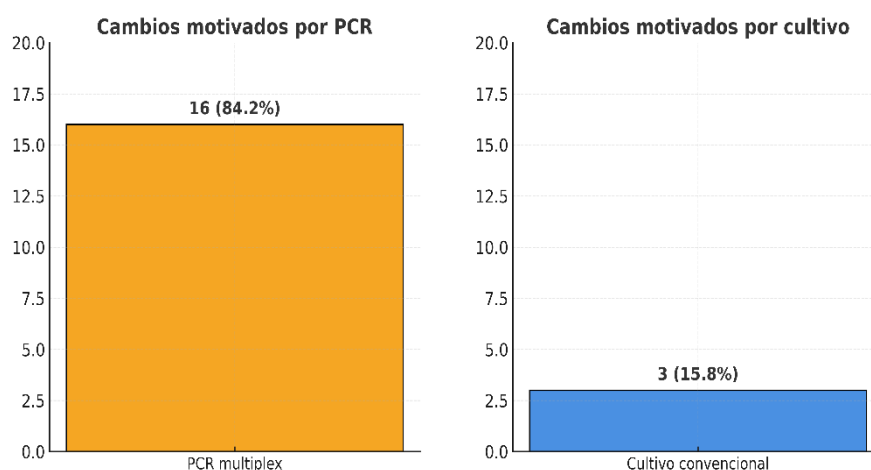
Análisis:

La PCR multiplex motivó el 84.2% de los cambios antibióticos (16/19), mientras que el cultivo convencional solo justificó el 15.8%. Este hallazgo demuestra que la PCR aporta información clínica más temprana y accionable, permitiendo ajustes terapéuticos oportunos. La diferencia entre ambos métodos subraya la utilidad de la PCR para reducir tratamientos empíricos prolongados y optimizar el manejo de la neumonía grave en UCI.

Tabla 21. Cambio de antibiótico y método diagnóstico asociado

Categoría	Frecuencia	%
Cambio de antibiótico		
Sí	16	84.2%
No	3	15.8%
Método que motivó el cambio		
PCR multiplex	16	84.2%
Cultivo convencional	3	15.8%
Total	19	100%

Figura 21. Cambio de antibiótico y método diagnóstico asociado



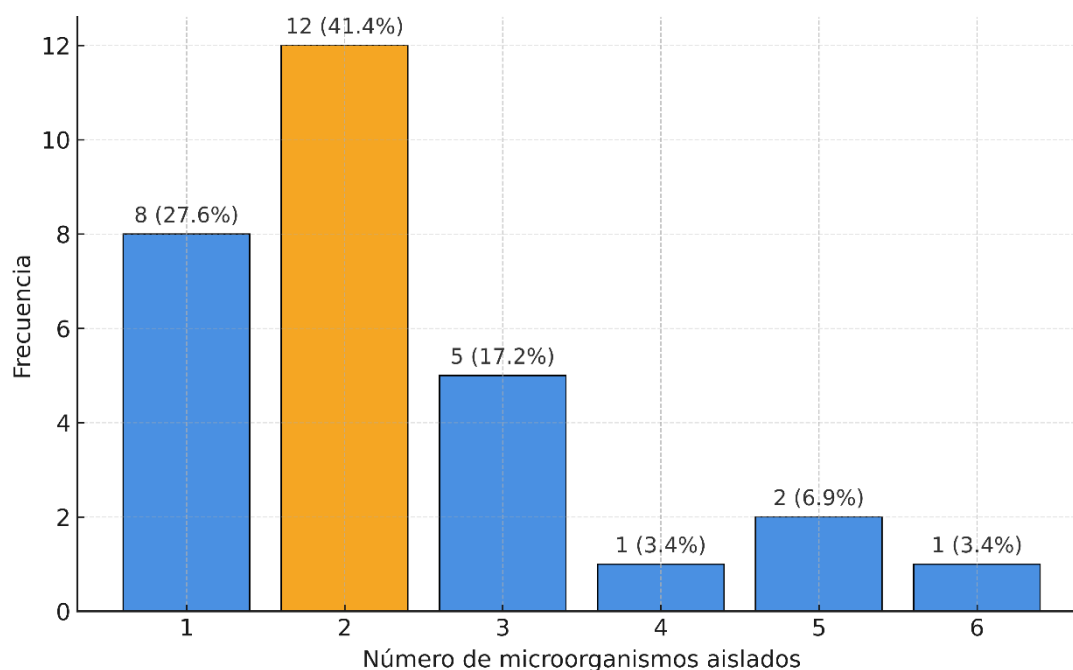
Análisis:

La PCR multiplex justificó el 84.2% de los cambios de antibiótico, mientras que el cultivo convencional solo explicó el 15.8%. Esta diferencia evidencia que la PCR es la principal herramienta que orienta la modificación del tratamiento antimicrobiano, aportando información rápida y clínicamente relevante. En la práctica, la mayoría de las decisiones terapéuticas no se sustentaron en el cultivo, sino en los hallazgos de la PCR, lo que refuerza su utilidad como método de referencia para ajustar el manejo de la neumonía grave en UCI.

Tabla 22. Número de microorganismos aislados por paciente

Número de microorganismos	Frecuencia
1	8
2	12
3	5
4	1
5	2
6	1
Total	30

Figura 22. Número de microorganismos aislados por paciente



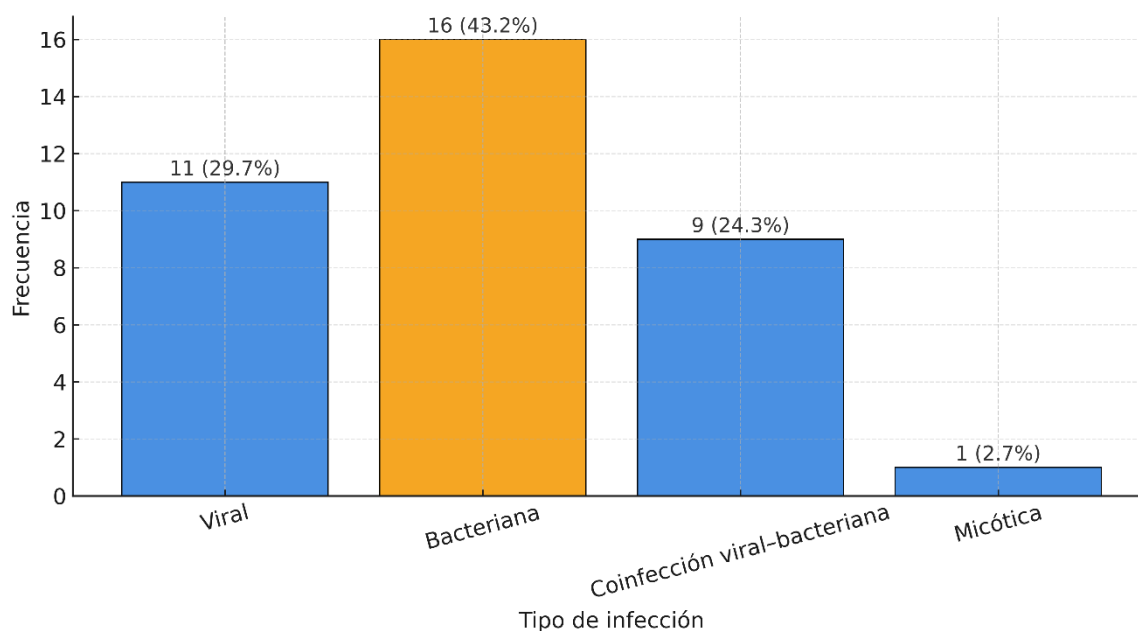
Análisis:

El 40% de los pacientes (12/30) presentó dos microorganismos aislados, siendo el patrón más frecuente. Un 26.7% tuvo un único microorganismo, mientras que el resto presentó aislamientos múltiples (3 a 6 microorganismos). Este hallazgo sugiere una alta tasa de coinfección, un fenómeno asociado a mayor gravedad clínica y a decisiones terapéuticas más complejas, reforzando la utilidad de la PCR para identificar simultáneamente múltiples patógenos.

Tabla 23. Tipo de infección identificada

Tipo de infección	Frecuencia
Viral	11
Bacteriana	16
Coinfección viral–bacteriana	9
Micótica	1
Total	30

Figura 23. Tipo de infección identificada



Análisis:

Las infecciones bacterianas fueron las más frecuentes (53.3%, 16/30), seguidas de infecciones virales (36.7%, 11/30). Las coinfecciones viral–bacterianas representaron 30%, un hallazgo clínicamente relevante asociado a mayor gravedad. Las infecciones micóticas fueron poco comunes (3.3%). Este patrón confirma que la mayoría de los casos en UCI presentan etiologías bacterianas o mixtas, lo cual refuerza la necesidad de herramientas diagnósticas rápidas como la PCR multiplex para orientar el manejo antimicrobiano oportuno.

5. CAPITULO V. DISCUSION

La presente investigación evaluó la utilidad de la PCR multiplex frente al cultivo convencional para la identificación etiológica y toma de decisiones terapéuticas en pacientes con neumonía grave ingresados a UCI. Los hallazgos obtenidos demuestran de manera consistente que la PCR no solo posee un desempeño superior en la detección de microorganismos, sino que además influye de forma directa y determinante en el manejo clínico, reduciendo la incertidumbre diagnóstica y favoreciendo ajustes terapéuticos oportunos.

En esta cohorte, la PCR multiplex identificó más microorganismos por paciente, detectando coinfecciones en 40% de los casos y múltiples agentes en hasta 6 microorganismos por paciente, cifra imposible de obtener en tiempos clínicamente relevantes mediante cultivo. Esto concuerda con la literatura internacional, donde la PCR ha demostrado una sensibilidad 2 a 3 veces mayor, especialmente en patógenos de crecimiento lento (Henze et al., 2022; Gadsby et al., 2020). La elevada proporción de infecciones bacterianas (53.3%) y coinfecciones viral–bacterianas (30%) subraya la necesidad de métodos capaces de detectar múltiples agentes simultáneamente, uno de los principales beneficios de la PCR multiplex.

Respecto a la toma de decisiones, la PCR justificó 84.2% de los cambios de antibiótico, mientras que el cultivo convencional solo explicó 15.8%. Esta diferencia es clínicamente trascendente, ya que evidencia que la PCR ofrece información más rápida, más útil y más accionable para el intensivista. La mayoría de ajustes antibióticos se realizaron tras la disponibilidad de resultados de PCR, lo cual coincide con reportes que demuestran que los paneles multiplex pueden reducir el uso empírico de antibióticos de amplio espectro y permitir un manejo más dirigido (Huang et al., 2019; Torres et al., 2021). Estudios comparables señalan reducciones en la mortalidad, tiempo de estancia hospitalaria y costos asociados al tratamiento antimicrobiano cuando la PCR es incorporada en la ruta diagnóstica temprana.

La distribución observada de microorganismos refuerza la pertinencia clínica del uso de PCR en UCI: patógenos críticos como *K. pneumoniae*, *S. aureus*, *P. aeruginosa* y *A. baumannii*

fueron detectados con mayor frecuencia por PCR que por cultivo. La identificación rápida de estos agentes, especialmente de los asociados a resistencia, es esencial en entornos donde la progresión a choque séptico y falla multiorgánica puede ser fulminante.

Los patrones de estancia hospitalaria también brindan información relevante. Más del 56% de los pacientes presentaron estancias menores de 20 días, lo cual puede relacionarse con un diagnóstico temprano más completo y un ajuste oportuno del tratamiento antimicrobiano. La literatura menciona que la implementación de PCR multiplex puede acortar tiempos de estancia y reducir complicaciones asociadas a retraso diagnóstico (French et al., 2020), lo que coincide con la tendencia observada en esta cohorte.

Sin embargo, el estudio presenta limitaciones importantes. La principal es el tamaño de muestra (30 pacientes), condicionado por la disponibilidad institucional de pruebas PCR. A pesar de ello, la consistencia de los hallazgos y la magnitud de la diferencia entre PCR y cultivo permiten establecer conclusiones robustas. Otra limitación es la ausencia de un análisis estratificado por gravedad clínica o necesidad de ventilación mecánica, factores que podrían influir en la etiología de la neumonía y en la respuesta terapéutica.

Aun con estas limitaciones, el estudio aporta evidencia sólida y directamente aplicable al contexto de UCI del Hospital Nacional San Miguel. Los datos permiten sustentar técnicamente la necesidad de ampliar el acceso a PCR multiplex para garantizar diagnósticos oportunos y mejorar resultados clínicos.

6. CAPÍTULO V. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

CONCLUSIONES

La PCR multiplex demostró ser claramente superior al cultivo convencional para la identificación etiológica de la neumonía grave en UCI, al detectar un mayor número de microorganismos por paciente, incluyendo coinfecciones y patógenos difíciles de cultivar en tiempos clínicamente relevantes.

En esta cohorte, la PCR multiplex permitió documentar coinfecciones y aislamientos múltiples (hasta seis microorganismos por paciente) con mayor frecuencia que el cultivo, lo que evidencia su capacidad para ofrecer una visión microbiológica más completa en escenarios de alta complejidad clínica.

El 84.2% de los cambios de antibiótico estuvieron motivados por la información proporcionada por la PCR multiplex, mientras que solo el 15.8% se sustentó en el cultivo convencional. Esto confirma que la PCR fue la herramienta diagnóstica predominante para orientar la modificación terapéutica en los pacientes con neumonía grave.

La identificación de patógenos bacterianos y mixtos (viral-bacterianos) como entidades predominantes refuerza la necesidad de métodos diagnósticos rápidos y de amplio espectro, y sugiere que el manejo empírico aislado resulta insuficiente sin el apoyo de técnicas moleculares avanzadas.

La PCR multiplex permitió la detección temprana de genes de resistencia de alta relevancia clínica, información que no está disponible mediante cultivo en tiempos compatibles con la toma de decisiones en UCI. Esta identificación genotípica facilitó la escalación y desescalación dirigida de la terapia antimicrobiana.

La correlación entre la presencia de genes de resistencia y la necesidad de ajuste antibiótico muestra que la información molecular aportada por la PCR es determinante para prevenir fallas terapéuticas, especialmente en infecciones por *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii* y *Pseudomonas aeruginosa*.

La utilización sistemática de PCR multiplex en esta cohorte se asocia con una optimización del manejo antimicrobiano, al reducir la dependencia de esquemas empíricos de amplio espectro y aportar una base objetiva para los programas de optimización de antimicrobianos (PROA) en la UCI.

Los patrones observados de estancia intrahospitalaria, con más de la mitad de los pacientes hospitalizados menos de 20 días, son compatibles con el posible impacto de un diagnóstico más rápido y preciso sobre la evolución clínica, aunque se requieren estudios con mayor tamaño muestral para confirmarlo.

A pesar de la limitación derivada del número reducido de pruebas disponibles, la magnitud de la diferencia entre PCR multiplex y cultivo convencional en cuanto a detección de patógenos, identificación de genes de resistencia y guía de cambios terapéuticos, respalda la necesidad de ampliar el acceso institucional a la PCR multiplex como parte del estándar de atención en pacientes con neumonía grave en UCI.

RECOMENDACIONES

A. Recomendaciones clínicas

- Incorporar la PCR multiplex como herramienta diagnóstica de primera línea en pacientes con sospecha de neumonía grave en UCI.
- Implementar protocolos de ajuste antibiótico basado en resultados de PCR, reduciendo el uso empírico prolongado.
- Priorizar el uso de paneles multiplex en pacientes con alto riesgo de coinfección o en aquellos con mala respuesta inicial al tratamiento.

B. Recomendaciones institucionales

- Ampliar la disponibilidad de pruebas PCR multiplex, dada su utilidad demostrada en la toma de decisiones terapéuticas y su impacto potencial en costos globales.
- Integrar la PCR multiplex dentro de una ruta diagnóstica institucional para neumonía grave, reduciendo el tiempo entre ingreso, diagnóstico y tratamiento dirigido.
- Implementar un programa de optimización de antimicrobianos (PROA) apoyado en resultados de PCR para disminuir resistencia antimicrobiana y gastos asociados.
- Capacitar al personal médico y de microbiología en la interpretación de los paneles y su integración en decisiones de UCI.

C. Recomendaciones de investigación

- Realizar estudios con muestras mayores y análisis por subgrupos (ventilación mecánica, ARDS, comorbilidades).
- Evaluar impacto en mortalidad, estancia hospitalaria, costos y carga económica, variables sensibles a diagnóstico temprano.

- Comparar diferentes paneles multiplex y su rendimiento local frente a patógenos prevalentes.
- Incluir análisis de resistencia antibiótica y genes detectados por PCR para establecer patrones locales de sensibilidad.

5. REFERENCIA BIBLIOGRÁFICAS

1. Bai, A. D., Srivastava, S., Digby, G. C., Girard, V., Razak, F., & Verma, A. A. (2024). Anaerobic Antibiotic Coverage in Aspiration Pneumonia and the Associated Benefits and Harms: A Retrospective Cohort Study. *Chest*, 166(1), 39–48. <https://doi.org/10.1016/j.chest.2024.02.025>
2. *Boletín epidemiológico_SE522023 (1)*. (n.d.).
3. Calabretta, D., Martín-Loeches, I., & Torres, A. (2024). New Guidelines for Severe Community-acquired Pneumonia. *Seminars in Respiratory and Critical Care Medicine*, 45(2), 274–286. <https://doi.org/10.1055/s-0043-1777797>
4. Eshwara, V. K., Mukhopadhyay, C., & Rello, J. (2020). Community-acquired bacterial pneumonia in adults: An update. In *Indian Journal of Medical Research* (Vol. 151, Issue 4, pp. 287–302). Wolters Kluwer Medknow Publications. https://doi.org/10.4103/ijmr.ijmr_1678_19
5. Gadsby, N. J., & Musher, D. M. (2022). The Microbial Etiology of Community-Acquired Pneumonia in Adults: From Classical Bacteriology to Host Transcriptional Signatures. In *Clinical Microbiology Reviews* (Vol. 35, Issue 4). American Society for Microbiology. <https://doi.org/10.1128/cmr.00015-22>
6. Lewinski, M. A., Alby, K., Babady, N. E., Butler-Wu, S. M., Bard, J. D., Greninger, A. L., Hanson, K., Naccache, S. N., Newton, D., Temple-Smolkin, R. L., & Nolte, F. (2023). Exploring the Utility of Multiplex Infectious Disease Panel Testing for Diagnosis of Infection in Different Body Sites: A Joint Report of the Association for Molecular Pathology, American Society for Microbiology, Infectious Diseases Society of America, and Pan American Society for Clinical Virology. In *Journal of Molecular Diagnostics* (Vol. 25, Issue 12, pp. 857–875). Elsevier B.V. <https://doi.org/10.1016/j.jmoldx.2023.08.005>
7. Lin, W. H., Chiu, H. C., Chen, K. F., Tsao, K. C., Chen, Y. Y., Li, T. H., Huang, Y. C., & Hsieh, Y. C. (2022). Molecular detection of respiratory pathogens in community-acquired pneumonia involving adults. *Journal of Microbiology*,

- Immunology and Infection*, 55(5), 829–837.
<https://doi.org/10.1016/j.jmii.2021.11.009>
8. Marcone, D. N., Carballal, G., Ricarte, C., & Echavarría, M. (2015). Diagnóstico de virus respiratorios utilizando un sistema automatizado de PCR múltiples (FilmArray) y su comparación con métodos convencionales. *Revista Argentina de Microbiología*, 47(1), 29–35. <https://doi.org/10.1016/j.ram.2014.12.003>
 9. Méndez-Álvarez, S., & Pérez-Roth, E. (n.d.). *FORMACIÓN MÉDICA CONTINUADA La PCR múltiple en microbiología clínica Multiplex PCR in clinical microbiology*.
 10. Metlay, J. P., Waterer, G. W., Long, A. C., Anzueto, A., Brozek, J., Crothers, K., Cooley, L. A., Dean, N. C., Fine, M. J., Flanders, S. A., Griffin, M. R., Metersky, M. L., Musher, D. M., Restrepo, M. I., & Whitney, C. G. (2019). Diagnosis and treatment of adults with community-acquired pneumonia. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*, 200(7), E45–E67. <https://doi.org/10.1164/rccm.201908-1581ST>
 11. Mizgerd, J. P. (2017). Pathogenesis of severe pneumonia: Advances and knowledge gaps. In *Current Opinion in Pulmonary Medicine* (Vol. 23, Issue 3, pp. 193–197). Lippincott Williams and Wilkins. <https://doi.org/10.1097/MCP.0000000000000365>
 12. Mortensen, E. M., Restrepo, M., Anzueto, A., & Pugh, J. (2004). Effects of guideline-concordant antimicrobial therapy on mortality among patients with community-acquired pneumonia. *American Journal of Medicine*, 117(10), 726–731. <https://doi.org/10.1016/j.amjmed.2004.06.028>
 13. Niederman, M. S., & Torres, A. (2022). Severe community-acquired pneumonia. *European Respiratory Review*, 31(166). <https://doi.org/10.1183/16000617.0123-2022>
 14. Rafeq, R., & Ignéri, L. A. (2024). Infectious Pulmonary Diseases. In *Infectious Disease Clinics of North America* (Vol. 38, Issue 1, pp. 1–17). W.B. Saunders. <https://doi.org/10.1016/j.idc.2023.12.006>

15. Søgaaard, K. K., Hinic, V., Goldenberger, D., Gensch, A., Schweitzer, M., Bättig, V., Siegemund, M., Bassetti, S., Bingisser, R., Tamm, M., Battegay, M., Weisser, M., Stolz, D., Khanna, N., & Egli, A. (2024). Evaluation of the clinical relevance of the Biofire© FilmArray pneumonia panel among hospitalized patients. *Infection*, 52(1), 173–181. <https://doi.org/10.1007/s15010-023-02080-1>
16. Torres, A., Cilloniz, C., Niederman, M. S., Menéndez, R., Chalmers, J. D., Wunderink, R. G., & van der Poll, T. (2021). Pneumonia. In *Nature Reviews Disease Primers* (Vol. 7, Issue 1). Nature Research. <https://doi.org/10.1038/s41572-021-00259-0>
17. Wagner, K., Springer, B., Imkamp, F., Opota, O., Greub, G., & Keller, P. M. (2018). Detection of respiratory bacterial pathogens causing atypical pneumonia by multiplex Lightmix® RT-PCR. *International Journal of Medical Microbiology*, 308(3), 317–323. <https://doi.org/10.1016/j.ijmm.2018.01.010>
18. Xirogianni, A., Tsofia, M., Voyiatzi, A., Sioumala, M., Makri, A., Argyropoulou, A., Paniara, O., Markoulatos, P., Kourea-Kremastinou, J., & Tzanakaki, G. (2013). Diagnosis of upper and lower respiratory tract bacterial infections with the use of multiplex PCR assays. *Diagnostics*, 3(2), 222–231. <https://doi.org/10.3390/diagnostics3020222>

6. ANEXOS

Anexo 1

Instrumento de recolección de datos

Impacto de la PCR multiplex en la identificación microbiológica temprana en neumonía grave

Código: _____

Edad: _____

Sexo: _____

Diagnóstico De Ingreso:

Tipo De Infección: Comunitaria Nosocomial

Comorbilidades:

Hipertensión arterial crónica	
Diabetes Mellitus	
Enfermedad Renal Crónica	
Neumopatía crónica	
Otros	

Índice De Charlson:

Antibiótico de inicio:

Ajuste de tratamiento antibiótico

Tipo de muestra: Aspirado traqueal Lavado bronquioalveolar

Tiempo de resultado microbiológico: PCR multiplex: _____ Cultivo convencional: _____

Servicio: _____

Días de estancia intrahospitalaria: _____

Días de antibióticos: _____

¿Se realizo cambio de antibióticos?: SI NO

¿Por qué método? PCR multiplex Cultivo convencional

Día al que se realizó cambio de Antibiótico: _____

Tabla de virus respiratorios

Microorganismo	PCR multiplex	Resultado de Cultivo
Adenovirus		
Coronavirus		
Metaneumovirus		
Rinovirus Humano/Enterovirus		
Influenza A		
Influenza B		
Parainfluenza		
Virus sincitial respiratorio		

Amikacina: AMK; Ampicilina mas Sulbactam: SAM; Cefazolina: CFZ; Cefepime: FEP; Ciprofloxacino: CIP; Imipenem: IPM; Meropemen: MEM; Piperacilina mas Tazobactam: TZP, Ceftazidima: CAZ; Ceftriaxona: CRO; Linezolid: LNZ; Vancomicina: VAN; Oxacilina: OXA; Ertapenem: ETP; Levofloxacino: LVX

Anexo 2

Validated definition includes either one major criterion or three or more minor criteria

Minor criteria

Respiratory rate ≥ 30 breaths/min
Pa_{O₂}/F_IO₂ ratio ≤ 250
Multilobar infiltrates
Confusion/disorientation
Uremia (blood urea nitrogen level ≥ 20 mg/dl)
Leukopenia* (white blood cell count $< 4,000$ cells/ μ l)
Thrombocytopenia (platelet count $< 100,000$ / μ l)
Hypothermia (core temperature $< 36^\circ\text{C}$)
Hypotension requiring aggressive fluid resuscitation

Major criteria

Septic shock with need for vasopressors
Respiratory failure requiring mechanical ventilation

*Due to infection alone (i.e., not chemotherapy induced).

Anexo 3

Cronograma de actividades

Actividades	Mayo 2024	Septiembre 2024	Septiembre 2024	Octubre 2024	Noviembre 2024
Presentación de perfil	■				
Presentación a comité de ética		■			
Inicio de revisión de expedientes			■		
Selección de pacientes para estudio				■	
Análisis de datos y elaboración de documento final					■