

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE BAJA CALIFORNIA
FACULTAD DE MEDICINA MEXICALI**



TRABAJO TERMINAL

QUE PARA OBTENER EL DIPLOMA DE LA ESPECIALIDAD DE:

MEDICINA INTERNA

PRESENTA

OMAR CLEMENTE MIRANDA MONTAÑO

ASESOR DE TRABAJO TERMINAL:

DR. SAMUEL NAVARRO ALVAREZ

**“CONCORDANCIA DE UN PCR MÚLTIPLEX EN EL DIAGNÓSTICO DE
NEUMONÍA NOSOCOMIAL EN EL SERVICIO DE MEDICINA INTERNA DEL
HOSPITAL GENERAL TIJUANA”**

Mexicali, Baja California, Abril de 2025




**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE BAJA
CALIFORNIA
FACULTAD DE MEDICINA MEXICALI
COORDINACIÓN DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO**

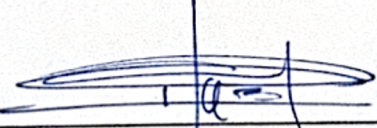
**CARTA DE DICTAMEN DE LA EVALUACIÓN DE LA FASE
ESCRITA DEL TRABAJO TERMINAL**

Mexicali, B.C., a 1 de Abril de 2025.

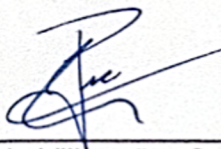
Los abajo firmantes, miembros del Jurado Dictaminador del trabajo terminal titulado "Concordancia de un PCR múltiplex en el diagnóstico de neumonía nosocomial en el servicio de Medicina Interna en el Hospital General Tijuana", que para obtener el Diploma de **Especialidad en Medicina Interna**, presenta el(la) C. Omar Clemente Miranda Montaña, una vez concluida la evaluación correspondiente, hemos resuelto aprobar por unanimidad.



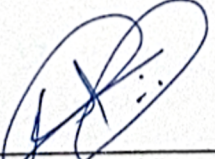
Dr. Samuel Navarro Álvarez
Presidente



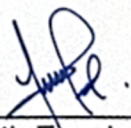
Dr. Hugo Alberto Cruz Zapata
Sinodal



Dr. Pablo Villaseñor Ovies
Sinodal

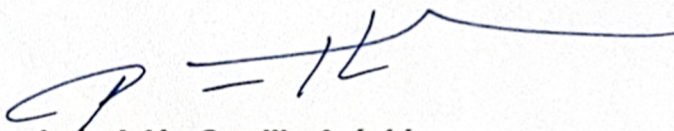


Dra. Karla Aimee Silva Ceballos
Sinodal



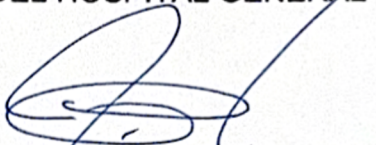
Dra. Elizabeth Esquivel Silva
Secretario

Autorización del Trabajo Terminal



Dr. Luis Adán Carrillo Aréchiga

DIRECTOR DEL HOSPITAL GENERAL TIJUANA



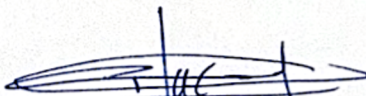
Dr. Francisco Alejandro Gutiérrez Manjarrez

JEFE DE ENSEÑANZA E INVESTIGACIÓN



Dr. Pablo Villaseñor Ovies

JEFE DEL SERVICIO DE MEDICINA INTERNA



Dr. Hugo Alberto Cruz Zapata

TITULAR DEL CURSO DE MEDICINA INTERNA



Dr. Samuel Navarro Álvarez

ASESOR DE LA INVESTIGACIÓN



Dr. Omar Clemente Miranda Montaña

SUSTENTANTE DEL EXAMEN PARA OBTENER EL DIPLOMA DE
ESPECIALIDAD EN MEDICINA INTERNA



Gobierno de
México



IMSS BIENESTAR
SERVICIOS PÚBLICOS DE SALUD



ASUNTO: DICTAMEN DE TESIS
Tijuana, Baja California a 01 de abril 2025

DICTAMEN DE TESIS

Título: "Concordancia de un PCR múltiple en el diagnóstico de neumonía nosocomial en el servicio de Medicina Interna del Hospital General Tijuana"

Nombre del Residente: **Dr. Omar Clemente Miranda Montaña**
Opta por el grado: Especialidad en Medicina Interna
Director de Tesis: Dr. Samuel Navarro Álvarez

Después de una evaluación rigurosa por parte de todos los miembros del Comité de Ética en Investigación (CEI) de la tesis antes mencionada, se concluye:

DICTAMEN:

SE APRUEBA SIN CORRECCIONES (✓)
SE APRUEBA CON CORRECCIONES ()
NO SE APRUEBA ()

COMENTARIOS GENERALES:

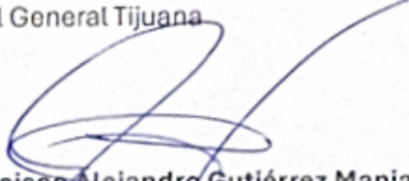
Ninguno

COMENTARIOS ESPECÍFICOS:

Se avala esta decisión por parte del Comité de Ética en Investigación y el Departamento de Enseñanza e Investigación del Hospital General de Tijuana.

Atentamente:


Mtra. Alicia Sánchez Ramírez
Presidenta del Comité de Ética en Investigación
Hospital General Tijuana


Dr. Francisco Alejandro Gutiérrez Manjarrez
Jefe del Departamento de Enseñanza e Investigación
Hospital General Tijuana



**HOSPITAL GENERAL
DE TIJUANA, B.C.**

01 ABR 2025

APROBADO
COMITÉ DE ÉTICA EN INVESTIGACION



2025
Año de
La Mujer
Indígena

Avenida Centenario No. 10851 Zona Río Tijuana C.P. 2210 Tel. 664 684-00-79 ext. 2449

Agradecimientos

Deseo expresar mi más sincero agradecimiento al Dr. Samuel Navarro por ser mi tutor de tesis, por guiarme en el apasionante campo de la medicina interna y por convertirse en un modelo a seguir como infectólogo; su orientación académica, motivación constante y generosidad al solventar los gastos relacionados con este proyecto fueron determinantes para el desarrollo exitoso de mi investigación. Asimismo, extendiendo mi gratitud al Dr. Pablo Villaseñor, quien me brindó un valioso acompañamiento en la aplicación de la estadística y el análisis de resultados, compartiendo con paciencia y claridad sus conocimientos y experiencia, lo cual me permitió comprender de manera rigurosa los datos obtenidos; su profesionalismo y compromiso han sido un pilar fundamental para que mis hallazgos cuenten con un sólido respaldo científico.

Dedicatoria

A mi amada familia, quienes han sido el pilar fundamental durante este arduo camino hacia la especialidad de Medicina Interna: sus palabras de aliento, su paciencia y, sobre todo, el amor incondicional que me han brindado, me han impulsado a superar cada obstáculo y a esforzarme por alcanzar mis metas. Cada vez que surgió una dificultad, ustedes estuvieron presentes para sostenerme y recordarme la importancia de seguir adelante. Su constante respaldo emocional, sus consejos llenos de sabiduría y su confianza depositada en mí representan la base sobre la cual he construido mi formación profesional. Les dedico este trabajo de todo corazón, pues sin ustedes, sin su fe, su alegría y su incansable ánimo, mi crecimiento como médico y como persona no habría sido posible.

Abreviaturas

Contenido

Agradecimientos	ii
Dedicatoria	iii
Abreviaturas	iv
Contenido	v
Índice de Tablas	vii
Índice de Figuras	viii
Resumen	1
1. Introducción	1
2. Marco Teórico	2
3. Antecedentes	4
4. Planteamiento del Problema	4
5. Justificación	5
6. Hipótesis y Objetivos	5
6.1. Hipótesis nula	5
6.2. Hipótesis alterna	5
6.2. Objetivo general	5
6.3. Objetivos específicos	6
7. Materiales y Métodos	6
7.1. Diseño del estudio	6
7.2. Descripción de la población	6
7.3. Cálculo del tamaño de muestra	6
7.4. Criterios de selección	6
7.4.1. Criterios de inclusión	7
7.4.2. Criterios de exclusión	7
7.4.3. Criterios de eliminación	7
7.5. Variables	7
7.5.1. Variables dependientes	7
7.5.2. Variables independientes	7
7.6. Análisis estadístico	8
7.7. Aspectos éticos	8

8. Resultados	9
9. Discusión	12
10. Conclusiones	13
11. Bibliografía	14
Anexos	15
Anexo A. Acta de aprobación del Comité de Ética en Investigación.	
Anexo B. Formato de la Carta de Consentimiento Informado.	
Anexo C. Formato de la hoja de recolección de datos.	
Anexo D. Flujograma para la toma de muestra de secreción bronquial (Se incluyen los anexos que sean necesarios)	

Índice de Tablas

Tabla 1. Distribución de agentes detectados por Cultivo

Tabla 2. Distribución de agentes detectados por PCR

Índice de Figuras

Figura 1. Muestra total

Resumen

1.Introducción

La infección del tracto respiratorio inferior es una de las causas más importantes de morbilidad y mortalidad, sin embargo, establecer un diagnóstico microbiano para los pacientes con infección del tracto respiratorio inferior sigue siendo un desafío y a menudo se logra en solo la mitad de los casos con métodos convencionales, las limitaciones estriban en la baja rentabilidad del aislamiento del agente causal y en la difícil valoración de los microorganismos aislados en relación con su significación clínica, los diferentes cuadros clínicos y los métodos diagnósticos, y su valor depende, a su vez, de un diagnóstico clínico correcto y de un tratamiento antibiótico previo. (Shebl et al., 2023)

Según los datos de la GBD (Global Burden Diseases) la incidencia anual de NHA (neumonía adquirida en el hospital) en adultos varía entre 5 a 10 casos por cada 1.000 ingresos hospitalarios a nivel mundial, mientras que la NAV (neumonía asociada a la ventilación) afecta entre el 10% y 25% de todos los pacientes con ventilación mecánica, la NHA es la segunda infección hospitalaria más frecuente después de la infección del tracto urinario, y la NAV es la causa más común de infección nosocomial y muerte en la UCI. (Torres et al., 2021).

De acuerdo con Boletín Infecciones Asociadas a la Atención de la Salud (IAAS) en México del 2022, la Neumonía Asociada a la Ventilación Mecánica fueron las IAAS más prevalentes, representando el 15.3% del total de IAAS notificadas, se reportó que el servicio de Medicina Interna presentó mayor número de casos identificados de IAAS, en segundo lugar Cirugía General seguidos por la Terapia Intensiva Adulto, esto debido a que muy frecuentemente la mayor carga de atención se encuentran en dichos servicios, además de que la posibilidad de tener una estancia hospitalaria prolongada, realización de procedimientos y/o colocación de dispositivos invasivos aumenta, dando así lugar a una mayor probabilidad de una IAAS. (Salud, 2022)

En el Hospital General Tijuana según datos del departamento de epidemiología en el año 2023 el 37% de las IAAS se debieron a neumonía, de estas correspondiendo al 82% asociada a ventilación mecánica, en primer lugar el servicio de Medicina Interna, seguido por la Unidad de Cuidados Intensivos y en tercero Urgencias de Adultos.

2. Marco Teórico

La PCR (reacción en cadena de la polimerasa) es una técnica de biología molecular ampliamente utilizada para amplificar secuencias específicas de ADN, el proceso implica ciclos repetidos de calentamiento y enfriamiento, durante los cuales se replican segmentos específicos de ADN.

El proceso de PCR consta típicamente de tres etapas principales:

1. Desnaturalización: el ADN molde se calienta para separar las hebras de ADN.
2. Hibridación de primers: los primers se unen a las secuencias complementarias en el ADN molde.
3. Extensión: la DNA polimerasa sintetiza nuevas cadenas de ADN utilizando los primers como cebadores. (NCBI, 2018).

Cada ciclo de PCR duplica el número de copias de la secuencia de interés, lo que permite amplificar rápidamente una cantidad significativa de ADN específico.

La PCR y la hibridación reversa tienen numerosas aplicaciones en la investigación biomédica y la medicina clínica. Estas técnicas se utilizan para diagnosticar enfermedades infecciosas, identificar variantes genéticas, estudiar expresión génica y caracterizar microorganismos, entre otras aplicaciones, su sensibilidad y especificidad las convierten en herramientas indispensables en el campo de la biología molecular y la genética.

Sepsis Flow Chip es un kit de diagnóstico in vitro de infecciones nosocomiales en humanos basado en PCR multiplex e hibridación reversa para la detección simultánea de bacterias, hongos y los principales genes de resistencia a antibióticos en un único ensayo, además permite la detección simultánea de alrededor de 36 especies bacterianas, varias especies de hongos, 20 marcadores de resistencia a antibióticos, con respecto a estos, el kit detecta un gen asociado a resistencia a meticilina (*mecA*), dos genes que confieren resistencia a vancomicina (*vanA* y *vanB*), dos genes asociados a resistencia frente a antibióticos β -lactámicos (*blaSHV* y *blaCTX-M* de amplio espectro) y quince genes que confieren resistencia a carbapenemos. (Diagnostica, 2018).

El kit Sepsis Flow Chip se basa en una metodología que consiste en la amplificación simultánea de al menos 36 especies bacterianas y varias especies fúngicas, además de veinte marcadores de resistencia mediante PCR múltiple seguida de hibridación en

membrana con sondas de ADN específicas mediante la tecnología DNA-Flow para plataformas hybriSpot, tanto automática como manual, las ampliaciones biotiniladas generados tras la PCR se hibridan en membranas que contienen un array de sondas específicas para cada patógeno y marcador de resistencia, así como sondas de control de amplificación e hibridación.

La tecnología DNA-Flow permite una unión muy rápida entre el producto de PCR y su sonda específica en un ambiente tridimensional poroso en contraste con la hibridación en superficie convencional. Una vez producida la unión entre los amplicones específicos y sus sondas correspondientes, la señal se visualiza mediante una reacción inmunoenzimática colorimétrica con Estreptavidina-Fosfatasa y un cromógeno (NBT-BCIP) que genera precipitados insolubles en la membrana en aquellas posiciones en las que ha habido hibridación. Los resultados son analizados automáticamente con el software hybriSoft. (Diagnostica, 2018).

Las limitaciones que existen con este kit es que ha sido validado con muestras diluidas de hemocultivos, material genético purificado procedente de exudados rectales, muestras diluidas de exudados rectales y colonias, el análisis de cualquier otro tipo de muestra no indicado puede generar resultados erróneos o no concluyentes por inhibición de la reacción de PCR por agentes químicos inhibitorios. (Diagnostica, 2018).

El artículo "Accuracy of the Clinical Pulmonary Infection Score to Differentiate Ventilator-Associated Tracheobronchitis from Ventilator-Associated Pneumonia" evalúa la precisión del Puntaje Clínico de Infección Pulmonar (CPIS, por sus siglas en inglés) para distinguir entre la traqueobronquitis asociada a ventilación y la neumonía asociada a ventilación, la utilidad del CPIS como herramienta diagnóstica en pacientes bajo ventilación mecánica en unidades de cuidados intensivos.

Se realizó un análisis retrospectivo basado en los datos de 2 cohortes prospectivas independientes, en la cohorte de derivación se incluyeron pacientes de la base de datos TAVeM con diagnóstico de VAT (n = 320) o NAV (n = 369), la precisión del CPIS para diferenciar el IVA de la VAP se evaluó en las 2 cohortes calculando los valores de sensibilidad y especificidad, estableciendo las curvas ROC y eligiendo el mejor umbral según el índice de Youden.

Un valor CPIS ≥ 7 se asoció con el índice de Youden más alto en ambas cohortes, con este punto de corte, la sensibilidad y la especificidad se encontraron respectivamente en 51% y 88% en la cohorte de derivación, y en 45% y 89% en la cohorte de validación. (Gaudet et al., 2020)

3. Antecedentes

El artículo "Evaluation of the Sepsis Flow Chip assay for the diagnosis of blood infections" evalúa el desempeño de la prueba Sepsis Flow Chip en el diagnóstico de infecciones sanguíneas, en el año 2016 se evaluó por primera vez esta herramienta diagnóstica, se analizaron hemocultivos positivos de 202 pacientes con bacteriemia mediante el ensayo, los resultados se compararon con los resultados obtenidos mediante la metodología estándar de oro utilizada en los laboratorios de diagnóstico de microbiología clínica (directrices EUCAST). (Galiana et al., 2016).

La sensibilidad y especificidad generales del ensayo SFC para la identificación bacteriana fueron del 93,3% y 100% respectivamente y la sensibilidad y especificidad para la identificación de determinantes genéticos de la resistencia a los antibióticos fueron del 93,6% y 100% respectivamente. (Galiana et al., 2016).

Hasta el momento los ensayos o artículos en los cuales se realiza el empleo de este Kit no han sido validado en lavado bronquial, por lo cual la búsqueda de antecedentes se basa solo en muestras de hemocultivos.

4. Planteamiento del problema

Las infecciones del torrente sanguíneo son una de las enfermedades infecciosas más graves, con tasas de mortalidad de alrededor del 30 al 50%, aunque los patógenos causantes de las infecciones del torrente sanguíneo son consistentes entre los estudios, los tratamientos empíricos utilizados a menudo son inapropiados.

Esto tiene graves implicaciones clínicas para el paciente, ya que la respuesta al tratamiento está directamente relacionada con el tiempo que transcurre antes de que se administre la terapia antimicrobiana adecuada, en algunos casos, la tasa de mortalidad puede aumentar entre un 6 y un 10% por cada hora de retraso.

Los métodos microbiológicos convencionales disponibles hoy en día para identificar los microorganismos que causan infecciones del torrente sanguíneo son demasiado lentos, el resultado preliminar basado en la tinción de Gram una vez que el hemocultivo resulta positivo se puede obtener en menos de una hora, pero pueden ser necesarias entre 18 y 72 horas para obtener un resultado preciso, incluido el patrón de susceptibilidad a los antibióticos del patógeno involucrado (Galiana et al., 2016), por lo cual surge la siguiente pregunta de investigación:

Los agentes aislados en la muestra de lavado bronquial mediante el kit de Sepsis Flow Chip **¿son los mismos agentes aislados en las muestras de hemocultivo?**.

5. Justificación

No hay estudio previo en nuestro medio en el cual se utilice el kit Sepsis Flow Chip en muestras de lavado bronquial, ya que como se comentan en las limitaciones solo se reprodujo en muestras de hemocultivos, exudado rectal o colonias, con esto se busca brindar una muestra alterna a las ya previamente descritas, además de justificar los resultados obtenidos mediante el coeficiente de Kappa.

6. Hipotesis y objetivos

6.1. Hipótesis nula

La kappa obtenida a través de la concordancia PCR y la técnica clásica de cultivo no será mayor a 0.6

6.2. Hipótesis alterna

La kappa obtenida a través de la concordancia PCR y la técnica clásica de cultivo será mayor a 0.6

6.2. Objetivo general

Determinar la concordancia de agentes aislados en muestras de esputo mediante la técnica de PCR de hibridación inversa y la técnica clásica de cultivos en pacientes con sospecha de neumonía nosocomial hospitalizados en la unidad de medicina interna del Hospital General de Tijuana.

6.3. Objetivos específicos

- Determinar los agentes aislados en pacientes con neumonía hospitalizados en el hospital general de Tijuana.
- Valorar la correlación de resistencia antibiótica mediante las dos técnicas.
- Valorar el crecimiento menor o mayor a 24 horas con ambas técnicas
- Valorar los agentes aislado y si alguno es BLE o CRE

7. Materiales y Métodos

7.1. Diseño del estudio

Estudio observacional , prospectivo, abierto.

El estudio se desarrollará en una sola fase en la cual a todos los pacientes que se encuentren bajo ventilación mecánica con más de 48 horas, en sospecha de neumonía nosocomial con un CPIS igual o mayor a 7 puntos, se realizará 2 tomas de secreción bronquial mediante sistema de aspiración cerrado, con trampa de secreción estéril, se rotulará la muestra y se enviara al laboratorio, para realizar dos técnicas de identificación, una muestra para técnica PCR y otra para cultivo de secreción bronquial con placa de agar.

7.2. Descripción de la población

Pacientes mayores de 18 años que se encuentren en la unidad de medicina interna del hospital general Tijuana con la sospecha de neumonía asociada a la ventilación mecánica.

7.3. Cálculo del tamaño de muestra

El tamaño de muestra necesario para alcanzar un poder del 80% y un nivel de significancia del 60% con los valores de κ_0 , κ_1 y p especificados es de 22 participantes, para tener en cuenta la tasa de abandono del 10%, el tamaño de muestra se incrementa a 25, esto asegura que el estudio mantenga su poder estadístico incluso si algunos sujetos abandonan el estudio.

7.4. Criterios de selección

Pacientes ingresados al servicio de medicina interna mayores de 18 años, que durante su estancia desarrollen neumonía asociada a la ventilación, con historia clínica completa y consentimiento informado firmado.

7.4.1. Criterios de inclusión

Pacientes bajo ventilación mecánica asistida, con un score de CPIS (Clinical Pulmonary Infection Score) igual o mayor a 7.

7.4.2. Criterios de exclusión

Pacientes con neumonía adquirida en la comunidad, neumonía fúngica o asociada a broncoaspiración.

7.4.3. Criterios de eliminación

Todo paciente que retire su consentimiento o desee abandonar el mismo.

7.5. Variables

7.5.1. Variables dependientes

La concordancia de los agentes etiológicos aislados en PCR sean los mismos agentes en el cultivo.

Es el grado en que los patógenos identificados mediante la técnica de PCR múltiplex coinciden con los patógenos aislados a través del cultivo microbiológico tradicional, esta variable mide si ambos métodos, PCR y cultivo, identifican los mismos agentes etiológicos causantes de la neumonía nosocomial, dado que un mayor nivel de concordancia indicaría que el PCR múltiplex es efectivo para detectar los mismos patógenos que se confirman mediante el cultivo.

7.5.2. Variables independientes

El tiempo de crecimiento de los agentes, definido como mayor o menor a 24 horas, este tiempo puede influir en la concordancia entre los resultados del PCR y del cultivo, ya que algunos patógenos pueden ser detectados más rápidamente por PCR en comparación con el cultivo, que requiere un tiempo de incubación mínimo.

La correlación de los genes de resistencia en el PCR guarden relación con el antibiograma del cultivo.

Esta variable evalúa la correspondencia entre la detección de genes de resistencia (como genes que confieren resistencia a antibióticos específicos) en el PCR y las resistencias observadas en la prueba de antibiograma del cultivo.

7.6. Análisis estadístico

El análisis de hipótesis para el índice de kappa utiliza un enfoque prospectivo para determinar el tamaño de muestra necesario para detectar si el nivel de acuerdo entre los dos evaluadores es significativamente mejor que un nivel mínimo aceptable.

Con un kappa mínimo aceptable de 0.4 y un kappa esperado de 0.93, el análisis asegura que con 22 participantes, el estudio tiene un 80% de probabilidad de detectar un acuerdo significativo a un nivel de significancia del 7%.

El tamaño de muestra ajustado a 25 participantes incorpora un margen de seguridad para el posible abandono de participantes.

En resumen, este análisis proporciona una base sólida para llevar a cabo una prueba de hipótesis sobre el índice de kappa, asegurando un poder estadístico adecuado y una protección contra la pérdida de sujetos durante el estudio.

7.7. Aspectos éticos

La presente investigación se apegará a la declaración de Helsinki y lo dispuesto en la Ley General de Salud en materia de investigación. Se someterá ante el Comité de Ética de Investigación del Hospital General de Tijuana y se protegerá la confidencialidad de la información.

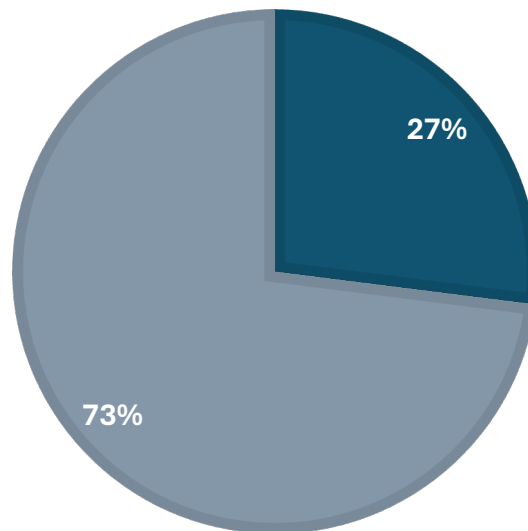
Según el capítulo I, artículo 17 del Reglamento de la Ley Gral. de Salud en materia de investigación para la salud, este protocolo está clasificado como investigación sin riesgo. No se realizó ninguna intervención o modificación intencionada en las variables fisiológicas, psicológicas y sociales de los individuos que participan en el estudio.

8. Resultados

Durante el periodo comprendido de noviembre 2024 a enero 2025, se reclutaron 22 pacientes que se encontraban bajo ventilación mecánica en el piso de medicina interna del Hospital General de Tijuana, con sospecha de neumonía asociada a la ventilación. De estos pacientes, se realizó una aspiración directa para recolección de muestra, las cuales se mandaron analizar, obteniendo un 27% (6 pacientes) de concordancia entre cultivo de secreción bronquial y la técnica de PCR de hibridación reversa y 73% (16 pacientes) de no concordantes entre dichas técnicas (Ver Figura 1).

Figura 1. Muestra total

■ concordancia (6 pacientes) ■ no concordancia (16 pacientes)



Por orden de frecuencia los tres agentes mayormente identificados por cultivo fueron *Acinetobacter baumannii* complex con un 18.18%, *Klebsiella pneumoniae* 18.18% y *E.Coli* 9.09%. Por el contrario por la técnica de PCR fueron: *Staphylococcus aureus* 13.64%, *Candida spp* 9.09% y *Enterobacterias* 9.09%. (Ver Tabla 1 y 2)

Tabla 1.

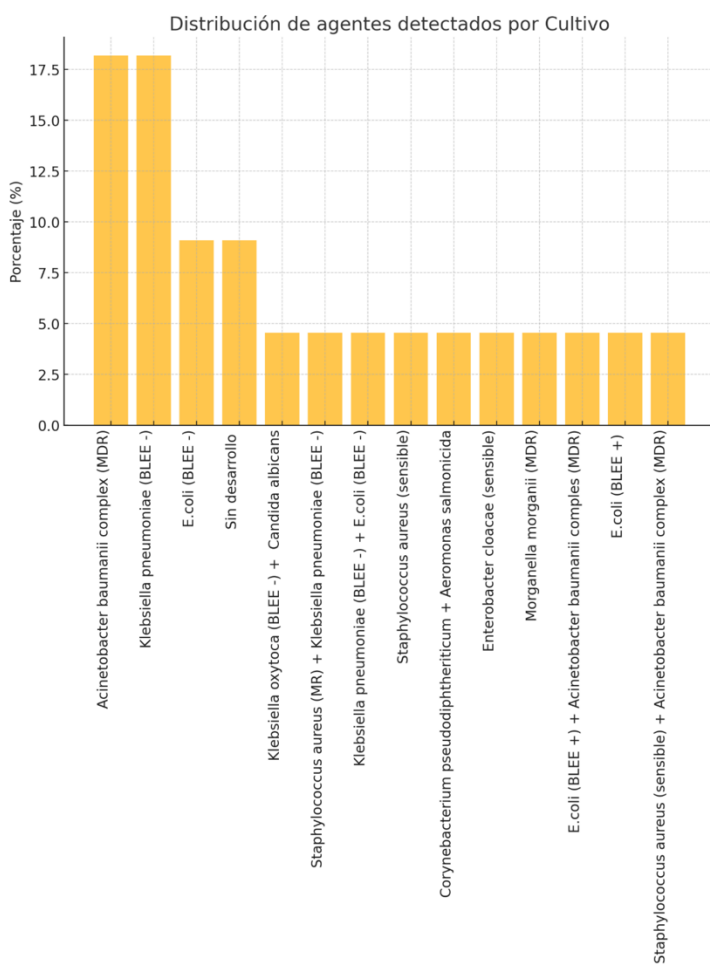
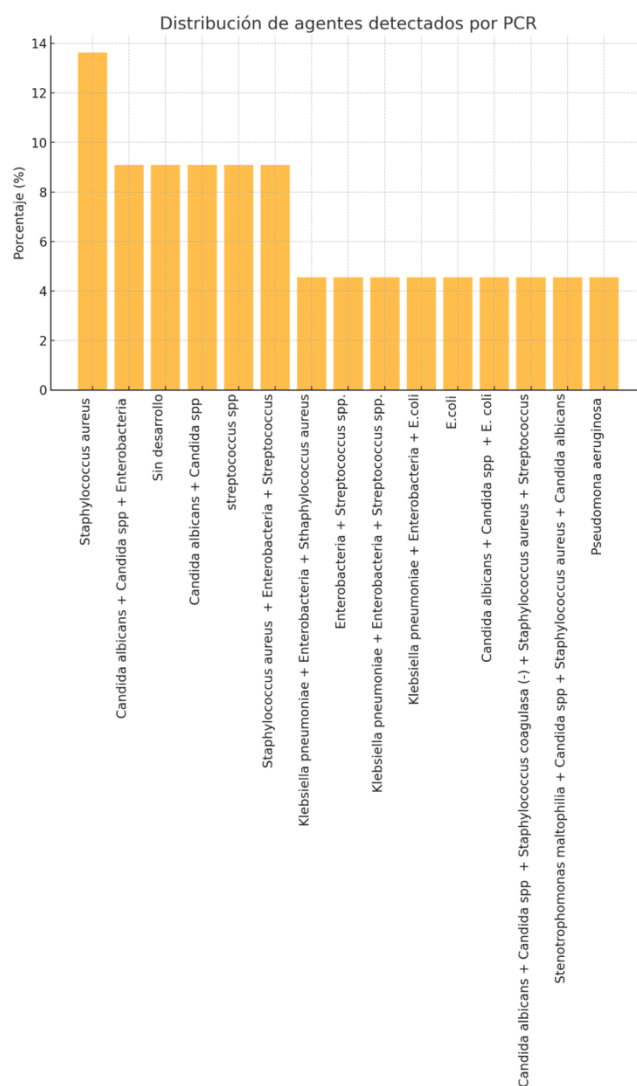


Tabla 2.



Dentro de los pacientes concordantes, la correlación de la resistencia antibiótica obtenida mediante las dos técnicas se observó en un 83.3% (5/6 pacientes), ya que uno sí mostró correlación etiológica más no relación entre resistencia antibiótica y genes de resistencia. Dentro de la frecuencia de genes de resistencia detectados se obtuvieron nueve casos sin genes de resistencia (40.9%), cinco casos con OXA 24 y OXA 51 (22.7%), tres casos con BlaCTX-M (13.6%), dos casos con clase A GES (9.1%), un caso con OXA 24 (4.5%),

un caso con BlaCTX-M y OXA 24 (4.5%) y un caso BlaCTX-M además de OXA 24 y 51 (4.5%).

De las dos técnicas utilizadas para la identificación de organismos, se observó una diferencia significativa en el tiempo necesario para obtener resultados, el cultivo microbiológico requirió un tiempo de incubación mínimo de 16 a 24 horas para posteriormente ser identificado, por otro lado, el tiempo de procesamiento y análisis por PCR fue considerablemente más corto en un periodo menor a 12 horas.

9. Discusión

El análisis de concordancia entre las técnicas de cultivo microbiológico y PCR para la identificación de agentes etiológicos en las 22 muestras de secreción bronquial reveló discrepancias significativas, evidenciadas por un índice de Kappa de $k=0$, lo que indica que no hubo un acuerdo mayor a lo esperado por azar.

Este resultado resalta las diferencias fundamentales entre ambas técnicas y plantea interrogantes importantes sobre su aplicabilidad en el diagnóstico de infecciones respiratorias.

Los métodos muestran perfiles diferentes de detección, con el cultivo se identificó principalmente bacterias multiresistentes como *Acinetobacter baumannii* y *Klebsiella pneumoniae*, mientras que la PCR detecta una mayor variedad de microorganismos incluidas bacterias, levaduras y combinaciones.

Por otro lado, la presencia de genes de resistencia especialmente los relaciones con carbapenémicos como OXA 24 y OXA 51 es preocupante y sugiere un desafío terapéutico para nuestro nosocomio.

Dentro de las limitaciones de cada técnica se encuentra que la PCR tiene una sensibilidad elevada pero no puede diferenciar entre infecciones activas, colonización o contaminación, el cultivo tiene limitaciones en la recuperación de algunos patógenos especialmente si se ha administrado terapia antibiótica previa.

Algunos factores que pudieron haber influido en los resultados fue el tiempo de almacenamiento previo al procesamiento ya que algunas muestras permanecieron congeladas durante un periodo de hasta 24 horas, este retraso podría haber afectado la viabilidad de ciertos microorganismos los cultivos microbiológicos ya que el proceso de congelación y descongelación puede dañar las células bacterianas sensibles reduciendo su capacidad de crecimiento, aunque la PCR detecta ADN o ARN, es menos afectada por el tiempo de almacenamiento, la calidad del material genético también podría haberse degradado en menor medida.

Algunas muestras presentaron baja calidad en términos de concentración y purulencia pudiendo condicionar tener una menor carga bacteriana, lo que dificulta el aislamiento por ambas técnicas.

10. Conclusiones

La baja concordancia observada entre cultivo y PCR ($Kappa=0$) resalta las diferencias inherentes entre ambas técnicas, si bien la PCR ofrece un diagnóstico rápido y sensible, el cultivo sigue siendo imprescindible para la caracterización microbiológica y la selección de tratamiento específicos.

La integración de ambas metodologías en el diagnóstico de infecciones respiratorias podría optimizar la atención al paciente especialmente en entornos críticos.

Las discordancias podrían explicarse por la mayor sensibilidad de la PCR para detectar ADN bacteriano o fúngico incluso en casos donde no hay organismo viables, de las 16 muestras discordantes en varios casos la PCR detectó agentes que no crecieron en el cultivo, esto podría reflejar la presencia de ADN residual de microorganismos eliminados por el sistema inmune o la terapia antibiótica.

Los genes de resistencia más frecuentemente identificados en nuestra población corresponden a una carbapenemasa clase D y el tratamiento dirigido para dicha carbapenemasa no se encuentra al alcance de nuestro nosocomio, confiriendo una alta de mortalidad entre nuestra población.

La calidad de la muestra es un factor crucial en el diagnóstico microbiológico, idealmente las muestras respiratorias deben ser altamente purulentas y contener células inflamatorias que reflejen un proceso activo, las muestras de menor calidad podrían haber contribuido a las discrepancias observadas entre cultivo y PCR, ya que éstas últimas podrían reflejar colonización de vías aéreas superiores o contaminación en lugar de una infección activa.

El tamaño muestra reducido (22 muestras) podría limitar la generalización de los resultados.

11. Bibliografía.

1. Pneumonia. (2021). Nature Reviews. Disease Primers, 7(1). <https://doi.org/10.1038/s41572-021-00266-1>
2. Jean, S.-S., Chang, Y.-C., Lin, W.-C., Lee, W.-S., Hsueh, P.-R., & Hsu, C.-W. (2020). Epidemiology, treatment, and prevention of nosocomial bacterial pneumonia. Journal of Clinical Medicine, 9(1), 275. <https://doi.org/10.3390/jcm9010275>
3. (N.d.). Gob.Mx. Retrieved April 21, 2024, from https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/808320/BOLETINRHOVECIERRE2022_FINAL.pdf
4. Jean, S.-S., Chang, Y.-C., Lin, W.-C., Lee, W.-S., Hsueh, P.-R., & Hsu, C.-W. (2020). Epidemiology, treatment, and prevention of nosocomial bacterial pneumonia. Journal of Clinical Medicine, 9(1), 275. <https://doi.org/10.3390/jcm9010275>
5. Polymerase chain reaction (PCR). (n.d.). Nih.gov. Retrieved April 21, 2024, from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/probe/docs/techpcr/>
6. Galiana, A., Coy, J., Gimeno, A., Guzman, N. M., Rosales, F., Merino, E., Royo, G., & Rodríguez, J. C. (2017). Evaluation of the Sepsis Flow Chip assay for the diagnosis of blood infections. PloS One, 12(5), e0177627. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0177627>
7. Gaudet, A., Martin-Loeches, I., Povoas, P., Rodriguez, A., Salluh, J., Duhamel, A., Nseir, S., & TAVeM study group. (2020). Accuracy of the clinical pulmonary infection score to differentiate ventilator-associated tracheobronchitis from ventilator-associated pneumonia. Annals of Intensive Care, 10(1), 101. <https://doi.org/10.1186/s13613-020-00721-4>

Anexo C. Formato de la hoja de recolección de datos.

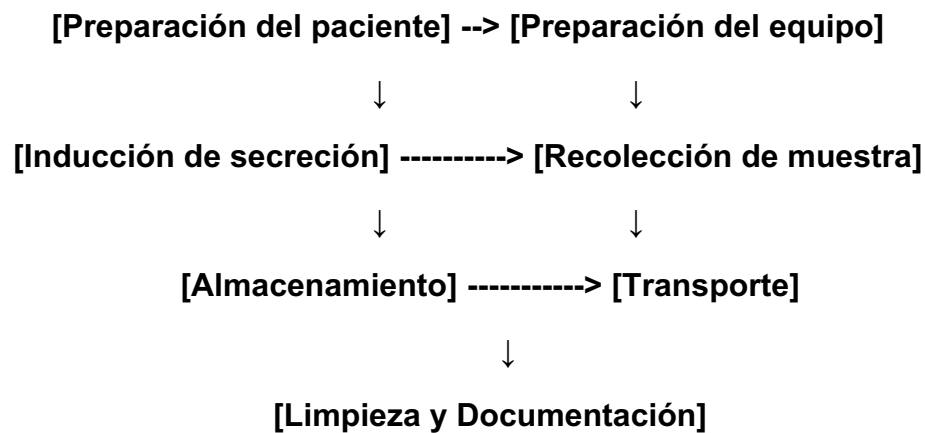
HOJA DE RECOLECCION DE DATOS

Fecha de toma		
Paciente:		
No.Expediente:		
Técnica	PCR Múltiplex	Cultivo placa AGAR
Folio		
Muestra	Lavado Bronquial	Lavado Bronquial
Patógenos		
Streptococcus pneumoniae		
Streptococcus pyogenes		
Stenotrophomonas maltophilia		
Candida spp		
Acinetobacter baumannii		
Serratia marcescens		
Klebsiella pneumoniae		
Streptococcus agalactiae		
Staphylococcus coagulasa (-)		
Staphylococcus aureus		
Escherichia coli		
Enterobacteria		
Candida albicans		
Listeria monocytogenes		
Enterococcus		
Pseudomonas aeruginosa		
Streptococcus spp		
Neisseria meningitidis		
Proteus spp		
Morganella morganii		
Resistencia	Genes	Antibiograma
A meticilina MecA		
A Vancomicina Van A y Van B		
A B-lactámicos BlaSHV		
A B-lactámicos amplio espectro BlaCTX-M		
Resistencia a Carbapenem		
Clase A KPC		
Clase A SME		
Clase A NMC/IMI		
Clase A GES		
Clase B VIM		
Clase B GIM		

HOJA DE RECOLECCION DE DATOS

Clase B SPM		
Clase B NDM		
Clase B SIM		
Clase B IMP3		
Clase D OXA23		
Clase D OXA24		
Clase D OXA48		
Clase D OXA 51		
Clase D OXA58		

Anexo D. Flujograma para la toma de muestra de secreción bronquial



Flujograma para la toma de muestra de secreción bronquial

Inicio

1. Preparación del paciente

- Confirmar identidad del paciente.
- Posicionar al paciente sentado o semi-incorporado.
- Proveer un ambiente adecuado con equipos estériles.

2. Preparación del equipo

- Lavarse las manos y colocarse guantes estériles.
- Preparar material necesario:
 - Jeringa estéril o equipo de aspiración.
 - Tubo de recolección estéril con tapa hermética.
 - Solución salina estéril (si es necesario).

Procedimiento

3. Inducción de la secreción bronquial

- asistido (inducción):
 - Administrar solución salina nebulizada para estimular la secreción.

4. Recolección de la muestra

- Con aspiración directa:
 - Introducir un catéter de aspiración estéril conectado a un sistema cerrado.
 - Aspirar suavemente para recolectar secreción bronquial.

Post-Procedimiento

5. Almacenamiento

- Colocar la muestra en un recipiente etiquetado con los datos del paciente.
- Asegurar un cierre hermético para evitar derrames.

6. Transporte

- Transportar la muestra al laboratorio en condiciones adecuadas:
 - En un recipiente sellado.
 - Refrigerado si se demora el procesamiento (>30 minutos).

7. Limpieza

- Desechar materiales desechables en un contenedor para residuos bioinfecciosos.
- Retirar guantes y lavar las manos.

8. Documentación

- Registrar en el expediente:
 - Fecha y hora de recolección.
 - Método utilizado.
 - Condición del paciente.