

Utilidad del panel de PCR multiplex en el diagnóstico microbiológico temprano y adecuación antimicrobiana en pacientes críticos con neumonía

Usefulness of the multiplex PCR panel in the early microbiological diagnosis and antimicrobial suitability in critical patients with pneumonia

Utilidade do painel de PCR multiplex no diagnóstico microbiológico precoce e adequação antimicrobiana em pacientes críticos com pneumonia

Sofía Mauro¹, Federico Verga², Antonio Galiana³,
Mariela Vieytes⁴, Mario Godino⁵, Marcelo Barbato⁶

Resumen

Introducción: el inicio temprano de la antibioticoterapia adecuada en infecciones graves se asocia con reducción de la mortalidad. La identificación precoz del microorganismo es fundamental para realizar un tratamiento dirigido y disminuir la terapéutica inicial inapropiada.

Objetivo: valorar la utilidad de una técnica de biología molecular por amplificación de ácidos nucleicos mediante reacción en cadena de polimerasa en tiempo real para diagnóstico microbiológico temprano y adecuación de la antibioticoterapia en pacientes con neumonías graves.

Metodología: estudio retrospectivo observacional llevado a cabo en la unidad de cuidados intensivos del Hospital Maciel. Se analizaron muestras respiratorias de pacientes con diagnóstico o sospecha de neumonía. Se compararon los resultados microbiológicos obtenidos por técnicas convencionales y por biología molecular multiplex (panel neumonía).

Resultados: se incluyeron 53 muestras obtenidas de 51 pacientes. El multiplex detectó al menos un microorganismo en 38 (71,7%) muestras frente a 30 (56,6%) desarrollos en cultivos tradicionales. La mayoría de las muestras se obtuvieron bajo antibioticoterapia previa (86,8%). El panel neumonía mostró un porcentaje de concordancia positiva combinado de 100% y un porcentaje de concordancia negativa del 94% para la identificación bacteriana en comparación con los métodos microbiológicos tradicionales. En 27 (51%) casos el resultado del panel de neumonía determinó un cambio en la conducta terapéutica.

Conclusiones: la técnica de PCR permite la identificación temprana de microorganismos causantes de neumonía optimizando la terapéutica empírica inicial y racionalizando el uso de antimicrobianos. Un panel negativo aleja el planteo de infección respiratoria a gérmenes habituales y permite considerar diagnósticos diferenciales en cuanto a foco y/o etiología.

1. Ex Residente de Medicina Intensiva, UCI Hospital Maciel, ASSE, Montevideo, Uruguay.

2. Médico Intensivista con funciones de alta dedicación longitudinal, UCI Hospital Maciel, ASSE, Montevideo, Uruguay. Ex Prof. Adj. de la Cátedra de Medicina Intensiva, Facultad de Medicina, Universidad de la República.

3. Especialista en Microbiología. Jefe de Servicio de Laboratorio de Microbiología y Biología Molecular-UDYCI. Hospital Maciel, ASSE. Montevideo, Uruguay.

4. Especialista en Microbiología. Servicio de Laboratorio de Microbiología y Biología Molecular UDYCI. Hospital Maciel.

5. Médico Intensivista con funciones de alta dedicación longitudinal, UCI Hospital Maciel, ASSE, Montevideo, Uruguay.

6. Médico Intensivista. Jefe de la UCI del Hospital Maciel, ASSE. Montevideo, Uruguay.

Unidad de Cuidados Intensivos del Hospital Maciel, Administración de los Servicios de Salud del Estado (ASSE), Montevideo, Uruguay.

Correspondencia: Dr. Federico Verga. Correo electrónico: vergafederico@gmail.com

El Dr. Antonio Galiana fue expositor honorario invitado en Jornadas organizadas por el representante de Biomerieux Uruguay. El resto de los autores declaramos no tener conflicto de interés y no haber recibido ninguna financiación.

Recibido: 2/10/21

Aprobado: 24/2/22

Attribution-NonCommercial 4.0 International (CC BY-NC 4.0)

Palabras clave: Neumonía
Cuidados críticos
Técnicas de amplificación de ácido nucleico
Panel PCR multiplex
Diagnóstico microbiológico rápido

Key words: Pneumonia
Critical care
Nucleic acid amplification techniques
Multiplex PCR panel
Rapid microbiological diagnosis

Introducción

La neumonía es una de las principales causas de hospitalización y muerte a nivel mundial, representa la tercera causa de admisión hospitalaria y es la principal causa infecciosa de ingreso a la unidad de cuidados intensivos (UCI). Determina una mortalidad global de 10% a 14%, siendo más elevada en los mayores de 65 años y en pacientes con comorbilidades, llegando hasta un 50% en aquellos que requieren ingreso a UCI⁽¹⁾. Concomitantemente la neumonía nosocomial y la asociada a la ventilación mecánica constituyen una de las principales infecciones asociadas a cuidados de la salud en pacientes hospitalizados, determinando importante morbilidad, mortalidad y aumento de la utilización de recursos⁽²⁾.

La identificación precoz del microorganismo causante de infección permite dirigir el tratamiento antibiótico, reduciendo la morbimortalidad y mejorando el pronóstico, al disminuir la terapia antibiótica inicial inadecuada (TAII). En pacientes con sepsis grave la TAII puede llegar a triplicar el riesgo de mortalidad intrahospitalaria⁽³⁾. Diferentes estudios con gran número de pacientes han demostrado el impacto de la TAII en la mortalidad por sepsis⁽⁴⁾, siendo clásico el trabajo de Kumar donde la administración eficaz de antimicrobianos en la primera hora de hipotensión documentada se asoció con un aumento de la supervivencia al alta hospitalaria en pacientes adultos con shock séptico⁽⁵⁾. Estrechamente vinculado a lo anterior, el aumento de la resistencia microbiana es un problema de salud mundial, con alto impacto en la mortalidad de pacientes críticos, ya que la multiresistencia es una de las principales causas de TAII. Esta situación genera un círculo vicioso caracterizado por la necesidad de ampliar el espectro antimicrobiano empírico, conduciendo muchas veces a sobret ratamiento, toxicidad y presión de selección de microorganismos resistentes, resultando en un aumento progresivo de tratamientos empíricos inadecuados y muerte^(6,7).

Para abordar la problemática señalada, se han diseñado estrategias basadas en la administración de an-

timicrobianos dentro de un enfoque multidisciplinario (médicos clínicos, infectólogos, microbiólogos, farmacólogos), denominadas programas de optimización antimicrobiana (*Antimicrobial Stewardship Program*). El objetivo de estos programas es combatir la resistencia bacteriana, mejorar los resultados clínicos y controlar los costos asociados al uso de antimicrobianos^(8,9). Uno de los pilares de estos programas es la utilización de nuevas herramientas diagnósticas, logrando disminuir el tiempo de identificación microbiológica y la susceptibilidad antibiótica. Por métodos microbiológicos convencionales, el tiempo promedio de identificación de gérmenes en muestras respiratorias es de 48-72 horas. En los últimos años se han desarrollado nuevos métodos de diagnóstico microbiológico, destacándose la técnica de amplificación de ácidos nucleicos mediante reacción en cadena de la polimerasa en tiempo real (PCR), con la que el tiempo de diagnóstico microbiológico se reduce a solo algunas horas, con la ventaja además de poder identificar agentes virales, de difícil aislamiento por métodos tradicionales⁽¹⁰⁾. Además puede detectar genes involucrados en mecanismos de resistencia, permitiendo adoptar en forma temprana medidas de aislamiento, así como la adecuación del plan antibiótico^(7,11).

En nuestro hospital contamos recientemente con el sistema de PCR multiplex Biofire® Pneumonia Panel plus, por lo que decidimos llevar adelante el siguiente estudio teniendo como principal objetivo determinar la utilidad del panel respiratorio en el diagnóstico microbiológico precoz y la adecuación de la antibioticoterapia empírica en pacientes con neumonía ingresados en UCI comparado con métodos de cultivo tradicionales.

Material y métodos

Se realizó un estudio descriptivo, retrospectivo y observacional. Se incluyeron pacientes mayores de 18 años internados en la UCI del Hospital Maciel que ingresaban o desarrollaban neumonías en el periodo comprendido entre junio de 2020 y julio de 2021. En estos pacientes además de estudios microbiológicos tradicionales (hemocultivos, cultivos respiratorios, antígeno neumocócico o *Legionella pneumophila* en orina), en casos seleccionadas se realizó panel neumonía (PN) en muestras respiratorias. Los criterios para solicitar PN fueron: pacientes graves con diagnóstico clínico-radiológico de neumonía pero sin diagnóstico microbiológico inicial, pacientes con antibioticoterapia previa o inmunodeprimidos, pacientes que si bien tenían diagnóstico microbiológico presentaban mala evolución y aquellos con dudas acerca del foco infeccioso. La identificación microbiana convencional se realizó inicialmente por espectrometría de masas MALDI-TOF MS (*matrix assisted laser desorption ionization-time of flight-mass spectrometry*) (BioMérieux®Inc Durham),

Tabla 1. Gérmenes y mecanismos de resistencias detectados en Biofire® Pneumonia Panel plus.

Bacterias (semicuantitativo ^a)	Bacterias atípicas (cualitativo)	Virus	Mecanismos de resistencia (genes)
<i>Acinetobacter calcoaceticus-baumannii</i> complex	<i>Legionella pneumophila</i>	Influenza A	Resistencia a la meticilina: mecA/C y MREJ ^d
<i>Enterobacter cloacae</i>	<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	Influenza B	
<i>Escherichia coli</i>	<i>Chlamydia pneumoniae</i>	Adenovirus	Carbapenemasas:
<i>Haemophilus influenzae</i>		Coronavirus (no SARS CoV-2)	KPC ^b
<i>Klebsiella aerogenes</i>		Virus parainfluenza	NDM ^b
<i>Klebsiella oxytoca</i>		Virus respiratorio sincitial (VRS)	VIM ^b
<i>Klebsiella pneumoniae</i> group		Rinovirus/Enterovirus	IMP ^b
<i>Moraxella catarrhalis</i>		Metapneumovirus humano	Oxa-48-like ^c
<i>Proteus</i> spp.		Coronavirus del Síndrome Respiratorio de Oriente Medio (MERS-CoV)	Betalactamasas de espectro extendido:
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>			CTX-M ^b
<i>Serratia marcescens</i>			
<i>Staphylococcus aureus</i>			
<i>Streptococcus agalactiae</i>			
<i>Streptococcus pneumoniae</i>			
<i>Streptococcus pyogenes</i>			

^a Reportado como 10⁴, 10⁵, 10⁶ o 10⁷ copias/ml.

^b Reportado cuando se detecta *A. calcoaceticus-baumannii* complex, *E. cloacae*, *E. coli*, *K. aerogenes*, *K. oxytoca*, *K. pneumoniae*, *Proteus* spp., *P. aeruginosa* o *S. marcescens* también.

^c Reportado cuando se detecta *E. cloacae*, *E. coli*, *K. aerogenes*, *K. oxytoca*, grupo de *K. pneumoniae*, *Proteus* spp. o *S. marcescens*.

^d Notificado cuando se detecta *S. aureus*.

complementándose por métodos automatizados de identificación y susceptibilidad antibióticas: VITEK® 2 (BioMérieux® Inc Durham).

En relación a las infecciones respiratorias bajas definimos neumonía aguda comunitaria (NAC) a aquella en la que el paciente no ha tenido contacto reciente con centros asociados al cuidado de la salud (internaciones hospitalarias, centros de diálisis); neumonía nosocomial (NN) a aquella neumonía iniciada después de las 48 horas del ingreso hospitalario en pacientes sin asistencia respiratoria mecánica (ARM), mientras que la neumonía asociada a la ventilación mecánica (NAV) se consideró a partir de las 48 horas de ARM invasiva⁽¹²⁾.

Biofire® Pneumonia Panel plus

El PN utilizado es una prueba de diagnóstico molecular in vitro basada en PCR que analiza muestras respiratorias y es capaz de identificar simultáneamente en aproximadamente una hora 27 patógenos frecuentemente involucrados en infecciones del tracto respiratorio inferior y 7 marcadores genéticos de resistencia antibiótica. Esta prueba identifica 18 bacterias (11 Gram negativas, 4 Gram positivas y 3 atípicas) y 9 virus que causan neumonía. Dentro de la identificación bacteriana, 15 gérmenes se informan semicuantitativamente,

siendo el punto de corte de detección por encima de 10³⁵ copias de genomas/ml. Las tres bacterias atípicas, 9 virus y 7 genes de resistencia se informan cualitativamente (tabla 1). La técnica se encuentra validada para aplicación en muestras respiratorias que incluyen expectoración, aspirado traqueal (AT) y lavado bronquioalveolar (LBA).

Análisis estadístico

Para la recolección de datos se utilizó el sistema de gestión informatizado (Epimed Monitor UCI®), asegurando confidencialidad de los mismos. Se analizaron datos demográficos, motivo de ingreso, gravedad (SAPS II, *Simplified Acute Physiology Score*), necesidad de ARM y mortalidad. Se revisaron las historias clínicas obteniendo datos sobre tipo de neumonía, antibioticoterapia empírica, motivo de solicitud del PN. Todos los resultados de PN se cotejaron con sus respectivos cultivos para determinar el diagnóstico microbiológico definitivo.

Los cultivos respiratorios se procesaron: AT en forma cualitativa según desarrollo en cuadrantes: sin desarrollo, escaso (+1), moderado (+2), abundante (+3), muy abundante (+4), interpretando +4 como >10⁵ UFC/ml, como punto de corte significativo; LBA procesado

Tabla 2. Características de la serie estudiada.

Pacientes	n = 51
Edad (años)*	45,6 ± 15,2
Sexo femenino	51%
Episodios de neumonía (PN = 53)	
NAC	25 (47,2%)
NAV	18 (34,0%)
NN	10 (18,8%)
SARS-CoV-2 positivo	12 (23,5%)
SAPS II*	55,2 ± 16,3
Necesidad de ARM	48 (94,1%)
Shock	19 (37,2%)
SDRA	17 (33,3%)
Días de ARM*	13,7 ± 9,9
Estadía en UCI (días)*	19,7 ± 13,8
Mortalidad	19 (37,2%)
ATB 48 horas previas a la muestra	46 (86,8%)

* Media ± desvío estándar.

PN: panel neumonía; NAC: neumonía aguda comunitaria; NAV: neumonía asociada a la ventilación mecánica; NN: neumonía nosocomial; SAPS: (*Simplified Acute Physiology Score*); ARM: asistencia respiratoria mecánica; UCI: unidad de cuidados intensivos; SDRA: síndrome de distrés respiratorio agudo; ATB: antibióticos.

en forma cuantitativa, considerando recuentos de $\geq 10^4$ UFC/ml como punto de corte significativo. Se evaluó calidad de las muestras (esputo, AT) con tinción de Gram, según presencia de células inflamatorias polimorfonucleares (PMN >25) y células descamativas epiteliales (<10) del tracto respiratorio. En LBA se valoró la presencia de PMNs y bacterias. Se realizó tinción de Ziehl Neelsen complementariamente en algunas situaciones. Se utilizaron medios de cultivo de agar sangre ovina, agar chocolate y Mac Conkey agar, incubándose a 35 °C -36°C, 48 h al aire y atmósfera de CO₂ 5%-10% (AS-ACHOC). Se utilizaron también métodos fenotípicos para la detección de resistencia bacteriana como ser cromatográficos para carbapenemasas (test NG CARBA-5™; NG Biotech, Francia) difusión en agar con discos inhibidores (ROSCO™ Diagnostica, DK Taastrup), test enzimáticos para detección de betalactamasas (β Lacta™ test BIO-RAD, France), test modificado de inactivación de carbapenem para car-

Tabla 3. Características de las muestras respiratorias analizadas.

Muestras procesadas = 53	
Tipo de muestra:	
Aspirado traqueal	33 (62,3%)
Lavado bronquioalveolar	17 (32,1%)
Expectoración	3 (5,6%)
Panel neumonía	53
Positivos	38 (71,7%)
Bacteriano exclusivo	33 (62,3%)
Coinfección bacteriana y viral	5 (9,4%)
Viral exclusivo	0
Coinfección bacteriana	25 (65,7%)
Cultivos	53
Positivos	30 (56,6%)
Coinfección bacteriana	11 (36,6%)

bapenemasas (CLSI M100, ED 31:2021), se estudió la sensibilidad a colistina de ser necesario, con prueba de elución con discos de colistina en tubos (Colistin Broth Disk Elution CLSI M100, ED 31:2021). Se priorizó la comunicación rápida de resultados del PN por medio de aplicaciones móviles (“apps”) como estrategia para optimizar tiempos de respuesta rápidos.

La comparación de resultados por ambos métodos podía ser concordante o discordante. Se consideró concordancia positiva cuando cultivo y PN coincidían en los microorganismos y en la resistencia, mientras que se definió concordancia negativa a la ausencia de recuperación de germen en ambos métodos. Por último, los estudios eran discordantes cuando diferían en los microorganismos o en sus mecanismos de resistencia. Por tanto, utilizando como *gold standard* los métodos microbiológicos convencionales se definieron en las determinaciones bacterianas los siguientes indicadores de acuerdo para el análisis de concordancia entre panel y cultivo:

- Acuerdo positivo: verdadero positivo = panel positivo y cultivo positivo.
- Acuerdo negativo: verdadero negativo = panel negativo y cultivo negativo.
- Falso positivo = panel positivo y cultivo negativo.
- Falso negativo = panel negativo y cultivo positivo.

Se calculó el porcentaje de concordancia positiva (PCP) como $[\text{verdadero positivo} / (\text{verdadero positivo} + \text{falso negativo})] 100\%$ y el porcentaje de concordancia negativa (PCN) fue calculado como $[\text{verdadero negativo} / (\text{verdadero negativo} + \text{falso positivo})] 100\%$.

Tabla 4. Número de microorganismos detectados por el panel neumonía discriminado por tipo de muestra.

Tipo de muestra (n = 53)	Positivas	1 MO	2 MO	3 MO	4 MO	5 MO
Aspirado traqueal (33)	27	8 (29,6%)	6 (22,3%)	8 (29,6%)	4 (14,8%)	1 (3,7%)
LBA(17)	9	4 (44,5%)	2 (22,2%)	3 (33,3%)	0	0
Expectoración (3)	2	1 (50%)	0	0	1 (50%)	0
Total	38	13	8	11	5	1

LBA: lavado bronquioalveolar; MO: microorganismos

Durante el período del estudio se realizaron reuniones periódicas entre el *staff* de la UCI y microbiólogos para la revisión de cada uno de los casos y valoración del impacto clínico del PN. Con el resultado del PN, definimos cinco posibles conductas respecto a la antibioticoterapia: sin cambios, escalada, desescalada, adecuación o interrupción del tratamiento. Se definió desescalada cuando se cambió un plan inicial efectivo por uno de menor espectro dentro del misma clase de antibióticos (por ejemplo, ceftazidime por ampicilina sulbactam), o de una clase diferente (por ejemplo, vancomicina a cefazolina) o la interrupción de uno o más medicamentos de un plan combinado. Por el contrario, el aumento del espectro antibiótico se definió como escalada. La adecuación terapéutica se definió como el inicio o cambio de antibiótico no efectivo o no de elección, a otro antibiótico de similar espectro de acción. Para esto se tomó en cuenta la antibioticoterapia prescrita dentro de las 48 h previas a la toma de la muestra de secreciones⁽¹³⁾. En relación al tratamiento antibiótico, nuestro servicio se basa en las pautas ConsenSur II para el tratamiento de la NAC, y en las guías IDSA (*Infectious Diseases Society of America*) y pautas de la Sociedad Argentina de Terapia Intensiva para tratamiento de las NAV⁽¹⁴⁻¹⁶⁾.

En el procesamiento estadístico se utilizó *Statistical Package for the Social Sciences* (SPSS) versión 21. Se realizó un análisis descriptivo para la distribución de frecuencias absolutas y relativas de las variables estudiadas. En las cuantitativas se calcularon medidas descriptivas como media y desvío estándar, y porcentajes para las cualitativas. Para el análisis de asociación de variables categóricas se aplicó test de chi cuadrado o test exacto de Fisher, según correspondiera. En los porcentajes de concordancia se estimaron intervalos de confianza 95% para proporciones binomiales. Se consideró como estadísticamente significativo un valor $p < 0,05$.

Resultados

Se incluyeron un total de 51 pacientes que presentaron un total de 53 episodios de neumonía en los cuales se aplicó el PN. En la tabla 2 se resumen las características de la serie. 13 pacientes presentaban algún tipo

de inmunocompromiso, 5 pacientes tenían virus de la inmunodeficiencia humana (VIH), 3 recibían corticoterapia en forma crónica y 5 pacientes tenían algún tipo de enfermedad neoplásica al momento del ingreso. La principal causa de ingreso fue la patología respiratoria con 67% de los casos, seguida por pacientes neurocríticos en un 23% y, en menor medida, politraumatizados graves, con patología cardiovascular y postoperatorios de cirugía compleja.

De las 53 muestras analizadas, la mayoría correspondieron a secreciones respiratorias obtenidas por AT (62,3%). Se obtuvo identificación microbiológica en 38 (71,7%) de los PN, frente a 30 (56,6%) de los cultivos correspondientes, valor p no significativo. En 33 de los paneles se identificaron exclusivamente bacterias y en los 5 restantes se detectó asociación viral y bacteriana. De los cultivos con desarrollo, el 36,6% presentó más de una bacteria, mientras que de los paneles positivos el 65,7% identificó más de una bacteria. Estos datos se muestran en la tabla 3, mientras que la tabla 4 resume el número de microorganismos detectados en función del tipo de muestra.

El germen más identificado en PN fue el *Staphylococcus aureus*, seguido por *Klebsiella pneumoniae*, *Haemophilus influenzae* y *Enterobacter cloacae*. El virus más frecuentemente identificado fue rinovirus/enterovirus y entre las bacterias atípicas se identificó un solo caso de *Legionella pneumophila*. En cuanto a genes de resistencia el panel informó 9 detecciones, el más frecuente la betalactamasa de espectro extendido (BLEE) CTX-M. En tabla 5 se presentan todos los elementos detectados por PN, mientras que en tabla 6 se resume la concordancia entre resultados del panel y métodos de microbiología convencionales. En relación a la evaluación general del desempeño del panel, se halló un PCP del 100% (IC 95%: 90-100) y PCN del 94% (IC 95%: 92-96) en comparación con métodos tradicionales microbiológicos. Un resultado PN negativo y cultivo positivo ocurrió exclusivamente en el caso de gérmenes no testeados por el panel, aislándose dos casos de *Stenotrophomonas maltophilia*, uno

Tabla 5. Total de elementos detectados por el panel de neumonía.

Elementos detectados	
Bacterias (n = 82)	
<i>Staphylococcus aureus</i>	18
<i>Klebsiella pneumoniae</i> group	12
<i>Haemophilus influenzae</i>	10
<i>Enterobacter cloacae</i>	10
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	7
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	5
<i>Klebsiella oxytoca</i>	5
<i>Streptococcus agalactiae</i>	4
<i>Proteus</i> spp.	3
<i>Escherichia coli</i>	3
<i>Acinetobacter calcoaceticus-baumannii</i> complex	2
<i>Moraxella catarrhalis</i>	1
<i>Serratia marcescens</i>	1
<i>Klebsiella aerogenes</i>	1
<i>Streptococcus pyogenes</i>	0
Bacterias atípicas (n = 1)	
<i>Legionella pneumophila</i>	1
<i>Chlamydia pneumoniae</i>	0
<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	0
Virus (n = 5)	
Rinovirus/Enterovirus	3
Coronavirus (no SARS CoV-2)	1
Metapneumovirus	1
Influenza A	0
Influenza B	0
Parainfluenza	0
Virus respiratorio sincitial (VRS)	0
Adenovirus	0
Coronavirus del Síndrome Respiratorio de Oriente Medio (MERS-CoV)	0
Mecanismos de resistencia (n = 9)	
CTX-M	5
METI-R	3
NDM	1
KPC	0
OXA 48- LIKE	0
VIM	0
IMP	0

de *Staphylococcus epidermidis*, uno de *Staphylococcus haemolyticus*, uno de *Pantoea* spp., uno de *Citrobacter braakii*, y un caso de *Candida* spp.

En la tabla 7 se observa la relación entre recuento semicuantitativo del PN frente a desarrollo semicuantitativo del cultivo bacteriano. En los cultivos que presentaron muy abundante desarrollo (+4) de un determinado germen, el PN informó un recuento de 10^7 en 82% (23/28), pero detección de 10^4 o 10^5 en un solo caso (3,6%). En el caso opuesto de cultivo sin desarrollo, una detección de 10^7 ocurrió solo en 21% (10/47), predominando en este grupo sin desarrollo las cuantificaciones bajas ($10^4/10^5$), en 64% de los casos (30/47). En el análisis de chi cuadrado se encontró asociación estadística entre ambas variables con valor $p < 0,0001$.

En relación a la detección de resistencia, el PN informó 9 resultados: cinco CTX-M, tres resistencia a meticilina y un NDM. De las cinco CTX-M informadas por el PN, el cultivo desarrolló bacterias con BLEE en tres casos, mientras que en los dos restantes no se recuperó germen. En los tres *S. aureus* con resistencia a meticilina (SAMR) detectados por el panel, el cultivo desarrollo SAMR en dos casos ya que en el tercero no hubo desarrollo. Hubo una única detección de carbapenemasas en la serie y fue de tipo NDM, en este caso panel y métodos tradicionales coincidieron. En un caso los métodos tradicionales informaron mecanismo de resistencia no detectado por PN (resultado falso negativo); panel y cultivo coincidieron en identificación (*K. oxytoca*) pero el PN no detectó resistencia mientras que el cultivo informó el germen como BLEE.

En cuanto al impacto del PN en la antibioticoterapia se encontró una modificación de la misma a partir del resultado del PN en un 51%; en la figura 1 se describe el tipo de cambio realizado.

Discusión

Las opciones actuales de pruebas de diagnóstico etiológico de infecciones respiratorias incluyen cultivo, pruebas moleculares y detección de antígenos. En los últimos años se han publicado múltiples estudios que avalan la utilización de la técnica de PCR para diagnóstico en infecciones graves. El diagnóstico molecular rápido basado en paneles ha demostrado disminución del tiempo de identificación microbiológica en bacteriemias, así como reducción de la antibioticoterapia de amplio espectro y el tratamiento de contaminantes^(17,18). Hallazgos similares informan estudios en infecciones respiratorias: el trabajo francés conducido por Peiffer sugiere que el uso de sistema multiplex PCR (Unyvero platform, Curetis AG, Holzgerlingen, Germany) en pacientes con neumonía grave, mejora la terapia antimicrobiana empírica y reduce el uso de antibióticos de amplio espectro⁽¹⁹⁾. En lo que respecta específicamente

Tabla 6. Concordancia entre la identificación de microorganismos detectados en panel neumonía y la microbiología convencional.

Microorganismo	PN+ Cultivo+	PN+ Cultivo -	PN - Cultivo +	PN - Cultivo -	PCP% (IC 95%)	PCN % (IC 95%)
Semicuantitativo						
<i>Acinetobacter calcoaceticus-baumannii complex</i>	2	0	0	51	100	100
<i>Enterobacter cloacae</i>	3	7	0	43	100	86
<i>Escherichia coli</i>	1	2	0	50	100	96
<i>Haemophilus influenzae</i>	1	9	0	43	100	83
<i>Klebsiella aerogenes</i>	1	0	0	52	100	100
<i>Klebsiella oxytoca</i>	3	2	0	48	100	96
<i>Klebsiella pneumoniae group</i>	9	3	0	41	100	93
<i>Moraxella catarrhalis</i>	0	1	0	52	100	98
<i>Proteus spp.</i>	1	2	0	50	100	96
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	2	3	0	48	100	94
<i>Serratia marcescens</i>	1	0	0	52	100	100
<i>Staphylococcus aureus</i>	9	9	0	35	100	80
<i>Streptococcus agalactiae</i>	0	4	0	49	100	92
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	2	5	0	46	100	90
Cualitativo						
<i>Legionella pneumophila*</i>	1	0	0	52	100	100
Totales	36	47	0	712	100 (90-100)	94 (92-96)

*En el caso de *Legionella pneumophila*, se tomó como *gold estándar* de diagnóstico por método convencional el antígeno en orina. PN: panel neumonía. PCP: porcentaje de concordancia positiva; PCN: porcentaje de concordancia negativa.

PN: panel neumonía; PCP: porcentaje de concordancia positiva; PCN: porcentaje de concordancia negativa; IC: intervalo de confianza.

Tabla 7. Relación entre recuento semicuantitativo del panel neumonía y desarrollo semicuantitativo del cultivo bacteriano por métodos habituales ($p < 0,0001$).

	Cultivo			
	Sin desarrollo significativo	Escaso (+1)	Moderado o abundante (+2 / +3)	Muy abundante (+4)
10 ⁴	20	0	1	1
10 ⁵	10	1	1	0
10 ⁶	7	2	0	4
10 ⁷	10	0	2	23
Total	47	3	4	28

al Pneumonia Panel plus, varios estudios previos han encontrado una excelente concordancia entre este método molecular y el cultivo estándar⁽²⁰⁻²²⁾.

Nuestra serie consta de 51 pacientes etariamente jóvenes (media 45,6 años), cursando casi la mitad NAC (47,2%) y el resto NN o NAV. Estas infecciones fueron graves, lo que se evidencia por el SAPS elevado, el requerimiento de ARM mayor al 90%, el *shock* en 37,2%

y el síndrome de distrés respiratorio agudo (SDRA) en una tercera parte de los casos, además de estadía en UCI prolongada con media de 19,7 días. Todo esto determina la elevada mortalidad encontrada que se situó en un 37,2%. El diagnóstico etiológico de las neumonías fue elevado, obteniendo un germen en el 56,6% de los cultivos y mejorando esta cifra con el PN que permitió identificación microbiológica en 71,7% de los casos.



Figura 1. Cambio en la antibioticoterapia a punto de partida del resultado del panel neumonía.

La prevalencia de enfermedad por COVID fue de un 23,5%, mientras que la identificación de otro virus por el PN fue baja, con solo 5 dianas virales, destacándose la ausencia de influenza, lo que resulta concordante con la baja circulación del virus durante el periodo del estudio tanto en Uruguay como en el resto del Cono Sur⁽²³⁾. La identificación de la etiología infecciosa específica en pacientes con neumonías graves es relevante y se ha asociado con reducción estadísticamente significativa de la mortalidad, al permitir una terapia eficaz dirigida⁽²⁴⁾. Es en estos pacientes graves donde la PCR ha demostrado mayor utilidad, permitiendo un diagnóstico microbiológico precoz con adecuación del tratamiento antibiótico, disminuyendo la TAI y mejorando los resultados⁽²⁵⁾.

Como describimos en las tablas 3 y 4, la mayoría de los PN con resultados positivos identificaron coinfección bacteriana o bacteriana/viral. Si nos centramos solo en la identificación bacteriana, de los 38 resultados positivos solo 13 PN detectaron exclusivamente una sola bacteria, mientras que en los restantes 25 (65,7%) se identificaron dos o más bacterias, con un máximo de 5 dianas bacterianas en el caso de un panel. Al analizar los cultivos positivos, el desarrollo múltiple se presentó en un porcentaje menor, alcanzando un 36,6%, pero con ningún desarrollo de más de dos gérmenes. Trabajos similares al nuestro coinciden en un nivel elevado de detección de más de un germen, con porcentajes de detección múltiple de la PCR de entre 42,3% a 48%^(20,21). Existe evidencia reciente que cuestiona el paradigma tradicional de neumonía monomicrobiana, describiéndose episodios de coinfecciones bacterianas, además del reconocimiento de coinfección viral en un número importante de casos, incluidos casos de NN⁽²⁶⁾. Hasta hace relativamente poco años se creía que, si bien la infección viral respiratoria era habitual, su evolución hacia neumonía e insuficiencia respiratoria severa era infrecuente. En las últimas dos décadas, la aparición de técnicas diagnósticas sofisticadas y la evidencia empírica obtenida a partir de la epidemia del síndrome respiratorio agudo y grave (SARS) causada por SARS-CoV

en 2003, de la pandemia por gripe A (N1H1) en 2009 y actualmente la pandemia a SARS-CoV-2, permitió reconocer a los virus como agentes de neumonías graves ya sea como agente único o en coinfecciones bacterianas⁽²⁷⁾. En este sentido, en un estudio previo realizado en nuestra UCI en pacientes con infección respiratoria aguda grave, utilizando métodos de biología molecular, hallamos un porcentaje elevado de coinfección bacteriana/viral de 17%⁽²⁸⁾. De todas formas, en caso de hallazgos de múltiples gérmenes, el diagnóstico de coinfección es complejo y definir al verdadero patógeno responsable de la infección no resulta sencillo. La cuantificación de carga microbiana por métodos moleculares puede ser de ayuda, ya que los aislamientos con mayores cargas en copias/ml ($>10^6/10^7$), tienen más probabilidades de ser clínicamente significativos⁽²⁹⁾. Por otra parte, trabajos que comparan la concordancia en la semicuantificación bacteriana entre PN y cultivos tradicionales muestran una coincidencia de entre 23%–53%, encontrándose en el panel habitualmente valores mayores en copias/ml que los hallados en UFC/ml en los cultivos, describiéndose una relativa sobreestimación de carga bacteriana por parte del PN^(20,30,31).

En relación al desempeño general del panel, la concordancia encontrada en nuestro trabajo entre PN y el cultivo de rutina bacteriano, fue elevada con un PCP de 100% y un PCN de 94%. Estos resultados son similares a los reportados por Buchan, que informa un PCP de 96,2% y un PCN de 98,1% sobre 259 muestras respiratorias. Este trabajo encuentra resultados falsos negativos solo en tres casos, correspondiendo todos los cultivos a un desarrollo de 10^3 UFC/ml, situándose por debajo del umbral de detección del panel (21). Este alto nivel de concordancia es ratificado en un reciente estudio multicéntrico donde, sobre 2.476 muestras se obtuvo un PCP de 92,9% y PCN de 96,1%⁽³¹⁾. En nuestra serie no obtuvimos ningún falso negativo (lo que explica el PCP de 100%), ya que los únicos casos con desarrollo bacteriano pero PN negativo correspondieron a gérmenes no incluidos en el panel. Algunos de estos gérmenes fueron interpretados como contaminantes o colonizantes en el caso de pacientes inmunocompetentes (*S. epidermidis*, *S. haemolyticus*, *C. albicans*) o como agentes poco frecuentes de neumonía en pacientes inmunocomprometidos (*S. maltophilia*, *Citrobacter* spp., *Pantoea* spp.). Por lo tanto se debe recordar que, si bien el PN detecta gran número de microorganismos, la prueba no es exhaustiva y existen patógenos no incluidos que hay que tener presente: *Morganella* spp., *Citrobacter* spp., *S. maltophilia*, *Nocardia* spp., *Mycobacterium tuberculosis*, *Pneumocystis jirovecii* y otros hongos patógenos. La PCR condujo a un diagnóstico no sospechado de legionelosis que fue concordante con el antígeno de *Legionella pneumophila* en orina.

En nuestra experiencia clínica, un PN negativo descarta una neumonía por gérmenes habituales y nos obliga (de existir alto nivel de sospecha de infección respiratoria) a plantear gérmenes específicos, o a la búsqueda en otros casos de un foco alternativo al respiratorio. En este sentido queremos destacar en nuestra serie dos ejemplos clínicos. El primero, una paciente de sexo femenino, VIH negativo, bajo tratamiento corticoide crónico, ingresada a UCI con planteo de NAC. La radiografía de tórax mostraba compromiso intersticial a predominio perihiliar bilateral, y el PN no detectó ningún germen, por lo que se decidió la realización de fibrobroncoscopia con LBA para búsqueda de *Pneumocystis carinii*, que resultó positiva. El segundo caso se trataba de un paciente de sexo masculino cursando postoperatorio de esofagectomía por cáncer esofágico, que 48 h después de la cirugía instaló fiebre y disnea, con radiografía que mostraba consolidación bibasal. Se planteó inicialmente NN realizándose PN que fue negativo, por lo que se solicitó tomografía de tórax que mostró colección mediastinal, llevando a la reintervención quirúrgica, constándose mediastinitis posterior.

El PN identificó 47 determinaciones bacterianas que no fueron reportadas por los cultivos (tabla 6). Las detecciones con cultivos negativos más comunes fueron *S. aureus*, *H. influenzae*, *E. cloacae* y *S. pneumoniae*, aunque se observó al menos una detección de cultivo negativo para todos los gérmenes menos para *A. baumannii*, *K. aerogenes* y *S. marcescens*. En estos casos “falsos positivos” la mayoría de las identificaciones del PN (30/47, 64%) correspondieron a cuantificaciones bajas de 10^4 o 10^5 , sumado a que la gran mayoría de los pacientes (86,8%) habían recibido antibióticos previos a la toma, lo que podría explicar en parte la ausencia de desarrollo en los cultivos, ya que la exposición a antibióticos previa a la recolección puede reducir drásticamente la recuperación de patógenos potenciales a partir de muestras clínicas^(32,33). Además, se debe tener presente, que el aumento de resultados positivos en pruebas moleculares puede deberse a que las mismas detectan tanto organismos viables y no viables (de ahí que no se recomiende para el seguimiento del tratamiento), así como detección de gérmenes en bajo conteo o no recuperados en cultivo debido a características de crecimiento exigentes como se describe por ejemplo en *H. influenzae*⁽²¹⁾. Por el contrario, cuando el cultivo bacteriano presentó muy abundante desarrollo de un determinado germen, el PN mostró adecuado nivel de correlación cuantificando dicho germen en 10^7 copias/ml en un 82% de los casos (tabla 7), encontrándose asociación estadísticamente significativa entre el recuento semicuantitativo del PN y el desarrollo semicuantitativo de los cultivos por métodos habituales ($p < 0,0001$). Por lo

tanto, la diferenciación de colonización e infección resulta un desafío. No existe actualmente evidencia clara sobre la cinética de aclaramiento del material genómico bacteriano en el pulmón, por lo que en métodos tan sensibles como la PCR se debe ser cauteloso, ya que se puede incurrir en sobrediagnóstico. Si bien no se describen umbrales consensuados, determinaciones elevadas de 10^6 o 10^7 copias/ml de un germen patógeno sumado a una correcta interpretación clínica permitirá realizar un diagnóstico de alta probabilidad de infección pulmonar⁽²⁵⁾.

En lo que respecta a la detección de marcadores de resistencia a antibióticos, el PN informa condicionalmente la presencia de resistencia genética en el caso de muestras con patógeno bacteriano identificado (estando los genes no necesariamente asociados al mismo) por lo que, si se identifican diferentes bacterias y un gen de resistencia, no será posible vincular la resistencia a uno de los microorganismos detectados. Además, la sobreexpresión de algunos genes de resistencia intrínsecos (como la β -lactamasa AmpC) no es detectado por el panel, así como BLEE diferentes del grupo CTX-M o carbapenemasas diferentes a las del panel. El impacto de la detección molecular de mecanismos de resistencia antimicrobiana se ha asociado con resultados positivos que incluyen, reducción del tiempo hasta el inicio de antibioticoterapia apropiada, disminución de la estadía en UCI y reducción de la mortalidad^(34,35). En nuestra serie, en los *S. aureus* el PN detectó tres casos de resistencia a la meticilina coincidiendo (2/2) con cultivo de SAMR ya que en el tercer caso el cultivo no desarrolló germen. En ensayos clínicos de gran tamaño que aplican el PN sobre muestras de LBA, la sensibilidad para la detección de resistencia a la meticilina se situó en 88,9% y la especificidad en 91,4%⁽³⁶⁾, siendo estos resultados comparables a los de otras técnicas de biología molecular⁽³⁷⁾, concluyendo ambos estudios que el diagnóstico por este método es confiable para la detección de SAMR en pacientes con neumonía, permitiendo el ajuste de la terapéutica antibiótica. La incidencia de carbapenemasas en la serie fue muy baja, aislándose un solo caso de *Enterobacter cloacae* productor de NDM, siendo coincidentes el PN y los métodos fenotípicos utilizados. El mecanismo de resistencia más frecuentemente hallado fue la identificación de BLEE, donde el PN detectó en cinco casos el gen CTX-M, coincidentes en tres casos con el cultivo, mientras que en los dos restantes casos el cultivo no presentó desarrollo. El único caso de la serie donde se encontró un falso negativo (cultivo con germen resistente no detectado en PN) fue en el caso de una *K. oxytoca* identificada por ambos métodos, pero informada BLEE solo por el VITEK2 y otros métodos fenotípicos. Debemos tener presente que, si bien la CTX-M es la enzima mayormente im-

plicada en la determinación de este tipo de resistencia, existen diversidad de enzimas capaces de conferir el fenotipo BLEE. Un razonamiento similar podemos aplicar a las enzimas productoras de carbapenemasas que abarcan un gran número de enzimas más allá de las testeadas por el PN.

De acuerdo con nuestros datos y coincidiendo con la literatura analizada podemos afirmar que el valor predictivo positivo del PN es elevado para la detección de mecanismos de resistencia, lo que implica que la detección de un marcador genético específico indica alta probabilidad de resistencia fenotípica a la correspondiente clase de antibióticos. Esta detección permitirá una temprana escalada terapéutica además de la implementación de prácticas adecuadas de aislamiento para la prevención y el control de infecciones. Por el contrario, el valor predictivo negativo es reducido, por lo que el hecho de no detectar un gen específico no debe interpretarse como fenotipo de susceptibilidad. Como siempre la “gestión del riesgo” para resistencia bacteriana es fundamental en la definición del plan antibiótico en pacientes graves⁽²¹⁾.

Basándonos en los resultados del PN definimos, en más de la mitad de los casos (51%), un cambio en la conducta antimicrobiana empírica. La adecuación del plan antibiótico en 26% de los casos fue la modificación más frecuente (habitualmente cambio de ampicilina sulbactam por cefalosporinas de primera o tercera generación no antipseudomónicas), seguida por 13% de escalada del plan antimicrobiano (inicio de carbapenémicos al detectar CTX-M, colistina en detección de NDM, ceftazidime al detectar *Pseudomonas aeruginosa* o vancomicina si SAMR), suspensión en 8% y desescalada en 4% de los paneles (suspensión de antibióticos en terapia combinada). Cabe aclarar que cuando el resultado del PN determinó modificación del plan antibiótico, el informe posterior del cultivo no alteró en ningún caso dicha conducta, no ocurriendo en esta serie terapéutica inadecuada inducida por el resultado del panel.

Como hemos analizado anteriormente, el acrecentado desarrollo de resistencia bacteriana es un problema mundial. El tratamiento de infecciones graves nos enfrenta continuamente al delicado equilibrio entre un plan antibiótico que asegure una adecuada terapia inicial y el riesgo de aumentar la resistencia bacteriana. Es aquí donde los métodos de diagnóstico rápido cobran valor, pudiendo reducir la exposición a antibióticos innecesarios y de amplio espectro, dirigiendo la terapia para tratar los patógenos más probables en función de los factores de riesgo del paciente⁽³⁸⁾. Los estudios que analizan el impacto de la PCR en pacientes con neumonía muestran una elevada tasa de adecuación de la terapia antibiótica. El estudio multicéntrico francés

conducido por Monard encontró un 77% de cambio en los antimicrobianos empíricos con la utilización de la PCR, demostrando que el tratamiento antibiótico guiado por PCR fue más frecuentemente adecuado en comparación con el tratamiento empírico⁽²⁵⁾. El estudio de Peiffer que evaluó el rendimiento e impacto de PCR multiplex en pacientes de UCI cursando NN o NAV, comunicó que la PCR podría haber conducido al inicio más temprano de un antibiótico eficaz en 21% de los pacientes y a la desescalada temprana en 39%, llevando a solo 1% de terapia inadecuada. Todo esto con una mediana del tiempo de respuesta de la prueba de 4,6 h⁽¹⁹⁾. Si bien en nuestro estudio no analizamos específicamente la variable tiempo hasta la obtención de los resultados microbiológicos, operativamente el tiempo desde la toma de la muestra respiratoria hasta el resultado del PN promedió entre 2-3 h, en comparación a 48 h por métodos tradicionales.

Una de las limitaciones sustanciales de este estudio, destacada en otros similares, es la falta de un adecuado método de referencia o gold standard contra el cual comparar la técnica. Probablemente la PCR tenga mejor sensibilidad que los cultivos tradicionales o la investigación serológica, lo que determina dificultades de interpretación clínica de los “falsos positivos” y estimación de la precisión diagnóstica del test. Otras limitaciones a tener presente es el de ser un estudio realizado en un solo centro, con relativo bajo número de pacientes y correspondientes a grupos heterogéneos de patologías.

Conclusión

La aplicación clínica de una nueva herramienta diagnóstica implica desafíos que incluyen la revisión del tema, correcta interpretación de los resultados y una necesaria interacción entre el médico clínico y microbiólogo. El PN es un método rápido y preciso, de gran utilidad en el diagnóstico microbiológico precoz y la toma de decisión inicial en cuanto a la antibioticoterapia a implementar. No sustituye a los métodos tradicionales, pero los complementa. Los resultados negativos deben hacernos pensar en gérmenes menos frecuentes o a replantear el diagnóstico.

Summary

Introduction: the early initiation of the adequate antibiotic therapy in severe infections is associated to a reduction in mortality. Early identification of the microorganism is essential to define directed therapy and decrease the initial inadequate treatment.

Objective: to assess usefulness of a molecular biology technique by nucleic acid amplification through a polymerase chain reaction in real time for an early microbiological diagnosis and correction of the antibiotic

therapy in patients with severe pneumonias.

Method: retrospective, observational study conducted in the intensive care unit of Maciel Hospital. The respiratory samples of patients with a diagnosis of pneumonia or suspicious to have pneumonia were analyzed. The microbiological results obtained were compared using conventional techniques and multiplex molecular biology (pneumonia panel).

Results: 53 samples obtained from 51 patients were included in the study. Multiplex detected at least one microorganism in 38 (71.7%) samples compared to 30 (56.6%) in traditional cultures. Most samples were obtained under the previous antibiotic therapy (86.8%). The pneumonia panel showed a combined positive agreement percentage of 100% and a negative agreement of 94% for the identification of bacteria when compared to the traditional microbiological methods. In 27 cases (51%) the pneumonia panel results determined changing the therapeutic behavior.

Conclusions: the PCR technique allows for the early identification of microorganisms causing pneumonia, thus optimizing initial empirical therapy and rationalizing the use of antibiotics. A negative panel reduces the suspicion of a respiratory infection caused by the usual germs and enables considering differential diagnosis in terms of etiology or cause.

Resumo

Introdução: o início precoce da antibioticoterapia adequada em infecções graves está associado à redução da mortalidade. A identificação precoce do microrganismo é essencial para realizar o tratamento dirigido e reduzir o uso inicial inadequado de antimicrobianos.

Objetivo: avaliar a utilidade de uma técnica de biologia molecular para amplificação de ácidos nucleicos por reação em cadeia da polimerase em tempo real para diagnóstico microbiológico precoce e adequação da antibioticoterapia em pacientes com pneumonia grave.

Metodologia: estudo observacional retrospectivo realizado na unidade de terapia intensiva do Hospital Maciel. Amostras respiratórias de pacientes com diagnóstico ou suspeita de pneumonia foram analisadas. Os resultados microbiológicos obtidos por técnicas convencionais e por biologia molecular multiplex (painel de pneumonia) foram comparados.

Resultados: foram incluídas 53 amostras obtidas de 51 pacientes. O multiplex detectou pelo menos um microrganismo em 38 (71,7%) amostras em comparação com 30 (56,6%) usando culturas tradicionais. A maioria das amostras foi obtida com antibioticoterapia prévia (86,8%). O painel de pneumonia mostrou uma concordância percentual positiva combinada de 100% e uma concordância percentual negativa de 94% para identificação bacteriana em comparação com métodos

microbiológicos tradicionais. Em 27 (51%) casos, o resultado do painel de pneumonia determinou mudança no comportamento terapêutico.

Conclusões: a técnica de PCR permite a identificação precoce de microrganismos causadores de pneumonia, otimizando a terapia empírica inicial e racionalizando o uso de antimicrobianos. Um painel negativo afasta a suspeita de infecção respiratória pelos germes usuais e permite considerar diagnósticos diferenciais em termos de foco e/ou etiologia.

Bibliografía

1. Julián-Jiménez A, Adán Valero I, Beteta López A, Cano Martín LM, Fernández Rodríguez O, Rubio Díaz R, et al. Recomendaciones para la atención del paciente con neumonía adquirida en la comunidad en los Servicios de Urgencias. *Rev Esp Quimioter* 2018; 31(2):186-202.
2. Barbier F, Andremont A, Wolff M, Bouadma L. Hospital-acquired pneumonia and ventilator-associated pneumonia: recent advances in epidemiology and management. *Curr Opin Pulm Med* 2013; 19(3):216-28. doi: 10.1097/MCP.0b013e-32835f27be.
3. Zilberberg MD, Shorr AF, Micek ST, Vazquez-Guillamet C, Kollef MH. Multi-drug resistance, inappropriate initial antibiotic therapy and mortality in Gram-negative severe sepsis and septic shock: a retrospective cohort study. *Crit Care* 2014; 18(6):596. doi: 10.1186/s13054-014-0596-8.
4. Liu VX, Fielding-Singh V, Greene JD, Baker JM, Iwashyna TJ, Bhattacharya J, Escobar GJ. The timing of early antibiotics and hospital mortality in sepsis. *Am J Respir Crit Care Med* 2017; 196(7):856-63. doi: 10.1164/rccm.201609-1848OC.
5. Kumar A, Roberts D, Wood KE, Light B, Parrillo JE, Sharma S, et al. Duration of hypotension before initiation of effective antimicrobial therapy is the critical determinant of survival in human septic shock. *Crit Care Med* 2006; 34(6):1589-96. doi: 10.1097/01.CCM.0000217961.75225.E9.
6. Boucher HW, Talbot GH, Bradley JS, Edwards JE, Gilbert D, Rice LB, et al. Bad bugs, no drugs: no ESKAPE! An update from the Infectious Diseases Society of America. *Clin Infect Dis* 2009; 48(1):1-12. doi: 10.1086/595011.
7. Bassetti M, De Waele JJ, Eggimann P, Garnacho-Montero J, Kahlmeter G, Menichetti F, et al. Preventive and therapeutic strategies in critically ill patients with highly resistant bacteria. *Intensive Care Med* 2015; 41(5):776-95. doi: 10.1007/s00134-015-3719-z.
8. Kollef MH, Bassetti M, Francois B, Burnham J, Dimopoulos G, Garnacho-Montero J, et al. The intensive care medicine research agenda on multidrug-resistant bacteria, antibiotics, and stewardship. *Intensive Care Med* 2017; 43(9):1187-97. doi: 10.1007/s00134-017-4682-7.
9. Bassetti M, Kollef MH, Poulakou G. Principles of antimicrobial stewardship for bacterial and fungal infections in ICU. *Intensive Care Med* 2017; 43(12):1894-7. doi: 10.1007/s00134-017-4922-x.
10. Bhat N, O'Brien KL, Karron RA, Driscoll AJ, Murdoch DR; Pneumonia Methods Working Group. Use and evaluation of molecular diagnostics for pneumonia etiology studies. *Clin*

- Infect Dis 2012; 54(Suppl 2):S153-S158. doi: 10.1093/cid/cir1060.
11. Vincent JL, Brealey D, Libert N, Abidi NE, O'Dwyer M, Zacharowski K, et al. Rapid diagnosis of infection in the critically ill, a multicenter study of molecular detection in bloodstream infections, pneumonia, and sterile site infections. *Crit Care Med* 2015; 43(11):2283-91. doi: 10.1097/CCM.0000000000001249.
 12. Kalil AC, Metersky ML, Klompas M, Muscedere J, Sweeney DA, Palmer LB, et al. Management of adults with hospital-acquired and ventilator-associated pneumonia: 2016 Clinical Practice Guidelines by the Infectious Diseases Society of America and the American Thoracic Society. *Clin Infect Dis* 2016; 63(5):e61-e111. doi: 10.1093/cid/ciw353.
 13. De Bus L, Denys W, Catteuw J, Gadeyne B, Vermeulen K, Boelens J, et al. Impact of de-escalation of beta-lactam antibiotics on the emergence of antibiotic resistance in ICU patients: a retrospective observational study. *Intensive Care Med* 2016; 42(6):1029-39. doi: 10.1007/s00134-016-4301-z.
 14. Bantar C, Curcio D, Jasovich A, Bagnulo H, Arango Á, Bavestrello L, et al. Neumonía aguda adquirida en la comunidad en adultos: actualización de los lineamientos para el tratamiento antimicrobiano inicial basado en la evidencia local del Grupo de Trabajo de Sudamérica (Consensur II). *Rev Chil Infectol* 2010; 27(Supl 1):9-38.
 15. Mandell LA, Wunderink RG, Anzueto A, Bartlett JG, Campbell GD, Dean NC, et al. Infectious Diseases Society of America/American Thoracic Society consensus guidelines on the management of community-acquired pneumonia in adults. *Clin Infect Dis* 2007; 44(Suppl 2):S27-S72. doi: 10.1086/511159.
 16. SATI SATI, COMITE DE INFECTOLOGIA CRITICA. Actualización en neumonía asociada a la ventilación mecánica. *Rev Arg Ter Int* 2019; 12-9. Disponible en: //revista.sati.org.ar/index.php/MI/article/view/688 [Consulta: 17 agosto 2021].
 17. Douglas IS. Pulmonary infections in critical/intensive care - rapid diagnosis and optimizing antimicrobial usage. *Curr Opin Pulm Med* 2017; 23(3):198-203. doi: 10.1097/MCP.0000000000000366.
 18. Banerjee R, Teng CB, Cunningham SA, Ihde SM, Steckelberg JM, Moriarty JP, et al. Randomized trial of rapid multiplex polymerase chain reaction-based blood culture identification and susceptibility testing. *Clin Infect Dis* 2015; 61(7):1071-80. doi: 10.1093/cid/civ447.
 19. Peiffer-Smadja N, Bouadma L, Mathy V, Allouche K, Patrier J, Reboul M, et al. Performance and impact of a multiplex PCR in ICU patients with ventilator-associated pneumonia or ventilated hospital-acquired pneumonia. *Crit Care* 2020; 24(1):366. doi: 10.1186/s13054-020-03067-2.
 20. Lee SH, Ruan SY, Pan SC, Lee TF, Chien JY, Hsueh PR. Performance of a multiplex PCR pneumonia panel for the identification of respiratory pathogens and the main determinants of resistance from the lower respiratory tract specimens of adult patients in intensive care units. *J Microbiol Immunol Infect* 2019; 52(6):920-8. doi: 10.1016/j.jmii.2019.10.009.
 21. Buchan BW, Windham S, Balada-Llasat JM, Leber A, Harrington A, Relich R, et al. Practical comparison of the biofire filmarray pneumonia panel to routine diagnostic methods and potential impact on antimicrobial stewardship in adult hospitalized patients with lower respiratory tract infections. *J Clin Microbiol* 2020; 58(7):e00135-20. doi: 10.1128/JCM.00135-20.
 22. Yugueros-Marcos J, Barraud O, Iannello A, Ploy MC, Ginocchio C, Rogatcheva M, et al. New molecular semi-quantification tool provides reliable microbiological evidence for pulmonary infection. *Intensive Care Med* 2018; 44(12):2302-4. doi: 10.1007/s00134-018-5417-0.
 23. Organización Panamericana de Salud. Informe de situación de Influenza. Actualización regional. Disponible en: <https://www.paho.org/es/informe-situacion-influenza>. [Consulta: 3 setiembre 2021].
 24. Garau J, Baquero F, Pérez-Trallero E, Pérez JL, Martín-Sánchez AM, García-Rey C, et al.; NACER Group. Factors impacting on length of stay and mortality of community-acquired pneumonia. *Clin Microbiol Infect* 2008; 14(4):322-9. doi: 10.1111/j.1469-0691.2007.01915.x.
 25. Monard C, Pehlivan J, Auger G, Alviset S, Tran Dinh A, Duquaire P, et al.; ADAPT study group. Multicenter evaluation of a syndromic rapid multiplex PCR test for early adaptation of antimicrobial therapy in adult patients with pneumonia. *Crit Care* 2020; 24(1):434. doi: 10.1186/s13054-020-03114-y.
 26. Cawcutt K, Kalil AC. Pneumonia with bacterial and viral coinfection. *Curr Opin Crit Care* 2017; 23(5):385-90. doi: 10.1097/MCC.0000000000000435.
 27. Fernández Dorado F, Garro Pau, coords.; Sociedad Catalana de Medicina Intensiva. Conferencia de experto de la SOC-MIC 2015: neumonía vírica en el ámbito de la medicina intensiva. Barcelona: Edika Med, 2015.
 28. González F, Verga F, Albornoz H, Burghi G, Galiana A, Barbato M. Viral low tract respiratory infection in the intensive care unit. (Resumo do trabalho científico apresentado no XIII Congresso Mundial de Medicina Intensiva. Rio de Janeiro, Brasil: 8-11 nov 2017). *Rev Bras Ter Intensiva* 2017; (Supl 1):S3.
 29. Murdoch DR. How recent advances in molecular tests could impact the diagnosis of pneumonia. *Expert Rev Mol Diag* 2016; 16(5):533-40. doi: 10.1586/14737159.2016.1156536.
 30. Gastli N, Loubinoux J, Daragon M, Lavigne JP, Saint-Sardos P, Pailhoriès H, et al. Multicentric evaluation of BioFire FilmArray Pneumonia Panel for rapid bacteriological documentation of pneumonia. *Clin Microbiol Infect* 2021; 27(9):1308-14. doi: 10.1016/j.cmi.2020.11.014.
 31. Ginocchio CC, Garcia-Mondragon C, Mauerhofer B, Rindlisbacher C; EME Evaluation Program Collaborative. Multinational evaluation of the BioFire® FilmArray® Pneumonia plus Panel as compared to standard of care testing. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2021; 40(8):1609-22. doi: 10.1007/s10096-021-04195-5.
 32. Driscoll AJ, Deloria Knoll M, Hammitt LL, Baggett HC, Brooks WA, Feikin DR, et al. The effect of antibiotic exposure and specimen volume on the detection of bacterial pathogens in children with pneumonia. *Clin Infect Dis* 2017; 64(Suppl 3):S368-S377. doi: 10.1093/cid/cix101.
 33. Rand KH, Beal SG, Rivera K, Allen B, Payton T, Lipori GP. Hourly effect of pretreatment with iv antibiotics on blood culture positivity rate in emergency department patients.

- Open Forum Infect Dis 2019; 6(5):ofz179. doi: 10.1093/ofid/ofz179.
34. Bauer KA, West JE, Balada-Llasat JM, Pancholi P, Stevenson KB, et al. An antimicrobial stewardship program's impact with rapid polymerase chain reaction methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*/S. aureus blood culture test in patients with S. aureus bacteremia. Clin Infect Dis 2010; 51(9):1074-80. doi: 10.1086/656623.
 35. Walker T, Dumadag S, Lee CJ, Lee SH, Bender JM, Cupo Abbott J, et al. Clinical impact of laboratory implementation of verigene bc-gn microarray-based assay for detection of Gram-negative bacteria in positive blood cultures. J Clin Microbiol 2016; 54(7):1789-96. doi: 10.1128/JCM.00376-16.
 36. Murphy CN, Fowler R, Balada-Llasat JM, Carroll A, Stone H, Akerele O, et al. Multicenter evaluation of the Biofire FilmArray Pneumonia/pneumonia Plus Panel for detection and quantification of agents of lower respiratory tract infection. J Clin Microbiol 2020; 58(7):e00128-20. doi: 10.1128/JCM.00128-20.
 37. Leone M, Malavieille F, Papazian L, Meyssignac B, Cassir N, Textoris J, et al. Routine use of *Staphylococcus aureus* rapid diagnostic test in patients with suspected ventilator-associated pneumonia. Crit Care 2013; 17(4):R170. doi: 10.1186/cc12849.
 38. Timsit JF, Bassetti M, Cremer O, Daikos G, de Waele J, Kallil A, et al. Rationalizing antimicrobial therapy in the ICU: a narrative review. Intensive Care Med 2019; 45(2):172-89. doi: 10.1007/s00134-019-05520-5.

Contribución de autores

Sofia Mauro, ORCID: 0000-0001-9469-8267. Concepción, diseño, ejecución, análisis, redacción y revisión crítica.

Federico Verga, ORCID: 0000-0002-7917-1616. Concepción, diseño, ejecución, análisis, redacción y revisión crítica.

Antonio Galiana, ORCID: 0000-0003-0159-9775. Análisis, redacción y revisión crítica.

Mariela Vieytes, ORCID: 0000-0003-0690-7845. Análisis y revisión crítica.

Mario Godino, ORCID: 0000-0003-2413-8605. Concepción, análisis y revisión crítica.

Marcelo Barbato, ORCID: 0000-0003-4466-4039. Concepción, análisis y revisión crítica.